



第31回 日本トキシコロジー学会 学術年会

【会期】 2004年
7月6日(火)・7日(水)・8日(木)

【会場】 大阪国際会議場 (グランキューブ大阪)

【年会長】 玄番 宗一 (大阪薬科大学)



CTBR

CTBR | is committed to fulfilling your needs
for quality | responsiveness | innovation

CTBR (A Member of the Inveresk Research Group) は、カナダに本拠地を置く、1,200 名の従業員を擁する受託研究機関であり、医薬品、バイオテクノロジー、医療分野において、幅広い治療用途を持つ新薬の開発のために前臨床試験研究サービスを提供しています。

CTBR は38 年にわたり、医薬品やバイオテクノロジー製品に関する規制の国際的なガイドラインに対応する前臨床試験研究を行ってきました。CTBR は Inveresk Research とともに、世界各地の医薬品業界への高品質なデータや医薬品開発ソリューションの提供に力を注いでいます。

CTBR が提供するサービス

- ・骨関連研究
- ・循環器系プロファイル
- ・臨床検査
- ・薬物代謝/薬物動態試験
- ・実験生物学関連
- ・一般毒性試験
- ・遺伝毒性試験
- ・HPLC/CE
- ・免疫化学関連
- ・免疫学/免疫毒性試験
- ・インフュージョン/薬理学/神経毒性試験
- ・吸入毒性試験
- ・In Vitro 薬物代謝/薬物動態試験
- ・質量分析
- ・病理検査
- ・生殖毒性試験
- ・安全性薬理試験

***On-time scientific excellence,
time after time.***

CTBR
11111111-11111111
11111111 11111111
11111111 11111111
TEL: 03 (3513) 6524
FAX: 03 (3513) 6525

CTBR

A Member of the Inveresk Research Group

87 Senneville Road,
Senneville, Quebec, Canada H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
E-mail: japanmarketing@ctbr.com
Web site: www.ctbr.com



The Japanese
Society of
Toxicology

第31回 日本トキシコロジー学会学術年会

- 【会 期】** 2004年7月6日(火)・7日(水)・8日(木)
- 【会 場】** 大阪国際会議場(グランキューブ大阪)
〒530-0005 大阪市北区中之島5丁目3番51号
- 【年会長】** 玄番 宗一(大阪薬科大学)
- 【企画委員】** (50音順)
海野 隆(日本オルガノン)
圓藤 吟史(大阪市立大学)
尾熊 隆嘉(塩野義製薬(株))
門田 利人(日本ベーリンガーインゲルハイム(株))
北村 和之(田辺製薬(株))
佐藤 秀蔵(武田薬品工業(株))
田中 慶一(大阪大学)
中嶋 敏勝(奈良県立医科大学)
奈良間 功(摂南大学)
福島 昭治(大阪市立大学)
本坊 敏保(藤沢薬品工業(株))
松尾 三郎(大阪府立大学)
松村 靖夫(大阪薬科大学)
三浦 克之(大阪市立大学(委員長))
宮嶋 宏彰((株)新日本科学)
吉野 伸(神戸薬科大学)
- 【協 賛】** 日本薬理学会・日本獣医学会・日本薬物動態学会・日本毒性病理学会
- 【年会事務局】** 〒569-1094 大阪府高槻市京佐原4-20-1
大阪薬科大学薬理学教室内
TEL: 072-690-1053 / 072-690-1201 FAX: 072-690-1053
E-mail: amjst@gly.cups.ac.jp
<http://www.jsot.gr.jp/>
- 【会期中】** 学術年会事務局及び学会事務局
大阪国際会議場10階 主催者控室

年会長挨拶	5
会場アクセス	6
会場案内図	7
参加者へのご案内とお願い	8
発表者・座長の方へ	12
会場と催し物のご案内	16
座長一覧	22
プログラム	27
講演要旨	81
特別講演	83
学術年会長講演	89
教育講演	93
シンポジウム	101
ワークショップ	175
パネルディスカッション	199
セミナー	209
サテライトシンポジウム	217
市民公開講演会	225
一般演題（口頭）	229
一般演題（ポスター）	247
お願い・次回年会のお知らせ	337
展示会出展団体一覧	338
展示会場図	339
著者索引	341
協賛企業一覧	355
評議員会及び総会 次第	358
広告掲載企業一覧	359

このたび第31回日本トキシコロジー学会学術年会を、2004年7月6日（火）より7月8日（木）にかけて、大阪のほぼ中心部中之島に位置する大阪国際会議場（グランキューブ大阪）において開催される運びとなりました。大阪での開催は、第18回日本トキシコロジー学会学術年会（年会長堀口俊一先生、1991年7月）以来、実に13年ぶりになります。

日本トキシコロジー学会は、医学、薬学、獣医学などの病理・薬理・薬物動態・環境衛生・食品衛生などの領域の約2,200名の会員からなり、創薬、臨床医学、衛生学・公衆衛生学などの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。

本学会はトキシコゲノミクスやプロテオミクスといった新しい観点からのトキシコロジーの研究／生命安全科学の研究をとおして、21世紀の医療における個体差医学の発展にも貢献しようとしております。

第31回日本トキシコロジー学会学術年会においては、特色のある年会とするため、「安全性の評価と予測における課題と今後の展開」の主テーマのもとに、10名の招待演者による特別講演・教育講演、シンポジウムとワークショップ関連企画22テーマに加えて、一般演題数208が盛り込まれています。産・官・学の三者が一同に会するこの3日間において、活発に討論を深める機会となるように、本学術年会事務局一同が準備にあたりました。

前回（第30回赤堀会長）において、特別企画数や演題数が増えたのですが、今回ではさらに著しく増加しました。特別講演・教育講演やシンポジウム・ワークショップ等は、同時に3～4企画が進行せざるを得ない状況になり、どのプログラムに参加すべきかについて、戸惑われるかもしれません。一般演題（口演・ポスター）の発表時間帯と、特別講演やシンポジウムなどの特別企画の時間帯が重ならないようにし、参加者が一般演題の質疑討論に参加しやすいようにプログラムを配慮しました。講演・ポスター発表・企業展示の会場は10階と12階（両階はエスカレーター・エレベーターで移動容易）に集中させることができましたので、ロビー・ホワイエ・休憩コーナーなどで、参加者がお互いにお顔を合わせる機会が自ずと増え、討論の続きなどで過ごして頂けることと思っています。

第31回日本トキシコロジー学会学術年会を通じてトキシコロジー研究の進展が一層加速されるように切に念じております。

第31回 日本トキシコロジー学会学術年会
玄番 宗一（大阪薬科大学）

会場アクセス



大阪国際会議場（グランキューブ大阪、大阪市北区中之島5-3-51）

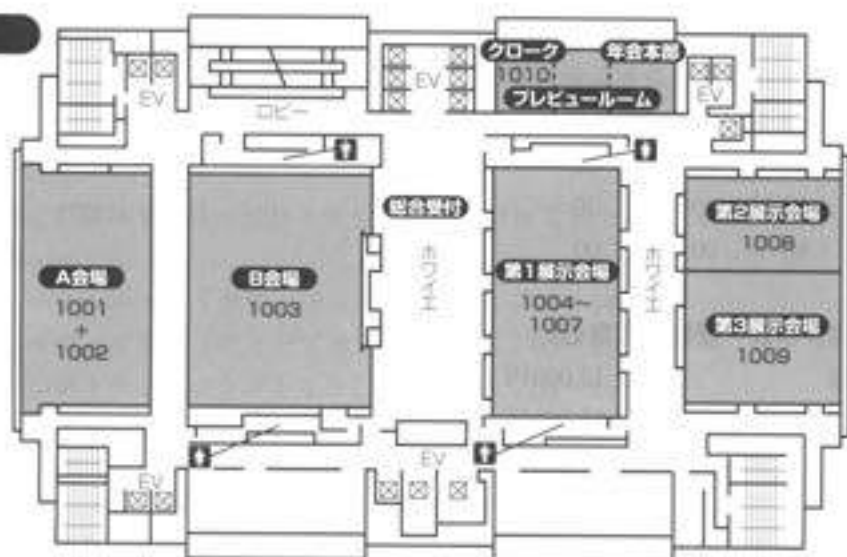
- JR大阪駅から市バス
（53系統船津橋行または幹55系統鶴町四行）で15分
「堂島大橋」バス停下車すぐ（200円）
またはタクシーで10分（約1,000円）
- JR大阪環状線、阪神電気本線「福島駅」から徒歩10分
- JR東西線「新福島駅」から徒歩10分
- 地下鉄中央線、千日前線「阿波座駅」から徒歩10分
- 地下鉄四ツ橋線「肥後橋駅」から徒歩15分



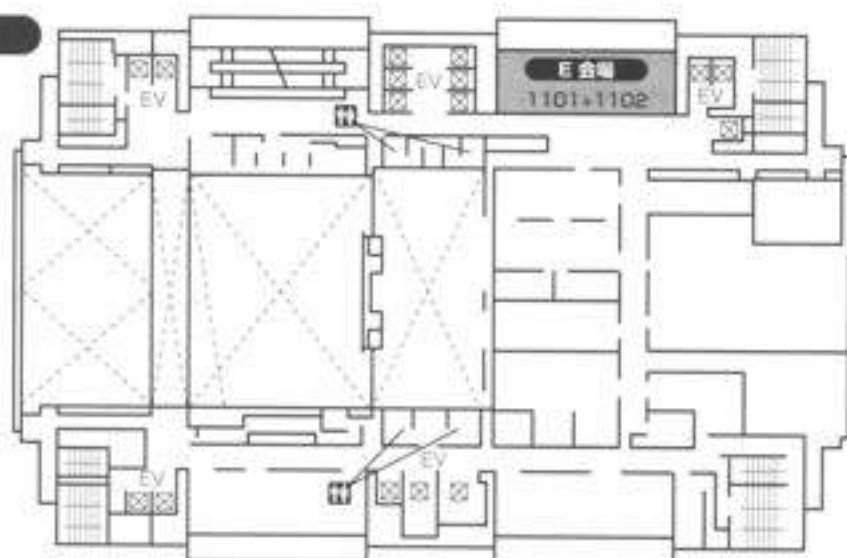
はシャトルバス専用バス停

会場案内図

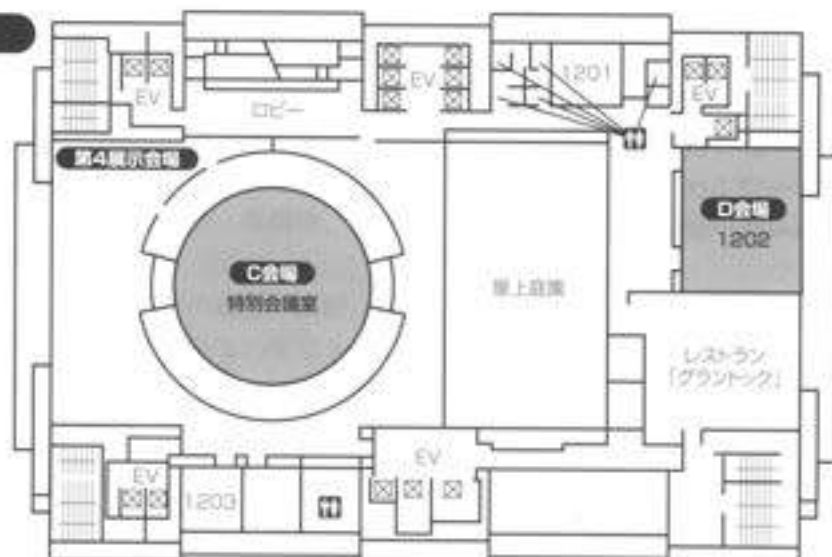
10F



11F



12F



参加者へのご案内とお願い

1. 総合受付

参加登録・総合案内・ランチョンセミナー受付・トラベルデスク

場 所：大阪国際会議場（以下、会議場） 10階ホワイエ

日 時：7月6日（火）8：00～18：00

7月7日（水）8：00～16：30

7月8日（木）8：00～16：00

2. 参加登録費（プログラム・要旨集代含む）

学 会 員 12,000円

非学会員 15,000円

学生会員 5,000円

懇親会費 12,000円（受付は7日（水）17：00まで）

英文抄録掲載料（主発表者のみ） 2,000円；※原稿はプレビュールームにてご提出ください。

ご注意：

※非会員の学生は、学生証の提示及び指導教授（全員に限る）の紹介状が必要です。参加費は、学生会員に準じます。

※お支払はすべて現金のみです。

※プログラム・要旨集を別途ご希望の場合は、総合案内にて1部5,000円で頒布します。

3. ネームプレート

年会参加者・展示出展者は所属・氏名を明記したネームプレートを必ず着用してください。

4. クローク

総合受付付近に設置しております。貴重品はお預かりできませんのであらかじめご了承ください。

7月6日（火）8：00～20：15

7月7日（水）8：00～19：00

7月8日（木）8：00～17：30

5. 器機・書籍等展示会

場 所：10階 第1、2、3展示会場、12階 第4展示場

7月6日（火）9：00～17：00

7月7日（水）9：00～17：00

7月8日（木）9：00～15：30

6. 懇親会

7月7日（木）18：45～20：45

リーガロイヤルホテル タワーウイング 3階「ロイヤルホール」

※会議場1階より連絡通路があります。

※当日参加ご希望の方は、7日（木）17：00までに会議場10階の受付にてお申送ください。

7. お食事

会議場および隣接するリーガロイヤルホテル内のレストランをご利用ください。

*会議場

2階 ティールーム「カフェキューブ」 (9：00～18：00)

5階 カフェテリア「キューブサンク」 (11：00～21：00)

12階 レストラン「グラントック」 (11：00～14：00)

*リーガロイヤルホテル

地下1、2階・1階・15階・29階・30階・アネックス7階に、各種レストランがございますので、ご利用ください。

なお、会期中、各講演会場にてランチョンセミナーを開催します。お弁当の数に限りがありますので、ご希望の方は10階のランチョンセミナー受付にて事前申込をしてください（8:00より整理券を配布します）。

8. ドリンクサービス

10階の第1・第3展示会場内でサービスを行います。

9. 宿泊・交通案内

総合受付のJTBトラベルデスクまでお尋ねください。

10. 緊急連絡

会場内での呼び出しはおこないません。総合受付に掲示板を設置いたしますので、参加者相互の連絡にご利用ください。

11. 服装

会場内での服装はスマートカジュアル（軽装・普段着）でお越しください。

12. 会場内でのご注意

- ・年会の運営・進行および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固くお断りします。
- ・動物、病原体、危険物、毒劇物、爆発物、麻薬、酒類、銃刀類等の持込、使用、展示および販売は禁止します。
- ・許可なく、会場内での録音、撮影、収録は固くお断りします。
- ・会場内では、携帯電話等の電源をお切りになるかマナーモードにしてください。
- ・会場内は全て禁煙です。会議場内の指定された場所での喫煙をお願いします。

13. 年会事務局（会期中）

会議場10階 主催者控室内

Notice to Participants

1. Main Reception:

Registration / Information / Luncheon Seminar Registration / Travel Desk

Place: Lobby, 10th Floor, Osaka International Convention Center (hereinafter "OICC")

Dates and Times: July 6 (Tue) 08:00-18:00

July 7 (Wed) 08:00-16:30

July 8 (Thu) 08:00-16:00

2. Registration Fees (Includes Program and Book of Abstracts):

Member JPY12,000

Non-member JPY15,000

Student Member JPY 5,000

Banquet JPY12,000 (Reservations open until July 7 (Wed), 17:00)

Publishing fee for English Abstracts (Main Presenter only) - JPY2,000

※ Please submit your manuscript to the Preview Room.

Note:

※ Students who are non-members must present their Student ID cards as well as a Letter of Introduction from their academic supervisor (who must be a Member of the Society). Registration fees are as per Student Members.

※ Payment will be accepted in cash or by.

※ Extra copies of the Program and Book of Abstracts are available at JPY5,000 per issue.

3. Name Tags:

All participants and exhibitors are required to wear their Name Tags displaying their name and affiliation at all times.

4. Cloakroom:

The Cloakroom will be set up next to the Main Reception. Please note valuables will not be accepted.

Operating Hours are as follows:

July 6 (Tue) 08:00-20:15

July 7 (Wed) 08:00-19:00

July 8 (Thu) 08:00-17:30

5. Apparatus and Literature Display:

Place: 10th Floor, Exhibition Rooms 1, 2, 3 and 12th Floor, Exhibition Room 4.

July 6 (Tue) 09:00-17:00

July 7 (Wed) 09:00-17:00

July 8 (Thu) 09:00-15:30

6. Banquet:

July 7 (Wed) 18:45-20:45

Royal Hall, 3rd Floor Tower Wing, Rihga Royal Hotel

※ There is walk-through access from the 1st Floor of OICC.

※ Bookings on the day can be made at the Reception Desk on the 10th Floor of OICC by 17:00.

7. Eating Facilities:

Please use the restaurants in the OICC or the adjacent Rihga Royal Hotel.

A limited number of Japanese-style boxed lunches will be available during the conference. Please make advance orders the Luncheon Seminar Reception Desk on the 10th Floor. Numbered tickets are handed out from 8:00.

8. Beverage Service:

Beverages will be available on the 10th Floor in Exhibition Rooms 1 and 3.

9. Accommodation and Transportation:

Please enquire at the JTB Travel Desk located at the Main Reception.

10. Emergency Contact Service:

There will be no paging service available within the venue. Please use the Message Board located at the Main Reception to contact fellow participants.

11. Dress Code:

Smart-Casual (light / informal) within the venue.

12. Within the Conference Area:

- Participants must be 18 years of age or older to attend the Meeting.
- To ensure the smooth operation of proceedings and the security of participants, persons who are intent on causing acts of terrorism or sabotage are prohibited from entering.
- It is prohibited to bring, use or sell animals, disease agents, dangerous materials, toxic substances, explosives, drugs, alcohol or weapons.
- It is prohibited to record or film any portion of proceedings or inside the venue, without prior permission.
- Please switch mobile phones off, or set to silent mode, inside the venue.
- All areas of the venue are strictly non-smoking. Please smoke in the designated smoking areas only.

13. Registration Secretariat:

Organizer's Common Room, 10th Floor OICC

発表者・座長の方へ

*特別企画の座長へのお願い

1. 受付の必要はありません。セッション開始10分前には、次座長席にご着席ください。
2. 演者の発表・討論時間：座長に一任

*一般演題（口頭）の座長へのお願い

1. 受付の必要はありません。セッション開始10分前には、次座長席にご着席ください。
2. 演者の発表・討論時間は下記のとおりです。
一般演題（口頭）発表時間：発表9分、討論3分

*特別企画ご講演の方及び一般演題（口頭）発表者へのお願い

※パソコンの持ち込み不可。

講演・討論時間：座長に一任

一般演題発表・討論時間：発表9分、討論3分

優秀研究発表賞応募者口演：発表3分、質疑・応答2分

終了1分前に青ランプ、終了時に赤ランプでお知らせいたします。

発表形式

1. 発表機材はPCプレゼンテーション（1面映写）のみといたします。パソコン本体を持ち込むのではなく、発表用データはUSBメモリー（スティック型のメモリー）に保存してください。USBメモリーのみ受け付けます。（バックアップとしてCD-ROMをご持参ください。）
スライドは使用できませんので、ご注意ください。
2. 口演中の画像操作は、演台に置かれたモニターを見ながらご自身でマウスを操作して画面を進めていただきます。なお、発表データは専門のオペレーターが登壇時に用意いたします。

発表用データの作成

1. 会場で使用するパソコンのOSおよびアプリケーションは以下のとおりです。

Windows XP: Power Point 2002 (Office XP)

Macintosh OS X: Power Point X (Office v.X)

発表用データは、USBメモリーに保存の上、ご持参ください。保存いただく際には、フォルダー名に必ず、演題No.、OS名を入力してください。

例：特別講演の場合 → PL-0 Win.

一般演題の場合 → O-00000 Mac.

注）USBメモリー内への他データの保存は、混乱のもととなりますので極力避けてください。

2. アプリケーションは以下のものをおすすめいたします。

Windows 版Power Point 2002/ Power Point 2000

Macintosh 版Power Point X/ Power Point 2001

3. フォントはOSに標準で装備されているものでお願いいたします。
4. 音声・動画は利用できません。

受付方法

1. 発表開始40分前までには、プレビュールームで受付をし、USBメモリーにラベルシールを貼り付け、PC出力チェックを行ってください。その際、文字化け、段落の崩れ、動画の確認をお願いします。
2. 発表30分前にご自身で、各会場内USBメモリー受付（会場内の演台手前）に、USBメモリーをお持ちください。
3. 発表10分前には、次演者席にご着席ください。
4. 発表時は、演台のモニターおよびマウスを使ってご発表をお願いします。
5. 発表終了後ただちに、USBメモリー受付でUSBメモリーをお受け取りください。

質疑応答

討論者はあらかじめ会場内の討論用マイク後方に並び、座長の指示に従って所属と氏名を述べたあと、簡潔に発言してください。

優秀研究発表賞ポスタープレゼンテーション発表者の方へ

1. 受賞者の発表は、最終日の8日（木）正午頃、10階総合受付にて掲示します。
2. 表彰式は8日（木）14：00より、B会場にて行います。受賞者は15分前までに会場にお越しください。受賞者には賞金と賞状が授与されます。

*一般演題（ポスター）発表者へのお願い

1. 会場 大阪国際会議場10F 第1, 2, 3展示会場です。
貼付、撤去時間は下記のとおりです。

ポスター番号	貼付時間	質疑・応答	撤去時間
P6-01～58	9:00～10:00	6日(火) 13:00～14:00	17:00～17:30
P7-01～64		7日(水) 14:00～15:00	
P8-01～51		8日(木) 13:00～14:00	15:00～15:30

2. 展示方法 演題番号をご確認の上、所定の場所にポスターを提示してください。ブッシュピン、演者用リボンは、パネルの所に用意してあります。パネルは横120cm、縦180cmですが、見やすさを考え、なるべくパネル上部に収まるように留意してください。指定のパネルの上部に演題名、氏名（演者に○印）、所属を記入した物（横100cm、縦20cm）を、その下に「目的」、説明文をつけた図表、「要約」などを提示してください。



3. 説明・討論 セッション開始10分前までにパネルの前におこしください。座長はおりませんので、定刻になりましたら始めてください。演者は説明・討論時間（上記表参照）の間、各パネルの所に用意してあるリボンをつけて質疑応答してください。演者の変更は原則として出来ません。やむを得ない理由により演者を変更する場合には、年会事務局へ申し出てください。
4. 撤去 ご使用になったブッシュピン、演者用リボンは、紙コップに入れ、パネル下部に貼り付けてください。撤去時間を過ぎても、引き取りに来られない場合は、年会事務局にて処分いたします。

To Presenters and Chairpersons

* Request to Special Program Chairpersons:

1. There is no need to report to the Reception Desk. Please be seated in the chair marked "Next Chairman" 10 minutes prior to the beginning of your session.
2. Presentation and discussion times for Symposists are at the discretion of the chairperson.

* Request to Chairpersons (Oral):

1. There is no need to report to the Reception Desk. Please be seated in the chair marked "Next Chairman" 10 minutes prior to the beginning of your session.
2. Presentation and discussion times for Oral presentations are as follows:
Presentation: 9 minutes
Discussion: 3 minutes

* Request to Special Program Lecturers and Presenters (Oral):

※ You may **NOT** bring your own computer.

Lecturers:	Lecture and discussion times at the discretion of the Chairperson
Presenters (Oral):	Presentation: 9 minutes Discussion: 3 minutes
Outstanding Researcher Award Poster Discussion Session:	Presentation: 3 minutes Question/Answer: 2 minutes Green lamp - 1 minute remaining Red lamp - Time up

Presentation Format

1. The only equipment provided for presentations will be a single-screened PC.
Do not bring your own laptop. Please save your presentation data onto a USB Memory stick. Data will be accepted in this format only. Please bring a back-up copy of your data on CD-ROM.
Please be aware that slide presentations will not be possible.
2. There will be a monitor placed on the podium during the Presentation, and presenters will be able to proceed to the next screen using a mouse. The Operator will prepare the data when it is time for the Presenter to take the podium.

Presentation Construction

1. The OS and applications for the PC provided for presentations are as follows:
Windows XP: PowerPoint 2002 (Office XP)
Macintosh OS X: PowerPoint X (Office v.X)

Please bring you data saved on a USB Memory Stick. Please be sure to correctly and clearly label the file with your Presentation Number and the OS Name.

L.e.: For Special Program Presenters → PL-0 Win.

For General Presentations (Oral) → O-00000 Mac.

※ NOTE: Please do not save other data in addition to your Presentation on your USB Memory stick as this will create confusion.

2. The following applications are recommended for constructing your presentation:
Windows - PowerPoint 2002 / PowerPoint 2000
Macintosh - PowerPoint X / PowerPoint 2001

- The fonts for your Presentation should be standard ones like MS Mincho or MS Gothic. Do not use special or downloaded fonts. To avoid technical problems and delays with downloading times, please do not use special characters, large data files, or logo marks.
- Please do not use sound or moving images.

On the day

- Forty (40) minutes prior to your Presentation time please bring your USB Memory stick to the Preview Room to receive your label for the memory stick, and have the data checked for compatibility. At that time please also check your data for corruptions, such as garbled characters, breaks in paragraphs, etc.
- Thirty (30) minutes prior to your Presentation time, please take the USB Memory stick to the USB Memory Stick desk (located in front of the conference room).
- Please be seated in the "Next Speaker" seats 10 minutes prior to your Presentation time.
- During your Presentation, please use the monitor and mouse provided on the podium.
- Please remember to collect your USB Memory stick from the USB Memory stick desk at the completion of your Presentation.

Discussion time

Individuals wishing to ask questions will line up at the microphone provided in the conference room. Upon signal from the Chairperson, they will wait for the instructions of the Chairperson.

Information regarding Presenters for the Outstanding Researcher Award

- The name of the winner will be displayed on the final day, July 8, at noon, at the Main Reception on the 10th floor.
- The awards ceremony will take place from 14:00 on July 8, in Conference Room B (10th Floor, 1003). Award winners are requested to come to Conference Room B by no later than 13:45. Award winners will receive prize money and a certificate.

* Request to Presenters (Poster)

- Room:** Exhibition Rooms 1, 2, and 3, 10th Floor, OICC
Mounting and removal times are as follows:

Poster number	Mounting times	Question and Answer	Removal times
P6-01-58	09:00-10:00	July 6 (Tue) 13:00-14:00	17:00-17:30
P7-01-64		July 7 (Wed) 14:00-15:00	
P6-01-51		July 8 (Thu) 13:00-14:00	15:00-15:30

- Exhibition:** After confirming your Poster number, mount your poster in the designated place. Pushpins, and Presenter's ribbons will be available at your panel. Although the panel will be 120 cm wide by 180 cm in length, try to keep the contents as high in position as possible to allow for easy viewing. In the designated area at the top of the panel (length 20 cm by width 100 cm), print the title of the Presentation, the name of the Presenter, and affiliation. Use the remaining space below as you like to display your "Objective", text, graphs and charts, "Summary" etc.
- Presentation • Discussion:**
Presenters are requested to come to the front of your panels 10 minutes before the presentation starts, and please start it on time. Presenters are required to wear the Presenter's ribbon at all times during presentation and discussion. As a general rule, switching presenters is not allowed. If, for unavoidable reasons, a switch in presenters is necessary, please contact the Registration Secretariat.
- Removal:** Please place pushpins, and your Presenter's ribbon in a paper cup and attach it to the bottom of the panel. Posters that have not been removed by 15:30 on July 8 will be removed and disposed of by the Registration Secretariat.

会場と催し物のご案内

7月6日 (火)	08:00	09:00	10:00	11:00	12:00	13:00
A会場 Hall A			Workshop 1 ICH関連免疫毒性 試験ガイダンスの動向 座長：澤田純一 筒井尚久			Luncheon Seminar1 Thyroid Dysplasia in Wistar-Kyoto Rats - a Hereditary Disorder 共催：RCC Ltd
B会場 Hall B			Symposium 1 低用量・閾値問題の新展開 座長：林 真 小野哲也			Luncheon Seminar2 The Use of Alternative Test Methods in Product Safety Evaluation 共催：セーフファーム・ ラボラトリーズ
C会場 Hall C			Symposium 2 薬剤による嘔吐発現と そのメカニズム 座長：松本剛夫 福井英夫			Luncheon Seminar3 Special Requirements for Testing Biotech Products for Reproductive Toxicity 共催：(株)CIR- マイケイアス
D会場 Hall D		優秀研究発表賞 応募者口演-1 消化器・代謝 座長：尾瀬隆彦	優秀研究発表賞 応募者口演-1 変異・ トキシコゲノミクス 座長：野村 謙	優秀研究発表賞 応募者口演-1 循環器系 座長：赤堀文昭		Luncheon Seminar4 臨床薬物相互 作用予測のための In Vitro 試験法 共催：(株)新日本科学
ポスター会場 1 10階展示会場 1 休憩場所 1		Poster and Exhibition Hall-1 ポスター発表・企業展示				
ポスター会場 2 10階展示会場 2		Poster and Exhibition Hall-2 ポスター発表・企業展示				
ポスター会場 3 10階展示会場 3 休憩場所 2		Poster and Exhibition Hall-3 ポスター発表・企業展示				
12階展示会場 休憩場所		Exhibition Hall 休憩場所				

13:00	14:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00	20:00
一般演題 (口演) 0-01~0-04 血液・免疫・アレルギー 座長：亀井千晃		PL-1 特別講演1 Phenotype-independent Toxicogenomics using "Percolome" and "Mile-feuille" data system 演者：菅野 純 座長：遠藤 仁	Workshop 2 遺伝子改変動物の 安全性試験における応用 座長：宮高宏彰 小林孝好		Satellite Symposium トキシコロジー研究と生命倫理 座長：海野 隆 宮高 宏彰		
一般演題 (口演) 0-05~0-09 統計解析・試験法・ 一般毒性 座長：北村和之		EL-1 教育講演1 薬物動態関連 遺伝子の多型と毒性 演者：横井 毅 座長：長尾 祐	Symposium 3 「創薬に役立つPharmacogenomics /Pharmacogenetics」 座長：佐藤哲男 内藤真策				大会B Hall B
優秀研究発表賞 応募者口演-2 腎・アレルギー・ 内分泌 座長：三浦克之		EL-2 教育講演 2 ダイオキシン類の 毒性発現メカニズム 演者：渡山千春 座長：安仁屋洋子	Symposium 4 ヒ素の汚染と毒性 座長：福島昭吉 園藤均史				大会C Hall C
優秀研究発表賞 応募者口演-3 神経・一般毒性 座長：小林晴男			Symposium 5 グルタミン酸の神経 およびグリアでの生理と病態 座長：工藤佳久 伊藤芳久				大会D Hall D
Poster Session 質疑応答		ポスター発表 企業展示					大会E Hall E
Poster Session 質疑応答		ポスター発表 企業展示					大会E Hall E
Poster Session 質疑応答		ポスター発表 企業展示					大会E Hall E
		Exhibition Hall 休憩場所					大会E Hall E

7月7日 (水) 08:00 09:00 10:00 11:00 12:00 13:00

A会場 Hall A		<p>Symposium 6 Idiosyncratic drug reactions</p> <p>座長：貞崎 淳 Jack Utrecht</p>	<p>PL-2 特別講演 2 Recent Advances in Chemical Allergy</p> <p>演者：Ian Kimber 座長：佐藤哲男</p>	<p>Luncheon Seminar5 Risk Assessment for effects of chemicals on male fertility</p> <p>共催：ユルビスビー(有)</p>
B会場 Hall B		<p>Symposium 7 レギュラトリーサイエンスと トキシコロジー研究 -「GLPと信頼性保証」-</p> <p>座長：大野春雄 長谷川義和 本坊敏保</p>	<p>EL-3 教育講演 3 時態薬理学と毒性</p> <p>演者：藤村昭夫 座長：安部陽一</p>	<p>Luncheon Seminar6 遺伝子発現解析による がん臨床試験における 有害事象、効果の評価</p> <p>共催：東洋化成研究所</p>
C会場 Hall C		<p>Symposium 8 バイオ医薬品の毒性評価</p> <p>座長：北條博史 吉野 伸</p>	<p>田邊賞授賞式/ 受賞講演</p> <p>演者： 1.宇波 明也 2. Tingting SUN 他 座長：永沼 章</p>	<p>Luncheon Seminar7 Current Issues in Juvenile Toxicity Testing</p> <p>共催：ハンティンドン ライフサイエンス(株)</p>
D会場 Hall D		<p>Workshop 3 トランスレーショナル リサーチの医薬品 開発における役割</p> <p>座長：宮島宏彰 八日市谷隆</p>		<p>Luncheon Seminar8 幼若動物毒性試験 -これまでの成績と FDAガイダンスを 踏まえた今後の方向性-</p> <p>共催：(株)イテリサーチ</p>
E会場 Hall E				<p>Luncheon Seminar9 PCRサイクルに 依存しない次世代の 定量的発現解析</p> <p>共催：東洋化成研究所</p>
ポスター会場 1 10階展示会場 1 休憩場所 1		<p>Poster and Exhibition Hall-1 ポスター発表・企業展示</p>		
ポスター会場 2 10階展示会場 2		<p>Poster and Exhibition Hall-2 ポスター発表・企業展示</p>		
ポスター会場 3 10階展示会場 3 休憩場所 2		<p>Poster and Exhibition Hall-3 ポスター発表・企業展示</p>		
12階展示会場 休憩場所		<p>Exhibition Hall 休憩場所</p>		

13:00	14:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00	20:00
評議員会 総会		PL-3 特別講演 3 薬剤性腎障害の 基礎と臨床 演者：栗田 剛 座長：土井邦夫	Symposium 9 薬物依存の分子機構 座長：瀧島俊隆				
	一般演題 (口演) 0-10~0-13 免疫性 座長：松本清司	PL-4 特別講演 4 Novel approaches in pre-clinical drug safety evaluation 演者：Helmut Seeger 座長：堀井郁夫	Symposium 10 レギュラトリーサイエンスと トキシコロジー研究 - 「新総合機構発足と 非臨床試験の相談・審査」 - 座長：佐井文郎 伏見 環				
	一般演題 (口演) 0-14~0-17 内分泌・発生生殖・ 免疫性・ トキシコゲノミクス 座長：松尾三郎	EL-4 教育講演 4 トランスクリプトーム 解析から見えてきた ES細胞の秘密 演者：山中伸弥 座長：三浦克之	Seminar 性を生物学的変数として 考慮した医薬品開発 座長：貴島富久子 鬼頭 剛			懇親会 リーガロイヤル ホテル	
	一般演題 (口演) 0-18~0-21 変異原性 座長：津田修治		Panel Discussion 1 免疫毒性研究における 新たな方向性 座長：佐藤哲男			18:45 ~ 20:45	
Poster and Exhibition Hall							
Poster and Exhibition Hall-1 ポスター発表・企業展示	Poster Session 質疑応答	ポスター発表 企業展示					
Poster and Exhibition Hall-2 ポスター発表・企業展示	Poster Session 質疑応答	ポスター発表 企業展示					
Poster and Exhibition Hall-3 ポスター発表・企業展示	Poster Session 質疑応答	ポスター発表 企業展示					
Exhibition Hall 休憩場所							

7月8日 (木) 08:00 09:00 10:00 11:00 12:00 13:00

<p>A会場 Hall A</p>		<p>Symposium 11 レギュラトリーサイエンスと トキシコロジー研究 - 「無毒性量 (NOAEL) の 定義とその意義を考える」 - 座長: 小野寺 謙志 門田 利人</p>	<p>EL-5 教育講演 5 Thresholds of toxicological concern and safety evaluation of food ingredients 演者: Ian C. Munn 座長: 林 真</p>	<p>Luncheon Seminar 10 Considerations for carcinogenicity study protocol submissions to the United States Food and drug administration 座長: コーエン・リノ・アキオ</p>
<p>B会場 Hall B</p>		<p>Workshop 4 ICH-S7B (QT延長評価に関する安全性薬理試験) のデータベース構築 座長: 山本 忠司 橋本 宗弘</p>	<p>EL-6 教育講演 6 QT延長と不整脈 演者: 橋本 敬太郎 座長: 橋本 英明</p>	<p>Luncheon Seminar 11 Trends in Safety Pharmacology and QT Prolongation Risk Assessment 毒性試験の最新動向 座長: 藤田 洋一 座長: 藤田 洋一</p>
<p>C会場 Hall C</p>		<p>Symposium 12 酸化ストレスと器官毒性 座長: 吉田 武美 三浦 克之</p>	<p>CL 学術 年会長講演 演者: 玄香 宗一 座長: 井上 達</p>	<p>Luncheon Seminar 12 Thresholds and Mechanisms in Genetic Toxicology and their Relevance in Safety and Risk Assessment 共催: RCC Ltd</p>
<p>D会場 Hall D</p>		<p>Symposium 13 毒性評価における新しい バイオマーカー (2) - 現状と将来への挑戦・ Toxicopanomicsなど - 座長: 堀井 郁夫 野村 謙</p>		<p>Luncheon Seminar 13 Intravenous Infusion at Invesrek 共催: (株) ACBONET</p>
<p>ポスター会場 1 10階展示会場 1 休憩場所 1</p>		<p>Poster and Exhibition Hall-1 ポスター発表・企業展示</p>		
<p>ポスター会場 2 10階展示会場 2</p>		<p>Poster and Exhibition Hall-2 ポスター発表・企業展示</p>		
<p>ポスター会場 3 10階展示会場 3 休憩場所 2</p>		<p>Poster and Exhibition Hall-3 ポスター発表・企業展示</p>		
<p>12階展示会場 休憩場所</p>		<p>Exhibition Hall 休憩場所</p>		

13:00	14:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00	20:00
一般演題(口演) 0-22~0-25 腎臓尿器 座長：杉本哲朗		Panel Discussion 2 毒性質問箱2004 「岐路に立つトキシコロジー： トキシコロジストの教育を考える」 座長：海野 隆 門田利人 玄香宗一					
	優秀研究発表賞 表彰式	Symposium 14 レギュラトリーサイエンスと トキシコロジー研究 －「毒性審査における当局側と 申請者側の考え方の共通点と相違点」－ 座長：佐藤洋一 中澤隆弘					
一般演題(口演) 0-26~0-28 中枢神経・循環器 座長：玉置俊晃		市民公開講演会 BSEと牛肉の安全 座長：橋本英明					
一般演題(口演) 0-29~0-32 細胞毒性 座長：田中慶一							
Poster Session 質疑応答	ポスター発表 企業展示						
Poster Session 質疑応答	ポスター発表 企業展示						
Poster Session 質疑応答	ポスター発表 企業展示						
Exhibition Hall 休憩場所							

座長一覧

■特別講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
遠藤 仁	PL-1	7月6日 (火)	14:20～15:30	A会場 (Hall A)
佐藤 哲男	PL-2	7月7日 (水)	11:00～11:55	A会場 (Hall A)
土井 邦夫	PL-3	7月7日 (水)	15:00～15:55	A会場 (Hall A)
堀井 郁夫	PL-4	7月7日 (水)	15:00～15:55	B会場 (Hall B)

■田邊賞授賞式/受賞講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
永沼 章		7月7日 (水)	11:00～11:57	C会場 (Hall C)

■学術年会長講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
井上 達	CL	7月8日 (木)	11:00～11:55	C会場 (Hall C)

■教育講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
長尾 拓	EL-1	7月6日 (火)	14:20～15:30	B会場 (Hall B)
安仁屋洋子	EL-2	7月6日 (火)	14:20～15:30	C会場 (Hall C)
安部 陽一	EL-3	7月7日 (水)	11:00～11:55	B会場 (Hall B)
三浦 克之	EL-4	7月7日 (水)	15:00～15:55	C会場 (Hall C)
林 真	EL-5	7月8日 (木)	11:00～11:55	A会場 (Hall A)
唐木 英明	EL-6	7月8日 (木)	11:00～11:55	B会場 (Hall B)

■シンポジウム1

座長	演題番号	日程	時間	会場
林 真	S1	7月6日 (火)	9:00～11:30	B会場 (Hall B)
小野 哲也	S1	7月6日 (火)	9:00～11:30	B会場 (Hall B)

■シンポジウム2

座長	演題番号	日程	時間	会場
松本 則夫	S2	7月6日 (火)	9:00～11:30	C会場 (Hall C)
福井 英夫	S2	7月6日 (火)	9:00～11:30	C会場 (Hall C)

■シンポジウム3

座長	演題番号	日程	時間	会場
佐藤 哲男	S3	7月6日 (火)	15:30～17:55	B会場 (Hall B)
内藤 真策	S3	7月6日 (火)	15:30～17:55	B会場 (Hall B)

■シンポジウム4

座長	演題番号	日程	時間	会場
福島 昭治	S4	7月6日(火)	15:30～17:55	C会場(Hall C)
圓藤 吟史	S4	7月6日(火)	15:30～17:55	C会場(Hall C)

■シンポジウム5

座長	演題番号	日程	時間	会場
工藤 佳久	S5	7月6日(火)	15:30～17:55	D会場(Hall D)
伊藤 芳久	S5	7月6日(火)	15:30～17:55	D会場(Hall D)

■シンポジウム6

座長	演題番号	日程	時間	会場
真鍋 淳	S6	7月7日(水)	8:30～10:55	A会場(Hall A)
Jack Utrecht	S6	7月7日(水)	8:30～10:55	A会場(Hall A)

■シンポジウム7

座長	演題番号	日程	時間	会場
大野 泰雄	S7	7月7日(水)	8:30～10:55	B会場(Hall B)
長谷川義和	S7	7月7日(水)	8:30～10:55	B会場(Hall B)
本坊 敏保	S7	7月7日(水)	8:30～10:55	B会場(Hall B)

■シンポジウム8

座長	演題番号	日程	時間	会場
北條 博史	S8	7月7日(水)	8:30～10:55	C会場(Hall C)
吉野 伸	S8	7月7日(水)	8:30～10:55	C会場(Hall C)

■シンポジウム9

座長	演題番号	日程	時間	会場
鍋島 俊隆	S9	7月7日(水)	16:00～18:25	A会場(Hall A)

■シンポジウム10

座長	演題番号	日程	時間	会場
佐神 文彦	S10	7月7日(水)	16:00～18:25	B会場(Hall B)
伏見 環	S10	7月7日(水)	16:00～18:25	B会場(Hall B)

■シンポジウム11

座長	演題番号	日程	時間	会場
小野寺博志	S11	7月8日(木)	8:30～10:55	A会場(Hall A)
門田 利人	S11	7月8日(木)	8:30～10:55	A会場(Hall A)

■シンポジウム12

座長	演題番号	日程	時間	会場
吉田 武美	S12	7月8日(木)	8:30～10:55	C会場 (Hall C)
三浦 克之	S12	7月8日(木)	8:30～10:55	C会場 (Hall C)

■シンポジウム13

座長	演題番号	日程	時間	会場
堀井 郁夫	S13	7月8日(木)	8:30～10:55	D会場 (Hall D)
野村 護	S13	7月8日(木)	8:30～10:55	D会場 (Hall D)

■シンポジウム14

座長	演題番号	日程	時間	会場
佐藤 洋一	S14	7月8日(木)	14:30～17:00	B会場 (Hall B)
中澤 隆弘	S14	7月8日(木)	14:30～17:00	B会場 (Hall B)

■ワークショップ1

座長	演題番号	日程	時間	会場
澤田 純一	W1	7月6日(火)	9:30～11:30	A会場 (Hall A)
筒井 尚久	W1	7月6日(火)	9:30～11:30	A会場 (Hall A)

■ワークショップ2

座長	演題番号	日程	時間	会場
宮崎 宏彰	W2	7月6日(火)	15:30～17:55	A会場 (Hall A)
小林 孝好	W2	7月6日(火)	15:30～17:55	A会場 (Hall A)

■ワークショップ3

座長	演題番号	日程	時間	会場
宮崎 宏彰	W3	7月7日(水)	9:00～10:55	D会場 (Hall D)
八日市谷隆	W3	7月7日(水)	9:00～10:55	D会場 (Hall D)

■ワークショップ4

座長	演題番号	日程	時間	会場
山本 恵司	W4	7月8日(木)	9:00～10:55	B会場 (Hall B)
橋本 宗弘	W4	7月8日(木)	9:00～10:55	B会場 (Hall B)

■パネルディスカッション1

座長	演題番号	日程	時間	会場
佐藤 哲男	PD1	7月7日(水)	16:00～18:00	D会場 (Hall D)

■パネルディスカッション2

座長	演題番号	日程	時間	会場
海野 隆	PD2	7月8日(木)	14:30～16:55	A会場 (Hall A)
門田 利人	PD2	7月8日(木)	14:30～16:55	A会場 (Hall A)
玄番 宗一	PD2	7月8日(木)	14:30～16:55	A会場 (Hall A)

■セミナー

座長	演題番号	日程	時間	会場
貞色富久子	Sm	7月7日(木)	16:00～18:00	C会場 (Hall C)
鬼頭 剛	Sm	7月7日(木)	16:00～18:00	C会場 (Hall C)

■サテライトシンポジウム

座長	演題番号	日程	時間	会場
海野 隆	SS	7月6日(火)	18:00～20:00	A会場 (Hall A)
宮崎 宏彰	SS	7月6日(火)	18:00～20:00	A会場 (Hall A)

■市民公開講演会

座長	演題番号	日程	時間	会場
唐木 英明	OF	7月8日(木)	14:30～16:55	C会場 (Hall C)

プログラム

JCL bioassay

JAPAN CLINICAL LABORATORIES, INC.
BIOASSAY DIVISION

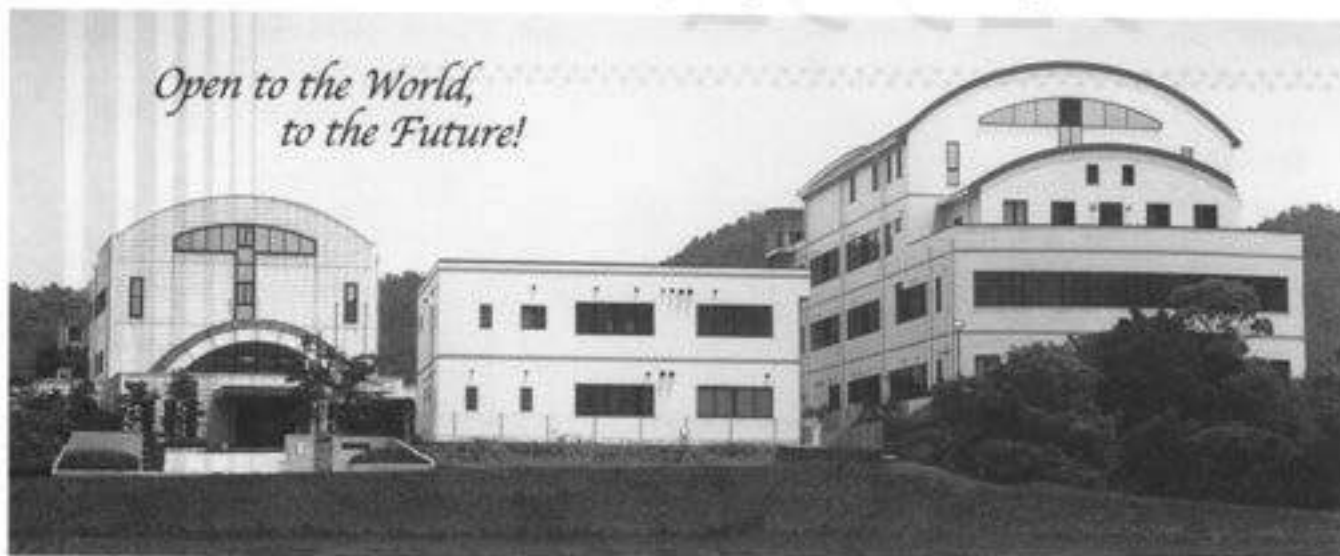


SD: Naoe YAMANE Pharmacist



SD: Noriko INOUE Ph.D. Pharmacist

Having skillful fingers with pliant joints, Female Researcher has an advantage by nature in the bioanalytical field requiring a delicate technique.



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, Nakabata-Cho, Nishiwaki-Shi, Hyogo 677-0032, Japan
Tel: 0795-23-5725 Fax: 0795-23-4756, E-Mail: bioinfo@jclbio.com

Osaka Laboratory

5-16-26, Minamisuita, Suita-Shi, Osaka 564-0043, Japan
Tel: 06-6338-8102 Fax: 06-6338-3775, E-Mail: bioinfo@jclbio.com

JCL bioassay Inc. 1840 Oak Avenue, Evanston, IL 60201, US

Tel: +1-847-866-0410

Fax: +1-847-570-4393 jclbioassay@jclbio.com

プログラム

■特別講演

■特別講演 1

7月6日(火) 14:20～15:30 A会場

PL-1

[Phenotype-independent toxicogenomics using "Percellome" and "Mille-feuille" data system]

J. Kanno, K. Aisaki, A. Ono, N. Nakatsu, Y. Kodama, K. Igarashi
(Cellular & Molecular Toxicology Division, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences)

座長：遠藤 仁(杏林大学)

■特別講演 2

7月7日(水) 11:00～11:55 A会場

PL-2

[Recent Advances in Chemical Allergy]

Ian Kimber (Syngenta Central Toxicology Laboratory)
座長：佐藤 哲男(千葉大学)

■特別講演 3

7月7日(水) 15:00～15:55 A会場

PL-3

[薬剤性腎障害の基礎と臨床]

菱田 明(浜松医科大学第一内科)
座長：上井 邦夫(東京大学大学院農学生命科学研究科)

■特別講演 4

7月7日(水) 15:00～15:55 B会場

PL-4

[Novel approaches in pre-clinical drug safety evaluation]

Helmut Sterz (Pfizer Global R & D, Safety Sciences, Head of Research Centre)
座長：堀井 郁夫(ファイザー(株))

■田邊賞授賞式／受賞講演

7月7日（水）11:00～11:57 C会場

座長：永沼 章（東北大学大学院薬学研究科生体防御薬学分野）

■受賞講演1

[Biochemical And Microarray Analyses Of Bupivacaine-Induced Apoptosis]

J. Toxicol. Sci., Vol. 28: No. 2, 77-94. (2003)

宇波 明（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部生体分子機能解析学分野）
（現 藤沢薬品工業（株））

■受賞講演2

[Differential Modulation Of Muscarinic Receptors In The Rat Brain By Repeated Exposure To Methyl Parathion]

J. Toxicol. Sci., Vol. 28: No. 5, 427-438. (2003)

Tingting SUN, Tangeng MA, Ing K. HO
(Department of Pharmacology and Toxicology,
University of Mississippi Medical Center, U S A)

■学術年会長講演

7月8日(木) 11:00～11:55 C会場

CL

「腎障害の発現機序」

玄番 宗一 (大阪薬科大学)
座長: 井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

■教育講演

■教育講演 1

7月6日(火) 14:20～15:30 B会場

EL-1

「薬物動態関連遺伝子の多型と毒性」

横井 毅 (金沢大学大学院医学系研究科・金沢大学薬学部)
座長: 長尾 拓 (国立医薬品食品衛生研究所)

■教育講演 2

7月6日(火) 14:20～15:30 C会場

EL-2

「ダイオキシン類の毒性発現メカニズム」

遠山 千春 (国立環境研究所・環境健康研究領域)
座長: 安仁塚洋子 (琉球大学大学院医学研究科)

■教育講演 3

7月7日(水) 11:00～11:55 B会場

EL-3

「時間薬理学と毒性」

藤村 昭夫 (自治医科大学臨床薬理学)
座長: 安部 陽一 (香川大学医学部薬理学)

■教育講演 4

7月7日(水) 15:00～15:55 C会場

EL-4

「トランスクリプトーム解析から見てきたES細胞の秘密」

山中 伸弥 (奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター)
座長: 三浦 克之 (大阪市立大学大学院医学研究科薬効安全性学)

■教育講演 5

7月8日(木) 11:00～11:55 A会場

EL-5

「Thresholds of toxicological concern and safety evaluation of food ingredients」

Ian C. Munro (CANTOX Health Sciences International)
座長: 林 真 (国立医薬品食品衛生研究所)

■教育講演6

7月8日(木) 11:00~11:55 B会場

EL-6

「QT延長と不整脈」

橋本敬太郎(山梨大学医学工学総合研究部薬理学教室)
座長:唐木 英明(日本学術会議会員)

■シンポジウム

■シンポジウム1 7月6日(火) 9:00~11:30 B会場

「低用量・閾値問題の新展開」

座長:林 真(国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部)
小野 哲也(東北大学大学院医学系研究科細胞生物学講座)

S1-1

「低線量率長期ガンマ線照射による生物影響と発がんリスク評価への寄与」
田中 公夫(財)環境科学技術研究所 生物影響研究部

S1-2

「化学物質の遺伝毒性における生物学的な閾値」
祖父尾俊雄((株)ノバスジーン)

S1-3

「発がん性試験における閾値形成要因とp53」
平林 容子(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)

S1-4

「環境発がん物質の閾値」
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)

S1-5

「生物統計の視点から考えられる閾値問題」
吉村 功(東京理科大学)

■シンポジウム2 7月6日(火) 9:00~11:30 C会場

「薬剤による嘔吐発現とそのメカニズム」

座長:松本 則夫(東京大学大学院薬学系研究科)
福井 英夫(武田薬品工業(株))

S2-1

「各種薬物による嘔吐機作研究」
福井 英夫(武田薬品工業(株) 医薬研究本部・薬剤安全性センター)

S2-2

「制癌剤誘起性嘔吐発現について」
南 勝、遠藤 泰、浜上 尚也、平藤 雅彦
(¹北海道医療大学薬学部薬理学教室、²医療法人社団常松会東栄病院)

S2-3

「臨床の場における抗癌剤による悪心・嘔吐制御の重要性」

岡田 守人（兵庫県立成人病センター・呼吸器外科）

S2-4

「悪心を指標とした制吐薬の新しい評価」

松本 剛夫（東京大学大学院薬学系研究科）

■シンポジウム3 7月6日（火）15:30～17:55 B会場

「創薬に役立つPharmacogenomics / Pharmacogenetics」

座長：佐藤 哲男（千葉大学）

内藤 真策（大塚製薬工場（株））

S3-1

「創薬に役立つPharmacogenomics/Pharmacogenetics」

佐藤 哲男（千葉大学）

S3-2

「トキシコゲノミクスプロジェクトの現状と展望」

漆谷 徹郎（国立医薬品食品衛生研究所）

S3-3

「薬物トランスポーターのファーマコゲノミクス：SNPの機能的実体に迫る！」

石川 智久（東京工業大学大学院生命理工学研究科）

S3-4

「ヒト培養肝細胞でのmRNA発現解析による酵素誘導の評価」

内藤 真策（（株）大塚製薬工場栄養研究所）

S3-5

「Pharmacogenomics/Pharmacogeneticsのビジネスモデル

患者本位の医療の実現を目指して」

宮田 満（日経BP社バイオセンター）

S3-6

「日本の製薬企業におけるゲノム創薬の問題点と意義」

殊才 孝則、川原 潤一、井上 秋晴、王鞍 孝子、小平 輝明、水木 康弘、根本 真吾、

松本 真一、務台 衛、内藤 真策、佐神 文郎

（日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会）

■シンポジウム4 7月6日（火）15:30～17:55 C会場

「ヒ素の汚染と毒性」

座長：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分野）

岡藤 吟史（大阪市立大学大学院医学研究科産業医学分野）

S4-1

「茨城県神栖町における有機ヒ素中毒（ジフェニルアルシン酸）について」

石井 一弘¹、岩崎 信明²、玉岡 晃¹

（¹ 筑波大学臨床医学系神経内科、² 筑波大学臨床医学系小児科）

S4-2

「ラット大腸菌によりメチルヒ素化合物から生成されるイオウ含有尿中ヒ素代謝物について」

古田 香、黒田 孝一、圓藤 吟史

(大阪市立大学医学部環境衛生学)

S4-3

「ジメチルヒ素化合物による培養哺乳類細胞の細胞毒性、遺伝毒性、中心体異常、多極紡錘体並びに形質転換作用の誘発」

越智 崇文¹、筒井 健機²

(¹ 帝京大学薬学部毒性学教室、² 日本歯科大学薬理学)

S4-4

「ジメチルヒ素活性代謝物の生成とヒ素発癌への寄与」

山中 健三 (日本大学薬学部環境衛生学研究室)

S4-5

「砒素の発がん機序の解明—動物モデルを用いた解析—」

鯨淵 英機、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)

■シンポジウム5 7月6日(火) 15:30~17:55 D会場

「グルタミン酸の神経およびグリアでの生理と病態」

座長：工藤 佳久 (東京薬科大学生命科学部)

伊藤 芳久 (日本大学薬学部)

S5-1

「海馬におけるグルタミン酸の動態と細胞内カルシウム濃度上昇を介した神経毒性」

工藤 佳久 (東京薬科大学生命科学部)

S5-2

「神経細胞におけるグルタミン酸輸送体の役割」

水見 敏行¹、池田 正行²、森田 育男³

(¹ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子情報伝達学

² (独) 医薬品医療機器総合機構

³ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学)

S5-3

「グルタメイトシグナリングにおける転写因子の役割」

萩田喜代一 (摂南大学薬学部薬理学研究室)

S5-4

「非競合的 N-methyl-D-aspartate 受容体拮抗薬を連続投与したマウスに認められる精神行動障害と N-methyl-D-aspartate 受容体シグナル伝達系の変化」

野田 幸裕、鍋島 俊隆

(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)

S5-5

「培養海馬切片における NMDA アゴニスト誘発神経細胞死の β -アミロイドによる増強：細胞死誘発経路の多様性」

伊藤 芳久、高木 規孝、石毛久美子

(日本大学薬学部薬理学研究室)

■シンポジウム6 7月7日(水) 8:30~10:55 A会場

「Idiosyncratic drug reactions」

座長：真鍋 淳 (三共ファーマ Inc.)
Jack Utrecht (Univ. of Toronto)

S6-1

「What are idiosyncratic drug reactions」

Sunao Manabe (Medicinal Safety, Sankyo Pharma Inc.)

S6-2

「特異体質性薬物毒性の経験：トログリタソンのケース」

池田 敏彦 (三共(株) 薬剤動態研究所)

S6-3

「Clinical perspective on idiosyncratic drug-induced liver injury」

井廻 道夫 (昭和大学医学部第二内科学)

S6-4

「Mechanistic Approach to Idiosyncratic Drug Reactions」

Tsuyoshi Yokoi (Graduate School of Medical Science, Kanazawa University)

S6-5

「Idiosyncratic Drug Reactions: Predicting the Unpredictable」

Jack Utrecht (Faculty of Pharmacy, University of Toronto)

■シンポジウム7 7月7日(水) 8:30~10:55 B会場

「レギュラトリーサイエンスとトキシコロジー研究ー「GLPと信頼性保証」ー」

座長：大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)
長谷川義和 (MPI)
本坊 敏保 (藤沢薬品工業(株))

S7-1

「OECD GLPと新しいin vitro試験法」

中西 良文 ((独) 産業医学総合研究所)

S7-2

「複数場所でのGLP試験ーTK測定、被験物質の物性試験などの対応」

長谷川義和 (日本QA研究会 GLP部会/MPI Research Inc.)

S7-3

「GLPと信頼性保証」

佐村 恵治 (万有製薬(株) 安全性研究所)

S7-4

「安全性薬理試験におけるGLP適用に関するアンケート調査」

齋藤 守 (エーザイ(株) / 日本製薬工業協会 (JPMA))

パネリスト：阿部 康治 ((独) 医薬品医療機器総合機構)

野村 章 (日本QA研究会)

■シンポジウム8 7月7日(水) 8:30~10:55 C会場

「バイオ医薬品の毒性評価」

座長：北條 博史(昭和薬科大学)

吉野 伸(神戸薬科大学)

S8-1

「Applications and challenges of toxicological evaluation of biological agents」

Jeanine L. Bussiere (Amgen Inc.)

S8-2

「バイオ医薬品非臨床試験ガイドライン解説の要点」

中澤 隆弘(日本イーライリリー(株)医薬開発研究所)

S8-3

「バイオ医薬品の毒性評価 -インフリキシマブを中心に-」

上田 志朗(千葉大学大学院薬学研究院医薬品情報学)

S8-4

「日本におけるバイオ抗体医薬品の safety データパッケージ構築の注意点について」

西村(鈴木)多美子((独)医薬品医療機器総合機構)

■シンポジウム9 7月7日(水) 16:00~18:25 A会場

「薬物依存の分子機構」

座長：鍋島 俊隆(名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学/医学部附属病院薬剤部)

S9-1

「神経ネットワークのリモデリング：細胞接着分子の観点から」

三木 直正、田中 秀和

(大阪大学医学系研究科第一薬理)

S9-2

「覚せい剤および麻薬依存に共通する内因性 anti-addictive および pro-addictive substances」

山田 清文^{1,2}、鍋島 俊隆²

¹ 金沢大学大学院自然科学研究科病院薬学、

² 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)

S9-3

「薬物依存におけるグルタミン酸トランスポーターGLT-1の役割」

中川 貴之、佐藤 公道

(京都大学薬学研究科生体機能解析学分野)

S9-4

「慢性疼痛下における morphine 依存不形成の分子機構」

成田 年、鈴木 勉

(星薬科大学薬品毒性学教室)

S9-5

「モルヒネ耐性・依存性形成における特異的脳局所部位での神経可塑性」

井上 誠、植田 弘師

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学研究室)

S9-6

「メタンフェタミンの神経毒性に対する腫瘍壊死因子およびグリア細胞株由来神経栄養因子の影響」

新田 淳美¹、山田裕一郎¹、丹羽 美苗¹、中島 晶¹、Liya Shen²、鍋島 俊隆¹

(¹ 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・医学部附属病院薬剤部、

² Laboratory of Mammalian Genes and Development, National Institute of Health)

■シンポジウム10 7月7日(水) 16:00~18:25 B会場

「レギュラトリーサイエンスとトキシコロジー研究

—「新総合機構発足と非臨床試験の相談・審査」—

座長：佐神 文郎 (エーザイ (株))

伏見 環 ((独) 医薬品医療機器総合機構)

S10-1

「医薬品開発相談・審査制度の日欧米比較と新総合機構への期待 (非臨床試験を中心に)」

仲野 貴子 (エーザイ (株) 薬事政策部)

S10-2

「Consultation and review process in the US and EU」

J. Vessotskie (MERCK Research Laboratories)

S10-3

「臨床試験実施側からみた非臨床試験の行政コンサルテーションへの要望」

菊池 康基 ((株) 国際医薬品臨床開発研究所)

■シンポジウム11 7月8日(木) 8:30~10:55 A会場

「レギュラトリーサイエンスとトキシコロジー研究

—「無毒性量 (NOAEL) の定義とその意義を考える」—

座長：小野寺博志 ((独) 医薬品医療機器総合機構)

門田 利人 (日本ベーリンガーインゲルハイム (株) / 日本製薬工業協会)

S11-1

「無毒性量検討の経緯と現状」

門田 利人 (日本ベーリンガーインゲルハイム (株) / 日本製薬工業協会)

S11-2

「医薬品の無毒性量とは」

松尾 三郎 (大阪府立大学大学院農学生命科学研究科)

S11-3

「無毒性量に関する製薬協アンケート結果と提言」

谷口 勝彦 (東レ (株) / 日本製薬工業協会)

S11-4

「無毒性量を求めるための毒性試験はいらない」

苗木 修 ((独) 医薬品医療機器総合機構)

■シンポジウム12 7月8日(木) 8:30~10:55 C会場

「酸化ストレスと器官毒性」

座長：吉田 武美 (昭和大学薬学部毒物学教室)
三浦 克之 (大阪市立大学大学院医学研究科)

S12-1

「酸化ストレスと腎障害」

西山 成 (香川大学医学部薬理)

S12-2

「酸化ストレスと腎線維化」

玉田 聡、桑原 伸介、古宮 俊幸、三浦 克之
(大阪市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学・薬効安全性学)

S12-3

「Role of the antioxidant system in oxidative liver and brain cell damage」

Regine Kahl (The Institute of Toxicology, University of Düsseldorf, Germany)

S12-4

「亜鉛と神経細胞毒性」

阿部 真治¹、土屋浩一郎²、大西 秀樹²、玉置 俊晃¹、滝口 祥命²、吉橋 正典¹
¹ 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部情報伝達薬理学、
² 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部薬物治療解析学)

S12-5

「毒性防御としての酸化ストレス応答機構」

吉田 武美、沼澤 聡、芦野 隆
(昭和大学薬学部毒物学教室)

■シンポジウム13 7月8日(木) 8:30~10:55 D会場

「毒性評価における新しいバイオマーカー(2)-現状と将来への挑戦・Toxicoponomicsなど-」

座長：堀井 郁夫 (ファイザー(株))
野村 護 (イナリサーチ(株))

S13-1

「新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 -心・肝・腎を中心として-」

高橋 光一、淺野間光治、天野 幸紀、上山 清市、黒田 聡子、田中 猛、百々 哲史、
吉岡 薫、内藤 真策、松澤 利明、佐神 文郎
(日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会)

S13-2

「Drug-Induced vascular injury in animals:Mechanisms and the path forward」

William D. Kerns (Pharma Consulting Inc)

S13-3

「Developing New Biomarkers of Toxicity For Clinical Trials」

Michael R. Bleavins (Safety Sciences-Michigan, Pfizer Global Research and Development, USA)

S13-4

「Biologic pharmaceutical safety assessment: Program design strategy」

Lauren E. Black (Charles River Laboratories, Discovery and Development Services, U.S.)

■シンポジウム14 7月8日(木) 14:30~17:00 B会場

「レギュラトリーサイエンスとトキシコロジー研究

ー「毒性審査における当局側と申請者側の考え方の共通点と相違点」ー」

座長：佐藤 洋一（(独)医薬品医療機器総合機構）

中澤 隆弘（日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会 非臨床審査Q&Aタスクフォース）

S14-1

「申請者側が抱える疑問：毒性照会事項に関するアンケート調査結果から」

井上 忠志（日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会 非臨床審査Q&Aタスクフォース）

S14-2

「申請者側からみた考え方の共通点と相違点」

原田 喜充（日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会 非臨床審査Q&Aタスクフォース）

S14-3

「『毒性Q&A』から読み取れる製薬会社と毒性審査担当者の毒性に対する考え方の違いと、今後の『毒性Q&A』の目指すものについて」

江島裕一郎（(独)医薬品医療機器総合機構）

S14-4

「申請者側が抱える疑問：薬理・薬物動態照会事項に関するアンケート調査結果から」

古田 盛（日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会 非臨床審査Q&Aタスクフォース）

■ワークショップ

■ワークショップ1 7月6日(火) 9:30~11:30 A会場

「ICH関連免疫毒性試験ガイドンスの動向」

座長：澤田 純一（国立医薬品食品衛生研究所）

筒井 高久（三菱ウエルファーマ（株））

W1-1

「ICHトピックS8：免疫毒性試験」

中村 和市（塩野義製薬（株）新薬研究所）

W1-2

「ICH免疫毒性データ調査について」

久田 茂（帝国臓器製薬（株）安全性・代謝研究部）

W1-3

「Immunotoxicology assessment, a U.S. CRO Perspective」

Robert Caldwell (Immunotoxicology Program, Covance Laboratories)

W1-4

「Immunotoxicity assessment of NCE's - a European Perspective」

Mark Wing (Huntingdon Life Sciences Ltd., UK)

■ワークショップ2 7月6日(火) 15:30~17:55 A会場

「遺伝子改変動物の安全性試験における応用」

座長：宮高 宏彰 ((株)新日本科学)

小林 孝好 (アムジェン (株))

W2-1

「トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験」

鈴木 孝昌 (国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部)

W2-2

「The use of transgenic and knock-out mice in the safety assessment of protein therapeutics」

Jeanine L. Bussiere (Amgen Inc.)

W2-3

「トランスジェニックマウスを用いるがん原性試験」

白居 敏仁 ((財)実験動物中央研究所)

W2-4

「Results of a validation carcinogenicity study using transgenic p53^{+/-} and transgenic ras H2 mice」

Keven Jackson¹, Keikou Okasaki¹, Yutaka Chihaya¹, Kenichi Sato¹, Mariko Koelling¹, Steven Meyer², Peter Mann²

(¹: SNBL USA, Ltd., ²: Experimental Pathology Laboratories, USA)

■ワークショップ3 7月7日(水) 9:00~10:55 D会場

「トランスレーショナルリサーチの医薬品開発における役割」

座長：宮高 宏彰 ((株)新日本科学)

八日市谷隆 ((株)新日本科学 / (株)ナノ・フリューション)

W3-1

「トランスレーショナルリサーチの医薬品開発における役割 -Introduction」

八日市谷隆 ((株)新日本科学 / (株)ナノ・フリューション)

W3-2

「バイオテクノロジー産業化の現状と課題」

白井 俊行 (経済産業省生物化学産業課)

W3-3

「大学技術を核とした事業創造の手法」

若林 拓朗 (先端科学技術エンタープライズ (株))

W3-4

「ライフサイエンス分野における産学連携 -ファイザー社の視点-」

平手 純司 (ファイザー (株)中央研究所研究連携戦略部)

■ワークショップ4 7月8日(木) 9:00~10:55 B会場

「ICH-S7B (QT延長評価に関する安全性薬理試験)のデータベース構築」

座長: 山本 恵司 (武田薬品工業(株)薬理安全性センター)

橋本 宗弘 (ファイザー(株)中央研究所)

W4-1

「hERGスクリーニングと試験データの再現性」

鶴河 裕治 ((株)薬物安全性試験センター 薬理研究所)

W4-2

「QT Interval prolongation: Project for database construction.

1) モルモット乳頭筋を用いた21薬剤によるAPD試験の結果について」

林 誠治 (日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

W4-3

「QT Interval prolongation: Project for database construction.

2) イヌテレメトリー試験のオーバービュー」

豊島 茂樹 (日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

W4-4

「QT Interval prolongation: Project for database construction.

3) サルテレメトリー試験のオーバービュー」

安東賢太郎 (日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

W4-5

「QT Interval prolongation: Project for database construction.

4) 麻酔イヌ試験のオーバービュー」

田邊 弘行 (日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

W4-6

「QT Interval prolongation: Project for database construction.

5) オーバービュー 薬物誘発性QT間隔延長に関する安全域とリスク評価」

小俣 武志 (日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

W4-7

「臨床からみたQTに関する非臨床試験」

伊藤 真紀 (塩野義製薬(株)医薬開発部)

■パネルディスカッション

■パネルディスカッション1 7月7日(水) 16:00~18:00 D会場

「免疫毒性研究における新たな方向性」

座長: 佐藤 哲男 (千葉大学)

PD1-1

「Measurement of Potency in Allergic Responses to Chemicals」

Ian Kimber (Syngenta Central Toxicology Laboratory, UK)

PD1-2

「Role of histopathology in immunotoxicity evaluation」

Shigeru Hisada (Safety and Pharmacokinetics Research Department, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.)

■パネルディスカッション2 7月8日(木) 14:30~16:55 A会場

「毒性質問箱2004「岐路に立つトキシコロジー：トキシコロジストの教育を考える」」

座長：海野 隆 (日本オルガノン安全性評価研究会)

門田 利人 (日本ベーリンガーインゲルハイム (株) 安全性評価研究会)

玄番 宗一 (大阪薬科大学)

PD2-1

「毒性質問箱2004「岐路に立つトキシコロジー：トキシコロジストの教育を考える」」

佐神 文彦 (エーザイ (株))

PD2-2

「トキシコロジストの教育を考える：—受託機関の場合—」

宮崎 宏彰 ((株)新日本科学)

PD2-3

「大学におけるトキシコロジストの養成：大学でのトキシコロジー教育の現状」

和久井 信 (麻布大学獣医学部動物応用科学科比較毒性学研究室)

PD2-4

「国立医薬品食品衛生研究所におけるトキシコロジストの教育について」

大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

■セミナー

7月7日(水) 16:00~18:00 C会場

「性を生物学的変数として考慮した医薬品開発」

座長：貴邑富久子 (横浜市立大学大学院医学研究科)

鬼頭 剛 ((株)新日本科学)

Sm-1

「『労働医学における性差』—『性差医学入門の意義』」

荒木 葉子 (NTT東日本首都圏健康管理センター 東京健康管理センター)

Sm-2

「脳におけるセックス差とジェンダー差」

貴邑富久子、船橋 利也、美津島 大、高瀬 堅吉

(横浜市立大学大学院医学研究科神経内分泌学部門)

Sm-3

「フォルマリン誘発侵害刺激に対する中枢神経系の反応の性差」

船橋 利也、萩原 裕子、貴邑富久子

(横浜市立大学大学院医学研究科神経内分泌学部門)

Sm-4

「性差医療：米国から日本へ」

天野 恵子 (千葉県衛生研究所)

Sm-5

「薬剤性誘発QT間隔延長に関する性差」

鬼頭 剛 ((株)新日本科学)

■サテライトシンポジウム

7月6日(火) 18:00～20:00 A会場

「トキシコロジー研究と生命倫理」

座長：海野 隆 (日本オルガノン)

宮脇 宏彰 ((株)新日本科学)

SS-1

「研究対象者保護法試案：生物医学研究における最重要課題として」

栗原千絵子 (科学技術文明研究所)

SS-2

「科学としてのトキシコロジーを支えるために」

増井 徹 (国立医薬品食品衛生研究所 細胞バンク (JCRB))

SS-3

「日本の製薬企業におけるトキシコロジー研究と実験動物福祉」

務台 尚 (三菱ウェルファーマ (株) 安全性研究所)

SS-4

「動物実験と生命倫理」

前島 一淑 (慶應義塾大学)

■市民公開講演会

7月8日(木) 14:30～16:55 C会場

「BSEと牛肉の安全」

座長：唐木 英明 (日本学術会議会員)

OF-1

「BSEとはどのような病気か」

山内 一也 (東京大学)

OF-2

「BSEの対策」

小澤 義博 (国際獣疫事務局)

OF-3

「食の安全と消費者の役割」

嘉田 良平 (放送大学)

■優秀研究発表応募者口演

7月6日(火) 9:00～9:50 D会場 薬物代謝・肝・消化器
座長：尾熊 隆嘉(塩野義製薬(株)新薬研究所)

P6-02

Enhancement of thioacetamide-induced liver cirrhosis by estradiol 3-benzoate in the rats

カンジンソック(大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理)

P6-04

薬物による催吐作用の評価代替法: ラットならびにスunksの摘出腹部迷走神経の脱分極反応の解析

根本 昌宏(日本赤十字北海道看護大学 基礎科学講座)

P6-05

Haloperidol投与による雄ラットの肝中CYP3A1誘導メカニズムについて一下垂体・卵巣を介する内因性ステロイドとの関係一

島田奈央子(三菱ウェルファーマ(株)創薬本部研究部門安全性研究所)

P6-07

オーラノフィンによるコカイン誘導肝障害防御作用とヘムオキシゲナーゼ-1誘導

芦野 隆(昭和大学薬学部毒物学教室)

P6-08

コカイン誘発肝障害における炎症性サイトカインの役割

内藤 弓子(昭和大学薬学部毒物学教室)

P6-33

Capsaicinの肝薬物代謝酵素系に対する影響

熊谷 正道(丸石製薬(株)中央研究所)

P6-34

Capsaicinの皮膚における代謝

森 照代(丸石製薬(株)中央研究所)

P6-37

NMR analysis for phospholipidosis/steatosis: urinary phenylacetyl-glycine/ hippuric acid as potential surrogate markers.

Ikuo Mori (Drug Safety Research Center and Chemistry Research Laboratories, Pharmaceutical Research Division, Takeda Chemical Research Industries, Ltd.)

7月6日(火) 9:50～10:40 D会場 発生・生殖変異原性・発癌性・トキシコゲノミクス
座長：野村 護((株)イナリサーチ)

P6-27

バルプロ酸による神経管閉鎖異常に関連した遺伝子探索

岡田 晃直(山之内製薬(株)安全性研究所)

P6-30

培養ラット胎児へのL-カルニチンの影響について

横山 萬(神奈川生命科学研究所)

P6-46

生殖毒性誘発化合物がラット精巣におけるタンパク質発現に及ぼす影響

山本 利憲 (ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部)

P6-54

血清含有及び無血清培地で培養したラット初代肝細胞における経時的遺伝子発現変化のDNAマイクロアレイによる解析

笠原 利彦 (国立医薬品食品衛生研究所)

P6-55

ラット初代培養肝細胞における遺伝子発現に対する細胞毒性の影響のDNAマイクロアレイによる解析

島塚 尚樹 (国立医薬品食品衛生研究所、トキシコゲノミクスプロジェクト)

P6-58

Amiodarone 投与によるリン脂質症誘発ラットにおけるリン脂質メタボローム解析

長谷川美奈 (大阪府立大学大学院獣医学専攻)

7月6日 (火) 10:40 ~ 11:30 D会場 循環器系

座長: 赤堀 文昭 (麻布大学獣医学部)

P6-11

麻酔心房ペースメーキング犬における薬物誘発性QT間隔延長と血中濃度相関の解析

宮内 慎 (持田製薬 (株) 創薬研究所)

P6-13

安全性評価としての3-D Echocardiographyによるカニクイザルの心臓左室容積及び収縮機能の測定

玉井 朝子 ((株) 新日本科学)

P6-14

薬剤性QT延長評価におけるモルモット telemetry systemの有用性

塩谷 元宏 (ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部毒性研究室)

P6-16

カニクイザルを用いた毒性試験における心電図QT補正に関する検討

林 良太 (武田薬品工業医薬研究本部薬剤安全性センター光支所)

P6-17

カニクイザルを用いた毒性試験における非観血的血圧測定法

松根 圭子 (武田薬品工業 (株) 医薬研究本部 薬剤安全性センター光支所)

P6-19

薬剤誘発性QT延長および催不整脈作用評価系としてのセボフルラン麻酔下モルモットの有用性

鈴木 栄子 (ノバルティスファーマ (株))

7月6日(火) 13:00~14:00 C会場 腎泌尿器・免疫・アレルギー・細胞毒性・内分泌
座長：三浦 克之(大阪市立大学大学院医学研究科)

P7-03

RBL-2H3細胞のIgE介在性脱顆粒反応における重金属カドミウムの影響に関する検討
福石 信之(徳島文理大学薬学部薬理学教室)

P7-13

腎糸球体障害進展におけるアルドステロンの役割
西山 成(香川大学医学部薬理学講座)

P7-15

セファロリジン腎障害におけるミトコンドリアでのフリーラジカル産生およびPKC δ の関与
幸田 祐佳(大阪薬科大学薬理学教室)

P7-16

腎虚血再灌流障害の発症・進展過程における一酸化窒素の役割について
中島 淳志(大阪薬科大学大学院 病態分子薬理学研究室)

P7-19

SOD阻害薬Diethyldithio-carbamic acid (DETC)のラット腎交感神経活動への影響
松向寺孝臣(香川大学 医学部 薬理学)

P7-20

中性アミノ酸トランスポーターLAT1結合タンパク質によるヒト膀胱癌由来T24細胞のアミノ酸輸送活性調節
ジャバン モハマド(杏林大学医学部薬理学)

P7-25

ERストレス性アポトーシスの発現に対するCaspase-9の関与
加藤 秀規(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)

P7-52

PCBによる血清中甲状腺ホルモン濃度低下の作用機構
大西 真央(静岡県立大学薬学部薬剤学教室)

7月6日(火) 13:00~14:00 D会場 内分泌・神経・一般毒性・その他
座長：小林 晴男(岩手大学農学部)

P7-28

注射針を用いた骨髄細胞数の簡便測定法の毒性評価への応用
斉藤 敏樹((財)日本生物科学研究所)

P7-41

化合物Aにより惹起された骨格筋障害は投与を継続したにも関わらず完全に回復する？
田中 宏治(三共(株)安全性研究所)

P7-46

仔ラットに及ぼす母ラットの低濃度カドミウム摂取の影響
中村 康宏(北里大学医療系研究科環境毒医科学研究室)

P7-47

有色ラットにおける視覚誘発電位を利用したエタンブトール (EB) の視覚毒性検出の検討
佐々木正治 (大正製薬 (株) 医薬研究所 安全性研究室)

P7-53

低および高用量エストロゲン処理におけるラット乳腺増殖・腫瘍化とエストロゲンレセプター
発現の変動比較
美谷島克宏 (日本たばこ産業 (株) 医薬総合研究所 安全性研究所)

P7-60

Levobupivacaineのラット脊髄内投与における脊髄内残存性
関 和代 (丸石製薬 (株) 中央研究所)

P7-63

白色LED光源一体型電極を利用したラットにおける Full-field ERG の検討
山下 晴洋 (大正製薬 (株) 医薬研究所 安全性研究室)

■一般演題（口演）

■血液・免疫・アレルギー

座長：亀井 千晃（岡山大学薬学部）

7月6日（火）13:00～13:55 A会場

O-01

ラット赤血球系造血能評価における投与期間の検討

○浅沼富美子¹、宮田 裕人¹、山下 晴洋¹、中村 勇²、岩城 理進²、木村 正明¹、
松本 清司²

（¹ 大正製薬（株）医薬研究所安全性研究室、² 信州大学ヒト環境科学研究支援センター）

O-02

自動血液検査装置を用いた骨髓細胞分類および骨髓有核細胞数の測定

○小嶋五百合、佐々木淳矢、中島 信明、原田 孝剛

（（財）残留農薬研究所）

O-03

経口トレランスに対する lipopolysaccharide (LPS) の効果

○八巻 耕也¹、原田 芳樹¹、A.H.M.Khurshid Alam²、Md.Asiam Hossain²、森 洋樹¹、
吉野 伸¹

（¹ 神戸薬科大学薬理学研究室、² Department of Pharmacy, Rajshahi University、³ 北海道医療
大学薬学部免疫微生物学）

O-04

メタロチオネイン欠損マウスマクロファージのLPS応答性NO産生低下

○伊藤 徳夫、柴山 寛司、中西 剛、田中 慶一

（大阪大学大学院薬学研究科 毒性学分野）

■統計解析・試験法・一般毒性

座長：北村 和之（田辺製薬（株）安全性研）

7月6日（火）13:00～14:05 B会場

O-05

コンピュータによる新しい変異原性予測システム

○猿渡 雄彦¹、中西 良文¹、後藤 純雄²、松島泰次郎³

（¹（独）産業医学総合研究所、² 国立環境研究所、³ 日本バイオアッセイ研究センター）

O-06

薬物探索研究早期の in vivo 安全性スクリーニング試験、in vivo Mini-tox study の紹介（1）
TK、FOB、自発運動測定、循環器系検査

○佐藤 諒、白井 真紀、真子 智美、山田 弘、堀井 郁夫

（ファイザー（株）中央研究所）

O-07

無毒性量に関するアンケート調査結果報告(1) -無毒性量の考え方-

柴田 雅美¹、○永山 隆²、斉藤 明美³、木村 重紀⁴、柴田亜希子⁵、城戸 昭彦⁶、
谷口 勝彦⁷、門田 利人⁸、松澤 利明⁹、佐神 文郎¹⁰

(¹ 日本製薬工業協会/日研化学(株)、² 日本製薬工業協会/ユーシービージャパン(株)、³ 日本製薬工業協会/アボットジャパン(株)、⁴ 日本製薬工業協会/住友製薬(株)、⁵ 日本製薬工業協会/日本オルガノン(株)、⁶ 日本製薬工業協会、⁷ 日本製薬工業協会/東レ(株)、⁸ 日本製薬工業協会/日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、⁹ 日本製薬工業協会/山之内製薬(株)、¹⁰ 日本製薬工業協会/エーザイ(株))

O-08

無毒性量に関するアンケート調査結果報告(2)

-無毒性量に関する当局の指摘と各企業の対応について-

○木村 重紀¹、柴田亜希子²、柴田 雅美³、永山 隆⁴、斉藤 明美⁵、城戸 昭彦⁶、
谷口 勝彦⁷、門田 利人⁸、松澤 利明⁹、佐神 文郎¹⁰

(¹ 日本製薬工業協会/住友製薬(株)、² 日本製薬工業協会/日本オルガノン(株)、³ 日本製薬工業協会/日研化学(株)、⁴ 日本製薬工業協会/ユーシービージャパン(株)、⁵ 日本製薬工業協会/アボットジャパン(株)、⁶ 日本製薬工業協会、⁷ 日本製薬工業協会/東レ(株)、⁸ 日本製薬工業協会/日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、⁹ 日本製薬工業協会/山之内製薬(株)、¹⁰ 日本製薬工業協会/エーザイ(株))

O-09

安全性評価における無毒性量の判断基準と意義

○斉藤 明美¹、永山 隆²、柴田 雅美³、木村 重紀⁴、柴田亜希子⁵、城戸 昭彦⁶、
谷口 勝彦⁷、門田 利人⁸、松澤 利明⁹、佐神 文郎¹⁰

(¹ 日本製薬工業協会/アボットジャパン(株)、² 日本製薬工業協会/ユーシービージャパン(株)、³ 日本製薬工業協会/日研化学(株)、⁴ 日本製薬工業協会/住友製薬(株)、⁵ 日本製薬工業協会/日本オルガノン(株)、⁶ 日本製薬工業協会、⁷ 日本製薬工業協会/東レ(株)、⁸ 日本製薬工業協会/日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、⁹ 日本製薬工業協会/山之内製薬(株)、¹⁰ 日本製薬工業協会/エーザイ(株))

■発癌性

座長：松本 清司(信州大学ヒト環境科学研究支援センター)

7月7日(水) 14:10~15:00 B会場

O-10

Study of arsenicosis in Bangladesh: Relationship of as level in urine and hair and health condition

○Md. Ahsan. Habib, Takuhiro Miki, Kaoru Yoshida, Koichi Kuroda, Yuko Kumai, Ginji Endo
(Department of Preventive Medicine and Environmental Health, Osaka City University Medical School.)

O-11

Indole-3-carbinolのcytochrom P450酵素誘導を介したラット子宮内膵腺癌促進作用

○吉田 緑¹、中江 大¹、前川 昭彦²

(¹ 佐々木研究所病理部、² 佐々木研究所)

O-12

マウス二段階肝発がんモデルを用いた dicyclanil による肝発がんメカニズムの分子病理学的解析

○本 光喜¹、岡村 美和¹、武藤 明子²、樫田 陽子¹、三森 国敏¹

(¹ 東京農工大学農学部獣医学科家畜病理学講座、² 吉林大学医学部薬理学講座)

O-13

ノルフロキサシンの *in vitro* 遺伝毒性および肝イニシエーション活性

○伊藤 格¹、佐々木 有²、佐賀 彩子²、橋谷木曜美²、酒井 洋樹²、樫田 陽子¹、
三森 国敏¹

(¹ 東京農工大学農学部獣医学科家畜病理学講座、² 八戸工業高等専門学校物質工学科、³ 岐阜大学農学部獣医学科獣医病理学講座)

■内分泌・発生生殖・発癌性・トキシコゲノミクス

座長：松尾 三郎（大阪府立大学大学院農学生命科学研究科）

7月7日（水）14:10～15:00 C会場

O-14

Phenobarbital による血清中サイロキシン濃度低下作用機構とその動物種差

○鈴木 寛¹、加藤 善久¹、滝口 理恵¹、大西 真央¹、生成 真一²、木村 良平¹

(¹ 静岡県立大学薬学部薬剤学教室、² 姫路工業大学理学部生命科学科生体物質化学Ⅰ講座)

O-15

Ethinylestradiol を周産期曝露したラット新生児の視床下部内側視索前野における網羅的遺伝子発現解析-用量依存性の検討-

○渋谷 淳、李 京烈、高木 広恵、加藤奈津美、識上 周、広瀬 雅雄

(国立医薬品食品衛生研究所)

O-16

rasH2 マウスの ENU 誘発前胃腫瘍における遺伝子発現解析の検討

○岡村 美和¹、住田 佳代²、武藤 明子³、樫田 陽子¹、町田 登¹、三森 国敏¹

(¹ 東京農工大・獣医病理、² 住友化学工業・生物環境科学研究所、³ 吉林大・医・薬理)

O-17

PHENOTYPE-INDEPENDENT TOXICOGENOMICS USING "PERCELLOME" AND "MILLE-FEUILLE" DATA SYSTEM

J Kanno, K Aisaki, A Ono, ○N Nakatsu, Y Kodama, K Igarashi

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

■変異原性

座長：津田 修治（岩手大学農学部獣医学科）

7月7日（水）14:10～15:00 D会場

O-18

p53R2 遺伝子発現を指標としたヒト細胞変異原性試験法の開発

- 大野 克利、東 幸雅、米田 幸生、山田 敏広
（日清食品（株）食品安全研究所）

O-19

ヒトチトクロームP450とヒトアセチル転移酵素による3-Nitrobenzanthroneの代謝的活性化

- 小田 美光¹、渡辺 徹志²、平山 晃久²
（¹ 大阪府立公衆衛生研究所、² 京都薬科大学）

O-20

コメットアッセイで検出されるDNA損傷は染色体異常として固定されるか？

- 佐賀 彩子、佐々木 有
（八戸工業高等専門学校）

O-21

p53 関連遺伝子の発現を指標としたRT-PCR法による遺伝毒性スクリーニング法の検討

- 長崎 修治、谷藤 久大、久田 茂、岩村 敏
（帝国臓器製薬（株）安全性・代謝研究部）

■腎泌尿器

座長：杉本 哲朗（中外製薬（株）安全性研究部）

7月8日（木）13:05～14:00 A会場

O-22

脳保護薬エダラボンのセファロチン及びグリセロール併用時におけるラット腎障害性に関する検討

- 大山 直樹、石井俊一郎、柴田 博、岡田味世子、井上 芳巳、杉本 次郎、新宅 芳久、
杉山 明男、務台 衛
（三菱ウェルファーマ（株）安全性研究所）

O-23

シスプラチンおよびネダプラチンによる腎細胞への取り込み量と腎障害発現との関係について

- 谷内 三郎、河合 悦子、岡原 茂喜、藤井 彩、中村 益久、玄番 宗一
（大阪薬科大学薬理学教室）

O-24

サイクロスポリンA（CysA）長期投与に対する腎内アンジオテンシンII（AngII）
受容体の発現調節

- 西山 成¹、松向寺孝臣¹、水井由紀子²、安部 陽一¹
（¹ 香川大学医学部薬理、² 香川大学医学部総合生命科学実験センター）

O-25

脳保護薬エタラボンのヒト腎臓由来細胞におよぼす影響

○岩瀬裕美子¹、大山 直樹¹、近藤 宏子²、木藤 貴之²、藤崎 浩³、高松 康雄²、
Genfu Chen⁴、Paul Silber⁴、務台 衛¹、筒井 尚久¹

(¹ 三菱ウェルファーマ (株) 安全性研究所、² 三菱ウェルファーマ (株) 薬物動態研究所、
³ 三菱ウェルファーマ (株) 品質管理部、⁴ In Vitro Technologies, Inc.)

■中枢神経・循環器

座長：玉置 俊晃 (徳島大学医学部)

7月8日 (木) 13:05～14:00 C会場

O-26

抗アレルギー薬の中樞抑制作用に関する検討

○四宮 一昭、重本 有紀、小西 優子、西賀 美幸、亀井 千晃
(岡山大・薬・薬物作用解析)

O-27

無拘束ラットの線条体におけるドパミンおよびセロトニン遊離に及ぼすヒレスロイド薬の影響

○ホサイムハマド・ムバラク¹、小林 晴男¹、鈴木 忠彦¹、佐藤 至¹、武脇 義¹、
鈴木 幸一²

(¹ 岩手大学獣医学科、² 岩手大学農業生命科学科、³ 岐阜大学大学院連合獣医学研究科)

O-28

Isoproterenol 投与によるラット心機能と血中心臓ホルモンの変動について

○大野 理絵、宮田 裕人、白根 里加、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)

■細胞毒性

座長：田中 慶一（大阪大学大学院薬学研究科）

7月8日（木）13:05～14:00 D会場

O-29

重金属暴露によるc-Jun NH2-terminal kinase 活性化

○松岡 雅人

（東京女子医科大学 衛生学公衆衛生学（一））

O-30

免疫系を介したin vitro肝毒性評価に有用なマウス肝細胞及び脾リンパ球の共培養系の検討

○川村 祐司、黒沢 亨

（明治製菓（株）医薬開発部門 動態安全性研究所 安全性研究室）

O-31

In vitro心毒性評価のためのラット心筋細胞培養条件の検討

○井上 智彰、塩田 明文、小林 和子

（中外製薬（株）鎌倉研究所 前臨床研究第二部）

O-32

ベンゼン代謝物によるDNA二重鎖切断の誘発

○高橋千太郎¹、武藤 奈子²、久保田善久¹、佐藤 宏¹、方 雅貴¹、
佐々木沙由里¹、岡安 隆一¹

（¹放射線医学総合研究所放射線安全研究センター、²静岡県立大学生活環境科学研究科）

■一般演題（ポスター）

7月6日（火）ポスターセッション 13:00～14:00

ポスター会場1（10階展示会場1）

■肝・消化器・循環器-1・発生生殖

P6-01

高ビリルビン尿症ラットで認められる tienilic acid による高ビリルビン血症の増強

- 西矢 剛淑、片岡 広子、森 和彦、菅原 正喜、古濱 和久
(第一製薬(株)安全性研究所)

◎P6-02 *優秀研究発表応募者*

Enhancement of thioacetamide-induced liver cirrhosis by estradiol 3-benzoate in the rats

- カンジンソック、鶴洲 英機、森村圭一郎、サリムエリサイド、福島 昭治
(大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理)

P6-03

TNBS誘発膵炎モデルにおける炎症と運動機能障害に対するTNF α の役割:TNF α KOマウスを用いた解析

- 塚 正敏¹、尾崎 博¹、百溪 英一²
(¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室、² 動物衛生研究所)

◎P6-04 *優秀研究発表応募者*

薬物による催吐作用の評価代替法:ラットならびにスunksの摘出腹部迷走神経の脱分極反応の解析

- 根本 昌宏¹、遠藤 泰²、浜上 尚也²、平藤 雅彦²、齋藤 秀哉¹、南 晴²
(¹ 日本赤十字北海道看護大学 基礎科学講座、² 北海道医療大学 薬学部 薬理学教室、³ 北海道医療大学 医療科学センター)

◎P6-05 *優秀研究発表応募者*

Haloperidol投与による雌ラットの肝中CYP3A1誘導メカニズムについて一下垂体・卵巣を介する内因性ステロイドとの関係一

- 島田奈央子、内海 博之、山本 敏誠、筒井 高久
(三菱ウェルファーマ(株)創薬本部研究部門安全性研究所)

P6-06

ラット肝障害モデルにおける肝細胞及び非実質細胞の遺伝子発現変動

- 山本 敏誠、内海 博之、島田奈央子、筒井 高久
(三菱ウェルファーマ(株)創薬本部研究部門安全性研究所)

◎P6-07 *優秀研究発表応募者*

オーラノフィンによるコカイン誘導肝障害防御作用とヘムオキシゲナーゼ-1誘導

- 芦野 隆、杉内 仁子、内藤 弓子、沼澤 聡、吉田 武美
(昭和大学薬学部毒物学教室)

◎P6-08 *優秀研究発表応募者*

コカイン誘発肝障害における炎症性サイトカインの役割

- 内藤 弓子¹、杉内 仁子¹、芦野 隆²、塩田 清二²、宝来 玲子²、浅野 雅秀²、
関川 賢二²、岩倉洋一郎²、沼澤 聡¹、吉田 武美¹

(¹ 昭和大学薬学部毒物学教室、² 昭和大学医学部第一解剖教室、³ 東京大学医科学研究所)

P6-09

胃排出能遅延モデルラットを用いたマレイン酸トリメブチンの胃排出改善作用の検討

- 玉川 恵、植田 由美、山本 由徳、大保真由美

(三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

P6-10

QT 間隔延長作用評価に関する *in vitro* 試験における偽陰性及び偽陽性作用

- 米沢 恵子、根岸 保則、津崎 健二、片山 義三、阿部かなえ、塩田 啓子、鶴淵 裕治

((株) 薬物安全性試験センター 薬理研究所)

◎P6-11 *優秀研究発表応募者*

麻酔心臓ペースメーカーにおける薬物誘発性QT 間隔延長と血中濃度相関の解析

- 宮内 慎、富田 和夫、那波 弘康、松戸 秀幸、横山 徹、柿沼 千早、山崎 文明、
萩原 珠男、柳橋 和利、大西 修平

(持田製薬(株) 創薬研究所)

P6-12

アステミゾール及びシプロフロキサシンの無麻酔イヌにおけるQTc 間隔に及ぼす影響

- 鎌田 満穂、中下 富雄、山本 恵司、佐藤 秀蔵

(武田薬品工業(株))

◎P6-13 *優秀研究発表応募者*

安全性評価としての3-D Echocardiographyによるカニクイザルの心臓左室容積及び収縮機能の測定

- 玉井 朝子¹、与那嶺春乃¹、吉川 哲也¹、下本 睦子²、角崎 英志¹、水田 良一¹、
鬼頭 剛¹

(¹ (株) 新日本科学、² フィリップメディカルシステムズ(株))

◎P6-14 *優秀研究発表応募者*

薬剤性QT 延長評価におけるホルモット telemetry system の有用性

- 塩谷 元宏¹、阿部 純子¹、原田 拓真¹、橋本敬太郎²、浜田 悦昌¹、堀井 郁夫¹

(¹ ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部毒性研究室、² 山梨大学大学院医学工学総合研究部 薬理学教室)

P6-15

Astemizole、E-4031、Ciprofloxacin及びVerapamilのイソフルレン麻酔下イヌにおける心室再分極時間に及ぼす影響

- 今井 京仁、鎌田 満穂、山本 恵司、佐藤 秀蔵

(武田薬品工業(株))

◎P6-16 *優秀研究発表応募者*

カニクイザルを用いた毒性試験における心電図QT 補正に関する検討

- 林 良太、吉川 義之、乾 嘉孝、大島洋次郎

(武田薬品工業(株) 医薬研究本部薬剤安全性センター 光支所)

◎P6-17 *優秀研究発表応募者*

カニクイザルを用いた毒性試験における非観血的血圧測定法

○松根 圭子、古川 義之、乾 嘉孝、大島洋次郎

(武田薬品工業(株)・医薬研究本部基剤安全性センター光支所)

P6-18

Haloperidol、dl-sotalolおよびpropranololの無麻酔無拘束ミニブタにおける心電図に及ぼす影響

○狩野真由美、豊吉 亨、岩崎 栄、加藤 正巳、坂井田泰二、清水 雅良、太田 隆雄

((株)日本バイオリサーチセンター)

◎P6-19 *優秀研究発表応募者*

薬剤誘発性QT延長および催不整脈作用評価系としてのセボフルラン麻酔下モルモットの有用性

○鈴木 栄子、越智 朋子、亀田 治子、水江 祐輔

(ノバルティスファーマ(株))

P6-20

胸部誘導によるビーグル犬の心電図QT間隔計測の有用性の検討

○原田 拓真、阿部 純子、塩谷 元宏、浜田 悦昌

(ファイザー(株))

P6-21

E-4031のモルモット右心室乳頭筋活動電位に対する影響

○加塩麻紀子、木内 洋一、山崎隆三郎、磯部 好彦、木村 正明

(大正製薬(株)医薬研究所安全性研究室)

P6-22

鶏胚を用いた発生毒性試験における標本数、浴媒の検討

○西村 泉、今井 節夫

((財)電力中央研究所)

P6-23

ラットの温浴処置による奇形発現

○古川 茂典、守水太賀彦、六角 香、江口 千恵、谷口 雄三、藤井登志之、西森 司雄

((株)環境バイロリス研究所)

P6-24

化合物Aで観察されたラットの催奇形性変化について

○田中 雅治¹、西村 達也¹、奥 春孝¹、鮫島 裕樹¹、阿瀬 善也¹、伊藤 圭一²、
今井 清²

(¹ 小野薬品工業(株)福井安全性研究所、² (財)食品農医薬品安全性評価センター)

P6-25

カニクイザルにおけるPenile vibrationによる精液採取とその精液性状について

○西村 正吾¹、マリナオシリヤコ¹、デ グスマンダン¹、ガブリエルジョセフ¹、原 洋明²

(¹ INA Research Philippines, Inc., ² (株)イナリサーチ)

P6-26

Nitrazepamを用いたフローサイトメトリー法による精巣毒性試験の検討

- 阿部 正義、白田 浩二、小川いづみ、古川 賢
(日産化学工業(株) 生物科学研究所 安全性研究部)

◎**P6-27** *優秀研究発表応募者*

バルプロ酸による神経管閉鎖異常に関連した遺伝子探索

- 岡田 晃宣、中間 清司、青木 嘉信、藤原 道夫
(山之内製薬(株) 安全性研究所)

P6-28

4, 6-Dinitro-o-cresol投与ラットに出現する異常精子の透過型電子顕微鏡による超微細構造観察

- 高橋 研、張替美智子、高橋 尚史、北條 仁、桑原 真紀、青山 博昭、寺本 昭二
(財) 残留農薬研究所)

P6-29

テトラゾリウム塩法、SQA法およびコンピューターを用いた精子自動解析法を併用したハロゲン系プロパン類のラット精子への影響評価

- 大谷 勝己、小林 健一、久保田久代、三枝 順三
(産業医学総合研究所)

◎**P6-30** *優秀研究発表応募者*

培養ラット胎児へのL-カルニチンの影響について

- 横山 篤¹、秋田 正治²
(¹ 神奈川生命科学研究所、² 鎌倉女子大学)

P6-31

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) の妊娠期・授乳期曝露がラットの性ホルモン代謝に及ぼす影響

- E. 瑞生、宮川 宗之、小林 健一、須田 恵、本間 健資
(独) 産業医学総合研究所)

ポスター会場2 (10階展示会場2)

■薬物代謝・発癌性

P6-32

ラットの肝P450酸化系酵素活性の日周リズムにおける性差に関する遺伝子解析

- 平尾 潤¹、新野 調代¹、西村 正利²、荒川 真悟¹、伊藤 和美¹、
清沢 直樹¹、村松 啓子¹、古川 忠司¹
(¹ 三共(株) 安全性研究所、² 三共(株) バイオメディカル研究所)

◎**P6-33** *優秀研究発表応募者*

Capsaicinの肝薬物代謝酵素系に対する影響

- 備谷 正道、岡 和代、森 照代、渡邊 幸彦、宮本 好明、田矢 廣司、王鞆 孝子
(丸石製薬(株) 中央研究所)

◎P6-34 *優秀研究発表応募者*

Capsaicinの皮膚における代謝

- 森 照代¹, Ir.W.J.M. Maas², 関 和代¹, 備谷 正道¹, 渡邊 幸彦¹, 田矢 廣司¹,
王岐 孝子¹

(¹丸石製薬(株)中央研究所, ²TNO ファーマ)

P6-35

急性前骨髄球性白血病の治療に用いた亜ヒ酸の有効性と生体内動態 (1)
～AS203のAPLに対する有効性～

- 深井 康臣¹, 太田 伸¹, 徳竹 孝好², 馬場ひさみ², 丸山 寛², 上野真由美³,
小林 光³, 斉藤 博³, 平田美由紀⁴, 木下 健司⁵, 貝瀬 利一³

(¹長野赤十字病院 薬剤部, ²長野赤十字病院 中央検査部, ³長野赤十字病院 第一内科,
⁴九州大学大学院医学研究院衛生学分野, ⁵東京薬科大学 生命科学)

P6-36

急性前骨髄球性白血病の治療に用いた亜ヒ酸の有効性と生体内動態 (2)
～ヒ素代謝物の生体内動態～

- 平田美由紀¹, 深井 康臣², 太田 伸², 上野真由美³, 小林 光³, 斉藤 博³,
木下 健司⁴, 貝瀬 利一³

(¹九州大学大学院医学研究院衛生学分野, ²長野赤十字病院 薬剤部, ³長野赤十字病院 第一
内科, ⁴東京薬科大学 生命科学)

◎P6-37 *優秀研究発表応募者*

NMR analysis for phospholipidosis/steatosis: urinary phenylacetyl glycine/ hippuric
acid as potential surrogate markers.

- Ikuo Mori, Mika Murabayashi, Akira Horinouchi, Kaneyoshi Kato, Shuzo Sato

(Drug Safety Research Center and Chemistry Research Laboratories, Pharmaceutical Research
Division, Takeda Chemical Research Industries, Ltd.)

P6-38

p53 ノックアウトマウスにおける aminophenylnorharman の肝臓薬物代謝酵素誘導と
肝発がん

- 飯高 健¹, 白井 紀充¹, 堀井 郁夫², 塚本 徹哉², 立松 正典²

(¹ファイザー(株)中央研究所 安全性研究統括部, ²愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部)

P6-39

シクロオキシゲナーゼ欠損マウスを用いた2段階発癌試験時の皮膚におけるPGE2及び
PGF2alpha受容体の遺伝子発現

- 岡田 学¹, 高須 伸夫¹, 木屋 昭憲¹, 福島 亮¹, 上原 健城¹, 宮岡 優子¹,
鳥井 幹則¹, Jacqueline Akunda², Robert Langenbach²

(¹塩野義製薬(株)新薬研究所, ²National Institute of Environmental Health Sciences)

P6-40

演題取消

P6-41

フェノールフタレインに対するTg rasH2 マウスとp53ノックアウトマウスの発がん感受性の比較

- 鈴木 修三¹、浦野 浩司¹、江口奈津子¹、菊地 宏治¹、吉村マスマ¹、澤 延子¹、
田辺亜希子²、服部 祐二²、西中 栄子²、町田 一彦¹、白居 敏仁¹

(¹ (財) 実験動物中央研究所、² (株) ジュー・エー・シー)

P6-42

コウジ酸のマウス中期皮膚発がん性試験

- 難波江恭子¹、河部 真弓¹、市原 敏夫¹、上井 悠子¹、戸田 康介¹、玉野 静光¹、
比嘉 良高²、陣内 宏行²、白井 智之²

(¹ (株) 大雄会医科学研究所、² 三省製薬 (株)、³ 名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学)

P6-43

肺中期発がんモデルによる予防物質の探索

- 北村 泰樹¹、西川 秋佳¹、梅村 隆志¹、神吉 けい太¹、今沢 孝喜¹、
中村 考志²、広瀬 雅雄¹

(¹ 国立医薬品食品衛生研究所病理部、² 京都府立大学人間環境学部食品科学)

P6-44

Crl: CD (SD) IGS ラットの長期飼育における給餌制限の影響

- 青木 豊彦、関戸 敏、稲上 敦士、勝山 宏巳、加藤 聡、細川 暁、本岡 寛
(エーザイ (株) 安全性研究所)

ポスター会場3 (10階展示会場3)

■トキシコゲノミクス

P6-45

生殖毒性誘発化合物がラット精巣における遺伝子発現に及ぼす影響の検討

- 福島 民雄¹、山本 利憲¹、森 千里²、浜田 悦昌¹、堀井 郁夫¹

(¹ ファイザー (株)、² 千葉大学大学院 環境生命医学研究室 (A3))

◎P6-46 *優秀研究発表応募者*

生殖毒性誘発化合物がラット精巣におけるタンパク質発現に及ぼす影響

- 山本 利憲、福島 民雄、山田 弘、堀井 郁夫

(ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部)

P6-47

L-buthionine (S, R) -sulfoximine (BSO) を投与したF344 ラットの肝臓におけるグルタチオン含量と遺伝子発現の変動

- 伊藤 和美、清沢 直樹、佐久間恭子、新野 訓代、上塚 美幸、矢本 敬、真鍋 淳、
松沼 尚史

(三共 (株) 安全性研究所)

P6-48

Gene expression analysis of ENU-treated BALB/c mouse liver using cDNA microarray

○Seokjoo Yoon, Sun-Hwa Lee, Kyu-Hyuk Cho, Jae-Woo Cho, Sang-Seop Han, Chang-Woo Song

(Laboratory of Toxicogenomics, Korea Institute of Toxicology (KIT), Korea Research Institute of Chemical Technology (KRICT))

P6-49

生物情報統合プラットフォームKeyMolnetによる薬物作用機序ならびに副作用の解明へのアプローチ

○小貫 慶昭、重高 誠、福田 美紀、若松 容子、溝口 佳伸、富岡 伸夫、板井 昭子
(医薬分子設計研究所)

P6-50

演題取消

P6-51

アセトアミノフェン単回経口投与後のラット肝臓における遺伝子発現変化の週令差

○森下 克美、笠原 利彦、奥山 学、高島佳代子、鳥塚 尚樹、漆谷 徹郎、宮城島利一、長尾 拓

(国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト)

P6-52

マウス初代培養肝細胞におけるストレプトゾトシンによる遺伝子発現変動解析

○久米 英介¹、有賀 千浪¹、高橋 芳¹、三輪 恵子¹、出倉絵里葉¹、伊藤 雅仁¹、藤村 久子¹、鳥海 互¹、上井 邦雄²

(¹ 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)

P6-53

フェノバルビタール暴露後の遺伝子発現のin vivoとin vitro間での比較

○奥山 学、笠原 利彦、高島佳代子、森下 克美、鳥塚 尚樹、宮城島利一、漆谷 徹郎、長尾 拓

(国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト)

◎**P6-54** *優秀研究発表応募者*

血清含有及び無血清培地で培養したラット初代肝細胞における経時的遺伝子発現変化のDNAマイクロアレイによる解析

○笠原 利彦、鳥塚 尚樹、奥山 学、高島佳代子、森下 克美、鈴木 孝昌、漆谷 徹郎、宮城島利一、長尾 拓

(国立医薬品食品衛生研究所)

◎P6-55 *優秀研究発表応募者*

ラット初代培養肝細胞における遺伝子発現に対する細胞毒性の影響のDNAマイクロアレイによる解析

○鳥塚 高樹、笠原 利彦、森下 克美、奥山 学、高島佳代子、鈴木 孝昌、宮城島利一、漆谷 徹郎、長尾 拓

(国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト)

P6-56

投与媒体の差による遺伝子発現への影響についてのDNAマイクロアレイによる解析

○高島佳代子、森下 克美、奥山 学、笠原 利彦、鳥塚 高樹、宮城島利一、漆谷 徹郎、長尾 拓

(国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト)

P6-57

D-galactosamine および 4-aminophenol を投与したラットの尿におけるNMRスペクトル解析

○勝谷 成男、青木 豊彦

(エーザイ(株)安全性研究所)

◎P6-58 *優秀研究発表応募者*

Amiodarone 投与によるリン脂質症誘発ラットにおけるリン脂質メタボローム解析

○長谷川美奈^{1,2}、藤原 歩¹、丹野 聡彦¹、及川 彰²、竹中 重雄¹、津山 伸吾²

(¹ 大阪府立大学大学院獣医学専攻、² 田辺製薬(株)安全性研究所、³ バイオテクノロジー開発技術研究組合)

7月7日(水)ポスターセッション 14:00~15:00

ポスター会場1(10階展示会場1)

■免疫・アレルギー・腎・泌尿器・細胞毒性・その他-1

P7-01

ヒト単核球細胞株を用いた感作性試験代替法に使用可能な指標の探索

○廣田 隆彦、茂呂 修

((株)資生堂)

P7-02

Non-R1 Local lymph node assay 相対比較法による化学物質の感作性強度の推定

○武吉 正博、飯田 憲二、白石 啓二、東原 信彦、寶珠山五月

((財)化学物質評価研究機構)

◎P7-03 *優秀研究発表応募者*

RBL-2H3細胞のIgE介在性脱顆粒反応における重金属カドミウムの影響に関する検討

○福石 信之、安井ゆみこ、奥村 佳史、松井 聡教、赤木 正明

(徳島文理大学薬学部薬理学教室)

P7-04

関節腔内注入用ヒアルロン酸製剤の抗原性試験

○佐々木正徳¹、岩田 久²

(¹ 生化学工業(株)中央研究所、² 名古屋共立病院リウマチ・人工関節センター)

P7-05

マウスを用いた医用材料のアレルギー性評価法に関する検討

- 五十嵐良明、鹿庭 正昭、土屋 利江
(国立医薬品食品衛生研究所療品部)

P7-06

羊赤血球 (SRBC) 免疫ラットにおける抗体産生及び脾臓組織像の経時的変化の検討

- 勝田 元子、柴田 誠司、久田 茂、岩村 敏
(帝國臓器製薬(株)安全性・代謝研究部)

P7-07

モルモット Maximization test における Freund's complete adjuvant (FCA) と被験物質の乳化は必要か?

- 桑原 孝、下野 和之、田村 工、金田 信也、川口 義郎、柳井 明
(株)大塚製薬工場)

P7-08

Effects of Lipophilicity and Viscosity of Solvents on DPM/LN Background Level in Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

- Ludwig Ullmann
(RCC Ltd Toxicology Division)

P7-09

Solvents Effects of Various Ethanol-Water Systems on DPM/LN Background Level in Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

- Weizheng Wang-Fan
(RCC Ltd Safety Assessment Toxicology Division)

P7-10

Assessment of the Developing Immune System

- Keith Robinson, Lorri Pinsonneault, Maria Adamo, Louise Pouliot, Chris Banks, Lynne LeSautour
(CTBR Bio-Research Inc., Canada)

P7-11

Flow cytometry based assessment of the nonhuman primate immune system: Comparison of cynomolgus monkey and marmoset

- Werner Frings, Gerhard Weinbauer
(Covance Laboratories GmbH, Germany)

P7-12

Time-dependent changes in the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats

- Li-Kun Gong, Xiang-Hong Li, Fang-Ping Chen, Hui Wang, Yan Cai, Xin-Ming Qi, Lin-Lin Liu, Yong-Zhen Liu, Xiong-Fei Wu, Ying Xiao, Jin Ren
(State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, China)

◎P7-13 *優秀研究発表応募者*

腎糸球体障害進展におけるアルドステロンの役割

○西山 成¹、松向寺孝臣¹、水井由紀子²、安部 陽一¹

(¹ 香川大学医学部薬理学講座、² 香川大学医学部総合生命科学実験センター)

P7-14

フロセミドのラット腎障害性-絶水、セファロチン・グリセロール併用の影響-

○石井俊一郎、大山 直樹、柴田 博、岡田味世子、井上 芳巳、杉本 次郎、務台 衛

(三菱ウェルファーマ(株)安全性研究所)

◎P7-15 *優秀研究発表応募者*

セファロリジン腎障害におけるミトコンドリアでのフリーラジカル産生およびPKC δ の関与

○幸田 祐佳、玄番 宗一

(大阪薬科大学薬理学教室)

◎P7-16 *優秀研究発表応募者*

腎虚血再灌流障害の発症・進展過程における一酸化窒素の役割について

○中島 淳志、高岡 昌徳、吉見 佳子、松村 靖夫

(大阪薬科大学 病態分子薬理学研究室)

P7-17

II型糖尿病発症前の一時的なアンジオテンシンII 阻害は腎症の進展を永続的に抑制する

○水井由紀子¹、安部 陽一²、松向寺孝臣²、西山 成²

(¹ 香川大学医学部総合生命科学実験センター、² 香川大学医学部薬理学)

P7-18

Nefiracetamによるイヌ腎乳頭壊死での尿中蛋白解析とmRNA測定

○土屋 由美¹、富永 有吏²、松林 久一²、神藤 敏正¹、古清 和久¹、鈴木 和夫³

(¹ 第一製薬(株)安全性研究所、² 第一製薬(株)研究技術センター、³ 千葉大学薬学部衛生化学研究室)

◎P7-19 *優秀研究発表応募者*

SOD阻害薬Diethyldithio-carbamic acid (DETC)のラット腎交感神経活動への影響

○松向寺孝臣¹、西山 成¹、水井由紀子²、安部 陽一¹

(¹ 香川大学医学部薬理学、² 香川大学総合生命科学実験センター)

◎P7-20 *優秀研究発表応募者*

中性アミノ酸トランスポーターLAT1結合タンパク質によるヒト膀胱癌由来T24細胞のアミノ酸輸送活性調節

○ジャバン モハマド、金井 好克、チャイロングデュアルチット、坂本 信一、

ラフィクル イスラム、安西 尚彦、遠藤 仁

(杏林大学医学部薬理学)

P7-21

ラット初代培養肝細胞を用いたマトリゲルサンドイッチ培養法による毒性評価法①(短期曝露)

- 川村 祐司^{1,2}、今井 聖子^{1,2}、小関 直輝^{2,3}、田中 仁^{2,4}、出倉絵里菜^{4,5}、
長井 大地^{6,7}、南谷賢一郎^{6,7}、平澤 由貴^{7,8}、鳥塚 尚樹^{8,9}、小平 輝明^{9,10}、
佐藤 哲男^{10,11}

(¹ 明治製菓(株)、² 大日本製菓(株)、³ (財) 安評センター、⁴ 田辺製菓(株)、⁵ 日本化薬(株)、⁶ 協和発酵工業(株)、⁷ (株) イナリサーチ、⁸ エーザイ(株)、⁹ 旭化成ファーマ(株)、
¹⁰ NPO-HAB研究機構付属研究所、¹¹ 安全性評価研究会)

P7-22

ラット初代培養肝細胞を用いたマトリゲルサンドイッチ培養法による毒性評価法②(長期曝露)

- 出倉絵里菜^{1,2}、川村 祐司^{2,3}、今井 聖子^{2,4}、小関 直輝^{2,5}、田中 仁^{4,6}、
長井 大地^{6,7}、南谷賢一郎^{6,7}、平澤 由貴^{7,8}、鳥塚 尚樹^{8,9}、小平 輝明^{9,10}、
佐藤 哲男^{10,11}

(¹ 田辺製菓(株)、² 明治製菓(株)、³ 大日本製菓(株)、⁴ (財) 食品農医薬品安全性評価センター、⁵ 日本化薬(株)、⁶ 協和発酵工業(株)、⁷ (株) イナリサーチ、⁸ エーザイ(株)、
⁹ 旭化成ファーマ(株)、¹⁰ NPO-HAB研究機構付属研究所、¹¹ 安全性評価研究会)

P7-23

各種細胞を用いた細胞毒性試験とLD50値との相関

- 小平 輝明^{1,2}、伊藤 雅仁^{2,3}、岩井 久和^{3,4}、池田 明子^{4,5}、鷲塚 昌隆^{4,6}、佐藤 哲男^{6,7}
(¹ 旭化成ファーマ(株) 開発研究所、² 田辺製菓(株)、³ (株) 三和化学研究所、⁴ ゼリア新薬工業(株)、⁵ NPO-HAB研究機構付属霊長類機能研究所、⁶ 安全性評価研究会)

P7-24

初代培養系を用いた肝細胞毒性スクリーニング系の検討

- 古川 理恵、福島 民雄、山本 利恵、堀井 郁夫
(ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部)

◎P7-25 *優秀研究発表応募者*

ERストレス性アポトーシスの発現に対するCaspase-9の関与

- 加藤 秀規、中川 博史、松尾 三郎
(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)

P7-26

Induction of in vitro metabolism - species comparison

Hans-Eric Wöllny
(RCC Cytotest Cell Research GmbH)

P7-27

Genetic Toxicology - Comparative evaluation of data from compounds tested in both - Chromosome Aberration Test and Mouse-Lymphoma Rest in vitro

Albrecht Poth
(RCC Cytotest Cell Research GmbH)

◎P7-28 *優秀研究発表応募者*

注射針を用いた骨髓細胞数の簡便測定法の毒性評価への応用

- 松本 清司¹、○斎藤 敏樹²、劉 芳¹、藤井 哲夫²、石川 孝之²、北條 隆男²
(¹ 信州大学、² (財) 日本生物科学研究所)

P7-29

BriHan: WIST@Jcl (GALAS) に見られた自然発生侏儒症ラットの臨床病理学的特徴

- 豊田 直人¹、並木 正人²、芦名美智子¹、土居 卓也¹、上谷 稔¹、高野 克代¹、
大江みどり¹、小林 厚子¹、田中 美帆¹、中島 幸博²、那須 昌弘²

(¹ (株) 三菱化学安全科学研究所、² (株) ハナファーム・ラボラトリーズ)

P7-30

クマnezumiにおけるワルファリン抵抗性機構の解明

- 岡島 史絵¹、谷川 力²、石塚真由美¹、数坂 昭夫¹、藤田 正一¹

(¹ 北海道大学大学院獣医学研究科、² イカリ消毒 (株) 技術研究所)

P7-31

ヒトに密着して棲息するドブnezumiに蓄積する環境化学物質とその生体影響

- 石塚真由美¹、高菅 卓三²、谷川 力²、数坂 昭夫¹、藤田 正一¹

(¹ 北海道大学大学院獣医学研究科、² (株) 鳥津テクノリサーチ、³ イカリ消毒 (株) 技術研究所)

ポスター会場2 (10階展示会場2)

■一般毒性

P7-32

Effects of Ketamine hydrochloride on Hematological and Serum Biochemical values in Cynomolgus Monkeys

- Choong-Yong Kim, Su-Cheol Han, Jeong-Doo Heo, Shin-Woo Cha, Junghee Han,
Yasuo Tarumoto, Moon-Koo Chung

(Korea Institute of Toxicology, KRICT, Korea)

P7-33

Toxicity Study of DHP2, a hydrophobic drug delivery vehicle : Single and 2-week Repeated Oral Dose Toxicity Study in Mice

- Junghee Han¹, Hesson Chung², Shin-Woo Cha¹, Choong-Yong Kim¹, Jeong-Eun Suh¹

(¹ Korea Institute of Toxicology, ² Biomedical Research Center, KIST, Korea)

P7-34

Toxicity Study of 9-nitro-20 (S) -camptothecin (Rubitecan) via the Oral Route

- Hui Wang, Yong-Zhen Liu, Wei-Jun Zheng, Mei-Ying Wang, Jie Feng, Xing-Ju Yuan,
Hua Sheng, Ming Du, Li-Kong Gong, Xiang-Hong Li, Jin Ren

(Drug Safety Evaluation and Research Centre, Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, China)

P7-35

殺菌・保存剤 o-cymen-5-ol (biosol) のラットを用いた3ヶ月間混餌投与毒性試験
— Biosolによる腎障害と胸腺のapoptosisの誘発—

○松島 裕子、内藤 克司、斎藤 実、伊佐間和郎、川崎 靖、関田 清司、小川 幸男、
鹿庭 正昭、井上 達、菅野 純

(国立医薬品食品衛生研究所)

P7-36

制限給餌条件下におけるラットの体重、摂餌量および摂水量の日内変動について

○森山 智之¹、宮沢 英男¹、藤掛 登¹、松本 浩良²

(¹ 万有製薬(株)つくば研究所 安全性研究所、² 万有製薬(株) 研究開発本部)

P7-37

新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 —腎毒性バイオマーカー—

○百々 哲史、黒田 聡子、上山 清市、高橋 光一、浅野間光治、天野 幸紀、田中 猛、
吉岡 薫、内藤 真策、松澤 利明、佐神 文郎

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

P7-38

新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 —心毒性バイオマーカー—

○浅野間光治、高橋 光一、天野 幸紀、上山 清市、黒田 聡子、田中 猛、百々 哲史、
吉岡 薫、内藤 真策、松澤 利明、佐神 文郎

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

P7-39

新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 —肝毒性バイオマーカー—

○田中 猛、吉岡 薫、浅野間光治、天野 幸紀、上山 清市、黒田 聡子、高橋 光一、
百々 哲史、内藤 真策、松澤 利明、佐神 文郎

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

P7-40

完全静脈栄養飼育下ラットにおける1,25(OH)₂D₃のカルシウム作用

○浅沼健太郎、小松俊一郎、桜井 貴之、高井 了、千葉 修一

(中外製薬(株) 安全性研究部)

◎P7-41 *優秀研究発表応募者*

化合物Aにより惹起された骨格筋障害は投与を継続したにも関わらず完全に回復する?

○田中 宏治、清沢 直樹、社領 聡、寺西 宗広、真鍋 淳

(三共(株) 安全性研究所)

P7-42

耳式体温計を用いたラット体温測定の見直し

○笹山由紀子、崎村 雅志、浜田 悦昌

(ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部 毒性研究室)

P7-43

機能性食品あるいは健康食品であるトクダミ抽出物のF344系ラットを用いた90日間反復投与毒性試験

○吉野 裕子¹、河部 真弓¹、今井 則夫¹、廣田 毅¹、萩原 昭裕²、佐野 真士¹、
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部医学研究科実験病態病理学)

P7-44

胃酸分泌低下モデルラットを用いたBt蛋白質の28日間混飼投与毒性試験

○小野瀬淳一、今井 俊夫、蓮村 麻衣、曹 永暎、広瀬 雅雄

(国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

P7-45

免疫法による便潜血キットの有用性 —ラット、イヌでの検討—

○山崎 尚子、真子 智美、浜田 悦昌、堀井 郁夫

(ファイザー (株))

◎P7-46 *優秀研究発表応募者*

仔ラットに及ぼす母ラットの低濃度カドミウム摂取の影響

○中村 康宏、前島 幸、中川 妙子、太田 久吉

(北里大学医療系研究科環境毒医科学研究室)

◎P7-47 *優秀研究発表応募者*

有色ラットにおける視覚誘発電位を利用したエタンプトール (EB) の視覚毒性検出の検討

○佐々木正治、八木久美子、山下 晴洋、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)

P7-48

IGSラットを用いたがん原性試験における自然発生性の抑撃について

○須貝 友晴、岡村 俊也、板谷越重人、榎並 倫寛、望月 雅裕、岡崎 和志、岡崎 修三

((株) ボゾリサーチセンター御殿場研究所)

ポスター会場3 (10階展示会場3)

■内分泌・神経

P7-49

ラットにおける副腎機能毒性試験法の検討

○西村 次平、渡邊 隆夫、大道 浩三、秋葉 知英、岡村 信志、田中 猛、天野 幸紀、
田辺 宗平

(興和 (株) 富士研究所 安全性研究部)

P7-50

ニューキノロン剤のラット血糖及びインスリン分泌に及ぼす影響

○平塚 一幸、下郡 望、伊藤 富美、柴崎 義明、鈴木平治郎、仲野 善久、黒沢 亨

(明治製薬 (株) 医薬開発部門動態安全性研究所)

P7-51

幼若雌性ラットの子宮におけるエストロジェン応答遺伝子の発現に及ぼす ethynyl estradiol, genistein, methoxychlor およびICI 182,780の複合効果

- 片山 誠一¹、芦沢 幸二²、水井 賢司¹、山本 由徳¹、大保真由美¹、秋山賢之介¹、山下 保志¹

(¹ 三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所, ² 鹿児島大学大学院連合農学研究科 生物生産科学、³ 宮崎大学農学部 食料生産科学科)

◎P7-52 *優秀研究発表応募者*

PCBによる血清中甲状腺ホルモン濃度低下の作用機構

- 大西 真央¹、加藤 善久¹、鈴木 寛¹、生城 真一²、木村 良平¹

(¹ 静岡県立大学薬学部薬剤学教室, ² 姫路工業大学理学部生命科学科生体物質化学I講座)

◎P7-53 *優秀研究発表応募者*

低および高用量エストロゲン処理におけるラット乳腺増殖・腫瘍化とエストロゲンレセプター発現の変動比較

- 美谷島克宏¹、柿本 恒知¹、竹腰 進²、小泉 治子¹、正田 俊之¹、高橋 明美¹、岩坂 俊基¹、宮川 義史¹、長村 義之²

(¹ 日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究所, ² 東海大学 医学部 基盤診療学系 病理診断学)

P7-54

フタル酸ジ2-エチルヘキシル (DEHP) の妊娠期・授乳期曝露が産仔の成長および甲状腺におよぼす影響

- 小林 健一、宮川 宗之、王 瑞生、須田 恵、関口総一郎、本間 健資

((独) 産業医学総合研究所)

P7-55

ラットにおけるハロペリドール投与後のプロラクチンの変動に関する各種採血法の比較検討

- 杉浦 正幸、半野 紀子、織原由佳理、山田 久陽、木村 正明

(大正製薬(株) 医薬研究所 安全性研究室)

P7-56

新規輸送系L-アミノ酸トランスポーターの同定とメチル水銀輸送特性の検討

- Golam Ferdous, Ellappan Babu, Arthit Chairoungdua, 安西 尚彦、金井 好克、遠藤 仁

(杏林大・医・薬理)

P7-57

Effects of amphetamine or chlorpromazine on motor activity in juvenile rats.

- D P Myers, A M Bottomley, M J Collier

(Huntingdon Life Sciences Ltd., UK)

P7-58

ラットのオープンフィールド行動に及ぼす各種薬物の比較

- 白井 真紀、真子 智美、井手上圭一、山田 弘、堀井 郁夫

(ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部)

P7-59

ラット脳発達障害モデルにおける胎児脳の神経病理学的検討

○小川 哲郎、塩田 清二

(昭和大学医学部第一解剖学教室)

◎P7-60 *優秀研究発表応募者*

Levobupivacaineのラット脊髄内投与における脊髄内残存性

○関 和代¹、橋谷 正道¹、森 照代¹、白仁田明夫²、渡邊 幸彦²、田矢 廣司¹、
王輪 孝子¹

(¹丸石製薬(株)中央研究所、²(株)新日本科学)

P7-61

イヌ脳脊髄液の経時的採取とneurotransmitterの分析

○原田 拓真、藤川 真章、井手上圭一、阿部 純子、浜田 悦昌、堀井 郁夫

(ファイザー(株))

P7-62

3-Acetylpyridineのラット単回腹腔内投与による神経に対する毒性影響

○菱 景清、小林 吉彦、根田 公一

((株)富士バイオメディックス小淵沢総合研究所)

◎P7-63 *優秀研究発表応募者*

白色LED光源一体型電極を利用したラットにおけるFull-field ERGの検討

○山下 晴洋、佐々木正治、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)

P7-64

ラット胎生期5-bromo-2'-deoxyuridine暴露による運動量増加へのモノアミン神経系の関与

○折戸 謙介¹、森島 昭彦¹、小川 哲郎²、宗岡 克政²、栗形麻樹子³、白井 明志¹、
赤堀 文昭¹

(¹麻布大・獣医・薬理、²昭和大・医・第一解剖、³食薬・試験部・安全性)

7月8日(木)ポスターセッション 13:00~14:00

ポスター会場1(10階展示会場1)

■循環器-2・活性酸素

P8-01

サルの毒性試験におけるホルター心電計によるQT計測評価

○坂本 憲吾、木谷 伸一、武藤 紀生、野村 護

((株)イナリサーチ)

P8-02

イヌおよびサルの心電図および血圧に及ぼすE-4031およびVerapamilの影響ーテレメトリーシステムによる観察ー

○関谷 浩司¹、山本 恵司²、坂本 憲吾¹、木谷 伸一¹、武藤 紀生¹

(¹(株)イナリサーチ、²武田薬品工業(株))

P8-03

In vitro心室筋活動電位試験を用いた薬物のQT延長作用の評価:ヘブリジルのモルモット乳頭筋の活動電位に対する作用

○下里 貴¹、鳥田 千明²、佐治 大介¹、堀 克彦¹、木村伊佐美¹、西森 司雄¹

(¹ (株)環境バイロクス研究所 生物科学研究所、² 扶桑薬品工業(株) 研究開発センター)

P8-04

自動バッチクランプシステムを用いたhERG試験の最適化

○津崎 健二、米沢 恵子、片山 義三、阿部かなえ、鶴瀬 裕治

((株)薬物安全性試験センター 薬理研究所)

P8-05

Terfenadineの無麻酔無拘束カニクイザルにおけるQT間隔に及ぼす影響

○植 美樹¹、藤岡 繁²、清水 憲次¹、中井 恵子²、藤野 明治¹

(¹ (株)富士バイオメディックス、² 三菱化学安全科学研究所)

P8-06

無麻酔無拘束カニクイザルを用いた imipramine の経口投与による心電図QT間隔に及ぼす影響

○今泉 真和、佐々木一暎、飯塚 宏美、直 弘、千 文嗣、戌亥 辰巳、加藤 淳子、西 勝英

((株) パナファーム・ラボラトリーズ)

P8-07

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

1) モルモット乳頭筋活動電位試験の標準プロトコール及び施設間差

○山崎隆三郎¹、木谷 伸一¹、小林 和雄¹、鳥田 千明¹、下里 貴¹、谷口 真也¹、森 辰也¹、菅波 秀規²、山田 雅之²、山本 恵司¹、佐神 文郎¹

(¹ 日本製薬工業協会 QT PRODUCT、² 日本製薬工業協会 統計・DM部会)

P8-08

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

2) モルモット乳頭筋を用いたAPD試験の有用性—hERG試験およびイヌPurkinje線維APD試験との比較—

○田保 充康、米野 雅晴、林 誠治、木井 山秀、天野 秀人、山本 恵司、佐神 文郎

(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-09

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

3) イヌテレメトリー試験における施設間差

○佐々木弘幸、金納 明宏、安東賢太郎、今別府 進、渡邊 裕之、菅波 秀規、山本 恵司、佐神 文郎

(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-10

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

4) サルテレメトリー試験における施設間差

○清水 憲次、日誌 信吾、佐々木弘幸、安東 賢太郎、今別府 進、山本 恵司、佐神 文郎

(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-11

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,
5) 麻酔イヌ心電図の標準プロトコールと施設間差

- 太田 幹雄、岸本 直、田邊 弘行、山本 恵司、今別府 進、佐神 文郎
(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-12

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,
6) イヌテレメトリー各薬物の用量反応性

- 豊島 茂樹、金納 明宏、北山 哲也、関谷 浩司、春名 正雄、三野 照正、宮崎 裕康、
矢野 浩二、山本 恵司、佐神 文郎
(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-13

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,
7) サルテレメトリー試験における薬物誘発性QT間隔延長に対する用量反応性の検討

- 池田 博信、安東賢太郎、山本 恵司、佐神 文郎
(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-14

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,
8) 麻酔イヌ各薬物濃度反応性

- 田邊 弘行、宮崎 裕康、秋江 靖樹、太田 幹雄、山本 恵司、佐神 文郎
(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-15

QT prolongation: Project for Database Construction,
9) 薬物のQT延長作用に関する個体毎のQT補正法を用いたイヌテレメトリー試験系の検出感度

- 宮崎 裕康、西 泰宏、北山 哲也、関谷 浩司、春名 正雄、三野 照正、菅波 秀規、
渡邊 裕之、山本 恵司、佐神 文郎
(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-16

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,
10) サルテレメトリー試験における個体別QT-RR補正法による検出感度

- 北山 哲也、宮崎 裕康、清水 恵次、坂本 恵吾、今泉 真和、菅波 秀規、渡邊 裕之、
山本 恵司、佐神 文郎
(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-17

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,
11) イヌテレメトリー試験における個体別QT-RRプロット法を用いた詳細解析

- 北山 哲也、菅波 秀規、宮崎 裕康、関谷 浩司、春名 正雄、三野 照正、渡邊 裕之、
山本 恵司、佐神 文郎
(日本製薬工業協会 QT PRODUCT)

P8-18

QT Prolongation: Project for Database Construction,

12) QT prolongation: 薬剤のQT延長作用に関するイヌのテレメトリー試験系および
イソフルラン麻酔モデルの検出感度の比較

- 宮崎 裕康, 西田 昌広, 北山 哲也, 田邊 弘行, 安東賢太郎, 山本 恵司, 佐神 文郎
(日本製薬工業協会QT PRODUCT)

P8-19

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

13) テレメトリー試験におけるモデル間の比較

- 葛西智恵子, 国分寺悦子, 木村伊佐美, 安東賢太郎, 本坊 敏保, 豊古 亨, 狩野真由美,
山本 恵司, 佐神 文郎
(日本製薬工業協会QT PRODUCT)

P8-20

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

14) 薬物誘発性QT間隔延長に関する安全域

- 小俣 武志, 高田昌太郎, 齋藤 守, 矢花 秀雄, 小川 真実, 山田 毅史, 村上 真,
橋本 宗弘, 佐神 文郎, 山本 恵司
(日本製薬工業協会QT PRODUCT)

P8-21

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

15) 薬物誘発性QT延長作用のpharmacokinetics/pharmacodynamics 解析 -イヌ及びサ
ルにおけるテレメトリー法によるQT延長作用-

- 笹辺 裕行, 谷河 貴彦, 中井 恵子, 井上 晃一, 浦野 陽介, 林 直之, 佐神 文郎,
山本 恵司
(日本製薬工業協会QT PRODUCT)

P8-22

イヌのQT間隔に及ぼす自律神経系の影響

- 阿部 純子, 原田 拓真, 塩谷 元宏, 浜田 悦昌
(ファイザー(株)中央研究所 安全性研究統括部)

P8-23

Automated patch clamping - use in screening of novel compounds for cardiac safety

- Leslie Patmore, Alison Templeton, Kirsty Macfarlane
(Quintiles Ltd, UK)

P8-24

完全房室ブロック犬における心血管系の適応現象の時間経過

- 秋江 靖樹¹, 杉山 賢¹, 橋 美樹¹, 石山 芳剛¹, 正本 文夫¹, 藤野 明治¹,
杉山 篤²

(¹ (株)富士バイオメディックス, ² 山梨大学・院・医工・薬理学・山梨臨床薬理研究所)

P8-25

hERG 電流および活動電位の 37 薬物における相関性

- 秋山賢之介、別府奈美恵、天野 秀人、植田 由美、大保真由美
 (三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

P8-26

ガラクトサミン/リボポリサッカライド投与ラットにおける肝グルタチオンS-トランスフェラーゼの酸化・限定分解による活性化

- 安仁屋洋子、仲間 真司、木下しずか
 (琉球大学大学院医学研究科分子薬理学分野)

P8-27

Nrf2欠損マウスの肝発がん物質ベンタクロロフェノールに対する感受性

- 梅村 隆志¹、北村 泰樹¹、神吉けい太¹、今沢 孝喜¹、児玉 幸夫²、伊東 健³、
 山本 雅之²、西川 秋佳¹、広瀬 雅雄¹
 (¹ 国立医薬品食品衛生研究所病理部、² 国立医薬品食品衛生研究所毒性部、³ 筑波大学先端学
 際領域研究センター)

ポスター会場2 (10階展示会場2)

■統計解析・試験法・局所刺激性**P8-28**

パターン認識による変異原性予測におけるサンプリング手法に関する考察

- 湯田浩太郎¹、猿渡 雄彦²
 (¹ 富士通 (株)、² (株) 産業医学総合研究所)

P8-29

ブレオマイシン経気管投与によるマウス肺線維症モデル改良型としての左葉限定モデル

- 竹川 潔、日下部愛泉、坂入 鉄也、杉本 次郎、高木 司郎、務台 衛
 (三菱ウェルファーマ (株) 安全性研究所)

P8-30

リツキサンをを用いた抗Fab抗体標準品作製に関する基礎的検討

- 林 砂緒、太竹 直美、古川 絵理、原田 勝彦、川原 潤一
 (キリンビール (株) 医薬開発研究所 毒性グループ)

P8-31

CB6F1-rasH2 マウスの経皮発がん性試験の基礎的検討

- 浦野 浩司¹、町田 一彦¹、菊地 宏治²、吉村マズミ¹、澤 延子¹、江口奈津子¹、
 田邊亜希子²、西中 栄子²、服部 祐二¹、鈴木 修三¹、F田 敏仁²
 (¹ (財) 実験動物中央研究所、² (株) ジェー・エー・シー)

P8-32

無麻酔下ラットの呼吸機能に及ぼすコリンエステラーゼ阻害薬の影響: Whole body plethysmograph法の検討

- 長谷川和美、片山 誠一、秋山賢之介、山本 由徳、大保真由美、山下 保志
 (三菱化学安全科学研究所)

P8-33

薬剤誘発性肝ホスホリブドースのin vitro スクリーニング評価

- 富澤 香織、山田 弘、堀井 郁夫
(ファイザー(株))

P8-34

臨床副作用予測ツールとしてのbeam walk testの有用性の評価

- 井手上圭一¹、国原 峯男²、白井 真紀¹、山田 弘¹、堀井 郁夫³
(¹ ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部 探索毒性病理研究室、² ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部 非臨床科学薬事部、³ ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部)

P8-35

血球分析装置XT-2000iによる動物血測定の基礎的検討

- 豊田 直人¹、大江みどり¹、花香奈津美¹、田中 美帆¹、小田 康雅²、坂田 孝²
(¹ (株) 三菱化学安全科学研究所、² シスメックス(株))

P8-36

ウサギ屈曲反射モデルを用いた血管痛評価法の確立

- 尾崎 秀次、藤島 和幸、蓮沼 恵子、庄司 陽子、黒沢 亨
(明治製菓(株) 医薬開発部門 動態安全性研究所 安全性研究室)

P8-37

Procedures for inhalation treatment of neonatal rats and dogs

- Chris Banks, Michelle Stoute, Andre Viau, Lorri Pinsoneault and Keith Robinson
(CTBR Bio-Research Inc., Canada)

P8-38

Ocular toxicity testing in the nonhuman primate: Incidence of spontaneous lesions in cynomolgus monkeys and marmosets

- Birgit Niggemann, Uta Korte, Sven Korte, Friedhelm Vogel, Gerhard Weinbauer
(Covance Laboratories GmbH, Germany)

P8-39

Chlorpromazine hydrochlorideおよびSaponinの溶血性試験ーin vivoとin vitroの比較ー

- 長瀬 孝彦、富岡 三和、田中 勝幸、古橋 忠和
(株) 日本バイオリサーチセンター)

P8-40

ミニブタを用いた各種外用剤の皮膚刺激性試験ーウサギ、モルモットならびにヒトとの比較ー

- 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 羽島研究所)

ポスター会場3 (10階展示会場3)

■血液・トキシコキネティクス・その他-2

P8-41

ラットにおける vitamin K 依存性凝固因子異常の簡便な評価方法

○倉田 昌明、飯高 健、山崎 尚子、笹山由紀子

(ファイザー (株)、中央研究所、安全性研究統括部、毒性研究室)

P8-42

マウスにおける繰り返し採血と血液検査法の検討

○倉田 昌明、山崎 尚子、真子 智美、飯高 健、浜田 祝昌

(ファイザー (株)、中央研究所、安全性研究統括部、毒性研究室)

P8-43

サルの血漿と血清における CK 活性値の相違に関する検討

○浅井 幸治¹、塚田 幸子¹、田中 春樹²、日比野信裕²、細川 峻¹、菅沼 樟純¹、
築館 一男³¹ エーザイ (株) 安全性研究所 筑波研究室、² エーザイ (株) 安全性研究所 川島研究室、³ エーザイ (株) 動態安全性担当)

P8-44

Historical control serum clinical chemistry values for the adult Crl:CD SD IGS BR Rat

Matt Coffee, S. Haley, W. Lawrence, ○C. P. Chengelis

(WIL Research Laboratories, Inc., USA)

P8-45

創薬初期での探索的な毒性試験における曝露量の推定

○藤川 真章¹、酒井 孝範¹、佐藤 靖¹、山田 弘¹、堀井 郁夫¹、岩崎 一秀²¹ ファイザー (株) 中央研究所安全性研究統括部、² ファイザー (株) 中央研究所薬物動力学
研究部薬物動態研究部)

P8-46

ラットにおけるペルフルオロオクタン酸の尿中排泄機構の解析

○片倉 賢紀、工藤なをみ、川嶋 洋一

(城西大学薬学部)

P8-47

ラットの飼育環境が行動観察に及ぼす影響の検討

○吉田 香¹、堀井 郁夫¹、奥村 貴子²、藤田 勇²、中村 雄志³、白石 智³、
加藤 茜³、加藤 順文³、田島 恵子³¹ ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部、² ファイザー (株) 中央研究所 生物科学
研究統括部、³ (株) ケー・エー・シー)

P8-48

安全性薬理試験実施に必要なGLP要件に関するアンケート調査結果-製薬協 基礎研究部会
A1 グループ GLP要件検討サブチーム

- 池田 孝樹¹、岡谷内 博²、奥津 広士³、越智 誠文⁴、久保田調世⁵、齋藤 守⁶、
佐神 文郎⁷、佐藤 憲幸⁸、野村 俊治⁹、村木由起子⁹、森 辰也¹⁰
(¹ 萬有製薬(株)、² マルホ(株)、³ 科研製薬(株)、⁴ 日本新薬(株)、⁵ (株)フムラ、
⁶ エーザイ(株)、⁷ 藤本製薬(株)、⁸ ファイザー(株)、⁹ 日清キョーリン製薬(株)、
¹⁰ 協和発酵工業(株))

P8-49

安全性薬理試験における国内外CROにおけるGLP運用に関する調査報告

- 河野 茂生、岩木 裕氏、齋藤 守、鳥居 慎一、○豊島 茂樹、中井 祥二、浜田 修一、
橋本 宗弘、門田 利人、佐神 文郎
(日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会)

P8-50

乳酸鉄過負荷ラットの肝臓および脾臓中のアデニンヌクレオチド含量およびアデノシン3'-
リン酸(3'-AMP)産生酵素活性に及ぼす影響

- 藤森 廣幸¹、尾崎 清和²、松浦 哲郎²、芳生 秀光¹、奈良岡 功²
(¹ 摂南大学薬学部、² 摂南大学薬物安全科学研究所)

P8-51

ブレオマイシンをinstillしたモルモットの呼吸機能パラメータに対するタバコの煙曝露の影響

- 馬 成俊、守住 孝輔、牛島 壮太、有吉 美秋、藤村 洋、今泉 貞和、直 弘、
西 晴英
(株)パナファーム・ラボラトリーズ)

■ランチョンセミナー（7月6日～8日）

7月6日（火）12:00～13:00

-
- A会場
- 1 Thyroid Dysplasia in WistarHan Rats - a Hereditary Disorder
Dr. Klaus Weber (RCC Ltd)
共催：RCC Ltd
- B会場
- 2 The Use of Alternative Test Methods in Product Safety Evaluation
Mr. Robert Guest (Head of Acute and Alternative Toxicology, SafePharm Laboratories Ltd)
Biologically Standardized Human Tissue Models for In Vitro Toxicology and
Pharmacology Testing
Mr. Bart De Wever (Business Development Director, SkinEthic Laboratories CTS)
共催：セーフファーム・ラボラトリーズ
- C会場
- 3 Special Requirements for Testing Biotech Products for Reproductive Toxicity
Alan M. Hoberman, Ph.D., DABT (General Manager, Director of Research Charles River
Discovery and Development Services Argus Division)
共催：(株)CR-アイティアス
- D会場
- 4 臨床薬物相互作用予測のための In Vitro 試験法—
特に Cytochrome P450 (CYP) 阻害試験について
佐藤 洋子 ((株)新日本科学 薬物代謝物分析センター)
共催：(株)新日本科学

7月7日（水）12:00～13:00

-
- A会場
- 5 Risk Assessment for effects of chemicals on male fertility
Dr. Inge Mangelsdorf ドクター・インゲ・マンゲルズドルフ
(Fraunhofer ITEM フラウンホーファーイテム)
共催：エルエスピー (有)
- B会場
- 6 遺伝子発現解析によるがん臨床試験における有害事象、効果の評価
医学博士 西尾 和人 (国立がんセンター研究所 薬効試験部 耐性研究室室長)
共催：(株)三菱化学安全科学研究所
- C会場
- 7 Current Issues in Juvenile Toxicity Testing
Mr. David Myers, Consultant Toxicologist (Huntingdon Life Sciences Ltd.)
共催：ハンティンドン ライフサイエンス (株)

- D会場
- 8 幼若動物毒性試験 -これまでの成績とFDA ガイダンスを踏まえた今後の方向性-
- 1) FDA ガイダンスとサルにおける幼若動物毒性試験
○林 隆志、Rosario M. Perez (INA RESEARCH PHILIPPINES, INC.)
- 2) ラットおよびイヌにおける幼若動物毒性試験
○柴野 隆司、佐藤 伸一、田中 千春 ((株) イナリサーチ)
共催: (株) イナリサーチ

- E会場
- 9 PCRサイクルに依存しない次世代の定量的発現解析
- Stephen Sharp, Ph.D. Senior Product Marketing Manager (SEQUENOM社)
GCI社臨床データ付ヒト由来サンプルの活用
- George Taylor, MD Director of Medical Affairs (Genomics Collaborative社)
共催: (株) 日立ハイテクノロジーズ

7月8日(木) 12:00~13:00

- A会場
- 10 Considerations for carcinogenicity study protocol submissions to the United States Food and drug administration
- Kevin D. Williams, PhD, DABT (Covance Laboratories Ltd.)
共催: コーヴァンスインク日本支社

- B会場
- 11 Trends in Safety Pharmacology and QT Prolongation Risk Assessment
安全性薬理の展望とリスク評価
- Leslie Patmore, Ph.D. レズリー・パットモア
(Vice President of Preclinical Sciences, Europe Quintiles Limited バイスプレジデント、プレ
クリニカルサイエンス、ヨーロッパ クインタイルズ リミテッド)
共催: クインタイルズ・トランスナショナル・ジャパン

- C会場
- 12 Thresholds and Mechanisms in Genetic Toxicology and their Relevance in Safety and Risk Assessment
- Dr. Albrecht Poth (RCC Cytotest Cell Research GmbH)
共催: RCC Ltd

- D会場
- 13 Intravenous Infusion at Inveresk
- Dr. Timi Oshodi (Inveresk Research)
共催: (株) ACRONET

■市民公開講座

■市民公開講座 7月10日(土) 13:00～17:00
高槻市生涯学習センター 多目的ホール(大阪府高槻市)

「長寿社会を健やかに生きる」

1

「生活習慣病における運動と栄養の役割」

森谷 敏夫(京都大学大学院人間環境学研究科)

2

「健康食品の上手な活用」

田中 隆治(サントリー(株))

3

「医者とのつきあい方」

山本研二郎(大阪市立大学名誉教授・同元学長)

講演要旨



**Please stop
by Booth #24**

Preclinical

General Toxicology
Safety Pharmacology
Genetic Toxicology
Primate Toxicology
Immunotoxicology

Phase I

General Toxicology
Safety Pharmacology
Genetic Toxicology
Primate Toxicology
Immunotoxicology

Phase II

General Toxicology
Safety Pharmacology
Genetic Toxicology
Primate Toxicology
Immunotoxicology

Phase III

General Toxicology
Safety Pharmacology
Genetic Toxicology
Primate Toxicology
Immunotoxicology

Rely on Covance

As the leading provider of regulatory toxicology services to the pharmaceutical and biopharmaceutical industry, we understand the challenges you face in developing new therapies. You can rely on the scientific and regulatory expertise of Covance to provide the full range of nonclinical safety studies to support your drug development goals.

Helping to bring miracles to market sooner.

COVANCE
THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY

THE AMERICAS
+1.888.COVANCE
(288.2623)

EUROPE
+44 (0)1473.500888

JAPAN
3-17 Kojimachi, Nishi-ku,
Chuo-ku, Tokyo 100-0016
Tel: (03) 3465-9903
Fax: (03) 3465-9908

AUSTRALIA
+61.2.8879.2000

E-Mail
info@covance.com

Visit the Covance
Web Site
www.covance.com

特別講演

PL-1 Phenotype-independent toxicogenomics using "Percellome" and "Mille-feuille" data system

J. Kanno, K. Aisaki, A. Ono, N. Nakatsu, Y. Kodama, K. Igarashi
Cellular & Molecular Toxicology Division, Biological Safety Research Center,
National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

A systematic approach is proposed to generate the absolute mRNA expression values from DNA microarrays in a "per cell" basis, designated as "Percellome". The major characteristic of the toxicogenomics using the Percellome is that the linkage to the overt phenotype (s) (phenotypic anchoring) is not the primary factor for the construction of toxicology database/informatics, i.e. the phenotype-independent toxicogenomics. To build up such a database, multiple experiments are to be conducted within a certain period of time. Once absolutized, the transcriptome data from all samples and studies can be compared without further normalization. This system was made primarily for Affymetrix GeneChips, but can be expanded to other platforms and quantitative-PCR as long as the conditions are met. This Percellome absolutization will enable us to express data in a linear scale from zero. We started a project to monitor the time-dose dependent alteration of gene expression by various chemicals through an experimental protocol consisting of a combination of four time points and four dose levels. This protocol generates 4x4 matrix data. The time-dose dependent alteration of all gene species (probeset) caused by a particular test chemical can be visualized in a three-dimensional graph (X-time, Y-dose, Z-expression). One graph contains about 45,000 layers of time-dose surface (isoborogram) from Affymetrix MOE430v2 GeneChip, generating the multilayer data named "millefeuille" data. This method allows a direct expression, for example, of circadian alterations and a straightforward representation of null-expression data of any samples including controls. The millefeuille data allow biologist-friendly data visualization of virtually all data generated by the microarray. Unsupervised clustering is much easier for this type of data to perform than commonly used ratio-metric data against concurrent controls.

This system should contribute to the predictive toxicology through the development of the gene cascade analysis based on the high-precision phenotype-independent toxicogenomics database/informatics.

PL-2

Recent Advances in Chemical Allergy

Ian Kimber

Syngenta Central Toxicology Laboratory, UK

Allergy can be defined as the adverse health effects that may result from the stimulation of a specific immune response. It is now well established that a wide variety of chemicals is able to cause allergic disease. It is apparent also that the form such allergies may take is variable.

The most prevalent form of chemical allergy is skin sensitization resulting in allergic contact dermatitis. Many hundreds of chemicals are known to have the potential to cause skin sensitization, and for this reason allergic contact dermatitis is the most common manifestation of immunotoxicity in humans. In recent years our understanding of the cellular and molecular processes that serve to initiate and regulate skin sensitization has increased substantially, and with that enhanced appreciation of the relevant immunobiological mechanisms have come opportunities to refine and develop new approaches to safety assessment. Hazard identification no longer remains a major challenge in skin sensitization, but the development of accurate risk assessment paradigms does. In support of the latter there is now emerging a robust method for determining the relative skin sensitizing potency of contact allergens using the local lymph node assay. This approach is being evaluated currently, but comparative data available to date indicates that estimates of relative potency derived in this way correlate closely with what is known of the relative skin sensitization activity of chemicals among human populations.

Some chemicals, fewer in number, may induce instead allergic sensitization of the respiratory tract associated with rhinitis and/or asthma. This provides immunotoxicologists with important challenges. First, because occupational asthma resulting from allergic sensitization can result in substantial morbidity, and can even be fatal. Second, since there are presently available no widely accepted methods for the identification and characterization of chemical respiratory allergens. Progress has been made, however, and one approach in particular, cytokine fingerprinting, shows real promise as a method for hazard characterization. This method is based upon our appreciation now that chemical allergens vary with respect to the quality of adaptive immune response they will preferentially elicit, and that this in turn is associated with the expression of characteristic cytokine secretion patterns that permit discrimination between contact and respiratory chemical allergens.

The exploitation of our growing understanding of chemical allergy for the development of improved methods for safety assessment will be discussed.

Drug-induced nephropathy

Akira Hishida

Department of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

Drug-induced injury could occur in arterioles, glomeruli, tubular cells and interstitium. Clinical signs observed in drug-induced nephropathy depend on the site affected. Glomerular injuries, such as gold-induced membranous nephropathy, usually develop proteinuria and nephrotic syndrome. Tubular damage and interstitial nephritis are usually found by the rapid deterioration of renal function. Drugs induce nephropathy through immune mechanisms or toxic action.

Recent works disclosed factors which contribute to the drug-induced acute renal failure. I will discuss the roles of apoptotic cell death, oxidative stress, heat shock proteins and proteins related to DNA repair in the development of tubular damage, and also discuss the factors that affect the recovery from renal failure.

薬剤は、腎血管の収縮による機能的腎不全のほか、糸球体への血流に影響する細動脈病変、糸球体の障害、尿細管の障害、尿細管間質の病変、などを生じうる。腎障害が糸球体病変を来す場合には蛋白尿、ネフローゼ症候群を来す。血管や尿細管の障害もしくは間質性腎炎では急性腎不全として発症する。尿細管の機能としての酸分泌やK分泌を障害し、尿細管性アシドーシスや高K血症等の電解質異常を生じる薬剤もある。薬剤による腎障害の発症機序は病変の種類によって異なり、免疫機序、薬剤による直接的または間接的な細胞毒性、薬剤による尿細管細胞機能抑制、などがある。

尿細管障害による急性腎不全には尿細管壊死のみでなく尿細管細胞のアポトーシスも関与する。尿細管細胞障害には薬剤の直接的毒性のほか、酸化ストレスその他のメディエーターが存在する。一方、腎毒性物質に暴露された尿細管細胞は、熱ショック蛋白やDNA修復関連物質の産生を行い、障害から自らを防御しようとするほか、障害を免れた尿細管細胞の増殖、間質細胞や尿細管周囲の血流を介する創傷治療機構などはたらくにより修復・再生を行う。

本講演では薬剤性腎障害の臨床像を概説した後、尿細管細胞障害に焦点を当て、薬剤による尿細管細胞障害の発症過程について、障害に関与する因子と、障害の防御と修復過程に働く因子の観点から述べる。

PL-4 Novel approaches in pre-clinical drug safety evaluation

Helmut Sterz

Pfizer Global R & D, Safety Sciences, Head of Research Centre, France

The development of new medicines has become increasingly expensive and complex. Despite immense financial and scientific efforts of the pharmaceutical industry, the launch of new medicines - based on small molecules - is stagnant or even regressing. The major causes for preventing [CJP1] a constant and rich flow of new chemical entities (NCEs) into the pipelines are:

- 1) unsatisfactory prediction of efficacy in some therapeutic areas,
- 2) lack of reliable high-throughput screening tests for safety evaluation in early phases of drug hunting (preceding candidate selection) ;
- 3) the relative inability to predict ADME parameters before the first administration to humans.

While significant improvement in these three areas is on-going, it is nonetheless possible to optimise early drug development processes (pre-Phase I) regarding drug safety such that attrition just before or after first-in-man studies will be controlled and reduced to an acceptable level. Optimal orchestration of novel approaches, combining knowledge management in-cerebro & in-silico with in-vitro & in-vivo results, is - in our view - a promising way to higher success rates of early drug development. This must be achieved through collaboration between the various partners involved in the early steps of development: Discovery, Safety Pharmacology, Kinetics & Metabolism, Formulation Research, Clinical Development and Safety Sciences (=Toxicological Research Departments) .

This presentation will review such "novel approaches in pre-clinical drug safety evaluation" taking into account the following aspects:

- a) The value of new techniques and technologies for the screening of NCE's in early phases of discovery aiming at detecting insurmountable hurdles for further development: In-Silico Tools, High Throughput Screening, the gamut of validated and predictive in-vitro tests, Genomics, Proteomics, Metabonomics, Disease Models, especially Transgenic Mice, new Biomarkers and the use of non-conventional laboratory animal species in order to better predict the clinical situation.
- b) The utility of new techniques and technologies (partly those under a) to elucidate mechanisms responsible for secondary effects in laboratory animals and their relevance for man.
- c) The importance of new techniques and technologies in the course of regulatory studies aimed at predicting potential risks for volunteers and patients: Reliable Biomarkers, Genotyping
- d) The development of new drug safety evaluation strategies to allow first-in-man studies: Single Dose/PAD Studies/ Microdosing, etc.
- e) The value of new drug safety evaluation strategies to facilitate advanced drug development and the launch of new medicines.
- f) Knowledge generation and management during the various phases of the development of new safe and efficacious medicines: Here the current dilemma of a lack of coherent education strategy for "Safety Scientists" will be discussed. Safety Sciences are a discipline that incorporates knowledge from various faculties and it is a pity that neither Veterinary Medicine, nor Pharmacy or Biology propose a curriculum to its students that would end with a clear view on the career as a Safety Scientist in the pharmaceutical industry, in regulatory agencies or academia.

學術年會長講演

Mechanisms of injury in renal toxicity. Munezau Gemba, Chairperson, Div. Pharmacol., Osaka Univ. Pharmaceut. Sci., Takatsuki, Osaka 569-1094. A protein kinase C (PKC) activator enhances cephaloridine (CER)-induced renal cell injury in rat kidney cortical slices. The enhancement of mitochondrial free radical generation assessed by chemiluminescence, precedes the CER nephrotoxicity. Such an increase in mitochondrial free radical generation was inhibited by treatment of rats with H-7. PKC activity was significantly increased in mitochondria early after CER injection in rats. CER caused marked activation of ERK1/2 in nucleus fraction. These results suggest that MEK/ERK pathway down stream of a PKC pathway is probably involved in free radical-induced nephrotoxicity in rats treated with CER.

薬物性腎障害においては、腎臓における機能的特徴と関連して、腎への豊富な血液量による薬物到達量、尿管上皮細胞内への薬物の易蓄積性や尿管腔内における薬物濃度の増大傾向などにより、その発症の可能性が高められる。薬物性腎障害、特に急性腎不全に、フリーラジカルの発生が関わる可能性が高いと考えられている。抗生物質セファロリジン（以下CERと略）を中心に、フリーラジカル性障害とその機序について最近の知見を紹介する。CERをラットに投与すると、極めて早期にミトコンドリアにおいて活性酸素の増大がみられる。現在、様々な細胞機能のメカニズムを分子レベルで明らかにするために細胞内シグナル伝達分子の役割に関する研究が急速にすすめられている。しかしながら、細胞内における活性酸素の産生と細胞内シグナル伝達系との関連性については、いまだ充分には明らかにされていない。活性酸素障害の進展機構を知る上で、フリーラジカル性腎障害への細胞内のシグナル伝達分子の関りに注目することはたいへん興味深いと考えられる。CERをラットに投与後、腎障害に先立って、ミトコンドリアにおけるPKC活性の増大がみられる。CERはサイトゾルからミトコンドリアへのPKCのトランスロケーションを引き起こしている可能性が考えられる。CER投与後の腎組織における活性酸素の産生部位とPKC活性増大部位とが共通してミトコンドリアであるという点は興味深い。CERをラットに投与後、早期に、腎皮質の核分画におけるリン酸化ERK量の増大（ERKの活性化）が引き起こされる。ラットから調製した腎皮質切片を用いた実験系において、ERK活性化因子であるMEKの阻害薬としてPD98059を反応液中に存在させると、CERによる腎皮質切片障害として測定した過酸化脂質量の増大のみならず、乳酸脱水素酵素（LDH）の遊離量増大も軽減される。CERによるフリーラジカル性腎障害に、PKCおよびその下流にあるMEK/ERK経路が関与することを示唆する。

教育講演

EL-1 薬物動態関連遺伝子の多型と毒性

横井 毅

金沢大学大学院医学系研究科・金沢大学薬学部

Polymorphic genes of drug metabolism and pharmacokinetics and their associations with toxicities

Tsuyoshi YOKOI

Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University

教育講演

日常的に処方される薬による症状改善の程度は患者によって著しく異なり、患者の20～30%において十分な治療効果が期待できない薬も珍しくないとされている。一方、患者の約10%に何らかの副作用が発現するというFDAの統計がある。さらに、1994年の米国の統計では、薬に起因する死亡が死因の4～6番目に挙げられおり、薬の副作用や毒性による社会的損失は膨大なものであるという認識が高まりつつある。薬物に対する応答性の個体差は、薬がレセプターに結合して薬効を示す時に認められる薬力学的な個人差と、薬の吸収、分布、代謝、排泄の過程における薬物動態学的個人差に分けられる。中でも代謝における個人差が最も大きな割合を占めている。このため、副作用発現の個人差の原因の1つとして薬物代謝酵素の遺伝子多型が注目されており、SNPs（単一ヌクレオチド多型）をはじめとする遺伝子多型のプロファイル解析によって、薬効や副作用の臨床症状の予測が可能になることが期待されている。売り上げ上位200品目の薬のうち、7%が多型を示す酵素によって主として代謝される。一方、副作用報告の50%が既知の多型を示す酵素によって代謝されると報告されており、遺伝子多型のさらなる理解の必要性がある。近年、ほぼ全てのヒト薬物代謝酵素をはじめとする動態関連遺伝子に多型が存在し、その種類と頻度にはかなりの人種差も存在することが明らかになってきた。さらに、遺伝子多型が薬物代謝能に及ぼす影響は、薬物によって著しく異なっているため、遺伝子多型と代謝能の相関に十分に留意して個別薬物療法（personalized medicine、テーラーメイド医療）を考える必要がある。

講演では、これまでに報告されている多くの報告を分類し、我々のデータも加えて、薬物動態関連遺伝子の多型と毒性および副作用の現状と今後について考えたい。

EL-2

ダイオキシン類の毒性発現メカニズム

遠山 千春

国立環境研究所・環境健康研究領域

Mechanism of toxicity of dioxin and related compounds

Chiharu Tohyama

Environmental Health Sciences Division, National Institute for Environmental Studies

The tolerable daily intake (TDI), a safety standard for dioxin and related compounds, was reevaluated by the consultation of World Health Organization in 1998, by the use of laboratory animal data on various toxicity endpoints in reproduction, brain and behavioral and immunological functions. Since there are still a large body of ambiguity about the extrapolation of animal data to man as well as the toxicity mechanism by dioxin and related compounds, we have investigated how low dose exposure to dioxins resulted in toxicities in rats and mice, focusing upon the most sensitive period of life, from fertilization to the delivery. In rats and mice exposed to dioxins via in utero and/or lactation at a single oral dose, we have studied how the embryo, fetus and offspring respond and what the endpoints were. As a result, we found that a lower dose of dioxins than those reported so far could show toxicities that have not been reported. Furthermore, we found that there are critical periods depending upon endpoints, the presence of AhR dependent mechanism and independent mechanism, the toxicities that are not parallel to the TEF concept, and a difference in sensitivity between humans and laboratory animals. In this lecture, I will summarize and explain the novel findings about the above-mentioned aspects on toxicities of dioxins.

ダイオキシン類の安全基準（耐容一日摂取量）は、発がん作用や慢性毒性によって設定されていたが、1998年のWHO専門家委員会合における基準改訂に際して、根拠データとして採用されたものは、生殖発生、脳機能・行動、免疫機能への作用の動物実験データであった。その後、数年間の、焼却場や食事からのダイオキシンに対するメディアを介した社会的熱狂状態はたいぶん冷めて、今日ではその反動として、ダイオキシンの毒性は取るに足らないとする論調も見られるようになった。それでは、ダイオキシンの健康へのリスクはどの程度なのだろうか。

一般の環境中に居住するヒトがダイオキシン類へ曝露することに伴う懸念は、致死毒性をはじめとする高レベル曝露による影響が問題なのではない。ヒトが食事や環境から体内に蓄積しているレベルのダイオキシン類によって、どのような条件下でいかなる作用が起こりうるか、そのメカニズムはどのようなものが主要な問題なのだ。

そこで、我々はラットやマウスを用いて感受性が極めて高い妊娠から出生までの時期の曝露による、生殖発生、脳機能・行動、免疫機能への影響を調べてきた。すなわち、ラットでは妊娠15日目、マウスでは妊娠12.5日目にダイオキシンを単回経口投与し、出生後の仔ラットまたはマウスの発育に伴って観察された影響指標を検討した。その結果、これまでの報告よりも低いレベルのダイオキシンによって観察される作用や、これまでに観察されていなかった影響指標が明らかとなった。さらに、これらの影響指標の発現に、感受性が極めて高い臨界時期があること、アリーク炭化水素受容体（AhR）の存在が不可欠な毒性とこの受容体とは無関係に発現する毒性があること、ダイオキシンの安全基準策定のために用いられている毒性等価係数（TEF）概念から外れる可能性が高い影響、あるいはヒトと動物種における感受性の違いなどについての知見も明らかとなった。

本講演においては、これらの論点について、代表例を挙げて概説をする。

EL-3

時間薬理学と毒性

藤村 昭夫

自治医科大学臨床薬理学

Chronotoxicity

Akio Fujimura

Department of Clinical Pharmacology, Jichi Medical School

教育講演

Animal and clinical studies show that toxicity of many drugs are varied with their dosing times. In this lecture, I will talk about chronotoxicological profiles of several drugs which are detected in animal studies and subsequent clinical trials. Finally, to establish a safe dosage regimen, I will emphasize the necessity of chronotoxicological study using new compounds in preclinical stage.

医薬品を適正に使用するためには遺伝子多型等の個体間変動のみならず、生体リズム等の個体内変動も考慮する必要がある。これまで基礎研究によって多くの薬物の毒性が投与時刻により異なることが明らかにされ、さらに臨床の場においても医薬品の安全性が投与時刻により異なることが報告されている。本講演では、基礎研究によって明らかにされた薬物の時間毒性学的特徴が患者を対象にした臨床研究でも認められた例を紹介し、前臨床における時間毒性学的研究の必要性を強調したい。

EL-4 トランスクリプトーム解析から見えてきたES細胞の秘密

山中 伸弥

奈良先端科学技術大学院大学 遺伝子教育研究センター

Mystery of ES Cell Revealed by Transcriptome Analyses

Shinya Yamanaka

Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology

胚性幹 (ES) 細胞はマウスやヒトの初期胚に由来する幹細胞で、様々な細胞へと分化できる全能性を維持したまま、高速で分裂する。これらの性質からマウスES細胞はノックアウトマウス技術の開発をもたらした。ヒトES細胞は細胞移植療法や薬剤の効果、安全性テストの材料として期待を集めている。ES細胞の高い増殖能や分化全能性の維持機構を理解するために、ES細胞で特異的に発現している遺伝子群の同定を試みた。ES細胞に由来する Expressed sequence tag (EST) 約3万クローンと他の臓器、組織に由来するEST約100万クローンを同じ遺伝子ごとにクラスタリングし、Digital Differential Displayにより発現頻度を比較した。その結果ES細胞由来のESTライブラリーにのみ含まれている機能未知遺伝子を10個同定した。これらの機能解析を行った結果、ES細胞の高い増殖能と分化全能性のそれぞれの鍵を握る遺伝子の特定に成功し、ERasおよびNanogと命名した。同様の *In silico* アプローチが、他の疾患関連遺伝子や創薬標的遺伝子の同定にも応用できると期待される。

参考文献

1. Mitsui K., Tokuzawa Y., Itoh H., Segawa K., Murakami M., Takahashi K., Maruyama M., Maeda M. and Yamanaka S. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 113: 631-642, 2003
2. Takahashi K., Mitsui K. and Yamanaka S. Role of ERas in promoting tumor-like properties in mouse embryonic stem cells. *Nature* 423: 541-545, 2003

EL-5

Thresholds of toxicological concern and safety evaluation of food ingredients

Ian C. Munro

CANTOX Health Sciences International, CANADA

A threshold of toxicological concern is defined as a daily intake of a chemical below which there is virtually no risk of adverse effects. This concept has been used by regulatory authorities for the safety evaluation of packaging materials and by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants for the safety evaluation of flavouring substances. The concept relies upon using existing data on well tested chemicals of varying structural types to predict the risk of adverse effects for chemicals of unknown toxicity. Current thresholds of toxicological concern for various structural classes of chemicals indicates clearly that chemical structure defines potential for toxicity. Several large databases currently exist which support various thresholds of toxicological concern. It is believed that in the future, thresholds of toxicological concern will find increasing application by regulatory agencies.

EL-6

QT延長と不整脈

橋本敬太郎

山梨大学医学工学総合研究部 薬理学教室

QT時間は心電図で記録される間隔であるから、T波の大きさが通常小さいし、波形にも多様なことが多いから、他の心電図で記録できる時間間隔よりは測定しにくいし、延長や短縮の判定が難しいことはしばしば起こりえる。しかしQT延長は心室筋の脱分極時間が伸びていることを示すだけなので、それ自身は不応期の延長を伴って抑制できるリエントリー不整脈には有効な作用であるし、また脱分極時間の延長により不活性化が遅れるCaチャンネルからのCa流入が増加すれば、心筋収縮力が亢進する。実際現在日本だけで認可されているIkr遮断薬のニフェカレントは強心作用を持つ抗不整脈薬として頻脈性の心室性不整脈の停止のために静脈内注射で使われているし、また心室細動時の除細動閾値を下げ、除細動が起こりやすくするとも言われている。但し、これらのIkr遮断クラスIII薬の開発が、10年以上も前のCardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) 研究でNaチャンネル抑制薬に催不整脈作用があることが臨床的に予測された後に爆発的に起こり、ベントバルビタール麻酔などの心拍数が高くなる麻酔薬を使った実験や、もともと心拍数が高い小動物を使った実験ではQT時間を延長させ、リエントリー不整脈モデルには有効なことが示されたので臨床試験に入ったが、心拍数が低いヒトではQT延長に伴ってtorsades de pointes (TdP) や突然死が報告されたことからQT延長薬物と催不整脈作用が結び付けられた。従来から先天性QT延長を示すヒトでは若年死し易いことが知られていたし、テルフェナジンなどを初めとする心臓に対する作用が注目されずに非循環薬として使われていた薬物が市場に出て広く使われてから、QT延長を起こし、発症頻度は場合によると万分の一であっても、致死性の不整脈を起こすことが明らかになった。現在ICHでも取り上げられたように、新規の薬物がQT間隔を延ばすか延ばさないかは、薬物開発の上で避けて通れない問題になっている。

最近ICHメンバーを中心に、日本でもQT延長を来す薬物が、前臨床試験でどう検出できるかの検討が行われ、in vitroでもin vivoの実験でも従来からの試験法を組合せれば、臨床的にQT延長を起こす薬物を臨床試験に入る前に充分検出可能であることが示された。現在QT延長を起こす薬物の内、実際にTdPを起こす可能性があるかどうかを、前臨床段階で見出す方法が検討されている。QT延長の逆頻度依存性、QT延長のバラツキ（左か右の心室、心筋部位や心筋層におけるQT延長延長度の差）、遅い3相再分極による活動電位波形の三角形化、受攻期延長、丸ごと動物での実際の催不整脈作用の証明（徐脈動物での自発的TdP発生、交感神経活動亢進時の致死性不整脈発生など）のどれを選択し、時間的に、経済的に、かつ信頼性高く評価できるかが問題である。

1. 杉山篤, 佐藤吉沖, 橋本敬太郎: 薬物誘発性QT延長症候群 — イヌin vivoモデルでの評価法 —, 日薬理誌, 116 (補1) : 82P-87P, 2000
2. L. Belardinelli, C. Antzelevitch, MA Vos: Assessing predictors of drug-induced torsade de pointes. TIPS 24: 619-625, 2003

シンポジウム

低用量・閾値問題の新展開

林 真¹、小野 哲也²

¹国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部

²東北大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座

Introduction to the symposium I: Assessment of low dose effect and threshold

Makoto Hayashi¹, Tetsuya Ono²

¹Division of Genetics and Mutagenesis, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, ²Department of Cell Biology, Graduate School of Medicine, Tohoku University

In this symposium, we will focus on the toxicological phenomenon at low dose levels and challenge to seek possibility to find safety dose levels of chemicals, even for genotoxic carcinogens. In the general toxicology field, we estimate the no adverse effect level of the experimental animals and then adjust it by safety- (uncertain-) factor for extrapolation to human situation. It has been believed theoretically and also practically that genotoxicity and accordingly carcinogenicity induced by genotoxic mechanism have no threshold. Namely, we cannot find any dose levels that assure the safe dose level for genotoxicity or genotoxic carcinogenicity even at extremely low dose level. There are, however, biological mechanisms to repair DNA lesions and also carcinogenesis needs multiple steps. Thus, the probability that a genotoxic event occurring in the body would lead to cancer might not be high. It may be possible to set practical (or biological) threshold even for genotoxicity and genotoxic carcinogenicity.

We will learn and discuss on probability and statistical aspects; radiation genetics aspects; general toxicological aspects; genotoxic aspects; and carcinogenic aspects on low dose effects and threshold.

本シンポジウムでは、化学物質の安全性を評価する上で、低用量域での現象に焦点を当て、安全域をどのように設定することが可能かを考えてみたい。一般毒性では、実験動物における無作用量をもとに、ヒトへの外挿のための安全係数（不確実係数）として種差10倍、個体差10倍の合計100倍で補正することが一般的に行われている。ただし、DNAを直接標的とする遺伝毒性や、遺伝毒性を発生メカニズムとするがん原性、すなわち遺伝毒性がん原物質（genotoxic carcinogen）には閾値は存在せず、用量をいかに下げてもこれらの発現が確率的に0となることはない、と考えられている。しかし、DNAについての傷も多くは修復され遺伝毒性の発現に至らないことが知られているし、がんの発現についても多くのステップが必要であり、遺伝毒性が生体内で誘発したとしても、がんを誘発する確率がいずれの場合にもすぐ高まるとは考えられない。従って、遺伝毒性や遺伝毒性がん原性についても、曝露量を下げることによりあるレベル以下の確率に抑えることは可能と考える。

遺伝毒性等の閾値の問題は放射線遺伝学の知識に基づくとところが大きい。また、確率論的な取り扱い、考え方についてもっと深く理解する必要がある。本シンポジウムではこの2つのテーマを基礎に、一般毒性、遺伝毒性、がん原性の実際のデータに基づいた低用量域での反応、閾値に関する考察をするとともにリスク評価の考え方について議論を深めたい。

S1-1

低線量率長期ガンマ線照射による生物影響と発がんリスク評価への寄与

田中 公夫

(財)環境科学技術研究所 生物影響研究部

Biological effects of prolonged gamma rays irradiation with low dose rates and contribution to radiation risk assessment

Kimio Tanaka

Department of Radiobiology, Institute for Environmental Sciences (IES)

Mice were exposed to prolonged gamma rays with low dose rates in SPF-condition. Used irradiation doses were quite a low such as 20, 1, 0.05 mGy/day, which are 8,000, 400, 20 times higher natural background level radiation. In here, we show the obtained results on the relationships of cancer incidence, life span shortening, hematopoietic damages, chromosome aberrations, mutations, and gene expression levels for cellular responses, and irradiated dose rates, and we also propose an idea on threshold or non-threshold model.

低線量でリスク評価に問題となるのは当然のことながら、低線量率長期被ばくの場合である。20, 1, 0.05 mGy/dayの線量率（自然放射線のわずか、8,000, 400, 20倍高い）を400日間マウスに全身照射して、4000匹の個体について発がん頻度、寿命への影響を調べた。また、血液前駆細胞数、染色体異常、突然変異、細胞応答能に関わる遺伝子発現変化も観察している。これらの異常頻度と線量率や集積線量との関連について述べる。20 mGy/dayでの、発がん頻度は有意ではないが、非照射群と比べて、白血病などのがんで高い発生率を示した。さらに興味あることに、20 mGy/dayでは雌雄とも有意に約100日の、1mGy/dayで雄に有意な寿命短縮が観察された。0.05 mGy/dayの線量率では有意ではないが、若干の寿命短縮が観察され、この値は直線的に0に近づいた。発がんの早期発生は、発がん率よりも、線量率効果の観察の有益な指標となる。これは低線量率放射線に長期に照射され、発がん過程に影響を及ぼし、悪性リンパ腫による死亡が早期に発生したことによる。よって発がんリスク評価では、がんの出現頻度のみでなく、がん化過程を調べる必要がある。前白血病などがん化の段階を形態学的に分類するのは困難を伴う。それも、遺伝子変化の異常度を指標にすれば、より科学的に検討できる。この前白血病に関与する遺伝子はもとより、がん化過程の各段階に関与する遺伝子（群）を同定して、どの線量率の放射線照射までなら、良性クローンの悪性化率が高いかなどを観察できる。発がんには生体機能など、ここから先へは進めないよう防御するいくつかの、段階があり、これは閾値として観察される。がん化に不可欠な適切な指標を見つけることが遺伝子レベルからの発がんリスク研究には大切である。さらに、低線量研究を行うためには精度を上げる、感度を上げる技法の確立が不可欠である。私たちは、遺伝子観察の精度を上げるため、アレイCGH法と放射線を高感度に検知する細胞株の樹立をおこない、適応応答、逆線量率効果の研究から至適域があり、閾値があるように思われていた線量率域（1-10 mGy/min）で、観察感度を上げ、新たな質的差異が見えてきた。このような研究をすることで低線量域に閾値が存在するのか、しないのかの論議が可能となる。（本研究は青森県からの委託事業の成果の一部である。）

S1-2

化学物質の遺伝毒性における生物学的な閾値

祖父尼俊雄

(株)ノバスジーン

Biological threshold in genotoxic activity of chemical substances

Toshio Sofuni

NovusGene Inc.

化学物質の安全性評価において遺伝毒性試験が用いられているが、主にハザードの検出 (hazard identification) のために用いられてきたことから、遺伝毒性の有無の判断が最優先されてきた。がん原性試験で陽性の結果が得られた場合には、その発生のメカニズムに遺伝毒性が関与しているか否かが重要な点となり、遺伝毒性がある場合には閾値が存在しないとして、たとえその暴露が微量であっても安全域はないものと考えられてきた。それに対して遺伝毒性がない場合には閾値が存在するとして、安全に使用できる用量域の設定が可能となる。この考え方は遺伝毒性そのものに閾値がないとするセントラルドグマに基づいていると考えられる。

それでは、遺伝毒性化学物質に閾値がないということにどれだけの科学的根拠が提供されてきているのだろうか。上記のように遺伝毒性試験がハザードの検出に用いられてきたことから、遺伝毒性の有無を判定するためにはできるだけ高用量での試験が推奨され、また実際に行われてきた。従って、高用量域での試験データは膨大なものとなっているが、陽性結果が得られた場合においても低用量域での反応についてはほとんど注目されてこなかった。さらに、低用量域における遺伝毒性の科学的な検討となると極めて限られたものとなっている。

最近、遺伝毒性試験結果をハザードの検出だけでなく、リスクアセスメントのためにも用いようとする動きがある。日本環境変異原学会に「食品および食品添加物に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」臨時委員会が設置され、議論が開始されている。ここでの「評価・解釈」はまさにリスクアセスメントを目指しているといえる。また、遺伝毒性に基づくリスクアセスメントの戦略を構築するため、厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）「既存添加物等における遺伝毒性評価のための戦略構築に関する研究」の研究班が設けられ、必要な実験も行われている。これら2つのグループは合同で定例会を開催し、検討を進めている。ここでも遺伝毒性の閾値の有無はリスクアセスメント手法に大きく影響を与えることになる。

現在DNAを直接標的とする遺伝毒性には理論的に閾値は存在しないという考え方が国際的に受け入れられているが、生物学的な閾値の存在を示唆するような実験データがある。代表的な遺伝毒性試験であるAmes試験に用いられているTA1535株とそのDNA修復酵素欠損株の遺伝毒性化学物質に対する反応を比較すると、親株であるTA1535には自然誘発突然変異コロニー数の範囲内に埋もれてしまう用量域が見つかっている。つまり遺伝毒性化学物質がターゲットに到達しているものの、修復を主とする突然変異に至るまでの全ての生物学的プロセスを完遂できない低用量域（生物学的な閾値）が存在することを示唆している (Sofuni et al., *Mutat. Res.*, 464 (2000) :97-104)。

上記の例を1つのモデルとして取上げ、遺伝毒性における閾値の問題についての論議を広める場を提供してみたい。

S1-3

発がん性試験における閾値形成要因と p53

平林 容子

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

AN EVIDENCE OF POSSIBLE THRESHOLD FORMED BY p53.

Yoko Hirabayashi

Div. Cellular & Molecular Toxicology, National Institute of Health Sciences.

Threshold vs. non-threshold issue is unresolved long-term subject not only in radiation leukemogenesis but also in chemical's. While an existence of threshold can be rejected by the difficulty in revealing a significant difference between the value at dose zero and the other at the next dose, a difficulty is also known to show a continuity of values from one at dose zero to the other at the next dose and up. More than over hundred mice per dose point in our recent study in radiation-leukemogenesis could show neither significant non-thresholdness nor thresholdness. However, interestingly, p53 deficient mice treated with methylnitroreia showed significant lack in threshold, thus, unequivocal thresholdness observed in the wild type mice can be assumed as a consequence of p53-gene function in DNA-repair and related.

受容体を介した異物の低用量作用が注目され、生体への影響や閾値の有無が話題になっている。それらの成り行きはともかく、発がん過程の解明の進歩に伴って、それまで発がんのエンドポイントで判断してきたがん原性試験にも、低用量・閾値の問題が波及している。

放射線白血病を観察すると、所謂linear-quadraticな無閾値性の“印象”を与える線量頻度曲線が得られる。しかし、その無閾値性を示す厳密な実験と統計的な裏付けは意外に見られない。化学発癌物質についても、直接的遺伝子傷害性発癌物質（イニシエーター）による発がんでは同様の判断がなされる。ブルンベルグの二段階発癌仮説は、イニシエーター単独で発がんの“見えない”用量での、間接的遺伝子障害性発癌物質（プロモーター物質）による発がん作用の促進により、先の無閾値性予測を高めたかに見える。

他方、直接的遺伝子傷害性発がんに関値を与える可能性には、様々な種類と様々な強さによる遺伝子傷害の修復、種々の酵素系による解毒作用、被傷害細胞のアポトーシスによる排除など、多くの要素が関与し得るので、見かけ上の閾値が観察されることには疑問がない。事実、直近10年の用量相関データを伴う、ヘテロサイクリックアミン類などを含む遺伝子傷害性発がん研究で、閾値の有無を論じた文献（22件）をみると、そこでは、その統計的精度への疑念はともかくとして17件が閾値を“有り”としており、“無し”、もしくは“equivocal”としているものは、acetylaminofluoreneのような一部の強い変異原性物質群を扱ったものに限られている。

ところが実際に白血病誘発実験を行うと、放射線では一群100匹を超える実験でも、統計的には有意に閾値“有り”とも“無し”とも云えない結果となる。確かにMNUを用いた白血病では、野生型では閾値の存在を示唆する尤度を与えたが、これもp53遺伝子のヘテロやホモの欠失動物を用いると、修復不全が顕在化した形で、ここでは閾値の存在の肯定は明らかに困難であった。野生型動物における閾値の存否の判定の困難と相俟って、リスクへの言及は容易でない。

S1-4

環境発がん物質の閾値

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

Threshold of Environmental Carcinogens

Shoji Fukushima, M.D.

Department of Pathology, Osaka City University Medical School

Low dose hepatocarcinogenicity of genotoxic, environmental carcinogens was examined as an aid to cancer risk assessment in humans. Male F344 rats, 21-days-old at the start of the experiment, were administered 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), a food-derived hepatocarcinogen, in the diet at various doses for a maximum of 32 weeks. Quantitative values of glutathione S-transferase placental form (GST-P) positive foci, a preneoplastic lesions in the liver, were similar among the 0 to 1 ppm MeIQx groups, while MeIQx at a dose of 10 ppm showed a tendency for increase and 100 ppm significantly elevated their numbers. MeIQx-DNA adduct formation in the liver demonstrated a linear relationship with all the doses tested. Levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in the liver were linearly elevated from 1 ppm MeIQx at week 4, and from 0.01 ppm MeIQx at week 16. Interestingly, there were no differences in H-ras mutation frequencies with 0.01 ppm MeIQx or less, while they were significantly increased at 0.1 ppm MeIQx and above. These results indicate that MeIQx have no-observed effect levels for induction of carcinogenesis-related changes in the rat livers, implying a practical threshold for carcinogenicity of genotoxic carcinogens.

In addition, it was examined whether non-genotoxic carcinogens have thresholds for their actions using investigated in a rat liver medium-term bioassay (Ito test). Male 6-week-old F344 rats were initiated with diethylnitrosamine and then given phenobarbital (PB) in the diet with partial hepatectomy at week 3. Quantitative values for GST-P positive foci in the liver were increased dose-dependently in rats given PB at 60-500 ppm. However, those for doses in the range 1-7.5 ppm demonstrated a decrease as compared with 0 ppm, with significant differences observed at 1 and 2 ppm (hormetic effect). Interestingly, generation of 8-OHdG, cellular proliferation within the areas of GST-P positive foci and apoptosis in background liver parenchyma were suppressed at 2 ppm PB. Suppression of 8-OHdG formation might be related to the enhanced mRNA expression of the 8-OHdG repair enzyme, Ogg1. In addition, in the medium term-assay, inhibition effects were also noted at low dose for induction of GST-P positive foci by other non-genotoxic carcinogens, DDT and α -BHC. These results indicate that non-genotoxic carcinogens certainly have a threshold for carcinogenic potential.

我々は、環境中に存在する発がん物質のヒト発がんにおけるリスクを、実際の曝露レベルの低用量において評価することを目的に研究を進めている。これまでの研究成果として、ラット肝発がん中期検査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肝発がん物質にも実際上、閾値が存在することを明らかにした。また、非遺伝毒性肝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始めて証明した。

S1-5 生物統計の視点から考えられる閾値問題

吉村 功
東京理科大学

Statistical issues concerning the threshold identification based on toxicological experiments

Isao Yoshimura

Tokyo University of Science

Statistical issues concerning threshold identification are: 1) how to judge the existence of threshold or practical threshold based on experimental data, 2) how to estimate the threshold based on experimental data if the existence of threshold is assured, 3) how to design *in vivo* or *in vitro* experiment to identify threshold. In general, the determination of threshold based on *in vivo* experiments is impossible without reasonable theoretical and biological background. Concerning *in vitro* experiment, the principal subject is the definition of threshold or practical threshold, for a certain amount of response is always inevitable for zero-dose group. The design of experiment for threshold identification may be possible if an adequate biological background is established.

低用量・閾値問題に統計学からの寄与があるとすれば、1) 実験データから閾値の有無についての判断を下すための方法論・手法の提示、2) もし閾値があるとすればその用量はどれくらいであるかを、実験データから判定する方法の提示、3) 閾値の有無あるいはその用量について適切な判断を下すための実験規模の評価、などを行うことであろう。これらはいずれも、問題としている毒性、それをもたらす被験物質・負荷、それを評価するための試験法・実験法に依存するものであり、経験の浅い小生にこれを全面的に論じる能力はない。しかし、過去に関係した毒性分野と試験法についての経験に基づいて論じるならば、以下のことが言える。

1) 生物学的（毒性学的、薬理学的）理論に基づく仮説がないときに、*in vivo* 実験の結果だけから閾値の有無を評価することは原理的に不可能である。2) 用量反応関係を定式化（数式表現）することができるような生物学的理論を前提にして、*in vivo* 実験で閾値の有無についての仮説を検討し、その蓋然性を議論することはある範囲で可能である。しかし、その議論を有効なものとするだけの精度を確保する動物数（*n*数）は、理論に依存していて、ときに、実際上実験ができないほど大きくなることが予想される。3) *in vitro* 試験（実験）では、ブランク（用量0）でも何らかの反応が観察されるので、閾値を生物学的側面から明確に定義しないと、判断を下す方法論を展開することができない。4) Virtually safe dose あるいは practical threshold を *in vitro* 試験の結果に基づいて議論することは、定義次第で可能である。定義が明確であれば、それを定量的に検討するための試験設計が統計学的に可能と思われる。

閾値の有無が問題になるのは、これがあればADIなどの値を定めるのに好都合だからであろう。もしそういう社会的、実目的があるのであれば、哲学的あるいは理論的なモデル展開だけでなく、実際にどのような方法で閾値を特定するかを考えなければならない。そのためには各種の *in vitro* 毒性試験の結果の安定性、再現性、人への外挿可能性についての検討が必要と思われる。

S2-1 各種薬物による嘔吐機作研究

福井 英夫

武田薬品工業（株）医薬研究本部・薬剤安全性センター

Approaches to understanding the mechanisms involved in emesis associated with various drugs

Hideo FUKUI

Drug Safety Research Center, Pharmaceutical Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd.

In the clinical development of new drugs, drug-induced emesis can cause delays in the developmental schedule. When emesis is observed in the clinical trials of new pharmaceuticals, procedures for the prevention and treatment of drug-induced emesis will be required in order to proceed with human studies. Alternative methods of dosing such as divided doses, infusion or clinical combination therapy with anti-emetics need consideration. Analyzing the frequency, latency period and duration of emesis in humans will allow the selection of appropriate animal models for human vomiting. Different methods of drug administration and anti-emetic agents can be explored and the site of action and effects on neurotransmitters can be determined in animal studies. This presentation will include examples of mechanistic studies using well-known emetics, which are designed to find appropriate anti-emetics against acute and delayed emesis [1, 2], determine the central or peripheral site of action [1, 2] and to identify neurotransmitters with microdialysis [3, 4]. These procedures are useful for understanding the mechanisms involved in drug-induced emesis.

開発中の薬物の臨床試験で嘔吐がみられた場合、新薬開発に支障を来たす。臨床試験を中断させないために、ヒトで嘔吐がみられた場合には、その嘔吐を回避する方法が求められる。即ち、投与方法の変更（分割投与、インフュージョン投与など）あるいは臨床で使用できる制吐剤の併用などである。ヒトで嘔吐の発現頻度、潜時及び発現時間帯を解析することにより、ヒトの嘔吐を反映する嘔吐動物を選択し、その動物を用いて投与方法あるいは制吐剤を探索する。また、嘔吐動物モデルを用いて、作用部位（中枢・末梢）、あるいは関与する神経伝達物質を同定することにより、嘔吐発現機作を明らかにする。

我々の研究所で実施してきた既知の嘔吐薬物を用いた嘔吐メカニズム研究の中から、いくつかの事例について紹介する。

1. 制吐剤探索研究（急性嘔吐・遅発性嘔吐 [1, 2]）
2. 動物モデルを用いた作用部位の評価（中枢性嘔吐と末梢性嘔吐の同定 [1, 2]）
3. Microdialysis法を用いたneurotransmitterの特定 [3, 4]

References

- 1) Fukui H, Yamamoto M, Sato S. Vagal afferent fibers and peripheral 5-HT₁ receptors mediate cisplatin-induced emesis in dogs. *Jpn J Pharmacol*. 1992; 59: 221-6.
- 2) Fukui H, Yamamoto M. Methotrexate produces delayed emesis in dogs; a potential model of delayed emesis induced by chemotherapy. *Eur J Pharmacol*. 1999; 372: 261-7.
- 3) Fukui H, Yamamoto M. Microdialysis as applied to the gastrointestinal tract. In: *Methods in Disease: Investigating the Gastrointestinal Tract*, Ed. by Preedy VR, Watson RR, Oxford University Press, UK, 1998: 209-17.
- 4) Fukui H, Yamamoto M, Ando T, Sasaki S, Sato S. Increase in serotonin levels in the dog ileum and blood by cisplatin as measured by microdialysis. *Neuropharmacology*. 1993; 32: 959-68.

S2-2 抗癌剤誘起性嘔吐発現について

南 勝^{1, 2}、遠藤 泰¹、浜上 尚也¹、平藤 雅彦¹

¹北海道医療大学薬学部薬理学教室

²医療法人社団常松会東栄病院

Anti-cancer drug-induced emesis

Maseru Minami^{1, 2}, Toru Endo¹, Naoya Hamaue¹, Masahiko Hirafuji¹

¹Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, Japan. ²Touei Hospital, Japan.

Emesis caused by anti-cancer drugs is associated with an increase in the concentration of serotonin (5-HT) in the intestinal mucosa and the brainstem. 5-HT released from the enterochromaffin (EC) cells stimulates the 5-HT receptors on the adjacent vagal afferent nerves. The depolarization of the vagal afferent nerves stimulates the vomiting center in the brainstem and eventually induces a vomiting reflex. Our study is reviewed from the viewpoint on the role of 5-HT in acute and delayed emesis.

抗癌剤誘起性嘔吐は、腸管と脳幹延髄のセロトニン (5-HT) 上昇を伴う。腸管エンテロクロマフィン (EC) 細胞から遊離した5-HTは、EC細胞近傍の迷走神経求心性線維を刺激する。求心性迷走神経の脱分極は、脳幹の嘔吐中枢を興奮させ、嘔吐を発現すると考えられている。

今回、我々は、抗癌剤による急性期嘔吐と遅延性嘔吐における5-HTの役割を中心に、最近の研究までをまとめ発表する。

S2-3

臨床の場における抗癌剤による悪心・嘔吐制御の重要性

岡田 守人

兵庫県立成人病センター・呼吸器外科

Clinical importance of controlling vomiting and nausea induced by cancer chemotherapy

Morihito Okada

Hyogo Medical Center for Adults

The side effects of chemotherapy for cancer, including myelosuppression, sometimes cause a stumbling block to the progress of the treatment. In particular, vomiting and nausea are among the most distressing effects which frighten patients, decreases the quality of the patients' lives, increases anxiety and finally results in refusal to continue chemotherapy. In 2003, systemic chemotherapy had been given for lung carcinoma in 208 patients in my institute. Among them, 65 patients underwent CDDP-based chemotherapy, and in 4 patients we had no choice but to discontinue the treatment in order to relieve their vomiting and nausea. I am an active member of the Japan Clinical Oncology Group (JCOG) in which the Ministry of Welfare-Labor officially conducts a very large clinical trial for human cancer. I will present a few cases enrolled into the trial in which we were forced to stop chemotherapy due to vomiting and nausea, and will emphasize the role of controlling these signs and symptoms.

シンポジウム

癌化学療法に伴う有害事象には骨髄抑制をはじめとし、多くの事象があり化学療法の継続を妨げる原因となっている。なかでも、悪心・嘔吐など消化器症状は患者に最も嫌われ、体力低下などのQOL低下のみならず、その自覚症状の強さ故、患者の化学療法に対する不安の増強、治療継続の拒否などを引き起こす。2003年に当センターで施行した肺癌に対する全身点滴による化学療法は208例であった。そのうちCDDP使用は65例で、悪心・嘔吐のため化学療法を中止せざる得なかったのは4例であった。当センターは厚生労働省がん研究助成金指定研究（JCOG; Japan Clinical Oncology Group）の主要メンバーであり、多施設共同がん臨床研究を積極的に行っている。それら臨床試験において悪心・嘔吐のため試験を中止せざる得なかった事例を提示し、悪心・嘔吐制御の重要性を強調したいと考える。

The side effects produced by chemotherapy for cancer including myelosuppression sometimes causes a stumbling block to the progress of chemotherapy. In particular, vomiting/nausea is one of the most distressing symptoms which scare patients, decreases quality of patients' life, increases anxiety and finally results in rejection for continuance of chemotherapy. In 2003, systemic chemotherapy had been performed for lung carcinoma in 208 patients at my institute. Among them, 65 patients underwent CDDP-based chemotherapy, and in 4 patients we had no choice but to stop chemotherapy in order to relieve their vomiting/nausea. I am an active member of Japan Clinical Oncology Group (JCOG) in which the Ministry of Welfare-Labor officially conducts huge clinical trial for cancer. I will present cases enrolled into the trial in which we were forced to stop their chemotherapy due to vomiting/nausea, and emphasize the role of controlling the symptoms.

S2-4

悪心を指標とした制吐薬の新しい評価

松木 則夫

東京大学大学院薬学系研究科

Mechanisms of nausea and in comparison with vomiting

Norio Matsuki

Laboratory of Chemical Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

嘔吐は一種の警告症状と考えられており、対症療法として嘔吐を抑制することよりも、嘔吐の原因除去に重点が置かれてきた。基本的には正しい考えであるが、嘔吐の副作用が強い制吐剤の登場により、初めて嘔吐抑制が重要なテーマとなり、その後の研究展開につながった。その結果、セロトニンの関与が明らかになり、セロトニン3型受容体拮抗薬が開発後に臨床使用され、有効性が示されている。しかし、セロトニン3型受容体拮抗薬が奏功しない嘔吐があり、新たな医薬品開発が進められている。

嘔吐研究や制吐薬開発においてネックとなる点が、嘔吐する動物種が少ないことである。特に、小型実験動物として汎用されている、マウス、ラット、モルモットなどが嘔吐しないことから、中型動物が利用されてきた。我々は、食虫目に属する小型動物のスンクス (*Suncus murinus*) が嘔吐研究に有用であることを示し、既に各方面で研究に用いられている。また、マウスやラットを用いて、嘔吐以外の指標として異味症や味覚嫌悪学習を用いた研究もなされているが、いろいろな制限がある。

しかし、これらの研究は嘔吐の抑制が目標であり、悪心についてはほとんど検討されてこなかった。また、悪心・嘔吐と表記される場合も多く、悪心は嘔吐の前兆であり、嘔吐刺激の強い時が悪心、強くなれば嘔吐になると考えられてきた。一般に悪心は嘔吐の前に起こるが、無重力状態やステロイド使用時などは例外もある。さらに、悪心は刺激を感知（入力）して生じた嫌悪状態であり、それに対して嘔吐は自律神経や運動神経系の強調による反応（出力）であり、同じではない。また、嘔吐後には一種の開放感が得られ、患者のQOLを考えた場合には、悪心こそ抑制しなければならない。我々は、スンクスを用いて味覚嫌悪学習を指標にすることにより、初めて悪心と嘔吐を分離して解析することに成功した。

悪心を起こすと思われる刺激（無条件刺激）とスンクスが好む砂糖水や肉エキスの摂取（条件刺激）を組み合わせ、その後の摂取量から悪心の程度を測定した。また、無条件刺激後に観察を続けることにより、嘔吐反応との分離を可能にした。その結果、タキキニンNK1型受容体拮抗薬は嘔吐を抑制するが、悪心は抑制しないこと。つまり、患者のQOLを考えた場合には最悪の医薬品である可能性があること。副腎皮質ステロイドは嘔吐を抑制しないが、悪心には有効であること、などを明らかにした。また、c-Fosタンパク質の発現を指標に悪心に関与する神経核を調べたところ、傍小脳脚核の関与が示唆された。さらに、嘔吐後には悪心が抑制されることも見いだした。

本実験法は非常に有用であり、今後は悪心を軽減することをエンドポイントとした医薬品の開発に応用されることを期待したい。

S3-1

創薬に役立つ Pharmacogenomics/Pharmacogenetics

佐藤 哲男

千葉大学

Benefits of Pharmacogenomics/Pharmacogenetics in Pharmaceutical Development

Tetsuo Satoh, Ph.D.,

Chiba University

Toxicogenomics describes the measurement of global gene expression changes in biological samples exposed to toxicants. This new technology promises to greatly facilitate research into toxicant mechanisms, assisting in the detection of compounds with the potential to cause adverse health effects earlier in the development of pharmaceutical and chemical products. A large-scale database on gene expression profiles of toxicity on various chemicals and drugs is essential for the development of the toxicogenomics. To build up such database, multiple experiments must be conducted and data collected over many years. On the other hand, drug interactions are normally based on the inhibition and induction of drugs, and pharmacogenetics including genetic polymorphism is mainly involved in the drug interactions. In this symposium, updated topics relating to drug interactions and drug development, including strategies to reduce toxic drug interactions will be described.

シンポジウム

近年ヒトの全塩基配列が明らかにされた結果、約3万個の遺伝子群が推定され、遺伝子発現に関する広範なデータベースの入手が可能となった。しかし、3万個の遺伝子の中で機能が明確なものは約3000個に過ぎず、残りの遺伝子については今後の解析を持たなければならない。今回得られた遺伝子解析に基づいて個人のゲノム情報が得られた場合、そのmRNAの発現を解析しさらにプロテオミクスによるタンパクへの動きを個人レベルで知ることが出来る。このような個人別医療 (personal medication) は今後の医薬品開発や医療の現場において重要なテーマである。

一方、ヒトでの薬理・毒性反応には薬物の代謝反応における遺伝多型など遺伝的要因に基づく複雑な問題が含まれている。最近では各種トランスポーターも薬物動態を知る上で重要な要素となり、これに関しても遺伝多型が多く報告されている。動物実験に加えて、遺伝子改変動物やヒト試料を用いた近年の研究は、ヒト固有の代謝、薬効、毒性を知る上で有力なツールとなっている。そこからもたらされる多くの情報からは重要な臨床予測指標を得ることが出来る様になった。

本シンポジウムでは、医薬品の開発研究におけるゲノム技術の有用性について考え、また、ヒト試料から得た mRNA やタンパクの発現解析から薬物による酵素阻害や酵素誘導作用を評価し、薬物相互作用に関する臨床への情報提供を示したい。さらに、ファルマコジェネティクスやファルマコジェノミクスなどに関する規制についても最新の情報を提供したい。今回の5演題の内容はそれぞれ医薬品開発の現場において大いに役立つことは間違いなく、それらの先端技術が今後の医療に革新的発展をもたらすことを期待するものである。

S3-2

トキシコゲノミクスプロジェクトの現状と展望

漆谷 徹郎

国立医薬品食品衛生研究所

Toxicogenomics Project - Current status and outlook for the future.

Tetsuro Urushidani

National Institute of Health Sciences (NIHS)

The Ministry of Health Labor and Welfare, NIHS, and the Japan Pharmaceutical Manufacturers Association have started the 5 year project of toxicogenomics. The main features of the project are: 1) The quantification of absolute content of mRNA per one cell (Percellome) is attained by using the Affymetrix GeneChip. 2) The total group of 150 chemicals includes the drugs of which clinical trial was terminated due to the human toxicity. 3) Various toxicological data have links to the gene expression data. 4) The bridging of the interspecies is considered. Our goal is to develop a system which will forecast the toxicity of new chemicals in the early stage of drug development based on the database.

テクノロジーの進歩により新薬の種は多く生まれるが、それが薬になる数は世界的に減少している。これらが薬にならない原因の多くは毒性によるといってよい。創薬の初期段階で毒性予測をすることは必須であり、このためにはトキシコゲノミクス技法により得たデータをデータベース化し、バイオインフォマティクス技術を駆使して予測を行うのが最も有効な方法であるというのが共通認識であった。この機運の元に、厚生労働省、国立衛研、および日本医薬品工業会は官民共同プロジェクトを企画し、2002年から5年計画で開始した。このプロジェクトの特長として1) Affymetrix GeneChipを用いた、細胞当たりのmRNAの絶対量の定量化 (Percellome) を達成 2) 全150化合物のうちには、参加企業から提供される「動物実験では予測できなかった副作用が臨床で発現して開発中止を余儀なくされた化合物」が含まれる 3) 種々の重要で質の高い毒性関連データが遺伝子発現データとセットで格納される 4) 種差のブリッジングを考慮して、ラットとヒトの一次培養肝細胞を用いた実験を行っている、という点が挙げられる。ラットの *in vivo* 実験では、1化合物あたり3用量について、単回投与 (3, 6, 9, 24時間)、連続投与 (3, 7, 14, 28日間) を行い、主に肝臓における遺伝子発現と病理・生化学について、非常に充実したデータセットを取得しつつある。現在、約30化合物についてのデータセット取得完了、約30化合物について、実験が進行中である。本プロジェクトにおけるデータの再現性、定量性、普遍性について、各種手法で検証した結果を報告したい。本プロジェクトの当面の目標は、作り上げたラットの大規模データベースを利用して、創薬の早期段階で毒性を予測するシステムを構築することであり、現在その実現に向かって努力中である。

S3-3

薬物トランスポーターのファーマコゲノミクス：SNPの機能的実体に迫る！

石川 智久

東京工業大学大学院生命理工学研究科

Pharmacogenomics of Drug Transporters: Functional Analysis Approaches

Toshihisa Ishikawa

Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology

In order to realize the personalized medicine, it is critically important to understand molecular mechanisms underlying inter-individual differences in the drug response, namely, pharmacological effect vs. side effect. Evidence is now accumulating to strongly suggest that drug transporters are one of the determinant factors governing the pharmacokinetic profile of drugs. In collaboration with the Pharma SNP Consortium, our effort has been made to functionally analyze the genetic variations of drug transporters.

シンポジウム

薬物応答性の違いは、薬物代謝酵素や薬物のターゲット分子の発現量の差異および遺伝子多型によるものと考えられてきたが、薬物トランスポーターの重要性が近年クローズアップされている。薬物トランスポーターにもSNPの存在が近年報告され、その機能解析が世界的に注目をあびるようになってきた。日本製薬工業協会加盟81社のうち43社は2000年9月6日から2003年5月21日までファルマ スニップ コンソーシアム (PSC) を発足させて、日本人の薬物動態関連遺伝子多型に関する研究を実施した。その中で、薬物輸送に関与するSLC (Solute carrier) トランスポーターとABC (ATP-binding cassette) トランスポーター遺伝子のSNPについて機能解析することが主要課題の一つとして取り上げられ、薬物トランスポーター共同研究プロジェクトチームが結成された。アミノ酸の変異を導くSNPに関して、変異型トランスポーターを発見させて機能解析する研究が、これまで実施されてきた。その結果、アミノ酸変異を起こすSNPの中には薬物トランスポーターの基質特異性を変化させ、あるいは機能を低下または欠損させるものが存在することが明らかになった (参考文献)。そして、SNPの薬物トランスポーターへの影響を解析するにあたっては、少なくとも次の2つの場合を考慮しなくてはならないことも明白になった。(1) アミノ酸変異を伴うSNPによって、薬物トランスポーターの機能および細胞内局在が変化する場合。(2) プロモーター領域のSNPによって薬物トランスポーター遺伝子の発現レベルが変化する場合。前者は質的变化であり、後者は量的変化である。特に後者について、薬物トランスポーター遺伝子の発現の変化は、薬を長期投与する際、薬理効果の低下や副作用の原因にもなる可能性がある。

今後、我々が取り組むべき課題は次のような事項である。(1) トランスポーターを発現させる細胞の選択。(2) 変異型トランスポーターの細胞内局在および翻訳後修飾の違い。(3) トランスポーター遺伝子のプロモーターに存在するSNPと発現レベルとの相関の評価。(4) 標準化された変異トランスポーター発現細胞株のバンク構築。(5) 低価格で正確な高速スクリーニングシステムの開発。これらは、いずれも重要な課題であり、わが国の中で国家的な取り組みとして早急に解決すべきであろう。

参考文献：

Ishikawa, T., Tsuji, A., Inui, K., Sai, Y., Anzai, N., Wada, M., Endou, H., and Sumino, Y.: The genetic polymorphism of drug transporters: Functional analysis approaches. *Pharmacogenomics*, 5: 67-99 (2004).

S3-4

ヒト培養肝細胞でのmRNA発現解析による酵素誘導の評価

内藤 真策

(株)大塚製薬工場 宋兼研究所

Evaluation of Gene Induction of Drug-Metabolizing Enzymes in Human Hepatocytes

Shinsaku Naito, Ph.D.,

Division of Pharmacology, Drug Safety and Metabolism, Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.

Drug-drug interaction is considered to be one of the important assessment items in drug development. However, species differences in the inhibition and induction of drug-metabolizing enzymes are frequently observed in the metabolism of xenobiotics. Studies employing human tissues are useful in overcoming this problem. In the present study, enzyme induction was evaluated by analyzing mRNA expression in human hepatocytes after exposure to various compounds. Analysis of each mRNA level in total RNA from pooled specimens of various human organs and from primary cultured human hepatocytes was performed by real-time RT-PCR. The real-time RT-PCR method described here has specific advantages (high sensitivity, simplicity, and excellent quantification) in analyzing a wide range of mRNA concentrations, making it possible to evaluate a large number of samples in the *in vitro* induction and expression profile assessment of drug-metabolizing enzymes.

創薬における安全性研究において薬物相互作用の評価は重要な課題と考えられる。ところが、誘導や阻害などの薬物相互作用に大きな影響を持つ代謝酵素には大きな種差が存在するため、ヒト由来試料を用いた *in vitro* 研究が注目されている。本研究では、ヒト培養肝細胞を用いP450酵素などのmRNA発現量を解析することによって代謝酵素の誘導を検討した。この誘導機構は、遺伝子からmRNAへの転写活性化が重要と考えられ、mRNAの変動は酵素誘導の初発因子の研究として意義がある。

ヒト肝実質細胞は適正な陽性対照薬あるいは試験物質を含む培地に暴露し、さらに、試験物質を除いた回復群についてmRNAの発現を測定した。mRNAはABI PRISM™ 7700を用い、One-Step RT-PCRでリアルタイムに蛍光を検出することにより定量した。

検討の結果、CYP3A4等の多くの薬物代謝酵素に関して高感度な定量方法を確立できた。CYP3A4 RNA発現に及ぼすリファンピシンの作用は、標準培養に対して数倍の誘導が観察された。一方、フェノバルビタールは、2mMの高濃度の暴露によりCYP3A4の誘導が確認できた。さらに、オメプラゾールではCYP1A1の濃度依存的な誘導を確認した。また、薬物暴露によるmRNAレベルでの誘導は、薬物を含まない培地に交換することにより経時的に回復することを確認した。

mRNA定量方法の拡充により、ごく僅かな培養肝細胞から得たtotal RNAを用いて、多くのP450分子種の変動を同時に検出できるようになった。さらに、同じtotal RNAを用いて、その他の第1相代謝酵素、第2相反応、トランスポーター、さらに核内レセプターなどのmRNAの定量的発現解析が実施でき、また、凍結ヒト肝細胞を用いることで、任意のタイミングで結果を示すこともできる。mRNA発現量は酵素量/活性などと相関しない場合も想定されるが、全般的な変動を概括評価することにmRNA発現量の解析意義を考えている。さらに、mRNAの高感度分析法は生検試料や末梢血リンパ球を検体とした臨床分析への応用も重要と思われる。

S3-5 Pharmacogenomics/Pharmacogeneticsのビジネスモデル 患者本位の医療の実現を目指して

宮田 満

日経BP社バイオセンター

Pharmacogenomics/Pharmacogenetics should be applied to realize personalized medicine and therapy. Most of Japanese people misunderstand that Pharmacogenomics/Pharmacogenetics is still in the basic science and a sort of Mode-1 innovation, where firstly we can develop basic science and applied science next. But Pharmacogenomics/Pharmacogenetics is Mode-2 innovation, where we determine the goal to accomplish first and recruit variety of technologies. Today, we should clarify the goal, personalized medicine again and form the network to realize it with Pharmacogenomics/Pharmacogenetics.

Pharmacogenomics/Pharmacogeneticsを日本では、まだ基礎研究であると考えている研究者は多い。勿論、まだまだ疾病と遺伝的マーカーの関連に関するデータの蓄積は必要であり、いわゆる基礎研究の積み重ねも重要である。

しかし、Pharmacogenomics/Pharmacogeneticsはただ基礎研究のデータを重ねれば研究開発が進むという単純なイノベーションではないことも事実だ。基礎研究から応用研究、そして商品化やサービスが実用化するというモード1型のイノベーションであるという誤解は早急に解く必要がある。

むしろ、Pharmacogenomics/Pharmacogeneticsは、問題を設定し、それを解決するために多様な技術や学問を動員するモード2のイノベーションである。そのためには、まず患者本位の医療・医薬開発を実現するために、テーラーメイド医療を実現するという問題を早急に設定し、幅広い研究者と技術を動員するプログラムを編成しなくてはならない。

2003年度から30万人の患者さんからのDNAを収集する野心的な研究プログラムを文部科学省が開始した。しかし、この研究はDNAの大規模収集と副作用マーカーの発見が目的であり、そのマーカーをどうやって臨床現場に還元し、患者さんを選択、患者本位の医療を実現するためには、まだまだ技術集合が不足している。更に、Pharmacogenomics/Pharmacogeneticsのために患者さんのプライバシーをどう保全するか、また、国民全員が同じ疾病リスクに晒されるという假想上の前提で成り立っている国民皆保険制度を、テーラーメイド医療という技術革新にどう対応させるかなど、文理を統合した総合的なアプローチが必要となることを忘れてはならない。

Pharmacogenomics/Pharmacogeneticsの現状とその影響を一人でも多くの国民に知らせ、納得していただき、従来の科学研究の枠を超えたプロジェクトの編成を急ぐべきだろう。

S3-6

日本の製薬企業におけるゲノム創薬の問題点と意義

○殊才 孝則、川原 潤一、井上 秋晴、王岐 孝子、小平 輝明、永木 康弘、
根本 真吾、松本 真一、務台 衛、内藤 真策、佐神 文郎

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

Problems and Meanings of Genome-based Drug Discovery in Japanese Pharmaceutical Companies

Kounori KOTOSAI, Jun-ichi KAWAHARA, Akiharu INOUE, Takako OHKURA, Terutomo KOHIRA, Yasuhiro NAGAKI, Shingo NEMOTO, Shinichi MATSUMOTO, Mamoru MUTAI, Shinsaku NAITO, Fumio SAGAMI.

Subcommittee of Non-Clinical Evaluation, Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan.

We have sent out questionnaires on PG/pharmacogenomics and toxicogenomics to Japanese pharmaceutical companies and looked over the results to extract problems. We also carried out further examination about the merit of PG from related references and come to the conclusion that PG has many merits such as efficient evaluation in toxicology, good accuracy in extrapolation to human, attractive freshness, and a bright future in the screening study of drug safety research. On the contrary, its demerits are also extracted such as ethical problem, uncertain criterion of evaluation, expensive cost, lack of standard method and following technical problems, difficulty to obtain human samples and so forth. We suggest the utilization of PG technology to the genome-based drug discovery because PG technology is considered to be important to improve safety and validity in drug discovery.

新規技術分野であるファルマコゲノミクス（PG）は医薬品開発で活用することにより、薬物反応性の個人差を認識した個別化医療にその有用性が期待されます。特に薬物代謝酵素関連では、遺伝子多型の研究が進みハプロタイプ解析の様に開発における意思決定に關与する重要な位置付けの評価も出てきつつあります。一方において、基礎的な研究が進み創薬研究に活用されているものの、現状では開発の意思決定に適するほど確立されていないPG分野も多いと考えられます。

PGに関するFDAドラフトガイダンスでは、ゲノム情報についての取り扱いの基本的な方向が示されました。さて、日本においても、産官学連携による創薬を考えたPG研究は非常に盛んであり、トキシコゲノミクスに関する取り組みや、日本人の薬物動態関連の遺伝子多型に関する研究が進んでいます。また、日本でのゲノム創薬の現状をより一層把握するため、製薬協基礎研究部会の創薬とゲノミクス検討チームは、PGあるいはトキシコゲノミクスに関して既に公表済みのアンケート調査結果を見直し、問題点と意義などを抽出しました。さらに、関連文献からどのような点にPGのメリットがあるかの検討を重ねてきました。

その結果、創薬における探索的な安全性スクリーニング研究におけるPGのメリットとしては、効率的な安全性評価が期待されること、ヒトへの外挿性を含めた精度の点で優れていること、やはり新規性の面で注目されていること、将来性が大きいことなどが考えられます。一方、デメリットとして倫理性の問題、評価基準が不明確であること、コストの問題、実験技術が確立していないため熟練度の問題、ヒト試料などの試験材料が入手困難であることなどがチーム内の検討の中で集約されてきました。

PG技術は創薬の場面において安全性と有効性を向上させる手段として重要と考え、ゲノム創薬へこれらの情報をどう生かすかを提言したいと思ひます。

ヒ素の汚染と毒性

福島 昭治¹、圓藤 吟史²¹大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学分野、²大阪市立大学大学院医学研究科産業医学分野

Arsenic in the Environment and the Toxicity

Shoji Fukushima¹, Gijin Endo²¹Department of Pathology, ²Department of Preventive Medicine and Environmental Health, Osaka City University Medical School

ヒ素化合物は毒性が高く、わが国の主なヒ素中毒としては、ドライミルク製造工程でヒ素が混入され、130名が死亡し12000人が被害を受けた森永ヒ素ミルク中毒事件（1955年）、公害被害者救済法の指定を受けた宮崎県土呂久（1972年）・島根県雲ヶ谷地区（1974年）の慢性ヒ素中毒症、自治会の夏祭りでは亜ヒ酸がカレーに混入され、4人が死亡、63人が急性ヒ素中毒になった和歌山ヒ素事件（1998年）がよく知られている。

これらの急性・慢性ヒ素中毒と症状の異なるジフェニルアルシニル酸中毒が昨年（2003年）明らかになった。このシンポジウムでは、この中毒症を発見し、治療・対策にあたっている石井一弘筑波大学講師に、その発見の経緯、病態、今後の対策についてお話し、従来のヒ素中毒との異同について議論をする。

次に、ヒ素の発癌性について論じる。ヒ素はヒトの発癌の証拠は十分にあり、国際癌研究機関（IARC）の発がんリスク評価では、発がん物質第1類（ヒトに対して発癌性がある物質）としている。その一方、動物での証拠は不十分であり、発癌の機序や発癌性のある化学形態については明らかとなっていない。このシンポジウムでは、ヒ素の環境中での循環と、生体内での代謝を考えながら、化学形態別の作用を検討し、発癌の機序と究極発癌物質に迫る。

吉田香甲子岡大学助教授は、システイン要求性の腸内細菌がイオウをひとつ含む分子量154のヒ素化合物を合成し、その化合物が膀胱発癌に関連していることを示唆している。

越智崇文帝京大学助教授は、5価のジメチルアルシニル酸（DMA）がグルタチオンと相互作用し、細胞の増殖阻止、染色体構造異常、アポトーシスを誘発し、分裂期で、中心体異常および多極紡錘体を誘発することを観察しているが、わずかに存在する3価のジメチルヒ素がその毒性を示す本体であることを示唆している。

山中健三日本大学助教授は、DMAの還元代謝過程で生ずる3価のジメチルヒ素が細胞毒性、遺伝子障害性を示し、活性酸素の産生に起因した傷害に注目している。

鯛淵英機大阪市立大学助教授は、DMA投与の動物発癌実験から、Phase IおよびPhase II酵素誘導と、それから発生する酸化DNA傷害の惹起、細胞増殖関連遺伝子の発現亢進が関与していると述べている。

S4-1 茨城県神栖町における有機ヒ素中毒（ジフェニルアルシン酸）について

石井 一弘¹、岩崎 信明²、玉岡 晃¹

¹茨波大学臨床医学系神経内科、²小児科

Poisoning by diphenylarsinic acid derived from chemical weapons in Kamisu, Japan

Kazuhiro Ishii, MD, PhD¹, Nobuaki Iwasaki, MD, PhD², Akira Tamaoka, MD, PhD¹

Department of Neurology, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba.

We discovered a new syndrome with mainly cerebellar symptoms in the residents of one apartment building in Kamisu, Japan. The well that provided drinking water for all of the apartments contained diphenylarsinic acid (DPAA), a degradation product of diphenylcyanoarsine (DC) or diphenylchloroarsine (DA), which is used as a chemical weapon (CW) that can induce severe vomiting and sneezing. The poisoning characteristics are homogeneous and include cerebellar symptoms (e.g. ataxic gait, titubation and scanning speech, myoclonus, and tremors), and cerebral symptoms (e.g. visual impairment, insomnia or nightmares, and memory impairment). Mental retardation with brain atrophy in MRI was revealed in some infants. The amount of arsenic as DPAA that was detected in the well water measured 4.5mg/L. Over 0.02 μ g/mL DPAA was detected in the urine of most of the current residents of the building. We must be cautious to prevent further out-breaks of DPAA poisoning within Japan or its surrounding countries.

茨城県神栖町の集合住宅における小脳症状主体の新しい症候群を発見した。その集合住宅は1つの井戸を共有しており、その井戸水にジフェニルアルシン酸が混入していた。ジフェニルアルシン酸は、化学兵器（くしゃみ・嘔吐剤）由来であるジフェニルシアノアルシンやジフェニルクロロアルシンが分解産物である。ジフェニルアルシン酸中毒の症状は、失調性歩行、ふらつき、小脳性構音障害などの小脳症状やミオクローヌス、振戦に加え、視覚障害、不眠・夜驚、記憶力障害などの大脳症状であり、比較的均質であった。小児においては、頭部MRI上に軽度大脳皮質の萎縮を伴う精神運動発達遅滞を認めた。井戸水からは4.5mgAs/LのDPAAが検出され、その時点で住んでいる住民12名中11名に0.02 μ g/mL以上のDPAAが検出された。日本やその周辺諸国での更なるジフェニルアルシン酸中毒の発生が危惧される。

S4-2

ラット大腸菌によりメチルヒ素化合物から生成されるイオウ含有尿中ヒ素代謝物について

○吉田 香、黒田 孝一、圓藤 吟史
 大阪市立大学医学部環境衛生学

Urinary Sulfur-Containing Metabolite Produced by Intestinal Bacteria following Oral Administration of Dimethylarsinic Acid to Rats

Kaoru Yoshida, Koichi Kuroda, Ginji Endo

Department of Preventive Medicine and Environmental Health, Osaka City University Medical School

Our previous study revealed that three unidentified metabolites, M-1, M-2, and M-3, were detected in urine and feces after long-term oral administration of dimethylarsinic acid (DMAV) to rats. In this study we report the mechanism of production *in vitro* and *in vivo* and the chemical properties of these unknown metabolites. DMAV was converted to M-2 and further to M-3 in the presence of Cys and *Escherichia coli* strain A3-6 isolated from ceca of DMAV-administered rats. trimethylarsine oxide (TMAO) was rapidly converted to M-1 by A3-6. The molecular weight of M-2 was 154 and M-2 was a sulfur-containing metabolite.

シンポジウム

【緒言】

ヒ素は毒性の高い物質として知られており、ヒトにおいて皮膚や肺における発癌物質であると認められている。しかし、その発癌のメカニズムや究極の発癌物質についてはわかっていない。これまでの研究で、われわれは、ジメチルアルシニック酸 (DMAV) 長期投与ラットは膀胱発癌を引き起こし、その尿中より未知ヒ素代謝物 (M2) が多く検出されること、さらに、この代謝物の生成には大腸菌 A3-6 が関与することを報告した。また、この反応はシステイン (Cys) 要求性であることも明らかにした。今回の発表では、*in vitro* での大腸菌 A3-6 による未知ヒ素代謝物の生成および *in vivo* でのラットにおける DMAV の代謝における Cys と大腸菌の役割について報告する。さらに、M2 の細胞毒性および化学的特性についても報告する。

【方法】

実験1: ラットから分離した大腸菌 A3-6 に DMAV と Cys を反応させ、未知ヒ素代謝物の生成のされ方および細胞毒性を調べた。

実験2: ラットに大腸菌培養液 (*E. coli*) (10^8 個/ml) を飲料水として1週間前投与後、飲料水として DMAV 溶液 (1mmol/l) を、飼料として粉末飼料に Cys 添加 (4mmol/kg) したものを与え、対照群 (DMAV 溶液のみ与えた群) との尿中および糞中ヒ素代謝物の比較を行った。

実験3: 生成した M2 の化学的特性を LC-ICP-MS および LC-MS で調べた。

【結果および考察】

大腸菌 A3-6 による M2 の生成は DMAV に対し Cys の比が 2-3 の時に最大であり、M3 の生成は 3-4 の時に最大であった。また、DMAV ジメチルアルシニック酸 (DMAIII) を経て M2、M3 と変わっていくことが明らかになった。一方、大腸菌による M1 の生成はすばやく起こり、TMAO に対し Cys が 2-3 の比の時に最大であった。また、M2 の細胞毒性は SOD 添加により軽減されることより、その毒性発現には ROS が関与することが示唆された。

DMAV 投与 56 日目の糞中 M2 と M3 の合計量は対照群と比較して Cys を過剰に与えた群で有意に高く、M2 と M3 の生成に Cys が関与していることを示唆された。また、M3 の割合が Cys と *E. coli* を両方与えた群で著しく上昇していた。これらの結果は過剰の Cys により大腸菌により生成される M3 の量が上昇するというわれわれの *in vitro* での結果と一致していた。また、M2 は過酸化ヒ素による酸化により DMAV にもどること、DMAV と還元剤との反応物に一致することがわかった。以上のことより M2 は 3 個の DMA 関連化合物であることが示唆された。また、分子量 154 でイオウを 1 つ含む化合物であることも明らかになった。

S4-3

ジメチルヒ素化合物による培養哺乳類細胞の細胞毒性、遺伝毒性、中心体異常、多極紡錘体並びに形質転換作用の誘発

越智 崇文¹、筒井 健機²¹帝京大・薬・毒性、²日本歯科大・薬理

In vitro effects of dimethylarsenic compounds on the chromosomes, centrosomes, spindles and cell transformation

Takafumi Ochi¹, Takeki Tsutsui²¹Pharmaceu. Sci. Teikyo Univ., ²Nippon Dental University

Dimethylarsine iodide (DMI) was used as a model compound of trivalent dimethylarsenicals, [DMAs (III)], and the biological effects were investigated in cultured mammalian cells. DMI was about 10,000 times more toxic than DMAs (V). Chromosome structural aberrations and numerical changes, such as aneuploidy, were induced by DMI. The mitotic cell-specific abnormalities of centrosome integrity, multipolar spindles and abnormal cytokinesis were also induced. In addition, cell transforming activity of DMI was observed in the Syrian hamster embryo cell system.

(序論) 5価ジメチルアルシン酸 [DMAs (V)] はグルタチオン (GSH) と相互作用の結果、培養哺乳類細胞に対し増殖阻止、染色体構造異常、アポトーシス等を誘発することを示してきた。また、分裂期細胞では中心体異常及び多極紡錘体の誘発も観察された。多極紡錘体は染色体の不均等分離を介して細胞死、細胞分化、悪性転換等の生物学的に重要な変化に繋がるといわれ、癌素化合物の毒性標的として細胞質微小管及び分裂装置に関心がもたれる。一方、DMAs (V) と GSH の作用による高毒作用物質の産生に関して、GSH は強い還元作用を持たず、従って、DMAs (V) と GSH の相互作用により in vitro 及び細胞内還元環境においてアルシンが生じるとは考えにくい。これに対し、たとえ量的に僅かであっても、3価のメチル化ヒ素のような高反応性代謝物が DMAs (V) と GSH などの細胞内還元物質の作用により生じることとも考えられる。本研究では、3価のジメチルヒ素のモデル化合物としてヨウ化ジメチルアルシン (DMI) を用い、培養哺乳類細胞に対する諸作用を検討した。

(方法) 細胞は、主として中国ハムスター肺由来線維芽細胞株 V79、一部シリアンハムスター胎児培養 (SHE) 細胞を用いた。8-chamber slide 内に培養した細胞を砒素化合物処理した後、細胞質微小管および紡錘体は抗 γ -tubulin 抗体を用いて、中心体はその構成蛋白 γ -tubulin の抗体を用いて間接蛍光抗体法により局在変化を調べた。また、異常細胞質分裂 (多極分裂) の頻度測定のため、微小管染色を行った後、midbody を分裂終期細胞の指標として観察を行った。細胞の形質 (悪性) 転換は、全生存コロニー数当たりの形質転換コロニー数で示した。

(結果) DMI の細胞毒性は 0.05 ~ 0.1 μ M 以上で現れ、DMAs (V) の約 1 万倍、arsenite の 10 倍強力であった。細胞の GSH 枯渇により arsenite の毒作用が増強されたのに対して、DMI の毒性は増強されず、GSH は DMI 毒性に対して防御的ではないことが示唆された。V79 細胞の DMI 0.25 ~ 2.5 μ M 時間処理により、chromatid gaps, chromatid breaks, pulverization (破片化) などの染色体構造異常が誘発された。また、異数性 (aneuploidy)、低 4 倍体などの染色体数異常も観察された。SHE 細胞に対しても、DMI は flowcytometry において、hypo-2N, hypo-4N, hypo-8N 細胞を増加したことから、異数性誘発作用が示唆された。DMI は細胞を分裂期に蓄積し、0.125 ~ 0.5 μ M DMI 添加 9 ~ 12 時間後、分裂指数は 40% 近くまで濃度依存的に上昇し、24 時間では減少した。一方、添加後 24 時間及びその後、分裂指数の減少とは逆に、多核細胞頻度が上昇した。微小管を解重合しない条件、即ち、0.125 ~ 0.375 μ M DMI により分裂期細胞特異的中心体異常、多極紡錘体が誘発された。また、この条件において、異常細胞質分裂 (多極分裂) が観察された。DMI による染色体異常、中心体異常、多極紡錘体などの誘発は細胞の癌化や悪性化に関わる可能性が考えられることから、正常 SHE 細胞に対する形質転換誘発能を検討した。その結果、0.1 ~ 1.0 μ M の範囲で高頻度の形質転換細胞誘発頻度の上昇が観察された。

(考察) DMI が DMAs (V) の約 1 万倍の強い毒作用を有する事実は、細胞内の還元環境下 DMAs (V) から僅かに生じた DMAs (III) が実際には不活性である DMAs (V) の毒作用の本体である可能性を想像させる。一方、DMI による異数性誘発と中心体異常、多極紡錘体及び多極分裂誘発の関連が示唆される。また、中心体は多核化を介した細胞死の標的であることが示された。

S4-4

ジメチルヒ素活性代謝物の生成とヒ素発癌への寄与

山中 健三

日本大学薬学部環境衛生学研究室

Involvement of active dimethylarsenic species in arsenic-induced tumorigenesis

Kenzo Yamanaka

Department of Environmental Toxicology and Carcinogenesis, Nihon University College of Pharmacy

Although inorganic arsenics such as arsenite and arsenate are known to be carcinogenic for skin and lung, the carcinogenic mechanisms of arsenics so far remain obscure. In our research directing our attention to metabolites of inorganic arsenics, we have demonstrated that oral administration of dimethylarsinic acid [$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$, DMA], a major metabolite of inorganic arsenics, in mice induces lung specific DNA damage together with tumor promoting action for lung and skin. On the other hand, in recent arsenic research, trivalent dimethylated arsenic that may be metabolically reduced from DMA has attracted considerable attention from standpoint of arsenic carcinogenesis because trivalent dimethylated arsenic has been indicated to have a possibility that it may act as a generator of reactive oxygen species. Here, I would like to present our current research that we took up trivalent dimethylated arsenic, metabolically reduced from DMA, and its further metabolites, and examined their biological behaviors in genotoxic and tumorigenic actions and also chemical properties of these active arsenic species.

いまだ不明な部分が多く残されている無機ヒ素の発癌機構に関して、演者らの研究グループでは無機ヒ素の代謝過程で生ずるジメチルヒ素に着目し検討を加えた結果、無機ヒ素の主要代謝物の一つであるジメチルアルシニック酸(DMA)のマウスへの飲水投与により肺ならびに皮膚に対する発癌promotion作用が誘発されることを見いだしてきた。一方、近年、DMAの還元代謝過程で生ずる3価ジメチルヒ素の細胞ならびに遺伝子傷害性が示され、これらは活性酸素の産生に起因した傷害の可能性が推定されて以来、ヒ素発癌との関連が注目されている。今回、DMAの還元代謝過程で生ずる活性代謝物とその発癌との関連に関して、演者らの研究グループで得られたデータの一部を紹介したい。

S4-5 砒素の発がん機序の解明 – 動物モデルを用いた解析 –

舘 英機、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

Analysis of Arsenic Carcinogenicity – Using Animal Models –

Hideki WANIBUCHI, Shoji FUKUSHIMA

Department of Pathology, Osaka City University Medical School

Although numerous epidemiological findings have indicated that arsenics are associated with increased incidences of lung, skin, liver, and bladder cancers, experimental data from animal models to support the hypothesis of carcinogenic effects are limited. Dimethylarsinic acid (DMA) is a major form of organic arsenic in the environment. In addition, it is a major metabolite of ingested inorganic arsenics in most animals. Recent *in vitro* studies have revealed that DMA is a potent clastogenic agent capable of inducing DNA damage such as strand breaks and crosslink formation between DNA and proteins. We have recently shown that DMA has carcinogenic effects in F344 male rats with a various experimental protocols.

砒素は疫学的に皮膚、肺、膀胱、肝、腎などに発がん性が認められている。しかしながら、動物実験においての砒素の発がん性は、まだ十分には検証されておらず、その発がんのメカニズムは明らかにはされていない。我々は無機砒素のほ乳類での主な代謝産物である有機砒素化合物のジメチルアルシン酸 (DMA) の染色体毒性に注目し、DMAの発がん性を齧歯類を用いた様々な動物実験で明らかにしてきたので報告する。1) ラット膀胱および肝中期発がん性試験法で、DMAの膀胱および肝発がん促進作用の用量反応性を明らかにするとともに、その機序に8-OHdG形成の増加を伴う酸化的DNA傷害、細胞増殖能亢進が関与することを明らかにした。2) 2年間DMA発がん実験によりラットにおける膀胱発がん性を明らかにした。さらに、DMA誘発ラット膀胱がんの遺伝子異常について検索した結果、DMAにより発生した膀胱がんは、BBNなどの遺伝毒性発がん物質とは異なった特徴を有することを明らかにした。3) cDNAマイクロアレイ法を用いてDMA処置ラット肝の遺伝子発現を解析した結果、Phase IおよびII酵素が誘導され、酸化的DNA傷害が惹起し、細胞増殖関連遺伝子の発現亢進により、肝発がん促進に至ったことを明らかにした。以上より、DMAのラットにおける発がん性が明らかとなり、その発生機序にPhase IおよびII酵素誘導と、それから発生する酸化的DNA傷害の惹起、細胞増殖関連遺伝子の発現亢進が関与することを明らかにした。

S5-1

海馬におけるグルタミン酸の動態と細胞内カルシウム濃度上昇を介した神経毒性

工藤 佳久

東京薬科大学生命科学部

Dynamics of glutamate in hippocampus and its neurotoxicity through increase in intracellular calcium concentration

Yoshihisa Kudo

School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science

Glutamate is one of the most important excitatory neurotransmitters in the brain. Among two types of ionotropic receptors for glutamate, so called NMDA receptor is important for passing Ca^{2+} into the neuronal cells through voltage dependent activation. The increased Ca^{2+} has been known to be one of the important factors for activating the intracellular calcium dependent functional molecules, such as kinases, phosphatases and proteases. The activation of such molecules has been known to cause the modulation of synaptic transmission, such as long term potentiation and depression. On the other hand the abnormal increase in Ca^{2+} in the neuronal cell results in the necrotic neuronal cell death due to activation of proteases and phospholipases, and also triggers the apoptotic neuronal cell death. In this symposium we will show our experimental evidence for toxicity of glutamate in hippocampus obtained by measurement of Ca^{2+} and glutamate in culture cells, hippocampal slices and also in vivo preparations.

シンポジウム

グルタミン酸は中枢神経系における最も重要な興奮性神経伝達物質であり、多種のイオンチャンネル連動型受容体およびG-タンパク質共役型受容体を介した多様かつ繊細な伝達様式を形成している。この内のNMDA感受性イオンチャンネル連動型受容体を介した細胞内カルシウム濃度の上昇はカルシウム依存性酵素の活性化を引き起こし、その結果、機能タンパク質のリン酸化、脱リン酸化または限定分解などに関わる酵素系を活性化することによって、神経活動を調節する。記憶の素過程と考えられている長期増強現象や長期抑圧現象の引き金になるのは、このようなカルシウム依存性のメカニズムであることが明らかにされている。しかし、一方で、細胞内への異常なカルシウム流入は正常機能レベルでは活性化されない蛋白質分解酵素やリン脂質分解酵素を活性化し、急速な細胞死（ネクロシス）を引き起こす。また、細胞内カルシウムの上昇が一過性であってもそれがアポトーシスを引き起こすことも知られている。これらの細胞内カルシウム濃度の上昇にはグルタミン酸受容体の関与が大きい。そのためにグルタミン酸は神経細胞毒であると認識されるに至っている。このシンポジウムでは我々がこれまでに培養海馬ニューロン、海馬スライス標本およびin vivo標本において行ってきた脳虚血時の海馬神経細胞の死における細胞内カルシウム濃度上昇、その際のグルタミン酸遊離の可視化解析、グルタミン酸トランスポーターの動態の可視化解析などによる成果を報告し、海馬におけるグルタミン酸の動態とその毒性発現機構について考察する。

S5-2 神経細胞におけるグルタミン酸輸送体の役割

氷見 敏行、池田 正行、森田 育男

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子情報伝達学、医薬品医療機器総合機構、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学

細胞内の抗酸化剤であるグルタチオン合成はシステインの取り込みを律速とする。今回、我々はほぼ純粋な神経細胞の培養系を用いて、神経型グルタミン酸トランスポーターEAAT3のシステイン取り込みに対する関与を検討した。

細胞外システインの濃度上昇はシステイン取り込みを加速し、細胞内のグルタチオン濃度を上昇させた。グルタミン酸トランスポーターの阻害剤はこのシステイン取り込みを抑制したが、既知のシステイントランスポーターの阻害剤(A, H, BCH, セリン、キズカル酸等)は影響を与えなかった。細胞外液に高濃度のグルタミン酸、アスパラギン酸を加えるとシステイン取り込みは減少したが、アラニンに影響を与えなかった。アンチセンスオリゴヌクレオチドによってEAAT3の発現を抑制すると、システイン取り込みと細胞内グルタチオン濃度は減少し、酸化ストレスに対する神経細胞の脆弱性が増した。これらの実験結果より、神経型グルタミン酸トランスポーターEAAT3は神経細胞におけるシステイン取り込みやグルタチオン生成において重要な役割を果たしていると示唆された。

S5-3

グルタメイトシグナリングにおける転写因子の役割

荻田喜代一

摂南大学 薬学部 薬理学研究室

Possible roles of transcription factors in glutamate signaling

Kiyokazu Ogita

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University

To elucidate possible roles of the transcription factor activator protein-1 (AP-1) expressed by glutamate signals, in this study, we examined if AP-1 expressed by kainate associates with an antioxidant-response element (ARE) on certain nuclear genes and mitochondrial DNA in the murine hippocampus. *In vivo* treatment with kainate led to enhancement of binding to the ARE on glutathione-S-transferase Ya subunit gene through expression of Nrf2/FosB complex in nuclear extracts, followed by expression of glutathione-S-transferase Ya subunit gene. On the other hand, AP-1 expressed by kainate treatment was translocated into mitochondria, as well as into nucleus, to bind to mitochondrial DNA. Taken together, AP-1 expressed through overactivation of kainate signals has novel roles in murine hippocampal neurons as follows: (1) enhanced expression of antioxidant enzymes through activation of ARE on their genes, (2) possible participation in mechanisms associated with transcriptional regulation of mitochondrial DNA.

哺乳動物の中脳神経系における興奮性神経の情報伝達を担うグルタメイトは、記憶形成・学習に関与するばかりでなく神経細胞を破壊する「神経毒」としての作用を持ち合わせる。この神経毒としての作用が脳血管障害による神経細胞死や種々の神経変性疾患の発症に関与すると考えられる。グルタメイト受容体の活性化は、主に細胞内Ca²⁺シグナルを介して転写因子(cAMP-response element結合蛋白質、activator protein-1 (AP-1)、NF- κ Bなど)の発現を促進する。それらの転写因子の発現が特定遺伝子の発現を調節することにより神経細胞の永続的機能変化および神経細胞死を誘発すると推察される。しかしながら、グルタメイトシグナルを介して発現する転写因子の標的遺伝子については十分に解明されていないのが現状である。したがって本研究では、グルタメイト受容体アゴニストの一つであるカイニン酸(KA)刺激により発現するAP-1について、glutathione-S-transferase Yaサブユニット遺伝子上のantioxidant-response element (ARE)への結合およびミトコンドリアDNA(mtDNA)への結合について解析した。

ddY系雄性マウスにKA(30 mg/kg, ip.)を投与し、一定時間後の海馬から細胞核蛋白質およびtotal RNAを調製した。ARE結合は未処置動物でも検出されるが、KA刺激により著明に増強された。本増強はKA刺激後4時間で最大となり、少なくとも2日まで持続した。ARE結合に対する転写因子Nrf2およびFos/Jun蛋白質の抗体添加効果を解析したところ、KA処置動物のARE結合はNrf2およびFosBの抗体により有意に影響されることから、ARE結合にNrf2/FosB複合体が関与することが判明した。また、KA処置動物の海馬ではglutathione-S-transferase Yaサブユニット遺伝子の発現が増強することがRT-PCR法により明らかとなった。次に、AP-1のミトコンドリアへの移行およびmtDNAへの結合について解析を進めた。KA刺激は、海馬ミトコンドリア両方のAP-1DNA結合能の増強およびFos/Jun蛋白質の増加を引き起こした。また、KA処置動物の海馬神経細胞では、c-Fosが細胞核のみならずミトコンドリア内にも局在することが免疫電子顕微鏡解析により判明した。さらにmtDNAの転写調節部位と考えられる非翻訳領域についてAP-1認識配列を検索したところ、10ヶ所にAP-1類似配列(MT-1~MT-10)が見出された。これらの類似配列の中で、MT-9がAP-1DNA結合に対して最も著明な拮抗作用を示した。また放射性MT-9プローブを用いたゲル移動度シフト法により、KA処置動物から得られたミトコンドリア抽出液中にMT-9結合蛋白質が存在することおよびMT-9結合蛋白質がFos/Jun蛋白質により構成されることが明らかとなった。さらに、ゲノム免疫沈降法によりc-Fos蛋白質がmtDNAに結合することも確認された。以上の結果より、KAシグナルにより発現したAP-1は(1)細胞核内ではAREをプロモータに持つ抗酸化酵素遺伝子の発現増強、(2)mtDNAの機能調節、に関与する可能性が示唆される。

S5-4 非競合的N-methyl-D-aspartate受容体拮抗薬を連続投与したマウスに認められる精神行動障害とN-methyl-D-aspartate受容体シグナル伝達系の変化

野田 幸裕、鍋島 俊隆

名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬務部

Psychobehavioral deficits induced by a non-competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist and signal transduction through N-methyl-D-aspartate receptors

Yukihiro Noda, Toshitaka Nabeshima

Department of Neuropsychopharmacology and Hospital Pharmacy, Nagoya University Graduate School of Medicine

The mice treated with a non-competitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist, phencyclidine (PCP; 10 mg/kg/day for 14 days) showed the sensitization to hyperactivity after challenge of PCP at a low dose, the enhancement of immobility (avolition) on a forced swimming test and the impairment of associated learning in a Pavlovian fear conditioning, compared with those treated with saline. Dysfunction of signal transduction via NMDA receptors and decrease of the cortical glutamate levels were observed in the PCP-treated mice. NMDA receptor subunit ϵ 1 (NR2A) - knockout mice exhibited an increased locomotion, cognitive deficits, an increased DA release stimulated by NMDA, and a malfunction of NMDA receptors. Our findings suggest an involvement of abnormal signaling via NMDA receptors in psychobehavioral deficits showing PCP-treated and NR2A-knockout mice.

非競合的N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体拮抗薬のフェンシクリジン (PCP) は、薬物依存者に統合失調症に類似した精神症状 (陽性症状、陰性症状や認知障害) を惹起する。本研究では、PCPを連続投与したマウスとNMDA受容体サブユニットのNR2A (ϵ 1) を欠損したマウスが、統合失調症様症状の精神障害を発現するかどうかを行動解析し、その発現機序について検討した。

動物は、ddY系雄性およびC57/BL系雄性NR2A遺伝子欠損マウスを用いた。ddY系マウスにはPCP (10 mg/kg/day) を14日間連続投与した。

PCP連続投与およびNR2A遺伝子欠損マウスは、NMDA受容体刺激によるリン酸化extracellular signaling-regulated kinase 蛋白の発現あるいはCa²⁺の取り込み能が低下していた。PCP連続投与マウスにPCP (3 mg/kg) を再投与すると、運動過多の増強が認められ (逆耐性現象)、NR2A遺伝子欠損マウスの自覚運動量は、野生型マウスと比較して有意に増加していた。また、PCP連続投与マウスにおいて無動状態の増強および連合学習障害が認められ、NR2A遺伝子欠損マウスも連合学習障害を示した。

従って、PCP連続投与およびNR2A遺伝子の欠損は、種々の精神行動障害を惹起させ、その発現機序にはNMDA受容体を介するシグナル伝達系の障害が関与していることが示唆された。

S5-5

培養海馬切片におけるNMDAアゴニスト誘発神経細胞死の β -アミロイドによる増強：細胞死誘発経路の多様性

伊藤 芳久、高木 規孝、石毛久美子

日本大学薬学部薬理学研究室

Potentiation of NMDA agonist-induced neuronal death by β -amyloid in rat organotypic hippocampal slice cultures: evidence for multiple cell death pathways.

Yoshihisa Ito, Noritaka Takagi, Kumiko Ishige

Department of Pharmacology, College of Pharmacology, Nihon University, Japan

We have assessed amyloid β -peptide ($A\beta$)-induced neurotoxicity, with and without added ibotenic acid (IBO), a potent N-methyl-D-aspartate (NMDA) agonist, in an organotypic hippocampal slice culture (OHC). In the OHC cultured for three weeks, there was little neurotoxicity after treatment with $A\beta_{25-35}$ (25 or 50 μ M) alone for 48 h. However, with IBO alone neuronal death was observed in the pyramidal cell layer at low concentrations, and there was dramatic neuronal death at concentrations of 65 μ M or more. When CA1 area and the other area were dissected out from the OHC and investigated by Western blot analysis, the immunoreactivity of active form of caspase-12 was increased after exposure to $A\beta$ + IBO as compared to that to IBO alone in the area containing the CA3 and the DG but not in the CA1 area. These results suggest that the mechanisms of cell death induced by $A\beta$ + IBO in the CA3 area and the DG are different from those in CA1 area. Multiple mechanisms may be involved in $A\beta$ + IBO-induced neuronal death in the OHC.

シンポジウム

アルツハイマー病と深く関連する老人斑の主要な構成成分である amyloid β -peptide ($A\beta$) は *in vivo* および *in vitro* において神経毒性を示すことが明らかとなっている。 $A\beta$ が、大脳皮質初代培養系において N-methyl-D-aspartate (NMDA) の興奮毒性を増強するという報告から、我々は、3週間培養した成熟直後の海馬培養切片において、 $A\beta$ と NMDA 受容体アゴニストである ibotenic acid (IBO) の併用効果による細胞死発現機序について検討した。海馬培養切片において、IBO は、低濃度で錐体細胞層の一部で細胞死を誘発したが、この作用は濃度依存的で、65 μ M 以上の濃度では錐体細胞層全体で細胞死が認められた。この切片において $A\beta$ 25 μ M および 50 μ M 単独 48 時間の暴露は細胞死を誘発しなかったが、錐体細胞層全域において IBO の興奮毒性を顕著に増強するとともに、歯状回顆粒細胞層においても細胞死を誘発することが明らかとなった。MK-801 の同時暴露で、 $A\beta$ と IBO の同時暴露により誘発される細胞死が海馬全領域において完全に拮抗されたことから、この細胞死に NMDA 受容体が深く関与していることが示された。しかし、細胞死を誘発する細胞内のメカニズムは CA1 領域と CA3 領域および歯状回では異なり、CA1 領域では caspase-3 が、CA3 領域および歯状回では caspase-12 が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。以上より、 $A\beta$ と IBO の同時暴露により誘発される細胞死は、領域によってそのメカニズムが異なることが明らかとなった。

S6-1 What are idiosyncratic drug reactions

Sunao Manabe

Medicinal Safety, Sankyo Pharma Inc., USA

The safety of drugs is thoroughly evaluated in non-clinical and clinical studies prior to marketing. Rarely however, unpredictable, serious adverse drug reactions are observed in some patients. Non-clinical studies are not always effective in predicting these adverse drug reactions and clinical studies are not always able to predict the occurrences of rare reactions, due to the limited number of patients exposed. For example, 548 new chemical entities were approved from 1975 through 1999 in the United States. Of these, 56 (10.2%) later required a "black box warning", or were withdrawn from the market. These types of adverse reactions in particular, do not occur in most patients at any dose and do not involve known pharmacological properties of the drugs responsible. It is likely that host factors, including genetic differences, may play an important role. These adverse reactions are generally described as "idiosyncratic drug reactions (IDRs)". These IDRs are less common than pharmacological adverse reactions, but they are extremely important because they are frequently serious, and often fatal. Although the exact mechanism is still unknown, several possibilities have been proposed for IDRs: a) abnormalities in drug metabolism; b) receptor abnormalities; c) abnormal biological systems unmasked by the drug; and d) drug-drug interactions. In addition, IDRs often have characteristics that suggest an immunologically mediated reaction, while in most cases, the involvement of the immune system has not been clearly demonstrated. More recently, genetic polymorphism of drug metabolism and receptors has been proposed as a possible mechanism. Among the best characterized pharmacogenetic polymorphisms are those associated with the cytochrome P450 family of drug metabolizing enzymes. In fact, a member of this family is CYP2D6, which is the most extensively studied enzyme and plays a role in the metabolism of 25% to 30% of all prescription drugs. The rate of metabolism of a given drug that is catalyzed in a rate limiting fashion, and to a considerable extent through CYP2D6 may vary up to 100 times between the "extensive" and "poor" metabolizers. Thus, this type of polymorphism of drug metabolism may contribute to the development of adverse reactions, but cannot explain the extremely low incidence rate of IDRs without the contribution of other factors. In this symposium, the clinical characteristics, as well as the possible mechanisms, and some predictive test systems will be presented by me, and four other speakers. In addition, the future direction of research into IDRs will be discussed.

S6-2

特異体質性薬物毒性の経験：トログリタゾンのケース

池田 敏彦

三共（株）薬剤動態研究所

Experience with Idiosyncratic Drug Reactions: The Troglitazone Case

Toshihiko Ikeda

Drug Metabolism and Pharmacokinetics Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., Tokyo, Japan

A class of compounds called thiazolidinediones (troglitazone, rosiglitazone and pioglitazone) has recently been introduced into the market as new drugs for the treatment of insulin-resistant diabetes mellitus. Troglitazone was pulled from the market in 2000, however, due to an incidence of rare but severe hepatotoxicity including death in some patients. The hepatotoxicity was later diagnosed as an idiosyncratic, hepatocellular injury. The idiosyncratic hepatotoxicity is not likely a class-effect since there has been no such cases reported for rosiglitazone and pioglitazone as of yet. A tremendous amount of safety data collected from the experimental animals before regulatory approval failed to predict the adverse reaction of this drug. Toyoda *et al.* reported that troglitazone causes apoptosis when added to cultured rat hepatocytes¹⁾. Since this phenomenon was observed only at clinically irrelevant, high concentrations of troglitazone ($>25 \mu\text{M}$) in various cell types including animal and human hepatocytes, apoptosis was not considered to be the causal factor of the idiosyncratic toxicity. Funk *et al.* reported that the sulfo-conjugate of troglitazone inhibits the canalicular bile export pump (Bsep), possibly causing the accumulation of bile acids in the hepatocytes and cholestasis²⁾. This was also considered an unlikely mechanism since the hepatotoxic patients exhibited signs of hepatocellular injury but not particularly, those of cholestasis. Most hepatotoxins are regarded to produce chemically reactive metabolites, which covalently bind to physiologically important macromolecules unless inactivated by various scavenger enzymes. Kassahun *et al.* demonstrated that CYP3A4 catalyzes the production of chemically reactive forms of troglitazone metabolites, *i.e.*, the quinone methide-, sulfenic acid- and α -ketoisocyanate-forms, which were all detected *in vitro* as glutathione conjugates³⁾. Yamamoto *et al.* reported the production of an epoxide-form metabolite of troglitazone using the CYP3A4 expression system⁴⁾. A long-term troglitazone-treatment was suggested to increase the likelihood for these reactions since troglitazone induces CYP3A4, which is the isoform most commonly present in the human liver. Gene analysis showed that 40% of the case patients possessed the null genotype of both GSTT1 and GSTM1. The results indicated that a patient-specific deficiency in the scavenger enzymes but not the amount of reactive metabolites produced could be the underlying cause of the hepatotoxicity⁵⁾. However, another mechanism is quite likely involved since 15% of the control patients also had the same genotype. It is known that most cases of the idiosyncratic hepatotoxicity are accompanied with some form of immune reactions. Some kind of danger signal is thought to induce the immunoreactions, and this signal, in the case of troglitazone, may be the signal inducing apoptotic cytotoxicity. This signal may also induce the proliferation of cytotoxic T-lymphocytes, the cells that discriminate others from self, which then kill the drug-modified hepatocytes.

- 1) Toyoda *et al.*, *Life Sci.* 68, 1867 (2001).
- 2) Funk *et al.*, *Toxicology*, 67, 83 (2001).
- 3) Kassahun *et al.*, *Chem. Res. Toxicol.*, 14, 62 (2001).
- 4) Yamamoto *et al.*, *Drug Metab. Dispos.*, 30, 155 (2002).
- 5) Watanabe *et al.*, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 73, 435 (2003).

S6-3 Clinical perspective on idiosyncratic drug-induced liver injury

井廻 道夫

昭和大学医学部第二内科学

Michio Imawari, MD

The Second Department of Internal Medicine, Showa University School of Medicine

Liver injury caused by drugs has been reported to account for approximately 15% of cases of acute hepatic injury in adults, and has attracted much attention in Japan due to recent reports of severe liver damage caused by Chinese diet medicines. Drug-induced liver injury divided into intrinsic hepatotoxicity (predictable) and idiosyncratic liver injury (unpredictable), the latter being further subdivided into metabolite-idiosyncratic and immunologic (allergic) liver injuries. Clinically acute drug-induced liver injury is divided into hepatocellular damage, cholestasis, a mixed pattern of hepatocellular and cholestatic injury, and steatosis. Drugs may cause chronic active hepatitis, steatosis, phospholipidosis, fibrosis, cirrhosis, chronic cholestasis, vascular disease, granulomatous disease, and neoplasia. Diagnosis of idiosyncratic drug-induced liver damage is often difficult, although there are scoring systems to assess the causative agent in acute drug-induced liver injury. The relationship of drug ingestion and liver injury is not always clear, because patients may take multiple medications and may have concomitant diseases. The main treatment of drug-induced liver injury is withdrawal of the drug, and specific therapies are lacking except for N-acetylcysteine for acetoaminophen toxicity. Although the majority of patients recover, some patients may die due to the development of acute hepatic failure without liver transplantation.

S6-4 Mechanistic Approach to Idiosyncratic Drug Reactions

Tsuyoshi Yokoi

Division of Drug Metabolism and Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Japan

Drug-induced hepatotoxic reactions may account for up to 30 to 40% of all adverse drug reactions, and because of their unpredictable and idiosyncratic nature, these reactions are a constant problem in the drug development process and in clinical practice. Although many studies are performed before clinical trials and marketing, such reactions still occur in particular individuals. The mechanism would depend on three factors: (1) the effect of metabolic detoxification, metabolic activation and transport pathway; (2) pharmacogenetic factors; (3) immune-mediated reactions. These factors are extremely complex and vary greatly among individuals. In this presentation, troglitazone, an oral antidiabetic drug withdrawn from the market due to its association with idiosyncratic hepatotoxicity, will be discussed as an example of research work that attempts to elucidate the mechanism of drug-induced hepatotoxicity. The following is a brief summary of our work on troglitazone.

Metabolism and inhibitory reactions^{1,2)}

The oxidation pathway of troglitazone to a quinone-type metabolite (M-3) was catalyzed by CYP2C8 in human liver microsomes. Kinetics analysis for M-3 formation demonstrated that CYP3A4 would be a major catalyst at higher substrate concentrations. The inhibitory effects of troglitazone and its metabolites on the drug oxidation activities of human CYPs were not potent.

Cytotoxicity of troglitazone and its metabolites³⁾

Treatment of HepG2 cell lines with troglitazone and M-3 showed time- and concentration-dependent cytotoxicity, inducing apoptotic cell death. The sulfate conjugate (M-1), glucuronide conjugate (M-2) and other thiazolininediones (pioglitazone and rosiglitazone) did not induce cell death apoptosis.

Inhibitory effect of M-1 on OATP-C⁴⁾

M-1 was transported by OATP-C but not by OATP-B. M-1 exhibited a strong inhibitory effect on estrone-3-sulfate transport by OATP-C and to a lesser extent on that by OATP8. Since OATP transporters are important in the hepatic handling of bile acids, bilirubin and other endogenous anionic compounds, M-1 may disturb the hepatic influx and efflux transport of endogenous molecules across the basolateral membranes.

Genetic polymorphisms and a novel epoxide metabolite of troglitazone⁵⁾

A novel epoxide-type metabolite of M-3, named M-C, was identified. The formation was catalyzed by CYP3A4. The M-C showed cytotoxicity in HepG2 cells at low concentrations. The M-C was specifically conjugated in vitro by GST-M and GST-T as suggested by Watanabe et al. (Sankyo Co.)⁶⁾.

Troglitazone-induced autoimmune antibodies:

Two patients ceased treatment with troglitazone due to increased serum transaminase. We observed autoantibodies in the serum of the patients to cytosolic protein of the liver. Further, we identified aldolase B as an antigen of autoantibodies in sera by 2D-PAGE analysis. The titer of the aldolase B autoantibodies was remained high for at least 50 weeks. The production of autoantibodies may have role in aggravating the liver dysfunction.

References:

- 1) Yamazaki H et al. (1999) Drug Metab Dispos 27:1260-1266.
- 2) Yamazaki H et al. (2000) Xenobiotica 30:61-70.
- 3) Yamamoto Y et al. (2001) Life Sciences 70:471-482.
- 4) Nozawa T et al. (2004) Drug Metab Dispos 32:291-294.
- 5) Yamamoto Y et al. (2002) Drug Metab Dispos 30:155-160.
- 6) Watanabe I et al. (2003) Clin Pharmacol Ther 73:435-455.

S6-5 Idiosyncratic Drug Reactions: Predicting the Unpredictable

Jack Uetrecht

Faculty of Pharmacy, University of Toronto

The development of screening tests that accurately predict the risk that a drug will cause idiosyncratic drug reactions would significantly decrease the uncertainty involved in drug development. A major impediment to the development of such tests is our lack of understanding of the basic mechanisms of such adverse reactions. There is a large amount of circumstantial evidence to suggest that most idiosyncratic reactions are due to reactive metabolites rather than the parent drug, and the characteristics of these reactions suggest that they are mediated by the immune system; however, this has not been demonstrated for most idiosyncratic reactions. The major hypothesis that has been used to link reactive metabolites with an immune-mediated reaction is the hapten hypothesis, which simply stated is that a drug or reactive metabolite binds to protein making it "foreign" and, in some patients, this leads to a pathogenic immune response. However, many drugs that form reactive metabolites are not associated with a significant incidence of idiosyncratic reactions. One possible explanation for this observation is that the drug or reactive metabolite must also cause cell damage or cell stress leading to upregulation of co-stimulatory signals on antigen presenting cells (danger hypothesis), and in the absence of such co-stimulatory signals the response is tolerance rather than an adverse reaction. There are data consistent with this concept, but there is no direct evidence for it. It is very difficult to test these hypotheses because there are very few animal models in which the mechanism is the same as the human adverse reaction. We have discovered a new animal model in which nevirapine causes an immune-mediated rash in rats that has characteristics very similar to the rash that occurs in humans. The rash is immune-mediated in rats and sensitivity can be transferred -from a sensitized animal to a naive animal with spleen cells or just CD4+ T cells. CD4 cells also appear to play an important role in the rash in humans because the risk is decreased in patients with low CD4 counts. We inhibited the pathway that we suspected leads to a reactive metabolite, but this did not prevent the rash. This suggested that the parent drug is responsible, but we now have evidence that a different reactive metabolite is responsible for the rash. Such models make it possible to study mechanisms and determine which, if any, reactive metabolite is responsible. Although such mechanistic studies are very important, it may be possible to develop screening tests without a complete understanding of mechanism. If reactive metabolites are responsible, screens for the formation of reactive metabolites should lead to safer drugs; however, this has never been proven. As mentioned above, many drugs form reactive metabolites and yet are quite safe; therefore, a screen for reactive metabolites would lead to elimination of good drug candidates. If the reactive metabolite must also cause some type of cell stress in order to induce an immune response, it should be possible to find biomarkers for this effect. We have preliminary evidence to support this hypothesis, but it is much too early to know if such biomarkers, combined with screens for reactive metabolites, would accurately predict the risk of idiosyncratic reactions.

S7-1 OECD GLPと新しいin vitro試験法

中西 良文

(独)産業医学総合研究所

OECD GLP and New in vitro Testing

Yoshifumi NAKANISHI

National Institute of Industrial Health

The OECD Principles of GLP is a common tool that enables the mutual acceptance of data of all non-clinical safety studies. Recent works for harmonizing various national GLP programs and some experiences of confidence building through the OECD's Mutual Joint Visits Project (1998-2001) are reported. The newest proposal for the application of OECD Principles of GLP to in vitro testing will also be discussed.

シンポジウム

化学物質のヒトの健康に対する影響を調べる非臨床的安全性試験は、Good Laboratory Practice (GLP) と Test Guidelines に基づいて行われ、試験結果は他の国でも受け入れられて安全性評価、審査、管理等のために共同して利用できるようにする、とするのが、経済協力開発機構 (OECD) の Mutual Acceptance of Data (MAD) の考えである (1981年理事会決定)。MADの基幹として、加盟国の試験機関で実施される試験の質と信頼性を確保する共通のツールとなる OECD GLP が同時に公開された。

その後、Mutual Acceptance of Data の実質化を進める必要性が認識され、OECD理事会は加盟国に対して各国GLP適合確認 (査察) 状況 (実績) について年次報告を求める決定を出し (1989年)、また国内GLP適合確認制度の運営およびGLP査察の実施要領についてのガイダンスを発した。これ以降、各国GLP当局、専門家が定期的に集まり、GLP試験および査察に関する技術的諸問題について討議を重ね、GLP上の主要点について、OECD GLPを補完するコンセンサス文書やアドバイザリー文書を発刊してきた。最近の新しいOECD GLP関連文書は、(時に国境を越えた) 複数の試験施設で行われるGLP試験の拡がりを受けた「外国でのGLP査察およびスタディ・オーデイトの要請」(2000年) と「Multi-Site 試験へのGLPの適用」(2002年) である。OECD GLP本体については、OECD GLP発足以降の各国GLPの発展、試験分野の拡大等を踏まえた全面的見直し議論を経て、1997年改訂版として公開されている。

1998年、MADの考えに基づく各国GLPのハーモナイゼーションを推進し、各国GLP試験および適合確認制度についての相互信頼を醸成するため、OECD GLP作業部会は各国GLP適合確認制度を対象に、全てのGLP (国ないし当局) が参加した「相互合同訪問調査」(Mutual Joint Visits) パイロット・プロジェクトを開始した。4年間をかけた実施した相互合同訪問調査報告 (33件) は、OECD化学品グループの高い評価を受け (2003年)、全てのGLPを対象に、正式なラウンドの「実地調査 (評価) 計画」としての再開が要請されている。演者は、新規参入国を含む世界のGLPを概観し、相互合同訪問調査を通して明らかになったMADの達成状況と各国GLPのハーモナイゼーションの問題点について報告する。

また、近年幾つかの新しいin vitro試験 (研究) 法が確立され、急速な発展をとげてきているが、GLPへの連関も論議されていた。昨年来のin vitro試験専門家とGLP作業部会との協議を経た現在、Regulatory ToolとしてのGLPの方でも、in vitro試験法に記載の重点をおいたOECD GLP新アドバイザリー文書草案「in vitro試験へのGLPの適用」として検討中となっている。起草グループに加わる演者は、これらの最新の議論について報告する。

S7-2

複数場所でのGLP試験—TK測定、被験物質の物性試験などの対応

長谷川義和

日本QA研究会 GLP部会/MPI Research Inc.

The concept of Multi-Site Study (MS) had been discussed from around the later half of 1980's in US/EPA and OECD. The related references are as follows.

1. OECD Series on Principles of GLP and Compliance Monitoring No.1: "OECD Principle on Good Laboratory Practice" (as revised in 1997) , CD
2. OECD Series on Principles of GLP and Compliance Monitoring No.6: "The application of the GLP principles to files studies." (revised in 1997) , CD
3. OECD Series on Principles of GLP and Compliance Monitoring No.12: "Requesting and Carrying out inspections and study audits in another country" (2000) , AD
4. OECD Series on Principles of GLP and Compliance Monitoring No.13: "The application of the OECD Principles of GLP to the organization to the Organization and Management of Multi-Site Studies" (2002) , CD

複数場所試験の歴史は長く、1980年代後半に米国EPAが農業の圃場試験を含む作物残留試験にGLPを適用した事に始まり、その後、1992年にOECD合意文書No.6「圃場試験へのGLP原則の適用」の発行をへて、1997年には改訂されたOECD GLP原則に複数場所試験に係る用語や規定が明記され、GLP試験の複数場所試験の考えかたが確立された。複数場所試験の実施に於いては、OECD各国のGLP適合性モニタリング当局が対応できるように2000年にOECD勧告文書No.12を発行し、また改訂されたOECD合意文書No.6を補完するために、全ての試験分野において複数場所試験を実施する試験施設を対象とした全体的な手引きとして合意文書No.13が2002年に発行された。

一方、日本のGLP試験に関する法令、ガイドラインでは、農薬及び化学物質GLPはOECD GLPと同様の複数場所試験の規定がある。また、動物用医薬品及び資料添加物のGLPには、「複数の試験施設に渡って実施される試験」に関する規定があるが、改訂OECD GLP (1997年)の前に制定されたGLPであるためOECD GLPとの整合性は取られていない。医薬品・医療用具・安衛法GLPに関しては、複数場所試験に係る規定は記載されていないし、その考え方も取り入れられていなかった。第9回GLP研修会(2003.09)において、医薬品機構はOECD合意文書の概念および実施方法に従って今後徐々に調査実施していく旨を表明し、更にJSQA GLP部会講演会(2004.1.30)においては、国際的にも確立・合意していない部分については調査施設での運用に注目すると共に、今後の諸外国の動向も考慮に入れて弾力的に我国での運用方法を決めていくとの報告があった。

本報告は、JSQAの第VI期の活動の資料No.58「海外のGLP複数場所試験の検討及び「複数場所試験」と「申請時及び海外試験委託時の疑問点・問題点」に関するアンケートの解析」及び資料No.03L01「被験物質分析へのGLP適用に関する考え方-「被験物質分析のGLP検討会」活動報告-」に基づいて構成されており、本シンポジウムのパネルディスカッションの糧としていただきたい。

S7-3

GLPと信頼性保証

佐村 恵治

万有製薬（株）安全性研究所

GLP and Non-Clinical Study Quality Assurance

Keiji Samura

Banyu Pharmaceutical Co., Ltd. Safety Assessment Department

A GLP (Good Laboratory Practice Standard for Safety Studies on Drugs) was enforced in Japan as from April 1, 1983. This Standard has been partially amended since October 1998.

A task force team of JPMA (Japanese Pharmaceutical Manufacture Association) for GLP and Non-Clinical Study Quality Assurance has worked this issue because it has passed more than 20 years after first application of GLP. In this duration, our society has been dramatically changes.

Therefore, it is good timing to consider "what a GLP should be" at a starting point in terms of daily practices, scientific basis and harmonization of that of FDA and OECD.

I will present the results of questionnaire from pharmaceutical companies on GLP inspection in order to propose this issue in this symposium.

GLP (医薬品の安全性試験の実施に関する基準) は日本においては、1983年4月1日から全面的に実施され、その後、1998年10月に一部改定された。

日本製薬協の基礎研究部会の〔GLPと信頼性保証〕を検討するタスクフォースチームはすでに最初のGLPが制定されて、20年以上経過し、社会が大きく変わってきたことから、今日、〔GLPとはどうあるべきか〕を原点に戻って考えるために、GLP適合性調査の経験を通じて、毎日の試験での問題、科学的な見地、FDAやOECDとのハーモナイズなどの観点から、製薬会社各社にアンケートし、その結果を企業の立場からこのシンポジウムで発表し、提言していきたい。

S7-4

安全性薬理試験におけるGLP適用に関するアンケート調査

齋藤 守^{1, 2}

エーザイ(株)¹、日本製薬工業協会(JPMA)²

Questionnaire surveys of GLP application in safety pharmacology studies

Mamoru Saito^{1, 2}

¹Eisai Co., Ltd., ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA), Tokyo, Japan

Safety pharmacology study guideline (S7A) has been notified by MHWS in June 2001 and safety pharmacology studies have been conducted in compliance with GLP from July 2003. In JPMA member companies, a wide range of moot points and problems regarding to GLP safety pharmacology studies were shown in the present state. To clarify what these moot points and problems were arising when the safety pharmacology studies were conducted with GLP according to the guideline, the JPMA has carried out two questionnaires on 79 JPMA member companies, and 25 Japanese and 7 foreign contract research organizations (CRO) in January to March 2004. The rate of collection was 70.9% (56/79) and 62.5% (20/32) respectively. The results of two questionnaires with focusing on the problems of GLP application will be reported in this society.

2001年6月の安全性薬理試験ガイドライン(S7A)施行後、2年の期間をにおいて、安全性薬理試験は2003年7月より医薬品GLP省令適用での実施に移行された。しかし、実際の安全性薬理試験へのGLP適用では、日本製薬工業協会(製薬協)加盟各社から様々な疑問点や問題点が指摘され、特に実施面で苦慮していることが明らかとなった。

製薬協基礎研究部会では、安全性薬理試験をGLP試験として具体的にどのように実施しているか、GLP適用で実施した場合の問題は何か、またS7A、特にコアバッテリー試験が完全にGLPで実施される現状において、指摘される問題にどのような対策を講じたか、あるいは講じる必要があると感じているか等を明らかにして、その問題を改善・解決することにより、今後の安全性薬理試験をより円滑にGLPで実施できるようにしたいと考えた。そのために、安全性薬理試験をGLP適用で実施する場合の問題点を抽出する2つのアンケートを実施した。1) 製薬協加盟会社(79社)を対象にした「安全性薬理試験実施に必要なGLP要件に関するアンケート」(設問数94)、2) 国内受託研究機関(CRO, 25社)及び海外CRO(7社)を対象にした「安全性薬理試験の国内外CROにおけるGLP運用に関するアンケート」(設問数39)である。本アンケートは、2004年1月から3月にかけて実施され、回収率はそれぞれ70.9%(56社/79社)及び62.5%(20社/32社)であった。

本学会において、安全性薬理試験をGLP試験として実施するに際して、試験が科学的に妥当であるための必要な要件並びにGLP運用上の問題点を明らかにすると共に、できれば今後の改善・解決策についての提言も行いたい。

S8-1 Applications and challenges of toxicological evaluation of biological agents.

Jeanine L. Bussiere
Amgen Inc.

Although the S6 guideline offers a framework for developing a nonclinical development strategy for biological agents (see Dr. Black's talk), the reality of "case by case" means that there are many challenges facing toxicologists when developing their safety program. This talk will highlight issues and challenges in designing toxicology studies for biologics, including:

- Species specificity
- Immunogenicity
- Material availability
- PD endpoints
- Safety in animal model of disease vs. in normal animals
- Exaggerated pharmacology.

Examples will be given on options to designing studies when these issues arise and how to defend your program to the regulatory agencies based on the S6 guideline and the scientific rationale behind the "case by case" wording. Other considerations around the clinical design, patient population, concomitant medication, dose, duration and route must also be considered in the design of the toxicology studies. There are several points to consider in developing the safety program for a biologic:

1. The toxicology program is designed to support the clinical program and should mimic as closely as possible, the material, dose, route of administration, schedule and duration of the Phase 1 trial.
2. In biologics testing, an MTD is often not reached, so dosing is designed to provide 'reasonable' multiples above the doses used in the Phase 1 trial (usually at least 10-fold, but can vary depending on the indication). Formulation concentration may also limit the exposure in these studies.
3. Two species are needed for the toxicology studies unless the drug is only pharmacologically active in one species. This needs to be demonstrated to justify the use of the species in the toxicology studies.
4. The IND-enabling program may also include specialty studies such as tissue cross-reactivity, multiple dose PK/PD studies, PK studies in an additional species, or additional tissue distribution or special studies (i.e., immunotoxicity, local tolerance, etc.)
5. Use of a homologous molecule (i.e., murine version) or transgenic or knockout mice may also be useful to understand target organ toxicity or chronic toxicity.

Further issues around toxicity testing in primates will be highlighted including reproductive toxicity testing, safety pharmacology and immunotoxicity testing in nonhuman primates.

S8-2 バイオ医薬品非臨床試験ガイドライン解説の要点

中澤 隆弘

日本イーライリリー（株）医薬開発研究所

"Points to consider" regarding the safety assessment of biopharmaceuticals in preclinical studies

Takahiro Nakazawa

Pharmaceutical Research Laboratories, Eli Lilly Japan

NIHS, PMDEC and JPMA collaborated to write a "points to consider" document regarding the safety assessment of biopharmaceuticals in preclinical studies and published it in 2002. The collaboration team also collected comments on the English translation of the document from experts in the US and EU. The experts were generally supportive of the ideas shown in the "points to consider" document. They appreciated the value of some new ideas and also suggested more clarification on some other ideas. I will share the key comments from the experts and the responses of the collaboration team.

国立衛研、審査センターおよび製薬協の共同作業によりバイオ医薬品の非臨床試験における安全性評価の留意点がまとめられ、2002年に「医薬品非臨床試験ガイドライン解説」の一章として発刊された。この解説書にはICH-S6ガイドラインの解釈が示されているばかりでなく、このガイドラインが制定された頃には十分な実例がなかった新しいタイプのバイオ医薬品に対する非臨床試験の際の留意点も記載されている。

本ガイドライン解説書は日本語で発刊されているので、その英訳を作成し、欧米の専門家に送付し意見を求めた。専門家からは、概ね、本ガイドライン解説書の内容に賛同するというコメントが得られた。特に、以下の点については重要な考え方であると欧米専門家も強調した。

- 最高投与量の決め方
- 薬理作用と毒性変化
- 急性毒性試験の動物種の選び方
- 長期毒性試験の動物種の選び方
- 代謝試験の有用性

一方、抗原性試験、GLP、in vitro心筋電気生理学的試験および遺伝毒性試験に関する追加の考察が欧米の専門家から得られ、今後官民共同作業チームで検討する予定である。

本発表においては、欧米の専門家も重要と強調する最近の考え方について紹介する。また欧米の専門家からのいくつかのコメントに対する我々の検討結果も合わせ紹介したい。

S8-3 バイオ医薬品の毒性評価 –インフリキシマブを中心に–

上田 志朗

千葉大学大学院薬学研究院 医薬品情報学

Efficacy and immunotoxicity of anti-TNF- α monoclonal antibody in the treatment of rheumatoid arthritis.

Shiro Ueda, M.D.

Department of Drug Information and Communication, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University, Chiba, Japan

Infliximab, anti-tumor necrosis factor- α monoclonal antibody, has surely beneficial effect on Crohn's disease. The combination of Infliximab and methotrexate is successfully introduced in the treatment of active and DMARDs resistant rheumatoid arthritis (RA). However, inductions of infusion reaction, opportunistic infectious diseases (such as tuberculosis, herpes zoster), and lupus like syndrome are known as side effects. Furthermore, possibility of induction of malignant tumors by Infliximab is also pointed out.

シンポジウム

現在までに日本では、6製剤モノクローナル抗体製剤が治療薬として認められている。当講演においては使用頻度が高くなりつつあるインフリキシマブを中心にモノクローナル抗体製剤の免疫毒性に関し論じ、将来のこれらの薬剤の適正使用に寄与できればと考える。

モノクローナル抗体は高分子の蛋白であり、生体において異種抗原としても働く。これらのモノクローナル製剤の免疫毒性を中心とした副作用を考えると、それ自体の蛋白としての抗原性が問題になる場合と、それらの薬剤の作用点が免疫反応そのものに影響を与えるものが多いことより、効果の結果より免疫毒性が副作用として出現する場合との2つのタイプが考えうる。

異種蛋白としての副作用と考えられる典型的なものはInfusion reactionといわれるものであり、いずれの製剤でも起こりうる副作用である。Delayed infusion reactionとよばれる遅延性過敏反応も知られている。これらの副作用と抗イデオタイプ抗体、抗マウス抗体との関連を明確に証明した報告は無いが、何らかの機序により、他のマウスモノクローナル抗体やマウス血清に感作されている場合にはこれらの反応が頻度・程度が高くなる可能性がある。製造・精製過程においてマウスモノクローナル抗体を使用している薬剤の使用歴のある者や、マウスをふくめた実験動物を使用者は十分な注意が必要であろう。

インフリキシマブにおける特異的な副作用としては、TNF- α が持つ本来の機能、即ち免疫・炎症における作用が抑制されることにより、肺結核の再燃、帯状疱疹などの日和見感染症の発症が促されたりすることがよく知られている。また、抗2重鎖DNA抗体の陽性化を伴うループス様症候群が現れることがある。DMARDsのD-penicillamineや金剤使用者においても同様なループス様症候群が発症することがあることは興味あることである。TNF- α の抗腫瘍効果(名前の由来)が抑制されることにより、特にインフリキシマブ長期使用者における悪性腫瘍の発症が心配されているが、現時点においてはそれを明らかに証明する根拠は報告されていない。

S8-4

日本におけるバイオ抗体医薬品の safety データパッケージ構築の注意点について

西村（鈴木）多美子

(独) 医薬品医療機器総合機構

Improving safety data package of animal experiments of biologics in Japan.

Tamiko Suzuki-Nishimura

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA)

The Pharmaceuticals and Medical Devices Evaluation Center, The Organization for Pharmaceutical Safety and Research, and in part The Japan Association for the Advancement of Medical Equipment are merged into PMDA. As result of species, there are differences between animals and humans, especially immunoreactions. The warnings attached to monoclonal antibodies for human use (mAbs) seem to be useful to prevent safety immunological problems with mAbs under clinical development. We hope the better and faster scientific development of new mAbs in Japan.

新医薬品の開発者は、開発を目的とする薬物のヒトでの有効性及び安全性を適切な品質、非臨床及び臨床から立証することが必要である。臨床試験の他にも、開発を目的とする薬物の有効性は品質、薬理及びADMEから、安全性は品質及び非臨床からも裏付けられると考えられる。被験者へ安全に投与するために、開発を目的とする薬物がヒトにどのような不利益を与えるのかを予測するが、臨床試験開始前の品質及び非臨床のデータは、臨床試験の計画立案、被験者の安全性確保、被験者への情報提供と同意取得を検討する際に有益であろう。また、新医薬品の承認後には、医療従事者及び患者に対して十分な情報提供を行う際にも有益であろうと考える。

遺伝子組換え技術の進歩は、遺伝子組換えタンパク質のヒト疾患の治療薬への応用を可能にした。このようなバイオテクノロジー応用医薬品（バイオ医薬品）の非臨床試験においては、毒性試験を通常の毒性ガイドラインにそって実施することが困難な場合も想定されることから、「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」（医薬審第326号 平成12年2月22日）が公表されている。さらに、最近ではヒトでの応用が困難であった抗体医薬や受容体医薬（抗体製剤やレセプター製剤）もヒト疾患の治療薬として開発することが可能となり、従来の非臨床試験手法に加えて新たな手法の応用や、得られた非臨床試験成績をヒトへ外挿するための考察が開発を進める際に重要と考えられる¹⁾。抗体医薬や受容体医薬は、現時点では臨床試験を行う前に、品質及び非臨床で得られているデータからの注意深い考察が特に必要とされる分野ではないかと考える。本発表においては、個人的意見として、抗体医薬・受容体医薬の安全性確保のための、品質、非臨床における注意事項を以下のように纏めたいと考えている。①品質に裏付けられる安全性、②品質と非臨床試験との関連性、③品質と非臨床試験から臨床試験への移行の判断。

抗体医薬や受容体医薬をヒトに投与した際には、他のバイオ医薬品と同じように、生体側のホメオスタシスや未発見の生理活性、生理的濃度以上や生理的ではない血中の動態推移などにより、予測しえない生体側の変化が生じることは否定できない。そこで、申請までのどの段階にあっても、非臨床の研究者は、品質や臨床の研究者との間でディスカッションをしながら、問題解決にあたるように心がけて欲しい。

なお、厚生労働省は、本年4月1日に国立医薬品食品研究所医薬品医療機器審査センター、(認) 医薬品被害救済研究振興調査機構、(財) 医療機器センターの一部業務を統合し、新たな独立行政法人医薬品医療機器総合機構を設立した。その目的の一つは医薬品等の品質、有効性及び安全性の向上に資する審査等の業務を行い、もって国民保健の向上に資することとされていることを追記する。

*本内容は演者の個人意見であり、医薬品医療機器総合機構の見解ではありません。

1. 西村（鈴木）多美子；医学のあゆみ 2002; 203 (11) : 977-981.

薬物依存の分子機構

鍋島 俊隆

名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・医学部附属病院薬剤部

本シンポジウムでは2000年度にスタートした大型研究費、科学技術振興調整費による目標達成型脳科学研究「依存性薬物により誘発される神経障害の機構の解明の研究」班（班長：鍋島俊隆）の活動について紹介したい。この班研究は当初は科学技術庁のプロジェクトとして始まり、文部省との統合後は文部科学省のプロジェクトとして2004年度まで5年間にわたり行っている。

Methamphetamineは第二次世界戦後よりわが国で一番ポピュラーな依存性薬物であり、現在は第三期乱用期を迎えており、若年層にも乱用が広がり社会的にも多くの課題を抱えている。日本では覚醒剤の神経毒性について欧米に先駆けて、多くの研究が行われている。近年覚醒剤の依存は欧米でも問題になっており、欧米の研究者も研究に参画し始めている。またmorphineは臨床において終末期の患者のQOLを向上させるためにWHOにより使用が推奨されているが日本での使用はオーストラリアやカナダの6分の1程度である。この研究班では日本の覚せい剤研究のリードを保つこと、臨床医がmorphineを安心して処方するような情報を提供するために、依存性薬物の中で主にmethamphetamine morphineに焦点を絞って研究を行っている。

これら薬物による神経毒性の解明と治療戦略の構築のために、10大学、1研究機関、2企業の研究者からなる班を構成し、基礎グループは薬理学的研究、分子生物学的研究によってターゲット遺伝子の同定、その結果に基づく治療薬、依存性の少ない代替薬の開発を、臨床グループは薬物依存者のSNPs研究、それに基づく診断法の開発、画像診断などの研究を行っている。

今回は時間の制約があるので基礎研究担当者による成果に絞って紹介する。最近の薬理学的研究手法、分子生物学的手法を利用して明らかとなった依存性薬物のいくつかの新しいターゲット、Arc/Arcadlin、プラスミノーゲンアクチベーター、NMDA受容体、ノシセプチン受容体（アンチオピオイド系）、グルタミン酸トランスポーター、グリブレル、TNF α などを紹介する。これら分子が依存性薬物の神経毒性発現にどのような役割を果たしているかを紹介し、討論のシーズとしたい。

S9-1 神経ネットワークのリモデリング：細胞接着分子の観点から

三木 直正、田中 秀和

大阪大学医学系研究科第一薬理

Remodeling of neural network: involvement of cell adhesion molecules

Naomasa Miki, Hidekazu Tanaka

Department of Pharmacology, Osaka University Medical School

薬物依存の分子機構を検討するに当たり、依存性薬物によって引き起こされると考えられる神経ネットワークの再構築の分子メカニズムに着目した。依存性薬物によって発現が誘導される分子群は、LTP・痙攣・電気ショック等の一般的な神経刺激で誘導される分子群と多くは重複する。そのような神経活動依存的分子群の中で、神経ネットワークの構築に関わると考えられている接着分子が発見されている。我々は、神経活動直後数時間特に強く発現誘導を受け、その後消失してしまうArcadlin接着分子がシナプス形成過程を修飾し、神経ネットワークの再構築に関わっている可能性を見いだした。Arcadlinは合成後、細胞表面のN-cadherinに結合しそれを細胞内に取り込ませる。N-cadherinはシナプスの接着維持のみならず新たなシナプス形成過程に関わる接着分子であるが、Arcadlinによる内在化の結果、新たなシナプスの形成が抑制され、シナプスの数が減少することが判明した。逆にArcadlinを欠失した神経細胞ではシナプスの数が増加する反面、ひとつひとつのシナプスの大きさが正常よりも小さくなり、十分成熟しないことがわかった。以上のようなメカニズムが過剰な神経活動による神経系のリモデリングに関与している可能性が想定される。

S9-2 覚せい剤および麻薬依存に共通する内因性 anti-addictive および pro-addictive substances.

山田 清文^{1, 2}, 鍋島 俊隆²

¹金沢大院・自然科学・病院薬学, ²名古屋大院・医・医療薬学・附属病院薬剤部

Anti-addictive and pro-addictive substances commonly involved in methamphetamine and morphine dependence.

Kiyofumi Yamada^{1, 2}, Toshitaka Nabeshima²

¹Lab. Neuropsychopharmacol. Kanazawa Univ. Grad. Sch. Nat. Sci. Tech., Dept.

²Neuropsychopharmacol. Hosp. Pharm. Nagoya Univ. Grad. Sch. Med.

To identify candidate genes commonly involved in methamphetamine (METH) and morphine (MOR) dependence, we examined gene expression changes in the brains of rats, which had been subjected to chronic METH and MOR treatment and performed functional analyses of candidate genes in behavioral and neurochemical experiments. We have identified tumor necrosis factor- α (TNF- α) and tissue plasminogen activator (tPA) as endogenous anti-addictive and pro-addictive substances, respectively.

シンポジウム

我々は薬物依存の分子機構を解明するために、methamphetamine (METH) および morphine (MOR) 依存ラットの脳内遺伝子発現の変化をDNAマイクロアレイを用いて網羅的に解析し、METHとMOR依存に共通する薬物依存関連候補遺伝子を検索した。さらに、見出した薬物依存関連候補遺伝子産物の役割を行動薬理的に詳細に解析し、薬物依存の形成を抑制する内因性 anti-addictive substance として tumor necrosis factor- α (TNF- α)、薬物依存の形成を促進する内因性 pro-addictive substance として tissue plasminogen activator (tPA) を見出した (Yamada and Nabeshima, Ann. NY Acad. Sci. in press.)。

TNF- α as an anti-addictive substance

METHを連続投与した動物では、dopamine D1およびD2受容体の刺激により側坐核 (NAc) の神経細胞でTNF- α の発現が増加した。TNF- α 遺伝子欠損 (KO) マウスでは、METHの報酬効果とドパミン作動性神経系に対する神経毒性の増強が認められた。逆に、野生型マウスにTNF- α を前処置すると、METHの薬理作用・神経毒性が減弱した。TNF- α はdopamine transporterおよびvesicle monoamine transporter-2を活性化してMETHのdopamine遊離促進作用を減弱し、METHの精神神経毒性に対して抑制的に作用することが示唆された (Nakajima et al., J. Neurosci. 24: 2212-2225, 2004)。

tPA as a pro-addictive substance

MORはopioid受容体を介してNAcの神経細胞でtPAタンパクおよび酵素活性を増加した。tPA-KO および plasminogen-KO マウスでは、モルヒネの報酬効果と自発運動増加作用およびdopamine遊離促進作用が減弱した。tPA-KOマウスにおけるMOR誘発性dopamine遊離の障害は、tPAあるいはplasminをNAcへ微量注入することにより回復した。したがって、tPA-plasminシグナルはdopamine遊離を増強することによりMOR依存に関与していることが示唆された (Nagai et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 3650-3655, 2004)。

S9-3 薬物依存におけるグルタミン酸トランスポーター GLT-1 の役割

中川 貴之, 佐藤 公道

京都大学薬学研究所生体機能解析学分野

Role of a glial glutamate transporter GLT-1 in drug dependence

Takayuki Nakagawa, Masamichi Satoh

Department of Molecular Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

We examined the role of glutamate transporters in psychological dependence on morphine and psychostimulants. In the conditioned place preference (CPP) paradigm, a glutamate transporter activator inhibited the morphine-, methamphetamine- and cocaine-induced CPP, while a glutamate transporter inhibitor facilitated the morphine-induced CPP. Furthermore, gene transfer of GLT-1 into the nucleus accumbens shell by recombinant adenoviruses inhibited morphine-induced CPP. These results suggest that a glial glutamate transporter GLT-1 commonly plays an inhibitory role in the psychological dependence on the drugs of abuse.

麻薬性鎮痛薬（モルヒネなど）、覚醒剤（アンフェタミン類）やコカインなどの依存性薬物による依存形成には、脳内グルタミン酸神経系が重要な役割を果たしていることが知られている。一方、中脳神経系のグルタミン酸神経系の機能調節に深く関与することが知られるNa⁺依存性グルタミン酸トランスポーターには、少なくとも5つのサブタイプが存在し、このうちGLT-1およびGLASTは脳内では主にグリア細胞に発現していることが知られている。我々はこれまでに、薬物依存、特にモルヒネ身体依存におけるグルタミン酸トランスポーターの役割に着目した検討を行い、すでにモルヒネ依存ラットの線条体、側坐核、視床などの一部の脳部位において、グリア型グルタミン酸トランスポーターGLT-1の発現量が減少していること、グルタミン酸トランスポーター阻害薬あるいは活性化薬がモルヒネ身体依存を調節しうること、さらに、組換えアデノウイルスベクターを用いてGLT-1遺伝子を青斑核に遺伝子導入することにより、モルヒネ身体依存が減弱されることなどを報告してきた。本研究では、モルヒネの他、アンフェタミン類やコカインなどの依存性薬物による精神依存におけるGLT-1の役割を明らかにするため、条件付け場所嗜好反応を指標とした検討を行った。その結果、グルタミン酸トランスポーター活性化薬MS-153をモルヒネ、メタンフェタミンあるいはコカインと同時にマウスに処置することにより、それらの依存性薬物による運動活性の上昇には影響を与えず、条件付け場所嗜好反応の獲得を有意に抑制した。反対に、グルタミン酸トランスポーター阻害薬DL-TBOAをラット側脳室内に前投与することにより、モルヒネによる条件付け場所嗜好反応の獲得を有意に増強した。さらに、グリア型グルタミン酸トランスポーターGLT-1を遺伝子導入することが可能な組換えアデノウイルスベクターを用い、ラット側坐核shell内に両側性にGLT-1を遺伝子導入することにより、モルヒネによる身体依存には影響を与えず、モルヒネ誘発条件付け場所嗜好反応を有意に抑制した。これらの結果から、脳内のグルタミン酸トランスポーター、少なくとも一部は、側坐核shell内のGLT-1が、モルヒネやメタンフェタミンあるいはコカインなどの依存性薬物による精神依存に対して抑制的な役割を果たしていることが示唆される。

S9-4

慢性疼痛下における morphine 依存不形成の分子機構

○成田 年、鈴木 勉

星薬科大学 薬品毒性学教室

Molecular mechanism of changes in the morphine-induced rewarding effect under chronic pain-like state: Suppression of dopaminergic transmission in the brain

Minoru Narita, Tsutomu Suzuki

Department of Toxicology, Hoshi University School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences

The present study was designed to investigate whether a neuropathic pain-state induced by sciatic nerve ligation in rodents could cause a long-lasting change in intracellular signaling in the CNS. Here we found that mice injured by sciatic nerve ligation failed to exhibit the morphine-induced place preference. Furthermore, we found that the increase of [³⁵S]GTP γ S binding to lower midbrain membranes including the ventral tegmental area (VTA), which contributes to the expression of the opioid-induced rewarding effects, produced by morphine was significantly decreased in sciatic nerve-ligated mice. It should be noted that the suppression of the morphine-induced place preference and the decreased [³⁵S]GTP γ S binding by sciatic nerve ligation was reversed by pretreatment with an intra-VTA injection of a μ -opioid receptor antagonist naltrexone. These findings provide direct evidence that the reduction in μ -opioid receptor function caused by a robust release of endogenous opioid peptides under a neuropathic pain-like state may contribute to the suppression of the morphine-induced rewarding effect.

シンポジウム

神経因性疼痛下ではモルヒネに対する感受性が低下することが知られているが、その詳細な分子機構は長い間、解明されていなかった。我々の研究チームでは、この分子機構を行動薬理的また分子生物学的に詳細に解析しており、こうした研究成果により、疼痛下でのモルヒネ依存不形成機構の一端を明らかにしてきた。本講演では、これら一連の研究成果を紹介する。

神経因性疼痛モデルにおけるモルヒネの精神依存は、条件づけ場所嗜好性試験法に従って検討した。坐骨神経を結紮していない非結紮群では、モルヒネの皮下投与により用量依存的かつ有意な精神依存の形成が認められたのに対し、結紮群においてはモルヒネによる精神依存は有意に抑制された。また、モルヒネの精神依存の形成には腹側被蓋野に存在する μ 受容体が重要であることから、坐骨神経を結紮したマウスの腹側被蓋野における μ 受容体の機能変化を [³⁵S] GTP γ S binding assayにより検討した。その結果、非結紮群に認められるモルヒネおよび選択的 μ 受容体作動薬である [D-Ala¹-N-MePhe⁴-Gly-ol⁵] enkephalin (DAMGO) による著明なGタンパク質活性化作用は、坐骨神経の結紮により有意に抑制された。次に μ 受容体拮抗薬である naltrexone (NTX) を坐骨神経結紮前および結紮後6日間、腹側被蓋野に微量注入し、疼痛発現時における内因性オピオイドリガンドによる μ 受容体刺激を遮断した後に、DAMGOによるGタンパク質活性化作用および精神依存形成に及ぼす影響を検討した。その結果、坐骨神経を結紮することにより低下した腹側被蓋野の μ 受容体の機能は、NTXを処置することによりほぼ完全に回復した。さらに、同様のスケジュールでNTXを処置し、DAMGOによる精神依存形成を検討したところ、結紮群で認められるDAMGOによる精神依存の抑制もほぼ完全な回復が認められた。そこで我々は逆行性神経輸送物質である fluoro-gold を腹側被蓋野に微量注入したところ、視床の東傍核領域においてその自家発光が観察された。またこの反応は、東傍核領域に存在する enkephalin および dynorphin 含有神経上において認められた。以上の結果から、坐骨神経結紮による神経因性疼痛下では、東傍核より腹側被蓋野に投射する内因性オピオイド神経の活性化ならびに持続的な過剰遊離が引き起こされている可能性が推察される。また、これに伴い、 μ 受容体の脱感作が誘導され、ドパミン遊離作用が低下し、モルヒネ精神依存が形成されにくくなっている可能性が示唆された。

S9-5 モルヒネ耐性・依存性形成における特異的脳局所部位での神経可塑性

井上 誠、植田 弘師

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学研究室

Neuronal plasticity in the brain specific locus in morphine-induced tolerance and dependence

Makoto Inoue, Hiroshi Ueda

Division of Molecular Pharmacology and Neuroscience, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Japan

Opioid systems are present at multiple locations on analgesic and addiction pathways. The clinical utility of opioid analgesics is often overshadowed by the development of tolerance and dependence following chronic use. It has been proposed that some non-opioid neurons including anti-opioid neuron such as glutamate and N/OFQ neurons may cause a counter-adaptation to show such side effects. A major question is whether opioid neuronal plasticity by such anti-opioid system in morphine analgesic tolerance and dependence could be caused in specific loci or in the downstream of opioid neuron in the brain. To specify the brain locus, we performed the locus-specific rescue of gene into the brain of specific mutant mouse. We will discuss on the brain locus-specific plasticity of neuronal circuits in morphine tolerance and dependence.

S9-6

メタンフェタミンの神経毒性に対する腫瘍壊死因子およびグリア細胞株由来神経栄養因子の影響

新田 淳美¹、山田裕一郎¹、丹羽 美苗¹、中島 晶¹、Liya Shen²、鍋島 俊隆¹¹名古屋大学大学院医学系研究科・医療薬学・医学部附属病院薬劑部、²Laboratory of Mammalian Genes and Development, National Institute of HealthEffects of tumor necrosis factor- α and glial cell lined-neurotrophic factor on the toxicity-induced by methamphetamine *in vivo* and *in vitro*.Atsumi Nitta¹、Yuichiro Yamada¹、Minae Niwa¹、Akira Nakajima¹、Liya Shen²、Toshitaka Nakajima¹¹Department of Neuropsychopharmacology and Hospital Pharmacy, Nagoya University Graduate School of Medicine、²Laboratory of Mammalian Genes and Development, National Institute of Health

シンポジウム

We have found that the expressions of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and glial cell lined-neurotrophic factor (GDNF) are increased in the brain of mice after repeated administration of methamphetamine. Here we would like to introduce the effects of TNF- α and GDNF on the toxicities-induced by methamphetamine *in vivo* and *in vitro*, by using their transgenic mice.

我が国において、メタンフェタミンの乱用は、深刻な社会問題となっている。

腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor- α ; TNF- α) はマクロファージや単球により生成されるサイトカインであり、近年、中枢神経系においてモノアミン等の調節因子として働くことも明らかにされている。一方、グリア細胞株由来神経栄養因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor; GDNF) は、ドパミン作動性神経に対して強力な神経保護作用を有するタンパクである。我々は、メタンフェタミンを連続投与したマウス脳では、両タンパクの発現が増加していることを見出している。そこで、本シンポジウムでは、メタンフェタミンによる毒性に対する両タンパクの関与について、両タンパクの遺伝子欠損マウスを用い、*in vitro*および*in vivo*で検討した知見を紹介する。

実験にはC57BL/6J (wild-type)、TNF- α (-/-) またはGDNF遺伝子変異 (GDNF (-/-) または (+/-)) マウスを用いた。妊娠13日目の胎仔の中脳を取り出し、神経細胞の培養を開始した。培養開始3日目に、メタンフェタミン (0.1-100 μ M) を添加すると、2.5 μ M以上の濃度において用量依存的に神経細胞死が観察された。TNF- α (-/-) およびGDNF (-/-) の胎仔脳を用いた神経細胞においては、より低用量のメタンフェタミン (1 μ M) の添加で、神経細胞死が観察された。また、TNF- α (-/-) およびGDNF (-/-) マウスの脳から調整した神経細胞を用いた時の、メタンフェタミンによる神経細胞死の誘導は、TNF- α およびGDNFタンパクを添加することによって、それぞれ抑制された。また、TNF- α (-/-) マウスから作成した神経細胞におけるメタンフェタミンの神経細胞死は、GDNF (100nM) の添加によって抑制された。しかし、GDNF (-/-) マウスから作成した神経細胞におけるメタンフェタミンによる神経細胞死はTNF- α (10nM-1mM) を添加しても抑制されなかった。これらのことから、TNF- α がGDNFの産生を誘導し、メタンフェタミンによる神経細胞死を抑制している可能性が示唆された。次に、メタンフェタミンによる精神毒性について、場所嗜好性試験を用いて*in vivo*での検討をおこなった。GDNF (-/-) マウスは、腎臓の形成が不十分のため、生後23日で死亡するので、成体を用いる行動薬理学的な実験には、GDNF (+/-) マウスを用いた。10-11週令のGDNF (+/-) マウスの側坐核では、GDNF含量が有意に低下していることを確認の上、実験に用いた。wild-type マウスを用いた場合、場所嗜好性を示さない低用量のメタンフェタミン (0.3 mg/kg) で条件付けを行った場合においても、TNF- α (-/-) およびGDNF (+/-) マウスでは、場所嗜好性が形成された。またTNF- α (-/-) マウス脳では、GDNF含量が有意に減少していた。

これらの研究成果から、TNF- α やGDNFの遺伝子欠損マウスでは、メタンフェタミンによって誘導される神経細胞死と嗜好性の形成が共に、増強されることが示唆された。また、TNF- α がGDNFの産生を誘導している可能性も考えられる。メタンフェタミンによる細胞毒性と精神毒性の形成メカニズムの詳細は解明されていないが、両者ともに、TNF- α やGDNFが関与していることは興味深い知見であり、今後、さらに研究を進めていきたいと考えている。

S10

レギュラトリーサイエンスとトキシコロジー研究
—新総合機構発足と非臨床試験の相談・審査—Regulatory Science in Toxicology Research: New Drug
Organization (PMDA) and Non-clinical Development Consultation
and Review Program

佐神 文郎 (エーブイ (株))

In 1997, the Organization for Pharmaceutical Safety and Research (OPSR/ "Drug Organization") started consultation to applicants on the design of clinical trials and data requirements for NDA submission. Before that, it had virtually been only the NDA review when the applicant had been able to obtain Japanese authority's view. This consultation service has significantly contributed to realize safer conduct of clinical trials and faster drug development. On the other hand, the industry has also been voicing their anticipations, such as: 1) more integrated and consistent advice and instruction from first clinical trial preparation to NDA review; 2) shorter waiting time for consultation meetings and minutes preparation.

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), founded on 1st April, 2004, is now responsible for both advice during development stage and NDA review. It is expected that development consultation and NDA review will be done in a more integrated manner. At this Symposium, we would discuss both Authority's and Industry's views and expectations on the new development advice and review system with this new "Drug Organization", including comparison with the equivalent US and EU programs and views from clinical development on non-clinical consultation.

1997年医薬品機構による治験相談が開始され、承認審査のみの一元的な行政の審査より、一步進んだ相談制度が開始された。これまで、相談制度は、初回治験相談から、申請前相談までを通じて、治験の安全性や医薬品開発の迅速化に大きく貢献した。しかし、初回治験相談から承認審査までの一貫した助言・指導、相談待ち時間や記録作成時間の短縮などの改善要望もなされている。

本年4月発足した独立行政法人医薬品医療機器総合機構（総合機構）では、相談制度と承認審査が一体化した相談・審査体制が行われることとなり、その期待は大きい。本シンポジウムでは、総合機構の発足を機会に、これらの期待を含め、今後の総合機構による審査相談制度の運用とその活用について、行政側、産業界の考え方と同時に、欧米における同様の制度の考察、さらには、臨床試験を実施する側からみた、非臨床試験の審査相談制度へのあり方も踏まえ、考えてみたい。

伏見 環 ((独) 医薬品医療機器総合機構)

The PMDA, the Pharmaceutical and Medical Device Agency, has been founded since last April by consolidating OPSR, PMDEC etc. The PMDA aims at enhancing public health through the expeditious relief of health damages due to ADR and biologics-related infections, and through conducting reviews and safety activities on pharmaceuticals and medical devices. PMDA not only provides consultation service on pre-submission trials and tests of pharmaceuticals, but also reviews them after submission, although these were executed separately by OPSR and by PMDEC respectively until the consolidation. The new scheme by PMDA is expected to offer more effective guidance and advice and to realize more qualified review with higher expertise, which eventually enables better pharmaceuticals to be brought to patients more rapidly.

In the planned presentation, brief explanation on the organization and function of PMDA will be made with particular reference to consultation and review. How PMDA considers about these services will be also touched on.

本年4月、健康被害救済の迅速な救済、医薬品医療機器等の審査、安全対等を行うことにより国民保健の向上を図ることを目指し、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下PMDA）が設立された。PMDAでは、これまで旧医薬品機構（OPSR）と国立衛研審査センター（PMDEC）で分かれて実施されてきた、治験相談と承認審査業務の一体的実施体制がとられることにより、より効果的な指導・助言を図り、一層の専門性に基づくより高度な審査が行われ、より良い医薬品をより早く患者さんへ届けられることを目指している。

講演では、PMDAの組織、業務について、治験相談と承認審査業務を中心に紹介すると共に、これらの業務への基本的な考え方についても言及する。

S10-1 医薬品開発相談・審査制度の日欧米比較と新総合機構への期待（非臨床試験を中心に）

仲野 貴子

エーザイ（株）薬事政策部

Drug Development Advice and Review Programs in USA / EU / Japan. Expectations from Industry for New Drug Organization in Japan

Takako Nakano

Corporate Regulatory Affairs Department, Eisai Co., Ltd.

A new Japanese agency for the regulation of pharmaceuticals and medical devices (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency: PMDA) was founded on 1st April, 2004. It is responsible for the review of pharmaceuticals and medical devices, and related operations such as guidance and advice on clinical trials and GCP, GLP and GMP, which used to be shared among different organizations. In order to clarify industry's expectations to PMDA, the JPMA conducted a questionnaire survey for the JPMA member companies regarding experience (2001-2003) and expectations for the past "Drug Organization" advice programs (non-clinical studies), as well as the investigation of the advice, fast review and approval programs in the USA and EU. Expectations for the New Drug Organization, including the followings, are discussed: 1) consistent advice throughout drug development and approval process 2) re-consideration and further clarification of the role of non-clinical studies in drug development 3) experience- and expertise-building regarding drug development and advice based on specific consideration of each drug profile 4) facilitation of better communications between the Authority and the Industry.

シンポジウム

2004年4月1日に「独立行政法人医薬品医療機器総合機構」（以下、新総合機構）が発足した。新総合機構の元で審査・調査業務が統合され、従来の治験相談と審査がより一体化し、改正薬事法が目標として掲げた、「より安全」で「より有効」な医薬品を「より早く」承認できる体制が構築されることが期待される。日本製薬工業協会 基礎研究部会では、欧（EU）米当局における、開発相談、開発・承認促進制度に関する情報収集を行うとともに、非臨床試験に関する日本における機構相談（初回・安全性・第II相談・申請前・個別相談）の過去3年間（2001～2003年）の経験、ならびに新総合機構への要望・期待について、加盟企業を対象にアンケート調査を行った。

この結果、新総合機構に期待・要望される主な点として、①一貫性のある相談・審査 ②非臨床試験の医薬品開発における位置付けの再考と「規制当局」としての見解の明確化 ③医薬品開発に関する経験・専門性の蓄積と製品の特性を考慮した明確な見解 ④規制当局と企業間の意見交換の促進、などが明らかになったので報告する。

S10-2 Consultation and review process in the US and EU

J. Vessotskie

MERCK Research Laboratories

In both the US and EU, consultations between the sponsors and regulatory agencies are encouraged during the clinical development of a drug. The objective of the consultations is to optimize the development of new products, reduce uncertainties in regulatory outcomes and accelerate the time to approval.

In the US, meetings with the FDA are frequently held to resolve questions and issues that arise during clinical investigation. It is possible to consult with the FDA even before the Investigational New Drug Application (IND) is submitted which allows the clinical development program to be initiated. Although meetings can be held at any time during the development program, the FDA recommends holding an end-of phase II and a Pre-NDA meeting. The purpose of the end-of-phase II meeting is 1) to determine the safety of proceeding to Phase III, 2) to evaluate the Phase III plans and protocols and the adequacy of the current studies and plans to assess pediatric safety and effectiveness, and 3) to identify any additional information necessary to support a marketing application for the uses under investigation¹. Agreements reached during the meeting are recorded in the minutes of the meeting and studies conducted in accordance with the agreements are sufficient for marketing approval of the drug. The second recommended meeting is the Pre-NDA meeting which should occur shortly before the submission on the New Drug Application (NDA). The purpose of the Pre-NDA meeting is to reduce delays in the initial review of the application by discussing the best presentation of the data, analysis and formatting of the application.

In the EU, several procedures are possible for obtaining Scientific Advice and Marketing Authorizations for a drug because of the complex network of the European community. There are two potential registration procedures; 1) the Centralized Procedure and 2) the Mutual Recognition Procedure. The Centralized Procedure results in one Marketing Authorization granted by the European Medical Evaluations Agency (EMEA) which is valid for the entire community market. The applications are assessed by the scientific body of the EMEA called the Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Alternatively, the Mutual Recognition Procedure results in the recognition of the Marketing Authorization granted to the drug by the competent Authority of a member state (Reference Member State) by the competent authorities of the other member states (Concerned Member States).

Consistent with the registration procedures, there are also two options for obtaining Scientific Advice in the EU. By a centralized mechanism, the CPMP is responsible to advise the sponsors on very specific questions based on the documentation provided by the applicant and on the basis of the current scientific knowledge. Scientific advice can be given on specific issues relating to the manufacturing of the product, the preclinical safety or clinical development of the product. However, scientific advice can only be requested for issues that are not addressed in EU guidelines/guidance documents or in pharmacopoeia monographs. Alternatively, Scientific Advice can be sought at a national level from the individual competent authorities. Meetings with national authorities are essential in selecting a Reference Member State for a Mutual Recognition Procedure.

Although the review and consultation procedures differ in the US and EU, the regulatory authorities encourage consultations during drug development because of the positive impact during the review process.

¹Code of Federal Registration 312.47

S10-3 臨床試験実施側からみた非臨床試験の行政コンサルテーションへの要望

菊池 康基

(株) 国際医薬品臨床開発研究所

Proposals for non-clinical study consultation with new "KIKO"

Yasumoto Kikuchi

International Clinical Research Organization for Medicine,

Consultations of non-clinical study with KIKO should be done based on the ICH topic M3 guideline, timing of non-clinical safety studies for conduct of the clinical trials. In recent years, this M3 guideline was more effective in decreasing the number of non-clinical safety studies required in Japan. However, the results of survey of JPMA reported by Nakano, former speaker, indicate that the consultations with KIKO were not sufficient to many pharmaceutical companies. I'll discuss why the consultations were insufficient. In addition, I would like to recommend build up a national strategy for human screening study in Japan.

シンポジウム

製薬企業が臨床試験を進めるに当たって、治験相談に期待することは、相談内容に則した的確な回答、指示を得ることにある。このためには、非臨床試験の相談内容に的確に対応できる体制の整備と、治験の各Phaseに対応した非臨床試験の位置付けの明確化が必要であろう。即ち、ICH M3「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン」に沿ったコンサルテーションが行われるべきである。しかしながら、これまでの医薬品機構による治験相談においては、これらの点について製薬企業を十分満足させる状況ではなかったことは、製薬協・基礎研究部会のアンケートの結果でも明らかである。

この度の独立法人化に伴う新体制の医薬品医療機器総合機構の充足は、これらの点についての改善が期待されている。さらに、国際的な新薬開発競争の激化から、審査にはなお一層の迅速さが求められる。将来に向けたより好ましいコンサルテーションのために、総合機構がどのような体制をとるべきか、私見を申し述べてたい。

次に、創薬段階の早い時期にヒト試験に入るために必要な戦略についても、相談がなされるべきである。FDAは1996年にいわゆるFDA型ヒトスクリーニングPhase I試験を公認し、さらに2003年には欧州医薬品庁(EMEA)からEU型スクリーニングPhase I試験についてのPosition paperが布告されている。このように、欧米ではスクリーニングPhase I試験が行政の主導で行われている。わが国では、候補化合物を早期に臨床試験でスクリーニングすることについての理解が欠けており、これまでのところ行政の動きは見られておらず、このままでは欧米に遅れをとることは必至である。日本型スクリーニング試験について、national strategyとして官民共同で早急に取り組まれることを提案したい(この問題については馬屋原宏:臨床評価, 31巻, 2号, 2004を参照されたい)。

S11

レギュラトリーサイエンスとトキシコロジー研究 「無毒性量 (NOAEL) の定義とその意義を考える」

小野寺博志¹、門田 利人^{2,3}

¹(独)医薬品医療機器総合機構、²日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、

³日本製薬工業協会

Toxicology on Regulatory Sciences; Interpretation of Definition and Significance of NOAEL (Non-Observed Adverse Effect Level) for Pharmaceuticals

Hiroshi Onodera¹, and Toshihito Kadota^{2,3}

¹Pharmaceuticals and Medical Device Agency, ²Nippon Boehringer Ingelheim,

³Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

本シンポジウムの目的

本シンポジウムでは、日本での無毒性量 (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level) 検討の経緯を紐解くと共に、アカデミアの立場から、毒性試験におけるNOAELの基本的な考え方が示される。また、製薬協から、2003年に実施したアンケート調査の結果に基づき、現状の問題点を明らかにし、NOAELの定義や求める意義について提言がある。加えて、医薬品を承認審査する立場からのNOAELの見方が示される。更に、フロアの方々からこれら口演に対する質問を受けて、意見交換することを通じて医薬品のNOAELに関して官民間で確固たるコンセンサスを得たいと考えている。

本シンポジウムで討議し提案されたことが共通の認識となり、将来、NOAELの問題が再燃しないよう望んでやまない。

参加者の御質問・意見

御質問・御意見のある方は、用紙を添付しておりますので切り取って、シンポジウム開始前に会場入り口の回収箱にお入れ下さい。また、コンセンサス作りの今後の参考としたいと思いますので、終了後でも結構です回収箱に投入下さい。

[In this symposium, presentations about NOAEL will be made as follows: 1) History of discussion and current issues, 2) Recognition of adverse and non-adverse effects in toxicity studies, 3) Proposals based on results of questionnaires by JPMA, and 4) Views and comments "Meaninglessness of toxicology studies only to estimate NOAELs" by regulatory side. Finally, by answering questions from the floor and by discussing issues with participants, we will expect to reach the sure consensus on definition and significance of NOAEL between regulatory and industry people.]

S11-1 無毒性量検討の経緯と現状

門田 利人^{1, 2}¹日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、²日本製薬工業協会

"History of Discussion and Current Issues for NOAEL in Japan"

Toshihito Kadota^{1, 2}¹Nippon Boehringer Ingelheim, ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

【Issues of assessment of NOAEL in Japan was raised in the late 1980's because of inaccurate definition of NOAEL on the toxicology guideline of pharmaceuticals. In order to reach the consensus on NOAEL, the estimation, definition and significance of NOAEL were discussed at annual conferences of JST in 1993 and 1996. However, according to questionnaires made by JPMA in 2003, inquiries about NOAEL by regulatory officials are recently increased at NDA and many industries recognize the gap of handling of NOAEL in regulation between Japan and USA/EU.】

シンポジウム

日本において無毒性量 (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level) について議論が始まったのは、毒性試験の国際調和がさげばれ始めた1980年代の後半である。当時、日本では無影響量が用語として用いられたため、医薬品でありながら目的とする薬理作用がみられる用量も影響量とみなされ、影響のない量 (対照群と生物反応に差がない用量 = NOEL: No Observed Effect Level) を求めることが要求された。このことは、欧米の考え方と大きく異なったため、国際調和上の問題とされた。1991年の第1回ICH会議 (ブリュッセル) で、日本の官側代表が口演して是正を約束し、1993年毒性試験法ガイドラインが一部改訂された。これらの状況の下、日本製薬工業協会 (製薬協) では、医薬品のNOAELについて、科学的に正当でかつ官民間で納得できる考え方の構築をめざして検討班を立ち上げた。NOAELの推定方法、求める意義、考え方に関して、検討の結果は製薬協内で公表され、1993年日本トキシコロジー学会 (JST) 年会でも産官学共同企画のパネルディスカッション「毒性試験における毒性評価の問題点—最大無毒性量を中心に—」¹⁾として討議され、一定のコンセンサスが得られたと判断された。また、1996年のJST年会のサテライトシンポジウム「毒性試験の国際化と今後の課題—無毒性及び毒性用量に関する事例研究」²⁾で国際調和の問題点として取り上げられ、再び討議された。

しかし、2003年9月に製薬協が加盟企業に行ったアンケート調査によると、最近、審査当局の新薬承認申請資料のNOAELに関する指摘が増えており、1993-1996年当時に討議されたことが必ずしも生かされておらず、行政上の取扱い方も1980年代後半に逆戻りしたのではないかと疑われるほど、官民間で考え方に大きな隔たりが生じていることが判明した。また、審査当局のNOAELの考え方が日本と欧米で異なると多くの企業が認識しており、国際調和上の問題も依然として残っていると考えられた。

- 1) T. Yanagita et al: Problems on Assessment of No-observed Adverse Effect Level (NOAEL). J Tox. Sciences, 18 (4), pp 335-356 (1993)
- 2) I. Naeshiro: Case studies defining non-toxic and toxic doses of pharmaceuticals. J. Tox. Sciences, 21, p425-435 (1996)

S11-2 医薬品の無毒性量とは

松尾 三郎

大阪府立大学大学院農学生命科学研究科

"Recognition of Adverse and Nonadverse Effects in Toxicity Studies for Pharmaceuticals"

Saburo Matsuo

Osaka Prefecture University Graduate School of Agriculture and Life Sciences

【Fundamental in evaluating the safety of chemicals is an understanding of their intrinsic toxicological properties. Such data are derived from toxicological studies in which observations are made in laboratory animals exposed to a range of doses or concentrations. To predict safe conditions for exposure of humans, it is necessary to describe an observed toxicity in terms of its limits, the lowest dose at which an adverse effect is first observed or the highest dose at which it is absent. Therefore, it is required that, following to decide whether differences from control value are treatment related or not, the differences judged to be treatment-related effects are evaluated in order to discriminate between those that are adverse and those that are not. This presentation is focused to criteria to guide the recognition of, and differentiation between, adverse and nonadverse effects of pharmaceuticals.】

医薬品開発での反復投与毒性試験で求められることは、用いた動物種において、被験物質が示す毒性のプロフィールを明らかにすることと、毒性変化の現れない量（無毒性量；NOAEL）を求めることです。求められた無毒性量は、薬効量との比較により安全性への一つ目安となるとともに、被験物質の人での安全性・危険性の予測を目的として最初に人へ適用される際（Phase I試験）の用量設定の目安ともなります。したがって、無毒性量を決めるということは、被験物質が持つ生物学的意義のある差が示されない量（無作用量）を求めるのではなく、毒性の評価において発現した所見のどれが毒性変化であり、その変化がどの用量から発現しているかを判断することです。Toxicologist間での判断の揺るぎを少なくすべく「無毒性量を求めるためのアルゴリズム」が1993年に提唱されました。このアルゴリズムで示された基準を検証しながら化学物質が示すNOAELを考えてみます。

化学物質に暴露された生体は、物質が生体内分子と反応することで、様々な変化を引き起こします。物質の毒性判断においては、観察される変化のうち自然発症的变化や用量反応関係のない変化等は非特異的变化として省き、化学物質の特異的な生物学的意義のある変化（薬効と結びついた変化をも含めた変化）を対象として判断されます。この化学物質特異的な変化には「A：期待される薬効の薬理作用に基づく変化」「B：期待される薬効以外の薬理作用に基づく変化」「C：その他の作用に基づく変化」などのカテゴリーに分られ、それぞれについて判定基準を基に変化の有害性を検証します。Aカテゴリーでは、変化の多くは毒性と切り離されますが、過剰作用に伴う変化は単純には切り離せません。製薬剤では薬理作用と毒性の作用機序は一次的に相関しており、作用と毒性は分けられず毒性的影響となります。これだけではなく、生体防御に働く物質の合成阻害剤では、たとえばGSHの合成阻害剤は生体への有害作用を及ぼすことなくGSH産生の低下を導きます。このGSH量の低下は、そのみでは毒性発現は見られませんが、酸化ストレスの増加により、肝や腎臓での毒性変化を導きます。したがって、このGSH産生低下は毒性変化と考えられます。主作用に関連した変化が一次的に有害性と結びつかなくとも、その変化は対象となります。B、Cカテゴリー変化では、観察される多様な所見を画一的に毒性変化と薬効による変化に区別することは難しいです。個々の変化について、その発現メカニズムをも含め、どの用量で、どのような変化が発現してくるかを明らかにすることが大切です。化合物が示す多様な変化の個々について、その変化の成り立ちを明らかにし、その重篤度を考えることで取り上げられるべき毒性の判断ができると考えられます。

化学物質が示すNOAELは、変化の中でもっとも低用量で示される有害変化を基に決まります。医薬品の活用にはリスク・ベネフィットのバランスがあると思います。医薬品の作用の多様性、使い方の多様性、反応の多様性を考えると画一的判断が適切かどうかという問題も生じてきます。

S11-3 無毒性量に関する製薬協アンケート結果と提言

谷口 勝彦^{1, 2}¹東レ(株)、²日本製薬工業協会

Results of JPMA (Japan Pharmaceutical Manufacturers Association) Survey and Proposal

Katsuhiko Taniguchi^{1, 2}¹Toray Industries Inc., ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

【Recently, JPMA sent the questionnaire about NOAEL to pharmaceutical companies in Japan and discussed the results. Some issues related to NOAEL were confirmed from the result of survey. It was noticed that there was a gap of the idea about NOAEL of regulatory authority between FDA/EU and Japan. In this session, the results of JPMA survey will be introduced, and proposals for handling NOAEL during the process of drug development will be made as follows: 1. The regulatory authority should review NOAEL values before each clinical trial but not at NDA. 2. Differences between studies and species should not be compared only by figures of NOAEL but by toxicological findings observed. 3. NOAEL should be determined from the type, severity and frequency of toxicological and/or pharmacological findings for each compound on a case-by-case basis. 4. Toxicology studies not determined NOAELs are acceptable on condition that results give information to secure the safety in clinical use of pharmaceuticals.

シンポジウム

無毒性量 (NOAEL) の意義および定義については過去に本学会でも議論され、その考え方が示された。しかし、最近の承認審査における審査当局の指摘をみると、企業と当局の考え方にずれが感じられる。そこで、日本製薬協 医薬品評価委員会 基礎研究部会「無毒性量タスクフォースチーム」(以下 チーム)では、会員各社に対し無毒性量に関して当局から指摘/照会された経験、反復投与毒性試験の無毒性量に関する問題点や考え方についてアンケート調査を行い、その意義や定義について検討した。

アンケートでは、多くの製薬企業が以下のように回答した。なお、結果の詳細は、別に、本年会で口頭発表する。

1. 無毒性量の数値について審査当局から指摘を受けた経験があり、その時期は、承認申請時が多く臨床試験開始時は少ない。
2. 行政上の無毒性量の扱われ方に欧米と日本で差があると認識している。
3. 無毒性量は、動物にとって有害かどうかで判断し、目的とする薬理作用は判断基準から除外する。
4. 無毒性量の判断基準は、発現した所見の種類や程度、発現率等から被験薬毎にケースバイケースで定める。本アンケートやチームでの検討結果から、無毒性量について以下を提言したい。
1. 無毒性量に関する当局の主たる審査は、承認申請時ではなく、各治験審査段階で行うべきである。反復投与毒性試験の無毒性量(数値)の主たる意義は、ヒトに最初に適用する際の投与量決定の指標になることと考えられる。臨床試験開始以降、ヒトでの安全性評価は臨床試験の結果を中心に総合的に行われることから、臨床開発の進捗に伴い、動物試験から得られた無毒性量の数値の有用性は次第に乏しくなる。
2. 全ての毒性試験終了後、試験間や動物種間で比較して毒性を総合的に評価するが、これらの比較は観察された毒性所見で行うべきであり、無毒性量の数値の大小で比較することは意味がない。
3. 毒性の判断は、発現した所見の種類、重症度、発現頻度等から被験薬物毎にケースバイケースで判断されるべきである。一般的には目的とする薬理作用は毒性判断から除外されるが、複数の薬理作用を持つ被験薬の場合、目的の適応症が変われば、当初薬効とされた変化が有害反応に変わる可能性もある。更に、薬効の過大発現で動物が死亡する場合もある。このように、観察された生物反応を毒作用とするか、薬理作用とするかの判断は必ずしも容易ではなく、一律でもない。
4. ヒトでの安全性を担保するための情報が提供できるなら、観察された生物反応を無理に毒性作用か薬理作用かで別ける意味はなく、無毒性量が推定されない毒性試験も容認されるべきである。

S11-4 無毒性量を求めるための毒性試験はいらない

笛木 修

(独)医薬品医療機器総合機構

"Meaninglessness of toxicology studies only to estimate NOAELs"

Osamu Fueki

Pharmaceuticals and Medical Device Agency

【For conventional chemical entities of pharmaceuticals, numbers of industries might estimate the NOAEL according to regulatory requests. However, for recent pharmaceuticals such as humanized monoclonal antibodies, vaccines, biotechnology products, hormone-like substances, it was not necessarily meaningful to estimate NOAELs of animal toxicology studies. The most important objective to perform toxicology studies is to give information in order to secure the safety in clinical use of pharmaceuticals, but not to obtain the figure of its NOAEL. In this process, it is not so significant to discriminate between pharmacological and toxicological effects.

「無毒性量」は何故求める必要があるのでしょうか？前演者が行ったアンケート結果では、半数以上の企業が「全ての毒性試験で必ずしも無毒性量を求める必要はない」と回答しており、また、無毒性量の有用性について、「第1相臨床試験の用量決定のために必要な数値」としていました。では本当に毒性試験において「無毒性量」を求める必要があるのか、考えてみたいと思います。

「なぜ無毒性量を出すのか？」と聞かれれば、多くの企業は、行政側で求めるから、と答えるのではないのでしょうか。確かに、過去に多く見られた化学物質たる医薬品に関しては、その意義があったものと思います。しかしながら、現在では、血液製剤やヒト化モノクローナル抗体に見られるように動物で求めた無毒性量が必ずしもヒトでの安全性の指標とならないもの、ワクチンやバイオテクノロジーを用いて作製された医薬品のように、動物にいくら投与しても毒性が見られないもの、さらにはホルモン様作用を示す医薬品のように、薬理作用と毒性の境界のあいまいなものがあります。このような医薬品について動物で無毒性量を求める、あるいは、無理やり作り出す、ということは元来ヒトでの安全性を担保する意味で求めていた無毒性量とは異なり、大して意味のないことだと思います。

特に前二者の場合、適切な毒性試験系を組むことがまず大事ですが、毒性試験として大事なものは、無毒性量という数字を求めることではなく、ヒトで投与し得ないような大量の薬剤を動物に投与したときにどのような事象が観察されるのか注意深く観察し、記録し、考察し、そして、ヒトでの使用において、その薬を安全に使用するにはどのようなことを注意すればよいのかという情報を提供することにあると思います。その点において、数字を出すというのは大して意味がないと思いますし、観察された事象が薬理作用であろうが毒性であろうが大した問題でないと考えています。

審査を行う立場としても、毒性試験では、ヒトにおける危険性をいかに予見し、ヒトでの使用にあたりその情報を生かしてヒトでの危険性の回避に寄与出来たかという点を評価しています。

毒性試験は何のために実施するのか、もう一度トキシコロジストの皆さんによく考えていただきたいと思います。

S12-1 酸化ストレスと腎障害

西山 成

香川大学医学部薬理

Role of ROS in the progression of renal injury.

Akira Nishiyama

Dept. of Pharmacology, Kagawa Medical University, Kagawa, Japan.

Our recent efforts have focused on the potential roles of reactive oxygen species (ROS) in the progression of renal injury. We have demonstrated that renal injury is associated with increases in renal tissues NAD(P)H oxidase expression and ROS production in Dahl salt-sensitive hypertensive rats. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) activities were also increased in damaged renal tissues. Treatment with an antioxidant prevented the increases in renal ROS levels and MAPKs activities, and ameliorated renal injury. Similar results were observed in rats chronically treated with angiotensin II, endothelin, aldosterone and cyclosporine A. These data suggest that ROS contribute to the progression of renal injury through redox-sensitive MAPK activation.

シンポジウム

従来より我々は、各種腎障害の進展における活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の役割について検討を行っている。我々は、活性酸素の産生源として重要なNAD (P) Hオキシダーゼの発現が、ダール食塩感受性高血圧ラットで観察される障害された腎糸球体において亢進しており、それに伴ってROSの産生も増加していることを明らかにした。さらに、障害された腎組織部位では蛋白リン酸化酵素であるmitogen-activated protein (MAP) キナーゼの活性化が生じていた。一方、ダール食塩感受性高血圧ラットに対して抗酸化剤であるテンボールを投与すると、腎組織中のROSレベル減少に伴ってMAPキナーゼの活性化が完全に抑制され、重篤な蛋白尿や腎糸球体障害が著明に改善された。これらの実験結果は、NAD (P) Hオキシダーゼの活性化によって生じたROSが、ダール食塩感受性高血圧ラットで観察される腎障害の進展に深く関わっていることを強く示唆するものである。またROSによる腎障害は、少なくともその一部はredox-sensitiveのMAPキナーゼの活性化を介して生じているのであろうと考えられた。同様の結果が、ラットにアンジオテンシンII、エンドセリン、アルドステロン、シクロスポリンAなどを慢性投与することによって生じる腎障害モデルにおいても観察された。すなわち、これら各種生理活性物質や薬剤の過剰によって生じる腎障害においても、ROSの産生を介したメカニズムが深く関わっていると考えられた。

S12-2 酸化ストレスと腎線維化

玉田 聡, 桑原 伸介, 古宮 俊幸, 三浦 克之

大阪市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学, 薬効安全性学

Tubulointerstitial fibrosis is a common feature of many progressive renal diseases, and several studies emphasized that it is a main determinant that leads to an irreversible loss of renal function in chronic renal diseases. There has been much attention devoted to understanding the mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. However, precise mechanisms remained to be established. We previously reported that inflammatory response precedes renal fibrosis in cyclosporin A nephrotoxicity. Then we focused on nuclear factor- κ B (NF- κ B), a transcriptional factor which is well known to play a central role in many chronic inflammatory diseases. Oxidative stress is one of the stimuli that activate NF- κ B. Here, we will discuss the role of NF- κ B and oxidative stress in the development of renal fibrosis and the possible treatment aimed to NF- κ B activation.

腎間質の線維化は進行性腎障害の予後を規定する重要な因子として知られているが、その発症、進展機序についてはいまだ不明な点が多い。我々はcyclosporin Aやtacrolimusなどの免疫抑制剤による薬剤性腎障害モデルを用いて腎線維化の進展機序を中心に研究してきた。その中で腎間質線維化病変は間質での炎症の持続が成因として重要であること、さらに炎症性サイトカインの発現調節に重要な転写因子であるnuclear factor κ B (NF- κ B)が、腎線維化の進展に関わっている可能性を明らかにしてきた。NF- κ Bを活性化させる因子のひとつに酸化ストレスがあげられる。そこで本発表において酸化ストレスの腎線維化における役割、およびNF- κ Bの関与に関する私共の実験成績を紹介する。まず、一側尿管結紮モデル、腎垂全摘モデルにおける線維化進行の過程において酸化ストレスが関与すること、およびNF- κ Bの活性化がおこることを見いだした。同時にそれらにangiotensin receptor blocker、NF- κ B阻害薬や尿毒素物質吸着薬のクレメジン投与により酸化ストレスの抑制、NF- κ Bの活性化の抑制がみられ、結果的に腎線維化の進展を抑制することができることを見いだした。次に、tacrolimus惹起性の薬剤性腎障害モデルを用いて、NF- κ Bの活性化が腎線維化の進展にどのような役割を有するのかを詳細に検討した。その中でNF- κ Bが活性化することにより腎間質に持続的な炎症が起こり、それにより線維化が進展していくこと、さらにNF- κ Bの活性化を抑制することにより炎症を沈静化させ線維化を抑制する経路を見いだした。このような観点からNF- κ Bの活性化を抑制することが線維化進展の予防につながる可能性が考えられた。

S12-3 Role of the antioxidant system in oxidative liver and brain cell damage

Regine Kahl

The Institute of Toxicology, University of Dusseldorf, Germany

In toxic and immunological liver disease, oxidative stress plays a pivotal role. Animal models have been designed to investigate the conditions of sensitivity and resistance towards oxidants and proinflammatory mediators and the suitability of antioxidants for the treatment of toxic liver injury. In addition, cell culture models are used for identifying the mechanisms of action of oxidants and cytokines and for studying the development of the adaptive response of the liver. The antioxidant enzyme (AOE) system responds to prooxidants by an increase in gene expression. However, chemical agents producing reactive oxygen species (ROS) can differentially influence the expression of AOE dependent on their capacity to inhibit transcription because induction of manganous superoxide dismutase (MnSOD) is regulated transcriptionally in all types of cells while increase of catalase at least in primary hepatocytes is brought about by posttranscriptional events. The lecture will have a focus on the role of the AOE system in resistance of liver cells to the proinflammatory cytokine TNF- α and to the cytostatic drug doxorubicin and more generally, on the impact of AOE in fine tuning of ROS levels and in the redox regulation of the cell cycle and of programmed cell death. There is ample evidence that MnSOD inhibits apoptosis but the role of catalase is less clear. A number of findings suggest that resistance towards apoptosis is supported by downregulation of antioxidant defense leading to a prooxidant signal. This signal may transfer information to the survival pathways and/or apoptosis pathways via mediator concentrations of ROS too low to exert cytotoxic oxidative stress.

In neurotoxicology, cell culture models have also frequently been used for the study of oxidative brain injury. There is evidence that astrocytes are less sensitive to prooxidants than neuronal cells because they can upregulate their AOE system much more efficiently than neuronal cells. The mechanisms for the up-regulation of the MnSOD and catalase in astrocytes after oxidative stress were found to differ. As in primary hepatocytes, a transcriptional regulation for the MnSOD gene, but a posttranscriptional regulation for the catalase gene was identified in astrocytes. Because of their superior antioxidant barrier, astrocytes are likely contribute to the protection of neuronal cells against oxidative damage.

S12-4 亜鉛と神経細胞毒性

阿部 真治¹、土屋浩一郎²、大西 秀樹²、滝口 祥令²、吉橋 正典¹
玉置 俊晃¹

¹徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部情報伝達薬理学、²薬物治療解析学

Zinc-induced cytotoxicity in PC12 cells

Shinji Abe¹、Koichiro Tsuchiya²、Hideki Ohnishi²、Yoshiharu Takiguchi²
Masanori Yoshizumi¹、Toshiaki Tamaki¹

¹Department of Pharmacology, ²Department of Clinical Pharmacology,

The University of Tokushima Graduate School Institute of Health Biosciences.

Zn²⁺ is considered to mediate neuronal cell death in ischemia conditions. However, the mechanisms are largely unknown. Therefore, the aim of this study was to delineate the effect of Zn²⁺ in neuronal cell death. We examined whether the zinc-overload stimulates Ca²⁺ influx, reactive oxygen species production, and mitogen-activated protein kinase activation in PC12 cells, and its cytotoxic effects were discussed.

Zn²⁺は虚血再灌流時にシナプス終末より多量に放出されて、このZn²⁺負荷が神経細胞障害に深く関わっていると考えられている。このZn²⁺による細胞障害にはhydroxyl radicalsに代表されるreactive oxygen species (ROS)の関与が示唆されているが、その機序は完全に解明されていない。そこで今回、Zn²⁺による細胞障害機序を解明するために培養PC12細胞を用いて検討を行った。MTT assayにより細胞障害を評価したところ、ZnCl₂処置により時間・濃度依存的な細胞障害が引き起こされた。このZnCl₂による細胞障害はCa-EDTA、nifedipineの処置によって抑制された。細胞内Zn蓄積を測定したところ、ZnCl₂処置によりZnの蓄積が認められたが、この蓄積はCa-EDTAによって抑制されたもののnifedipineでは抑制されなかった。一方、細胞内へのCa²⁺流入もZnCl₂処置により引き起こされたが、Ca-EDTA、nifedipineにより抑制された。次にROS産生を発光試薬であるMCLAを用いて評価した。ZnCl₂処置によりPC12細胞からのROSの産生が認められたが、Ca-EDTA、nifedipine、DPIによりROSの産生は抑制された。さらにWestern blot法によりmitogen-activated protein kinases (MAPKs)の活性化について確認した。ZnCl₂処置によりMAPKsの活性化が認められた。以上の結果より、Zn²⁺は細胞内へのCa²⁺流入を引き起こし、ROS産生やMAPKs活性化を介して細胞障害を引き起こすと考えられた。

S12-5 毒性防御としての酸化ストレス応答機構

吉田 武美、沼澤 聡、芦野 隆

昭和大学薬学部毒物学教室

Oxidative Stress Response Mechanisms as Defenses from Toxic Insults

Takemi Yoshida, Satoshi Numazawa, Takashi Ashino

Department of Biochemical Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University

好気性生物は、生命活動の維持に酸素を利用していることは言うまでもないが、酸素を生体内で還元していく過程で、種々の活性酸素が生成され、それによる障害の危険に曝されている。すなわち生命活動を維持するための多くの生体内代謝過程で活性酸素種やフリーラジカル種が発生する。一方では一酸化窒素や一酸化炭素など酸素含有ガス分子が情報伝達物質あるいは調節因子として機能している。生体内代謝過程で発生する活性酸素種やフリーラジカル種は、いわゆる酸化ストレスとしてその発生部位において、その直接的な作用あるいは脂質過酸化反応などを通して細胞障害を引き起こす。したがって、酸化ストレスとしての活性酸素種は消去されなければそのまま生物毒性を示し、組織障害につながることになり、事実ヒトの多くの疾病における病態因子となっていることが明らかにされている。

医薬品をはじめとする毒物もまた、生体内代謝を受けることにより活性酸素種やラジカルを生成し、組織障害を引き起こすことが知られている。その代表的なものには、抗悪性腫瘍薬アドリアマイシン、除草剤パラコート、タバコ成分中のヒドロキノンなどがある。さらに鉄イオンはじめ各種遷移金属も活性酸素種を生成する。演者らは、乱用薬物コカインも、その肝毒性発現にラジカル生成も関与することを示唆している。生体内で常時発生する活性酸素種等による酸化ストレスに対して好気性生物は、瞬時に応答し、生体防御を行う。酸化ストレスから生体を保護する機構としては、活性酸素が発生する組織や細胞内局所では抗酸化物質や抗酸化酵素やたんぱく質を分布することなどにより、多彩な防御系が構築されている。これらの防御系は、グルタチオン (GSH) やビタミンCやEなどの抗酸化性低分子化合物、メタロチオネインなどのタンパク質類、さらにSODやGSHペロキシダーゼなど各種の酵素類である。従って、細胞や組織が酸化ストレスによる障害を受けることは、生体保護に働くこれらの防御系の機能が十分に対応し、機能し得なかった結果として捉えることが可能である。最近酸化ストレスの発生時に急速に応答し、誘導される酵素としてヘム分解の律速酵素であるヘムオキシゲナーゼ1 (HO-1) の役割が注目を集めている。HO-1誘導は、毒物、各種ホルモン、サイトカインで調節を受け、また各種の慢性的疾患でも誘導が認められ、病態の進展に防御的に機能している可能性がある。酸化ストレスと各種防御系の相互作用の観点から毒物の毒性発現とその防御についての議論を進めたい。

S13-1 新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 -心・肝・腎を中心として-

高橋 光一、浅野間光治、天野 幸紀、上山 清市、黒田 聡子、田中 猛
百々 哲史、吉岡 薫、内藤 真策、松澤 利明、佐神 文郎
日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

Current analysis and prospects of new toxicological biomarker - with a central focus on heart, liver and kidney -.

Koichi TAKAHASHI, Koji ASANOMA, Yukinori AMANO, Seiichi UHEYAMA, Satoko KURODA, Takeshi TANAKA, Tetsushi DODO, Kaoru YOSHIOKA, Shinsaku NAITO, Toshiaki MATSUZAWA, Fumio SAGAMI

Subcommittee of Non-Clinical Evaluation, Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan.

We have reviewed literature on new biomarkers and compared them with conventionally used ones. As a basis for the comparison, we used a list of characteristics of "ideal biomarkers" which had been developed by the FDA EWG. As a result, troponin T and kidney injury molecule-1 (KIM-1) were suggested to be one candidate for the potential biomarkers of cardiac and renal toxicity, respectively.

毒性評価を目的とするバイオマーカーは、既に臨床領域で用いられてきたものを、非臨床領域、即ち実験動物に適用する場合も多い。しかし、バイオマーカーによる毒性評価は、病理組織学的な変化を反映しない場合や、感度や精度の面で満足しない場合も多く、ヒトと動物のブリッジングに問題がある場合も見られた。したがって、毒性評価におけるバイオマーカーの適用に関しては、一定の限界があるという認識があるものの、体系的な報告事例はなく、実地調査等も難しいのが現状である。

これらのことから、既に臨床領域で用いられ、その有用性が確認されているにも拘わらず、非臨床領域ではあまり利用されていないバイオマーカーの評価や、非臨床領域において見出された新規バイオマーカーの臨床領域での有用性の検討が、今なお精力的に行われている。さらに近年、トキシコゲノミクス、トキシコプロテオミクス、メタボノミクス等の技術が革新的に進歩し、従来とは異なったアプローチによる新規バイオマーカー候補も数多く報告されており、特定の毒性を評価するための新規バイオマーカーの確立が可能になると期待されている。しかしながら、現在のところ、これらのバイオマーカー候補を一定基準で包括的に評価し、普遍的に利用可能かどうかの検討は不十分と思われる。

今回、我々は最近10年間に出版された文献の中から新規バイオマーカーを調査し、レビューした。さらに、既存のバイオマーカーと比較することにより、今後の非臨床毒性評価に役立てられるか否かについても検討した。なお、ゲノミクスやプロテオミクス等のアプローチによるバイオマーカーの探索については、今回の調査対象外とした。

調査の対象臓器は心臓、肝臓および腎臓とし、検索項目はFDA心毒性EWGの分類に従い、1) 測定法(原理、対象、難易度)、2) 臓器特異性、3) 感受性、4) 予測性、5) ヒト/動物ブリッジングとした。その結果、心臓ではトロポニンTが、腎臓ではKidney Injury Molecule-1 (KIM-1) 等が、各項目において有用である可能性が示唆された。また、その他の新規バイオマーカーの特徴や有用性についても併せて報告する予定である。

S13-2 Drug-Induced vascular injury in animals: Mechanisms and the path forward

William D Kerns

Pharma Consulting Inc.

Drug-induced vascular toxicity in animals has been a topic of intense discussion and debate in toxicology, clinical and regulatory circles for the past 25 years. A lack of understanding of the basic mechanisms by which drugs cause vascular injury in animals, the absence of specific and sensitive biomarkers and low cross-species safety multiples have become significant barriers in the development of many classes of therapeutic agents in the past few years.

Historically, (–1980-1995) regulatory authorities and pharmaceutical companies have been able to manage the risk of drug-induced cardiovascular toxicity in animals as sufficient data emerged that appeared to correlate the occurrence of myocardial and vascular toxicity with decreases in blood pressure and reflex tachycardia. Founded on this principle, it was generally accepted, that as long as therapeutic doses of candidate drugs in humans did not induce hypotension and reflex tachycardia...safety and regulatory concerns were lessened resulting in many products finding a clear path to the market place.

Cardiovascular toxicities, as described in animals, have not been reported in humans. While hypotension and marked reflex tachycardia have clearly been proven to be causally associated with myocardial necrosis, this tenet does not apply to drugs that cause vascular lesions even if myocardial lesions are present as with minoxidil and the phosphodiesterase (PDE) 3 inhibitors. It appears the 2 events, myocardial and vascular toxicity, have different pathogenic mechanisms, one related to myocardial ischemia and the other unknown. Industry is now developing drugs that cause vascular injury...but without changes in systemic blood pressure or heart rate, e.g., endothelin receptor antagonists, dopamine (DA1) agonists, adenosine agonists, selected PDE 4 inhibitors and others.

Some compounds that cause vascular injury in animals, like fenoldopam, bosentan, cilomilast and others do not cause the classical picture of hypotension and reflex tachycardia in animal models, but nevertheless were approved or are approvable. In some of these cases, the animal to human safety multiples are very low or negative. While each drug is approved based on its own merit, perceived safety and risk-benefit analysis, regulatory decision-making could substantially benefit from an indepth review of the issues with focus on biomarkers and more precise diagnostic terminology.

Pressure on industry to identify specific and sensitive biomarkers has created very high hurdles for vasculotoxic drugs that lack "safety margins" and the lack of biomarkers is hindering the development of life saving therapies in asthma, stroke, cerebral hemorrhage, pulmonary hypertension, COPD and others. Alternatively, several drugs that cause vascular injury have been approved, without evidence of any clinical issue. Although the messages between the regulatory authorities and industry are somewhat confusing, it is clear that industry should strive to develop specific and sensitive biomarkers of endothelial/smooth muscle compromise in normal animals and humans in order to develop these drugs safely, effectively and efficiently in the future.

The purpose of this presentation is to summarize the current thinking in this area and to propose some new approaches in developing drugs that cause vascular injury in animals.

S13-3 Developing New Biomarkers of Toxicity For Clinical Trials

Michael R. Bleavins

Safety Sciences-Michigan, Pfizer Global Research and Development, USA

Biomarkers have long been a major component of medical practice, providing minimally invasive methods to assess toxicity, including effects on liver (transaminases, bilirubin, aPTT) , heart (creatinase-MB, troponins, lactate dehydrogenase1) , and kidney (microglobulins, urea nitrogen, glutathione-S-transferases) . Increasingly, pharmaceutical companies are devoting extensive resources to develop new and novel tests that provide specific monitoring of efficacy and toxicity. These biomarkers allow earlier and more accurate decision making, improve clinical doability in therapeutic areas such as arthritis, and permit safer clinical trials. Conventional laboratory approaches (hematology, clinical biochemistry, immunohistochemistry) and new technologies (genomics, proteomics, molecular biology, imaging, NMR) are being applied to biomarker questions. Well designed biomarker strategies significantly enhance selection at all stages of the drug development process by identifying and implementing specific assays for definitive assessment of risk, supporting internal and patient needs, and enabling optimal clinical development.

This talk will examine differences between pre-clinical and clinical biomarker development. Specific topics will include physician expectations, how clinical trial design affects the nature of a test, special considerations when developing a clinical biomarker, factors critical to successful interactions with clinical scientists, and how various approaches to biomarkers compare with respect to availability, throughput, cost, use, and data handling. The expanding battery of biomarker tests, and better understanding their predictive strengths and limitations, are essential components in safe and efficient drug development. Through appropriate biomarkers the quantity and quality of information is increased, the nature of decision making is improved, and evaluation of more compounds in difficult therapeutic areas is possible.

S13-4 **Biologic pharmaceutical safety assessment: program design strategy**

Lauren E. Black

Charles River Laboratories, Discovery and Development Services, U.S.

Biologic drugs historically have been developed for high risk indications. Over the last decade, they have proven to benefit patients with both life-threatening diseases (cancers) and serious, chronic diseases (rheumatologic diseases, psoriasis, and asthma) . Younger and healthier populations (including women of child bearing age) are now candidates for chronic biologic drug treatment. Consequently, more extensive toxicology programs have been expected for these biologics, including reproductive evaluations (see Dr. Hoberman's talk) . During this decade at CDER and CBER/FDA, these changes are illustrated in toxicology requirements for humanized monoclonal antibodies.

Public health and diligence perspectives both indicate the need for providing sound toxicology support for biologics INDs and BLAs. However, there remain a number of challenges for implementing effective biologics safety studies (see Dr. Bussiere's talk) ; protein actions (pharmacology) and reactions (immunogenicity and toxicology) require customized approaches to yield data with value in human risk assessment. Other challenges have appeared on the U.S regulatory front: in 2003, the FDA's biologic therapeutics oversight, along with experienced staff, was transferred to the Center for Drug Evaluation and Research (CDER) . It is expected that review will proceed under the expert management, continuing to rely on the S6 ICH guideline.

This strongly principled, but flexible, guideline still serves us well under these new times, and stresses the reliance on qualification of human-relevant models - the animal models which are capable of simulating the physiologic, pharmacologic, and kinetic/dynamic responses of human target populations. Regulatory experience and continued consultancy examples stress the need in program design for a value-based assessment of study plans; focused by technical feasibility and scientific examination of clinical aims including risk/benefit concerns. Guiding principles will be stressed to aid in prospective program planning, influenced by FDA experience.

S14

はじめに

中澤 隆弘

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会 非臨床審査Q&Aタスクフォース

Introduction

Takahiro Nakazawa

QSA Task Force, Non-clinical Section, Drug Evaluation Committee, JPMA

We will discuss how to reduce the gaps in views and opinions on toxicology issues between reviewers and applicants. "Iroha-kai" is a scientific forum between the PHARMACEUTICALS AND MEDICAL DEVICES EVALUATION CENTER (PMDEC) and Q&A Task Force of JPMA and provides an opportunity to discuss together a toxicology issue openly, fairly and scientifically. The last 10 months experiences of "Iroha-kai" show that such open discussions help us reduce the gaps. We also realized that some gaps still exist and that they may be due to different expectations to toxicological assessment of a new medicinal entity. JPMA survey indicates the areas to be discussed that include ADME and pharmacology besides toxicology.

本シンポジウムでは審査当局側と申請者側の毒性評価に対する考え方の違いをどのように解消できるかを討議する。特に、審査センター毒性部と製薬協・非臨床審査Q&Aタスクフォースとの間で開催されてきた対面懇談会（通称、「いろは会」）を紹介する。この会は審査当局側と申請者である企業側の毒性担当者がオープンで、対等な科学的議論をする場として設定された。これまでに下記のトピックについて話し合わせ、合意された考え方は「医薬品研究（日本公定書協会）」に「毒性Q&A」として投稿しており、昨年9月から本年6月までに、既に10題が掲載されている。

平成15年	9月号	バイオテクノロジー応用医薬品の生殖発生毒性試験
	10月号	医薬品における単回投与毒性試験の用量設定
	11月号	マウス腫瘍リンパ節試験 (PLNA) の成績の審査資料としての受け入れ
	12月号	ヒトに特異的な代謝物の毒性学的評価
平成16年	1月号	徐放性製剤の毒性学的評価
	2月号	日本での医薬品開発における光遺伝毒性の評価
	3月号	開発の途中で塩が変更された場合の変更前の塩で実施された毒性試験成績
	4月号	遺伝毒性試験の標準的組合せのうち染色体異常試験のみ陽性の場合の評価
	5月号	トキシコキネティック試験の留意点（予定）
	6月号	ラットでは極めて吸収の悪い薬物のがん原性試験に用いる動物種（予定）

このように、多くの点において考え方の共通点が見出され確認されたが、一方で、いろは会の議論から考え方の相違点として明らかになった点もある。本シンポジウムでは相違点のいくつかの事例を紹介し、フローからの意見も求め、考え方のギャップ縮小のための方向性を探りたい。

また、Q&Aタスクフォースで行ったアンケート調査結果を紹介する。審査側から出された照会事項のうち、多くの問い合わせがあったもの、当局との折衝が必要と申請者側が問題意識をもっているものを調査した。これらは考え方の相違が根本原因である場合が多く、今後いろは会で討議する必要がある。さらにこのアンケート調査から薬物動態や薬理においても考え方の相違点が示唆された。したがって、いろは会の適用範囲に薬物動態と薬理を含めることが必要であると考えられる。

S14-1 申請者側が抱える疑問：毒性照会事項に関するアンケート調査結果から

井上 忠志

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会 非臨床審査 Q&A タスクフォース

Questionnaire survey on enquiries concerning Toxicology from the PHARMACEUTICALS AND MEDICAL DEVICES EVALUATION CENTER (PMDEC)

Tadashi Inoue

Q&A Task Force, Non-clinical Section, Drug Evaluation Committee, JPMA

To clarify industry's concerns on the enquiries concerning non-clinical toxicology from PMDEC, questionnaires surveys were performed. Many companies have received similar inquiries that they difficultly understand the reasons why PMDEC asked. Moreover, they would like to understand the views and opinions of PMDEC behind the inquiries. Especially, inquiries associated with NOAEL are the case and should be discussed between PMDEC and industries. "Iroha-kai" is an opportunity to have such a discussion.

シンポジウム

新薬承認申請時に提出される毒性（二）の非臨床試験資料に関し、審査過程において審査当局から出されるさまざまな照会事項について、加盟各社に対して2回のアンケート調査を行った。

● アンケート（1回目 平成15年6月）

企業にとってその科学的根拠が理解しがたいと感じられた照会事項を提示された事例の収集を目的として実施した。また、申請資料作成あるいは治験相談等を通じて、承認申請に際して審査当局の考え方を確認しておきたい事項についても併せて意見を収集した。その結果、経験事例として53件（24社）また、審査当局の考え方を確認したい事項として15件（10社）が寄せられた。

● アンケート（2回目 平成15年9月）

1回目で得られた事例等から選択した特定のケースについて各社の経験あるいは問題意識を調査した。56社より回答が得られ、照会事項を受けた経験の多い事例、当局との折衝の要望が多い事例としては以下の様であった。

- 薬理作用に関連した所見の毒性学的判断あるいは無毒性量の判断
- 申請者による無毒性量の判断
(例、試験報告書に無毒性量の記載がない場合の申請概要への記載)
- 特定患者集団を対象とした医薬品の毒性試験パッケージ
(例、男性のみ、あるいは女性のみに適用する医薬品)

一方、以下の内容については照会事項としての経験は少ないが、今後、当局と折衝して欲しいとの要望が多かった。

- 海外上市品における試験の必要性
(例、海外で承認された申請パッケージの一部がnon-GLP試験の場合の追加GLP試験)
- 徐放性製剤の毒性試験
(例、原薬の毒性データとPKデータとで評価可能と考えられる場合の製剤の毒性試験) → 「医薬品研究 平成16年1月号 毒性Q&A」に「徐放性製剤の毒性学的評価」として掲載

「徐放性製剤の毒性試験」のように経験は少ないが今後当局と折衝して欲しい題材の中には、既に審査センターの対面懇談会「いろは会」にて討議されその成果が「医薬品研究」に公表されているものもある。一方、「無毒性量」に関する問題については、経験事例も多く当局との折衝の要望が多い重要なテーマだが、慎重な検討を要することもあり、現在、無毒性量の検討チームを中心に討議を継続中である。

S14-2 申請者側からみた考え方の共通点と相違点

原田 喜充

日本製薬工業協会、医薬品評価委員会、基礎研究部会、非臨床審査Q&Aタスクフォース

Shared and differing opinions between reviewers and applicants - from the viewpoint of applicants

Yoshimitsu Harada

Q&A Task Force, Non-clinical Section, Drug Evaluation Committee, JPMA

Many shared and differing opinions have been found through plenty of discussions between the PHARMACEUTICALS AND MEDICAL DEVICES EVALUATION CENTER (PMDEC) and the Q&A Task Force of JPMA in order to prepare and authorize "Q&A" published in "YAKUHIN KENKYU". For example, PMDEC and the Q&A Task Force have common views on the importance of preclinical safety evaluation for human specific metabolites. On the other hand, there are different opinions towards reproduction toxicity studies of biotechnology-derived pharmaceuticals or of compounds used only for male or female patients. Analysis and consideration of these diversities in views and opinions will surely help both of reviewers and applicants to further improve deeper mutual understandings.

審査センターとの対面懇談会「いろは会」では、「毒性照会事項に関するアンケート調査結果」等を基に非臨床審査Q&Aタスクフォースが作成した「毒性試験の実施や結果の解釈や当局から出される照会事項の内容に関する疑問点」ならびに「それらに対する回答案」を題材に、その内容について検討している。そして、双方が合意に達したものは、現在、「医薬品研究」に「毒性Q&A」として連載中であるが、これらの「Q&A」には、審査センターとQ&Aタスクフォースが、「いろは会」にてお互いの考え方について議論を重ねてきた結果が凝縮されている。

例えば、平成15年12月号に掲載された「ヒトに特異的な代謝物の毒性学的評価」に関しては、審査当局と申請者の共通の認識として「このような代謝物の毒性学的評価の具体的な方法を早急に検討する重要性」及び「毒性学的評価を行うべき代謝物の判断基準については明確な根拠を見出すために慎重な検討を要すること」が確認された。

一方、平成15年9月号に掲載された「バイオテクノロジー応用医薬品の生殖発生毒性試験」では、チンパンジーのみで生物活性を示したトランスジェニック動物が利用できないバイオテクノロジー応用医薬品について申請者側は「不適切な動物種で高用量まで安全であることを確認してもヒトへの外挿性が低い上に、このような情報を基に医療従事者等がそのバイオテクノロジー応用医薬品は安全であると誤解する危険性もあるので、このような試験はすべきでない」と考えていたが、審査当局側からは「げっ歯類あるいはウサギに技術的に投与可能な高用量まで投与して生殖発生毒性試験を実施することも、インフォームドコンセントを取る上で意味がある」と指摘された。

その他、双方の考え方に大きな違いがあったために、掲載を見送られた題材もあった。例えば「男性のみに適応する薬物では、科学的根拠があれば生殖発生毒性試験の一部は省略可能か?」という疑問に対し、審査当局側の考えは「誤投与時のリスク評価のためにできる限り生殖発生毒性に関する情報が必要」ということであった。一方、申請者側は「誤投与時のリスク評価のための生殖発生毒性データは、付随的なデータであって主要データではないので承認を左右するような質疑応答が必要となるケースはない」と考えており、論点を絞り込むことができないと判断されたので議論の継続は保留されている。

そこでこのセクションでは、上記のような実際の議論を例示して、「考え方の共通点と相違点」を具体的に紹介し、審査当局と申請者がお互いの考え方を理解し合う上で有益でありかつ重要と思われる点について説明する。

S14-3 「毒性Q&A」から読み取れる製薬会社と毒性審査担当者の毒性に対する考え方の違いと、今後の「毒性Q&A」の目指すものについて

江島裕一郎

(独)医薬品医療機器総合機構

Think of difference about toxicology between pharmaceutical companies and toxicology inspectors from "Toxicology Q&A", and future objective of "Toxicology Q&A".

Yuichiro Ejima

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

When Pharmaceutical companies apply to the drug approval, they need toxicology data for the drug. Guidelines are pointed by the government about toxicology data. Guidelines are written in "general rules", so applicants often need more data which isn't demanded by guidelines.

However, I think there is a difference about think and recognition of toxicology between applicants and inspectors. Originally, I think it is desirable that their point of view is same. So we toxicology inspectors tried arranging about our think of investigation in Q&A form. Those article had been published in pharmaceutical research journal "YAKUHIN KENKYU" since January 2003.

We originally began it in order to give the information, but "Q&A task force" which members were pharmaceutical company workers join us, and carried out "Iroha-meeting" whose members discuss not only the toxicology problem but also pharmaceutical safety issue and question. When we conclude the discussion, it has been printed in serial form in "YAKUHIN KENKYU".

I would like to introduce the common recognition and difference between "Q&A task force" and "toxicology inspectors" in this discussion through our point of view. And Let's discuss the direction for the future of the "Toxicology Q&A" take account of inaugurating Pharmaceuticals and Medical Devices Agency.

医薬品の承認を受けるための申請の際には、毒性に関する資料が必要であり、通知でガイドラインが示されている。しかしながら、ガイドラインはあくまで標準的な指針を示しているに過ぎず、審査の際には、状況によりガイドラインで示された資料以外の資料を求めることもある。

しかしながら、毒性に関する考え方、結果に対する解釈に申請者側と審査側では相違が感じられる。本来なら毒性に対する考え方は同じであることが望ましいと思われる。そこで、毒性審査担当者が日頃何を考えて審査しているかをQ&A形式でまとめてみた。その結果を「医薬品研究」に平成15年1月号より「毒性Q&A」として連載を開始した。

当初、毒性審査担当者が思い思いに執筆していたが、平成15年9月号からは、製薬協「Q&Aタスクフォース」が合流し、毎月1回の会合（通称「いろは会」）において、医薬品の安全性に関連する様々な問題点や疑問点について議論し、毎号の掲載内容を決めている。

今回のシンポジウムは、Q&Aタスクフォースと毒性審査担当者の意見交換や議論の中で得られた考え方の共通点と相違点を毒性審査担当者の視点から紹介するとともに、本年4月に設立された独立行政法人医薬品医療機器総合機構の発足とあわせて、今後の「毒性Q&A」の方向性について検討することとした。

S14-4 申請者側が抱える疑問：薬理・薬物動態照会事項に関するアンケート調査結果から

古田 盛

日本製薬工業協会、医薬品評価委員会、基礎研究部会、非臨床審査Q&Aタスクフォース

Questionnaire survey on enquiries concerning Pharmacology and ADME from the PHARMACEUTICALS AND MEDICAL DEVICES EVALUATION CENTER (PMDEC)

Shigeru Furuta

Q&A Task Force, Non-clinical Section, Drug Evaluation Committee, JPMA

To clarify industry's concerns on the enquiries concerning non-clinical pharmacology and ADME from PMDEC, questionnaires surveys were performed. Many companies have received similar inquiries that they difficultly understand the reasons why PMDEC asked. Moreover, they would like to understand the views and opinions of PMDEC behind the inquiries. Regarding to toxicological issues, Q&A task force have face-to-face meeting with PMDEC and the deliverable summary, which is reached to agree from a scientific or practical viewpoint, is published as Q&A form in "YAKUHIN KENKYU". JPMA considers this activity will be also useful for pharmacology and ADME issues to obtain the mutual understanding with PMDEC.

本シンポジウムで紹介した非臨床毒性照会事項に関するアンケートとともに、新薬承認申請時に提出される薬理(ホ)及び薬物動態[吸収、分布、代謝、排泄(ヘ)]の非臨床試験資料にする照会事項についても、加盟各社に対して2回のアンケート調査を行ったので報告する。

● アンケート (1回目 平成15年6月)

薬理、薬物動態分野においても、その科学的根拠が理解しがたいと感じられた照会事項の事例が収集され、薬理に関して14社、薬物動態に関して18社の経験事例が寄せられた。また、審査当局の考え方を確認したい事項については薬理21件、薬物動態に関して21件が寄せられた。

● アンケート (2回目 平成15年9月)

1回目で得られた事例等から選択した特定のケースについて各社の経験あるいは問題意識を調査した。薬理で55社、薬物動態で54社より回答を得たところ、以下の項目に関する照会事項を受けた経験が多く、かつ当局との折衝の要望が多かった。

薬理：

- ・ 海外上市品の安全性薬理試験の必要性
- ・ ヒトで有効性が確認されている状況での薬効薬理試験の必要性
- ・ 動物病態モデルと臨床との関連性に対する考え方

薬物動態：

- ・ 血中濃度の線形性評価に対する考え方
- ・ モニター対象とすべきヒトにおける血中代謝物の考え方

一方、以下の内容については照会事項としての経験は少ないが、今後、当局と折衝して欲しいとの要望が多かった。

- ・ 作用機序の詳細、あるいは、それに関する薬効薬理試験の必要性
- ・ 根拠資料が存在しない場合の申請資料についての考え方
- ・ ヒトのデータがある場合の動物における追加試験はどこまで必要か
- ・ CYP酵素以外で代謝される場合の薬物相互作用の検討方法について

GLP下での毒性試験と異なり、薬理・薬物動態試験は趣旨のみが合意されている部分が多いため、上述のように製薬企業側において多くの疑問を抱えていることが明らかとなった。今後、審査センターの対面懇談会「いろは会」において薬理・薬物動態の分野についても討議し、審査当局と申請者の相互理解をより深めることが新薬承認審査過程に有益だと考えられる。

ワークショップ

W1-1 ICHトピックS8：免疫毒性試験

中村 和司

塩野義製薬（株）新薬研究所

ICH Topic S8: Immunotoxicology Study

Kazuichi Nakamura

Developmental Research Labs., Shionogi & Co., Ltd., Japan

2003年11月11日のICH運営委員会会議において免疫毒性試験が新規トピックS8として正式に承認された。米国製薬協の免疫毒性専門家の間には、ICH免疫毒性試験ガイドラインが、全ての医薬品について免疫機能検査を要求しているEUの免疫毒性ガイダンスに強く影響を受けるとの懸念があった。これに対してEUの免疫毒性専門家から一般毒性試験の結果をもとに免疫機能検査を実施するという考えも受け入れる用意があるとのコメントが出され、米国製薬協を含む全会一致の賛成でトピック化が実現した。

各極の免疫毒性試験ガイダンスを調和することについては既に2002年2月7日に開かれたICH非公式専門家会議ならびに運営委員会会議で合意されているところではあったが、同時にICHガイドライン作成のためにはさらに基礎データが必要であるという結論に至っていた。これを受け厚生労働省と日本製薬協の共同提案で第1回ICH免疫毒性調査が実施された。2003年10月8、9日には匿名化されたデータを解析するために専門家会議が開かれ、一般毒性試験における免疫毒性学的所見と免疫毒性試験における免疫機能検査やフローサイトメトリーの結果を比較検討した。新規トピックとなり、ICH免疫毒性専門家ワーキンググループでは前回の調査票をさらに充実した上で、データ数を増やすことを目的とした第2回ICH免疫毒性調査を実施することを決めた。改訂調査票は2004年2月27日付で各極に配布され、4月30日までに日米欧の製薬企業各社から回答を頂く予定となっている。このように世界的規模となったICH免疫毒性調査であるが、2004年6月までには解析結果をまとめICH免疫毒性試験ガイドライン作成のための基礎資料にしたいと考えている。

ICH免疫毒性専門家ワーキンググループでは、さらにStandardization of AssaysとTrigger for Immune Function Testsのサブグループを設けICHガイドラインの作成に向けた議論を行ってきた。Standardization of Assaysのサブグループでは、何らかのかたちでICHガイドラインに盛り込まれると考えられるT細胞依存性抗原に対する特異抗体産生の測定法、リンパ組織におけるフローサイトメトリーあるいはNK細胞活性の測定法などについて、時には外部からの専門家も交えながら検討を加えた。またTrigger for Immune Function Testsのサブグループでは、どのような場合に免疫機能検査が必要かについて議論を続けてきた。これらサブグループでの議論をもとにワーキンググループとしての最終結論を出したい。

今後、本トピックにおいては、2004年11月にStep 2、そして2005年11月にはStep 4へと進む予定になっている。

W1-2 ICH免疫毒性データ調査について

久田 茂

帝國薬器製薬(株) 安全性・代謝研究部

ICH Survey on Immunotoxicity Data

Shigeru Hisada

Safety and Pharmacokinetics Research Department, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.

The data about 45 compounds were collected by the 1st ICH immunotoxicity data survey performed from March to July, 2003. Effective data were 28 compounds, and 3 compounds were revealed to affect immune functions without any changes in immune system in repeated dose toxicity studies. At the Osaka ICH meeting held in November last year, the follow-up data survey was decided to be conducted because the collected data were insufficient for the ICH guideline, and the data analysis is to be performed at the Washington ICH Meeting held in June this year.

ICH免疫毒性試験ガイドライン作成における最大のポイントは、反復投与毒性試験では異常が認められずに、免疫機能のみが変化する薬剤がどの程度存在するかを把握することである。

このことを明らかにするために、厚生労働省と日本製薬工業協会(製薬協)の共同提案による第1回ICH免疫毒性データ調査が実施された。作成した調査票(エクセルファイル)は、簡単な化合物情報、一般毒性試験の結果(体重、血液学的検査、免疫グロブリンクラス濃度、免疫系器官及び副腎重量、病理組織学的検査)、リンパ球サブセット分類検査(免疫組織化学、フローサイトメトリー)、抗体産生能(PFC, ELISA)、NK細胞活性、遅延型過敏症反応、宿主抵抗性等)について、用量ごとに平均値を入力する形式とした。調査票が2003年3月末に配布され、同年7月末までの回答期間に、日本産で計45化合物のデータが収集された。これらのうち、10化合物は病理組織検査データがない等の理由でデータ不十分と判断され、7化合物はサイトカインあるいは細胞障害性の抗腫瘍剤として集計から除外された。残りの28化合物が有効とされ、反復投与毒性試験と免疫機能試験の両者が陽性であるもの(カテゴリーA)が12化合物、両者陰性(カテゴリーB)であるものが7化合物、反復投与毒性試験が陰性で免疫機能試験が陽性であるもの(カテゴリーC)が3化合物、反復投与毒性試験結果が陽性で免疫機能試験が陰性であるもの(カテゴリーD)が4化合物であった。カテゴリーCの免疫毒性を示す薬剤の種類が明らかになれば、反復投与毒性試験の結果を元にして免疫機能試験が必要かどうかを判断することが可能になる。

このような議論の結果、昨年11月に開催された大阪ICHの専門家ワーキンググループ会議において、第2回データ調査を実施することが決定された。使用する調査票は第1回調査に用いた調査票をベースにして改訂された。主な改訂点は、化合物の毒性プロファイルを十分に把握するために、全ての反復投与毒性試験における結果の概要を記入して頂くこと、薬物の開発段階、免疫毒性試験結果の臨床試験への生かされ方、及び免疫機能試験実施の理由等の質問が加わったことである。改訂調査票は本年2月末に3極に配布された。4月末までに調査票に回答して頂き、6月開催予定のICHワシントン会議において集計結果が解析される予定である。

W1-3 Immunotoxicology assessment, a U.S. CRO Perspective

Robert Caldwell

Immunotoxicology Program, Covance Laboratories

The purpose of preclinical safety assessment is to characterize the potential toxicity of new drug candidates with the goal of providing adequate margins of safety for human clinical trials. One important target organ that is receiving increasing attention is the immune system. Evaluation of immune function as a target organ has evolved over the last several decades. Early immunotoxicology relied upon a series of tiered testing paradigms. Although some of these assays are still utilized today, recent immunotoxicology testing relies upon a more integrated approach. Additionally, recent advances in flow cytometry technology allow for less invasive evaluation of immune function at non-terminal study intervals. Many new drug candidates are being designed with immunomodulation as the therapeutic indication. Therefore, changes in the immune system may not be considered adverse when viewed in context of all available toxicology data and therapeutic indications. In these situations, immune function testing can be used to assess and/or confirm immunopharmacologic activity of the molecule.

This seminar will provide an overview of the current FDA immunotoxicology guidance document for immunotoxicology testing. The seminar will also present a survey of current and future immunotoxicology assays available to scientists considering the use of immune function tests in standard toxicology studies. Finally, the seminar will also present a few examples of study designs and rationale for inclusion of various immune assays in toxicology study designs.

ワークショップ

W1-4 Immunotoxicity assessment of NCE's - a European Perspective.

Mark Wing

Huntingdon Life Sciences Ltd., UK

In Oct 2000 the EMEA finalised its note for guidance on the need to perform an immunotoxicity assessment for all NCE's. In summary this NIG requires all NCE's to undergo immunotoxicity testing on at one repeated dose toxicity study, the duration of which should typically be 4 weeks. The timing of this assessment should be parallel with Phase II, since this allows the sponsor an opportunity to include a clinical assessment of the drug's impact on the immune system before requesting marketing approval.

In terms of the assays, the EMEA request that either a primary antibody response to a T-dependent antigen is performed or lymphocyte subset analysis and natural killer cell activity as an alternative. These assays were selected on the basis of seminal studies performed under the US National Toxicology Programme, which indicated that primary antibody responses, lymphocyte immunophenotyping by flow cytometry and NK cell activity were good predictors of immunotoxic compounds in mice. Other guideline requirements are the assessment lymphoid tissue weights and histology and bone marrow smears. With regards to the choice of tissue for assessment, lymph nodes relevant to and distant from the route of administration should be included together with the spleen, thymus and bone marrow. Changes to any of the above parameters or the haematology may then be a trigger for additional testing, the aim of which is to define the immunotoxicity and establish a dose relationship to facilitate risk assessment.

The approach taken on immunotoxicity testing taken by individual companies across Europe differs enormously. Although testing can be delayed until parallel with Phase II clinical trials, there is evidence for earlier assessments of drugs which are (a) intended for immunocompromised patient populations, (b) where there is a mechanistic risk of interaction with the immune system or (c) where there is already evidence of immunotoxicity. Sponsors with compounds which do not fall into the above 3 categories are typically either testing in parallel with Phase II or are waiting to see what the ICH guidance is likely to look like.

Until the ICH guideline has been finalised, the approach taken for immunotoxicity testing at Huntingdon Life Sciences is to fulfil the requirements of the EMEA guideline, since it is currently the most stringent. That said, we perform our lymphoid tissue histopathology to the principles and nomenclature suggested by Kuper et al 2000, to take account of the FDA's recommendation to do an "enhanced" evaluation of these tissues.

The NK cell function assay and flow cytometry are typically chosen if the immunotoxicology assessment is being incorporated on to one of our standard 4 or 13 week toxicology studies, using surplus spleen and blood taken at necropsy. The spleen is typically evaluated, since it is regarded to be more sensitive than the blood, and the flow cytometry assessment assists with the interpretation of the NK cell functional assay which employs splenocytes as a source of NK cells. Because of concerns that the immunisation of animals may compromise the histological interpretation of the lymphoid tissues, the plaque assay is either performed on satellite animals or as a stand alone study for situations where the sole purpose is to evaluate immunotoxicity. The majority of studies have been performed in the rat, though there have been situations where an immunotoxic assessment has been included on 4 week dog and cynomolgus monkey toxicology studies, because on these occasions the second species was considered to be more relevant.

W2

遺伝子改変動物の安全性試験における応用

宮高 宏彰¹、小林 孝好²

¹(株)新日本科学、²アムジェン(株)

The application of transgenic animals in drug safety research

Hiroaki Miyajima¹, Takayoshi Kobayashi²

¹Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd., ²Amgen Inc.

Nowadays, transgenic animals are widely used as models of human disease, in analysis of gene function, studies of gene control and genome-based drug discovery, analysis of human disease mechanisms, and in research, development and screening of pharmaceuticals.

Today's paper describes the transgenic mouse assay as an *in vivo* test for mutagenesis and the short-term transgenic mouse bioassay for assessing the human carcinogenic potential of pharmaceuticals.

マウスやラットなどのトランスジェニック動物は、遺伝子を組み替えたり、外来遺伝子を生殖細胞に人為的に導入したり、アンチセンスRNAを用いて特定の遺伝子の機能を抑えたり、ES細胞を用いて特定の遺伝子をノックアウトしたり、点突然変異DNAを導入したりして作出されるが、通常の変種では不可能な形質を人為的に持たせることができるので、昨今では、疾患モデル動物として遺伝子機能の研究や遺伝子の発現調節の研究やヒトの疾患のメカニズムの解明や、医薬品の開発・スクリーニングなどに広範に利用されている。今や、トランスジェニック動物やノックアウト動物などの遺伝子改変動物は上記の研究に不可欠な研究手段になっている。

ワークショップ

今回は各種の安全性試験のなかで、遺伝毒性試験におけるトランスジェニック動物の応用として、突然変異を検出するマーカー遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いて、*in vivo*で生殖細胞を含めた各種臓器における変異原性を検出する試験系の評価やがん原性試験におけるトランスジェニック動物の応用として、がん原性短期代替試験モデルとして、実中研が中心となって開発された、Tg.rasH2トランスジェニックマウスモデルを中心に、Tg.ACトランスジェニックマウスモデル、P53 +/- ノックアウトマウスモデル、XPA +/- ノックアウトマウスモデルなどが国際生命科学協会 (International Life Science Institute, ILSI) などによる国際共同試験において検討された経緯などについてお話いただき、さらに、1種のげっ歯類を用いた長期がん原性試験とトランスジェニックマウスによる1種の短期代替がん原性試験によって、従来の2種のげっ歯類を用いた長期がん原性試験と同等かあるいはそれ以上に適切な評価が可能であるというガイダンスがICHにおいて提案され、当時の日本の厚生省もこのガイダンスを受け入れた経緯についてご紹介いただき、最後に、実際にP53 +/- ノックアウトマウスモデル、XPA +/- ノックアウトマウスモデルを使用して26週間投与がん原性試験を実施した時の問題点などをお話いただき、トランスジェニック動物を使用する安全性試験についてその問題点と将来展望について考えてみたい。

W2-1 トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験

鈴木 孝昌

国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部

Transgenic mouse mutation assays

Takayoshi Suzuki

Div. of Cellular and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences

The transgenic mouse mutation assay was developed as a striking new tool for mutation research in 1990. This assay enables the detection of mutations in a transgene in multiple organs including germinal tissues and thus reveals organ-specific genotoxicity of the mutagen. Following its introduction in Muta™ Mouse and Big Blue® mouse systems, modifications of the methodology, mainly the introduction of the positive selection system and development of other transgenic animal models including rat, improved and assured the relevance of the assay. Accumulation of experimental data suggests the transgenic mouse mutation assay can be used as a standard *in vivo* test for mutagenesis.

1990年頃、突然変異検出のマーカーとなる遺伝子を導入したトランスジェニックマウスが登場し、生殖細胞を含めた各種臓器での変異原性を検出可能な*in vivo*試験が誕生した。その後ポジティブセレクション法の導入や新しい系統の開発など、試験系に関する改良も進み、比較的簡便な試験になるとともに、実験データの蓄積によりその評価も固まってきた。この試験系の利点として、1) 臓器特異性が調べられる。2) 生殖細胞もターゲットになる。3) 誘発された変異のシーケンス解析が容易。といった特徴がある。近年、動物愛護の観点などから*in vitro*の試験系が重視されがちであるが、ヒトでのリスク評価において*in vivo*での試験系は貴重であり、特にそれまで遺伝子突然変異の検出には良い試験系がなかったため、トランスジェニックマウスを用いた試験の役割は大きいと言える。変異原性と発がん性との定量的な比較を行ってみると、バクテリアを使ったエームス試験に比べその相関性は非常に高い。陽性率が低く、陰性結果が得られた際に安全性を保證できないという指摘もあるが、許容リスクの観点から考えれば、必ずしも欠点とはいえない。マウス体内で起きた突然変異を正しく検出しているというエビデンスに基づけば、遺伝子傷害性の評価系としての信頼度は高く、陽性結果の持つ意味合いは大きい。また、シーケンス解析により、作用メカニズムの検討につながるとともに、分子疫学的な応用も期待される。これまでの検討から、推奨される標準プロトコールも提案されており、次世代の変異原性試験として広く活用されるべき時期にある。また、トランスジェニックラットやp53ノックアウトマウスと組み合わせでも利用でき、今後これらの動物を直接発がん性試験に使うことにより、発がん性と遺伝子傷害性の同時評価を行うことを提案したい。

W2-2 The use of transgenic and knock-out mice in the safety assessment of protein therapeutics.

Jeanine L. Bussiere
Amgen Inc.

Knockout and transgenic mice are rapidly gaining acceptance as routine tools for mechanistic research and offer considerable promise for generating specific models of toxicological importance. Knockout mice have been used to assess drug specificity, to investigate mechanisms of toxicity, and to screen for mutagenic and carcinogenic activities of xenobiotics. Similarly, the impact of novel therapeutic candidates can be estimated in knockout mice; generation of viable and fertile animals with null mutations for a potential target protein implies that pharmacological inhibition of the molecule *in vivo* will elicit no major adverse effects. Furthermore, the apparent lack of an *in vivo* phenotype could be used in conjunction with substantial evidence of *in vitro* efficacy to support the selection of a likely "no observable adverse effect level" (NOAEL) for use in pre-clinical pharmacology and toxicology studies. Particular emphasis in future pharmacology and toxicology studies will be directed toward conditional knockout mice (to evaluate the impact of chemically-mediated inhibition of a particular gene product at the relevant stage of life) and "humanized" knock-in animals (in which the endogenous mouse gene is replaced with the homologous human gene to examine its role in disease or drug metabolism). Toxicity bioassays routinely are performed in knockout animals for some purposes (e.g., mutagenicity and carcinogenicity), but the relevance of such mice with respect to conventional toxicity testing remains to be proven. With the increasing number of protein therapeutics on the market, these data become even more important to demonstrate that the knockout mice are a viable alternative to testing in non-human primates, and are relevant to the findings seen in humans. Preclinical efficacy and safety studies, especially chronic studies, are notoriously difficult to perform when the candidate therapeutic agent is a human protein. Due to these difficulties, regulatory agencies are concerned with alternate means of assessing risk, and knockout and transgenic mice could provide a reasonable alternative.

W2-3 トランスジェニックマウスを用いるがん原性試験

臼居 敏仁

(財)実験動物中央研究所

The use of transgenic and knock-out mouse in the carcinogenicity testing

Toshimi Usui

Central Institute for Experimental Animals

The International Conference on Harmonization (ICH) Expert Working Group on Safety acknowledged the limited utility of conventional long-term mouse bioassay for assessing the human carcinogenic potential of chemicals, including pharmaceuticals, based on past positive findings that are now considered to have little or no relevance for human risk assessment. The International Life Science Institute (ILSI) Health and Environmental Sciences (HESI) coordinated a large-scale, multinational, collaborative research program to provide data needed for the proposed new models.

1991年から日米欧三極の官民の専門家によるICH安全性部会において、1962年米国NCIで医薬品を含む環境発がん因子とヒトのがん発生に関し一般的な関心が高まってきたことに対応する為、げっ歯類を用いた長期の発がん性試験のプログラムが開始され多くの試験結果が得られてきたが、中でも医薬品の申請登録には、ヒトに六ヶ月以上連続投与。また化合物に発がんの懸念がある場合は、ラット、およびマウスの二種を用い、二年間の発がん性試験の成績の提出が義務付けられてきていた。ICH安全性部会、がん原性試験専門部会では、三極の医薬品のがん原性試験のデータを収集しデータベースとし、客観的な検討を行った。特に過去にマウスを用いた試験で陽性でヒトに発がんの懸念がありとされたケースは今では、ヒトのリスクアセスメントには殆んど、または全く関連しないという結果が多く見られた。この事からがん原性部会は医薬品の新しいがん原性試験の計画を提案した (ICH S1B)、すなわち、長期発がん性試験と第二のげっ歯類の長期試験が代替モデルの短期または中期試験であった。ILSI HESI Alternative to Carcinogenicity Testing (ACT) Committeeで以下の五つの遺伝子操作マウスモデルを含む七つの代替モデルのバリデーションを行った。

Tg.rasH2 transgenic mouse model (3コピーのhuman c-Ha-ras gene 挿入)

Tg.AC transgenic mouse model (多コピーのzeta-globin promoter/ ν -Ha-ras reporter construct 挿入)

P53^{-/-} knockout mouse model (one allele of the p53 tumor suppressor gene deleted)

XPA^{-/-} knockout mouse model (both alleles of a nucleotide excision repair gene deleted)

XPA^{-/-}/p53^{-/-} double knockout mouse model

Neonatal mouse model, Syrian Hamster Embryo (SHE) model

これらのモデルを用いた国際共同プログラムは化合物のヒトへの発がん性の評価検討を行い各モデルの特性、問題点を明らかにし、ハザードの検討に適するモデルの選択など重要な貢献をしてきている。更に問題点の解決をし、精度の高い検索系として、発展させたい。

W2-4 Results of a validation carcinogenicity study using transgenic p53^{+/-} and transgenic ras H2 mice

Keven Jackson¹, Keikou Okasaki¹, Yutaka Chihaya¹, Kenichi Sato¹
Mariko Koelling¹, Steven Meyer¹, Peter Mann²

¹SNBL USA, Ltd., ²Experimental Pathology Laboratories, USA

Several strains of transgenic mice have been studied in recent years to determine their suitability for short-term carcinogenicity testing. We have completed a validation carcinogenicity study using transgenic rasH2 and p53^{+/-} transgenic mice. Transgenic rasH2 mice (15/sex/group) were treated with a single IP dose of N-methyl-N-nitrosourea at 75 mg/kg at 8 weeks of age and then observed for 26 weeks. Transgenic p53^{+/-} mice (15/sex/group) were treated with p-cresidine orally at 400mg/kg daily for 26 weeks, beginning at 8 weeks of age. Treated groups were compared to identical numbers of untreated controls.

There was no mortality in untreated controls and tumor incidence was low (13% or less incidence/sex/group). Mortality in treated rasH2 mice was 93% in males and 86% in females at 26 weeks. Mortality in treated p53^{+/-} mice was 13% in both males and females at 26 weeks.

Treated rasH2 mice exhibited lymphosarcoma (60% male, 80% female), forestomach papillomas /carcinomas (80% male, 70% female) and adenocarcinomas of the jejunum (27% male, 7% female) that were not observed in untreated animals. Treated p53^{+/-} mice exhibited urinary bladder papillomas /carcinomas (86% male, 40% female) not observed in untreated animals. Other tumors observed in treated groups were of low incidence (20% or less incidence/sex/group) and did not have a significantly higher incidence than in untreated groups. Tumor incidence for treated and untreated rasH2 and p53^{+/-} mice was similar to that observed in other published studies.

Non-neoplastic test article related changes of N-methyl-N-nitrosourea in ras H2 mice were hyperplasia of myeloid cells in bone marrow, lymphoid hyperplasia of paracortical areas in mesenteric lymph node and increased severity of extramedullary hematopoiesis in the spleen. Non-neoplastic test article related changes of p-cresidine in p53^{+/-} mice included renal tubular degeneration, hepatocyte degeneration, and accumulation of brown pigment in the spleen. Very slight to slight mononuclear /polymorphonuclear cell infiltration of the perineurium in the sciatic nerve of ras H2 mice (93% group 3 males, 86% group 3 females) was a finding not related to test article administration which has not previously been reported. Inflammatory cells were also observed in skeletal muscle in rasH2 mice which was not test article related.

Untreated transgenic rasH2 and p53^{+/-} mice, had a low incidence of spontaneous tumors at 34 weeks of age. Carcinogenic effects of N-methyl nitrosourea were multicentric lymphosarcoma (males and females), adenocarcinoma of jejunum (males), and stomach papillomas/carcinomas (males and females) in rasH2 mice. Carcinogenic effects of p-cresidine were urinary bladder papillomas and carcinomas in p53^{+/-} male and female mice. Non-carcinogenic effects of N-methyl nitrosourea were observed in the spleen, bone marrow and mesenteric lymph node of rasH2 mice. Non-carcinogenic toxic effects of p-cresidine were observed in the kidneys, liver and spleen of p53^{+/-} mice. Very slight to slight mononuclear/polymorphonuclear cell infiltration of the perineurium of sciatic nerve (incidence of 86-93% in male and female group 3 mice) was a non-test article related finding in rasH2 mice that has not been reported previously.

W3

トランスレーショナルリサーチの医薬品開発における役割

宮崎 宏彰¹、八日市谷隆^{1, 2}

¹(株)新日本科学、²(株)ナノ・ソリューション

Role of Translational Research in Drug Development

Hiroaki MIYAJIMA¹, Takashi YOHKAICHIYA^{1, 2}

¹Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., ²Nano Solution, Inc.

In the drug development process, the evaluation of drug safety and efficacy in preclinical testing is followed by the first-in-man study such as Phase I/IIa clinical trials. This is the time where both basic scientists and clinical trialists need to collaborate to maximize the value of trial. Moreover, the recent progress in genomics and related technology reveals the basis of individual differences in biological responses.

This area requires the extensive budget and human energy, and the collaborative efforts need to be amalgamated among the government, academic institutions and financial ventures. Especially, the expertise has been missing for bridging the gap between academic laboratory and the real world of enterprise. The role of Translational Research (TR) resides in this area of expertise, and its need has been realized recently with increasing demands.

In this workshop, representatives of the government, pharmaceutical industry, investors and academic institutions will discuss about the TR issues from their perspectives.

医薬品開発研究では、前臨床試験を行い安全性と有効性が確認されたものが、ヒトにおける安全性の確認と薬物動態の評価を目的としてインフォームドコンセントが得られた被験者の協力のもとに第I/IIa相臨床試験に進みます。このステージはヒトへの投与が初めて行われるため、開発に関わって来た基礎研究者と臨床研究者が密接な連絡を持って行ういくつかの小規模臨床研究が集って構成されております。この段階においては、昨今のゲノム医学の進歩によって明らかにされてきた生体応答の個体差や、各細胞や分子の生体内相互作用などが話題となっており、今後さらに臨床的にも科学的にも解明すべき事項が多くなってきており、極めて重要な研究領域であります。

このような背景にあって、欧米諸国ではこれを効率よく進めるために、国やベンチャー投資家が大学発の技術に積極的に先行投資を行ったり、大学の教官たちの起業を奨励する制度を整備してきております。ここで、学術研究機関やバイオベンチャーの基礎的な技術を、臨床試験に持っていきけるレベルまで高めていくことをトランスレーショナルリサーチ (Translational Research, 以下TRと略) と呼び、ゲノム科学、プロテオミクス、バイオインフォマティクスなどの進展において、非常に重要な活動と認識されてきております。特に、医薬品分野においては、各種疾患における病態に関する臨床知見が増大するなか、治療標的となる分子や標的が次々と明らかになるとともに、医薬品開発研究のシーズが急速に増大しつつありますので、それらの知見を *in vitro* 実験や前臨床試験を経て臨床にいたるまでをつなぐTRの重要性が一層高まるものと期待されております。

しかし、我が国においては優秀な基礎研究がなされているにも関わらず、単に学術的な成果としてしか評価されてこなかったり、大学や企業の職員規定にみるような制度上の制限があったりして、せっかくの重要な発見が企業化されないままになったり、欧米企業に逆に利用されたりしており、日本国内でその基礎研究を臨床ステージまで結びつける仕組みがほとんど存在しませんでした。そこで、このワークショップでは、国、企業、各大学、各医療機関などがTRがどのような役割を持つか、また何が出来るか、その役割を果たすために何が必要なのかを考える出発点となることを期待して企画いたしました。

まず、「官」の立場から「バイオテクノロジー産業の現状と課題」と題して、経済産業省 生物化学産業課 総合企画係の白井俊行先生に、「学」の立場から「大学技術を核とした事業創造の手法」と題して先端科学技術エンタープライズ(株)の若林拓朗先生に、最後に「産」の立場から「ライフサイエンス分野における産学連携 フェイザー社の視点」と題してフェイザー株式会社中央研究所 研究連携戦略部の平手純司先生にそれぞれのお立場から話題を提供していただくこととしております。

W3-1 トランスレーショナルリサーチの医薬品開発における役割 - Introduction

八日市谷隆

(株)新日本科学、(株)ナノ・ソリューション

Introduction - Role of Translational Research in Drug Development

Takashi Yokkaichiya

Chief Medical Officer, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd. and President, NanoSolution, Inc.

A significant gap has been recently acknowledged between the laboratory in the academia and their realization in the business enterprise. Additionally, in the drug development where the data in the human subjects is the most important, additional hurdles exist in the areas of pharmaceutical regulations and healthcare systems. Therefore, there are strong needs of the function called as "Translational Research" that bridges between the science and the business. Especially in Japan the academia has more room to improve in the intellectual property management, the formation of legal entity, the recruitment of staff, the financing as well as the conducting preclinical and clinical works for regulatory approval. Therefore, Translational Research requires the wide range of expertise and its balanced and phased exercise is the key to succeed.

ワークショップ

【はじめに】

大学などの研究室の発見、知見、発明を事業化するには、多くのステップを要する。特に、医薬品開発の場合、入での臨床試験データを必要とするため、手続き的にも倫理的にも他の技術領域以上にハードルが高い。例えば、そこに関与するスペシャリストとしては、大学管理者、厚生労働省、バイオの知的財産に関する弁理士、各種の投資家などが挙げられる。このようにサイエンスをビジネスに導くためには、それを取り持つ機能、Translational Research機能が非常に重要なニーズをもっており、それを達成するには、知的財産のマネジメント、会社設立・運営のノウハウ、スタッフのリクルート、財務・経理機能などを果たしつつ、医薬品の承認に必要な前臨床試験、臨床試験などを実施する能力もバランスよく兼ね備えていなければならない。多くのバイオベンチャーにおいては、創設期から成熟期までの間で、これらの機能が各々のフェーズごとに重みが異なってくるため、必要とされる人材や財務戦略も期別に対応していくことが重要である。

【新日本科学における取り組み】

医薬品などの受託研究機関として日本で最も古くかつ最大規模を誇る新日本科学では、以前より大企業のみならずベンチャー企業やアカデミアからの受託試験も行ってきていた。特に昨今のバイオベンチャーの興隆により、それらの企業との間に技術的な支援のみならず、資金援助も含めて色々の相談に乗ることも多くなり、そのニーズの高まりを実感してきた。当社がもつ医薬品開発のノウハウと中立的な立場によって、それらのバイオベンチャーを支援する事業を、Translational Research事業と呼び、次のような活動を行っている。

1. 通常の委託契約の範囲内で、前臨床試験や臨床試験などのサービスを提供する
2. 業務提携契約を提案し、共同開発、研究員派遣、経営支援、資本参加を積極的に行い、協働補完関係を構築する
3. 新日本科学グループの関連企業として、M&Aを提案する

W3-2 バイオテクノロジー産業化の現状と課題

白井 俊行

経済産業省生物化学産業課

Challenges and future prospects of Bio-tech research and development

Toshiyuki Shirai

Bio-Industry Division, Ministry of Economy, Trade and Industry

Surrounding environment of clinical research has changed drastically since the advent of DNA sequencers. Researches aiming to identify the genes that are related to each disease using bio-informatics are proceeding in many countries. Many bio-related companies are interested in industrializing the proceeds from these researches, however, some challenges remain. Three of the main challenges that need to be overcome are: (1) Establish ways to analyze the gene networks among each disease related gene, (2) Need to create protection regimes for individual genetic information, and (3) Reduction of prices of tools that are going to be used for diagnosis.

1990年代末に高速のDNA自動解析装置が実用化され、ヒトゲノム解読が一気に加速したことを背景に、医療研究を取り巻く環境は大きく変貌しつつある。これまでは、専ら臨床情報（＝表現型情報）のみに基づいて、ヒトの病気の治療法、診断法の開発を実施してきたのであるが、個々人のゲノム配列情報（＝遺伝型情報）が簡単に読み取ることができる状況となって以来、表現型情報と遺伝型情報との間の対応関係を調べる研究が世界中で立ち上がりつつある。

また、近年のmRNAの発現状況を測定できるDNAチップやタンパク質・低分子化合物の固定を行うことを可能とする質量分析計等の研究開発ツールの実用化を受けて、患者の遺伝型情報のみならず、様々な遺伝子の発現状況、代謝物質情報等についても、表現型情報との相関を調べるのが可能となってきており、これらの情報と臨床情報との相関を調べることにより、個々人の体質や生活習慣と疾病との関係を明らかにしようとする研究も開始され始めている。

こういった研究の成果は、テーラーメイド医療、予防医療、早期診断等の新たな医療につながる可能性があり、医療費削減効果をも有するのではないかと期待感も含め、大きく注目されている。特に製薬業からは、新薬の薬事法申請にあたり、あらかじめ薬剤副作用が発生する確率が高いと想定される人について被験者の集団から除外することにより、薬剤副作用の発生率を抑え、結果として新薬の薬事法認可率が上昇することが期待されており、また患者のみならず健康人をも対象とする診断サービスの出現など新たな産業創出にもつながると期待されている。

ただし、上記に述べたような将来の目標像につながるためには、まだいくつか大きなハードルが残されていることも確かである。ここでは、3つほどのハードルについて簡単に述べさせて頂きたい。

①ゲノムネットワーク解析法の確立

上で述べた臨床情報と遺伝型情報・体質等との相関を明らかにしようとする研究からは、疾患毎に数十、数百の関連遺伝子が見つかってきているが、それらの中でどの遺伝子が疾患の原因やターゲットとなり得るのかは明確になっていない。今後は、それらの遺伝子間の相互作用関係を明らかにすることが必要不可欠となってきているが、複数の遺伝子間の相互作用関係を簡便に高速に明らかにするツールは未だ未開発であるため、今後はそういったツールの開発及びそういったツールを用いたネットワーク解析の進展が待たれる。

②個人遺伝情報に係る保護ルールの確立

個人遺伝情報を含む臨床情報を産業利用する際のルールの整備が必要不可欠である。こういったルールが未整備の状態では、患者から個人遺伝情報を含む臨床情報を提供してもらうことがスムーズに進まなくなる。

③診断ツールの低価格化

診断ビジネス、予防医療ビジネスに繋げるためには、患者のみならず健康人をも含めた多くの人に診断ツールを利用してもらうことが必要不可欠であり、そのためには診断ツールが十分に安価となって提供される必要がある。経済産業省としても、テーラーメイド医療、予防医療等の新たな医療の実現に向け上記の観点を踏まえつつ、各種研究開発、規制等の環境整備等を実施していくことにより、バイオ分野における産業化を推進して参りたい。

W3-3 大学技術を核とした事業創造の手法

若林 拓朗

先端科学技術エンタープライズ(株)

大学で得られた研究成果には、新たな事業の核となり得る技術・知見が多くありますが、技術分野を問わず、ほとんどの場合、実用化に至るまでには相当な開発が必要となります。トランスレーショナルリサーチの難しさは、事業上のポテンシャルや開発期間・コストを当初の段階から予見することが極めて困難であることに、その一因があります。大学の研究成果においては、アウトプットや開発コストに対する期待値や考え方に、大学研究者と企業の間で一般的に差異があるため、両者間の調整コストが大きく、さらに困難となりがちです。

わが国においては、大学の研究成果を企業に移転する場合、公式なルールは最低限しか存在しておらず、当事者である個々の企業と大学研究者の間でほとんどの事項を決定することが可能でした。多くの場合、長期間にわたる人的信頼関係が最重要視されてきましたが、企業・大学間の調整コストを許容範囲に保つ現実的な解決手法であったと言えます。一方で、両当事者間の健全な対立を許容できず曖昧な状況が放置される、第三者が関与した方が効率的な場合でも困難である、等の短所もあります。また、参加当事者が限定された少数であるため、様々な要因によるバーゲニングが成立しやすく、フェアな条件から大きく乖離しやすい面もあります。

米国では、研究成果の移転プロセスに大学が組織として積極的に関与するとともに、多くのプロフェッショナルが媒介として活躍しています。このようなプロセスでは、取引の透明性がある程度担保されるため、フェアな条件が成立しやすと言えます。また、リスクを分担する第三者を招き入れるなど、柔軟な取引形態を取りやすくなります。一方で、技術の性質や交渉当事者により異なる個別事情が斟酌される余地が減少する、媒介者の能力・良心に大きく依存する、等のリスクがあります。米国では一般的になっている大学発ベンチャーは、技術移転の観点からは、自らリスクテイクする媒介者と考えられます。例えば医薬品業界では、医薬品シーズをフェーズIIが終了した段階まで開発することで、価格根拠やリスク情報が透明度を増し、人的信頼関係が薄い当事者でも取引に参加しやすくなります。

わが国でも、国立大学の法人化を契機に各大学が知的財産ポリシーを制定し、発明やマテリアルの機関帰属を打ち出すなど、研究成果の技術移転に大学組織が関与していく方向性がはっきりしてきました。1998年から活動を開始したTLOも活発化しつつあるだけでなく、大学発ベンチャーも存在感を増しており、わが国の大学技術移転プロセスは急速に米国型にシフトしつつあります。今後は、大学研究成果の移転プロセスにおいて、米国並の透明性が求められることでしょう。一方で、新たなパラダイムはまだ浸透しておらず、従来のやり方に慣れてきた企業や研究者に戸惑いをもたらしていることも事実です。

大学の技術移転が現実の意味あるものとなるためには、取引の透明性確保だけでは不十分であり、実際に事業が創造され社会に付加価値をもたらす必要があります。また、複数の当事者が関係する中で、各当事者が貢献度とリスク負担に見合ったリターンを得られなければ、継続的な事業創造は困難です。つまり、研究者・大学・企業・媒介者といった各プレイヤーが事業創造という共通の目標にコミットし、お互いの目的や事情を理解し合い妥協点を見出していかなければなりません。また、取引コストが許容範囲内に収まるように、共通のルールや言語(スタンダード)も必要になるでしょう。これらの過程で、新しいパラダイムに適合した、従来とは異なった信頼関係が再構築されていくことになると考えられます。現時点では、大学側の制度変更が大きくクローズアップされていますが、個々のプレイヤーは、今後出現してくるパラダイムの全体像を予見し、適応していくことが必要になってくるでしょう。

W3-4 ライフサイエンス分野における産学連携 –ファイザー社の視点–

平手 純司

ファイザー（株）中央研究所研究連携戦略部

Industry-Academia Collaborations in Life Science: A Pfizer's Viewpoint

Junji Hirate

Strategic Alliances, Nagoya Labs, Pfizer Japan Inc.

In pharmaceutical R&D, having access to the necessary research tools in a prompt and non-exclusive manner is crucial to success. Since the Bayh-Dole Act was established in the U.S., the number of non-exclusive licensing between industry and universities and/or public research institutions for the research tools have increased steadily for almost 20 years. In order to not merely receive the benefits of non-exclusive licenses, Pfizer has been active in providing its own chemical compounds to universities and other businesses for research. As a result, a "research community" among industry, academia and public research institutions has formed in USA and Europe through the unfettered exchange of the research tools.

【はじめに】

優れた医薬品をできるだけ速やかに世に送り出すことは、製薬企業の使命である。製薬企業の最終的な商品は医薬品であり、膨大な数の医薬品の候補化合物の中から、スクリーニング、非臨床及び臨床試験を経て、有効性と安全性が保証された商品が誕生する。候補化合物の取捨選択には、研究のための道具（リサーチツール）が必須であり、必要なリサーチツールが必要な時速やかに入手できることが医薬品の研究開発の生命線である。リサーチツールの最大の供給先は、欧米では大学及びNIHなどの公的研究機関であり、約20年前に米国で制定されたバイ・ドール法のもとで、大学及び公的研究機関と企業との間でリサーチツールのライセンスングが活発に行われている。

【バイ・ドール法とリサーチツールのライセンスング】

バイ・ドール法により、大学は企業にリサーチツールの独占的商業ライセンスを与えることができると同時に、他大学や企業に非独占的研究ライセンスを与えることができる。これらのライセンスングの結果、大学はライセンス料を得ることができ、それらが再び研究資金に還元されることにより、また新たなリサーチツールを生む源泉となっている。

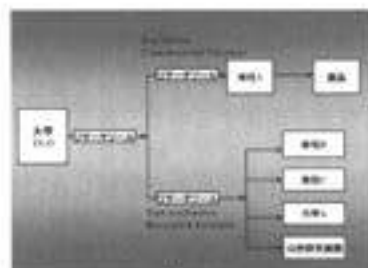


Fig. 1

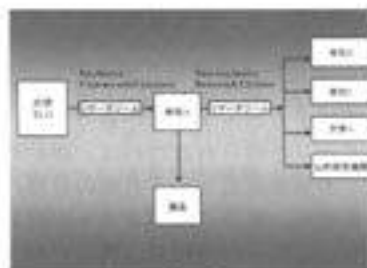


Fig. 2

【製薬企業におけるリサーチツールの代表例】

トランスジェニックマウス、セルライン、遺伝子、抗体、化学物質、コンピュータソフト、等

【リサーチコミュニティの形成】

ファイザーでは、大学等から一方的にリサーチツールの非独占的研究ライセンスを受けるだけではなく、ファイザーの有する化合物を所定の審査の後に、研究目的で非独占的に大学及び企業に提供している。ファイザーでは現在までに世界中の大学、企業の研究者に84,000化合物を提供してきている。欧米では、この様に大学、研究機関、企業が基礎研究の分野で互いにリサーチツールを提供し合う一つのリサーチコミュニティが形成されており、これがライフサイエンスの発展の大きな原動力となっている。

W4

ICH-S7B (QT延長評価に関する安全性薬理試験) のデータベース構築

山本 恵司¹、橋本 宗弘²

¹武田薬品工業(株)薬劑安全性センター、²ファイザー(株)中央研究所

QT Database Construction to support to develop ICH S7B Guideline (Safety Pharmacology Studies to Evaluate QT Interval Prolongation)

Keiji Yamamoto¹, Munehiro Hashimoto²

¹Drug Safety Research Center, Takeda Chemical Industries, Ltd., ²Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc.

The QT PRODACT Initiatives is a task force group organized by 44 JPMA pharmaceutical companies and 6 contract research laboratories organizations. The task force is working, in a voluntary manner, on a panel of drugs (11 positive drugs and 8 negative drugs) with adequate clinical data on their propensity to elicit QT prolongation and associated arrhythmias in humans using several test systems including *in vitro* action potential duration (APD) measurements in the isolated guinea pig papillary muscle and *in vivo* QT assays in telemetered monkeys and dogs as well as anesthetized dogs. In this workshop, the summaries of QT PRODACT activities are reported and also the relation of nonclinical and clinical assessments will be presented.

ワークショップ

はじめに

抗不整脈薬以外の薬剤について、QT間隔の延長とそれに伴うtorsade de pointes (TdP) を含む心室性頻拍不整脈の副作用を惹起する事例が報告され、その副作用回避が医薬品開発における重要な課題となっている。QT間隔延長の非臨床試験評価について、ICH S7Bガイドライン(ヒト医薬品による心室再分極遅延(QT間隔延長)の潜在的な可能性を評価するための安全性薬理試験ガイドライン)の検討が現在行われている。ICH S7Bガイドラインの討議の促進を図るため、非臨床試験の特性とその有用性を明らかにする共同研究が、日本製薬協44社及び安研協6社を母体に、QT PRODACT (QT Interval Prolongation: Project for Database Construction) タスクフォースチームが結成され2002年から活動が開始された。本研究では、19化合物(11陽性薬物、8陰性化合物)を用いて、モルモット乳頭筋標本を用いた*in vitro* APD試験、麻酔イス、イステレメトリーおよびサルテレメトリーによる*in vivo* QT評価を行った。評価項目としては、用量(濃度)反応性、APD試験の有用性、各試験の感度、種差、施設間差、QT間隔の心拍数(R-R間隔)に対する補正の方法、ヒト治療濃度を基準とした安全域の算定等である。本ワークショップでは、本研究の成果を各試験系の代表者に発表いただくとともに、非臨床試験の臨床試験との関係についてICH E14臨床ガイドライン専門家会議のJPMAトピックリーダーである伊藤氏より2004年6月のICH会議の結果を踏まえご報告いただく予定である。

W4-1 hERGスクリーニングと試験データの再現性

鶴淵 裕治

(株)薬物安全性試験センター 薬理研究所

hERG screening assay and the reproducibility of test data

Yuji Tsurubuchi

Pharmacological Research Laboratories, Drug Safety Testing Center Co., Ltd.

The whole-cell patch-clamp technique using human *ether-a-go-go*-related gene (hERG) transfected cell lines has recently become more important in preclinical studies as a Safety Pharmacology Study to evaluate the QT interval prolongation effects of drugs. Since the patch-clamp technique can directly measure the potassium ion currents passing through hERG channels, it is widely used as a highly reliable method for assessing the effects of drugs on hERG channels. Also, the automated technologies have greatly improved the efficiency of the patch clamp method, and the ethical and economical benefits of not having to use animals make the hERG assay an important screening tool for the basic research and development of new drugs. Although the strategies and objectives dictate the criteria for screening tests and the stages in which screening tests are introduced, reproducibility and a high level of sensitivity are essential. However, the conditions of the hERG assay are optimized in each facility, and the inter-facility differences in the sensitivity of the assay have become a matter of concern. Furthermore, the application procedure for the automated patch-clamp method is basically different from the manual patch-clamp method that is used in many facilities, so the compatibility between the two methods needs to be determined. In this workshop, we will discuss factors, such as the temperature, application procedure, and voltage protocol that may affect the reproducibility of test data in the hERG assay.

安全性薬理試験において薬物による心電図QT間隔延長作用を検出する評価系の一つとして、human *ether-a-go-go*-related gene (hERG) を発現させた細胞を用いたパッチクランプ法が、近年注目されてきている。パッチクランプ法はhERGチャンネルを通過するカリウムイオン電流を直接測定するため、薬物のhERGチャンネルへの影響を評価する上で信頼性の高い評価系である。また、動物を使用しないことによるパッチクランプ法の倫理、経済的なメリットと、全自動化技術による単位時間当たりの評価化合物数の増大により、創薬段階におけるスクリーニングのツールとして期待されている。スクリーニング試験は、研究者の戦略や目的の違いによって、その要否の判断基準や研究開発過程における実施段階が設定されるが、一般的に高い検出感度と再現性が求められる。しかし、hERG試験における実験条件は実験施設ごとに最適化され、データに施設間差が生じる懸念がある。また、全自動パッチクランプシステムとこれまで多くの研究機関で実施されてきたマニュアル操作によるパッチクランプ法とでは、化合物の適用方法が異なるなどデータの互換性について、より詳細な検討が求められている。ここでは、hERGスクリーニングのデータの再現性を左右する要因として、温度、適用方法、電位プロトコル等のデータへの影響について検討する。

W4-2 QT Interval prolongation: Project for database construction, 1) モルモット乳頭筋を用いた21薬剤によるAPD試験の結果について

林 誠治

日本製薬工業協会 QT PRODACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction,

1) Overview of APD Assays for 21 Drugs Using Isolated Guinea Pig Papillary Muscles

Seiji Hayashi

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODACT, Tokyo, Japan

To construct available non-clinical database for assessing the potential of drugs for QT interval prolongation, the effects of 21 drugs on action potential parameters in APD assay using isolated guinea pig papillary muscles were investigated in 19 pharmaceutical companies and 7 contract research organizations in Japan. By analyzing data from action potentials measured before and 30 min after application of vehicle, *d,l*-sotalol or each test substance, it was found that 1) the fluctuation degree of inter-facility did not exceed that of intra-facility, 2) all facilities could detect the positive signal of *d,l*-sotalol, 3) $APD_{50\%}$, not $APD_{30\%}$, is a useful parameter for detecting I_{Kr} inhibition not only in pure I_{Kr} blockers but also in multi-ion channel blockers with sensitivity almost comparable to that of hERG assay, 4) APD assay could provide information as to whether a test substance inhibits other cardiac ion channels. In conclusion, the APD database constructed by QT PRODACT will contribute to the development of new chemical entities.

ワークショップ

JPMA QT PRODACTは、ICH安全性薬理試験ガイドラインS7B作成に必要な、薬物によるQT間隔延長作用を評価する非臨床試験データベースを構築することを目的としている。有用なデータベースを構築するには数多くの薬物効果を調べる必要があるため、今回、日本国内の製薬企業19社と受託試験企業7社が参加して、モルモット摘出乳頭筋活動電位に対する21化合物（QT延長やTdPに関連があるとされている11陽性化合物と10陰性化合物）の影響について検討した。

実験方法はQT PRODACTで作成した標準プロトコルに基づいて実施した。即ち、Hartley系雄性モルモット（体重250-500g）から右室乳頭筋を摘出し、混合ガス（95% O_2 +5% CO_2 ）を通気した37±0.5℃のTyrode液（ K^+ :4 mM、 Ca^{2+} :2 mM）で満たされたチャンパー内に固定した。標本にガラス微小電極法を適用し、活動電位を得た。測定するパラメータは静止膜電位（RMP）、活動電位振幅（APA）、最大立ち上がり速度（ V_{max} ）、30%・60%・90%再分極時点における活動電位持続時間（ $APD_{30\%}$ 、 $APD_{60\%}$ 、 $APD_{90\%}$ ）および30%再分極時点における活動電位持続時間と90%再分極時点におけるそれとの差分（ APD_{30-90} ）である。これらパラメータの測定値は、投与液の適用前および適用30分後に、刺激間隔1000 msec、2000 msec及び400 msec（1、0.5及び2.5Hz）の順で2-3分間刺激した後で得られる安定した5波形より算出した。投与液適用中は刺激間隔1000 msecで刺激した。また、摘出乳頭筋標本は1濃度毎に取り替え、同一動物から採取した標本には同じ投与液を適用しなかった。

まず、22施設から得られた溶媒（0.1% DMSO）および共通陽性対照薬（30 μ M *d,l*-sotalol）適用時の活動電位各種パラメータを解析することによって、活動電位測定試験（APD試験）の施設間差および施設内差について検討したところ、施設間差は各々の施設内におけるバラツキを陵駕するものではないことが判明した。また、全施設において*d,l*-sotalolの作用を陽性と判断することができた。これらの結果から、本プロジェクトに参加した全施設から得られたAPD試験データは、十分に評価しうると考えられた。続いて、各々の被験物質の効果について検討したところ、hERGチャンネルの特異的阻害薬は濃度依存性に APD_{50} を延長した。Caチャンネル遮断薬は典型的な APD_{50} の短縮作用を示し、Naチャンネル遮断薬はAPAと V_{max} を減少させ、いずれも APD_{50} を短縮させた。しかしながら、キニジンやジピラミドに代表されるマルチチャンネル遮断薬では、釣鐘型の反応が認められた。これらのことから、hERG電流阻害作用に加えCaチャンネルあるいはNaチャンネルに対して遮断作用を有する被験物質では、 APD_{50} を指標とした場合、陽性シグナルを見逃す可能性が示唆された。一方、 APD_{30-90} を指標とした場合、ほとんど全てのhERG電流阻害薬で延長作用が認められ、 APD_{30-90} を10%延長させる濃度とhERG IC_{50} 値（文献値）の間には相関が認められた。このことから、モルモット乳頭筋を用いたAPD試験は APD_{30-90} を I_{Kr} 抑制の指標とした場合、hERG試験に匹敵する検出力があり、これと同時に I_{Ca} や I_{Na} に対する作用を検出する事が可能な優れた試験法であることが明らかとなった。

以上のことから、今回我々が構築したモルモット摘出乳頭筋活動電位測定試験（APD試験）のデータベースは、今後の薬物の開発において有用な情報を与えるものと思われる。

W4-3 QT Interval prolongation: Project for database construction, 2) イヌテレメトリー試験のオーバービュー

豊島 茂樹

日本製薬工業協会 QT PRODACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 2) Overview of dog telemetry studies.

Shigeki Toyoshima

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODACT

As part of the QT PRODACT, the effects of ten compounds thought to prolong the QT interval (positive) and eight compounds thought not to have this effect (negative) on the QT interval were studied in conscious telemetered dogs. The experiment was conducted in accordance with the standard test procedure as used in the routine safety pharmacology study. All positive compounds prolonged the QTc significantly by more than 10%, whereas the rates of QTc prolongation by negative compounds were less than 10% except for nifedipine. Consequently, conscious dogs are thought to be useful for an assessment of the possibility of the QT interval prolongation.

薬物の心電図QT間隔延長作用について、安全性薬理試験S7Bガイドラインの作成に寄与することを含め、製薬協 QT PRODACT (QT Interval Prolongation: Project for Database Construction) としてデータベースの作成を行っている。その *in vivo* 評価の一環として、ヒトで心電図QT間隔を延長させると考えられる10化合物(陽性化合物)、及びそのような作用がないと考えられる8化合物(陰性化合物)を選択し、無麻酔イヌのQT間隔に及ぼす影響についてテレメトリーシステムを用いて検討した。

実験方法については、通常実施される安全性薬理試験を想定して設定した。実験はQT PRODACTで作成した共通プロトコールに基づき、9施設で実施した。各化合物はテレメトリー送信器を埋め込んだ4例の雄性ビーグル犬に経口投与した。いずれの動物にも溶媒及び3用量の化合物を、約1週間の休薬期間をおいてラテン方格または漸増法で投与した。心拍数、血圧、心電図を投与後24時間まで測定し、QT間隔についてはFridericiaの補正式を用いてQTcFを求めた。また陽性化合物については血中濃度を測定した。結果の解析は溶媒投与後24時間までの各測定ポイントにおけるQTcFの平均値を基準値とし、溶媒または各化合物投与時の各測定ポイントにおける基準値からの変化率を求めて比較した。

その結果、すべての陽性化合物は溶媒に対して10%以上QTcFを延長し、いずれも有意な変化であった。一方、陰性化合物ではNifedipineを除いて、いずれもQTcFの変化が10%以下であった。Nifedipineでは心拍数が著しく増加しており、さらに詳細な解析が必要と考えられた。

以上の結果、薬物により誘発されるQT間隔延長のリスク評価に、イヌテレメトリーモデルは有用と考えられた。

W4-4 QT Interval prolongation: Project for database construction, 3) サルテレメトリー試験のオーバービュー

安東賢太郎

日本製薬工業協会 QT PRODACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 3) Overview of monkey telemetry studies

Kentaro Ando

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODACT

As part of the QT PRODACT, the effects of 9 compounds thought to prolong the QT interval (positive) and 6 compounds thought not to have this effect (negative) on the QT interval were studied in conscious telemetered cynomolgus monkey in accordance with the standard test procedure as used in the routine safety pharmacology study. Some of positive compounds were failed to detect QTc prolongation significantly. These results may suggested that circumspect analysis is needed in conscious monkey study.

薬物の心電図QT間隔延長作用について、安全性薬理試験S7Bガイドラインの作成に寄与することを含め、製薬協QT PRODACT (QT Interval Prolongation: Project for Database Construction) としてデータベースの作成を行っている。そのin vivo評価の一環として、セトで心電図QT間隔を延長させると考えられる9化合物(陽性化合物: astemizole, cisapride, E-4031, haloperidole, MK-499, pimozone, quinidine, terfenadine, Thioridazine) 及びそのような作用がないと考えられる6化合物(陰性化合物)を選択し、無麻酔カニクイザルのQT間隔に及ぼす影響についてテレメトリーシステムを用いて検討した。

実験方法は通常実施される安全性薬理試験を想定して、QT PRODACTで作成した共通プロトコールに基づき、6施設で実施した。化合物はテレメトリー送信器を埋め込んだ4例の雄性カニクイザルに経口投与した。いずれの動物にも溶媒及び3用量の化合物を、1週間以上の休薬期間をおいてラテン方格または漸増法で投与した。心拍数、血圧、心電図を投与後24時間まで測定し、QT間隔についてはBazettの補正式を用いてQTcBを求めた。結果の解析は溶媒投与後24時間までの各測定ポイントにおけるQTcBの平均値を基準値とし、溶媒または各化合物投与時の各測定ポイントにおける基準値からの変化率を求めて比較した。また陽性化合物については血中濃度を測定した。

陽性化合物であるE-4031, MK-499, pimozone, quinidineでは溶媒に対して有意なQTcB延長がみられたもののhaloperidole, thioridazineではQTcB延長は認められなかった。CisaprideはほとんどQTcBの延長が認められない個体があり統計的に有意な延長は認められなかった。terfenadineは血漿中濃度を測定したが測定限界以下でありQTcBの延長も認められなかった。陰性化合物はいずれもほとんどQTcBを変化させなかった。

以上の結果は薬物により誘発されるQT間隔延長のリスク評価にサルテレメトリーモデルは有用ではあるものの血中濃度測定を含めたより慎重な解析が必要であることを示唆した。

W4-5 QT Interval prolongation: Project for database construction, 4) 麻酔イヌ試験のオーバービュー

田邊 弘行

日本製薬工業協会 QT PROTECT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 4) Overview of anesthetized dog studies

Hiroyuki Tashibu

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PROTECT, Tokyo, Japan

As a part of the QT PROTECT, the effects of 10 compounds thought to prolong QT interval (positive) and 8 compounds thought not to have this effect (negative) on QT interval were evaluated in isoflurane-anesthetized canine model in order to assess the usefulness of this model for detection of drug-induced QT prolongation in human. Experiments were conducted in five different facilities in accordance with the common protocol designed by the QT PROTECT. In all five facilities, repeated infusion of vehicle did not show any effect on QTc interval (Fridericia) and the common positive control compound, *d*-sotalolol, significantly prolonged QTc interval in anesthetized dogs. All positive compounds significantly prolonged QTc interval by more than 10%, while no negative compounds induced significant QTc prolongation. Moreover, the prolongations of QTc interval induced by positive compounds were dependent on their plasma concentrations. It is concluded that an isoflurane-anesthetized canine model is useful to detect the drug-induced QT interval prolongation in human.

薬物誘発性QT間隔延長に関するICH安全性薬理試験ガイドラインS7Bの作成に寄与すること、並びにデータベースを構築することを目的に、JPMA QT PROTECTでは種々のモデルを用いた共同研究が行われている。その一環として、イソフルラン麻酔イヌモデルを用い、ヒトでQT間隔延長及び心室性不整脈を引き起こすことが知られている10化合物（陽性化合物）と、その様な作用を惹起しないと考えられている8化合物（陰性化合物）を、QT PROTECTで定めた標準プロトコールに従い5施設で評価し、本モデルの有用性を検討した。

実験には雄ビーグル犬（体重8-13 kg; N = 3-4）を用い、チオペンタールNa（20 mg/kg, iv.）で導入麻酔後、人工呼吸下で酸素及びN₂O（2:3）をキャリアガスとして1-2%イソフルランにより吸入麻酔を行い、心電図第II誘導をモニターした。心電図パラメータ安定後、被験物質3用量及び溶媒を漸増法により30分間隔で10分間、静脈内持続投与した。陽性化合物については各投与開始10及び25分後の血漿中濃度を測定した。また、試験実施に先立ち、各施設において、溶媒を4回投与し、QTc間隔（Fridericiaの式）に対する溶媒の影響を評価すると共に、共通陽性対照化合物としてソタロールを用いて試験した。

その結果、すべての施設において、溶媒の30分間隔、4回投与によるQTc間隔への影響は認められず、また、ソタロールによる有意なQTc間隔の延長は検出された。すべての陽性化合物は溶媒に対して10%以上の有意なQTc間隔の延長を示した。一方、陰性化合物では有意なQTc間隔の延長は何れの化合物にも認められなかった。さらに、陽性化合物により誘発されるQTc間隔の延長は血漿中濃度依存的であった。従って、ヒトにおいて著明なQT間隔延長を誘発するすべての化合物は本イソフルラン麻酔イヌモデルにおいて10%以上のQTc間隔の延長を示すと推察される。

以上のことから、イソフルラン麻酔イヌモデルは薬物誘発性QT間隔延長を検出するモデルとして非常に有用であると結論される。

W4-6

QT Interval prolongation: Project for database construction, 5) オーバービュー、薬物誘発性QT間隔延長に関する安全域とリスク評価

小俣 武志

日本製薬工業協会 QT PRODUCT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 5) Overview. Safety Margins and Integrated Risk Assessment

Takeshi Omata

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODUCT, Tokyo JAPAN

QT PRODUCT is joint research project in which 44 pharmaceutical companies and 7 CROs in Japan has participated. In order to construct a database that is useful to evaluate non-clinical results of new chemical entities and support ICH S7B guideline, this project has been studying for 23 compounds using different test systems. Standard protocol was prepared for each test system based on the results of preliminary investigations. In APD assay, $APD_{50\%}$ that reflects I_K current was more sensitive than APD_{90} , and this test system is useful to detect of potential risk for drug-induced QT interval prolongation. Routine *in vivo* QT assays such as dog and monkey telemetry assays and anesthetized dog assay can detect the QT prolonging effects of almost positive compounds tested. For considering the safety margin, it was conceivable that the ratio (QTc/effective therapeutic plasma concentration) was a very useful parameter. These non-clinical safety data can contribute to the design of clinical "Thorough QT study" and its evaluation.

ワークショップ

JPMA QT PRODUCTは、ICH安全性薬理試験ガイドラインS7B作成に必要な非臨床試験データの提供とデータベース構築を目的とした共同研究プロジェクトであり、日本国内の製薬企業44社と受託企業7社が参加している。当プロジェクトでは、モルモット摘出心臓を用いた活動電位測定試験（APD試験）、イスとサルのテレメトリー及び麻酔イスの心電図測定試験（ECG試験）について、それぞれ標準プロトコルを作成し、11陽性化合物、11陰性化合物及び共通陽性化合物の作用を多施設で検討している。

APD試験においては、 $APD_{50\%}$ 値を指標にすることにより I_K blockerの作用を十分に検出できること、 $APD_{50\%}$ 値は薬物誘発性QT間隔延長のリスク評価に適していることなどが、新たな知見として得られた。ECG試験においては、いずれも標準的な解析方法で十分な検出感度と特異性を有していること、QTc間隔を10%延長させる血中濃度とヒトでのeffective therapeutic plasma concentrations (ETPC)との比 (QTc/ETPC) が安全域の評価に有用であることなどが明らかになった。これらのことから、APD試験及びECG試験のいずれも、臨床QT評価試験のデザインに必要な情報を提供できるものと考えられる。

その他、共通陽性化合物と対照群のデータを用いた施設間差、統計解析手法 (JPMA統計DM部会の協力)、QT補正式、ECG詳細解析 (detailed QT-RR analysis)、PK/PD解析、各モデル間の比較や安全域などについても検討され、多くの知見が得られている。

本発表では、安全域とリスク評価の他に、前演者による各試験のレビューにおいて紹介されないデータについても報告する予定である。

W4-7 臨床からみたQTに関する非臨床試験

伊藤 眞紀

塩野義製薬(株) 医薬開発部

QT interval evaluation in non-clinical study and in clinical study

Maki Ito

Shionogi & Co., Ltd.

The QT interval prolongation is focusing now in developing new drugs, S7B guideline (Guideline on Safety Pharmacology Studies for Assessing the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals) and E14 preliminary concept paper (The clinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-antiarrhythmic drugs) have been discussed in this point. The E14 guideline demands that thorough QT/QTc study would be needed in almost all cases in new drug or route of administration is being developed that results in significantly higher C_{max} or AUC values. In this point, the both of data in non-clinical study and Thorough QT/QTc should be key points to develop new drugs rapidly. From non-clinical study (in vitro, in vivo data) and electrocardiogram, PK/PD, adverse events and indications in clinical about several drugs would be discuss based on the published papers in conjunction with ICH E14 discussion.

近年、QT間隔延長のリスク評価が問題となってきている。QT間隔を延長しTorsades de Pointes (TdP) といわれる致死性心室性不整脈を誘発することが報告されており、抗不整脈薬などの循環器作用薬ばかりでなく、抗アレルギー薬、精神神経疾患治療薬、抗生物質、消化器作用薬によって誘発される後天性(2次性)QT延長症候群が注目されている。その結果としていくつかの薬剤がQT延長作用とそれに伴うTdPを含む心室性頻拍不整脈を示した非循環器作用薬が市場から消えることとなった。このような状況下で医薬品開発段階の前臨床安全性薬理試験でいかにQT間隔延長作用を予測しうるかが重要な課題になっており、日米欧の行政と製薬企業が中心となって安全性を確保するための評価基準として「ヒト用医薬品による心室性再分極遅延(QT間隔延長)のポテンシャル評価のための安全性薬理試験ガイドライン」(S7B) および「抗不整脈薬でない薬剤のQT/QTc間隔延長と不整脈能の臨床評価(E14)」についてのガイドラインの作成が検討されている。すでに米国では一部の新規開発化合物においてThorough QT/QTc試験(QT間隔延長を高感度で検出するための試験)が実施され、臨床でのQT/QTc間隔の評価が行われている。Thorough QT/QTc試験がほぼすべての新規開発化合物や C_{max} やAUCが高くなる場合の適応拡大の際に要求されようとしているなかで、いかに非臨床試験結果とThorough QT/QTc試験の相互結果を用いて安全かつ迅速な開発ができるかが問題となる。そこで本発表では、数種の薬物に関して文献的調査を行い、非臨床試験；in vitro試験(HERG, APD) およびin vivo試験(テレメトリーなど)と臨床試験のPK/PDや心電図評価、市販後における安全性と適正使用についてE14の会議の結果を踏まえ、総合的な検討を行う。

パネルディスカッション

PD1

免疫毒性研究における新たな方向性

佐藤 哲男

千葉大学

Recent Status and Future Perspectives of Immunotoxicology

Tetsuo Satoh

Chiba University

During last decades, it was evidenced that potential immunotoxicity of drugs and chemicals might be associated with significant increase in incidence and severity of side effects of drugs. The scope of this Roundtable "Recent Status and Future Perspectives of Immunotoxicology" is to present the current state of the art of this important field.

The awareness of immunotoxicology has led to an intensified and controversial discussion within the different Guideline Committees to address this important field adequately in preclinical studies. In this Roundtable, titled "Measurement of Potency in Allergic Sensitization to Chemicals" Dr. Ian Kimber will address the novel method for predictability of skin sensitization associated with allergic contact dermatitis. Specialized animal models and modified study designs in preclinical immunotoxicology studies are of increasing importance. Dr. Hisada's presentation entitled "The ICH Guideline and the Role of Histopathology in Immunotoxicity Testing" is contributing the toxicological pathologists's view in his talk. Pathologists are playing an increasing role with their interpretation of immunotoxic effects. Finally, in the Roundtable we will try to figure out future development trends in the assessment of new drugs in immunotoxicology.

免疫毒性は医薬を含む化学物質の生体への有害作用を考える上で極めて重要な領域である。その進歩は目覚ましく、国際的にもその研究は急速に進歩している。免疫毒性物質の免疫系への作用機序は、抗原性物質として過剰または異常な免疫応答を誘発する場合と、生体防御反応である正常な免疫応答の誘発を障害する場合に大別される。最近では、遺伝子組み換えや、キメラ抗体、ヒト化抗体などに基づく薬物が開発され、それによる副作用も免疫毒性の重要な対象となっている。

薬物の免疫反応に関する毒性は、主に薬物アレルギーについて考えられてきたが、最近では免疫毒性は次の三つに分類されている。すなわち、薬物あるいはその代謝物が、(1) 抗原性を示すことにより引き起こされる薬物依存的なアレルギー反応、(2) 自己抗体の産生を誘導し、それに引続いて引き起こされる自己免疫反応、(3) 免疫細胞への特異的あるいは非特異的な作用により、免疫細胞の障害や増殖阻害あるいはその機能の障害を引き起こすことにより生じる免疫抑制である。

一方、これらの免疫毒性の試験法についても多くの新しい手法が報告されている。一般に、薬物の免疫毒性試験には、薬物の免疫毒性とその機序の解析のための探索試験と、薬物アレルギーを中心とする免疫毒性の臨床症状が生じたときに、原因薬物を特定するための検査試験がある。マウス、ラットなどのげっ歯類を用いた実験動物による探索試験としては、(1) 直接的免疫毒性の試験法、(2) アレルギー誘発能試験、(3) 自己免疫誘発能試験などがある。また、ヒトにおける薬物アレルギーの検査法としては、(1) III型薬物アレルギーの検査法、(2) IV型薬物アレルギーの検査法などが知られている。

本パネルディスカッションでは、医薬品開発に必要とされるこれらの免疫毒性試験法に関する最新の話題と、規制の立場からの重要性についてIan Kimber先生 (Syngenta CTL, UK) と久田 茂先生 (帝國機器製薬 (株)) に解説して頂く予定である。

パネルディスカッション

PD1-1 Measurement of Potency in Allergic Responses to Chemicals

Ian Kimber

Syngenta central Toxicology Laboratory, UK

Chemical allergy may take a variety of forms. The most common manifestation is skin sensitization associated with allergic contact dermatitis. There are methods available for the identification of skin sensitizing hazard. However, there remains a need for approaches that will allow the measurement of the relative potency of skin sensitizing chemicals as an important first step in the risk assessment process. This is particularly relevant for allergic contact dermatitis as the evidence available suggests that chemical allergens can vary by up to four orders of magnitude with respect to their relative potency (defined here as a function of the level of exposure required to effect the acquisition of skin sensitization).

One approach that has received considerable attention recently is based upon consideration of dose-responses induced by skin sensitizing chemicals in the local lymph node assay (LLNA). Using this method it is possible to estimate for contact allergens an EC3 value; this being the concentration of chemical required to provoke a 3-fold increase in proliferative responses in draining lymph nodes (a 3-fold increase in proliferation being the threshold in the LLNA for classification of chemicals as skin sensitizers).

The utility of EC3 values in the assessment of skin sensitizing potency has been evaluated recently in both Europe and the USA. In both cases experienced clinical dermatologists were asked to rank panels of skin sensitizing chemicals and to classify them according to likely relative potency based upon clinical experience and human data. These investigations revealed a close correlation between EC3 values derived mathematically from LLNA dose responses and classifications of potency as judged from clinical experience.

It should be possible to supply the same approach to assessment of other forms of chemical allergy. What is required is identification of one or more robust markers that are causally and quantitatively associated with the extent to which allergic sensitization is acquired.

PD1-2 Role of histopathology in immunotoxicity evaluation

Shigeru Hisada

Safety and Pharmacokinetics Research Department, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd., Japan

In the immunotoxicity testing guidelines of the three ICH regions, repeated-dose toxicity study has a key role at the first step of immunotoxicity evaluation of medicinal products and histopathological examination is regarded to be very important because of its high detectability of immunotoxic changes.

In many cases, changes in immune functions accompany morphologic changes in lymphoid organs (especially at MTD levels). Lymphoid organs have a feature that a specific immunocompetent cell population is distributed in a specific area. In the thymus, immature CD4CD8-double negative and double positive cells are distributed over the cortex and mature CD4 or CD8 single positive cells are over the medulla. T cell and B cell areas are distinguished in the spleen (periarteriolar lymphoid sheath vs. lymphoid follicle), lymph nodes (paracortex vs. cortex containing lymphoid follicle and interfollicular area) and Peyer's patches (parafollicular area vs. lymphoid follicle).

Paying attention to these characteristic areas (compartments), histopathologic evaluation of lymphoid organs nearly equal to flow cytometry about the kinetics of T and B cells could be achieved by observing changes of size and density of lymphoid cells for every compartment. Moreover, immunocompetent cells other than lymphoid cells are also distributed over lymphoid and non-lymphoid organs. Therefore, changes of immune system could be broadly grasped by histopathological examination of lymphoid organs and non-lymphoid organs and tissues such as the liver, kidney and skin. This is considered to be a big advantage at the screening stage of immunotoxicity as compared with the immune function tests or flow cytometry, each of which can find out only intended immunological changes to be measured.

However, in order to increase the detection sensitivity of immunotoxicity by histopathology, a different view point from the routine histopathology in general toxicity studies is needed. Microscopic views of lymphoid organs usually show large individual differences. Therefore, the definition of "normal" change is important in histopathologic examination. It is recommended that the tissue image which not "all" but "many" control animals show is judged to be normal, and the changes which a part of control animals show are recorded. By carrying out like this, changes that are noted in a part of control animals and that statistically increase in incidence and/or degree in the test substance dosed groups could be detected.

The problem of histopathology in immunotoxicity screening is what kinds of and how many medicines that show immunotoxicity without histopathologic changes in preclinical studies. In order to clarify the point, immunotoxicity data survey has been conducted by ICH-S8 EWG. The ICH immunotoxicity testing guideline is to be decided based on this result.

PD2

毒性質問箱2004

「岐路に立つトキシコロジー：トキシコロジストの教育を考える」

海野 隆^{1,4}、門田 利人^{2,4}、玄番 宗一³

¹日本オルガノン、²日本ベーリンガーインゲルハイム（株）、³大阪薬科大学、⁴安全性評価研究会

Toxicology at Crossroads: Prospect of Training for Young Introduction

Takashi Unno^{1,4}、Toshihito Kadota^{2,4}、Munekazu Gemba³

¹Nippon Organon, ²Boehringer Ingelheim, ³Osaka University of Pharmaceutical Science,

⁴Safety Evaluation Forum

Up to now, most toxicologists have been trained on the job. However, many toxicology facilities in Japanese pharmaceutical companies have been currently reduced or closed. Therefore, a new training system needs to be developed. This panel discussion has been organized to consider how young toxicologists should be trained, and how knowledge and skills should be transferred to the next generation.

製薬企業のトキシコロジー研究は現在岐路に立っている。多くの外資系ならびに国内の製薬企業の安全性研究施設は縮小、閉鎖されるとともに、安全性研究は受託研究機関（CRO）に外注され、安全性試験実務を経験できる現場が急激に失われてきている。製薬企業におけるトキシコロジー研究は、レギュラトリートキシコロジーから創薬・探索トキシコロジーにシフトしてきているためである。ICHにより安全性試験資料はグローバルに共有化され、申請資料はコモンテクニカルドキュメント（CTD）により世界統一フォーマットを使用し、作成作業は効率化されてきている。これは安全性試験担当者が総合的に安全性データをまとめ、とくに外資系企業では独自に判断できる機会が少なくなっていることを意味する。

トキシコロジー（毒性学）の講座を持つ大学は極僅かであり、その教育内容が安全性試験現場の要望に合っているかは論議を要するところである。新卒者の関心は脚光を浴びる創薬に注がれ、地味なレギュラトリートキシコロジーを希望する人は比較的少ない。認定トキシコロジスト制度は定着し、毎年優れた安全性研究者が認定されていることは喜ばしいことであるが、実務でその能力を発揮できる認定トキシコロジストは極一部かもしれない。

これまで各製薬企業は実務教育を通じ数年から十数年かけて安全性研究者を養成してきた。しかしながら現在、医薬品開発のために安全性データを評価し、安全性報告書を作成できる研究者が生まれる土壌が急激に失われつつあるのは事実である。さらに、上記のように年月をかけて養成された安全性研究者も企業の都合により、別の部署に異動することも少なくない。

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。すなわち「毒性質問箱」そのものが安全性研究者の教育に寄与してきたとも言える。しかしながら製薬企業、CRO、行政、大学のそれぞれの立場から建設的な意見を得て、トキシコロジストの教育について論議する機会はなかったように思われる。

上記のような状況を踏まえ、今後トキシコロジストはどのように育成され、現役のトキシコロジストが持つその知識・技術を次世代にどのように継承して行くべきか、総合的判断ができるトキシコロジストを今後どのように確保し、養成していくかを考えるとともに、将来の展望を見出すため、このパネルディスカッションを企画した。

PD2-1

毒性質問箱2004

「岐路に立つトキシコロジー：トキシコロジストの教育を考える」

佐神 文郎

エーザイ（株）

Toxicology Question Box 2004

Toxicology at Crossroads: Career Development and Opportunities for Toxicologists in Pharmaceutical Industry

Fumio Sagami

Eisai Co., Ltd.

Toxicology research in drug development is an integrated science, consisted of wide range of expertise, such as medicine, pharmacy, veterinary medicine, agriculture and basic science. Just having one of the above university degrees is not enough to become a toxicologist with real expertise in drug development, unless more additional on-the-job experience and knowledge is gained.

In the pharmaceutical industry, scientists with degrees such as pharmacy or veterinary medicine, receive on-the-job training on conducting toxicology studies to develop their toxicity evaluation capability, as defined in the toxicology evaluation training program. Their capability would be developed, as they conduct investigations of more candidate compounds. However, it is not all enough. To be toxicology experts in drug development, they also need to experience more focused investigations, for example, research of toxicological mechanism.

On the other hand, it is often said that there are now fewer opportunities in the pharmaceutical industry for toxicologists, due to the increased contracting-out of toxicology studies. However, it should also be noted that many of such studies are routine GLP studies and that there are actually more opportunities in exploratory toxicology within the pharmaceutical industry today. For example, toxicology evaluation of series of derivative compounds would give them valuable experience and insight by observing onset of characteristic toxicity for these derivatives or their pharmacological action. Such experience and knowledge would also be useful to develop more integrated toxicity evaluation expertise, which should be more acknowledged in the qualified toxicologist examination. JST Annual Meeting should also be a good venue for toxicologists to motivate themselves by joining active discussions with peers on up-to-date toxicity evaluation.

医薬品開発におけるトキシコロジー研究は学際的研究であり、医学、薬学、獣医学、理学、農学など、幅広い学問分野の総合的な知識が必要であり、これらの個々の学部を卒業しただけでは、真のトキシコロジストにはなり得ない。そのためには更に多くの知識の習得が必要である。製薬企業においては、薬学、獣医学などの基礎研究を修了した研究者においても、毒性評価の教育プログラムに従って、OJTで実際の毒性試験を経験しながら、その評価能力を養成してゆく。したがって、最初はいかに多くの種類の候補医薬品の毒性評価を行ったかが、その評価能力に影響してくると思われる。しかし、ただ単にその候補医薬品の毒性評価を行っているだけでは、トキシコロジストとしての育成は不十分であり、たとえば、一つの毒性発現機序の解明に取り組むなど、専門性を持った研究者となり、始めてトキシコロジストとしての芽が見え始めると考えられる。今回のパネルディスカッションの背景となった、製薬企業における外部委託による実際の試験に従事する毒性研究者の職場の減少は、その意味では危機的な状況とも言えるかもしれない。しかし、試験の外部委託の多くは定型的なGLP試験であり、探索段階の毒性研究は、むしろ増えてきているのではないと思われる。その意味では、探索毒性試験による化合物の一連の誘導体の毒性評価は、その誘導体あるいは同一薬効群の特徴的な毒性の発現様式を体得することができるなど、トキシコロジストとしての能力が養成される場は決して少ないとはいえない。また、体系的な毒性発現様式についての知識を整備することも、総合的な毒性評価能力を得る意味で重要であり、これには、トキシコロジストの認定試験への取り組みもまた、必要であろう。今後は、より最新の毒性評価技術、知見について、トキシコロジストが一堂に会して議論する場として、本トキシコロジー学会年會がより活性化されることが、その解と考える。

1247-277527

PD2-2 トキシコロジストの教育を考える - 受託機関の場合 -

宮脇 宏彰

(株)新日本科学

Training for toxicologists in contract laboratories

Hiroaki MIYAJIMA

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

In recent years, there has been an increase in the outsourcing of toxicity studies from pharmaceutical companies to contract laboratories, and this is a matter of increasing importance to toxicologists in those laboratories.

In this workshop, I would like to talk about the current situation regarding training and associated problems for toxicologists in contract laboratories.

はじめに：

広く人材の育成を考える場合、未来はいつの時代でも若者たちのものであり、絶えず若いトキシコロジストに行動する意欲を植え付けることが大切である。トキシコロジー業界は知的集約産業であるから人材の育成に当たってはトキシコロジストとしての責任と自覚のもとに関連認定制度の活用や毒性学及び周辺学問の急激な進歩に対応した生涯教育は欠かせないものであろう。

受託機関の場合：

教育の基本はOJTであるが、具体的には入社時～経験1年時、経験1年時～試験責任者、試験責任者以降と大別して3種類の育成計画を立てている。また、化学物質等安全性試験受託研究機関協議会（安研協）は現在23機関が加入しているが、生データが発生する現場を担当する試験従事者の動機付けと技術向上を目的に認定制度を設けて今日に到っている。過去4回の認定試験で、784名の安研協認定技術者が誕生した。その他に日本トキシコロジー学会認定トキシコロジストなど12種類に及ぶ認定試験を目指して研鑽している。

新日本科学はアメリカにも受託試験施設を持っているが、在米従業員もほぼ日本と同様で、試験責任者はDABT (Diplomat of the American Board of Toxicology)、臨床検査関係者はMLT/ASCP (Medical Laboratory Technician, The American Society for Clinical Pathology) など11種類の各種の認定試験を目指して自己研鑽をしている。

終わりに：

近年、いずれの受託機関も多忙な業務に追われており、トキシコロジストの任務は益々重要性を増している。試験責任者および分担責任者については、積み上げられた数多くの事実から科学的理論を構築するに当たって、最新の科学と理論を絶えず習得しておくことが肝要であるし、試験従事者についても発生した個々の事実（生データ）を正確に把握し、正しく記録し、多くの実験事実を正確に積み上げることが求められている。これらの自己研鑽には各種の認定制度を有効に活用し、絶えず技術向上に刺激を与えると同時に、広く関連分野に積極的に呼びかけて共に学び共に成長し続ける気持ちが必要であろう。

PD2-3 大学におけるトキシコロジストの養成：大学でのトキシコロジー教育の現状 和久井 信 麻布大学獣医学部動物応用科学科 比較毒性学研究室

TOXICOLOGY EDUCATION IN UNIVERSITY OF JAPAN

Shin Wakui

Laboratory of Toxicologic Pathology, Department of Animal Science and Biotechnology, Azabu University School of Veterinary Medicine, Japan

Toxicology is the qualitative and quantitative study of the injurious effects of chemical and physical agents or energy on living organisms or ecosystems as observed by alterations in structure or response. The undergraduate education system of toxicology in the university of Japan has mainly been conducted at the pharmaceutical department, the medical department, the department of veterinary medicine, and the department of science. Moreover, recently, some other departments; the department of environmental science, the department of environmental health, the department of animal science, *et al.* set up the courses concerning toxicological sciences; such as the environmental toxicology, the ecotoxicology *et al.* However, at the present day of the university in Japan, regrettably, there are few departments conduct the systematic toxicology program provides educational and professional training of environmental and mammalian toxicology. As the present state of toxicology education in the university of Japan, the subjects in the undergraduate courses were introduced into our university program.

PD2-4 国立医薬品食品衛生研究所におけるトキシコロジストの教育について

大野 泰雄

国立医薬品食品衛生研究所

Education of Toxicologist in National Institute of Health Sciences.

Yasuo Ohno

Division of Pharmacology, Center for Biological Safety and Research, National Institute of Health Sciences.

Education system for JST members is explained in relation to certified toxicologist (DJST). 227 DJST have been qualified by both their experiences and by the results of examination. They are obliged to continue to keep up with the progress of toxicology. NIHS is a research institute responsible for the safety of drugs and the other chemicals and the members contribute to many national committees for safety evaluation. Education for them based mainly on their own efforts and training on the research activities. Cooperation with national committee and international organizations also afford a good chance for a better toxicologist.

医薬品や農薬、食品添加物、環境汚染物質等の安全性試験の実施やその結果の評価において、レベルの高いトキシコロジストは極めて重要であり、その育成はトキシコロジー学会にとって重要な課題である。レベルの高いトキシコロジストとは毒性学について幅広い知識を有するとともに、特定の分野における研究経験と深い知識を有する者であり、その知識を常に up to date している者と考えている。トキシコロジストの判断は時に社会に大きな影響を与える可能性があることから、高い倫理性が要求される。このようなトキシコロジストを育成・確保するため、学会では各種の講習会やシンポジウムを開催している。毎年夏に実施される認定トキシコロジスト受験のための講習会は広い知識を身につけてもらう事を目的としている。大会時に催される生涯教育講習会は一般的知識を更に深めるために行っている。学会時のシンポジウムや研究発表により先端的知識を得ることができる。認定トキシコロジスト制度はレベルの高いトキシコロジストを認定し、育てる手段として位置づけられている。現在227人が認定されている。原則として受験者は大卒で5年以上のトキシコロジー分野での実務経験と論文や学会活動等の履歴が一定レベルに達していることが要求されるとともに、認定試験で70%以上の正答が基準とされている。また、認定者の5年毎の資格更新に際しては学会活動や認定試験問題作成がチェックされる。これは継続した自己啓発の有無を確認するためのものである。また、更新試験で80%以上の正答が必要である。この制度により、トキシコロジストとしての自覚が更に高い目標に達するきっかけとなると期待している。

国立衛研においては多くの職員が研究或いは各種の公的委員会を通じて、医薬品や食品添加物、農薬等の安全性確保に責任を負っている。そのためにはレベルの高いトキシコロジストを確保してはならない。また、研究員は研究実績を上げ、関連学会でそれなりの地位のある研究者となる事が求められる。そこで、まず、公募により広く人材を募集し、公正な審査で、優秀かつ国立衛研に適した人材を確保するよう努力している。採用後の育て方は部に任されており、日常の研究活動および部内のセミナーを通じた自己啓発が中心であるが、所内の各種委員会への参画も教育の一環として考えられている。関連学会やセミナーへの参加や発表、様々な公的機関の主催で行われる新たな技術の講習会への参加が推奨されている。各種審議会や国際会議への参画も多くの情報を得るとともに、責任ある対応を行うための勉強が欠かせないことから、教育の場としてとらえることも可能である。一方、多くの研究職員は35才未満に海外に留学し、経験を積むとともに、新たな研究分野の開拓が期待されている。また、室長、部長への昇進に際しては、採用時と同様に公募が原則であり、外部研究者との競争に曝される。

セミナー

Sm-1

「労働医学における性差」－「性差医学入門の意義」

荒木 葉子

NTT東日本首都圏健康管理センター東京健康管理センター

Gender issues in safety and health at work

Yoko Araki, M.D., Ph.D.

Director, Nippon Telegraph & Telephone East Corporation, Tokyo Health Administration Center

In 1985 the Equal Employment Opportunity Law was enacted, Japanese women's working style has changed dramatically. Now women's share of workforce grew up to 42%.

Women and men are exposed to different workplace environments and different types of demands and stressors. Women are concentrated in low-paid, precarious work and this affects their working conditions and the risks they are exposed. Regarding chemical exposure, asthma, allergies, skin problems appear to be more common among women than men. However many occupational safety and health standards and exposure limits to hazardous substances are based on male populations or laboratory tests and relate more to male work areas. The eyes to women are often neglected.

There are fourteen recommendations in the book "Exploring the biological contributions to human health. Does sex matter?", which will help us to promote gender & sex-sensitive science and medicine, and finally to establish "equal" society.

1985年の男女雇用機会均等法以来、女性の働き方は激変してきている。1998年には女性の深夜業務が解禁となり、母性以外は男女平等で働くという流れが定着した。

男性と女性は生物学的にも社会的な役割にも差がある。そうした中で性差に対して「平等」というのは如何なる意味を持つのだろうか。そうした疑問が性差医学入門（原題:Exploring the biological contributions to human health. Does sex matter?）を訳す原動力になった。

平成13年の統計によれば、女性の労働力人口は約2760万人で、全体の約4割になった。妊娠出産期に離職する率が高く、短時間労働が多く、サービス業、事務職などが多い。賃金は男性の約6割で管理者比率が少ない。外傷は少ないが、VDT作業や単純繰り返し作業による頸肩腕症候群、精神労働に伴うメンタル不全が多いのが特徴である。

化学物質に関しては、現在、我が国の産業界で使われている化学物質は、約55,000種類を数え、更に増えつつある。女性の方がアレルギーや喘息が起こりやすい、皮膚疾患が多い、物質によっては、女性の方が発がん性が高いものも報告されているが、発がん性、生殖毒性、神経毒性等などに男女差があるのか、性別許容濃度を設定すべきか明かにされていないものも多い。妊婦以外の女性に対する対策は乏しく、非正規雇用者の場合への規制も十分ではない。

性差医学入門第5章「性は健康に影響を及ぼすか」では、薬物代謝の男女差が詳細に述べられている。曝露、感受性、吸収、分布、代謝には明かな性差があり、女性の場合は、年齢、卵巢機能、月経周期によって更に違いがあることが明かにされている。性差医学に関して、14の提言がなされており、出来る限り生物学的性差（セックス）と社会文化的性差（ジェンダー）を分けて分析すること、研究材料の由来する性を出来るだけ開示すること、学術論文や公的資料には性別のデータを示すことなどが掲げられている。

Toxicologyの分野でも性を変数として組み込まれた研究がなされることを期待したい。

Sm-2

脳におけるセックス差とジェンダー差

貴邑富久子、船橋 利也、美津島 大、高瀬 賢吉
横浜市立大学大学院医学研究科神経内分泌学部門

Sex differences and gender differences of the brain

Fukuko Kimura, Toshiya Funabashi, Mitsushima Dai, Kenkichi Takase

Department of Neuroendocrinology, Yokohama City University Graduate School of Medicine

Humans have both sex differences and gender differences. Sex is defined as the classification of structures and functions which are assigned by the chromosomal complement, and gender as the classification of those produced by environmental stimuli provided differently depending on the sex. Thus, the sex is said biological and the gender is social and cultural. This is true for either the body or the brain. In the brain, sex develops prenatally in the so-called old brain including the phylogenetically old amygdala and hypothalamus. The old brain has structurally and functionally bimorphic nuclei, which control gonadotropin release, stress hormone release, autonomic nervous system, feeding behavior, sexual behavior and aggressive behavior, and thus those functions are apparently different between sexes. Gender is considered to be produced postnatally in the new brain, which includes the neocortex and hippocampus, by the action potential caused by sensory stimulations being different in both the nature and magnitude between sexes. This gender may constitute the foundation of sexually different, if present, cognitive and learning abilities as well as behaviors.

ヒトは、生物学的な性とともに、社会的・文化的に形成される性をもっている。最近、私は、社会的・文化的性であるジェンダーに対して、生物学的性をセックスと呼ぶことにした。ここでジェンダーは、セックスに基づく性役割に対応して個体に形成される構造的、機能的な性と定義する。ヒトの身体レベルでは、その生理機能だけでなく疾患にもセックスのみならずジェンダーの効果が色濃く発現している。例えば、生活習慣病の一義的な因子はジェンダーと言えると考えている。男性は女性よりも激しい社会活動を性役割として科せられているがために、その負荷によって生理機能に障害を受け、疾患にまで陥りやすい。生理機能と疾患におけるジェンダー差が発現する。脳のレベルにもセックスとジェンダーがある。どの仮説を私は提唱している。個体発生的に早くに発生する古い脳、辺縁系や視床下部には、その構造と機能に男女で異なる性的二型性がある。その発生は出生前に大部分が行われ、これはセックスである。一方、個体発生的に遅くに発生する新しい脳、新皮質でも構造と機能が男女で異なる可能性がある。しかし、おそらくそれらは出生後に作られ、これがジェンダーである。脳科学的に、神経系の発生過程は、出生前の遺伝子によって制御される初期過程と、出生後、環境、さらにはそれによって引き起こされるニューロンの電気活動に依存した後期過程に大別されている。この脳科学理論と神経内分泌学の知識をあわせ考えると、古い脳のセックスは、この初期過程に精果決定遺伝子依存の過程が重畳することにより成立すると推測される。新しい脳のジェンダーは、出生後の後期過程を駆動する環境が、セックス。したがって性役割によって異なることに依存して成立する。その結果、認知機能や、思考・行動などに性差が生じると考えられる。身体と脳に、ジェンダー差が形成されることのない環境が理想である。

Sm-3

フォルマリン誘発侵害刺激に対する中枢神経系の反応の性差

船橋 利也、萩原 裕子、貴邑富久子
横浜市大院・医・神経内分泌学

Sex differences in the response of the central nervous system (CNS) to formalin-induced nociceptive stimuli

Toshiya Funabashi, Hiroko Hagiwara, Fukuko Kimura.
Yokohama City Univ. Grad. Sch. Med.

We examined whether there was a sex difference in the response of the CNS to formalin-induced nociceptive stimuli by checking the expression of phosphorylated cAMP response element binding protein (pCREB) as a marker of neural activity in the accumbens nucleus (ACB) and the lateral subdivision of the anterior part of the bed nucleus of the stria terminalis (BST). Immunohistochemical studies revealed that 2% formalin injection into the right hindpaw significantly increased the number of pCREB cells in the ACB and BST only in female rats at proestrus and diestrus but not in male rats, compared to that after saline injection. The effect of formalin at proestrus was more effective than at diestrus. In female rats, gonadectomy attenuated this response of the ACB and BST neurons and replacement of either estrogen or testosterone recovered it. In male rats, gonadectomy and replacement of testosterone did not affect the response, but replacement of estrogen increased the response of the BST neurons. The result of the present study indicates a sex difference in the CNS response to formalin-induced nociceptive stimuli and estrogen may be involved in this mechanism.

セミナー

一般に痛覚刺激に対する感受性には性差のあることが知られている。例えば、フォルマリン侵害刺激には、雌性動物の方が過敏であると言われている。そこで本研究では、脳内の反応に性差があるか否かを検討した。雄性および雌性ラットを用いて、フォルマリンを右足底皮下に投与し、5分後に免疫組織化学により側座核および分界条床核外側部のpCREBの発現細胞数を計測した。その結果、雄性ラットではいずれの部位でも有意な変化は認められなかったが、雌性ラットでは、これらの部位のpCREB発現細胞数は、フォルマリン投与により有意に増加した。この痛みへの反応（抗痛み反応）は、非発情第1日と比較して、発情前期において有意に大きかった。また、雌性ラットでは性腺摘除によりこの反応は消失したが、エストロジェンもしくはテストステロンの補充により回復した。雄性ラットでは、性腺摘除およびテストステロン補充は抗痛み反応に影響を及ぼさなかったが、分界条床核においてエストロジェン補充により反応が出現した。以上より、フォルマリン侵害刺激に対するこれらの神経核の反応には性差のあること、その性差形成にエストロジェンが関与していることが示唆された。

Sm-4

性差医療：米国から日本へ

天野 恵子

千葉県衛生研究所

Gender – Specific Medicine (GSM) : From United States to Japan

Keiko Amano

Chiba Prefectural Institute of Public Health

性差医療Gender – Specific Medicineとは、男女比が圧倒的にどちらかに傾いている病態、発症率はほぼ同じでも、男女間で臨床的に差を見るもの。いまだ生理的、生物学的解明が男性または女性で遅れている病態、社会的な男女の地位と健康の関連などに関する研究をすすめる。その結果を疾病の診断、治療法、予防措置へ反映することを目的とした医療改革である。性差医療の概念は、米国における女性の医療の見直しから始まった。米国では1960年代のサリドマイド事件（妊娠初期にサリドマイドを含む眠剤を服用した女性から四肢に障害を持つ子供が生まれた）、1970年代のDES医療事故（妊婦に流産防止の目的で投与されたdiethylstilbestrolにより、出生女児の膣がんが誘発された）の悲劇を重く見て、妊娠の可能性のある女性を薬の試験に加えることは好ましくないというガイダンスが米国食品・医薬品局（FDA）から1977年に出された。その後、女性生殖器および乳腺の悪性腫瘍を除くと、多くの生理医学的研究における臨床試験が、対象から女性を除外し、男性をモデルとして計画され、その研究結果があたかも疾病病態が女性でも同じであるかのごとく、何の疑問も無く女性に当てはめられてきた。余りにも少ない女性の健康に関するデータに対し、1985年米国公衆衛生省は、「全ての年齢の女性において、女性に特有な病態についての生物医学研究が行なわれるべきである」との特別専門委員会報告を出した。NIHは1986年、女性および少数民族・人種を調査研究の対象に含むことを義務づける通達を公布し、1990年には、女性における疾病の予防、診断、治療の向上と、関連する基礎研究を支援する目的で、Office of Research on Women's Health-ORWHを開設した。FDAは、1993年に1977年の通達を廃止し、「gender/sex differencesを明らかにする為、女性を臨床試験の段階で対象者数の半分加えることが望ましい」とのガイドラインを出した。また、1994年にはFDA内にOffice on Women's Healthが開設され、1995年には医薬品の開発における性差の影響を明らかにするための科学の探求と政策展開を視野に置いた。「Gender Studies in Product Development: Scientific Issues and Approaches」と題するワークショップが開催された。この会で、「多くの性差を探求しつづけることが、性差に対応したより良い診断方法、治療法をもたらし、両性において最も良質なケアを提供する」との提言がされた。1998年には、薬剤試験におけるgender/sex, age, race differencesに関する検討が「New Drug Applications」により義務付けられ、今日にいたる。日本での現状は如何？。

Sm-5

薬剤性誘発QT間隔延長に関する性差

鬼頭 剛

(株)新日本科学

Gender differences in risk of QT prolongation induced by drugs

Go Kito

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Some reports have noted that women are at a higher risk than men for drug-induced torsades de pointes (TdP) with almost all antiarrhythmic drugs and many other types of drugs. The mechanism of this gender difference is unknown. However, there are several explanations for differences between women and men, which has proposed differences in the effects of sex hormones on ion channels and autonomic tone, and in the architecture of the heart. Animal studies have identified estrogen receptors in cardiac myocytes. Estrogen has been shown to prolong action potential durations (APDs) in ventricular myocytes and papillary muscle. Furthermore, it is demonstrated that estrogen is to influence both I_{kr} and I_{ks} in single myocytes or papillary muscle preparations. Recently, it has reported that female mouse ventricle myocytes have longer APDs than male. We have carried out the new study to determine whether there are the sex differences in QT interval between female and male primates.

【背景】

Astemizole や cisapride 等のような抗不整脈薬以外の薬剤が、時には心電図のQT間隔を延長し、torsades de pointes (TdP) といわれる致死性心室性不整脈を引き起こすことは周知の事実である。薬剤誘発性のQT延長、およびTdPの発生率は、男性に比較して女性に多いことが数多く報告されている。しかし、この性差の機序についてはほとんど明らかにされていない。また、前臨床試験の催不整脈評価系において性差は全く考慮されていない。今回は、臨床における薬剤誘発性QT延長、TdPの発生率の性差、および最近の動物実験における心室筋の I_{kr} およびHERG電流の性差に関する文献を紹介し、最後に我々が現在行っている成績を述べる。

【臨床における報告】

QT間隔に関して性差があることは、既にBazett (1920) によって紹介されている。QT間隔は、思春期前において男女差を認めていない。二次性徴を過ぎると、男性のQT間隔のほうが女性に比べて短くなり、さらに心拍数も少なくなる。先天性のLQTSを有する女性の多くはこの時期に最初の兆候が現れてくる。一方、薬剤誘発性の致死性心室性不整脈を引き起こすQT延長も成人女性に多く発生してくる。TdP誘発の危険性が報告されている薬剤の約50%が女性において3倍以上多くTdPを発生している。ところで性差の原因について、①イオンチャネル機能への性ホルモンの作用、②自律神経緊張の相違、③心臓の構築性の相違などが挙げられているがその機序についてはほとんど不明と言って良いだろう。

【動物実験の報告】

QT延長を裏付ける証拠として、①心室筋細胞におけるestrogen受容体の存在およびestrogenによる心室筋細胞および乳頭筋の活動電位持続時間 (APD) の延長、②上記組織の I_{kr} 、 I_{ks} に対するestrogenの直接効果、③マウスの心室筋のAPDにおいて雄性より雌性のほうが長い、④testosteroneはHERGを抑制する等の報告がある。いずれもin vitroの成績で、in vivo試験において薬剤誘発性のQT延長における雌雄差を調べた報告はない。

【今後の展望】

我々は、現在モルモットの心室筋細胞の活動電位における雌雄差、および延長型のQT延長作用における雌雄差について検討を行っている。これらを紹介する。

サテライトシンポジウム

Toxicology and Bioethics

Takashi Unno¹, Hiroaki Miyajima²

¹Nippon Organon, ²Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Since toxicology has to be studied based on biological experiments, toxicologists have no choice but to use laboratory animals, cells or organs of human origin. Toxicologists sometimes are hesitant to work because of lack of certainty on bioethical points of view. If toxicologists work without regard for bioethics, the public might oppose their studies. Strict regulations however disturb the progress of science and technology of toxicology. This symposium has been organized to seek conviction of bioethics in toxicology and to establish an agreement with the public concerning of biological experiments.

トキシコロジーは実験事実に基づき、生命や環境に及ぼす悪影響を考究する科学である。トキシコロジーは人類の健康と福祉に貢献するという輝かしい使命を持っているものの、トキシコロジストはその研究活動のため、実験動物やヒトの細胞・臓器といった生命体を利用せざるをえない宿命を背負っている。

このため、一部の研究者はトキシコロジー研究の倫理的問題について明確なよりどころを持たないために、この問題を避けて通り、場合によっては「後ろめたさ」を感じながら研究している。

この「後ろめたさ」を払拭するためには、研究者自らが日常的な研究活動のなかで、生命倫理の体現者であるとの自覚を持って研究に専念し、同時にトキシコロジー研究の使命について、関係各位や広く大衆に働きかけ、真摯に理解を求める努力を払い、相互理解と信頼の上に倫理的コンセンサスを樹立し、かつ維持していくことが必要であろう。

事実、研究者が生命倫理を無視しあらゆる規制を排除して暴走するならば、大衆はトキシコロジー研究に背を向けるであろうし、大衆が極端に厳しい規制を求めるならば、研究は発展と進歩の契機を失い、人類はトキシコロジー研究の成果を享受する機会を喪失してしまうであろうからである。

このような背景により、トキシコロジー研究がより強靱な倫理的基盤を求めて自己変革し、トキシコロジー研究のために命をささげる実験動物や細胞・臓器の提供者の期待に応え、加えて研究者が自信を持ってトキシコロジー研究に取り組む道を探るために、本シンポジウムを企画した。

SS-1

研究対象者保護法試案：生物医学研究における最重要課題として

栗原千絵子

科学技術文明研究所

Proposal of a Draft Human Research Participants Protection Bill; the most essential issue for biomedical research

Chieko Kurihara

Center of Life Science and Society, Japan

Since the 2000 revision, the scope of the Declaration of Helsinki by the World Medical Association (WMA) came to include not only human research, but also research on identifiable human material or data, based on the proposal by Japan Medical Association (JMA). The Ethical Guidelines for Clinical Research by the Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW), published in 2003, followed this policy. However, actual status is inconvenient for researchers because several kinds of guidelines or laws related to research on human materials, most of which have been developed in the last 10 years, are so inconsistent with each other. Moreover, there is no any legal rule aimed to protect human research subjects.

In 2003, we proposed the Draft Human Research Participants Protection Bill, which has the following 4 characteristics: 1) The Bill covers human research; involving human material or information, as well as social science/behavioral research; 2) The bill aims at both protection of human participants and research integrity; 3) Review system independent from research institutes; 4) Protection of vulnerable population at the level of research protocol. We regard it essential to establish such legal basis for justifiable promotion of both clinical and pre-clinical research in Japan.

世界医師会によるヘルシンキ宣言は、2000年改訂より人を対象とする研究に個人を特定できる人試料・情報を含むようになった。これは日本医師会からの提案によるものである。2003年に厚生労働省から告示された「臨床研究に関する倫理指針」もこの方針を踏襲した。しかしながら、ここ10年ほどの間に告示された人体由来資料に関する行政指針や法規制は相互に整合性を欠いており、研究者にとって不都合であるのが実情である。それどころか、研究の対象となる人を保護することを目的とする法規制が存在しない。

筆者らは、次のような4つの特徴を持つ研究対象者保護法試案を2003年に提案した。1) 人を対象とする研究として、人体要素・情報についての研究、社会学・行動科学領域の研究をも包括する。2) 研究対象者の保護と研究の公正さの確保を法律の目的とする。3) 施設から独立した審査体制。4) 研究計画段階における弱者保護。このような法基盤が、日本における臨床・前臨床研究の正当なる発展のために必要不可欠であると考える。

Governance of predictive nature of toxicology

Tohru Masui

The National Institute of Health Sciences, Cellbank (JCRB)

Science is based on two statements, no one has final say, and no one has personal authority. These conditions made science intrinsically democratic and also fulfill its nature of prediction. Toxicology is a practical field of science that covers certain (mainly negative) interactions of chemical agents and human body. Human genome project pushes human to a suitable subject of bio-medical science. Biomedical research of human subject has become closer to society. Without development of core competence of both citizens and researchers, society could not settle to accept concept of safety and comfort of chemical substances. Careful phrasing of science, I hope, will bring us to share core competence of toxicology.

トキシコロジーは、化学物質の生体に対する、主に負の作用を研究する総合的な領域である。毒性という言葉が示す体への好ましくない作用は先ず動物実験で検査される。しかし、効く薬は毒であり、用量が重要であるという基本的認識が示すように、薬理と毒性・副作用は表裏一体でもある。そして、これまでの研究から、人体の反応は、動物と異なり、実験動物のデータを人への予測に利用することは、毒性の意味でも、薬効の意味でも難しい。その問題は、科学的問題であるだけでなく、社会的、経済的問題も含む。

尊厳を有する人という存在を研究対象とすることには、従来から多くの問題がある。現在その問題は、ゲノム情報を基盤として変化しようとしている。ヒトゲノム研究は、人体に関する情報を整備して、ヒトを一動物種として科学研究に利用できる環境を整えた。そこで、人体へ直接試す前に、「人という存在を直接には見さない」人体から切り離された組織・細胞で試して、予測の範囲を広げようという、人組織・細胞を用いた毒性の研究の可能性と重要性に注目が集まっている。

この背景には、いくつかの手に負えない問題がある。医学・生物学研究が、医師の手を通じてその成果が生かされる医療と、制御の難しい形で接近したこと。さらに、医療と医学・生物学研究活動の持つ経済的、市場的側面が過剰な関心を生んでいること。そして、市民と研究者の権利意識の高まりは、この領域に過度な個人主義的性格を与えたこと。現在、欧米においてもこれらは議論されつつある。

このような中で、研究が進み、合理的な毒性学、合理的な薬の開発、合理的な薬の副作用の回避が可能となるといわれる。薬の効果を合理的に示し、このゲノム型を持つ人たちに、このような機序で効き、別のゲノム型の人には、この理由で副作用が現れると明快に示せるという。合理的に予測をすることは、現時点では説明のつかない、あるいはもともと合理的予測範囲を超える毒性を見逃すことと裏腹である。毒性という言葉には、「説明のつかない」「予測のつかない」というような修飾語がついて回ることを思い出すことが大切なのだろう。

科学は「わからないことを理解しようとする試み」でもある。そして、今、困難なことは、説明のつかなさを含めて、「予測性、仮説性、想像性」の持つ曖昧さを、科学の内在的性質として科学者自身が明確に意識し、一般の人に伝え、理解してもらおう努力をすることである。他人による検証を通じて少しずつ作りあげられていく科学を、「虚構」として理解することが、薬や化学物質の安全性、社会の安心へとつながるのではないかと考えている。この問題を、リアルサイズで伝えることは、思っているよりも遠い道のりである。しかし、説明に際して「虚偽」に依存することは許されない。

SS-3

日本の製薬企業におけるトキシコロジー研究と実験動物福祉

務台 衛

三菱ウェルファーマ（株）安全性研究所

Welfare of Laboratory Animals and Toxicology Research in the Japanese Pharmaceutical Companies

Mamoru MUTAI

Toxicology Laboratory, Mitsubishi Pharma Corporation

A survey of Japanese Pharmaceuticals Manufacturers Association in 2002 revealed that all members have institutional rules and regulations for laboratory animal welfare based on the 3R rules; replacement, reduction and refinement, and most of them have set up an animal facilities management section, established a review system for experimental protocols, and educated their employees regarding animal welfare. Based on this survey, welfare of laboratory animals is achieved at a high level in toxicology research in Japanese pharmaceutical companies. To consider the perspectives of bioethics, sociability and a sense of rules are very important: companies require a sustainable program of employee education. A peer review system by a third party is also considered to be effective to acquire a transparency to the public.

20世紀以降、様々な新医薬品により感染症をはじめとする疾患の治療や予防が可能となり、人類の健康や福祉の増進に医薬品は不可欠な存在となっている。しかし、今なお難治性の疾患は多く、医薬品の創製に対する社会的なニーズは高い。その医薬品の研究開発において、薬効や安全性の確認には動物実験が不可欠である。従来、製薬企業は動物実験を実施するにあたり、実験動物の適正な飼育・管理と動物実験の管理の必要性を認識し、対応してきた。

日本製薬工業協会が2002年度に実施した調査によると、動物実験を実施しているすべての会社が3Rの原則（代替法の採用、使用動物数の削減、苦痛の軽減）の推進のために社内規則を持ち、適正な飼育管理体制で実験動物を飼育・管理していることが明らかになった。また、動物実験の実施機会が比較的少ない小規模施設を除く大多数の会社は、実験計画の社内審査や職員教育を実施していた。この調査結果から、日本の製薬企業において実験動物福祉は概ね達成されていると考えられたが、今後改善すべき点もあるものと思われた。

欧米における実験動物福祉の基盤は3Rの原則であり、国際医科学機構協議会はそれを基に「医学生物学領域の動物実験に関する国際原則（1985）」を策定している。一方、わが国の動物愛護管理法（1999年改正）では、科学上の目的に供される動物について苦痛の軽減への配慮は求めているが、代替法の採用や動物数の削減については明記されていない。動物愛護・福祉については、各国の文化的背景に基づく動物観の違いを指摘する意見もあるが、動物実験成績のグローバルな活用を考えると、わが国においても3Rの原則を重視することが必要であると思われる。さらに「トキシコロジー研究と生命倫理」という観点で考えた場合、動物を用いた研究に社会的信用を得ることが大切であると思われる。そのためには、関係者が法令を順守し、社会的合意レベルを正確に認識することが、まず求められる。そのためには、職員教育の充実が必要である。その上で、社会的責任、透明性の観点からは、外部の専門家によるレビューが効果的であると考えられる。これらへの真摯な取り組みが、動物実験を実施する者に求められる義務であると思われる。

SS-4

動物実験と生命倫理

前島 一淑
慶應義塾大学

Animal Experimentation and Bioethics

Kazuyoshi Maejima

Professor Emeritus, Keio University

The adverse reaction of Japanese researchers against laboratory animal welfare has been at least in part dramatically ameliorated. "The Law Concerning Humane Treatment and Management of Animals" will be revised during the fiscal year 2005, specifically based on the 3R through self-imposed regulations on the side of researchers. The most important point in the process of legislation is to attain openness to secure the concern of the public including those who hold an unfavorable opinion about animal experimentation.

「動物の保護及び管理に関する法律（動管法）」は平成11年に「動物の愛護及び管理に関する法律（動物愛護管理法）」と改正されたが、「動管法」第11条の実験動物に関する条項は一字一句の改正もなく「動物愛護管理法」第24条に引き継がれた。しかし、この法律改正の前後において、実験動物福祉と動物実験倫理に関するわが国の医学生物学者の意識に大きな変化があったことは間違いない。限定的であるにしても、実験動物の愛護や動物実験の3Rに対するわが国の研究者の拒絶反応は明らかに消えつつある。

この「動物愛護管理法」は、附則や両議院付帯決議に基づき平成17年度中に議員立法の形で見直されると予測され、現在、それに付随したさまざまな動きが環境省を中心に起こっている。とくに実験動物については、研究者の自己規制による3Rを基盤とする方向と思われるが、米国の1996年版「実験動物の管理と利用に関する指針」で強調されているように、研究者の責任responsibilityを加えた4Rの確立が重要であろう。

この場合にもっとも重要な点は、動物実験に批判的な人々を含めた社会的合意のための“相保”としての透明性である。研究の秘匿性や個人情報保護等とも関連があって検討すべき課題も多いけれども、研究者の一層の意識改革（「妥協」といってもよい）が望まれる。

市民公開講演会

OF

BSEと牛肉の安全 はじめに

唐木 英明

日本学術会議会員

2001年9月11日に発見された1頭のBSE感染牛はわが国の食の安全体制に大きな疑問を投げかけ、食品安全基本法の制定、食品安全委員会の設置に進んだ。そしてBSEパニックがようやく落ち着きかけた2003年12月に米国でBSEが発見され、輸入牛肉の安全をめぐるふたたび大きな議論が盛り上がっている。そもそもBSEとはどのような病気なのか。BSEを防ぐためにどのような対策がとられているのか、そして牛肉を食べると新型ヤコブ病になる恐れがあるのか。新型ヤコブ病の対策とはどのようなものか、日本の対策が各国の対策と違うのはなぜかなど多くの疑問に答え、牛肉を安心して食べられるようにしたい。

一般演題(口頭)

インバレスクは、ヒトおよび動物用の医薬品、バイオ医薬品、農薬、化学工業製品、その他医薬部外品・化粧品などにおける各業界に臨床および非臨床のサービスを提供する、総合サービス型の医薬品開発受託研究機関(CRO)です。

弊社では、世界20カ国に広がる16の支社および営業所に2,800名以上の職員が従事しています。

安全性評価サービス

対象となる製品が医薬品であるか農薬、化学工業製品に関わらず、製造、輸送、登録および販売の認可を得るためには、その安全性を試験し評価しなければなりません。

インバレスクの安全性評価プログラムは以下のような設定になっています:

- 規制当局の要件を満たす
- 製品において試験のデザインに影響を及ぼす可能性のある特性を十分考慮する
- 倫理的および動物福祉の面で最高水準の配慮をした上で、条件に合った最適な動物種を使用する
- GLPの原則に厳密に則って実施され、科学的に信頼性のある試験に基づき、検査対象製品の毒性力に関する一貫したプロファイルを作り出す

弊社の前臨床サービスは、英国スコットランドのエディンバラ近郊にあるヨーロッパ本部に本拠を置いています。そのサービスの内容の例としては、以下にあげるものなどがあります。

- 遺伝毒性学
- 安全性薬理学
- 哺乳類毒性学 (急性、慢性、げっ歯類、非げっ歯類)
- 専門的な毒性学試験 (吸入および点滴)
- 発癌性
- 生殖毒性学
- 薬事・規制関連事務
- 専門コンサルタント
- 代謝
- 生体分析化学
- 総合研究室
- 免疫学
- 分子生物学
- 微生物学
- 環境運命予測
- 生態毒性学
- 植物代謝
- 実地試用試験
- 動物薬臨床試験

弊社の総合的安全性評価サービスは、お客様の開発のニーズに合わせ、適宜カスタマイズされます。経験豊かな毒性学の専門家、化学者、専門コンサルタント、および薬事関連職員が、お客様と密接に仕事を進めて行き、時間と費用の面で最も効率的な試験戦略を作り上げていきます。



Inveresk

BECAUSE THE STAKES ARE HIGHER NOW

Corporate Headquarters Cary, NC 27513, USA +1 (919) 460-9005

European Headquarters Edinburgh EH33 2NE, Scotland +44 1875 614545

Canada CTBR (A member of the Inveresk Research Group) Montreal, QU H9X 3R3, Canada +1 (514) 630-8200

Email: info@inveresk.com Website: www.inveresk.com

O-01 ラット赤血球系造血能評価における投与期間の検討

○浅沼富美子¹、宮田 裕人¹、山下 晴洋¹、中村 勇¹、岩城 理進²、木村 正明¹、松本 清司²

¹大正製薬(株)医薬研究所安全性研究室、²信州大学ヒト環境科学研究支援センター

Comparison of dosing period on drug-induced erythropoietic changes in rats

○Fumiko ASANUMA¹, Hiroto MIYATA¹, Haruhiro YAMASHITA¹, Isamu NAKAMURA¹, Yoshinobu IWAKI¹, Masaaki KIMURA¹, Kiyoshi MATSUMOTO²

¹Toxicology Laboratory, Medicinal Research Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., ²Research Center for Human and Environmental Sciences, Shinshu University

【目的】我々は第29回本学会において、ラットに5-fluorouracilを14日間投与する5-FU群と、5-FU群の摂餌量と同量を給餌する給餌制限群を設け、血液・骨髄検査値を比較し、5-FU群と給餌制限群で同程度の赤血球系造血抑制がみられることを報告した。今回、5-FUの投与期間を4日間に設定し、同様に給餌制限群を設けて赤血球系造血能への影響を調べて、既報の14日間試験と比較検討した。

【材料および方法】生後6週齢のラットを用いて、餌食群、5-FUの12、15、18mg/kgを4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、体重および摂餌量測定、血液、骨髄、病理組織学的検査を行った。

【結果および考察】5-FUの4日間投与では、18mg/kgで網赤血球数および骨髄赤芽球数の減少が認められた。同群では最大約20%の摂餌量減少がみられたが、4日間の給餌制限群ではいずれの検査値にも著変は認められないことから、5-FU群における変化は、5-FUの赤血球系造血に対する直接影響を反映したものと考えられた。一方、既報の通り14日間投与では、赤血球系造血の低下は4日間投与に比べてより顕著に認められたが、5-FU群(18mg/kg)では投与期間後半に著しい摂餌量減少(最大約80%)がみられ、結果的に給餌制限群と同程度の変動を示すに過ぎなかった。投与期間4日間において5-FU投与による赤血球系造血への影響が明らかになったのは、摂餌量減少の影響が出現する前に検査したためと推察される。今回の成績は、安全性試験における摂餌量減少を伴う場合の赤血球系造血能の評価に、投与期間および検査のタイミングが重要であることを示唆するものと考えられた。

O-02 自動血液検査装置を用いた骨髄細胞分類および骨髄有核細胞数の測定

○小嶋五百合、佐々木淳矢、中島 信明、原田 孝則

(財) 複合産業研究所

Differential Counts of Bone Marrow Cells by An Automatic Hematology Analyzer

一般講演(口頭)

○Sayuri KOJIMA, Jyunya SASAKI, Nobuaki NAKASHIMA, Takanori HARADA

THE INSTITUTE OF ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY

【目的】安全性試験において、被験物質の骨髄への影響評価として骨髄塗抹を用いた形態学的検査や骨髄有核細胞数の測定が実施されている。今回我々は、自動血液検査装置ADVIA120[®]がペルオキシダーゼ活性の強弱、サイズの違い等を利用したフローサイトメトリーによる白血球分類機能を有していることに着目し、同機を用いてラット骨髄中の有核細胞数測定と骨髄細胞分類について検討した。また、骨髄毒性物質メトトレキサートを投与したラットの骨髄への影響を同機を用いて評価し、骨髄塗抹標本の鏡検による骨髄細胞分類結果と比較検討した。【方法】7週齢のWistar Hannover系SPF雄ラットにメトトレキサート(0, 0.05, 0.15, 0.45 mg/kg/day)を28日間強経口投与し、末梢血の血液学的検査ならびに大腿骨骨髄の有核細胞数の測定と細胞分類を行った。自動検査装置による測定では、各動物の大腿骨骨髄より骨髄懸濁液を調製し、ラット末梢血測定モードで分類解析し、赤芽球系細胞、骨髄球系細胞を算出した。骨髄塗抹標本の鏡検による検査では、集菌器遠心装置サイトスピンで塗抹を作製し、メイ-ギムザ染色を行い、骨髄細胞500個を対象に各細胞種を分類し、これに骨髄有核細胞数を乗じ各細胞数を算出した。【結果】自動検査装置による測定の結果、赤芽球系細胞、骨髄球系細胞数が鏡検による計測結果と良好な相関を示した。また、メトトレキサートの高用量群では、両測定法ともに算出した赤芽球系細胞数が有意に減少し、貧血が観察され、骨髄有核細胞数も有意に減少した。【まとめ】自動検査装置でも白血球分類機能を内蔵する機種であれば骨髄有核細胞数計測および骨髄細胞分類は可能であり、安全性試験を評価する上で有用であることが確認された。

O-03 経口トレランスに対する lipopolysaccharide (LPS) の効果

○八巻 耕也¹、原田 芳樹¹、A.H.M.Khurshid Alam²、Md.Asiam Hossain²、森 洋樹³、吉野 伸¹

¹神戸薬科大学薬理学研究室、²Department of Pharmacy, Rajshahi University、³北海道医療大学薬学部免疫微生物学

Effect of lipopolysaccharide (LPS) administration on oral tolerance

○Kouya YAMAKI¹、Yoshiki HARADA¹、A.h.m. Khurshid ALAM²、Md. Asiam HOSSAIN²、Yoki MORI³、Shin YOSHINO¹

¹Department of Pharmacology, Kobe Pharmaceutical University、²Department of Pharmacy, Rajshahi University、³Department of Immunology and Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Science University of Hokkaido

経口で低用量の抗原を摂取することによりアクティブサプレッション、高用量の抗原を摂取することによりアナジーという2種のメカニズムの異なる経口トレランスが誘導されることが知られている。LPSが経口トレランスを増強させるという報告がなされているが、その作用がアクティブサプレッションに対するものであるかアナジーに対するものであるかについては解析されていない。そこで、アクティブサプレッションおよびアナジーの誘導に対してLPSの摂取が与える影響について検討した。雄性DBA/1Jマウスに5日間 (day-5から-1)、毎日0.1mg (低用量)、20mg (高用量)の卵白アルブミン (OVA)を経口投与することにより経口トレランスを誘導した。このときOVAと併用してLPSを10mg経口投与した。Day0に、マウスの尾根部に免疫抗原としてOVAを完全フロイントアジュバントと混和したものを皮下注射した。Day21に採血および脾臓の抽出を行い、血清中のIgG2aおよび脾臓細胞培養液中のIFN-gammaをTh1反応の指標として、またIgG1およびIL-10をTh2反応の指標として測定した。Antigen-induced arthritis (AIA)は常法に従い誘導した。LPSの投与により、Th1、Th2反応を問わず、低用量摂取による経口トレランス、すなわちアクティブサプレッションの誘導は増強され、高用量摂取による経口トレランス、すなわちアナジーの誘導は減弱された。AIAに対するアクティブサプレッションおよびアナジーの誘導の効果も、LPSの摂取によりそれぞれ増強および減弱された。以上の結果より、LPSの経口トレランスに与える影響は抗原摂取量によって異なることが示唆された。

O-04 メタロチオネイン欠損マウスマクロファージのLPS応答性NO産生低下

○伊藤 徳夫、柴山 寛司、中西 剛、田中 慶一

大阪大学大学院 薬学研究科 薬理学分野

Lowered NO production in metallothionein-deficient macrophage responded to LPS

○Norio ITOH, Hiroshi SHIBAYAMA, Tsuyoshi NAKANISHI, Keiichi TANAKA

Osaka University, Graduate School of Pharmaceutical Sciences

マクロファージ (M ϕ)はエンドトキシン (LPS)等で活性化され、サイトカインやNOを産生する。NOは抗菌作用を示すと同時に、免疫応答・炎症反応を調節する。我々は多機能生体防御タンパク質メタロチオネイン (MT)が、M ϕ のLPS応答性サイトカイン (TNF α 、IL-1 α 等)産生を促進することを報告している (Biochem. J, 2002)。MTがM ϕ の機能を総合的に調節する可能性を考え、本研究ではM ϕ の殺菌能、およびNO産生とMTの関係解析した。

【実験方法】MT-1、2欠損マウス、およびその対照マウスからチオグリコール酸培地誘導腹腔浸出細胞を回収し、壁付着法でM ϕ を調製した。抗菌活性はM ϕ と*S.aureus*を共存させた後、CFUの計数で測定した。NO産生は、NO代謝物を比色法で測定し評価した。誘導型NO合成酵素 (iNOS)およびアルギナーゼの発現はNorthern blot法等で解析した。Argの代謝は、¹⁴C-Argを用いて解析した。

【結果・考察】*S.aureus*とLPS活性化対照M ϕ の共存により抗菌作用が観察される条件で、MT欠損M ϕ の明瞭な抗菌能低下を認めた。LPS応答性NO産生はMT欠損M ϕ で顕著に低下しており、TNF α 応答性NO産生も低値を示した。従って、LPS応答性NO産生の低下は、MT欠損にもとづくTNF α 産生低下を介する2次的変化ではない。iNOS発現、あるいはアルギナーゼ発現は、MTの有無に関わらず同程度に観察された。ArgはiNOSでNO+シトルリンに、アルギナーゼで尿素+オルニチンに代謝され、両経路は競合する。Arg代謝の解析により、MT欠損M ϕ でLPS応答性シトルリン産生の顕著な減弱を認めた。以上の知見は、MTレベルを変動させる化学物質が、M ϕ の機能修飾を介して毒性発現を修飾する可能性を示唆するものである。

O-05 コンピュータによる新しい変異原性予測システム

○猿渡 雄彦¹、中西 良文¹、後藤 純雄²、松島泰次郎³

¹(独)産業医学総合研究所、²国立環境研究所、³日本バイオアッセイ研究センター

A new computerized prediction system for mutagenicity of chemicals

○Katsuhiko SAWATARI¹, Yoshifumi NAKANISHI¹, Sumio GOTO², Taijiro MATSUSHIMA³

¹National Institute of Industrial Health, ²National Institute for Environmental Studies, ³Japan Bioassay Research Center

序論変異原性の予測についてはパターン認識によるものが人工知能によるものより約10%優れた予測率を出している¹⁾。今回はパターン認識による新しい予測システムを開発し、従来最も予測率が高いとされてきたTOPKATと予測率の比較を行った。**方法**予測モデル作成に用いたサンプル化合物およびデータは労働安全衛生法に基づいて提出された微生物を用いた変異原性試験データを用いた。学習データセットとして2737化合物(POS:431, NEG:2306)を用い、予測率を求めるテストデータセットとして297化合物(POS:38, NEG:259)を用意した。要因が複雑で、化合物構造も多岐にわたる構造-毒性相関研究ではサンプル数が多いほどノイズ情報が多くなり、予測率は低下する。従って、サンプル化合物群をサブセットに分け、個々のサブセット単位で予測を行うのが良い。本研究では水素結合受容体数を分類の基準とし、化合物を8群に分けた。これらの群それぞれについて学習データセットからModel Builder(富士通)を使い予測モデル(ベクトル値)を得た。これらのモデルの集合体を産医研予測モデルと名付けた。産医研予測モデルと予測ツールADME WORKS(富士通)とを合わせて新しい予測システム-産医研予測システムとなる。この予測システムを使ってテストデータセットの予測を行った。同時に、化合物構造に従った分類を行うTOPKATを用いて予測を行い、その予測結果と比較した。**結果**要旨提出時点では水素結合受容体数が0, 1および6, 7の化合物での解析と82化合物(POS:9, NEG:73)の予測を終えている。これまでの予測率は、産医研予測システムでは85.2%であり、TOPKATでは68.8%である。**文献**1) N.F.Cariello et al., Mutagenesis, 17, 321-329 (2002)

O-06 薬物探索研究早期のin vivo安全性スクリーニング試験、in vivo Mini-tox studyの紹介(1) TK、FOB、自発運動測定、循環器系検査

○佐藤 靖、白井 真紀、真子 智美、山田 弘、堀井 郁夫

ファイザー(株) 中央研究所

Introduction of the in vivo Mini-tox study as an effective tool to improve confidence in safety in the early stage of drug development (Part 1)

○Yasushi SATO, Maki SHIRAI, Tomomi MAKI, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII

Pfizer Global R&D, Nagoya Laboratories

一般薬(口頭)

近年、創薬初期でのminiaturizeされたげっ歯類のin vivo毒性試験(in vivo Mini-tox study)が展開されてきている。このような背景の中、1999年のHSI薬物毒性Workshopで、臨床試験で認められたヒトの毒性徴候と実験動物の毒性知見との関連性が調べられ、ヒト毒性徴候の殆ど(94%)が短期毒性(1ヶ月まで)、一般薬理試験において検出されていた可能性が高いことが示され(H.Olson, et al, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 32, 56-67, 2000)。in vivoスクリーニング系の重要性が提示されてきた。さらにこの報告では、循環器や神経行動学的検査、トキシコキネティクス(TK)の重要性が指摘されている。

今回、薬物探索研究早期のin vivo Mini-tox studyの試験概要を示すとともに、in vivo Mini-tox studyに組み込まれている評価系の一部である、神経行動学的検査と循環器系検査について紹介する。

1.動物(ラットの場合):毒性背景データを有し、TK採血時の動物に対する負荷を軽減させる、という観点で、預静脈カニューレーション(JVC)施術済みのCp:CD(SD) IGSラットを使用。JVCラットは、経口投与試験のTK採血を容易にするのみならず、カニューレを介したi.v./infusion投与にも適している。

2.中枢神経系検査項目Neurobehavioral markerの導入機能観察総合評価法Functional Observation Battery (FOB)、自発運動測定Motor Activity (MA)を経時的な検査項目として試験に取り入れることがある。

3.循環器系検査項目:光電脈波法の無加温型非観血式血圧計による心拍数・血圧測定を毒性評価項目に加えることがある。

O-07 無毒性量に関するアンケート調査結果報告(1) 一無毒性量の考え方

柴田 雅美¹、○永山 隆²、斎藤 明美³、木村 重紀⁴、柴田亜希子⁵、城戸 昭彦⁶、谷口 勝彦⁷、門田 利人⁸、松澤 利明⁹、佐神 文郎¹⁰

¹日本製薬工業協会/日研化学(株)、²日本製薬工業協会/コーシービージャパン(株)、³日本製薬工業協会/アボット ジャパン(株)、⁴日本製薬工業協会/住友製薬(株)、⁵日本製薬工業協会/日本オルガノン(株)、⁶日本製薬工業協会、⁷日本製薬工業協会/東レ(株)、⁸日本製薬工業協会/日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、⁹日本製薬工業協会/山之内製薬(株)、¹⁰日本製薬工業協会/エーザイ(株)

Questionnaire survey of recognition of no observed adverse effect level (NOAEL) (Part1) :Conception of NOAEL

Masami SHIBATA¹、○Takashi NAGAYAMA²、Akemi SAITO³、Juki KIMURA⁴、Akiko SHIBATA⁵、Akihiko KIDO⁶、Katsuhiko TANIGUCHI⁷、Toshihito KADOTA⁸、Toshiaki MATSUZAWA⁹、Fumio SAGAMI¹⁰

¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/NKKEN CHEMICALS CO., LTD, Saitama, Japan, ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/UCB Japan Co., Ltd, Tokyo, Japan, ³Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/ABBOTT JAPAN CO., LTD, Tokyo, Japan, ⁴Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd, Osaka, Japan, ⁵Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/NIPPON ORGANON K.K, Osaka, Japan, ⁶Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Toray Industries Inc, Kanagawa, Japan, ⁷Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd, Hyogo, Japan, ⁸Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd, Tokyo, Japan, ⁹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Eisai Co., Ltd, Tokyo, Japan

【目的】無毒性量に関する問題については過去1993年と1996年の2回、本学会でその意義や必要性について討議され、官民で一定のコンセンサスが得られた。その後、医薬品開発の進歩とともに、安全性試験における無毒性量の定義や考え方、意義が変わってきたように感じる。そこで、日本製薬工業協会/医薬品評価委員会/基礎研究部会/C8タスクフォース・無毒性量の再定義では、討議とアンケート調査を通じて一般毒性試験における無毒性量について考え方や意義をまとめた。本発表では無毒性量に関するアンケート調査のうち、特に企業における無毒性量の考え方について報告する。

【方法】日本製薬工業協会基礎研究部会加盟79社を対象に2003年9月-10月にかけてアンケート調査を実施し、58社から得られた回答結果を集計、評価した。

【結果及び考察】集計対象企業の内訳は国内企業41社、外資系企業17社(米国系6社、欧州系11社)であった。毒性試験の実施については、国内企業では全て自社の責任下で毒性試験報告書を作成しているが、外資系企業では試験は親会社が実施しており計画や評価に参画するのは約半数であった。無毒性量に関する基本的な考え方として、毒性試験の報告書における無毒性量は、多くの企業が動物にとって有害かどうかで判断していた。また、目的とする薬理効果による変化や適応性変化は毒性と判断しない企業の割合が高かったが、目的以外の薬理作用による変化やヒトでは認容できるが動物で有害な変化は毒性と判断する割合が高かった。しかし、いずれの場合も毒性か否かの判断は、変化の種類・程度を考慮して決められているようであった。

O-08 無毒性量に関するアンケート調査結果報告(2) 一無毒性量に関する当局の指摘と各企業の対応について

○木村 重紀¹、柴田亜希子²、柴田 雅美³、永山 隆⁴、斎藤 明美⁵、城戸 昭彦⁶、谷口 勝彦⁷、門田 利人⁸、松澤 利明⁹、佐神 文郎¹⁰

¹日本製薬工業協会/住友製薬(株)、²日本製薬工業協会/日本オルガノン(株)、³日本製薬工業協会/日研化学(株)、⁴日本製薬工業協会/コーシービージャパン(株)、⁵日本製薬工業協会/アボット ジャパン(株)、⁶日本製薬工業協会、⁷日本製薬工業協会/東レ(株)、⁸日本製薬工業協会/日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、⁹日本製薬工業協会/山之内製薬(株)、¹⁰日本製薬工業協会/エーザイ(株)

Questionnaire survey of recognition of no observed adverse effect level (NOAEL) (Part2) :The indication of the authorities and the correspondence of each company

○Juki KIMURA¹、Akiko SHIBATA²、Masami SHIBATA³、Takashi NAGAYAMA⁴、Akemi SAITO⁵、Akihiko KIDO⁶、Katsuhiko TANIGUCHI⁷、Toshihito KADOTA⁸、Toshiaki MATSUZAWA⁹、Fumio SAGAMI¹⁰

¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd, Osaka, Japan, ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/NIPPON ORGANON K.K, Osaka, Japan, ³Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/NKKEN CHEMICALS CO., LTD, Saitama, Japan, ⁴Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/UCB Japan Co., Ltd, Tokyo, Japan, ⁵Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/ABBOTT JAPAN CO., LTD, Tokyo, Japan, ⁶Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Toray Industries Inc, Kanagawa, Japan, ⁷Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd, Hyogo, Japan, ⁸Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd, Tokyo, Japan, ⁹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Eisai Co., Ltd, Tokyo, Japan

【目的】無毒性量に関する問題については過去1993年と1996年の2回、本学会でその意義や必要性について討議され、官民で一定のコンセンサスが得られた。しかしながら、近年の審査当局の無毒性量に関する指摘から無毒性量の定義及び意義について官民の考え方に隔たりが生じてきていることが伺われる。そこで、日本製薬工業協会/医薬品評価委員会/基礎研究部会/C8タスクフォース・無毒性量の再定義では、討議とアンケート調査を通じて一般毒性試験における無毒性量について考え方や意義をまとめた。本発表ではこの調査結果から特に無毒性量に関する当局の指摘と各企業の対応について報告する。【方法】日本製薬工業協会基礎研究部会加盟79社を対象に2003年9月-10月にかけてアンケート調査を実施し、58社から得られた回答結果を集計、評価した。【結果及び考察】無毒性量に関する指摘を受けた企業が62%あり、そのうち約8割が申請時の照会・指摘であった。その内容については薬理作用を毒性としなかった理由、無毒性量の変更、無毒性量が臨床用量と近似的、あるいは無毒性量がないケースでヒトへの安全性担保をどう考えたかの順であった。国内外での開発の経験がある企業では、欧米当局からは指摘を受けなかったが、日本当局から指摘を受けたケースが多く、欧米と日本の審査当局の無毒性量に対する考え方の違いが示唆された。発表では企業形態別、指摘・照会時期、ステージ別の解析結果についても紹介する。

O-09 安全性評価における無毒性量の判断基準と意義

○高藤 明美¹、永山 隆²、柴田 雅美³、木村 重紀⁴、柴田亜希子⁵、城戸 昭彦⁶、谷口 勝彦⁷、門田 利人⁸、松澤 利明⁹、佐神 文郎¹⁰

¹日本製薬工業協会/アボットジャパン(株)、²日本製薬工業協会/ユーシービージャパン(株)、³日本製薬工業協会/日研化学(株)、⁴日本製薬工業協会/住友製薬(株)、⁵日本製薬工業協会/日本オルガノン(株)、⁶日本製薬工業協会、⁷日本製薬工業協会/東レ(株)、⁸日本製薬工業協会/日本ベーリンガーインゲルハイム(株)、⁹日本製薬工業協会/山之内製薬(株)、¹⁰日本製薬工業協会/イーザイ(株)

Criterion of estimation and significance of NOAEL for safety Assessment of pharmaceuticals

○Akemi SAITO¹, Takashi NAGAYAMA², Masami SHIBATA³, Juki KIMURA⁴, Akiko SHIBATA⁵, Akihiko KIDO⁶, Katsuhiko TANIGUCHI⁷, Toshihito KADOTA⁸, Toshiaki MATSUZAWA⁹, Fumio SAGAMI¹⁰

¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/ABBOTT JAPAN CO., LTD., Tokyo, Japan, ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/UCB Japan Co., Ltd., Tokyo, Japan, ³Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/NIKKEN CHEMICALS CO., LTD., Saitama, Japan, ⁴Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Sunitomo Pharmaceuticals Co., Ltd., Osaka, Japan, ⁵Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/NIPPON ORGANON K.K., Tokyo, Japan, ⁶Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, ⁷Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Toray Industries, Inc., Kanagawa, Japan, ⁸Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Nissoon Boehringer Ingelheim Co., Ltd., Hyogo, Japan, ⁹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan, ¹⁰Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan/Eisai Co., Ltd., Tokyo, Japan

【目的】医薬品開発の進捗とともに安全性試験における無毒性量の判断基準や考え方、意義が変わってきていると考えられたことから、日本製薬工業協会/医薬品評価委員会/基礎研究部会/「無毒性量の再定義」タスクフォースチームでは、アンケート調査を通じて一般毒性試験における無毒性量について討議してきた。本発表ではアンケート調査結果を踏まえたうえで、無毒性量に関するコンセンサス作りのために、その意義や考え方について提案したい。【結果及び考察】アンケート調査結果では、無毒性量は最終報告書作成時には動物にとって有害かどうかで判断するという企業の割合が高かった。一方、承認申請時には試験開始の無毒性量の違いや臨床用量との関連性を考察するが、根拠として無毒性量は推定し直されていなかった。しかし、実際には多くの企業が変化の種類・程度を考慮してケース・バイ・ケースで判断していることも明らかとなった。一方、審査当局から無毒性量に関する指摘/問い合わせを受けた経験のある企業は半数以上であり、外資系企業に限るとほとんどの企業であった。指摘/問い合わせの時期は承認申請時に多く、無毒性量の算出基準や無毒性量の数値からヒトに対する安全性の担保に関する指摘/問い合わせが多かった。これらの指摘された内容について、その科学的妥当性を疑問とする企業や、日本の審査当局と欧米の審査当局で無毒性量の考え方が異なるのではないかと考えている企業も多く、自立的調和の観点からも考慮する必要があると判断された。当チームの検討結果から、「無毒性量は、臨床試験開始時の初期投与量の決定や長期毒性試験の投与量選択等のためには意義のある数値であるが、承認申請時には実施したすべての毒性試験結果や臨床試験結果を踏まえて総合的にヒトの安全性を評価することが重要であり、無毒性量という個々の毒性試験結果の一つの数値にとらわれるべきではない」と提案したい。

O-10 Study of arsenicosis in Bangladesh: Relationship of As level in urine and hair and health condition

○Md. Ahsan, Habib, Takuhiro Miki, Kaoru Yoshida, Koichi Kuroda, Yuko Kumai, Ginji Endo

Department of Preventive Medicine and Environmental Health, Osaka City University Medical School.

一般演題(口演)

The excess level of arsenic in drinking water was first detected in Bangladesh in 1993 in the far west of Chapai Nawabganj in Bangladesh and the case of arsenicosis was first detected in the same area in 1994. Since then gradually increasing the numbers of arsenicosis have been detected in a wide area in Bangladesh unfolding a mass public health crisis. As an attempt to evaluate the extent of arsenic poisoning, we visited and directly interviewed about health condition of 27 families (n=120) living in the district of Pabna, one of the arsenic contaminated regions of Bangladesh, during the study period of July-August 2003. Arsenicosis with melanosis (n=14), leuco-melanosis (n=12), mild hyperkeratosis (n=11), moderate hyperkeratosis (n=15) and severe hyperkeratosis (n=13) have been identified. At the time 91 urine and 99 hair samples were collected. Arsenic concentration in hair samples were analyzed by PIXE was ranged 0-21.3 $\mu\text{g/g}$, and 70% of the samples contained arsenic more than 0.3 $\mu\text{g/g}$ and 56% has exceeded 1.0 $\mu\text{g/g}$, which is considered as toxic level. The urine samples analyzed by LC-ICP-MS contained 4 arsenic species (AsIII, AsV, MMA and DMA). Arsenobetaine was not detected since seafood was not available in the study area. Inorganic arsenic ingested in humans is reduced and methylated oxidatively. DMA is the final and main metabolite. MMA% in urine of patients with hyperkeratosis was significantly higher than people without hyperkeratosis. This result suggested that metabolism of arsenic might be related to arsenicosis.

O-11 Indole-3-carbinolのcytochrom P450 酵素誘導を介したラット子宮内 膜腺癌促進作用

○吉田 緑¹、中江 大¹、前川 昭彦²

¹佐々木研究所病理部、²佐々木研究所

DIETARY INDOLE-3-CARBINOL PROMOTES ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA DEVELOPMENT IN RATS BY INCREASE OF CYTOCHROME P450 ACTIVITIES AND MODULATION OF ESTROGEN METABOLISM IN THE LIVER

○Midori YOSHIDA¹, Dai NAKAE¹, Akihiko MAEKAWA²

¹Department of Pathology, Sasaki Institute, ²Sasaki Institute

ブロッコリー等に含まれるIndole-3-carbinol (I3C)は、動物実験において腫瘍の発生を抑制することが知られているが、一部では促進作用も報告されている。一方、I3Cは肝臓のcytochrome P450酵素を誘導し、エストロゲン代謝に影響を与えると報告されており、この作用がI3Cの発がん作用を修飾すると予想される。我々は、ラット二段階子宮発がんモデルを用いてI3Cが発がん過程に与える影響を検索した。動物は子宮内腺癌好発系のDonryu雌ラットを用い、11週齢でN-ethyl-N-nitrosoguanidineを子宮腔内に投与した後、500および2000ppmのI3Cを混餌にて、17 μ estradiol (E2) および4-hydroxyestradione (4HE) を週2回皮下に投与し15ヶ月齢まで観察した。また、卵巢摘出による子宮肥大試験も実施した。その結果、I3C500および2000ppm群、4HE群では、子宮内腺癌の発生頻度あるいは個体当りの子宮増殖性病変数が有意に増加した。E2群においても同様の傾向が観察された。肝臓の検索では、I3C投与によりCYP1A1, 1A2, 1B1 mRNAの発現が増加し(15ヶ月齢)、免疫組織化学的にもCYP1A1, 1A2の誘導が認められた。さらに肝臓中のエストロゲン代謝酵素を6から12ヶ月齢まで測定したところ、estradiol 2および4-hydroxylase、特に後者の増加が認められた。また、I3C投与は子宮にエストロゲンおよび抗エストロゲン活性を示さなかった。これらの結果より、I3Cの子宮発がん促進作用の発生機序として、I3Cによる肝臓中cytochrome P450酵素の誘導がエストロゲン代謝を変化、特に子宮がん促進作用を有する4HEを増加させた可能性が考えられた。

O-12 マウス二段階肝発がんモデルを用いた dicyclanil による肝発がんメカニ ズムの分子病理学的解析

○本 光憲¹、岡村 美和¹、武藤 朋子²、櫻田 陽子¹、三森 国敏¹

¹東京農工大学農学部獣医学科家畜病理学講座、²吉林大学医学部薬理学講座

Molecular pathological analyses on hepatocarcinogenesis induced by dicyclanil in mouse two-stage liver carcinogenesis model

○Mitsuyoshi MOTO¹, Miwa OKAMURA¹, Tomoko MUTO², Yoko KAHIDA¹, Kunitoshi MITSUMORI¹

¹Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan, ²Department of Pharmacology and Toxicology, Kyoto University, Kyoto, Japan

【目的】昆虫成長調節剤として使用されているdicyclanil (DC)にはマウスの肝に対し発がん性が認められている。我々はDCについてコメットアッセイを実施した結果、遺伝毒性の可能性はないことを確認している。また、無処置あるいはDCを2週間投与したマウスの肝における遺伝子発現パターンについてcDNAマイクロアレイを用い比較した結果、代謝および酸化ストレス関連遺伝子の発現が増加することを見出した。そこで今回、DCの肝発がんメカニズム解明を目的として、マウス二段階肝発がんモデルにおける検討を実施した。【方法】正常マウスないしdimethylnitrosamine (DMN) 単回腹腔内投与によるイニシエーション処理後に2/3肝部分切除術を施したマウスに、DC0ないし1.500ppmを7週間混餌投与し、肝臓について病理組織学的検索、代謝および酸化ストレス関連遺伝子の定量的解析、ならびに関連タンパク質の定量を実施した。【結果および考察】正常マウスの病理学的検査では、DC投与により肝細胞肥大が認められ、遺伝子解析ではCYP1A, GSTなどの第一相および第二相薬物代謝酵素、ならびにTrxR1など酸化ストレス関連遺伝子の発現増加が認められた。DC投与後2/3肝部分切除マウスでは、正常マウスとは遺伝子の発現強度が異なるものの、ほぼ同様の代謝関連ならびに酸化ストレス関連遺伝子の発現増加が認められた。一方、病理組織学的検索では、同群において肝細胞肥大および壊死がみられ、対照群ならびにDC投与/非投与正常マウス群に比べPCNA陽性細胞および γ -GT陽性細胞の顕著な増加が認められた。さらにELISA法により活性型NF- κ Bの増加傾向もみられた。以上の結果よりDCによる肝発がんには酸化ストレスによるダメージの関与の可能性が示唆された。

O-13 ノルフロキサシンのin vitro 遺伝毒性および肝イニシエーション活性

○伊藤 格¹、佐々木 有²、佐賀 彰子²、熊谷木曜美²、酒井 洋樹²、櫻田 陽子¹、三森 国敏¹

¹東京農工大学農学部獣医学科家畜病理学講座、²江戸工業高等専門学校物質工学科、³岐阜大学農学部獣医学科獣医病理学講座

Genotoxic potential in vitro and liver initiation activity of norfloxacin

○Tadashi ITOH¹、Yu F. SASAKI²、Ayako SAGA²、Kiyomi KUMATANI²、Hiroki SAKAI²、Yoko KASHIDA¹、Kunitoshi MITSUMORI¹

¹Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology, ²Laboratory of Genotoxicity, Faculty of Chemical and Biological Engineering, Hachinohe National College of Technology, ³Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Gifu University

キノロン系抗菌剤は、医薬品あるいは動物用医薬品として広く用いられている。キノロン系抗菌剤であるフルメキンは、2003年のFAO/WHO 合同食品添加物専門委員会 (JECFA) において、遺伝毒性発癌物質である可能性が否定できないとされ、許容一日摂取量 (ADI) が取り消された。そこで我々は、現在、他のキノロン系抗菌剤の哺乳動物に対する遺伝子障害性および発癌性についての検索を実施中である。今回は、*in vitro* コメットアッセイおよび小核試験、さらに *in vivo* 中期発癌性試験である肝イニシエーション活性検索法により、第二世代キノロン系抗菌剤であるノルフロキサシンの遺伝子障害性およびイニシエーション活性を検索した。ヒトリンパ由来の WTK-1 細胞を2日間培養後、ノルフロキサシンを培地中に添加して20時間処理し、コメットアッセイおよび小核試験を行った。また、雄のF344ラットに3分の2部分肝切除を実施し、その12時間後にノルフロキサシンを単回強制経口投与した。その14日後から10日間2-アセチルアミノフローレン (2-AAF) の混餌投与を行い、その間に四塩化炭素を単回強制経口投与した。さらに11日間の休業期間後、肝臓を摘出し、胎盤型グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST-P) 一次抗体を用いて免疫染色を実施し、肝イニシエーション活性検索法を行った。ノルフロキサシンは、*in vitro* コメットアッセイ、小核試験および肝イニシエーション活性検索法の全てにおいて陽性結果を示した。以上の成績より、コメットアッセイで検出されたDNA鎖切断は、その一部が小核として固定され、その遺伝毒性は *in vivo* においてイニシエーションとして成立し、プロモーション処置との組み合わせにより前癌病変が形成されたものと考えられた。

O-14 Phenobarbital による血清中サイロキシン濃度低下作用機構とその動物種差

○鈴木 寛¹、加藤 善久¹、滝口 理想¹、大西 真央¹、生城 真一²、木村 良平¹

¹静岡県立大学薬学部薬理学教室、²近畿工業大学理学部生命科学科主体物質化学I講座

Species difference among mice, hamsters, rats and guinea pigs in phenobarbital-induced alteration of serum thyroid hormone level

○Hiroshi SUZUKI¹、Yoshihisa KATO¹、Rie TAKIGUCHI¹、Mao ONISHI¹、Shinichi IKUSHIRO²、Ryohei KIMURA¹

¹Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan, ²Himeji Institute of Technology, Faculty of Science, Hyogo, Japan

【目的】Phenobarbital (PB) による血清中サイロキシン (T₄) 濃度低下作用機構を明らかにするとともに、その動物種差を検討した。【方法】マウス、ハムスター、ラット、モルモットおよびUGT1欠損変異種であるGunnラットにPB (80mg/kg) をそれぞれ4日間連続投与し、最終投与後1日に血清中total T₄およびfree T₄濃度、肝ミクロソームのグルクロン酸抱合酵素 (UDP-GT) および脱ヨード化酵素活性、肝可溶性画分の硫酸抱合酵素活性を測定した。【結果・考察】PB投与により、マウス、ハムスター、ラットおよびGunnラットの血清中total T₄およびfree T₄濃度は有意に低下した。一方、T₄-UDP-GT活性はマウス、ハムスターおよびラットで有意に増加したのに対して、Gunnラットでは全く変化しなかった。また、T₄の脱ヨード化酵素活性は、ハムスター、ラットおよびGunnラットにおいて有意に低下したが、マウスでは変化しなかった。さらに、T₄の硫酸抱合酵素活性は、いずれの動物においてもPB投与により変化しなかった。なお、モルモットの血清中total T₄およびfree T₄濃度や3種の代謝酵素活性は、いずれもPB投与により変化しなかった。以上、PBによる血清中T₄濃度の低下に動物種差があることが明らかになった。また、T₄-UDP-GT活性の増加が見られないGunnラットでも血清中T₄濃度の低下が見られ、この低下はT₄-UDP-GTの関与しない機序によることが強く示唆された。このことは、他の動物種における低下にも少なくとも一部T₄-UDP-GTの関与しない機序があることを示している。さらに、いずれの動物においてもPBによる低下にT₄の脱ヨード化酵素や硫酸抱合酵素活性が関与していることは考えにくく、この低下はT₄の代謝促進以外の機序による可能性が示唆された。

一般演題(口頭)

O-15 Ethinylestradiol を周産期曝露したラット新生児の視床下部内側視索前野における網羅的遺伝子発現解析—用量依存性の検討—

○渋谷 淳、李 京烈、高木 広憲、加藤奈津美、瀬上 周、広瀬 雅雄

国立医薬品食品衛生研究所

Dose-dependent global gene expression analysis in the microdissected hypothalamic medial preoptic area of rat neonates exposed perinatally to ethinylestradiol.

○Makoto SHIBUTANI, Kyoung-youll LEE, Hironori TAKAGI, Natsumi KATO, Shu TAKIGAMI, Masao HIROSE

National Institute of Health Sciences

【はじめに】雌雄で異なる性分化を果す視床下部内側視索前野 (MPOA) を対象として、ethinylestradiol (EE) を周産期曝露したラット新生児における遺伝子発現の用量依存的な変動を網羅的に検討した。【材料・方法】妊娠15日目のSD:IGSラットにEEを0, 0.01, 0.1, 0.5ppmの用量で混飼投与した。生後2日目に雌雄各群3匹の出生児につき、脳のメタカーン固定・パラフィン包埋切片を作製し、MPOAをマイクロダイセクション法により採取した。抽出したtotal RNAを2回in vitro転写し、Affymetrix社のRat Genome U34A Arrayを用いて発現変動遺伝子の網羅的解析を行った。【結果・考察】発現に2倍以上の雌雄差のある遺伝子は、雄で優勢なものが175個、雌で35個であった。また、EEの0.5ppm投与例で、対照群に比し2倍以上の発現増加した遺伝子が雄で20個、雌では55個であり、発現減少遺伝子は雄で183個、雌で2個であった。これらの遺伝子の発現変動は全て用量依存적であり、用量非依存的な変動遺伝子は殆どなかった。次に、雌で優勢な発現遺伝子のうちEEにより雌で用量依存的に発現減少したものは3個、雄で増加したものは5個得られたが、両者に共通するものは一つのESTのみであった。一方、雄で優勢な発現遺伝子のうち、EEにより雄で用量依存的な発現低下を示したものが41個、雌で増加したものが11個得られた。そのうち6個が両者に共通し、エストロゲン作用による脳の性分化障害への関与が示唆された。その中でGTP-binding protein (G_{α}) は、エストロゲンの転写を介さないnon-genomicな急性反応への関与が報告されており、同様の発現挙動を示すGTPase Rab14と共に、脳の性分化障害時にnon-genomicな反応の存在する可能性が指摘された。

O-16 rasH2 マウスのENU誘発前胃腫瘍における遺伝子発現解析の検討

○岡村 美和¹、住田 佳代²、武藤 朋子³、櫻田 陽子¹、町田 登¹、三森 国敏¹

¹東京農工大・獣医病理、²住友化学工業・生物環境科学研究所、³杏林大・医・薬理

Analysis of gene expression profiles of forestomach tumors in rasH2 mice initiated with N-ethyl-N-nitrosourea

○Miwa OKAMURA¹, Kayo SUMIDA², Tomoko MUTO³, Yoko KASHIDA¹, Noboru MACHIDA¹, Kunitoshi MITSUMORI¹

¹Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology, ²Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd., ³Department of Pharmacology and Toxicology, Kyorin University

【目的】rasH2マウスにおける発癌増強機序を検討するため、遺伝毒性発癌物質によりrasH2マウスに誘発された前胃腫瘍を用いて、種々の遺伝子発現の解析を試みた。【方法】6週齢、雄のrasH2マウスにN-ethyl-N-nitrosourea (ENU) 120mg/kgを単回腹腔内投与した後、1, 6, 13, 20週に標的臓器である前胃の組織学的検索を行った。また、20週で得られた前胃腫瘍組織3例を用い、無処置の正常前胃を対照として、GeneChip (Affymetrix) による網羅的遺伝子発現解析を実施し、腫瘍組織で共通して変動する遺伝子を選出した。Rasシグナル関連遺伝子の発現についてはRT-PCR法により確認した。6週で採材した前胃組織も同様に網羅的遺伝子発現解析を行い、20週で得られた腫瘍組織と共通して変動する遺伝子を選出した。【結果および考察】ENU投与後12週以降、前胃扁平上皮癌の発生が高率に認められた (13週、20週:67%)。遺伝子発現解析の結果、腫瘍組織で発現上昇がみられた遺伝子には、細胞周期関連因子、細胞増殖因子、細胞外基質関連因子、転写関連因子等が多く含まれていた。RT-PCR法により、腫瘍組織ではRasシグナルに関連するマウス内在性のHa-ras、N-ras、raf、Mek2、c-fos、junB、c-mycの発現上昇が確認された。これらの結果より、rasH2マウスにおけるENU誘発前胃腫瘍では、マウス内在性ras遺伝子の過剰発現を含めたRasシグナル経路の活性化が腫瘍形成の増強に関与していることが示唆された。一方、6週と20週で共通して発現上昇あるいは減少した遺伝子はそれぞれ12、20個同定された。上皮の再生や過形成で発現誘導されるkeratin6、16の発現上昇が含まれ、既に6週で前胃上皮における増生を示唆する変化が発現していることが推察された。

O-17 PHENOTYPE-INDEPENDENT TOXICOGENOMICS USING "PERCELLOME" AND "MILLE-FEUILLE" DATA SYSTEM

J Kanno, K Aisaki, A Ono, O N Nakatsu, Y Kodama, K Igarashi

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

A systematic approach is proposed to generate absolute mRNA expression values from DNA microarrays and quantitative-PCR in a "per cell" basis designated as "Percellome". The major characteristic of the toxicogenomics using Percellome is that the overt phenotypes are not the primary factors for the construction of toxicology database/informatics. To build up such database, multiple experiments are to be conducted in a certain period of time. Once absolutized, the data from all samples and studies can be compared without further normalization. This system was made primarily for Affymetrix GeneChips, but can be expanded to other platforms and quantitative-PCR, as long as they fulfill the demands of this system. This Percellome absolutization will enable us to express data in a linear scale from zero, thus generating "mille-feuille" data. This method allows a direct expression of circadian alterations and a straightforward representation of null-expression data of any samples including controls, allowing biologist-friendly visualization while using virtually all data generated by the microarray. Unsupervised clustering is much easier for this type of data than commonly used ratio-metric data against concurrent controls. This system will contribute to the predictive toxicology through the development of a high-precision large-scale phenotype-independent toxicogenomics database/informatics in the near future.

O-18 p53R2 遺伝子発現を指標としたヒト細胞変異原性試験法の開発

○大野 克利、東 幸雅、米田 幸生、山田 敏広

日清食品(株)食品安全研究所

Development of genotoxicity test system based on a p53R2 gene expression in human cells

○Katsutoshi OHNO, Yukinasa AZUMA, Yukio YONEDA, Toshihiro YAMADA

Nissin Food Products Co., Ltd. Food Safety Research Institute

【目的】既存の変異原性試験法として、*Salmonella typhimurium*を用いたAmes試験、*umu*-testなどが実用されているが、微生物を使用しているため、その結果を単純にヒトに対する変異原性に外挿できない欠点がある。また、染色体異常試験、遺伝子突然変異試験など哺乳類細胞を使用した方法は、操作が煩雑であり結果を得るまでに時間を要するなどの問題点がある。そこで、我々は、より簡便にヒトに対する変異原性に外挿できる試験方法の開発を目的とし、ファーストスクリーニングとして適用可能なヒト細胞を用いた新規変異原性試験法を構築したので報告する。【方法】遺伝子損傷時リン酸化p53の結合により発現調節されるp53R2遺伝子の転写調節部位をルシフェラーゼレポータープラスミドに導入し、p53R2転写依存的にルシフェラーゼを発現するレポータープラスミドを構築した。これをp53が正常に発現しているヒト培養細胞に導入し、被験物質添加24時間後、ルシフェラーゼ発現量を測定した。本変異原性試験における陽性基準は、ルシフェラーゼ発現量が溶媒コントロールに比べ2倍以上の場合とした。【結果】既知の変異原性陽性、及び、陰性の化学物質約90種について、p53R2依存的ルシフェラーゼ発現量を測定し、以下の項目について検討した。1) 既知の変異原性物質によるp53R2依存的ルシフェラーゼ発現量の経時的変化。2) ヒト培養細胞株間での反応性の差。3) Ames試験、*umu*-testの既知データとの相関性。4) Ames試験、*umu*-testで検出できなかった変異原性物質の反応性。その結果、本試験法は、操作が簡便なヒトに対する変異原性試験法として適用可能であることが示唆された。

一般演習(口頭)

O-19 ヒトチトクロームP450とヒトアセチル転移酵素による 3-Nitrobenzanthroneの代謝的活性化

○小田 美光¹、渡辺 徹志²、平山 晃久²

¹大阪府立公衆衛生研究所、²京都薬科大学

Metabolic activation of 3-nitrobenzanthrone by human recombinant cytochrome P450 and human acetyltransferase

○Yoshimitsu ODA¹, Tetsushi WATANABE², Teruhisa HIRAYAMA²

¹Osaka Prefectural Institute of Public Health, ²Kyoto Pharmaceutical University

【目的】3-Nitrobenzanthrone (3-NBA) は、ジューセル排気粒子中および大気粉塵中に存在する強力な変異原物質であることが知られている。本研究では、3-NBAの代謝的活性化にヒトP450分子種およびヒトアセチル転移酵素が関与しているのかを明らかにするために、*umu*試験菌株を用いて検討した。【方法】*umu*試験菌株は、NM6000 (親株)、NM6001 (ヒトNAT1高産生株)、NM6002 (ヒトNAT2高産生株) さらに、新規に開発した親株OY1022 (TA1535NR/1,8-DNP/pOA102) /pCW、OY1022/pOR (ヒトNADPH-P450還元酵素単独) 株とORと同時に発現する8種類のヒトCYP関連株OY1022/1A1、1A2、1B1、2C9、2D6、1E1、3A4、2A6を用いて、3-NBAによる*umuC*遺伝子発現を β -ガラクトシダーゼ活性によって測定した。【結果及び考察】3-NBAは、親株とNAT1よりもNAT2の方が強い細胞毒性及び*umuC*遺伝子誘導を示した。このことは、3-NBAによる代謝的活性化にはNAT2が関与していることを示唆する。8種類のヒトCYP分子種を発現する株の内、3-NBAの遺伝子毒性はCYP1A1と3A4が最も強く、ついでCYP1A2 > 1B1 > 2E1 > 2C9 > 2D6 > 2A6 > ORの順であった。以上の結果から、3-NBAによる遺伝子毒性の代謝的活性化には、ORの還元反応とヒトCYP1A1、3A4による酸化反応さらにヒトNAT2によるアセチル転移反応が関与していることが示唆される。

O-20 コメットアッセイで検出されるDNA損傷は染色体異常として固定されるか?

○佐賀 彰子、佐々木 有

八戸工業高等専門学校

Can DNA lesions detected by the comet assay form chromosome aberrations?

○Ayako SAGA, Yu SASAKI

Hachinohe National College of Technology

コメットアッセイはDNA初期損傷を検出する系である。多段階の発癌過程を考えると、コメットアッセイで検出できるようなDNA損傷がどのような運命を辿るのかということは重要である。DNA損傷が染色体異常や突然変異として固定される場合には、DNA損傷が細胞に致死的でない必要がある。DNA損傷が細胞死の原因となる場合、p53が重要な役割を果たすとされている。TK6、WTK-1細胞は遺伝性貧血症患者のリンパ芽球様細胞からEBウイルスによって樹立されたWIL-2細胞に由来する培養細胞であり、後者はp53に変異をもっている。そこで、この両細胞の間でコメットアッセイ、染色体異常(小核)、細胞死の誘発を比較した。TK6、WTK-1細胞をメチルニトロソウレア (MNU)、エチルニトロソウレア、ブチルニトロソウレア (BNU) などの変異原で2時間処理し、処理直後から24時間後まで経時的にコメットアッセイの標本を作製した。また、変異原処理の後、サイトカラシン存在下で30時間培養し、小核の頻度を計測した。コメットアッセイでは、処理直後に両細胞ともほぼ同程度の陽性結果が得られ、BNUによる陽性反応は時間の経過によって速やかに減衰した。WTK1細胞では小核の誘発もみられた。しかし、TK6細胞に細胞死が疑われるような細胞像が多発し、アルキル鎖が短いMNUでは小核頻度の有意な増大に至らなかった。このことから、コメットアッセイで検出されるようなメチル化損傷は、p53の存在下では染色体異常として固定されるよりも、細胞死の原因になりやすい可能性が考えられた。

O-21 p53 関連遺伝子の発現を指標とした RT-PCR 法による遺伝毒性スクリーニング法の検討

○長崎 修治、谷藤 久人、久田 茂、岩村 敏

帝國薬器製薬（株）安全性・代謝研究部

An investigation of a possible method of genotoxic screening using RT-PCR analysis of p53-regulated genes

○Syuji NAGASAKI, Hisato TANIFUJI, Shigeru HISADA, Satoshi IWAMURA

Safety & Pharmacokinetics Research Department, Teikoku Hormone Mfg. Co. Ltd. Kawasaki, Japan

p53は細胞周期、アポトーシス及びDNAの修復に関連する遺伝子の発現を制御する転写因子である。我々はp53が発現制御するp53R2、p21及びGADD45のmRNA量を測定することにより、遺伝毒性の予測が可能かどうかを検討した。【方法】ヒト培養肝細胞HepG2に異なる遺伝毒性作用を持つmitomycinC（MMC）及びN-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine（ENNG）をIC50及び公比10による計3用量（高、中、低用量）で、6、12、24及び48時間処理した後、p53R2、p21及びGADD45のmRNA量をRT-PCR法により測定した。さらに、弊社で遺伝毒性スクリーニングとして行ったminiscreen法及びin vitro小核試験のどちらかで陽性であった化合物と、どちらの結果も陰性であった化合物をIC50濃度で48時間処理し、上記遺伝子のmRNA量を測定した。【結果】MMCの中及び高用量処理では、いずれのmRNAも処理時間依存的に上昇し、48時間で最大になった。ENNGの中及び高用量処理ではいずれのmRNAも6～24時間で最大となったが、48時間では低下又は消失した。一方、弊社化合物ではp21あるいはGADD45の発現を誘導した化合物があったものの、遺伝毒性スクリーニング結果とは一致しなかった。【考察】MMC及びENNGの結果から、遺伝毒性発現機序の違いによりp53関連遺伝子の発現時期が異なる可能性が考えられた。弊社化合物は48時間処理のみで検討したが、遺伝毒性スクリーニングの結果と一致しなかった。このことから弊社化合物の場合もENNGの場合と同様に、48時間処理ではp53関連遺伝子の発現が消失していたため、その発現を見逃していた可能性が考えられた。

O-22 脳保護薬エダラボンのセファロチン及びグリセロール併用時におけるラット腎障害性に関する検討

○大山 直樹、石井俊一郎、柴田 博、岡田味世子、井上 芳巳、杉本 次郎、新宅 秀久、杉山 明男、務台 衛

三菱ウェルファーマ（株）安全性研究所

Nephrotoxic effect of edaravone in combination with cefalotin and glycerol in rats

一般漢語(口頭)

○Naoki OHYAMA, Shun-ichiro ISHII, Hiroshi SHIBATA, Miyoko OKADA, Yoshimi INOUE, Jiro SUGIMOTO, Yoshihisa SHINTAKU, Akio SUGIYAMA, Mamoru MUTAI

Toxicology Laboratory, Mitsubishi Pharma Corporation

【目的】エダラボンはフリーラジカル消去作用を有する脳梗塞急性期の治療薬である。これまでに実施した毒性試験においてはエダラボンの腎障害性を示唆する成績は得られていないが、市販後にエダラボンとの関連性が否定できない急性腎不全等の重篤な腎機能障害が報告された。報告症例では腎障害への注意が喚起されているセフェム系抗生物質との併用が多いこと、ならびに脳梗塞治療の際にグリセロール製剤が使用される事例が多いことから、セファロチン（C）及びグリセロール（G）にエダラボンを併用した際の腎障害性についてラットを用いて検討した。【方法】C₁₂CD（SD）IGS雄ラット（10～11週齢）に、エダラボン（200mg/kg、bid、iv）を単独投与、あるいはC（2000mg/kg、iv）及びG（1g/kg、sc）とエダラボン（0、20、100、200mg/kg、bid、iv）を併用投与した。投与翌日に剖検し、腎臓の病理組織学的検査を実施した。実験はラットに水を自由摂取させる給水と薬物投与前日から剖検時まで計48時間絶水させる条件で比較検討した。【結果】エダラボン単独投与では、給水・絶水いずれの条件でも腎障害を示唆する所見はみられなかった。C及びGとの3剤併用では、給水条件のエダラボン100及び200mg/kgにおいて、近位尿管上皮の変性/壊死がみられた。絶水条件では、C及びGの併用投与のみでも近位尿管上皮に変性/壊死が認められ、エダラボン100及び200mg/kgはその腎障害を増幅させた。しかし、エダラボンの臨床投与量（30mg/man、bid）の約40倍に相当する20mg/kg（bid）では腎障害の増幅は認められなかった。【結論】高用量のエダラボン投与は、腎障害作用を有する薬物との併用投与や脱水状態などの腎障害が発生しやすい条件が重なった場合、腎障害発生に対して促進的に働く可能性が考えられた。

O-23 シスプラチンおよびネダプラチンによる腎細胞への取り込み量と腎障害発現との関係について

○谷内 三郎、河合 悦子、岡原 茂喜、藤井 彩、中村 益久、玄番 宗一
大阪薬科大学薬理学教室

Cisplatin- and nedaplatin- induced nephrotoxicity and their renal accumulation in rats

○Saburo TANIUCHI, Yoshiko KAWAI, Shigeki OKAHARA, Aya FUJII, Masuhisa NAKAMURA, Munekazu GEMBA

Division of Pharmacology, Osaka University of Pharmaceutical Sciences

【目的】抗悪性腫瘍薬シスプラチンは、強力な抗腫瘍作用を示す。しかし一方で副作用である急性腎不全によりその使用が制限される。シスプラチンとはほぼ同程度の抗腫瘍作用を示し腎毒性が低い白金錯体ネダプラチンが使用されている。しかし、なぜネダプラチンがシスプラチンに比べて腎毒性が低いのかは明確ではない。そこで、シスプラチンは腎に蓄積しその毒性を発現すると考えられていることから、シスプラチンとネダプラチンによる腎障害の程度と腎への蓄積量とを比較検討した。【方法】6週齢SD系雄性ラットにネダプラチン (CDGP, 7.5mg/kg, 15mg/kg) およびシスプラチン (CDDP, 7.5mg/kg, 3.75mg/kg) をそれぞれ尾静脈内投与した。投与後72時間後に腎機能の指標として、血中尿素窒素 (BUN)、血漿クレアチニン (Pcr) および尿中へのN-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) の排泄量を調べた。CDDPおよびCDGPの腎への蓄積量は、白金含量として原子吸光分光光度計測定をした。【結果】CDDP, CDGPそれぞれ7.5mg/kgにおいて、CDGPのBUN, Pcrの上昇はCDDPに比べて1/3, NAGの尿中排泄量は1/4であり、白金の蓄積量は1/4であった。腎への白金の蓄積量は、CDDP3.75mg/kgとCDGP15mg/kgの条件ではほぼ同程度であった。この蓄積量が同程度であった時において、BUNの上昇およびNAGの尿中への排泄量とも同程度の障害を示した。【考察】今回の結果から、ネダプラチンはシスプラチンに比べて腎への蓄積性が低く、そのために腎障害の程度も低いことが示唆される。

O-24 サイクロスポリンA (CysA) 長期投与に対する腎内アンジオテンシンII (AngII) 受容体の発現調節

○西山 成¹、松向寺孝臣¹、永井由紀子²、安部 陽一¹

¹香川大学医学部薬理、²香川大学医学部総合生命科学実験センター

Regulation of angiotensin II receptors during chronic treatment with Cyclosporine A.

○Akira NISHIYAMA¹, Takaomi SHOKOJI¹, Yukiko NAGAI², Youichi ABE¹

¹Department of Pharmacology, Kagawa Medical University, ²The Research Equipment Center, Kagawa Medical University

近年、CysA長期投与で生じる組織障害でのAngIIの役割が指摘されている。本研究では、CysA依存性高血圧ラットにおける大動脈および腎内のAngII受容体発現調節を検討した。SDラットにCysA (30mg/kg, n=9) あるいはビーケル (olive oil, n=8) を3週間連日皮下投与し、大動脈および腎皮質組織中のAT₁・AT₂受容体の蛋白発現をWester-blotting法にて測定した。CysAの連日投与により、収縮期血圧は119±2から151±3mmHgにまで上昇した。CysA投与群における血漿中レニン活性およびAngII濃度 (8.7±1.1ng AngI/mL/hr, 135±18fmol/mL) は、ビーケル (olive oil 1 mL) 投与群 (3.2±0.8 ng AngI/mL/hr, 76±10 fmol/mL) よりも高値を示した。また、CysA投与群の腎組織中レニン活性およびAngII濃度 (5.2±0.9×10³ng AngI/g/hr, 558±181 fmol/g) も、ビーケル投与群 (3.4±0.7×10³ng AngI/mL/hr, 222±21fmol/mL) よりも高値を示した。CysA投与群の大動脈AT₁・AT₂受容体発現は、ビーケル群と比較して2.5倍、2.0倍上昇していた。これに対し、CysA投与群の腎皮質中AT₁・受容体発現は約40%減少しており、AT₂・受容体発現は4.0倍も上昇していた。組織学的検討では、CysA投与は腎輸入動脈の繊維化以外の顕著な糸球体および尿管管障害を生じず、尿中蛋白排泄量にも有意な変化を与えなかった。

以上、CysA依存性高血圧ラットでは、腎内におけるAngII産生の亢進にもかかわらず顕著な腎障害が観察されなかった。したがって、CysA投与に伴って生じている腎内AT₁・AT₂受容体の発現調節が、腎保護的に働いている可能性が考えられた。

O-25 脳保護薬エダラボンのヒト腎臓由来細胞におよぼす影響

○岩瀬裕美子¹、大山 直樹¹、近藤 宏子²、木原 貴之²、藤崎 浩³、高松 康雄²、Genfu Chen⁴、Paul Silber⁴、務台 衛¹、岡井 尚久¹

¹三菱ウェルファーマ(株)安全性研究所、²三菱ウェルファーマ(株)薬物動態研究所、³三菱ウェルファーマ(株)品質管理部、⁴In Vitro Technologies, Inc.

Cytotoxic effects of edaravone in human renal cells

○Yumiko IWASE¹、Naoki OHYAMA¹、Hiroko KONDO²、Takayuki KIFUJI²、Hiroshi FUJISAKI²、Yasuo TAKAMATSU²、Genfu CHEN⁴、Paul SILBER⁴、Mamoru MUTAI¹、Naohisa TSUTSUMI¹

¹Toxicology Laboratory, Mitsubishi Pharma Corporation, ²Pharmacokinetics Laboratory, Mitsubishi Pharma Corporation, ³Quality Control Department, Mitsubishi Pharma Corporation, ⁴In Vitro Technologies, Inc.

【目的】エダラボン(edaravone, E)はフリーラジカル消去作用をもつ脳梗塞急性期治療薬である。これまでに実施した毒性試験においてはEの腎障害性を示唆する成績は得られていないが、市販後にEとの関連性が否定できない急性腎不全等の重篤な腎機能障害が報告された。そこで、Eならびにその硫酸塩合体(S)およびグルクロン酸合体(G)についてヒト正常腎臓由来細胞に対する細胞毒性を検討した。【方法】ヒト正常腎臓近位尿管上皮細胞(RPTEC)にE、SおよびGの各1~1000 μ mol/Lを24および48時間曝露した後、核酸量を測定して細胞生存率を算出した。また、ヒト正常腎臓皮質上皮細胞(HRCE)に各被験物質0.1~1000 μ mol/Lを48時間曝露した後、MTT法により細胞生存率を算出した。さらに、¹⁴Cで標識したE(100および1000 μ mol/L)、S(100 μ mol/L)およびG(100 μ mol/L)をRPTECに各24時間曝露した後の細胞内濃度をHPLCにより測定した。【結果】E、SおよびGの各1000 μ mol/Lを48時間曝露した後の細胞生存率は、RPTECでは順に66.4%、82.7%および96.0%であり、HRCEでは順に69.5%、69.7%および97.1%であった。また、RPTEC内では、曝露した各被験物質はほとんど代謝されないと推定された。以上から、EおよびSは、臨床適用時の血漿中濃度レベル(それぞれ6.0および9.7 μ mol/L)に比べて極めて高い濃度域において、ヒト腎臓細胞に対して障害を誘発することが示された。

O-26 抗アレルギー薬の中樞抑制作用に関する検討

○四宮 一昭、重本 有紀、小西 優子、西賀 美幸、亀井 千晃

岡山大学・薬・薬物作用解析

Effects of anti-allergic drugs on the central nervous system

○Kazuaki SHINOMIYA, Yuki SHIGEMOTO, Masako KONISHI, Miyuki NISHIGA, Chiaki KAMEI

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University

一般薬理(口頭)

【目的】エピナスチンは、他の抗アレルギー薬と比較して、臨床において眠気ならびに倦怠感などの副作用が少ないとされている。今回これらの点を明確にする目的でラットを用いて睡眠導入潜時ならびに能動的回避反応に対するエピナスチンの効果をオロパタジンおよびケトチフェンと比較検討した。

【実験方法】睡眠導入潜時に対する薬物の効果は投与3時間の脳波および筋電図を指標として行った。脳波および筋電図の測定は、床から7cmの場所に幅3mmのステンレス製グリッドを2cm間隔で取り付け、その下に水を張った観察箱にラットを置くことにより行った。能動的回避反応の実験は明室と暗室の二部屋からなるステップスルー型回避反応装置を用いて行った。薬物投与1時間後にラットを暗室に入れ、5秒後にギロチンドアを開け、明室に移動するまでの時間(反応潜時)を測定した。

【結果】エピナスチンは50mg/kgの経口投与でも睡眠導入潜時短縮作用を示さなかった。オロパタジンは50mg/kgの用量で、ケトチフェンは10mg/kgの用量から有意な睡眠導入潜時短縮作用を示した。能動的回避反応に対して、エピナスチンは50mg/kgの用量でも有意な効果を示さなかった。オロパタジンは20mg/kgの用量から、ケトチフェンは10mg/kgの用量から有意な反応潜時延長作用を示した。

【考察】以上の成績から、エピナスチンは、オロパタジンおよびケトチフェンに比べて中樞抑制作用が少ないことが明らかとなった。

O-27 無拘束ラットの線条体におけるドパミンおよびセロトニン遊離に及ぼすピレスロイド薬の影響

○ホサイン ムハマド・ムバラク¹、小林 晴男¹、鈴木 忠彦¹、佐藤 至²、武藤 義³、鈴木 幸一⁴

¹岩手大学獣医学部、²岩手大学農業生命科学部、³岐阜大学大学院連合獣医学研究科

Effects of pyrethroids on striatal dopamine and serotonin release in freely moving rats

○Muhammad-mubarak HOSSAIN¹, Haruo KOBAYASHI¹, Tadahiko SUZUKI¹, Itaru SATO¹,
Tadashi TAKEWAKI², Koichi SUZUKI²

¹Department of Veterinary Medicine, Iwate University, ²Department of Agro-bioscience, Iwate University, ³United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University

現在家庭用に用いられている殺虫薬の大部分はピレスロイド薬である。ピレスロイド薬の中樞神経系への影響についてはあまり知られていない。我々は3種のピレスロイド薬:アレスリン (I型)、シハロスリン (II型) およびデルタメスリン (II型) の無拘束ラット海馬におけるアセチルコリン遊離に及ぼす影響について報告した (Hossain et al.2004)。今回これら3種のピレスロイド薬の左側線条体におけるドパミン (DA) およびセロトニン (5-HT) 遊離に及ぼす影響を無拘束SD系ラット (雄) を用いてマイクロダイアリシス法によって検討した。ピレスロイド薬は0 (対照, vehicle)、20または60 mg/kgを腹腔内に投与した。アレスリンはいずれの投与量も40-60分をピークに用量依存的にDA遊離を抑制 (投与前の約50%) および5-HTを増加させた (投与前の160-200%)。シハロスリンはいずれの投与量も40-90分をピークに用量依存的にDA遊離を抑制 (投与前の約50%) および5-HTを増加させた (投与前の175-250%)。デルタメスリンはDA遊離に対して、20mg/kgでは40-60分後をピークに増加 (投与前の150%) させたが、60mg/kgは投与後1時間は抑制、その後3時間以上増加 (投与前の約350%) させた。デルタメスリンは5-HT遊離に対して投与後40-60分後をピークに用量依存的に減少 (投与前の40-30%) させた。対照群ではDA遊離および5-HT遊離は全く変化しなかった。以上より、3種のピレスロイド薬はラット線条体におけるDA遊離および5-HT遊離に対して異なって作用すること、しかもII型のシハロスリンとデルタメスリンが全く異なって作用することが明らかとなった。Hossain et al. (2004) :NeuroToxicology 25 (in press)。

O-28 Isoproterenol 投与によるラット心機能と血中心臓ホルモンの変動について

○大野 理絵、宮田 裕人、白根 里加、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

Cardiac function and natriuretic peptides on isoproterenol-induced cardiac injury in rats

○Rie OHNO, Hiroto MIYATA, Rika SHIRANE, Isamu NAKAMURA, Yoshinobu IWAKI, Masaaki KIMURA

Toxicology Laboratory, Medicinal Research Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.

【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。我々はこれまで本学会においてラットのANPとBNPが心房に多く分布していること、またこれら心臓ホルモンの変動と心臓の病理組織学的変化から心障害時の指標になり得ることを報告してきた。今回、isoproterenol (ISO) 投与時のラットにおける心機能 (血圧・心拍数) の変化と血中心臓ホルモンの変動並びにそれらの関連性について解析した。【方法】 生後10週齢のラットにISO 2mg/kgを静脈内に単回投与した。血圧・心拍数はラット6匹について、ISOの投与前日、投与日の投与前、投与直後、0.5、1、2、4、8時間後にテールカフ法により測定した。血中ANP・BNPはラット22匹についてISO投与0.5、2、4、8時間後に採血を行い、RIA法により測定した。また、血中心臓ホルモンを測定した動物については同ポイントにて心臓を摘出し、病理組織学的検査を実施した。【結果及び考察】 血圧はISO投与直後に低下、心拍数は投与直後から2時間後をピークとして増加を示した。血中ANPは投与0.5~2時間に増加傾向を示した。血中BNPは投与0.5~8時間で有意に増加した。心臓の組織変化として、投与4時間以降から心室における心筋炎が認められた。本検討では、心臓の組織変化が観察されない投与後早期の心機能変動時において血中心臓ホルモンの変化が認められた。以上の結果は、ISO投与による血管拡張と血圧低下により心拍数の増加が生じ、その心臓への負荷により心房からANP又はBNPの分泌が促進され、血圧及び心拍数が回復傾向を示した変化と推測される。血中ANP又はBNPは血圧・心拍数の変動と関連した早期の心臓の機能的変化を反映する指標になると考えられた。

O-29 重金属暴露によるc-Jun NH₂-terminal kinase活性化

○松岡 雅人

東京女子医科大学 衛生学公衆衛生学 (一)

Activation of c-Jun NH₂-terminal kinase in response to heavy metal exposure

○Masato MATSUOKA

Department of Hygiene and Public Health (1), Tokyo Women's Medical University

重金属暴露がmitogen-activated protein kinase (MAPキナーゼ) ファミリーに属するc-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) に及ぼす影響をブタ近位尿管上皮由来上皮細胞であるLLC-PK₁細胞を用いて検討した。塩化カドミウムの濃度依存性にリン酸化型JNK蛋白レベルおよびGST-c-Junを基質とした*in vitro*でのJNK活性の増加が認められた。この活性化はカドミウムへの暴露30分後から認められ、8時間後も残存していた。また、リン酸化型c-Jun、総c-Jun、c-Fos蛋白レベルの増加も認められた。ノーザンブロット解析では、c-fos、c-junを含む前初期遺伝子群のmRNAレベルの増加が認められた。カドミウムへの暴露早期にJNKが活性化され、次いでTCFのEtk-1、およびTRE上のc-JunとATF-2の2量体が各々リン酸化され、c-fosとc-jun遺伝子の転写が活性化されることが考えられる。塩化カドミウムによるLLC-PK₁細胞のJNKリン酸化は、細胞内カルシウムキレート剤の前処理により消失したが、細胞膜透過性の重金属キレート剤の前処理では消失しなかったことから、細胞内カルシウムに依存していると考えられた。カドミウムと同様に腎毒性重金属である塩化水銀もLLC-PK₁細胞において、JNKおよびc-Junのリン酸化をもたらしたが、塩化マンガン、塩化亜鉛および塩化鉛は同細胞のJNKを活性化しなかった。従って、カドミウムや無機水銀により活性化されるJNKは、腎毒性重金属に暴露された近位尿管上皮細胞における重要なシグナル伝達経路である可能性が考えられる。重金属暴露に応答して活性化されるJNKシグナル伝達系の中毒学的意義を解明するために、JNKキナーゼ欠損細胞やJNK阻害剤を用い、標的遺伝子の検索や細胞毒性への影響等を検討している。

O-30 免疫系を介した*in vitro*肝毒性評価に有用なマウス肝細胞及び脾リンパ球の共培養系の検討

○川村 祐司、黒沢 亨

明治製薬(株)医薬開発部門動物安全性研究所安全性研究室

A useful coculture system in mouse primary hepatocyte and splenolymphocyte for assessment of *in vitro* immune-mediated hepatotoxicity

○Yuji KAWAMURA, Tohru KUROSAWA

Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Development Department, Meiji Seika Kaisha,LTD.

一般演題(口頭)

【目的】肝細胞毒性の*in vitro*評価に初代培養肝細胞が広く用いられているが、薬物の肝毒性発現においては、直接的な肝細胞への障害に加えて免疫系の細胞の関与が重要な場合がある。そこで、免疫系を介した肝細胞毒性の*in vitro*評価系の確立を目的として、Concanavalin A (ConA) 及びLipopolysaccharide (LPS)の肝細胞毒性について検討した。【方法】評価系としてマウス初代培養肝細胞と脾リンパ球の共培養系に関する検討を行った。肝細胞は24wellコラーゲンコートプレートを用いて24hr前培養した後、24hr薬物を曝露した。脾リンパ球はインサート用トランスウェルを用いて培養し、細胞播種時から薬物を48hr曝露した。その後、トランスウェルをコラーゲンコートプレートに載せて24hr共培養し、細胞毒性を評価した。【結果・考察】1) ConAは肝細胞単独では細胞毒性を発現しなかったが、共培養では用量依存的に細胞毒性を発現させた。2) ConAの毒性はアポトーシス阻害因子のHGF及びperforin阻害薬のconkanamycin Aにより抑制され、ConAの毒性発現にperforinによるアポトーシスが関与していることが確認された。3) LPSは肝細胞と脾リンパ球の共培養ではほとんど毒性を示さなかったが、さらに肝非実質細胞を加えると毒性が発現した。従って、LPSの毒性発現にはクッパー細胞などの肝非実質細胞が必要であることが確認された。【結論】ConAとLPSの肝細胞毒性を*in vitro*で評価することができた。本培養法は、免疫系が関与する薬物の肝細胞毒性の評価及び肝毒性メカニズムの検証等に適用できるものと考えられた。

O-31 In vitro心毒性評価のためのラット心筋細胞培養条件の検討

○井上 智彰、塩田 明文、小林 和子

中外製薬(株) 鎌倉研究所 前臨床研究第二部

Investigation of culture conditions of rat cardiomyocytes for in vitro evaluation of cardiotoxicity

○Tomooki INOUE, Akifumi SHIODA, Kazuko KOBAYASHI

Pre-clinical Research Dept.2, Kamakura Research Center, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd

創薬早期に行う毒性評価には、*in vitro*の培養系はthroughputの面で重要であるが、生体外に取り出したために発生するartifactを最小限に押さえるために、生体内に近い状態を保つ条件を検査する必要がある。今回は、心毒性評価の*in vitro*スクリーニング系を構築するために、新生子ラット心臓から分離した心筋細胞の培養条件について検討し、それぞれの特徴を明らかにした。[方法] 生後0から5日目の新生子SDラット心臓を抽出し、心室を分離、細切した後、collagenase及びtrypsinで処理し、細胞浮遊液を調製した。分離した細胞を 0.55×10^6 /mlの濃度に培養液に浮遊させ、未処理の培養容器(単層培養)、または底にI型collagen gel層(CG)を作製した培養容器での培養を行った。また、Matrigel(MG)を添加した場合も行った。培養開始後定期的に細胞の形態を観察し、それぞれの培養法の特徴を明らかにした。[結果および考察] 単層培養では付着性が高い線維芽細胞が培養容器表面に伸展し、心筋細胞はその上に付着した。培養開始3日目前後には、拍動している細胞塊も認められたが、その後線維芽細胞が増加し心筋に対する影響を見るにはendpointの選択が重要であると考えられた。また、拍動が起こるためには心筋細胞の細胞塊が形成され、細胞間の接合が起こることが重要であると考えられた。CGでは、線維芽細胞の増殖は著明ではなく、心筋細胞も何層かの細胞塊をなしている部分が多く認められ拍動していた。MGの添加によって細胞の形態は変化し、より早い時期から細胞間の接合が認められ、張力により細胞塊を形成しその部分が拍動しているのが観察された。これらの結果より、それぞれの培養法の特徴を生かしたendpointを選択することにより、医薬品の心毒性スクリーニングに応用できる可能性が示唆された。

O-32 ベンゼン代謝物によるDNA二重鎖切断の誘発

○高橋千太郎¹、武藤 泰子²、久保田善久¹、佐藤 宏¹、方 雅群¹、佐々木沙由里¹、岡安 隆一¹

¹放射線医学総合研究所、放射線安全研究センター、²静岡国立大学生生活環境科学研究科

Induction of DNA double strand break by benzene metabolites

○Sentaro TAKAHASHI¹, Yasuko MUTO², Yoshihisa KUBOTA¹, Hiroshi SATO¹, Yagun HOU¹, Sayuri SASAKI², Ryuichi OKAYASU¹

¹Research Center for Radiation Safety, National Institute of Radiological Sciences, ²Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka

目的:ベンゼンは発がん物質として知られている化学物質であり、工業的に用いられる他、自動車の排ガスやタバコの煙などに含まれる。ベンゼンは生体内で代謝され、p-ベンズキノン(BQ)、ヒドロキノン(HQ)、1,2,4-ベンゼントリオール(BT)となり、活性酸素の生成に伴ってDNAの酸化的損傷を誘発することが報告されているが、その機構については不明な点が多く、特にDNA二重鎖切断に関する報告はほとんどない。本研究では、培養動物細胞CHO-K1とその突然変異株であるDNA二重鎖切断修復酵素欠損細胞xrs-5およびirs-20を用いてBQ、HQ、BTの細胞毒性やDNA二重鎖切断の誘発およびその修復との関連について検討した。

方法:CHO-K1、xrs-5およびirs-20細胞をF-12培養液中で培養した後、BQを0.01-0.04mM、HQとBTを0.1-0.4mMの濃度範囲で曝露した。曝露後、1.5,3.0および6.0時間後に生存率をトリパンブルー染色法により求めた。また、培養後3.0時間において常法によりパルスフィールド電気泳動法を用いてDNA二重鎖切断の有無を判定した。

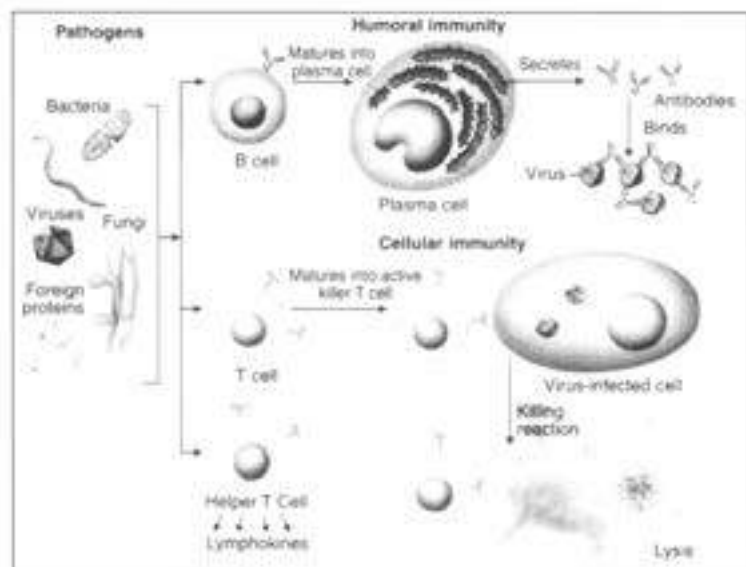
結果と考察:トリパンブルー染色法の結果、BQ、HQ、BTへの1.5-6.0時間曝露においてxrs-5およびirs-20細胞の生存率は、CHO細胞の生存率より有意に低かった。また、BQ(0.04mM)とHQ(0.4mM)に曝露(3.0時間)した場合、パルスフィールド電気泳動法によりDNAの二重鎖切断が確認された。これらの結果から、ベンゼン代謝物により*in vitro*の条件下ではDNA二重鎖切断が誘発され、ベンゼン代謝物の毒性や生体影響にDNA二重鎖切断が関与していることが推察された。

一般演題 (ポスター)

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: 03-5643-2735 Fax: 03-5643-2736
電子メール: ctl@repre.net
ホームページ: <http://www.repre.net/>

P6-01 高ビリルビン尿症ラットで認められる tienilic acid による高ビリルビン血症の増強

○西矢 剛淑、片岡 広子、森 和彦、菅原 正喜、古濱 和久

第一製薬(株)安全性研究所

Tienilic acid-enhanced hyperbilirubinemia in hyperbilirubinuria rats.

○Takayoshi NISHIYA, Hiroko KATAOKA, Kazuhiko MORI, Tadaki SUGAWARA, Kazuhisa FURUHAMA

Daichi Pharmaceutical Co., Ltd. Safety Research Laboratory

【目的】利尿降圧薬 tienilic acid はヒトで重篤な肝障害を惹起し市場より回収されたが、動物実験でこれを示唆する所見は認められていない。今回我々は、高ビリルビン尿症ラット (Eisai hyperbilirubinuria rats, EHBR) において、tienilic acid が血清総ビリルビンを著しく増加させることを見出すとともに、その発現機序について検討した。【方法】67週齢雌性EHBRに tienilic acid 300mg/kg を経口単回投与し、24時間後に血液生化学的パラメータ、ならびに胆汁流量、胆汁中へのビリルビンおよび胆汁酸の分泌量を測定した。また、投与3、6、9および24時間後の肝よりtotal RNAを抽出し、real time PCR法により、ビリルビン生成の律速酵素の heme oxygenase-1 (HO-1) および肝から血中へのビリルビン輸送に関与する multidrugresistance-associated protein 3 (Mrp3) 遺伝子発現量を測定した。【結果および考察】Tienilic acid投与により、投与24時間後の血清総ビリルビンは有意に増加(対照群の3.5倍)したが、血清トランスアミナーゼおよびアルカリフォスファターゼは変化せず、胆汁流量、胆汁中へのビリルビンおよび胆汁酸の分泌量の減少も認められなかった。一方、肝HO-1mRNA量は投与3時間および6時間後に顕著(初期値の50-70倍)に増加し、Mrp3mRNA量も投与6-24時間後に有意に上昇(初期値の7-8倍)した。以上の結果から、tienilic acidは肝でのビリルビン生成および肝から血中へのビリルビン輸送を亢進させることにより、EHBRにおける高ビリルビン血症を増強する可能性が示唆された。

☼ P6-02 Enhancement of thioacetamide-induced liver cirrhosis by estradiol 3-benzoate in the rats

○カン ジンソック、鶴岡 英機、森村圭一郎、サリム エリサイド、福嶋 昭治

大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理

Enhancement of thioacetamide-induced liver cirrhosis by estradiol 3-benzoate in the rats

○Jin Seok KANG, Hideki WANIBUCHI, Keiichirou MORIMURA, Elsayed I. SALIM, Shoji FUKUSHIMA

Department of Pathology, Osaka City University Medical School

一般演題 (P6-01)

To investigate the role of estrogen in liver disease, we tested estradiol 3-benzoate (EB) in thioacetamide (TAA) induced liver cirrhosis model. Male F344 rats of groups 1-4 received TAA for 12 wks, and those of groups 5 and 6 received normal water. During the treatment of TAA, they received EB pellet subcutaneously at doses of 0 (groups 1,5), 1 (group 2), 10 (group 3), 100 μ g (groups 4,6). All were sacrificed at 12 wks. EB treatment increase incidence of liver cirrhosis in groups 3 and 4 significantly ($p < 0.05$). There were significant increase of liver weights and collagen content of the liver in groups 3 and 4 and 8-OHdG formation in groups 4 compared with those of group 1 ($p < 0.05$). However, there were no difference of liver weight, collagen content, and 8-OHdG formation of group 6 compared with those of group 5. Taken together, we conclude that EB treatment enhances TAA-induced cirrhosis associated with increase of oxidative stress.

P6-03 TNBS誘発腸炎モデルにおける炎症と運動機能障害に対するTNF α の役割:TNF α KOマウスを用いた解析

○堀 正敏¹, 尾崎 博¹, 百深 英一²

¹東京大学大学院農学系生命科学研究科獣医学薬理学教室, ²動物衛生研究所

Role of TNF α on inflammation and motility dysfunction on TNBS-induced colitis: Investigation using TNF α knock out mouse.

○Masatoshi HORI¹, Hiroshi OZAKI¹, Eiichi MOMOTANI²

¹Dept of Vet Pharmacol, Grad Sch of Agri & Life Sci, The Univ of Tokyo, ²National Institute of Animal Health

(背景) ヒトのクローン病は原因不明の慢性炎症性腸疾患であるが、近年、炎症性サイトカインであるTNF α の抗体を用いた抗体療法が有効な抗体療法として注目されている。本研究では、C57BL/6JマウスとTNF α ノックアウトマウス (TNF α -/-) を用いてトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) 誘発結腸炎モデルを作製し、TNBSによって惹起される炎症像、サイトカインカスケード、運動機能障害などについて検討し、TNF α の病態生理学的役割について検討した。(結果) TNBS投与2日後において、結腸粘膜上皮は脱落し、多数の炎症性細胞の浸潤が粘膜と筋層に認められた。好中球浸潤の指標としてMPO活性を粘膜と筋層に分けて測定したところ、TNBS投与により粘膜、筋層の両方で顕著なMPO活性の上昇が認められた。TNF α -/-においては、HE染色による炎症所見は軽減し、MPO活性は粘膜層、筋層ともに有意に減少していた。TNBS投与により炎症性サイトカイン類のmRNA発現量は、粘膜層と筋層の両方で増加した。一方、TNF α -/-においてはこれらの炎症性サイトカイン発現はほぼ完全に抑制されたが、粘膜層でのIL-6mRNA発現量はTNF α -/-でも高かった。TNBS誘発腸炎では、結腸輪走筋の収縮反応性は低下したが、TNF α -/-においては収縮反応性の低下はほとんど認められなかった。(考察) TNBS誘発腸炎においてTNF α は最上流に位置する炎症性サイトカインであり、炎症や運動機能障害の発症に重要なサイトカインであることが示唆された。しかし、粘膜部においてはTNF α とは関係なくIL-6の産生が増加していることから、粘膜炎症においてはIL-6も上流に位置する重要な炎症性サイトカインであると考えられた。

🌟 P6-04 薬物による催吐作用の評価代替法:ラットならびにスunksの摘出腹部迷走神経の脱分極反応の解析

○根本 昌宏¹, 遠藤 泰², 浜上 尚也², 平藤 雅彦², 齋藤 秀哉¹, 南 勝²

¹日本赤十字北海道看護大学 基礎科学講座, ²北海道医療大学 薬学部 薬理学教室, ³北海道医療大学 医療科学センター

New method to evaluate the drug-induced emesis: depolarization responses of isolated abdominal vagus nerve on rat and suncus murinus.

○Masahiro NEMOTO¹, Toru ENDO², Naoya HAMAUE², Masahiko HIRAFUJI², Hideya SAITO¹, Masaru MINAMI²

¹Department of basic sciences, Japanese red cross hokkaido college of nursing, ²Department of pharmacology, Faculty of pharmaceutical sciences, Health sciences university of hokkaido, ³Institute of medical science and medical and dental clinic, Health sciences university of hokkaido

【目的】嘔吐の発現には末梢情報を嘔吐中枢に伝達する求心性迷走神経が重要な役割を担っている。grease-gap法は神経の軸索の性質を探る有用な方法であり、これまで主にラットの頸部の迷走神経を用いた報告がなされている。我々は嘔吐反応を解析評価するため、消化器系に分布する腹部の迷走神経に特化した測定系を開発した。ラットなどげっ歯目の動物は嘔吐を起こさないため、嘔吐のモデル動物である食虫目のスunksの腹部迷走神経の測定系を構築することで本試験系の嘔吐作用評価の有用性について考察した。

【方法】実験はWistar系ラットならびにスunks (*suncus murinus*) を用いた。両動物から腹部迷走神経を摘出し、その細胞外電位の変動をgrease-gap法を用い測定した。嘔吐に関連する内因性物質である5-HTを灌流液に加え、それによって発生する神経の細胞外電位の変動を記録解析した。制吐薬として臨床で使われている5-HT₂受容体拮抗薬または5-HT₁受容体拮抗薬を30分前より灌流し、その後5-HTによる影響を検討した。

【結果】ラット、スunksとも腹部摘出迷走神経は5-HTによって濃度依存的な脱分極反応を起こした。この脱分極反応は、5-HTならびに5-HT₂受容体拮抗薬によって濃度依存的に抑制された。さらにラット腹部迷走神経は、頸部迷走神経よりも約1.8倍高い反応性を示すことが確認された。

【結論】消化器系への影響を探るための腹部迷走神経の*in vitro*測定系をラットならびにスunksにおいて確立した。本試験系において、嘔吐を起こす動物であるスunksと同様にラットにおいても嘔吐関連物質の5-HTによって脱分極反応が発現し、その反応には5-HT₂ならびに5-HT₁受容体の関与が示唆された。嘔吐性物質ならびに制吐性物質の評価ならびにその作用機序を明らかにする上で、本試験系の有用性が期待される。

P6-05 Haloperidol 投与による雌ラットの肝中CYP3A1 誘導メカニズムについて—下垂体・卵巣を介する内因性ステロイドとの関係—

○島田奈央子、内海 博之、山本 敏誠、筒井 尚久

三菱ウェルファーマ（株）創薬本部研究部門安全性研究所

Mechanism of CYP3A1 induction by haloperidol in female rat liver

○Naoko SHIMADA, Hiroyuki UTSUMI, Toshinobu YAMAMOTO, Naohisa TSUTSUI

Toxicology Laboratory, Pharmaceuticals Research Unit, Research & Development Division, Mitsubishi Pharma Corporation

【背景】抗精神病薬である haloperidol や olanzapine など雌ラットに投与すると、下垂体からプロラクチンが放出され、その作用が黄体を活性化することが知られている。今回我々は、これらの薬剤投与による下垂体・卵巣を介する内分泌系への影響と、肝臓における酵素誘導の関係について検討した。【方法】6週齢の雌 IGS ラットに haloperidol を 20mg/kg を 4日間反復投与し、採血後下垂体、卵巣および肝臓を採取した。各種抽出装置から total RNA を抽出し、性ホルモンおよび酵素誘導関連遺伝子についてリアルタイム RT-PCR を用いて定量化した。採血サンプルからは血清中プロゲステロンなどのステロイド量を測定した。卵巣抽出動物においても同様に行った。また、直接作用をみるためにラット hepatocytes へ haloperidol およびプロゲステロンを曝露し、酵素誘導関連遺伝子について解析した。【結果および考察】Haloperidol 投与群では下垂体におけるプロラクチン、卵巣における CYP3A1 および PXR、肝臓における CYP3A1 の mRNA の発現量の上昇および、血清中プロゲステロン量の増加が認められた。さらに、ラット hepatocytes にプロゲステロンを曝露すると CYP3A1 の mRNA は上昇するが、haloperidol の曝露では影響はみられなかった。また、卵巣抽出動物の肝臓中 CYP3A1 の mRNA は haloperidol 投与により上昇はみられなかった。以上より、haloperidol 投与の雌ラットにおける肝臓の CYP3A1 の誘導は、薬剤による直接的な作用ではなく、dopamine D2 antagonist による下垂体からのプロラクチンの放出とそれに伴う卵巣からのプロゲステロンなどのステロイドの増加に起因するものと推定された。

P6-06 ラット肝障害モデルにおける肝細胞及び非実質細胞の遺伝子発現変動

○山本 敏誠、内海 博之、島田奈央子、筒井 尚久

三菱ウェルファーマ（株）創薬本部研究部門 安全性研究所

Induction of mRNA in hepatocytes and non-parenchymal cells for hepatic injury models

○Toshinobu YAMAMOTO, Hiroyuki UTSUMI, Naoko SHIMADA, Naohisa TSUTSUI

Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Research Unit, Research and Development Division, Mitsubishi Pharma Corporation

【目的】薬剤性肝障害のメカニズム解明や毒性マーカー検索に遺伝子発現解析は広く用いられているが、肝臓を肝細胞と非実質細胞に分離して検討した例は少ない。そこで、酸化ストレスや炎症反応が認められる虚血再還流又はアセトアミノフェン (APAP) 投与により誘発したラット肝障害モデルから、コラゲナーゼ環流法を用いて採取した肝細胞と非実質細胞について RT-PCR を用いて遺伝子発現変動を解析した。

【結果】肝臓全体を用いた解析では、虚血45分・再還流1時間において、HSP70とTNF- α の発現が、また再還流3時間において、HO-1、HSP70、iNOS、IL-6等、再還流1時間と比較すると、より多くの遺伝子の発現が増強した。再還流1及び3時間後の肝臓を肝細胞と非実質細胞に分離すると、肝細胞では、HO-1とHSP70が、一方、非実質細胞ではHSP70、TNF- α 、IL-1 β 等の炎症性サイトカインやiNOSが誘導された。また、これらの中で、肝臓全体での解析に比べて、肝細胞と分離することにより、iNOSと炎症性サイトカインには著明な変動が認められた。さらにiNOSとIL-6は肝臓全体では3時間後に変化を認め、非実質細胞を解析することにより1時間後から変動を検出した。一方、肝毒性用量のAPAP (1000mg/kg) 投与24時間後に認められた肝臓、肝細胞及び非実質細胞の遺伝子の変化は虚血再還流モデルと同様の傾向を示した。

【結論】以上、ストレス応答遺伝子のHO-1、HSP70とiNOSでは、肝細胞と非実質細胞とで発現レベルに差がみられ、これらの遺伝子の発現を検討することにより、障害を受ける細胞が推察される可能性が示唆された。また非実質細胞でiNOSや炎症性サイトカインの発現が増強されたことは、これらの由来がkuppfer cellを含む非実質細胞であるという報告と一致した。

● P6-07 オーラノフィンによるコカイン誘導肝障害防御作用とヘムオキシゲナーゼ-1誘導

○芦野 隆、杉内 仁子、内藤 弓子、沼澤 聡、吉田 武美

昭和大学薬学部毒物学教室

Protection against cocaine-induced liver injury and induction of heme oxygenase-1 by auranofin

○Takashi ASHINO, Jinko SUGIUCHI, Yumiko NAITO, Satoshi NUMAZAWA, Takemi YOSHIDA

Department of Biochemical Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University

【目的】抗リウマチ薬である金製剤オーラノフィンの効果は、自己抗体産生の抑制やマクロファージからのサイトカインの遊離抑制が報告されている。しかし、その作用機序と関節リウマチ以外の臓器障害に対する効果は不明である。コカインによる肝障害は代謝段階で生成される活性酸素種や炎症性サイトカインが原因と考えられている。そこで、コカイン誘導肝障害モデルを用いオーラノフィンによる肝障害防御作用および酸化ストレスに対して鋭敏に発現誘導されるヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) の発現を検討した。【方法】BALB/c系雄性マウスに生理食塩水に溶解したコカイン (75mg/kg) を腹腔内投与し肝障害モデルとした。オーラノフィン (10mg/kg) はエタノールに溶解した後、コーンオイルで希釈し腹腔内投与した。肝障害は血清中のトランスアミナーゼ (ALT, AST) 活性を指標とし、HO-1タンパク質はウエスタンブロット法にて発現を検討した。【結果・考察】マウス血清中のALTとAST活性はコカイン処置16時間後にそれぞれ8,000 IU/L、3,500 IU/Lと著明な上昇を示したことより、肝障害が引き起こされていることが示唆された。また、肝臓におけるHO-1タンパク質の発現も対照の400%と有意に増加した。そこで、オーラノフィンをコカイン投与12時間前に前処置し、コカインによる肝障害を検討した。その結果、コカイン単独投与では、ALT, AST活性ともに著明な上昇が見られたのに対し、オーラノフィン前処置によりそれらの血清中活性は、それぞれ400 IU/L、700 IU/Lと有意に抑制された。またオーラノフィン前処置によるコカイン誘導肝障害の抑制程度に相関し、HO-1誘導がより抑制された。以上のことより、オーラノフィンは関節リウマチでの炎症に作用するのみならず、薬物による肝障害も防御することが明らかとなった。

● P6-08 コカイン誘発肝障害における炎症性サイトカインの役割

○内藤 弓子¹、杉内 仁子¹、芦野 隆¹、塩田 清二²、宝来 玲子²、浅野 雅秀³、関川 賢二⁵、岩倉洋一郎³、沼澤 聡¹、吉田 武美¹

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

Possible role of inflammatory cytokines in liver injury caused by cocaine

○Yumiko NAITO¹, Jinko SUGIUCHI¹, Takashi ASHINO¹, Seiji SHIODA², Reiko HORAI², Masahide ASANO³, Kenji SEKIKAWA³, Yoitrou IWAKURA³, Satoshi NUMAZAWA¹, Takemi YOSHIDA¹

¹Department of Biochemical Toxicology, school of pharmaceutical Sciences, Showa university, ²Department of Anatomy, school of Medicine, Showa University, ³Institute of Medical Science, University of Tokyo

【目的】乱用薬物であるコカインは、肝障害を引き起こすことが報告されている。コカイン誘発肝障害は、コカインの代謝過程で生成する活性酸素種やtumor necrosis factor α (TNF α)等の炎症性サイトカインが原因と考えられている。しかしながら、その詳細な機序については明らかにされていない。そこで本研究は、interleukin (IL) -1 α /b、IL-6、TNF α の各炎症性サイトカインノックアウト (KO) マウスを用いて、コカイン誘発肝障害と各種サイトカインの役割を解明することを目的として検討を行った。【方法】実験動物は8~10週齢のBALB/c系雄性wild-type (WT) マウスおよびIL-1 α /b、IL-6、TNF α の各KOマウスを用いた。コカインは生理食塩水に溶解し、マウス腹腔内に投与した。肝障害の指標として血清トランスアミナーゼ (AST, ALT) 活性を測定し、また、酸化ストレス応答タンパク質であるヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) の変動をウエスタンブロット法で検討した。【結果・考察】コカイン (75mg/kg) は投与16時間後にWTマウスの血清中ALT, AST活性を著明に上昇させた。そこで、各サイトカインKOマウスにコカインを投与したところ、IL-1 α /b及びTNF α KOマウスにおいては、WTマウスと同様に血清ALT, ASTともに約4,000 IU/Lの著明な活性上昇が見られた。しかし興味深いことにIL-6 KOマウスではコカインによるAST, ALT活性の有意な上昇は認められなかった。HO-1タンパク質の発現は、上記肝障害指標酵素活性の変動と相関し、WT, IL-1 α /b KO, TNF α KOマウスでは有意な誘導が認められたが、IL-6 KOマウスでは誘導が認められなかった。以上の結果から、コカイン誘発肝障害はIL-6が重要な役割を担っている可能性が示唆された。

P6-09 胃排出能遅延モデルラットを用いたマレイン酸トリメブチンの胃排出改善作用の検討

○玉川 恵、横田 由美、山本 由徳、大保真由美

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

Improvement Effect of Trimebutine Maleate Using a Rat Model with Delayed Gastric Emptying

○Megumi TAMAGAWA, Yumi MAKITA, Yoshinori YAMAMOTO, Mayumi OBO

Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan

【目的】消化管運動機能調整剤として開発されたマレイン酸トリメブチンは、臨床的に胃排出遅延剤において排出能を亢進させ、上部消化管の不定愁訴の改善に有効であると言われている。しかし、この薬物は正常なマウスやラットの胃排出能には影響を及ぼさないことから、幽門部切開法により胃から十二指腸の協調運動障害を起こさせた胃排出能遅延モデルラットを用いて、マレイン酸トリメブチンの胃排出改善作用を検討した。【方法】7～8週齢のWistar系、雄性ラットを用いた。ラットは約18時間絶食し、チオペンタール35mg/kgの腹腔内投与で麻酔した。その後、上腹部を正中で切開し、胃を露出させ胃幽門部と十二指腸の境界部を小型電気焼灼器を用いて縦走筋に沿って約1 cm切開した。切開後、直ちに縫合して上腹部を縫合した。手術の翌日、0.5%トラガントゴム液あるいはマレイン酸トリメブチン3、10、30mg/kgを1mL/kgの液量で経口投与し、30分後にレジンベレットを含む脂肪食（50%落花生油とTween 80との乳化物）を1匹当たり2mL経口投与した。脂肪食の経口投与後60分に胃を摘出し、胃内に残留するレジンベレットを目視で計測した。【結果およびまとめ】胃排出能遅延モデルラットの胃排出率は20%であった。マレイン酸トリメブチンは3mg/kgで遅延モデルラットの胃排出率に有意な差は認められなかったが、10および30mg/kgではそれぞれ43および42%と有意な高値を示し、明らかに胃排出能を改善した。今回の結果より、正常動物ではとらえることのできないマレイン酸トリメブチンの胃排出改善作用を胃排出能遅延モデルラットを用いることにより、捉えられることが分かった。

P6-10 QT間隔延長作用評価に関する *in vitro* 試験における偽陰性及び偽陽性作用

○米沢 恵子、根岸 保則、津崎 健二、片山 義三、阿部かなえ、堀田 啓子、鶴岡 裕治

(株)薬物安全性試験センター 薬理研究所

False-positive and -negative effects in *in vitro* assays for predicting QT prolongation effects of drugs

○Keiko YONEZAWA, Yasunori NEGISHI, Kenji TSUZAKI, Yoshimi KATAYAMA, Kanae ABE, Hiroko HOTTA, Yuji TSURUBUCHI

Drug Safety Testing Center Co. Ltd.

一般薬理 (K29-1)

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 *in vitro* 試験として、摘出心筋標本を用いた微小電極法による活動電位持続時間 (APD) の測定及び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広く用いられている。しかし、いずれの評価方法においても偽陰性又は偽陽性作用を示す薬物の存在が明らかとなり、そのメカニズムの解明が望まれている。

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が、微小電極法によるAPD測定やパッチクランプ法によるhERG電流測定において陰性を示す薬物について、実験条件や解析方法を改変することによる評価能の向上の可能性を検討した。また、心電図QT間隔延長作用の示さないにもかかわらず、これら試験系で陽性作用を示す薬物についても同様の検討を行った。

Terfenadineでは100 nmol/Lの濃度においてモルモット摘出乳頭筋のAPDには影響を及ぼさなかったが、hERG電流に対しては顕著な抑制作用を示した。一方、*d*-sotalolは10 μ mol/Lの濃度でモルモット摘出乳頭筋におけるAPDを顕著に延長したが、hERG電流に対する影響は認められなかった。これらの結果をもとに、hERG電流測定に用いる灌流液の組成や温度、膜電位及び刺激頻度などの実験条件やAPD測定における解析法などが、薬物の評価に及ぼす影響について考察する。

P6-11 麻酔心房ペースング犬における薬物誘発性QT間隔延長と血中濃度相関の解析

○宮内 慎、富田 和夫、郡波 弘康、船戸 秀幸、横山 徹、柿沼 千早、山崎 文明、萩原 琢男、柳橋 和利、大西 修平

持田製薬(株)創薬研究所

Analysis of drug-induced QT prolongation and correlation of plasma concentration under atrium pacing in anesthetized dogs.

○Makoto MIYAUCHI, Kazuo TOMITA, Hiroyasu NABA, Hideyuki FUNATO, Toru YOKOYAMA, Chihaya KAKINUMA, Fumiaki YAMASAKI, Takuo OGIWARA, Kazutoshi YANAGIHASHI, Shuhei OONISHI
Pharmaceutical Research Center, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.

【目的】創薬早期における薬物のQT間隔延長の評価は開発の方向性を決定する上で重要であるが、QT延長作用と血漿中薬物濃度を同時に解析した報告は少なく、QT間隔延長をもたらす薬物濃度閾値の評価については、より精度の高い方法を確立する必要がある。今回我々はハロタン麻酔心房ペースング犬を用いて薬物誘発性のQT延長作用と血漿中薬物濃度を同時にモニタリングし、その相関性を精査したので報告する。【方法】雑ビーグル犬を用い、ハロタン吸入による持続麻酔下、75または100beats/minで心房ペースングを行った。Astemizole、CisaprideまたはE4031を60分間持続静脈内投与し、心電図(第II誘導及び胸部誘導)、血圧及び左心室内圧を測定した。また、投与開始後5、10、15、30、45及び60分後の血漿中薬物濃度を測定した。【結果】Astemizole投与開始後15分まで血漿中濃度は増加し、その後定常状態に達した。QT間隔は投与開始後10分に投与前値に比べて10%以上延長した。QT間隔が投与前値に比べて延長した時の血漿中濃度を75beats/minと100beats/minで比較すると、血漿中濃度は100beats/minの方が高かった。血漿中薬物濃度とQT延長作用について回帰分析を行った結果、有意な高い相関性が認められた。また、Cisapride及びE4031についても良好な相関性が確認された。【考察及び結論】Astemizole、Cisapride及びE4031についてQT延長作用と血漿中濃度との間に高い相関性があることを明らかにした。麻酔心房ペースングモデルを用いることによりQT間隔延長作用と、それを引き起こす血漿中の薬物濃度を精度良く定量的に評価することができ、QT延長作用を示す薬物のセーフティマージンを推察することが可能になると期待される。

P6-12 アステミゾール及びシプロフロキサシンの無麻酔イヌにおけるQTc間隔に及ぼす影響

○鎌田 満穂、中下 富雄、山本 恵司、佐藤 秀敏

武田薬品工業(株)

Effects of Astemizole and Ciprofloxacin on QTc Interval in Conscious Telemetered Dogs

○Mitsutoshi KAMADA, Tomio NAKASHITA, Keiji YAMAMOTO, Shuzo SATO
TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES,LTD.

【目的】ヒトでQT間隔延長およびそれに関連した不整脈を引き起こすことが知られているアステミゾールと、そのような作用は極めて小さいと考えられているシプロフロキサシンを用いて、無麻酔イヌ(テレメトリー)の薬物誘発性のQT間隔延長のリスク評価における有用性を評価した。【方法】雑ビーグル犬4頭について、実験開始2週間以上前に手術し、テレメトリー法による第II誘導心電図及び大動脈血圧の測定を可能とした。まず、分散媒(0.5w/v% methylcellulose)ならびにシプロフロキサシンの5、30及び200mg/kg(計4用量)を、4日以上の間隔をあけてラテン方格法により投与した。次いで、十分な回復期間の後、分散媒ならびにアステミゾールの3、10及び30mg/kgを1週間間隔で漸増投与した。投与経路はいずれも経口とした。投与前1、0.75及び0.5時間ならびに投与後1、2、4、8、12、16及び24時間の、血圧及び心電図パラメータを測定した。また、アステミゾール投与後は血漿中アステミゾール及び代謝物であるデスメチルアステミゾールの濃度を測定した。【結果】アステミゾールは、3、10及び30mg/kgで、用量に依存したQTc間隔(Fridericia)の延長を示した。未変化体(Cmaxはそれぞれ10、70及び180 ng/mL)及びデスメチルアステミゾール(Cmaxはそれぞれ20、70及び150 ng/mL)の血漿中濃度はいずれも用量に依存して増加し、Tmaxはそれぞれ2-4時間及び8時間以降であった。一方、シプロフロキサシンは200mg/kgまでQTc間隔に対して明らかな作用を示さなかった。【結論】無麻酔イヌを用いたテレメトリー法は、薬物によるQT間隔延長リスクのポテンシャル評価及び安全域の推定に有用である。

● P6-13 安全性評価としての3-D Echocardiographyによるカニクイザルの心臓左室容積及び収縮機能の測定

○玉井 朝子¹、与那嶺春乃¹、吉川 哲也¹、下本 睦子²、角崎 英志¹、永田 良一¹、鬼頭 剛¹
¹(株)新日本科学、²フィリップスメディカルシステムズ(株)

Evaluation of Left Ventricular Function in Cynomolgus Monkeys using Real Three Dimensional Echocardiography, as Applications to Safety Assessment

○Asako TAMAI¹、Haruno YONAMINE¹、Tetsuya YOSHIKAWA¹、Mutsuko SHIMOMOTO²、Hideshi TSUSAKI¹、Ryoichi NAGATA¹、Go KITOU¹
Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd.、Philips Medical Systems Ltd.

【目的】安全性試験及び薬理試験の評価として無侵襲で、経時的に心臓の左室容積および左室機能を測定することは、重要な手段の一つである。私達は3-D Echocardiography (3D) を用いてカニクイザルの左室容積及び左室収縮機能の基礎的なパラメーターを測定し、 β -遮断薬、カルシウム拮抗薬などの薬物の作用を解析した。実験方法: 実験には、雄性カニクイザル(n=11)を用い、吸入麻酔下で、3D (SONOS 7500, Philips Med. Sys.) を用いて心臓のイメージを記録・測定した。画像の解析は、Tom-Tec (4D Cardio-View RT) を用いた。左室機能の評価として、左室収縮末期容積 (EDV)、左室収縮末期容積 (ESV)、1回拍出量 (SV)、左室駆出率 (EF)、心拍出量 (CO)、心拍数 (HR) を測定した。実験は、①基礎的な測定として、左室容積に対する2D、3Dにおける値を求め、実測値との相関関係を調べた。②Propranolol (Prop)、verapamil (Ver) を10分間で静脈内持続注入し、経時的に左室容積及び収縮機能を測定した。成績: 左室容積に関して、2Dと3Dで求めた値は相関関係が認められ、3Dと左室容積の実測値との間にも相関関係が認められた。Prop (0.1mg/kg/10min, n=5) は、持続注入終了時にESVの増加 (28.8±13.1%)、EFの減少 (59.0±2.4%→46.9±2.2%) 及びSVの減少を示した。EDVは変化しなかった。Ver (0.1mg/kg/10min, n=5) は、ESV及びEDVの増加及びEFの軽度な減少を示し、SVは変化しなかった。総括: 3Dは、カニクイザルの左室容積及び収縮機能の変化を正確にイメージし、PropとVerの作用の違いを表現した。これらの成績から、3Dは心機能の安全性試験の評価に十分使用できることが示唆された。

● P6-14 薬剤性QT延長評価におけるモルモット telemetry systemの有用性

○塩谷 元宏¹、阿部 純子¹、原田 拓真¹、橋本敬太郎²、浜田 悦嗣¹、堀井 郁夫¹

¹ファイザー(株)中央研究所 安全性研究統括部毒性研究室、²山梨大学大学院 医学工学総合研究部 薬理学教室

Development of telemetry system for QT evaluation in guinea pigs

○Motohiro SHIOTANI¹、Junko ABE¹、Takuma HARADA¹、Keitaro HASHIMOTO²、Yoshimasa HAMADA¹、Ikuo HORII¹

Toxicology, Worldwide Safety Sciences, Global Research & Development, Pfizer Japan Inc.、²Department of Pharmacology, Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi

一般薬理(P63-1)

【目的】非循環器用薬によるQT間隔延長作用に対する認識の高まりと共に、有用な*in vivo* QT評価系が創薬のより初期に求められるようになってきている。モルモットはその心筋イオンチャンネルが他の小動物に比べてヒトに類似しているため、*in vitro*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おり、*in vivo* QT評価系としても関心が寄せられつつある。既に我々はtelemetry送信機を埋め込んだモルモットを用いて、QT評価に必要な基礎データを収集してきた(第30回日本トキシコロジー学会発表)。今回、本評価系の信頼性をより高めるため、ヒトでQT延長作用が知られている薬物によるバリデーションを追加実施した。

【方法】モルモットにtelemetry送信機(TA11CA-F40, Data Science, USA)を埋め込み、一般状態が回復後、計8種類のQT延長薬物(Bepidil, Terfenadine, Cisapride, Haloperidol, Pimozide, Quinidine, E-4031, Thioridazine)を静脈内投与し、投与前後のRR間隔、QT間隔の変動を解析した(HEM, NOTOCORD, France)。なお投与量は、イスtelemetry系の報告を参考に設定した。また、QT補正にはBazett式($QTc = QT / RR^{1/2}$)を用いた。

【結果および考察】いずれのQT延長薬物においても、明らかなQTc延長(約10%以上)が確認された。その結果、*in vivo* QT評価系としてモルモットがイスに劣るものではないことが確認され、より少量の薬物使用量で実験できるモルモットtelemetryの有用性は創薬初期にこそ発揮されることが示唆された。

P6-15 Astemizole, E-4031, Ciprofloxacin及びVerapamilのイソフルレン麻酔下イヌにおける心室再分極時間に及ぼす影響

○今井 京仁、鎌田 満穂、山本 恵司、佐藤 秀敏

武田薬品工業(株)

Effects of Astemizole, E-4031, Ciprofloxacin and Verapamil on ventricular repolarization duration in anesthetized dog

○Kyouji IMAI, Mitsutoshi KAMADA, Keiji YAMAMOTO, Shuzo SATO

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.

【目的】ヒトでQT間隔延長・不整脈を引き起こすことが知られている薬(陽性薬)と、そのような作用は極めて小さいと考えられている薬(陰性薬)を用いて、薬剤誘発性QT間隔延長のリスク評価における麻酔下イヌモデルの有用性を検討した。【方法】雄ビーグル犬をチオペンタール(20mg/kg, I.v.)で麻酔導入後挿管し、イソフルレン麻酔・人工呼吸下で心電図第II誘導をモニターした。麻酔状態及び心電図パラメータ安定後、まず溶媒(1%乳酸)を静脈内投与し、次いで被験物質(E-4031, Astemizole, VerapamilあるいはCiprofloxacin)の23用量を30分サイクルで漸増静脈内投与した。いずれの投与も10分間かけて行った。溶媒投与前から最高用量投与後30分まで、5分間隔で心電図を解析してQTc(Fridericiaの式)を求めた。また、陽性薬については各用量投与後10及び25分に採血して血漿中薬物濃度を測定した。なお、30分間隔で溶媒のみを4回静脈内投与してもQTc間隔に影響は無かった。【結果】Astemizoleは、0.03mg/kg(C10min:16.7 ng/mL)では作用を示さなかったが、0.1mg/kg(C10min:42.5 ng/mL)以上でQTc間隔の有意かつ用量依存性の延長を示した。E-4031は1.5 µg/kg(C10min:<5 ng/mL)以下では明らかな作用を示さなかったが、5 µg/kg(C10min:約5 ng/mL)で有意なQTc間隔の延長を示した。一方、Ciprofloxacinは10mg/kgでも明らかなQTc間隔延長作用を示さず、Verapamilは300mg/kgでむしろ軽度ではあるが有意なQTc間隔の短縮を示した。【結論】麻酔下イヌモデルは、薬剤による心室再分極時間延長リスク評価に有用である。

● P6-16 カニクイザルを用いた毒性試験における心電図QT補正に関する検討

○林 良太、古川 義之、乾 嘉孝、大島洋次郎

武田薬品工業(株) 医薬研究本部薬物安全性センター光支所

Correction of QT interval in conscious cynomolgus monkeys

○Ryouta HAYASHI, Yoshlyuki FURUKAWA, Yoshitaka INUI, Yojiro OOSHIMA

Hikari Branch, Drug Safety Research Center Pharmaceutical Research Division Takeda Chemical Industries, Ltd.

【目的】心電図QT間隔は、心拍数の増減により変動するため、その評価には心拍数の影響を除くための補正が必要である。当施設で実施しているカニクイザル(サル)を用いた毒性試験におけるQT評価には、Bazettの補正式(補正値QTcB)を使用してきた。この補正式は、拘束下のサルにおいても一定の心拍数の範囲ではQT補正が可能であると考えられるが、心拍数変動による過大あるいは過小補正の可能性もあった。そこで、当施設で実施するサルの毒性試験における最適なQT補正に関する検討を行った。【方法】ECGプロセッサ(SP97/2000, ソフトロン)により収集した315頭(雄158頭、雌157頭)のデータをもとに、心拍数とQTの近似直線からその傾き(0.4725)を求めた。傾きは(QT-QTc)/(心拍数/平均心拍数)と表されるので、平均心拍数236 bpmに対するQTを補正する独自の補正式[QTcH-QT+0.4725×(心拍数-236)]を算出し、BazettあるいはFridericiaの補正式(補正値QTcF)と比較した。【結果】QTc(H, B, F)について心拍数との関係をプロットした結果、近似直線の傾き及び相関係数は独自式<Bazett<Fridericiaの順で大きくなり、独自式が最も心拍数の影響を受けない補正式であると考えられた。薬物投与後のQTcHの変化について調べた結果、dl-sotalololでは心拍数低下、QT及びQTcHの延長が認められた。一方、norepinephrineでは心拍数低下及びQT延長は認められたが、QTcHに変化はみられず、薬物に起因したQTの変化について独自式により評価可能であることも確認できた。【結論】施設の背景データに基づいたQT補正式を用いることにより、サルの毒性試験における無麻酔・拘束下心電図でのQT間隔評価がより適切に行われると考えられた。

● P6-17 カニクイザルを用いた毒性試験における非観血的血圧測定法

○松根 圭子、古川 義之、乾 嘉孝、大島洋次郎

武田薬品工業(株)・医薬研究本部 薬害安全性センター光支所

Tail cuff blood pressure measurement in conscious cynomolgus monkeys

○Keiko MATSUNE, Yoshiyuki FURUKAWA, Yoshitaka INUI, Yojiro OOSHIMA

Hikari Branch, Drug Safety Research Center, Pharmaceutical Research Division Takeda Chemical Industries, Ltd.

【目的】血圧測定は、循環器系の生理機能検査法の重要な一手段である。非臨床試験における血圧評価については、これまで安全性薬理試験のテレメトリー法を中心に実施されていたが、近年では反復投与毒性試験においてもその必要性が高まっている。カニクイザル(サル)における非観血的血圧測定法については簡型保定器を使用した方法が報告されているが、毒性試験においては作業性も考慮する必要がある。今回、無麻酔下、保定器での座位姿勢(四肢拘束)による非観血的血圧測定について検討した。【方法】動物用の非観血式自動血圧測定装置(BP-98E、オシロメトリック法)を用いた。サルを無麻酔下、保定器上で座位姿勢とし、剃毛後の尾根部にカフを装着して測定した。パラメータは収縮期、平均及び拡張期の各血圧ならびに心拍数とし、5回の測定のうち、収縮期血圧の最高、最低値を除く3回の平均値を測定値とした。①無処置下で基準ごとに午前・午後の測定を交互に3日間(計6日間)行ったときの日間の変動。②既知薬物(ベラパミル、ノルエピネフリン及びソタロール)投与による血圧変動。③無処置下でのテレメトリーとの同時比較について検討した。【結果】①いずれのパラメータも日間で統計学的有意差は認められず、安定したデータが得られた。しかし、個体によっては日間で変動を示す場合があり、各個体における生理変動範囲を把握しておくことが必要と考えられた。②ベラパミルでは血圧低下、ノルエピネフリンでは血圧上昇の各変動を捉えた。ソタロールでは血圧変動はみられなかった。③各パラメータともテレメトリーで得られた値と同様に推移した。【結論】サルにおいて、無麻酔・拘束下(保定器での座位姿勢)の条件でも、薬物の血圧に及ぼす影響を評価することができた。したがって、本法で実施された血圧測定法をサルの毒性評価に用いることは可能であると考えられた。

P6-18 Haloperidol, dl-sotalolおよびpropranololの無麻酔無拘束ミニブタにおける心電図に及ぼす影響

○狩野真由美、豊吉 亨、岩崎 栄、加藤 正巳、坂井田泰二、清水 雅良、太田 隆雄

(株)日本バイオリサーチセンター

Effects of haloperidol, dl-sotalol and propranolol on electrocardiograms in unrestricted conscious miniature pigs

○Mayumi KANO, Tohru TOYOSHI, Sakae IWASAKI, Masami KATO, Taiji SAKAIDA, Masayoshi SHIMIZU, Takao OHTA

Nihon Bioscience Inc.

一般演題(ESF-7)

【目的】ヒトでQT間隔が延長することが知られている薬剤(haloperidolおよびdl-sotalol)およびそのような作用が極めて強いと考えられている薬剤(propranolol)を用いて、無麻酔無拘束ミニブタでの心電図、特にQT間隔延長の評価における有用性を検討した。なお、本実験で得られたデータの一部は、JPMA QT PRODUCTに提出した。【方法】雄ミニブタ(NIBS)4頭を用いて、予めテレメトリー送信機を植え込み、2週間以上の回復期間を設けた後、心電図測定を実施した。心電図電極は、第2-3肋骨間付近右外側皮下(一電極)および胸骨柄皮下(二電極)に埋め込んだ。各薬剤ともに投与前後24時間連続して心電図を測定し、投与前、投与後0.5(dl-sotalolのみ実施)、1、2、4、8および24時間に評価した。投与は、3日以上休薬期間を設けて、haloperidolおよびdl-sotalolでは漸増法、propranololではラテン方格法にて実施した。また、haloperidolおよびpropranololでは、各評価ポイントにて採血し、血漿中薬物濃度を測定した。【結果・考察】Haloperidolは、1mg/kg(Cmax:7.0ng/mL)の用量では作用を示さなかったが、3mg/kg(Cmax:42.9ng/mL)および10mg/kg(Cmax:93.5ng/mL)の用量で10%以上のQTc(Fridericiaの補正式)の延長を示した。また、dl-sotalolは、10mg/kgの用量で10%のQTcの延長を示した。一方、propranololは、3、10および30mg/kgの各用量で、逆に8-10%のQTcの短縮を示した。以上のようにミニブタにおける心電図評価は、ヒトにおける薬剤誘発QT間隔延長の予測に有用であると考えられた。

● P6-19 薬剤誘発性QT延長および催不整脈作用評価系としてのセボフルラン麻酔下モルモットの有用性

○鈴木 栄子、越智 朋子、亀田 治子、永江 祐輔
ノバルティスファーマ (株)

In vivo sensitive model to detect drug-induced QT prolongation and arrhythmogenesis on electrocardiogram in Sevoflurane-anesthetized guinea pigs

○Eiko SUZUKI, Tomoko OCHI, Haruko KAMEDA, Yusuke NAGAE
Novartis Pharma K.K.

Introduction: Long QT (LQT) has been observed with various drugs, and may cause ventricular tachycardia (VT) including torsades de pointes. However, in preclinical study, to clearly foresee LQT was difficult and often overlooked. Aim of this study is to explore high sensitive cardiac evaluation model, using down-regulation of K channel on ventricular repolarization reserve by Sevoflurane. Methods: Guinea pigs were anesthetized by Sevoflurane. E4031 (30-300 μ g/kg), Sotalol (1-10mg/kg), Terfenadine (0.3-mg/kg), Haloperidol (0.1-1mg/kg), or Verapamil (15-150 μ g/kg) was dosed cumulatively via jugular vein. Results/conclusion: Clear LQT was seen in all drugs except Verapamil. Long PQ was seen in Verapamil and Terfenadine. Furthermore, VT was induced after LQT at Haloperidol. This model is excellent surrogates for predicting the potential of drug to retard ventricular repolarization and/or to have arrhythmogenesis.

P6-20 胸部誘導によるビーグル犬の心電図QT間隔計測の有用性の検討

○原田 拓真、阿部 純子、壺谷 元宏、浜田 悦昌
ファイザー (株)

Usefulness of measuring QT interval with chest lead in Beagle Dogs

○Takuma HARADA, Junko ABE, Motohiro SHIODANI, Yoshimasa HAMADA
Pfizer Japan Inc.

【目的】イヌの毒性試験における心電図QT間隔は、その重要性が特に高くなってきている評価項目である。しかしながら、他の心電図パラメーターと同様、QT間隔も一般的な標準肢誘導（第II誘導）で主に記録/評価されているのが現状であり、陽性、陰性、二相性、平坦など必ずしも計測に適切な形状のT波が得られないケースもしばしばある。一方、胸部誘導のうちCV5RL誘導は常にT波が陽性であることから、この誘導で心電図QT間隔を計測すれば正確なQT間隔の評価が可能であると考えられた。そこで、本研究ではビーグル犬を用いて、標準肢誘導とCV5RL誘導で心電図を同時記録し、両誘導におけるQT間隔およびT波振幅について比較・検討した。【方法】10～11ヶ月齢のBeagle犬（雄14頭、雌12頭）を用いて、無麻酔下でハンモックに保定し心電図を測定した。胸部誘導（CV5RL）の電極を右側第5肋間胸管縁付近に設置し、第II誘導および胸部誘導の心電図を同時に記録し、QT間隔およびT波振幅を測定した。また、同一個体について一週間の間隔で2回心電図を記録し、同一個体から記録されるT波形状が記録毎に変化するかどうかを検討した。【結果】第II誘導で記録されたT波形状は個体により、また、記録毎に異なる場合があった。一方、CV5RL誘導では常に終末の明瞭な陽性T波が記録され、その振幅は第II誘導のT波振幅の1.7～7.5倍と大きかった。また、第II誘導におけるQT間隔は胸部誘導におけるQT間隔より長い傾向を示したが、その差はわずか4mssec（第II誘導におけるQT間隔の約2%に相当）であった。【結論】CV5RL誘導を用いてQT間隔を測定する手法は、標準肢誘導と同時に測定することができ、簡便でかつ常に明瞭な陽性T波（特に終末部）を得られることより、イヌのQT評価の信頼性を増す有用性の高い方法と考えられた。

P6-21 E-4031 のモルモット右心室乳頭筋活動電位に対する影響

○加塩麻紀子、木内 洋一、山崎隆三郎、磯部 好彦、木村 正明

大正製薬（株）医薬研究所安全性研究室

Effect of E-4031 on cardiac action potentials in guinea pig isolated papillary muscles.

○Makiko KASHIO, Yoichi KIUCHI, Ryuzaburo YAMAZAKI, Yoshihiko ISOBE, Masaaki KIMURA

TAISHO PHARMACEUTICAL CO. LTD.

【目的】

近年の医薬品開発では、QT間隔延長作用の検討が重要視されており、in-vivo、in-vitroを含めた多数の系での検討が求められてきている。

そこで今回、新たなリスク評価法の可能性を検討するため、心電図異常評価の有効な指標として注目されつつある活動電位のtriangulationについて検討した。

【方法】

モルモット右心室乳頭筋を用い、各頻度（0.5、1.0、2.5 Hz）の電気刺激により誘発される活動電位を微小電極記録法により測定した。triangulationの指標としては APD_{90} と APD_{50} の差（ APD_{90-50} ）を灌流前後の変化率（%）として算出した。同様にして算出した APD_{90-50} 、 APD_{50-30} 、 APD_{30-10} の3つのパラメーターをE-4031（1、10、100 nmol/L）適用前後で比較した。

【結果、考察】

E-4031はヒト心電図QT間隔延長時の血中濃度（9 nmol/L）と同様の濃度（10 nmol/L）以上において、活動電位持続時間（APD）を有意に延長した。従って、本試験系はQT間隔延長作用の評価に適した系であることが示された。10 nmol/LのE-4031は、0.5 Hz及び1.0 Hzにおいて APD_{90-50} 、 APD_{50-30} 、 APD_{30-10} を有意に増加させた。100 nmol/Lでは、いずれの刺激頻度においても APD_{90-50} 、 APD_{50-30} 、 APD_{30-10} は活動電位持続時間と同様に有意に増加した。

これらの結果より、 APD_{90-50} 、 APD_{50-30} 、 APD_{30-10} は、QT間隔延長のリスク判断に有用な指標となる可能性が示唆された。

P6-22 鶏胚を用いた発生毒性試験における標本数、溶媒の検討

○西村 泉、今井 節夫

（財）電力中央研究所

Determination of sample size and vehicle solvent in a developmental toxicology test with chick embryo

○izumi NISHIMURA, Setsuo IMAI

Central Research Institute of Electric Power Industry

一般試験 (ポスター)

<目的>鶏胚発生の毒性背景データを集積し、統計学的評価に必要な標本数と被験物質の投与に適する溶媒を明らかにする。<方法>ホワイトレグホーンの新鮮卵を購入し、外殻に穿孔して被験物質（陽性対照としてall-trans retinoic acid (RA) 0、0.01、0.1、1、10、100 μ g）を含む生食水、または2% DMSO（溶媒のみ）各10 μ Lを、胚を避けて卵黄内に単回投与し、37.6-38.3℃、湿度60-80%で2、7、11日間孵卵した。孵卵後、ホルマリン固定した標本の生死、発生ステージ、体節数、形態異常、体長などを实体顕微鏡下で観察した。<結果と考察> (1) 有精卵（n=1,616）のうち無処理群2、7、11日胚（n=119、114、144）の生存率は92、91、94%、生存胚の正常率は97、98、94%、総異常（死亡+生存胚の形態異常）率は11、11、12%で、試験材料として安定していた。(2) 無処理群を対照として死亡率、ステージ数、体節数、総異常率に関し、有意水準5%、検出力80%、生物学的に有意な変化を20%以上、同数検定と仮定し、片側での標本数解析を行った。必要標本数は、数値指標では1群14個以上、割合で表される指標は1群52個以上であった。(3) 生食水溶媒群の総異常率は穿孔のみの操作対照群と同程度で、溶媒として問題なかった。2% DMSO溶媒群は1 μ g RA群と同程度の毒性を示し、不適であった。(4) RAの催奇形性には用量、時間依存性があり、0.1-1 μ g RAが40-60%の総異常を誘発した。同経路ではRA濃度が高くなると総異常に占める死亡個体の割合が増加する傾向にあった。また同一処理条件での経時変化からみて、形態異常個体の多くは胚胎が進むと死亡していくと考えられた。

P6-23 ラットの温浴処置による奇形発現

○吉川 茂典、守永太賀彦、六角 香、江口 千恵、谷口 雄三、藤井登志之、西森 司雄
(株) 環境バイロシステム研究所

Teratogenesis induced by maternal hyperthermia in rat fetuses

○Shigenori FURUKAWA, Tagahiko MORINAGA, Kaori MUSUMI, Chie EGUCHI, Yuzo TANIGUCHI, Toshiyuki FUJII, Tsukao NISHIMORI

Environmental Biological Life Science Research Center INC. (EBLS)

【目的】生殖発生毒性試験に関わる研究者にとって、奇形発現のメカニズムを明らかにすること及び発現した異常をヒトに如何に外挿するかが課題である。これらのテーマについては、多くの論文や成書があるが、実際に薬物を用いて奇形を発現させ観察することは重要である。しかし、必要とする薬物の入手が困難であったり、高価であったり、使用に際して危険を伴うなどの難点があった。また、多種類の奇形を観察するためには多くの薬物及び動物が必要であり、時間がかかるという問題点もあった。今回、簡便な装置で胎児奇形を誘発することができ、処置日に応じて種々の奇形が生じる方法として、武田薬品工業株式会社の大島らによって紹介された温浴処置による胎児の奇形発現作用について、SD系ラットを用いて検討した。【方法】妊娠9、10、11、12、13あるいは14日の午前中(9~12時)にラットを水温42℃に設定した恒温槽に入れ、体温が42℃に達した時点から15分間維持した後、常温の水に15分間浸して平常体温に戻した。妊娠20日に胎児を娩出し、その生死、体重及び外表異常の有無を記録した。各腹の1/2の生存胎児について常法に従ってアルシアンブルー・アリザリンレッドSによる骨格二重染色による骨格標本を作製し、骨格異常及び骨化状態を観察した。残り1/2の生存胎児はBouin液に固定後、粗大切片法と顕微解剖法の併用により形態学的な異常の有無を観察した。【結果】妊娠10日目処置で胎児死亡率の増加と生存胎児体重の低下が認められた。外表異常として妊娠10日目処置で外脳及び顔面奇形が高頻度に発現した。骨格観察では、妊娠9及び10日目処置で頸椎、胸椎及び肋骨、10日目処置で頭蓋骨、11日目処置で腰椎と仙椎の異常が高頻度に見られた。なお、内臓観察では、外表異常に関連する変化を除いて、発現頻度の増加を示すものは認められなかった。

P6-24 化合物Aで観察されたラットの催奇形性変化について

○田中 雅治¹、西村 達也¹、奥 春孝¹、敷島 裕樹¹、阿瀬 善也¹、伊藤 圭一²、今井 清²

¹小野薬品工業(株) 福井安全性研究所、²(財)食品農薬医薬品安全性評価センター

Teratogenicity changes in rats treated with Compound A

○Masaharu TANAKA¹, Tatsuya NISHIMURA¹, Harutaka OKU¹, Hiroki SAMESHIMA¹, Yoshiya AZE¹, Keilichi ITOH², Kiyoshi IMAI²

¹Fukui Institute for Safety Research, ONO Pharmaceutical Co., LTD., ²Bioassay Research Center, Foods, Drugs and Pesticides

【はじめに】胎児毒性の中でも催奇形性は医薬品開発の是非に係わる重大な毒性変化である。我々は化合物Aのラットを用いた器官形成期投与試験において、頭部・顔面に外表異常が頻発する催奇形性を経験した。そこで、同試験における胎児変化の詳細、および、これら変化と被験物質投与時期の関係について調べた。

【方法】器官形成期投与試験:11~12週胎のC₅₇BL/6J (SD) IGS系妊娠ラット(7匹/群)を用い、妊娠7~17日に1日1回、100~200mg/kgの化合物Aを経口反復投与した。

臨界期の検討:11~12週胎のC₅₇BL/6J (SD) IGS系妊娠ラット(5匹/群)を用い、妊娠7~9日(前期)、妊娠10~13日(中期)、妊娠14~17日(後期)に1日1回、300mg/kgの化合物Aを経口反復投与した。

いずれの試験においても、妊娠20日に帝王切開して胚・胎児の観察を行った。

【結果】器官形成期投与試験:100mg/kg以上の投与群では、生存胎児は認められず、300mg/kg投与群で口蓋裂、無耳症、短吻等の外表異常、外表異常に対応した内臓異常と心・血管系の異常、頭部骨欠損等の骨格異常、完全過剰肋骨等の骨格異常が高頻度に観察された。さらに、100mg/kg以上の投与群では脳室拡張、頭部の骨化遅延が認められた。

臨界期の検討:前期投与の胎児では外脳症、短吻、口蓋裂、眼部隆起欠損、無耳症等耳介の異常が高頻度に見られ、中期投与では短吻、眼輪開存、耳介の位置異常が頻発した。また、後期投与の胎児では口蓋裂のみ高頻度に観察された。

【まとめ】以上の結果から、化合物Aは外表のみならず、内臓および骨格において頭部・顔面に集中した催奇形性作用を有し、器官形成期のいずれの時期においても被験物質の感受性は高いことが明らかとなった。

P6-25 カニクイザルにおける Penile vibration による精液採取とその精液性状について

○西村 正吾¹、マリナオ シリアコ¹、デグズマン ダン¹、ガブリエル ジョセフ¹、原 洋明²

¹INA Research Philippines, Inc., ²(株)イナリサーチ

Analysis of semen obtained by penile vibration in cynomolgus monkeys

○Shogo NISHIMURA¹, Ciriaco MALINAO¹, Dan DE GUZMAN¹, Joseph GABRIEL¹, Hiroaki HARA²

¹INA Research Philippines, Inc., ²Ina Research Inc.

【目的】精子形成に及ぼす影響を評価する上で、精巣の病理組織学的検査は有用とされている。しかし、カニクイザルでは性成熟までに時間を要し、精巣の未熟な動物が毒性試験に用いられる場合がある。成熟雄動物を剖検したり生検で傷つけることなく、影響評価が可能であれば、評価精度の向上のみならず動物保護の観点からも有用と考える。我々は、自然射精に近い状態で採取された精液性状を一定期間検査することにより、その評価系が構築できるのではないかと考え、先ず採取法の技術的検討を行った。【方法】フィリピン産の成熟雄9匹(年齢4~15歳、体重4.9~9.5 kg)を用いた。週2回モンキーチェアに無麻酔下で保定し、ペニスの腹側をバイブレータを用い振動数90~110 Hz、振幅2.0~3.0mmで30~60秒間刺激した。射精精液を秤量後、25倍量のTYH液(豊田ら1971)で希釈し、37℃で40分間保持した後、検査した。Sperm Quality Analyzerで精子自動性指数(SMI)を測定し、光学顕微鏡下で精子生存率(不動精子数を基準)、光田法(1979)の精子運動能(SME)および総精子数および精子形態を観察した。【結果および考察】各動物16回、延べ144回試行し、139試行で精液が採取された。その精液性状を9匹の平均±標準偏差で示す。精液量は 197 ± 130 mg、総精子数は $81.7 \pm 28.8 \times 10^6$ 、精子生存率は $61.9 \pm 5.8\%$ 、SMEは 66.3 ± 14.8 、SMIは 423 ± 70 、奇形精子率は $3.4 \pm 0.7\%$ であった。これらの結果は、本採取法により精液検査が実施可能であることを示す。安定したデータを得、精度の高い評価系を構築するためには個体選抜や飼育が重要な因子と考えられる。

P6-26 Nitrazepam を用いたフローサイトメトリー法による精巣毒性試験の検討

○阿部 正義、白田 浩二、小川いづみ、古川 賢

日産化学工業(株)生物科学研究所 安全性研究部

Flow cytometric analysis of testicular toxicity using nitrazepam

○Masayoshi ABÉ, Koji USUDA, Izumi OGAWA, Satoshi FURUKAWA

Nissan Chemical Industries, LTD. Biological Research Laboratories, Toxicology & Environmental Science Department

生殖・発生毒性試験における雄性生殖能に関する影響が重要視され、安全性試験において精巣毒性試験が行われている。精巣毒性試験では精子発生サイクルを考慮した詳細な精巣の病理組織学的検査を必要とし、多くの時間と労力を要する。近年、精巣毒性試験を簡便かつ迅速に行える手法としてフローサイトメトリー法が注目され、その有用性が報告されている。そこで我々は特異的に精子細胞が減少する薬剤Nitrazepam (NZ)を用いフローサイトメトリー法と病理組織学的検査法を比較しその有用性について検討した。9週齢ラット・BrHac:WIST@Jcl (GALAS) 雄を用い、NZ 0、30、60mg/kg/dayを2週間強制経口投与し、精巣毒性をフローサイトメトリー法を用いて精巣内の精子細胞、精母細胞、精祖細胞及びその他の支持細胞をDNAの倍数性と細胞の大きさとで区別し7つの細胞集団に分けて解析した。フローサイトメトリー法では60mg/kg群において精子細胞の有意な減少が認められ、30mg/kg群でも同様の細胞の減少傾向が認められた。一方、病理組織学的検査では30mg/kg群のステージV及び60mg/kg群のステージII-III、V、Mの精子細胞数の有意な減少が認められた。両法において60mg/kg群では精子細胞の有意な減少が認められた。一方、30mg/kg群では組織病理検査においてステージVのみ精子細胞の有意な減少が認められ、フローサイトメトリー法では有意差はないものの減少傾向が認められた。これはフローサイトメトリー法では精子細胞数を精巣全体の変化として捉えていることに起因したものと推察した。組織病理検査ではステージ特異的に解析できる利点を有するものの、フローサイトメトリー法と結果がほぼ一致していることから、特異的に精子細胞が減少する薬剤に対してもフローサイトメトリー法を用いて毒性評価できることが示された。

● P6-27 バルプロ酸による神経管閉鎖異常に関連した遺伝子探索

○岡田 晃寛、串間 清司、青木 嘉信、藤原 道夫

山之内製薬(株)安全性研究所

Identification of Genes Correlated to the Teratogenicity of Valproic Acid in Mice

○Akinobu OKADA, Kiyoshi KUSHIMA, Yoshinobu AOKI, Michio FUJIWARA

Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

近年、DNAマイクロアレイ技術が発達し、発生毒性の分子メカニズム研究への利用が始まっている。DNAマイクロアレイ解析は膨大なデータを生み出すため、いかに必要な情報のみを有効に抽出するかが重要な課題である。我々は、バルプロ酸(VPA)による神経管閉鎖異常(NTDs)の分子メカニズムを解明する目的で、DNAマイクロアレイを実施した。解析では、VPAと同等の重効を有し、NTDs誘発作用が弱いことが知られている2種の類縁体を対照化合物として用いることによって、NTDs誘発作用に関連する遺伝子を効率的に選択することを試みた。妊娠8日のNMRIマウスにVPAを皮下投与し、投与1、3および6時間後の胚からtotal RNAを抽出後、2種のDNAマイクロアレイを実施した。Gene Chipでは、溶媒対照群と比較して発現増加した遺伝子は、1時間後で26、3時間後で364、6時間後で1422であった。発現減少した遺伝子は、1時間後で52、3時間後で695、6時間後で1028であった。Development Arrayでは、1時間後で80、3時間後で56、6時間後で46の遺伝子が発現増加し、1時間後で67、3時間後で54、6時間後で66の遺伝子が発現減少した。まず、投与後1時間について、定量RT-PCRによってVPAによる発現変化が確認された遺伝子について類縁体の影響を調べたところ、12の増加遺伝子および20の減少遺伝子の発現に影響を受けなかった。したがって、これらの遺伝子をVPAによる発生毒性関連遺伝子と特定した。今後は、遺伝子発現パターンの特定および機能解析を行い、VPAによる発生毒性における役割を調べる予定である。投与後3、6時間についても類縁体の影響を調べ、VPAによる発生毒性関連遺伝子を特定していく予定である。

P6-28 4,6-Dinitro-o-cresol投与ラットに出現する異常精子の透過型電子顕微鏡による超微細構造観察

○高橋 研、張替美智子、高橋 尚史、北條 仁、桑原 真紀、青山 博昭、寺本 昭二

(財) 環境衛生研究所

Ultrastructural observation of morphologically abnormal sperm found in male rats treated with 4,6-dinitro-o-cresol

○Ken TAKAHASHI, Michiko HARIGAE, Naofumi TAKAHASHI, Hitoshi HOJO, Maki KUWAHARA, Hiroaki AOYAMA, Shoji TERAMOTO

Institute of Environmental Toxicology

目的4,6-Dinitro-o-cresol (DNOC) を雄ラットに5日間経口投与すると、投与終了後14日目の精巣上体尾部精子に尾の離断と運動精子率の低下が認められること、さらに、異常な形態を呈する精子は投与終了の翌日精巣上体尾部において既に認められ、この時期における形態異常が精子の中片部における表面の剥離であることをこれまでに報告した(本学会第25・26回学術年会)。今回は、DNOC投与ラットにみられる精子の形態異常の病理発生を解明するため、精巣上体頭部および精巣内の精子および精子細胞を透過型電子顕微鏡により詳細に観察した。[方法]0および15mg/kgのDNOCをcorn oil (5ml/kg)に溶解し、Jelcoラットに5日間連続経口投与した。投与終了の翌日にペントバルビタール麻酔下で5%グルタールアルデヒド全身浸透固定を実施した後右側の精巣と精巣上体を摘出してエポン樹脂で包埋し、超薄切片を製作して透過型電子顕微鏡により観察した。左側の精巣および精巣上体は凍流固定前に摘出し、精巣はハクフオンで包埋して光学顕微鏡により観察し、精巣上体頭部からはホルマリン固定精子の浮遊液を製作して位相差顕微鏡により観察した。[結果]15mg/kg投与群の精巣上体頭部の精子を観察したところ、位相差顕微鏡では中片部表面の剥離を示す精子が16~50%の頻度で観察された。透過型電子顕微鏡を用いた観察では、対照群精子中片部の横断面には外側から順に細胞膜、ミトコンドリア筋、外側粗大線維および軸糸が認められたのに対して、投与群の一部の精子では外側粗大線維が露出した像が認められ、位相差顕微鏡で観察された異常に対応する所見と考えられた。中片部表面の剥離がみられない投与群精子の構造と精巣内の精子形成過程における異常の有無についても詳細な観察を実施する予定である。

P6-29 テトラゾリウム塩法、SQA法およびコンピューターを用いた精子自動解析法を併用したハロゲン系プロパン類のラット精子への影響評価

○大谷 勝己、小林 健一、久保田久代、三枝 順三

産業医学総合研究所

Evaluation of toxic effect to sperm of halogenized propans using Tetrazolium Salt, SQA and CASA methods in rats

○Katsumi OHTANI, Kenichi KOBAYASHI, Hisayo KUBOTA, Junzo SAEGUSA

National Institute of Industrial Health

【目的】内分泌攪乱化学物質問題が浮上して以降、雄性生殖毒性の重要性が増大している。産業医学的側面からは、フロン代替品として用いられた2-ブロモプロパン (2BP) 曝露により韓国半導体工場の労働者が生殖異常をきたしたことや、また代替フロンとして用いられてきている1-ブロモプロパン (1BP) や1,2-ジクロロプロパン (DCP) の雄性生殖または雌性生殖に関するデータも報告されている。筆者らは様々な精子検査法の比較検討を行ってきたことからハロゲン化プロパン類のラット精子への影響を比較検討した。【方法】12週齢F344雄性ラットに溶媒とともにジブromクロロプロパン (DBCP)、2BP、1BP、DCPをそれぞれ別の濃度 (4用量) で週2回4週間皮下投与の後、生存しているラットから精巣上体を採取した。精巣上体尾部内精子をウシ血清アルブミンを含むM199培地に浮遊させ、(1) マイクロプレートを用いたテトラゾリウム塩発色法 (MTT, WST-1, WST-3法等) による吸光度測定、(2) SQA法によるSperm Motility Index (SMI) 値の測定、(3) CASAによる精子数等の測定を行った。【結果および考察】精子数の減少という点ではDBCPが最も作用が強く、次に2BP、1BP、DCPはほぼ同等であった。致死毒性ではDCPが1BP、2BPより強かった。テトラゾリウム塩発色法ではWST-3法が安定的に精子への影響を検出でき簡便性の点でも有用と考えられる。

● P6-30 培養ラット胎児へのL-カルニチンの影響について

○横山 篤¹、秋田 正治²

¹神奈川生命科学研究所、²鎌倉女子大学

Effects of L-carnitine on cultured rat embryos

○Atsushi YOKOYAMA¹, Masaharu AKITA²

¹Kanagawa Life-science Research, ²Kamakura Women's College

【目的】我々の研究グループでは、妊娠ラットから胎児を体外へ取り出した哺乳類胎児を培養する方法を駆使して今まで医薬品、健康食品、化学物質、農薬、環境ホルモンなどの胎児への影響、すなわち胎児毒性について種々検討を重ねてきた。今回の実験目的は近年多用されているダイエット食品の胎児への影響を解析しその危険性を調査した。【実験方法】哺乳類胎児培養法は回転型培養装置を用いた大量培養法を用いてダイエット食品の多用量を比較検討した。今回、本実験で調査するダイエット食品は脂肪燃焼系で米国で乱用されている、L-カルニチン (酒石酸塩型) の影響を観察した。群分けは、①群: 対照群②L-カルニチン低用量 (100 μ g/ml) ③L-カルニチン中用量 (1000 μ g/ml) ④L-カルニチン高用量 (2000 μ g/ml) とした。観察項目は胎児心拍動数、胎児頭頸長、胎児総蛋白質、血液循環、頸部長および外表奇形について比較検討した。また、胎児培養の時間は48時間で行った。【実験結果】臨床的に1日摂取量時の血中濃度である中用量では上記パラメーターに変化は認められなかった。低用量も対照群と変わらず異常はなかった。しかし、高用量であるL-カルニチン2000 μ g/ml (以下④群と呼ぶ) 処理されたラット培養胎児では、重篤な胎児毒性が発現した。まず、胎児の心臓の拍動は処理1時間から対照群に比べて40%の低下を示し処理中ずっとこの値で推移した。心拍動低下に伴い胎児の血液循環も低下し血流量の減少が生じた。しかし、胎盤の血流量には影響なかった。培養後の胎児を比べた結果、胎児頭頸長は10%、胎児体節数10%、胎児総蛋白質20%の低下が認められ胎児の成長抑制が確認された。頸部の大きさは変化なかった。また、著しい奇形など外表異常もなかった。以上のことからL-カルニチンの高用量処理では培養胎児が小型化することが示唆された。

P6-31 フタル酸ジ2-エチルヘキシル (DEHP) の妊娠期・授乳期曝露がラットの性ホルモン代謝に及ぼす影響

○王 瑞生、宮川 宗之、小林 健一、須田 恵、本間 健資
(独) 産業医学総合研究所

Effect of Prenatal and Neonatal Exposure to Di (2-ethylhexyl) phthalate on the Metabolism of Testosterone in Rat

○Rui-sheng WANG, Muneyuki MIYAGAWA, Kenichi KOBAYASHI, Megumi SUDA, Takeshi HONMA
National Institute of Industrial Health, Japan

フタル酸ジ2-エチルヘキシル (DEHP) は肝臓や腎臓への影響のほか、精巣萎縮や精子数の減少など雄性生殖組織に対する影響も報告されている。内分泌攪乱物質による次世代の生殖系に与える影響の一連の検討の一つとして、われわれは、妊娠期・授乳期におけるDEHPの経母体曝露が仔ラットの性ホルモン代謝に及ぼす影響について検討した。[方法]母ラットに妊娠6日から授乳20日までDEHPを0、25、100、400mg/kg/dayの用量で経口投与した。生後9、36週において雄仔ラットから血液や精巣、肝臓などの組織を採取した。また、9週齢の雄仔ラットを用いてhCG負荷試験を行って、精巣テストステロン (TS) 合成機能を評価した。血中および精巣組織中のTS濃度、血中プロゲステロン、エストラジオール濃度を測定し、生殖器官の発達との関連を検討した。[結果]9週齢において雄仔ラットの血中TS濃度はDEHP用量依存的に27-71%上昇したが、対照群との間に有意な差は認められなかった。プロゲステロンの血中濃度も同様の挙動を示した。前立腺の重量および体重比はDEHP用量依存的にわずかに減少傾向が認められた。精巣重量は各群において同程度であった。また、hCG投与後、血中TSは各群において同程度まで上昇したが、対照群の13倍上昇に対し、DEHP投与群においては8.6-9.6倍の上昇が認められた。[考察]今回は広範囲の用量でDEHPの投与を行なったが、次世代ラットの性ホルモン・生殖系に明らかな影響は観察されなかった。DEHPによる性ホルモン代謝酵素の活性や発現について検討を行う予定である。[村瀬正氏、関口純一郎氏の実験協力に感謝する。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15年度)」を使用した。]

P6-32 ラットの肝P450酸化系酵素活性の日周リズムにおける性差に関する遺伝子解析

○平尾 潤¹、新野 訓代¹、西村 正利²、荒川 真悟¹、伊藤 和美¹、清沢 直樹¹、村松 啓子¹、古川 忠司¹
¹三共(株)安全性研究所、²三共(株)バイオメディカル研究所

Gene analysis on sex difference in the daily rhythm of hepatic P450 monooxygenase activities in rats

○Jun HIRAO¹、Noriyo NIINO²、Masakazu NISHIMURA²、Shingo ARAKAWA¹、Kazumi ITO¹、Naoki KIYOSAWA¹、Keiko MURAMATSU¹、Tadashi FURUKAWA¹

¹Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., ²Biomedical Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

【目的】ラットの肝P450酸化系酵素活性の日周リズムには明瞭な性差が認められる。すなわち、P450が触媒する7-alkoxycoumarin O-脱アルキル化活性 (ACD活性) に関して、雄では暗期で高値を示す明瞭な日周リズムが認められるが、雌では認められない。今回、この成因を明らかにするために、ラットの肝P450酸化系酵素活性の日周リズムに関する網羅的な遺伝子発現解析を行った。

【材料および方法】日本チャールス・リバー株式会社より7週齢の雌雄F344ラットを購入した。動物は、温度20-26℃、湿度30-70%、照明12時間/日 (7時-19時)、照度約200ルクス、換気回数10-15回/時間の条件下で飼育した。試験期間中、水道水および固形飼料 (Certified Rodent Diet 5002; PMI Nutrition International, Inc.) を自由に摂取させた。3週間の馴化期間の後に、エーテル麻酔下で動物を解剖して、肝臓を採材した。採材は4時間毎 (ZT=2、6、10、14、18および22) に行った。その後、各肝臓よりRNA抽出を行い、GeneChip解析を各タイムポイント毎にpool (5例) にて行った。これより得られた遺伝子発現データをフーリエ変換を用いて周期波成分解析した。また、ZT=6および18におけるACD活性も測定した。

【結果および考察】ACD活性に関して、雄では暗期で有意な高値が認められたが、雌では認められなかった。さらに、雄では、ZT=18をピークとする24時間周期の発現パターンを示すP450酸化系酵素遺伝子が多いのに対して、雌ではそのような傾向が認められないことが明らかとなった。従って、ラットの肝P450酸化系酵素活性の日内変動における性差は、多種のP450酸化系酵素遺伝子の総体的な発現によりもたらされていることが明らかとなった。

● P6-33 Capsaicinの肝薬物代謝酵素系に対する影響

○熊谷 正道、関 和代、森 照代、渡邊 幸彦、宮本 好明、田矢 廣司、王毅 孝子

丸石製薬(株)中央研究所

Effects of capsaicin on enzyme induction or inhibition in rat hepatic microsome

○Masamichi KUMAGAI, Kazuyo SEKI, Teruyo MORI, Yukihiro WATANABE, Yoshiaki MIYAMOTO, Koji TAYA, Takako OHKURA

Maruishi Pharmaceutical Co., Ltd. Central Research Laboratory

Capsaicinはトウガラシの辛み成分として知られており、種々、食品として日常的に摂取されている。また、神経組織のVR1受容体を介した生理作用から、神経因性疼痛に対する治療薬としても使用されている。このようにポピュラーな化合物であるが、体内摂取したときの肝薬物代謝酵素系への影響についてはほとんど明らかにされていない。そこで、Capsaicinの皮下投与後における肝薬物代謝酵素系への影響について検討した。方法:雄ラットにCapsaicin (1mg/kg/day, ラットにおける無毒性量)を2週間反復皮下投与し、肝臓摘出後、ミクロソームを分離した。ミクロソームの蛋白質量、チトクロームP450含量、アニリン水酸化活性、アミノピリンN脱メチル化活性、7-エトキシクマリン-0-demethylase活性、UDP-glucuronosyltransferase活性及びcarboxyesterase活性を測定し、陰性対照群(生理食塩水投与)及び陽性対照群(80mg/kg フェノバルビタールナトリウム生食液投与)と比較することにより肝薬物代謝酵素系の誘導及び阻害活性の有無を検討した。結果:ミクロソームの蛋白質量、チトクロームP450含量、アニリン水酸化活性、アミノピリンN脱メチル化活性、7-エトキシクマリン-0-demethylase活性、UDP-glucuronosyltransferase活性及びcarboxyesterase活性は陰性対照群と有意な変化は認められなかった。結論:カプサイシンはラット肝ミクロソームにおける薬物代謝酵素系の酵素誘導や阻害活性がないことから、食品として常用しても、本化合物を起因とした肝酵素誘導や阻害は少ないと考えられる。

● P6-34 Capsaicinの皮膚における代謝

○森 照代¹、Ir.W.J.M. Maas²、関 和代¹、熊谷 正道¹、渡邊 幸彦¹、田矢 廣司¹、王毅 孝子¹

¹丸石製薬(株)中央研究所、²TNO ファーマ

In vitro metabolism of Capsaicin in human skin

○Teruyo MORI¹, Ir. W. J. M. MAAS², Kazuyo SEKI¹, Masamichi KUMAGAI¹, Yukihiro WATANABE¹, Koji TAYA¹, Takako OHKURA¹

¹Maruishi Pharmaceutical Co., Ltd. Central Research Laboratory, ²TNO Pharma

Capsaicinはトウガラシの辛み主成分であり食品としての利用以外に、バニロイドレセプター (VR1) を介した生理作用、特にカチオンチャンネルの脱感作作用による神経因性疼痛の治療薬として着目されている。局所作用の期待から、経皮製剤として様々な開発が行われているが、皮膚内の代謝については今までに報告されていない。そこで本研究はCapsaicinのヒト皮膚内代謝を明らかにする目的で実施された。方法:Van de Sandt 等の方法により、女性ボランティア(白人、n=3)の美容整形手術で採取したヒト皮膚をガラスリング(1.5cm²)に接着し、Netwell (Costar, 500 µm) 上でインキュベーションを行った。¹⁴C-Capsaicin (0.025%)を含む親水軟膏を塗布し、皮内の未変化と代謝物を4、8、12、24、48、72時間に測定した。分析はRadio-HPLC法及びLC/MS/MS法にて測定した。結果:皮内Capsaicinは時間と共に代謝され、92.6±2.4% (4時間)、38.9±5.0% (24時間)、24.2±29.8% (72時間)となった。一方、経時的に増加した主たる代謝物は7.3±2.3% (4時間)、50.7±2.1% (24時間)、56.1±22.1% (72時間)であった。LC/MS/MSの結果、この主代謝物はCapsaicinのバニル基が硫酸結合されたものであった。その他2~9%の代謝物として、バニリン酸、バニルアミン及びバニリンが検出された。1相の代謝(CYP関与)はほとんど関与していないことがわかった。結論:経皮製剤としてカプサイシンは広く使われているが、ヒト皮膚内における代謝は硫酸結合であり、CYPの関与は少ないことが明らかとなった。

P6-35 急性前骨髄球性白血病の治療に用いた亜ヒ酸の有効性と生体内動態 (1) - AS2O3のAPLに対する有効性 -

○深井 康臣¹、太田 伸¹、徳竹 孝好²、馬場ひさみ²、丸山 寛²、上野真由美³、小林 光³、斎藤 博³、平田美由紀⁴、木下 健司⁵、貝瀬 利一⁵

¹長野赤十字病院 薬剤部、²長野赤十字病院 中央検査部、³長野赤十字病院 第一内科、⁴九州大学大学院医学研究科衛生学分野、⁵東京薬科大学 生命科学

Efficacy and Pharmacokinetics of Arsenic Trioxide for Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia (APL) - Efficacy of As2O3 treatment -

○Yasuomi FUKAI¹、Shin OHTA¹、Takayoshi TOKUTAKE²、Hisami BABA²、Hiroshi MARUYAMA²、Mayumi UENO³、Hikaru KOBAYASHI³、Hiroshi SAITOH³、Miyuki HIRATA⁴、Kenji KINOSHITA⁵、Toshikazu KAISE⁵

¹Nagano Red Cross Hospital, Department of Pharmacy, ²Nagano Red Cross Hospital, Department of Laboratory, ³Nagano Red Cross Hospital, First-Internal Medicine, ⁴Laboratory of Hygiene, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, ⁵School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science

【目的】急性前骨髄球性白血病 (APL) の治療に、亜ヒ酸が有効であるという報告¹⁾ がなされており、我々はAPL患者に対し、亜ヒ酸を投与することにより重篤な副作用もなく完全寛解 (CR) を得た症例を経験した。今回我々は亜ヒ酸治療の効果についての検討を行ったので報告する。【経過および方法】all-transレチノイン酸 (ATRA) 不応性APL再発と診断された、72歳の男性患者にインフォームドコンセントを得た上で、Shenらの報告²⁾ にもとづき、1日投与量として亜ヒ酸4.6mg (3.5mgAs) の2時間点滴静注を、完解導入および維持目的に施行した。As₂O₃の有効性は、骨髄液より採取したPromyelocyteおよび成熟好中球の細胞数を経時的に観察し、Morphologic changesにて評価した。骨髄液の採取は、治療6日前、治療開始7、28、33、41及び54日に検査を行った。【結果および考察】亜ヒ酸投与開始後35日目においてCRが確認され、亜ヒ酸のAPLに対する有効性が確認できた。APLの主要症状であるDICの検査所見では、治療初期ではPLT、Fib. の減少とFDP、DD及びPT-INRの増加を認めたが、治療終了後では、DD、PT-INR及びFib.が著明に改善できた。亜ヒ酸による治療効果は、即効性がみられずおよそ30日を目安として効果を示した。ヒトのヒ素代謝は、一種の解毒機構としてiAs (I) ⇔ iAs (III) → MAA (I) → MAA (III) → DMAAが知られているが、今後APLに対し治療の活性本体が主に何であるかが解明されるならば、その活性物質を生体内で多く作られるようなDrug Delivery Systemや、その活性物質そのものを投与することも検討すべきである。【文献】1) Shen Z, et al; Blood, 89,1997 2) Shen Y, et al; Leukemia, 2001

P6-36 急性前骨髄球性白血病の治療に用いた亜ヒ酸の有効性と生体内動態 (2) ~ヒ素代謝物の生体内動態~

○平田美由紀¹、深井 康臣²、太田 伸²、上野真由美³、小林 光³、斎藤 博³、木下 健司⁴、貝瀬 利一⁴

¹九州大学大学院医学研究科衛生学分野、²長野赤十字病院 薬剤部、³長野赤十字病院 第一内科、⁴東京薬科大学 生命科学

Efficacy and Pharmacokinetics of Arsenic Trioxide for Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia (APL) 2. Chemical Speciation of Arsenic Metabolites in Serum and Urine

○Miyuki HIRATA¹、Yasuomi FUKAI²、Shin OHTA²、Mayumi UENO³、Hikaru KOBAYASHI³、Hiroshi SAITOH³、Kenji KINOSHITA⁴、Toshikazu KAISE⁴

¹Hygiene, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, ²Nagano Red Cross Hospital, Department of Pharmacy, ³Nagano Red Cross Hospital, First-Internal Medicine, ⁴School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science

【目的】我々は、急性前骨髄球性白血病 (APL) 患者に対し、亜ヒ酸を投与して治療を行った。そこで生体内における亜ヒ酸代謝物の血中および尿中の化学形態別ヒ素の定量を行い、亜ヒ酸の代謝物について検討したので報告する。【経過および方法】all-transレチノイン酸 (ATRA) 不応性APL再発と診断された患者にインフォームドコンセントを得た上で、Shenらの報告¹⁾ にもとづき、1日投与量として亜ヒ酸4.6mg (3.5mgAs) の2時間点滴静注を施行した。患者検体採取 (ポイント血清および1日尿) は、維持療法開始の4~5日目に行った。ヒ素の測定にはHPLC/ICP-MSシステムを用いた。また、食事による海産物由来のヒ素の影響を極力避けるため、可能な限り海産物を取り除いた制限食を調製した。【結果および考察】患者の血清および尿中よりそれぞれ、亜ヒ酸 (As³⁺)、メチルアルソン酸 (MAA)、ジメチルアルソン酸 (DMAA) が検出された。さらに血清では未知のヒ素ピークが検出された。魚介類由来のアルセノベタイン (AB) は検出されなかった。APL治療に用いたAs³⁺は、メチル化を受け、一次代謝物であるMAAが血清および尿中に高濃度に検出され、As³⁺→MAA→DMAAという代謝過程をとることが明らかとなった。血清中の各ヒ素代謝物濃度は点滴終了後、若干の上昇をみるが、24時間後まではほぼ一定濃度で維持され、As³⁺、MAA、DMAAの割合はほぼ1:1:1であった。また、投与された亜ヒ酸は1日投与量の128%が尿中に排泄されていた。これらの血清中ヒ素濃度の経時変化、尿中排泄率は、これまでの報告^{1~3)} と異なっていた。【文献】1) Shen Y, et al; Leukemia, 15:2001 2) Shen ZX, et al; Blood, 89:1997 3) Ni JH, et al; Chinese Med J, 111:1998

P6-37 NMR analysis for phospholipidosis/steatosis: urinary phenylacetyl-glycine/ hippuric acid as potential surrogate markers.

○ Ikuo MORI, Mika MURABAYASHI, Akira HORINOUCI, Kaneyoshi KATO, Shuzo SATO

Drug Safety Research Center and Chemistry Research Laboratories, Pharmaceutical Research Division, Takeda Chemical Research Industries, Ltd.

Aim: A number of cationic amphiphilic drugs (CADs) have been reported to cause phospholipidosis and/or steatosis in humans and laboratory animals, resulting in histological changes related to abnormal and excess accumulation of phospholipids and/or lipids in many organs such as lung, liver and lymphocytes.

As an alternative to hematological and histopathological examination, we have investigated the use of ¹H-nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) to detect phospholipidosis and/or steatosis by analysis of surrogate markers in urinary samples of CADs-treated rats.

Methods: Six CADs (Amiodarone, Chloroquine, Fluoxetine, Perhexiline, Quinacrine and Tamoxifen) were orally administered to Crj: CD (SD) IGS rats (Male, 6-Week) at 3 dosage levels for 3 consecutive days. After the final dose, urine samples were collected from test rats and matching control rats for 6 hours and metabolites analysis was carried out by ¹H-NMR. Phospholipidosis and/or steatosis was characterized by measurement of the vacuolated lymphocyte ratio in blood smear, and by histopathological examination of the following organs: liver, lung, mesenteric lymph node, spleen, kidney and brain.

Results: Vacuolated lymphocyte ratio increased with increasing dose levels in all CADs-treated rats. Histological changes related to phospholipidosis and/or steatosis were noted in 1 or more organs for all CADs-treated rats. In the ¹H-NMR analysis, increases in phenylacetyl-glycine (PAG) were observed to show a dose-dependent correlation to decreases in hippuric acid (HA) in all CADs-treated rats.

Conclusion: An increase in PAG/HA ratio, which are both metabolites derived from the essential amino acid, phenylalanine, may be a useful urinary surrogate marker for phospholipidosis and/or steatosis.

P6-38 p53 ノックアウトマウスにおける aminophenylnorharman の肝臓薬物代謝酵素誘導と肝発がん

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

¹ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部, ²愛知県がんセンター研究所 腫瘍病理学部

Relationship between hepatic enzyme induction and carcinogenicity in the p53 deficient mice treated with aminophenylnorharman

○ Takeshi IIDA¹, Norimitsu SHIRAI¹, Ikuo HORII¹, Tetsuya TSUKAMOTO², Masae TATEMATSU²

¹Worldwide Safety Sciences, PGPD Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc., ²Division of Oncological Pathology, Aichi Cancer Center Research Institute

【目的および方法】 Aminophenylnorharman (APNH) は、主にタバコ、加熱食品等に含まれる heterocyclic amine で、S9mix 存在下で Salmonella typhimurium TA98, YG1024 に変異原性を示すことが知られている。我々は先に F344 ラットにおける発癌 initiation assay で APNH が initiation 活性を有することを明らかにした。また、雌雄 p53 ノックアウト (KO) マウス (+/-) および wild type (+/+) に APNH を 40 週間経口投与 (0, 3, 10, 30 ppm) し、投与群での肝発がんの増加 (+/-, +/- とも同程度) を認めた。今回、40 週間経口投与で認められた肝臓腫瘍における p53 遺伝子変異を PCR-SSCP 法により検索した。さらに、APNH の肝臓における代謝と発がんとの関連性について検討するため 5 週齢の雌雄 p53KO マウス各 genotype (+/+, +/-, -/-) に APNH を 1 週間経口投与 (3, 10, 30, 100 ppm) し、肝臓より抽出した RNA を用いて、real-time RT-PCR 法により cytochrome P450 (CYP) 1A1, 1A2 mRNA の発現量を調べた。また、雌 (+/+) の肝臓における DNA adduct の形成を検索した。**【結果】** CYP1A1 mRNA の発現が雌雄各 genotype の 100 ppm 群で認められた。CYP1A2 mRNA 発現は明らかではなかった。また、CYP1A1 mRNA の発現量は雌 (-/-) で高かった。DNA adduct の形成は投与用量依存性に増加した。なお、肝臓腫瘍組織に p53 遺伝子変異は検出されなかった。**【結論】** CYP 1A1 mRNA の発現に相関するかたちで DNA adduct 形成が認められたことより、APNH による発がん性には肝薬物代謝酵素誘導の関与が示唆された。

P6-39 シクロオキシゲナーゼ欠損マウスを用いた2段階発癌試験時の皮膚におけるPGE₂及びPGF₂α受容体の遺伝子発現

○岡田 学¹、高須 伸夫¹、木屋 昭憲¹、福島 亮¹、上原 健城¹、宮園 優子¹、鳥井 幹則¹、
Jacqueline Akunda²、Robert Langenbach²

¹塩野製薬(株)新薬研究所、²National Institute of Environmental Health Sciences

Mouse skin EP and FP expression in COX deficient mice during initiation/promotion

○Manabu OKADA¹、Nobuo TAKASU¹、Akinori KIYA¹、Ryou FUKUSHIMA¹、Takeki UEHARA¹、
Yuko MIYAZONO¹、Mikunori TORII¹、Jacqueline AKUNDA²、Robert LANGENBACH²

¹SHIONOGI & CO. LTD.、²National Institute of Environmental Health Sciences

Cyclooxygenase (COX) -1、-2の発現が腫瘍の増殖・進展に関与することが多数報告されている。既に我々はCOX欠損(-/-)マウスを用いた皮膚2段階発癌試験において腫瘍発生率が低下することを報告した。今回我々は、本モデルでの腫瘍発生率低下にPGE₂またはPGF₂αに特異的な受容体であるEP (EP1、EP2、EP3、EP4)またはFP受容体の遺伝子発現が関与しているかを検討した。[方法]COX-1^{-/-}、COX-2^{-/-}と野生型マウスを用い、2段階発癌実験を実施した。イニシエーターとしてDMBAを、プロモーターとしてTPAを使用し、発生した乳房腫と皮膚を採取した。また急性の変化を調べる目的で、TPAを単回塗布後、経時的に皮膚を採取した。EPとFP受容体の遺伝子発現はリアルタイムRT-PCR法で測定した。[結果]全てのジェノタイプの皮膚でEPとFP受容体の遺伝子発現が認められ、その発現量にジェノタイプ間で差はなかった。TPA単回塗布後、EP2の遺伝子発現は一過性に誘導されたが、EP1とEP4は変化せず、EP3とFPは約70%減少した。2段階発癌実験で採取した皮膚では、EP1、2、3とFPの発現は減少したが、EP4は2-4倍増加した。乳房腫ではEP1、2、3とFPは約60-90%減少したが、EP4は無処置の場合とほぼ同じであった。これらの発現変化にジェノタイプ間で差はなかった。[考察]皮膚でEPとFPの遺伝子発現が認められたことから、皮膚の病態生理にPGE₂とPGF₂αが重要な働きをしていると考えられた。TPA単回塗布後や2段階発癌モデルにおいて、EP及びFPの遺伝子発現にCOX欠損が関与しないことがわかった。このことより、COX欠損マウスでの腫瘍発生率低下にEPまたはFP受容体発現は重要でないことが結論づけられた。

P6-40

演題取消

P6-41 フェノールフタレインに対するTg rasH2 マウスとp53ノックアウトマウスの発がん感受性の比較

○鈴木 修三¹、浦野 浩司¹、江口奈津子¹、菊地 宏治¹、吉村マスマ¹、澤 延子¹、田辺亜希子²、服部 祐二¹、西中 栄子²、町田 一彦¹、白根 敏仁¹

¹(財)実験動物中央研究所、²(株)ジェー・エー・シー

Comparative study on the effects of phenolphthalein on ras H2 and p53 knockout mice

○Shuzou SUZUKI¹, Kouji URANO¹, Natsuko EGUCHI¹, Kouji KIKUCHI¹, Masumi YOSHIMURA¹, Nobuko SAWA¹, Akiko TANABE², Yuji HATTORI¹, Eiko NISHINAKA², Kazuhiko MACHIDA¹, Toshimi USUI¹

Central Institute for Experimental Animals, ²JAC K.K.

がん原性試験の試験系として用いられる遺伝子改変マウスの比較生物学的研究の一環として、遺伝的背景を同一としたC57BL/6J-TgrasH2マウス(rasH2)とC57BL/6J-p53ノックアウトマウス(p53KO)のphenolphthalein(PhP)に対する発がん感受性を比較検討した。同時にp53ノックアウトマウスについては不活性化したexonの異なるC57BL/6J-TacBR-(KO)p53マウス(p53KO-Tac)との比較もあわせて行った。7週齢のC57BL/6Jマウス(B6)、rasH2、p53KOおよびp53KO-Tacのそれぞれ雄雌各15匹を実験に用いた。PhPは800mg/kgの用量を週5回の頻度で26週間経口投与を行い各種検査を行った。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。PhPの26週間投与後の生存率は何れのマウスも93.3~100%であった。各マウスの7週令時の体重は、p53KO>p53KO-Tac>B6>rasH2の順に大きく、26週間投与終了時の体重も略同傾向を示した。投与終了時の白血球数には各マウス間で大きな差は無かった。胸腺の臓器重量は雄雌ともにp53KOではB6と差はみられなかったが、rasH2とp53KO-TacはB6より増加が認められ、雌では有意の増加を示した。胸腺の組織所見ではp53KO-Tacで雄雌各1例のlymphomaが観察され、他に皮質のhyperplasiaを示す例も散見された。rasH2の胸腺では皮質のhyperplasiaを示す例が多く観察され、これらの例ではmitosisとともにapoptosisが特徴的に観察されたが、髄質には大きな変化を示す所見は認められずlymphomaと診断する例は無かった。

P6-42 コウジ酸のマウス中期皮膚発がん性試験

○難波江恭子¹、河部 真弓¹、市原 敏夫¹、土井 悠子¹、戸田 庸介¹、玉野 静光¹、比嘉 良典²、陣内 宏行³、白井 智之³

¹(株)大塚会医科学研究所、²三省製薬(株)、³名古屋市立大学大学院医学研究科実験病理学

Mouse medium-term skin carcinogenesis bioassay of kojic acid

○Kyoko NABAE¹, Mayumi KAWABE¹, Toshio ICHIHARA¹, Yuko DOI¹, Yosuke TODA¹, Seiko TAMANO¹, Yoshitaka HIGA², Hiroyuki JINNAI², Tomoyuki SHIRAI³

¹Daiku-Kai Institute of Medical Science, ²Sansho Seiyaku Co. Ltd., ³Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

一般演題(859)

【目的】コウジ酸は、メラニン生合成関連酵素であるチロシナーゼの阻害作用を有することから化粧品的美白成分として広く使用されていた。今回マウス皮膚二段階発がんモデルを用い、コウジ酸含有クリームをマウスの背部皮膚に塗布してコウジ酸の皮膚発がんイニシエーションあるいはプロモーション作用の有無を検索した。

【方法】8週齢のICR系雄マウスを用い、プロモーション作用を検索する目的で1-4群にはイニシエーション処置として100 μ g/0.1mL/mouseのDMBAを1回投与し、1週後より0、0.3及び3.0%濃度のコウジ酸クリーム50mgを週5回19週間背部皮膚に塗布した。陽性対照群として4群には4 μ g/0.2mL/mouseのTPAを週2回背部皮膚に塗布した。5、6群にはアセトン投与開始時に1回塗布し、その後0及び3.0%コウジ酸クリームを同様の量、頻度で塗布した。またコウジ酸のイニシエーション作用を検討する目的で7、8群には実験開始時より0及び3.0%濃度のコウジ酸クリーム50mgを1週間計7回塗布し、1週後より4 μ g/0.2mL/mouseのTPAを週2回19週間塗布した。投与期間中には一般状態の観察、体重、摂餌量の測定、外表観察を実施し、投与期間終了後、肉眼的検査、肝臓重量の測定及び病理組織学的検査を実施した。

【結果及び結論】コウジ酸をプロモーション期に塗布した群では、外表観察及び肉眼的検査において、陽性対照のTPA群で皮膚結節の発生率及び個数とも有意に増加したのに対し、コウジ酸クリームを塗布した各群では、DMBA処置の3.0%コウジ酸クリーム群で1例に1個の皮膚小結節を認めたのみであった。またコウジ酸クリームをイニシエーション期に塗布した群では皮膚の結節を全く認めなかった。コウジ酸は、皮膚発がんに対してイニシエーションあるいはプロモーション作用を示さないことが明らかになった。

P6-43 膵中期発がんモデルによる予防物質の探索

○北村 泰樹¹、西川 秋佳¹、梅村 隆志¹、神吉けい太¹、今沢 孝喜¹、中村 考志²、広瀬 雅雄¹

¹国立医薬品食品衛生研究所病理部、²京都府立大学人間環境学部食品科学

Screening of chemopreventive agents using pancreas medium-term carcinogenesis model

○Yasuki KITAMURA¹、Akiyoshi NISHIKAWA¹、Takashi UMEMURA¹、Keita KANKI¹、Takayoshi IMAZAWA¹、Yasushi NAKAMURA²、Masao HIROSE¹

¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²Department of Food Sciences and Nutritional Health, Kyoto Prefectural University

【目的】N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) 誘発ハムスター膵がんは、ヒト症例に類似した膵管由来の管状腺癌であることから、膵がん予防物質の検索モデルとして採用されている。今回、膵がん病変の膵管上皮異型的過形成 (AH) を主たる指標とした16週間膵中期発がんモデルを用いて、種々の膵がん予防物質のイニシエーションあるいはポストイニシエーション期における発癌効果を検討した。【方法】6週齢の雄シリアンハムスターにBOP 10mg/kgを1週間に計4回皮下投与し、benzyl isothiocyanate (BITC: 80 ppm)、resveratrol (RES: 10 ppm)、sulforaphane (SUL: 80 ppm)、4-(methylthio) butylisothiocyanate (MTBITC: 80 ppm)、curcumin (CUR: 2000 ppm) をそれぞれBOP投与の1週前から1週後まであるいは投与1週後より実験終了まで経口投与した。その他にイニシエーションのみの群及び無処置群を設けた。16週後に屠殺し、腫瘍性病変について病理組織学的に検索した。【結果及び考察】AH及び膵管腺癌 (ADC) を併せた病変の多発性はBOPによるDNA傷害性に対して抑制的に働く事が知られているイソチオシアネート類 (BITC, SUL, MTBITC) をイニシエーション期に投与した群で有意に減少し、ポストイニシエーション期に投与した群では影響は認められなかった。一方、COX-2阻害剤であるRES及びCURについては、いずれの投与期においても有意な変化は認められなかった。現在検討中である病変部、非病変部でのBrdU標識率による細胞増殖活性、並びにAH特異的マーカー検索の結果について併せて報告する予定である。

P6-44 Crj:CD (SD) IGS ラットの長期飼育における給餌制限の影響

○青木 豊彦、関戸 徹、稲上 教士、勝山 宏巳、加藤 聡、細川 暁、本岡 寛

エーザイ (株) 安全性研究所

The Effects of Chronic Dietary Restriction on Biological Characteristics in Crj:CD (SD) IGS Rats

○Toyohiko AOKI, Tohru SEKIDO, Atsushi INAGAMI, Hiromi KATSUYAMA, Satoru KATO, Satoru HOSOKAWA, Satoru MOTOOKA

Drug Safety Research Laboratories, Eisai Co. Ltd.

通常、げっ歯類におけるがん原性試験は飽食下で実施されているが、近年、試験終了時点の生存率が著しく低下し、50%を下回る事態も多々報告されている。この課題を改善するため、低タンパク食、高繊維含有食で飼育するなど、様々な検討がなされているが、演者らは一日あたりの給餌量を制限し、生存率の向上が図れるものと考え、今回、2年間の制限給餌飼育下でのラットのバックグラウンドデータ収集を目的とし、以下の試験を実施した。雌雄各100匹の8週齢Crj:CD (SD) IGSラット (IGSラット) に0.5%メチルセルロース溶液 (10mL/kg) を毎日、2年間強制経口投与した。動物には、一粒が約3.5gに調製された固形飼料 (CRF-1) を雄には6粒 (約21g)、雌には4粒 (14g) を毎日与えた。試験期間中、死亡の有無、一般状態、外観観察、体重・摂餌量測定を定期的に行い、投与104週後に全生存例について血液検査と血液生化学的検査を実施した後、剖検を行い、全動物の全臓器・組織について病理組織学的検査を実施した。その結果、本試験における2年生存率は、68% (雄)、73% (雌) と飽食あるいは低タンパク食飽食条件下での生存率に比べ、著しい改善がみられた。尚、今回の給餌量は、飽食下での摂餌量の80-85%に相当する量であった。病理学的検査の結果、腫瘍性病変では、雄の下垂体腫瘍、雌の乳腺腫瘍と副腎皮質腫瘍。また、非腫瘍性病変では、慢性腎症、心筋線維化、胆管増生などの発生頻度が飽食条件下に比べ著しい低値を示した。

P6-45 生殖毒性誘発化合物がラット精巣における遺伝子発現に及ぼす影響の検討

○福島 民雄¹、山本 利憲¹、森 千里²、浜田 悦昌¹、堀井 郁夫¹

¹ファイザー(株)、²千葉大学大学院 環境生命医学研究室 (A3)

Effect of reproductive toxicants on the gene expression in the rat testis

○Tamio FUKUSHIMA¹、Toshinori YAMAMOTO¹、Chisato MORI²、Yoshimasa HAMADA¹、Ikuro HORII¹

¹Pfizer Global Research & Development、²Chiba University, Department of bioenvironmental medicine (A3)

目的: 雄性生殖試験においては薬物を数ヶ月間反復投与したのち生殖能評価を行うのが一般的で、結果を得るまでに長期間を要する。本研究では、短期間で雄性生殖機能を評価するためのバイオマーカーを選定することを目的として、雄性生殖毒性が知られているethylene glycol monomethyl ether (EGME)、cyclophosphamide (CP) およびsulfasalazine (SASP) を成体雄ラットに単回投与し、精巣における遺伝子発現への影響について検討した。

方法: EGME、CPおよびSASP(各2000mg/kg)をラットに経口投与し、投与6時間後に精巣を摘出後、液体窒素で凍結した。凍結した精巣より抽出したmRNAを鋳型として、Cyamine-5を用いて逆転写反応により、蛍光標識cDNAを作製し、EDアレイver.2(旭テクノガラス)にハイブリダイズさせた。EDアレイにハイブリダイズした各遺伝子発現量を蛍光強度として、SilicoCyte (Discovery Biotechnologies)を用いて解析し、対照群と発現量の異なる遺伝子を検索した。

結果および考察: EGME、CP、SASP投与により、発現が増強した遺伝子のうち精子形成に重要と考えられるものは、各10、8および9遺伝子であり、減弱した遺伝子は、各5、8および3遺伝子であった。発現が変動した遺伝子のうちHeat Shock Protein 70とGlutathione S transferaseはEGMEとSASPに共通して、T-complex 4はCPとSASPに共通して変化がみられた。これらの精子形成関連遺伝子の変動について、反復投与による影響も検討する必要があるが、少なくとも短期投与による雄性生殖毒性評価のバイオマーカーとして利用できる可能性が示唆された。

● P6-46 生殖毒性誘発化合物がラット精巣におけるタンパク質発現に及ぼす影響

○山本 利憲、福島 民雄、山田 弘、堀井 郁夫

ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部

Effect of reproductive toxicants on the protein expression in the rat testis

○Toshinori YAMAMOTO、Tamio FUKUSHIMA、Hiroshi YAMADA、Ikuro HORII

Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research&Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc.

【目的】 近年、医薬品開発のスピードアップに伴って、安全性評価においてもハイスループット化が求められている。通常、雄性生殖毒性試験においては、化合物を数ヶ月間反復投与した後に生殖能評価を行っており、開発早期の化合物スクリーニングには用いることができない。そこで、短期間で雄性生殖機能を評価するための指標となるタンパク質の探索を目的として、成体雄ラットに、雄性生殖毒性を惹起することが知られている化合物を単回投与した時の、精巣におけるタンパク質発現へ及ぼす影響について検討した。**【方法】** 雄ラットに、エチレンジグリコールモノメチルエーテル(EGME)、シクロホスファミド(CP)およびスルファサラジン(SASP)を経口投与した後、24時間に精巣を摘出した。精巣をホモジナイズした後、2次元電気泳動により展開し、タンパク質を分離した。画像解析の結果より、発現量が2倍以上変化したスポットをゲルから切り出し、トリプシンによるゲル内消化後、質量分析計に導入しタンパク質を同定した。**【結果および考察】** EGME、CPおよびSASPの投与により、それぞれ21個、13個および9個のタンパク質の発現が増加し、それぞれ31個、4個および13個のタンパク質の発現が減少した。これらの発現変動タンパク質のうち、精子形成に関わるものとして、CPおよびSASPの投与によりGlutathione S-transferaseおよびHeat shock protein 70の発現が変化し、すべての化合物の投与によりPhosphatidylethanolamine-binding proteinの発現が変化していた。今回の試験は単回投与による影響を検討したものであるため、反復投与時の発現変動についても検討する必要があるものの、これらのタンパク質が雄性生殖毒性評価の指標として用いることができる可能性が示された。

P6-47 L-buthionine (S, R) -sulfoximine (BSO) を投与したF344ラットの肝臓におけるグルタチオン含量と遺伝子発現の変動

○伊藤 和美、清沢 直樹、佐久間恭子、新野 訓代、上堀 美幸、矢本 敬、真鍋 淳、松沼 尚史
三井(株)安全性研究所

Relationship between hepatic glutathione content and gene expression profile in F344 male rats treated with L-buthionine (S, R) -sulfoximine

○Kazumi ITO, Naoki KIYOSAWA, Kyoko SAKUMA, Noriyo NIINO, Miyuki KANBORI, Takashi YAMOTO, Sunao MANABE, Naohika MATSUNUMA

Medicinal Safety Research Laboratories, Senkyo Co., Ltd.

【目的】酸化ストレスに対する生体反応の遺伝子発現による評価を目的として、F344ラットに、グルタチオン (GSH) 合成酵素の阻害剤であるL-buthionine (S, R) -sulfoximine (BSO) を投与し、肝GSH含量と肝臓における遺伝子発現変動の相関を解析した。【材料および方法】1群各4例とし、処置群にはBSOを20mMの濃度で添加した飲水を、対照群には通常の飲水を、それぞれ4日間自由摂取させた。総グルタチオン定量キット (株式会社同仁化学研究所) を用いて肝臓のGSH含量を計測するとともに、肝臓における網羅的遺伝子発現情報をジーンチップRGU34Aアレイ (アフィメトリクスジャパン株式会社) により収集した。肝GSH含量の減少と遺伝子発現変動との相関は、ピアソンの相関係数により評価した。【結果および考察】BSOの投与により、肝臓1gあたりのGSH含量は1.20 μ molと、対照群の6.48 μ molに比べて有意に低下した ($p < 0.01$)。肝遺伝子発現解析の結果、シグナルが有効であると判断されたプローブは2815個であり、肝GSH含量の減少と0.8以上の相関係数を示すプローブは107個であった。プロモーターに酸化ストレス応答配列を持つ遺伝子群 (H相系代謝酵素など) に加え、多数のシグナル伝達因子、転写因子、脂質代謝関連等の遺伝子群がGSH欠乏に相関した発現上昇を示した。本試験により選択されたプローブは、細胞におけるグルタチオン欠乏とそれに伴った酸化ストレス負荷を遺伝子発現変動から評価するためのマーカーとして有用である。

P6-48 Gene expression analysis of ENU-treated BALB/c mouse liver using cDNA microarray

○Seckjoo YOON, Sun-Hwa LEE, Kyu-Hyuk CHO, Jae-Woo CHO, Sang-Seop HAN, Chang-Woo SONG
Laboratory of Toxicogenomics, Korea Institute of Toxicology (KIT) Korea Research Institute of Chemical Technology (KRICT)

Nethyl-N-nitrosourea (ENU), a toxin and carcinogen as well as a mutagen, has a variety of effects on mice. In the present study, we analyzed the expression patterns of cancer related genes in ENU-treated mouse liver. BALB/c mice were injected with phosphate-buffered saline or 250 mg/kg of ENU intraperitoneally. The mice were sacrificed at 4, 12, 24, and 48 hrs after treatment, respectively. Mouse 10K cDNA chip was used for gene expression profiling study in 24 and 48 hrs ENU treated mouse liver. Ninety genes were down-regulated and 37 genes were up-regulated in 24 hrs after treatment. Seventy-five genes were down-regulated and 32 genes were up-regulated in 48 hrs after treatment. We found several up-regulated cancer related genes, such as growth hormone (GH) receptor, p53, metallothionein (MT) I & II. In order to validate the expression levels of these genes, we performed real-time PCR at each time point. The gene expression reached a peak (15-20 times higher than control) at 4 hrs after treatment. The expression level then gradually decreased, but still higher or equal to that of control. p53 and MT are well known tumor related molecular markers. Enhanced expression of p53 and MT at the 4 hrs ENU treatment showed that certain carcinogenetic actions occurred in early time. Interestingly, p53, MT, and GH receptor showed similar patterns in their gene expression. We hypothesized that up-regulated gene expression of GH receptor in ENU treatment is correlated with cancer progression. Additional experimental data, on these genes in carcinogenesis, are needed to elucidate the biological functions during ENU-induced cancer progression.

P6-49 生物情報統合プラットフォームKeyMolnetによる薬物作用機序ならびに副作用の解明へのアプローチ

○小貫 慶昭、重高 誠、福田 美紀、若松 容子、溝口 佳伸、富岡 伸夫、板井 昭子

医薬分子設計研究所

【目的】近年において、創薬戦略そのものが大きく変革を遂げており、疾患の原因となる蛋白質（遺伝子）に標的を絞った効率的な研究を行い、薬効の分子メカニズムが明らかで切れ味のよい医薬品候補が次々と開発されてきている。これには、標的となる蛋白質だけでなく蛋白-蛋白相互作用、シグナル伝達経路などの情報が必要となっている。それに伴い疾患・治療に関する標的（蛋白、シグナル伝達系など）の制御に基づく薬効作用と同一の観点から副作用・毒作用についてもメカニズムを蛋白質（遺伝子）レベルで明らかにして、副作用・毒作用を取り除いていく考えが普及しつつある。また、ゲノミクスやプロテオミクスなどの“omics”技術の普及により、毒性学の分野においてもトキシコゲノミクスの技術により細胞内における遺伝子・蛋白発現に関する情報が蓄積されている。生体分子・生体機能・疾患・医薬分子・遺伝子の生物情報を統合的に扱うKeyMolnetを利用して、DNAマイクロアレイなどの網羅的遺伝子発現解析を実施して、薬物作用機序ならびに副作用の解明を目指した。

【方法】DNAマイクロアレイのデータを用いて、発現変動遺伝子の経時変化、相関行列やスキャッター・プロットなどの遺伝子発現解析を行い、生物情報統合プラットフォームKeyMolnetを用いて、転写因子の探索。毒性に関連するシグナルパスウェイ、薬剤固有の分子ネットワークなどの解析を実施した。

【結果】薬剤による特徴的なプロファイリングが得られ、転写因子、代謝酵素の発現の変動、ストレス応答および毒性に関連するシグナルパスウェイなどについて、分子ネットワークを通して解析することができた。

P6-50

P6-51 アセトアミノフェン単回経口投与後のラット肝臓における遺伝子発現変化の週令差

○森下 克美、笠原 利彦、奥山 学、高島佳代子、鳥塚 尚樹、漆谷 徹郎、宮城島利一、長尾 拓
国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト

Gene Expression Profile in the Liver from Different Age of Rats after Single Oral Dose of Acetaminophen

○Katsumi MORISHITA, Toshihiko KASAHARA, Manabu OKUYAMA, Kayoko TAKASHIMA, Naoki TORITSUKA, Tetsuro URUSHIDANI, Toshikazu MIYAGISHIMA, Taku NAGAO
National Institute of Health Sciences, Toxicogenomics Project

【緒言】トキシコゲノミクスプロジェクト (TGP) は国立医薬品食品衛生研究所と製薬企業17社によって2002年に開始された。TGPでは約150化合物の曝露試験を実施し、遺伝子発現及び毒性学的データの蓄積による統合的な毒性予測システムの構築を目標としている。TGPにおけるデータ生成は、スパイク補正により遺伝子発現量を細胞当たりの絶対量として求める方式を採用している。本研究では、基礎的検討として、ラットの週令差がアセトアミノフェンの肝毒性に与える影響を比較した。

【方法】6週 (若令) および12週 (成熟) 雌性SDラットにアセトアミノフェンの薬効果 (50mg/kg) または毒性量 (1000mg/kg) を0.5%メチルセルロース懸濁液として経口投与し、経時的に屠殺した。血液生化学検査、肝臓の病理組織検査、およびAffymetrix RAE230Aマイクロアレイを用いた肝臓の網羅的遺伝子発現解析を行った。一部の遺伝子についてはPCRによる定量も実施した。

【結果及び考察】アセトアミノフェンによる生化学・病理組織変化は投与24時間後で明らかであったが、その程度は若令より成熟動物で高かった。多くの酸化ストレス、細胞周期、代謝、解毒、胆汁関連遺伝子において発現量の変化が見られたが、一般に、発現変化を示した遺伝子の数や程度も成熟動物で高かった。非投与群において発現量が週令によって異なる遺伝子群も認められた。以上、遺伝子発現のプロファイルは現在推定されているアセトアミノフェンの肝毒性発現機序に沿うものであり、毒性の週令差も、代謝活性化と解毒に関わる遺伝子発現の差で説明可能であった。また、このような解析が可能であったことは、TGPの遺伝子発現補正法の有用性を支持するものであった。

P6-52 マウス初代培養肝細胞におけるストレプトゾトシンによる遺伝子発現変動解析

○久米 英介¹、有賀 千浪¹、高橋 芳¹、三輪 恵子¹、出倉給重葉¹、伊藤 雅仁¹、藤村 久子¹、鳥海 互¹、土井 邦雄²

¹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学部

Gene expression analysis in mouse primary cultured hepatocytes exposed to streptozotocin

○Eisuke KUME¹, Chinami ARUGA¹, Kaori TAKAHASHI¹, Satoko MIWA¹, Eriha DEKURA¹, Masahito ITOH¹, Hisako FUJIMURA¹, Wataru TORIUMI¹, Kunio DOI²

¹Exploratory Toxicology and DMPK Laboratories, Tanabe Seiyaku Co. Ltd., ²Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

【緒言】ストレプトゾトシン (STZ) は肝臓細胞障害性以外に、各種臓器に障害を及ぼすことが知られている。我々はSTZを投与したマウスの肝臓について遺伝子発現解析を行い、細胞増殖、アポトーシス、脂質代謝関連の遺伝子に影響が認められることを第30回本学会にて報告した。今回、STZの肝細胞へのより直接的な影響を検討する目的で、初代培養肝細胞にSTZを曝露し形態学的観察ならびに遺伝子発現の変動について解析した。【材料及び方法】ICR系マウスより肝細胞を分離した。前培養を24時間行った後に0、1、3、10、30、100mMのSTZを含む培地と交換し、さらに培養を行った。6時間もしくは24時間後にMTTアッセイによる細胞毒性検査、電子顕微鏡観察ならびにGeneChip Murine Genome U74A V2アレイ (Affymetrix) を用いた遺伝子解析を実施した。遺伝子解析には、培養後の肝細胞からtotal RNAを精製し、標準プロトコールに従ってTarget調製後アレイ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】初代培養肝細胞に対するSTZの細胞毒性のIC50は6時間曝露で約62mM、24時間曝露で約7mMであった。電子顕微鏡検査では核クロマチンのマージネーションが3mMから明らかに認められた。遺伝子発現解析では、STZをマウスに単回投与した場合と同様に細胞増殖、アポトーシスならびに脂質代謝関連の遺伝子に変動が認められ、*in vivo*におけるこれらの変動が血糖値の変動による二次的な変化ではなく肝細胞に対するSTZの直接的な影響によるものであることが示唆された。

P6-53 フェノバルビタール暴露後の遺伝子発現のin vivoとin vitro間での比較

○奥山 学、笠原 利彦、高島佳代子、森下 克美、鳥塚 尚樹、宮城島利一、漆谷 徹郎、長尾 拓
国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト

Comparison of gene expression profile of the liver after phenobarbital treatment in vivo and in vitro.

○Manabu OKUYAMA, Toshihiko KASAHARA, Kayoko TAKASHIMA, Katumi MORISHITA, Neaki TORITUKA, Toshikazu MIYAGISHIMA, Teturo URUSHIDANI, Taku NAGAO

Toxicogenomics Project, National Institute of Health Sciences

【緒言】トキシコゲノミクスプロジェクト (TGP) は国立医薬品食品衛生研究所と製薬企業17社によって2002年に開始された。TGPでは約150化合物の曝露試験を実施し、遺伝子発現及び毒性学的データの蓄積による統合的な毒性予測システムの構築を目標としている。TGPにおけるデータ生成は、スパイク補正により遺伝子発現量を細胞当たりの絶対量として求める方式を採用している。今回、我々は基礎的検討としてフェノバルビタール暴露後の遺伝子発現の比較をin vivoならびにin vitro試験系を用いて行った。【方法】6週齢の雄性SDラットにフェノバルビタールを100mg/kgの用量で単回、あるいは3日及び28日間反復経口投与した。単回は投与24時間後、反復投与は最終投与翌日に肝臓を摘出し、解析に用いた。In vitro試験系は、ラット初代肝細胞を用いた。動物は、同様に6週齢の雄性SDラットを用い、コラゲナーゼ選抜法により肝細胞を分離した。播種24時間後にフェノバルビタールを最終濃度が3mMになるよう培地に添加し、24時間後、解析に用いた。網羅的遺伝子発現解析には、Affymetrix RAE230Aマイクロアレイを用いた。また、一部の遺伝子についてはQ-PCRによる定量を行った。【結果及び考察】In vivoとin vitroで共通して変動した遺伝子は、主にフェノバルビタールにより誘導されること知られている薬物代謝酵素であった。Q-PCRにおいても同様な誘導が確認された。ストレス応答などに関与する遺伝子発現の変化はin vitroにおいて多く認められた。また、反復投与により変動が見られた遺伝子の一部は、in vitroにおいても変動が認められた。以上のように、両試験系の結果には、共通点及び相違点が認められ、今後各試験系の特徴を理解した上で遺伝子発現解析を実施していく必要があると考えられた。

● P6-54 血清含有及び無血清培地で培養したラット初代肝細胞における経時的遺伝子発現変化のDNAマイクロアレイによる解析

○笠原 利彦、鳥塚 尚樹、奥山 学、高島佳代子、森下 克美、鈴木 孝昌、漆谷 徹郎、宮城島利一、長尾 拓
国立医薬品食品衛生研究所

DNA microarray analysis of time-dependent change of gene expression in rat primary hepatocyte cultured in serum-containing or –free medium

○Toshihiko KASAHARA, Neaki TORITUKA, Manabu OKUYAMA, Kayoko TAKASHIMA, Katsumi MORISHITA, Takamasa SUZUKI, Tetsuro URUSHIDANI, Toshikazu MIYAGISHIMA, Taku NAGAO

National Institute of Health Sciences

【緒言】トキシコゲノミクスプロジェクト (TGP) は国立医薬品食品衛生研究所と製薬企業17社によって2002年に開始された。TGPでは約150化合物の曝露試験を実施し、遺伝子発現及び毒性学的データの蓄積による統合的な毒性予測システムの構築を目標としている。TGPにおけるデータ生成は、スパイク補正により遺伝子発現量を細胞当たりの絶対量として求める方式を採用している。TGPでは、ラットin vivo、ラット初代肝細胞及びヒト初代肝細胞の一連の実験セットで化合物の評価を行なうが、in vitroの試験には多様な実験条件が存在し、遺伝子発現と培養条件に関する情報が乏しい。本研究では、ラット初代肝細胞における経時的な遺伝子発現変化を血清含有及び無血清培地で比較した。【方法】肝細胞は、6週齢の雄SDラットから単離し、ウシ胎児血清含有培地及び無血清培地のいずれかで培養した。単離前、播種120時間後までの遺伝子発現変化をAffymetrix RAE230Aマイクロアレイを用いて解析した。代表的な遺伝子発現については、RT-PCRによる定量も実施した。【結果及び考察】第一相薬物代謝酵素遺伝子のほとんどが播種8時間後から急激に発現低下し、以後、漸減した。第二相の酵素については、経時的に発現増加するものも見られた。アルブミン、トランスフェリン、フィブリノーゲンなどの肝機能関連遺伝子の発現はほとんど変化しなかった。また、アポトーシスおよび細胞骨格関連遺伝子については、経時的に発現増加する傾向がみられた。これらの遺伝子については、血清含有及び無血清培地間で発現に大きな差は認められなかった。また、マイクロアレイとRT-PCRで得られたデータは良く相関していた。以上の結果は、データベースを構築するための実験プロトコルの作成に有用であった。

一般演題(629)

P6-55 ラット初代培養肝細胞における遺伝子発現に対する細胞毒性の影響のDNAマイクロアレイによる解析

○鳥塚 尚樹、笠原 利彦、森下 克美、奥山 学、高島佳代子、鈴木 孝昌、宮城島利一、漆谷 徹郎、長尾 拓
国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト

Drug Induced Cytotoxicity Affects Gene Expression Profile in Primary Cultured Rat Hepatocytes: A DNA Microarray Analysis

○Naoki TORITSUKA, Toshihiko KASAHARA, Katsumi MORISHITA, Manabu OKUYAMA, Kayoko TAKASHIMA, Takayoshi SUZUKI, Toshikazu MIYAGISHIMA, Tetsuro URUSHIDANI, Taku NAGAO

National Institute of Health Sciences, Toxicogenomics Project

【緒言】トキシコゲノミクスプロジェクト (TGP) は国立医薬品食品衛生研究所と製薬企業17社によって2002年に開始された。TGPでは約150化合物の曝露試験を実施し、遺伝子発現及び毒性学的データの蓄積による統合的な毒性予測システムの構築を目標としている。TGPにおけるデータ生成は、スパイク補正により遺伝子発現量を細胞当たりの絶対量として求める方式を採用している。本研究では、基礎的検討として初代培養肝細胞において細胞毒性が遺伝子発現に与える影響を検証した。

【方法】6週齢雄性SDラットより分離した肝細胞を、播種24時間後からアセトアミノフェン (APAP) またはフェノバルビタール (PB) (3及び10mM) を含む培養液で24時間処理した後に細胞を回収し、Affymetrix RAE230Aマイクロアレイにて遺伝子発現の網羅的解析を行った。細胞毒性はLDH漏出と細胞内DNA量を指標とした。

【結果及び考察】APAP, PB共に、明らかな細胞毒性の見られる10mMでは非常に多数の遺伝子で発現量の低下が見られたが、ストレス応答や転写因子活性に関連する遺伝子は増加を示し、細胞障害を反映していると考えられた。APAPにおいて3mMで増加を示した遺伝子の多くは10mMでも増加を示した。一方PBでは、3mMで増加を示しても10mMでは減少した遺伝子が多く、誘導が既知の代表的遺伝子についても同様の傾向を示した。これはPB 10mMでの毒性が強かったためと考えられ、細胞毒性の強弱が遺伝子発現の誘導に大きな影響を与えることが明らかとなった。この結果より、複数の用量を設定することで化合物の作用による特異的な誘導と細胞障害に基づく一般的な発現誘導を共に見出せることが示された。また、スパイク補正により安定したデータが得られ、このような解析が可能であったことは、TGPの遺伝子発現補正法の有用性を支持するものであった。

P6-56 投与媒体の差による遺伝子発現への影響についてのDNAマイクロアレイによる解析

○高島佳代子、森下 克美、奥山 学、笠原 利彦、鳥塚 尚樹、宮城島利一、漆谷 徹郎、長尾 拓
国立医薬品食品衛生研究所トキシコゲノミクスプロジェクト

Influence of orally-administered vehicles on gene expression analyzed by DNA microarray

○Kayoko TAKASHIMA, Katsumi MORISHITA, Manabu OKUYAMA, Toshihiko KASAHARA, Naoki TORITSUKA, Toshikazu MIYAGISHIMA, Tetsuro URUSHIDANI, Taku NAGAO

National Institute of Health Sciences, Toxicogenomics Project

【緒言】トキシコゲノミクスプロジェクト (TGP) は国立医薬品食品衛生研究所と製薬企業17社によって2002年に開始された。TGPでは約150化合物の曝露試験を実施し、遺伝子発現及び毒性学的データの蓄積による統合的な毒性予測システムの構築を目標としている。TGPにおけるデータ生成は、スパイク補正により遺伝子発現量を細胞当たりの絶対量として求める方式を採用している。本発表では、基礎的検討として、投与媒体の差が遺伝子発現プロファイルに影響を与えるか否かについての解析結果を報告する。【方法】6週齢雄性SDラットに、5mL/kgの0.5%メチルセルロース及びコーンオイルの単回及び28日間の経口投与を行い、血液学検査、血液生化学検査、及び肝臓での遺伝子発現の網羅的解析をAffymetrix RAE230Aマイクロアレイにて行った。【結果及び考察】0.5%メチルセルロース及びコーンオイルの連続投与群においては、投与期間に関わらず、遺伝子発現プロファイルに差は認められなかった。コーンオイル単回投与群では、投与3時間後においてのみ、血中の総コレステロール、トリグリセリド、リン脂質、総ビリルビン及び直接ビリルビンが0.5%メチルセルロース投与群に対して有意な増加が認められ、これに伴い脂質代謝調節遺伝子である*Angiopoietin-like protein 4*の上昇、コレステロール異化代謝関連酵素である*Cyp2a1*の減少が認められた。しかし、投与6時間後以降では血液生化学値、遺伝子発現値共に正常に戻っていた。以上の結果より、5mL/kgの経口投与では、0.5%メチルセルロース及びコーンオイルの投与媒体の差は、一過性かつ説明可能範囲内であり、遺伝子発現プロファイル解析に影響を与えないことが示された。また、このような解析が可能であったことは、TGPの遺伝子発現補正法の有用性を支持するものであった。

P6-57 D-galactosamine および 4-aminophenol を投与したラットの尿における NMR スペクトル解析

○藤谷 成男、青木 豊彦

エーザイ (株) 安全性研究所

NMR spectroscopic analysis of rat urine samples after D-galactosamine or 4-aminophenol administration

○Naruo KATSUTANI, Toyohiko AOKI

Drug Safety Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.

一連の-omics技術は、毒性発現の予測や機序解明に有用な方法であると考えられている。今回、代表的な肝および腎毒性物質であるD-galactosamine (GAL) および4-aminophenol (PAP) を用いてメタボミクスについての基礎的な検討を行った。

8週齢の雄のCrj:CD (SD) IGSラットに、GAL、PAPまたは媒体である生理食塩水を腹腔内投与した。投与2、3および5日の血液サンプルについて生化学的検査を行うとともに、尿を投与前日から投与5日まで採取し、NMRスペクトル測定を行った。また、投与5日に動物を剖検し、肝および腎について病理組織学的検査を実施した。

血液生化学的検査では、GAL投与群において投与2日よりALP、ALT、AST、 γ -GTおよび総ビリルビンの著明な増加がみられ、PAP投与群において投与2日より尿素窒素とクレアチニンの増加が認められた。尿のNMRスペクトルを主成分分析した結果、GAL投与群およびPAP投与群ともに対照群とは明らかに異なる変化を示した。主成分を3次元にプロットした図では、投与によりGAL投与群とPAP投与群の変化を区別することができ、標的臓器による識別が可能となることが示された。病理組織学的検査では、GAL投与群で肝細胞の壊死後の諸変化が認められ、PAP投与群では尿細管への影響が認められた。

以上の結果、NMRのスペクトルを解析することにより肝と腎の毒性物質であるGALとPAPの毒性変化を捉えることができた。現在NMRスペクトルについて追加の解析を実施しており、この結果とバイオマーカーの可能性を考察したい。

P6-58 Amiodarone 投与によるリン脂質症誘発ラットにおけるリン脂質メタボローム解析

○長谷川美奈^{1,2}、藤原 歩¹、丹野 聡彦¹、及川 彰³、竹中 重雄¹、津山 伸吾²

¹大阪府立大学大学院獣医学専攻、²田辺製薬 (株) 安全性研究所、³バイオテクノロジー開発技術研究組合

Metabolome analysis in amiodarone-induced phospholipidosis of rat.

○Mina HASEGAWA^{1,2}、Ayumi FUJIWARA¹、Toshihiko TANNO¹、Akira DIKAWA²、Shigeo TAKENAKA¹、Shingo TSUYAMA²

¹Department of Veterinary Sciences, Osaka Prefecture University, ²Drug Safety Research Laboratories, Tanabe Seiyaku Co., Ltd., ³Research Association for Biotechnology

一般演題 (B30A)

(目的) 近年、液体クロマトグラフィー (LC) と質量分析装置 (MS) の組み合わせによって、病因が不明な様々な疾患の代謝物を網羅的に解析し、その病因遺伝子の解明を目指すメタボローム解析と呼ばれる手法が注目されている。そこで我々は、この手法の新規化合物安全性評価への適用を目的とし、リン脂質をターゲットにしたリン脂質メタボローム解析手法の確立を試みた。今回は薬剤によって誘発されたリン脂質症の解析を試み、その有用性を検証した。(方法) リン脂質の異常な蓄積を、特に脳で誘発する抗不整脈薬 amiodarone 150mg/kg を単性ラットに7日間経口投与し、最終投与翌日に脳、腎、肝および血清を採取した。これらの臓器および血清からリン脂質を抽出し、LC/MS測定を行った。得られたLC/MSスペクトルを解析し、媒体対照群およびamiodarone投与群間において変動したリン脂質分子種の同定ならびに構造解析を行った。(結果および考察) ラットにリン脂質症誘発作用のあるamiodaroneを投与することにより、従来の報告にもあるように、脳で総リン脂質量およびPhosphatidyl choline (PC) の顕著な蓄積が認められた。また、媒体対照群と比較して、いくつかのPC分子種の変動を確認した。加えて、Phosphatidyl ethanolamine (PE) の蓄積も確認し、そのPE分子構造をin-source fragmentationによって得たスペクトルから同定した。脳以外の臓器ならびに血清のリン脂質については、現在解析を実施中であるが、脳におけるリン脂質解析の結果から、新規化合物の安全性評価の有用な手法と成り得ると考えられる。

P7-01 ヒト単核球細胞株を用いた感作性試験代替法に使用可能な指標の探索

○廣田 衛彦, 茂呂 修
(株) 興生堂

Novel biomarker for in vitro sensitization test using human monocytic cell line

○Morihiko HIROTA, Osamu MORO
SHISEIDO CO. LTD.

【目的】化粧品開発において、配合成分の感作性評価は非常に重要である。昨年、EU化粧品指令第7次改正が公布となり、感作性試験代替法の開発が強く求められている。現在、我々はヒト単核球細胞表面CD86発現を指標とした感作性試験代替法を検討しているが、CD86発現陰性の感作性物質も存在し、確実な評価系構築には至っていない。そこで今回、単独評価及びCD86発現評価の補充が可能な新規指標の探索を行った。【方法】THP-1細胞に感作性物質である2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB), p-phenylenediamine (PPD), nickel sulfate (NiSO₄), 刺激性物質であるsodium dodecyl sulfate (SDS) を処理後、2および18時間でRNAを採取、DNAマイクロアレイ、RT-PCRに供した。さらに、候補指標についてタンパク質レベルでの解析を行った。【結果・考察】マイクロアレイ解析の結果、DNCB, PPD, NiSO₄処理による各々の遺伝子発現プロファイルは多様なパターンを示した。検討感作性物質3品中2品以上で2倍以上発現亢進した266遺伝子を検出した。感作性反応への関与が既知のタンパク質をコードする遺伝子として、感作性試験代替指標として検討実績がある、CD86およびIL1 β に加え、MIP1 α を検出した。さらに、MIP1 α について、in vivo感作性物質・非感作性物質、15品によるタンパク質発現をELISA法で測定した結果、陽性陰性判定の基準値を160%とした場合、in vivo判定と86.7%の一致率を示した。また、CD86発現陰性の感作性物質の数がMIP1 α 発現陽性であり、CD86発現評価に対する補充性が示された。以上の結果、MIP1 α はTHP-1細胞を用いた感作性試験代替法の新規指標としての可能性が示された。

P7-02 Non-R1 Local lymph node assay 相対比較法による化学物質の感作性強度の推定

○武吉 正博, 飯田 憲二, 白石 啓二, 東原 信彦, 寶珠山五月
(財) 化学物質評価研究機構

Prediction of sensitization potency of chemicals by non-radioisotopic modification of local lymph node assay

○Masahiro TAKEYOSHI, Kenji IIDA, Keiji SHIRAIISHI, Nobuhiko HIGASHIBARA, Satsuki HOSHUYAMA
Chemicals Evaluation and Research Institute

Local lymph node assay (LLNA) は従来の皮膚感作性試験とは異なり、初回抗原刺激によるリンパ球の増殖反応を指標としており、短期間に化学物質の感作性を推定できる新しい皮膚感作性試験法である。我々はBromodeoxyuridine (BrdU) を用いることにより放射性化合物 (RI) を使用しないLLNAの変法を既に開発した。今回はLLNAのNon-R1変法を用いた相対比較法による化学物質の感作性推定法について報告する。LLNA相対比較法は既知のヒト感作性物質を比較対照として用い、被検化学物質の感作性強度を推定する方法であり、比較対照物質として2% 2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB, 強度感作性物質, Human class 1), 10% Isoeugenol (IEUG, 中等度感作性物質, Human class 2), 50% α -hexylcinnamaldehyde (HCA, 弱感作性物質, Human class 3) を用いた。同濃度に調製した被検物質をCBA/JNマウスの耳介に25 μ lづつ3日間に連続投与し、最終投与の2日後にBrdUを腹腔内投与した。BrdU投与の翌日、耳介リンパ節を採取し、リンパ球の増殖に伴って取り込まれたBrdUを市販ELISAキットを用いて測定した。その結果、今回設定した実験条件でLLNA相対比較法を実施することにより、既知の感作性物質がその感作性強度に従って分類可能であることが、確認され、本法は化学物質の感作性を迅速且つ効率的に分類、評価する方法として有用であることが示された。

P7-03 RBL-2H3細胞のIgE介在性脱顆粒反応における重金属カドミウムの影響に関する検討

○福石 信之、安井ゆみこ、奥村 佳史、松井 聡敦、赤木 正明

徳島文理大学薬学部薬理学教室

The effect of cadmium on Fc-epsilon R-dependent degranulation from RBL-2H3 cells

○Nobuyuki FUKUISHI, Yumiko YASUI, Yoshifumi OKUMURA, Nobuaki MATSUI, Masaaki AKAGI

Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Sumi University.

現在まで、大気中浮遊物質にも含まれるカドミウムが免疫系細胞に対し様々な影響を与えることが報告されている。肥満細胞に関しては、感作成立後、抗原刺激と同時にカドミウムを一次的に曝露した際の脱顆粒への影響が報告されているが、感作時曝露による影響については報告されていない。そこで今回、肥満細胞株RBL-2H3細胞を用いて感作時カドミウム曝露による肥満細胞のIgE介在性脱顆粒反応における影響を検討した。

RBL-2H3細胞をカドミウム (0~100 μ M) 共存下、抗卵白アルブミン血清を用いて2時間感作し、卵白アルブミンで脱顆粒反応を惹起した。また、カドミウムで2時間曝露したRBL-2H3細胞にA23187を用いて非免疫刺激による脱顆粒反応を惹起した。脱顆粒の指標としてヒスタミン遊離率を蛍光法で測定した。また、抗IgE抗体を用いてフローサイトメーターによりIgE抗体のRBL-2H3細胞への結合能を測定した。

重金属カドミウムの感作時曝露により、低濃度 (0.5~5 μ M) ではヒスタミン遊離が増加し、高濃度 (60~100 μ M) では抑制された。フローサイトメーターにより、カドミウム曝露された細胞はIgE抗体の結合量増加が認められたことから、この低濃度でのヒスタミン遊離の増加にはカドミウムによる抗体結合能への影響が関与している可能性が示唆された。一方、高濃度でのヒスタミン遊離の低下は非免疫刺激でも見られた。

以上のことより、重金属カドミウムの感作時曝露は肥満細胞IgE介在性脱顆粒反応に影響を与える可能性が示唆された。

P7-04 関節腔内注入用ヒアルロン酸製剤の抗原性試験

○佐々木正徳¹、岩田 久²

¹生化学工業(株)中央研究所、²名古屋共立病院リウマチ・人工関節センター

Antigenicity Studies of Intraarticular Hyaluronan Products

○Masanori SASAKI¹, Hisashi IWATA²

¹Central Research Laboratories, Seikagaku Corporation, ²Rheumatology and Joint Replacement Center, Nagoya Kyoritsu Hospital

<緒言>ヒアルロン酸は脊椎動物の結合組織中に普遍的に存在する直鎖の高分子多糖であり、高度に精製されたヒアルロン酸ナトリウム製剤はヒト及び実験動物に抗原性を示さないことが報告されている。一方、近年ヒアルロン酸を化学的に修飾することにより、より強力な生体力学的特性を付与した誘導体が、新規の生分解性バイオマテリアルとして多くの医療分野で使用され始めている。しかしこれら誘導体の抗原性についてはよく知られていない。本研究では、変形性膝関節症治療のための関節腔内注入用製剤として臨床的に使用されている、未修飾及び修飾ヒアルロン酸製剤の抗原性を比較することを目的とした。<方法>ヒアルロン酸ナトリウム (SH) 及びヒアルロン酸ナトリウム誘導体 (HD, Hylan G-F20) を被験物質としてモルモットを用いた皮内反応、ASA、PCA試験を行い、また感作動物血清中の抗SH IgG及び抗HD IgGをELISAにより測定した。さらに、HDについてはマウスラットPCA試験及び血清中抗HD Ig (G+M) 及び抗HD IgEの測定も行った。<結果>モルモット試験においてSH感作群は皮内反応、ASA、PCAいずれの試験も陰性であり、血清中抗SH IgGの出現も認められなかった。一方、HD感作群では上記いずれの試験においても陽性を示し、血清中抗HD IgGの有意な増加が認められた。また、これらの抗HD-モルモット血清はSHと交差反応しなかった。HDはマウスラットPCA試験でも陽性を示し、感作マウス血清中の抗HD Ig (G+M) 及び抗HD IgEの増加も認められた。<結論>これまでの多くの報告と同様、SHはモルモットにおいて抗原性を示さなかった。一方、HDはモルモット及びマウスにおいて明らかな抗原性を示した。ヒアルロン酸関連製剤の抗原性は、未修飾及び修飾物において大きく異なることが示唆された。

P7-05 マウスを用いた医用材料のアレルギー性評価法に関する検討

○五十嵐良明、鹿森 正昭、土屋 利江

国立医薬品食品衛生研究所薬品部

Mouse model for assessing allergenicity of biomaterials

○Yoshiaki IKARASHI, Masa-aki KANIWA, Toshie TSUCHIYA

Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences

医用材料の即時型アレルギー検出法を開発することを目的とした。BALB/c系雌性マウスに試験物質をアジュバントとともに複数回腹腔内投与し、脾臓重量、脾臓リンパ球の増殖反応、脾臓リンパ球のサイトカイン産生能、血清IgE抗体価等を測定した。これらの指標の中では、血清中総IgE抗体価のELISAでの測定が最も有用であった。オボアルブミンやウシ血清アルブミンなどについて試験したところ、溶媒対照群に比べて総IgE抗体価が昇した。コラーゲンペプチドやゼラチンについても高い総IgE抗体価を示すものが見られた。本法では、タンパク質の種類によって陽性反応を引き起こすために必要な投与量、誘導される血清中総IgE抗体価、および高いIgE値を示す動物数の割合に差があることから、それぞれのアレルギー性強度を順位づけられる可能性があった。また、消化経路を通らずに使用される場合には、分解性の良いタンパク質でも感作が成立する可能性があった。Popliteal lymph node assay (PLNA) では、試験物質をマウスの足趾に注射した後、膝窩リンパ節を取り出して重量および細胞数を測定し、溶媒投与側と比べて2倍以上の増加を示したときを陽性と判定した。PLNAは低分子量化学物質について評価が可能であった。医用材料については素材としてのタンパク質および添加物としての化学物質両方について考慮し、材質と試験目的とする物質によって抽出条件を選定するとともに、それに適した適切な試験方法で評価する必要がある。

P7-06 羊赤血球 (SRBC) 免疫ラットにおける抗体産生及び脾臓組織像の経時的变化の検討

○勝田 元子、柴田 誠司、久田 茂、岩村 敏

帝國薬器製薬(株)安全性・代謝研究部

Time-course changes in morphology of the spleen and antibody production in rats after sheep red blood cell (SRBC) -immunization.

○Motoko KATSUTA, Seiji SHIBATA, Shigeru HISADA, Satoshi IWAMURA

Safety and Pharmacokinetics Research Department, Teikoku Hormone Mfg Co Ltd

【目的】SRBCを抗原とする抗体産生能試験では、免疫後6日に抗SRBC IgM抗体価を測定する。SRBC静注による免疫後には、脾臓組織像が抗体産生の推移に伴い変化すると考えられるが、詳細な検討は行われていない。そこで、抗体産生能試験における脾臓組織像の意義を検討する為、SRBC免疫後の特異抗体価及び脾臓組織像の経時的变化を免疫後14日まで検討した。SRBC免疫による免疫グロブリンクラス濃度及び血液学的検査値への影響も併せて検討した。【方法】雄C57BL/6J (SD) IGSラットにSRBCを尾静脈内投与して免疫し、免疫後1, 2, 4, 6, 8, 10及び14日に動物を安楽死し、抗SRBC IgM及びIgG抗体価ならびに免疫グロブリンクラス濃度を測定し、血液学的検査及び脾臓の病理組織学的検査(一般的検査及び領域面積測定)を実施した。【結果及び考察】抗SRBC IgM抗体価は免疫後4日から上昇して6日に最高値を示した。IgG抗体価は免疫後6日から上昇し、そのピークは14日以降と考えられた。脾臓相対重量は免疫後2日に最大となり、その後は漸減した。一方、白脾臓の面積比は免疫後1及び8日にピークがみられた。脾中心数は免疫後4日から増加し、10日以降に減少した。免疫後早期の脾重量及び白脾臓面積の増加は静注したSRBCに対するマクロファージの反応性の増加と白脾臓への浸潤によるものであり、脾中心の増加は抗SRBC IgG抗体価産生に先立つ反応と考えられた。また、血液学的検査値及び免疫グロブリンクラス濃度の変化は認められなかった。【結論】一般にIgM抗体価を測定するSRBC免疫後6日の脾臓は、組織学的にはSRBCを処理するマクロファージの一過性の増加後に、抗IgG抗体産生増加に先立つ脾中心の発達がみられる時期であった。以上より、免疫毒性標的細胞を明らかにする為、脾臓の組織像に意義があると考えられた。

P7-07 モルモット Maximization testにおける Freund's complete adjuvant (FCA) と被験物質の乳化は必要か？

○桑原 孝、下野 和之、田村 工、金田 信也、川口 義郎、梶井 明

(株) 大塚製薬工場

Is emulsification of test substance with Freund's complete adjuvant (FCA) necessary on Guinea-pig Maximization test ?

○Takashi KUWAHARA, Kazuyuki SHIMONO, Takumi TAMURA, Shinya KANEDA, Yoshiro KAWAGUCHI, Akira MOMII

Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.

Maximization test法は、感作性試験法として最も汎用されており、医療用具の製造（輸入）承認申請時に求められる生物学的安全性試験のための「参考資料」（医療機器の生物学的安全性評価のための試験法について）においても第一選択法とされている。しかし、医療用具の感作性試験においては有機溶媒による抽出物が被験物質になる場合が多く、FCAとの油中水型乳化が単純にはできない場合がある。上記「参考資料」においては、乳化できない場合には適量の蒸留水又は生理食塩液を加えてもよいと記載されている。そこで今回、DMSO、オリーブ油、アセトン及びエタノールについて、FCAとの乳化の可否を検討した。1日ではいずれも乳化はできなかったが、注射用水を加えて1:1の比率で攪拌したところ、オリーブ油及びアセトンでは乳化が可能であった。次に、実際にMaximization testにおいて、乳化が混合のみよりも検出力を上げるかを、乳化が可能であったオリーブ油を溶媒とし、イソホロンジイソシアネート（IPDI）及びm-キシレンジイソシアネート（XDI）について比較した。一回目の感作として、FCAと注射用水の乳化液、被験物質単独の皮内投与に加え、乳化群では15%オリーブ油液、FCA、注射用水を1:1:1の割合で乳化したもの（最終濃度5%）を、混合群では10%オリーブ油液とFCAを混合したもの（最終濃度5%）を皮内投与した。二回目の感作、誘発操作は両群で同様に行った。その結果、IPDIについては、乳化群では陽性率9/10、混合群では陽性率6/10であった。XDIについても、乳化群では陽性率10/10、混合群では陽性率9/10であった。いずれの検体の場合も、乳化で陽性率はやや高くなり、検出力が上がる傾向にあった。しかし、混合のみでも陽性結果は得られており、極端に検出力が落ちることはないと考えられた。

P7-08 Effects of Lipophilicity and Viscosity of Solvents on DPM/LN Background Level in Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

○Ludwig ULLMANN

RCC Ltd Toxicology Division

一般試験 (P73-)

In 253 LLNA studies performed at RCC, 11 different solvent systems, most of these recommended by OECD guideline 429, have been used.

As a standard level in the calculation of the S.I., DPM/LN of the control group plays a key role in reliable and correct test results, but the level of DPM/LN can be influenced by many factors. Variety of vehicles used in LLNA is one of the main factors which can effect the background level of DPM/LN. Although some systemic deviations in a LLNA study can be eliminated by using a vehicle control group, further investigation on the background level of DPM/LN is still necessary in different solvent systems. Presented are the results of our investigations into the effect of

different solvents on the DPM/LN control level

the possible range of variation of DPM/LN control level with different solvent systems

interpretation of the solvents effects in DPM/LN background level.

The results have helped to optimize the test.

P7-09 Solvents Effects of Various Ethanol-Water Systems on DPM/LN Background Level in Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

○ Weizheng WANG-FAN

RCC Ltd Safety Assessment Toxicology Division

The LLNA is a stand-alone alternative method for prospectively identifying chemicals with the potential to cause skin sensitization. This method has been successfully applied by many laboratories. As recommended by OECD Guideline No. 429, some vehicles such as acetone:olive oil, DMF, and DMSO, can be used in LLNA studies.

Besides these vehicles, ethanol is another important and useful solvent. With its special physicochemical properties, ethanol is commonly used in chemical, food, cosmetic and pharmaceutical industries.

In this poster our experimental results for the following are presented:

Is there any change of the DPM/LN background levels in different ethanol aqueous systems

What are the differences of the DPM/LN background levels among ethanol aqueous systems, untreated control and bi-distilled water groups.

How can the effects in DPM/LN background levels be interpreted based on solvent physicochemical properties.

P7-10 Assessment of the Developing Immune System

○ Keith ROBINSON, Lorri PINSONNEAULT, Maria ADAMO, Louise POULIOT, Chris BANKS, Lynne LESAUTEUR

CTBR Bio-Research Inc., Canada

Evaluation of the developing immune system may be required for studies in which the pups are potentially exposed to xenobiotics indirectly in utero and / or via the milk, when their dams are dosed, such as pre and post natal studies (ICH-3). Alternatively, these evaluations may be required where the pups are dosed directly in non-clinical pediatric studies. Techniques which have been utilized in our laboratory include a screen of hematology and immuno-histopathology, phenotyping of lymphocyte subsets, natural killer (NK) cell activity and assays for T-cell dependent antibody (TDAR) responses.

Litters of CD-1GS rats, culled to 4 males and 4 females and weaned on day 21 post partum were used. For hematology assays, standard parameters were measured and immuno-histopathology was performed on organs and tissues of the immune system. Phenotyping of lymphocyte subsets was performed using blood, spleen and thymus samples and NK cell activity was measured from spleen samples taken at 9 weeks of age. The T-cell dependent antibody response (TDAR) assay was used to monitor the primary and secondary antibody responses to antigens at several ages.

The assessment of innate and adaptive immune responses is an important component of toxicology testing. It was concluded that a range of assays to evaluate the development of the immune system can successfully be added to rodent reproductive toxicology studies and that consideration should be given to the age (s) of testing.

P7-11 Flow cytometry based assessment of the nonhuman primate immune system: Comparison of cynomolgus monkey and marmoset

○ Werner FRINGS, Gerhard WEINBAUER
Covance Laboratories GmbH, Germany

Nonhuman primates are frequently the animal model of choice for immunotoxicologic evaluation of biologics because of their high protein-homology to humans. Specifically, the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) and the common marmoset (*Callithrix jacchus*) are often used for toxicity studies. We applied immunophenotyping using anti-human antibodies to blood samples from adult and developing cynomolgus monkeys, from adult marmosets and from volunteers. Our results indicate that similar protocols can be used for human and cynomolgus monkey blood, demonstrating a high homology and similar composition of lymphocyte populations for the two species. Monkeys generally exhibited larger inter-species variations and had a slightly modified CD4/CD8 ratio whereas the age-related alteration of the CD4/CD8 ratio in humans also occurred in the cynomolgus monkey. For the marmoset, the immunophenotyping analysis revealed that other antibodies need to be used than for the cynomolgus monkey. The marmoset CD4/CD8 ratio was comparable to that of humans whilst the ratio of T-lymphocytes to B-lymphocytes and NK-cells was slightly different. Natural killer cell (NK) activity was studied in adult cynomolgus monkeys and in infants up to 2 years of age using a flow cytometry based assay kit. Overall, NK activity was comparable for adult and infant animals suggesting early activation of non-specific defense systems. Dexamethasone transiently suppressed NK activity. In conclusion, the cynomolgus monkey and the marmoset appear well suited as models for determination of immunotoxicity by immunophenotyping in preclinical studies.

P7-12 Time-dependent changes in the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats

○ Li-Kun GONG, Xiang-Hong LI, Fang-Ping CHEN, Hui WANG, Yan CAI, Xin-Ming QI, Lin-Lin LIU, Yong-Zhen LIU, Xiong-Fei WU, Ying XIAO, Jin REN

State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, China

Intratracheal administration of bleomycin (BLM) into the lungs of experimental animals has been widely used as a model to study the mechanism of lung fibrosis. To evaluate the inflammation and fibrosis in this model, most studies selected 28 days as an assessment time point. In this study we compared biochemical and morphological data obtained from different time points of BLM-induced pulmonary fibrosis in rats. One hundred male SD rats were divided into saline and BLM groups randomly. Rats were treated with a single intratracheal instillation of saline or BLM. The lung inflammation and fibrosis were evaluated according to specific index in BALF and tissues 3, 7, 14, 21, and 28 days post-BLM or -saline instillation respectively. The inflammation and fibrosis fraction were measured by a LEICA QWin image analysis system. An increase in total cell counts was found in BALF at each time point with a peak at 14 days. The numbers of neutrophils and lymphocytes in BALF were increased simultaneously with the total cell counts. Total protein in BALF reached a peak 7 days post-BLM and declined gradually afterwards. LDH activity in BALF was in high level compared with saline group during the whole experiment period. Lipid peroxidation level in lung tissue reached a peak at 7 days and continued to be high level in the whole periods. However, myeloperoxidase activity in lung tissue was increased at 3, 7, 14, and 21 days except 28 days. Hydroxyproline content in lung tissue was elevated 21 days following BLM instillation and remained the same level until 28 days. Histopathologic analysis showed that the alveolitis was significantly increased from 3 days and peaked at 14 days. The fibrosis fraction measured quantitatively by the QWin image analyzer showed an increase at 14, 21 and 28 days. These data indicated that the earlier time point for evaluating lung fibrosis in this model is probably from 21 days after BLM instillation, because extensive fibrosis and many significant changes have been observed in the earlier stage before 28 days.

Key words: pulmonary fibrosis, quantitative morphometry, bleomycin

● P7-13 腎糸球体障害進展におけるアルドステロンの役割

○西山 成¹、松向寺孝臣¹、永井由紀子²、安部 隆一¹

¹香川大学医学部薬理学講座、²香川大学医学部総合生命科学実験センター

Contribution of aldosterone to the development of glomerular injury.

○Akira NISHIYAMA¹, Takaomi SHOKUJI¹, Yukiko NAGAI², Youichi ABE¹

¹Department of Pharmacology, Kagawa Medical University, ²The Research Equipment Center, Kagawa Medical University

近年、電解質調節因子であるアルドステロンの心血管組織障害作用に注目が集まっている。本実験では、アルドステロンの腎糸球体障害の進展における関与を検討した。実験は、ラットを食塩単独投与群 (1%NaCl飲水) と食塩/アルドステロン投与群 (0.75 μg/hr, SC) に分けて6週間飼育して行い、腎皮質組織中のNAD (P) Hオキシダーゼの必要コンポーネント (p22phox、gp91phox) のmRNA発現、および酸化ストレスマーカーであるTBARSの含有量、さらには蛋白質リン酸化酵素であるMAPキナーゼ (ERK1/2、JNK、p38MAPK、BMK1) の活性を測定した。食塩/アルドステロン投与群では、高血圧・蛋白尿に伴う糸球体の肥大・細胞数の増加・メサンギウム領域の拡大が認められた。また、腎皮質組織中NAD (P) Hオキシダーゼ発現・TBARS含有量は上昇し、p38 MAPK以外のすべてのMAPキナーゼは活性化されていた。食塩/アルドステロン投与群に対して選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬であるエプレレノン (0.125%混飼) あるいは抗酸化剤であるテンボール (3mmol/L飲水) を投与すると、すべてのパラメーターは正常化し、糸球体障害は阻止された。一方、ラット培養メサンギウム細胞においてもミネラルコルチコイド受容体は強く発現しており、アルドステロン (100 μmol/L) の投与は細胞内カルシウム濃度およびERK1/2、BMK1の活性上昇を伴って、³H-Thymidineの取り込みの増加や細胞骨格の変化を生じることが確認された。また、これらすべてのアルドステロンの作用は、エプレレノン (10 μmol/L) により完全に抑制された。

以上の実験結果より、アルドステロンは酸化ストレスおよびMAPキナーゼの活性化を介して糸球体障害に直接関与していることが明らかとなった。

P7-14 フロセミドのラット腎障害性 - 絶水、セファロチン・グリセロール併用の影響 -

○石井俊一郎、大山 直樹、柴田 博、岡田味世子、井上 芳己、杉本 次郎、務台 衛

三菱ウェルファーマ (株) 安全性研究所

Renal Toxicity of Furosemide in Rats -Effects of Water-Deprived Condition or Coadministration of Cefalotin and Glycerol-

○Shun-ichiro ISHII, Naoki OHYAMA, Hiroshi SHIBATA, Miyoko OKADA, Yoshimi INOUE, Jiro SUGIMOTO, Mamoru MUTAI

Toxicology Laboratory, Mitsubishi Pharma Corporation

【目的】高齢者における複合疾患では、多数の薬物が同時に処方される傾向があり、複合要因による副作用の発生に注意が必要である。高血圧や浮腫の治療に適用される利尿薬フロセミドは、体内の水分を強力に排泄するが、その一方で脱水状態を招き、腎機能に影響を与える可能性がある。そこで、ラットを用い、フロセミドの腎臓への影響を給水・絶水条件で比較すると共に、腎障害性が知られる薬物併用時の腎臓への影響を調べた。【方法】給水あるいは絶水 (投与前日-投与翌日) 条件下、フロセミド (ラシックス®注) を10-11週齢C₅₇B₆/CD (SD) IGS系雄ラットに単回皮下投与 (20, 50, 100, 200mg/kg) し、投与翌日の腎臓の機能 (尿量、BUN、CRE等) 及び病理組織変化を検討した。また、給水条件下、フロセミド (20, 50, 100, 200mg/kg) とセファロチン (CET, 2000mg/kg, iv)、グリセロール (Gly, 1g/kg, ip) を併用投与した時の腎臓への影響も調べた。【結果】給水条件下、フロセミドは用量依存的に尿量を増加させたが、100mg/kgまで腎への影響はみられず、200mg/kgでのみBUN、CREの軽度な上昇と近位尿管上皮の変性壊死が認められた。また、絶水条件下のフロセミド投与では、20mg/kgよりBUN、CREの用量依存的な上昇と近位尿管上皮の変性壊死が認められた。一方、フロセミド、CET、Gly併用投与では、フロセミド単投与で影響が無かったのに対し、20mg/kgより近位尿管上皮の変性壊死等の変化が認められた。【結論】フロセミド投与による腎障害性は絶水条件下で増強された。フロセミド、CET、Gly併用投与では、給水条件下で強い腎障害性が認められた。以上より、利尿薬使用に際しては、腎障害を回避するため、水分補給の不足や抗生物質の併用に對する十分な注意が必要と考えられる。

● P7-15 セファロリジン腎障害におけるミトコンドリアでのフリーラジカル産生およびPKC δ の関与

○幸田 祐佳、玄番 宗一

大阪薬科大学薬理学教室

The participation of mitochondrial free radical generation and PKC δ in CER-induced nephrotoxicity

○Yuka KOHDA, Munekazu GEMBA

Division of Pharmacology, Osaka University of Pharmaceutical Sciences

【目的】我々はラットの腎皮質切片を用いて、腎障害にフリーラジカル関与の可能性が高いとされるセファロリジン (CER) による腎細胞障害が、抗酸化剤により軽減されること、およびプロテインキナーゼC (PKC) の活性化薬であるPMAにより増強されることを報告した。今回、CER腎障害における細胞内の活性酸素産生部位としてのミトコンドリアの可能性およびCER腎障害におけるPKC活性化の関与の詳細について検討した。【方法】SD系雄性ラットにCER (1.2 g/kg) を投与後、経時的に腎皮質から調製した細胞内成分におけるPKC活性、発光測定装置を用いて活性酸素産生能 (CLA依存性化学発光)、およびウエスタンブロット法によるPKC δ 量を測定した。また、腎障害の指標には、血漿尿素窒素 (BUN) と血漿クレアチニン値を測定した。【結果】CER投与24時間後においてBUNおよび血漿クレアチニン値の増大がみられたが、PKC阻害薬であるH-7を投与することにより、このような腎障害像は軽減した。CER投与後、腎障害像に先立って、ミトコンドリアでの活性酸素の産生増大がみられた。H-7はCERによる活性酸素の産生増大を抑制した。CER投与後、早期に腎皮質の細胞質におけるPKC活性が減少し、ミトコンドリアのPKC活性が増大した。CER投与1時間半および3時間半後に腎皮質のミトコンドリアにおいてPKC δ の増大がみられた。【考察】PKC阻害薬であるH-7が、CER投与による腎障害を軽減したことに加えて、CERによる腎皮質ミトコンドリアでの活性酸素産生の増大を抑制したことから、ミトコンドリアでのPKC δ 活性化を介した活性酸素産生の増大が、CER腎障害に関与する可能性が考えられる。

● P7-16 腎虚血再灌流障害の発症・進展過程における一酸化窒素の役割について

○中島 淳志、高岡 昌徳、吉見 佳子、松村 靖夫

大阪薬科大学 病態分子薬理学研究室

Role of nitric oxide in the development and progression of renal ischemia reperfusion injury in rats.

○Atsushi NAKAJIMA, Masanori TAKAOKA, Yoshiko YOSHIMI, Yasuo MATSUMURA

Department of Pharmacology, Osaka University of Pharmaceutical Sciences

【目的】虚血再灌流後の臓器障害に一酸化窒素 (NO) が関与していることはよく知られている。以前当研究室では、自発的NO発生薬であるFK409の前処置により腎虚血再灌流障害が改善されるのに対し、NO合成酵素阻害薬であるL-NAMEの前処置では、この障害が悪化されることを明らかにした。しかし虚血再灌流後の腎障害の一因にNOが関与するという報告もあることから、今回は、本病態の発症・進展過程におけるNOの役割を明らかにする目的で、FK409およびL-NAMEの後処置の効果について検討を加えた。【方法】実験動物として、8週齢のSD系雄性ラットを用いた。右腎摘除2週間後、麻酔下において左腎動脈の血流を45分間遮断した後再灌流を行い、虚血性急性腎不全モデルを作製した。FK409およびL-NAMEは静脈内に投与し、虚血5分前に投与したものを前処置、再灌流6時間後に投与したものを後処置とした。また浴槽を投与した群を対照群、右腎摘除のみを施した群をsham群とした。再灌流24時間後から5時間採尿を行い、採尿終了後、採血および左腎の摘出を行った。得られた血液および尿から腎機能パラメーターを測定し、また摘出した腎臓から病理組織標本作製した。【結果・考察】虚血再灌流24時間後の対照群ではsham群と比較して、顕著な腎機能の低下がみられた。これら対照群でみられた腎機能の低下は、FK409の後処置により増悪したが、L-NAMEの後処置では改善した。また再灌流24時間後の腎病理組織標本を観察したところ、FK409後処置でみられた組織障害は対照群のものよりも重度であったのに対し、L-NAMEの後処置では軽度であった。以上の結果より、NOは腎虚血再灌流障害の発症には防衛的に作用しているのに対して、進展過程では障害因子として働いていることが示唆された。

P7-17 II型糖尿病発症前の一時的なアンジオテンシンII阻害は腎症の進展を永続的に抑制する

永井由紀子¹, 安部 陽一², 松向寺孝臣², 〇西山 成²

¹香川大学医学部総合生命科学実験センター, ²香川大学医学部薬理学

Temporary angiotensin II blockade at the prediabetic stage attenuates the development of type II diabetic nephropathy

Yukiko NAGAI¹, Youichi ABE², Takaomi SHOKKOJI², 〇Akira NISHIYAMA²

¹The Research Equipment Center, Kagawa Medical University, ²Department of Pharmacology, Kagawa Medical University

高血圧発症前の一定期間にアンジオテンシンII (AngII) を阻害すると、高血圧症及びそれに伴う腎症の進展が持続的に抑制されることが示されている。本実験では、高血圧を合併するII型糖尿病 (OLETF) ラットでも同様の結果が得られるかについて検討を行った。4週齢LETOラットを対象とし、OLETFラットを標準飼料、AT₁受容体拮抗薬 (オルメサルタン; 0.01% 混餌)、ACE阻害薬 (テモカプリル; 0.01% 混餌)、これらの併用 (それぞれ0.01% 混餌)、ヒドララジン (25mg/kg/day 飲水) を糖尿病発症前の一定期間 (4-10週齢) のみに投与し、最終的に50週齢まで飼育した。OLETFラットではLETOラットと比較して血糖・血圧の上昇及び重篤な蛋白尿を生じた。また、OLETFラットでは腎組織中AngII含有量と腎皮質中コラーゲン産生の上昇を伴う重篤な腎障害を認めた。さらに、OLETFラットの腎皮質中NAD (P) H oxidaseの殻必須コンポーネント (p22phox・gp91phox) のmRNA発現と各種酸化ストレスマーカー (TBARS) も上昇していた。オルメサルタン、テモカプリルおよび両者を一時的に投与した群は、無処置群と同程度の血糖と血圧を示したが、蛋白尿とコラーゲン量は減少して腎障害は抑制されていた。これに対し、非選択的血管拡張薬であるヒドララジンを一過性に投与した群では、すべての値に変化は認められなかった。また、腎組織中AngII、p22phox・gp91phox発現とTBARSはこれらいずれの薬剤によっても影響を受けなかった。以上、OLETFラットに対してAngIIの阻害を糖尿病発症前の一定期間のみに投与すると、腎症の進展が持続的に抑制されることが示された。II型糖尿病発症前のこれら薬剤の積極治療により、腎症進展を永続的に抑制できる可能性が示唆された。

P7-18 Nefiracetamによるイヌ腎乳頭壊死での尿中蛋白解析とmRNA測定

〇土屋 由美¹, 富永 有史², 松林 久一², 神藤 敏正¹, 古瀬 和久¹, 鈴木 和夫³

¹第一製薬(株)安全性研究所, ²第一製薬(株)研究技術センター, ³千葉大学薬学部 衛生化学研究室

Urinary protein analysis and mRNA expression for renal papillary necrosis induced by nefiracetam in dogs

〇Yoshimi TSUCHIYA¹, Yuri TOMINAGA², Kyuichi MATSUBAYASI², Toshimasa JINDO¹, Kazuhisa FURUHAMA¹, Suzuki KAZUO T.³

¹Drug Safety Research Laboratory, Daiichi pharmaceutical Co. Ltd., ²Research Technology Center, Daiichi Pharmaceutical Co. Ltd.,

³Department of Toxicology and Environmental Health, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

【目的】 Neurotransmission enhancerであるnefiracetamの高用量をイヌに経口反復投与すると、5週目に尿浸透圧低下が、8週目に尿中LDH上昇と腎乳頭部尿細管の壊死が認められた。そこで、経時的に採取した尿と腎組織 (皮質、髓質および乳頭部) を用い、バイオマーカーとなり得る蛋白が存在するかが検討した。【方法】 実験には6-7ヶ月齢の雄ビーグル (6.9-9.9kg, n=4) を用い、nefiracetamの300mg/kg/dayを8-11週間経口投与した。投与開始前、投与後5, 8および11週に尿 (16時間) を氷冷下で採取するとともに、8および11週に動物を屠殺して腎を摘出した。尿は脱塩・濃縮後SDS-PAGEを行い、投与前と比較して変動が見られた18本のバンドを切り出し、トリプシンでゲル内消化後、LC/MS/MS解析およびDB解析を行った。また、検出した蛋白につき、腎組織中mRNA発現量をreal time RT-PCR法で定量的に調べた。【結果および考察】 5あるいは11週目に増加していたバンドから、それぞれclusterin (glycoprotein 80) およびkallikreinが検出された。mRNA解析では、clusterin mRNAの増加傾向が見られた。Kallikreinでは個体差が大きいものの、腎乳頭壊死の発現と関連した増加傾向が見られた。Clusterinは細胞膜の保護および再生、アポトーシスなどに関連するといわれ、kallikreinは血管拡張と関連することから、これら蛋白の変動が腎乳頭壊死発現に関与している可能性がある。次に、尿中酵素の中で最も感度が高かったLDHと比較すると、尿中clusterinの増加がやや早期に見られた。以上、尿中で変動の見られた蛋白が腎mRNAレベルでも変動している可能性が示された。

● P7-19 SOD阻害薬Diethyldithio-carbamic acid (DETC) のラット腎交感神経活動への影響

○松向孝臣¹、西山 成¹、永井由紀子²、安部 隆一¹

¹香川大学 医学部 薬理学、²香川大学 総合生命科学実験センター

Effect of superoxide dismutase inhibitor Diethyldithio-carbamic acid on renal sympathetic nerve activity in anesthetized rats.

○Takatomi SHOKOJI¹、Akira NISHIYAMA¹、Yukiko NAGAI²、Youichi ABE¹

¹Department of Pharmacology, Kagawa University, ²Life Science Research Center, Kagawa University

【目的】高血圧症など多くの心血管系病態に酸化ストレスが関わっていることが示唆されている。本研究では、酸化ストレスと交感神経系との関わりを明らかにする目的で、Wistar-Kyoto rats (WKY) ラットと高血圧自然発症ラット (SHR) におけるSOD inhibitorであるDiethyldithio-carbamic acid (DETC) の腎交感神経に対する影響を検討した。【方法】WKYおよび、SHRにおける大動脈血管壁からの活性酸素遊離の測定には、lucigenin chemiluminescence法を使用した。ペントバルビタール (50mg/kg, ip) 麻酔下のラットを用いて、腎交感神経活動を測定した。DETCをそれぞれ3-30mg/mlで静脈内投与し、血圧 (MAP)、心拍数 (HR)、腎交感神経活動 (RSNA) を記録した。【成績】ラット大動脈血管壁における検討からDETCはWKY, SHRともに2倍以上の活性酸素産生増加をみた。WKYラットにおいて、DETC (30mg/kg, i.v) は、MAPを102±4mmHgから122±5mmHgにまで増加させ、HRも292±9 beats/minから329±13 beats/minにまで増加させた。SHRでは、DETCはMAPを155±6mmHgから178±7mmHgにまで、HRを380±2 beats/minから408±7 beats/minにまで増加させた。しかし、グループ間で比較しても変化率に有意な差はなかった。【結論】本研究により、麻酔下のラットに対してDETCが活性酸素とRSNAを増加させ、昇圧作用を示すことが明らかになった。このように、活性酸素の産生が交感神経活動の活性化を通して高血圧の進展に関与している可能性が示唆される。

● P7-20 中性アミノ酸トランスポーターLAT1 結合タンパク質によるヒト膀胱癌由来T24細胞のアミノ酸輸送活性調節

○ジャパンモハマド、金井 好亮、チャイロングデュアルテット、坂本 信一、ラフィクル イスラム、安西 尚彦、遠藤 仁

香川大学医学部薬理学

Modulatory effects of membrane proteins interacting with essential large neutral amino acids transporter LAT1, on amino acid uptake in bladder transitional cell carcinoma line, T24.

○Mohammad JAVAN, Yoshikatsu KANAI, Arthit CHAIROUNGDU, Shinichi SAKAMOTO, Islam RAFIQU, Naohiko ANZAI, Hitoshi ENDOU

Department of Pharmacology and Toxicology

Inhibition of amino acids transporter LAT1 using BCH, suppresses tumor growth. Monoclonal antibody for LAT1 recognizes LAT1 in some cancer cells but not in some others, while they express LAT1. In these cells, LAT1 is probably covered by other membrane proteins. We tried to investigate LAT1 interacting proteins in cell membrane of T24 cells and find out the functional effects of interacting proteins. A combination of immunoprecipitation using LAT1 Ab, western blot, 2-D gel electrophoresis, and mass spectrophotometry, cross linking and amino acid uptake studies were used. Our results showed that other proteins, like beta integrins and ICAM1, interfere with LAT1. Leucine uptake was increased by Mn²⁺ and Collagen and inhibited by EDTA which suggested regulatory effect of integrins. ICAM1 cross-linking modulated LAT1 function. It seems that these effects are mediated by signaling pathways downstream to these membrane proteins.

P7-21 ラット初代培養肝細胞を用いたマトリゲルサンドイッチ培養法による毒性評価法①(短期曝露)

○川村 祐司^{1, 2)}, 今井 聖子^{1, 3)}, 小関 直輝^{2, 4)}, 田中 仁^{3, 5)}, 出倉絵里葉^{4, 6)}, 長井 大地^{5, 7)}, 南谷賢一郎^{6, 8)}, 平澤 由貴^{7, 9)}, 鳥塚 尚樹^{8, 10)}, 小平 輝明^{9, 11)}, 佐藤 哲男^{10, 11)}

¹⁾明治製菓(株), ²⁾大日本製薬(株), ³⁾(財)安評センター, ⁴⁾田辺製薬(株), ⁵⁾日本化薬(株), ⁶⁾協和発酵工業(株), ⁷⁾(株)イナリサーチ, ⁸⁾エーザイ(株), ⁹⁾旭化成ファーマ(株), ¹⁰⁾NPO-HAB 研究機構付属研究所, ¹¹⁾安全性評価研究会

Assessment of in vitro hepatotoxicity using rat primary hepatocytes cultured in a Matrigel-sandwich system ① (short-term treatment)

○Yuji KAWAMURA^{1, 2)}, Masako IMAI^{1, 3)}, Naoteru KOSEKI^{2, 4)}, Jin TANAKA^{3, 5)}, Eriha DEKURA^{4, 6)}, Daichi NAGAI^{5, 7)}, Kenichiro NANYA^{6, 8)}, Yoshitaka HIRASAWA^{7, 9)}, Naoki TORITSUKA^{8, 10)}, Terutomo KOHIRA^{9, 11)}, Tetsuo SATOH^{10, 11)}

¹⁾MEIJI SEIKA KAISHA LTD., ²⁾Danippon Pharmaceutical Co. LTD., ³⁾An-ryo Center, ⁴⁾Tanabe Seiyaku Co. LTD., ⁵⁾Nippon Kayaku Co. LTD., ⁶⁾Kyowa Hakkō Kogyo Co. LTD., ⁷⁾Ina Research, ⁸⁾Eisai Co. LTD., ⁹⁾Asahi Kasei Pharmaceutical Co. LTD., ¹⁰⁾Biomedical Research Institute, NPO-HAB Research Organization, ¹¹⁾Anzensei Hyoka Kenkyukai

【目的】初代培養肝細胞を用いた毒性評価は、培養条件または研究施設により結果に大きな差がでる場合がある。そこで、簡便かつ肝細胞機能を維持したマトリゲルサンドイッチ培養法を用いて、代表的な肝毒性薬物を評価し、施設間の比較を行った。同時に従来の単層コラーゲン培養法との比較も行った。【方法】各施設で単離したラット肝細胞を、10%FBSを含むD-MEM培養液で24wellコラーゲンプレートに接着させた後、マトリゲル含有または不含のWE培養液を用いて無血清条件下で培養した。24時間または48時間の前培養後、薬物を24時間曝露し、上清中のLDH、GOT及びアルブミン(ELISA)を測定し、毒性を評価した。薬物はジクロフェナクNa(DCF)、マイトマイシンC、メトトレキサート(MTX)、3-メチルコラントレン、ジエチルヘキシルフタレート、クマリン、アセトアミノフェン(AAP)、イミプラミン、アミオダロン、クロロプロマジン及びイソニアジドを用いた。【結果・考察】1) DCFは全施設で評価したが、毒性結果に施設間の顕著な差は見られなかった。2) マトリゲルサンドイッチ培養法では、単層コラーゲン培養法と比較して、MTX及びAAPの毒性がやや強い傾向が見られ、代謝活性化能を維持していることが観察された。その他の薬物では培養法による毒性の差はほとんど見られなかった。3) アルブミン合成能は、LDH及びGOTが逸脱しない低濃度でも低下し、肝機能を評価するための鋭敏な毒性マーカーとして有用であると考えられた。【結論】マトリゲルサンドイッチ培養法による毒性評価は、従来の単層培養法と同等、あるいはそれ以上の毒性検出力を示し、実用的な毒性評価法であることが示された。本培養法は、肝細胞機能を維持した長期培養が可能であるのが知られていることから、さらなる有用性を示すため長期曝露による毒性評価を検討することにした。

P7-22 ラット初代培養肝細胞を用いたマトリゲルサンドイッチ培養法による毒性評価法②(長期曝露)

○出倉絵里葉^{1, 2)}, 川村 祐司^{2, 3)}, 今井 聖子^{2, 4)}, 小関 直輝^{3, 5)}, 田中 仁^{4, 6)}, 長井 大地^{5, 7)}, 南谷賢一郎^{6, 8)}, 平澤 由貴^{7, 9)}, 鳥塚 尚樹^{8, 10)}, 小平 輝明^{9, 11)}, 佐藤 哲男^{10, 11)}

¹⁾田辺製薬(株), ²⁾明治製菓(株), ³⁾大日本製薬(株), ⁴⁾(財)食品医薬品安全性評価センター, ⁵⁾日本化薬(株), ⁶⁾協和発酵工業(株), ⁷⁾(株)イナリサーチ, ⁸⁾エーザイ(株), ⁹⁾旭化成ファーマ(株), ¹⁰⁾NPO-HAB 研究機構付属研究所, ¹¹⁾安全性評価研究会

Assessment of in vitro hepatotoxicity using rat primary hepatocytes cultured in a Matrigel-sandwich system ② (long-term treatment)

○Eriha DEKURA^{1, 2)}, Yuji KAWAMURA^{2, 3)}, Masako IMAI^{2, 4)}, Naoteru KOSEKI^{2, 5)}, Jin TANAKA^{4, 6)}, Daichi NAGAI^{5, 7)}, Kenichiro NANYA^{6, 8)}, Yoshitaka HIRASAWA^{7, 9)}, Naoki TORITSUKA^{8, 10)}, Terutomo KOHIRA^{9, 11)}, Tetsuo SATOH^{10, 11)}

¹⁾Tanabe Seiyaku Co. LTD., ²⁾Meiji Seika Kaisha LTD., ³⁾Danippon Pharmaceutical Co. LTD., ⁴⁾An-ryo Center, Nippon Kayaku Co. LTD., ⁵⁾Nippon Kayaku Co. LTD., ⁶⁾Kyowa Hakkō Kogyo Co. LTD., ⁷⁾Ina Research, ⁸⁾Eisai Co. LTD., ⁹⁾Asahi Kasei Pharmaceutical Co. LTD., ¹⁰⁾Biomedical Research Institute, NPO-HAB Research Organization, ¹¹⁾Anzensei Hyoka Kenkyukai

【目的】初代培養肝細胞は細胞機能の消失が速く、従来は短期曝露で毒性評価を行ってきた。しかし短期曝露で毒性を評価する場合、高濃度が必要とされ、生体での状態と大きく乖離する場合が多い。そこで今回、肝細胞機能を簡便に長期間維持できるマトリゲルサンドイッチ培養法を用い、代表的な肝毒性薬物を長期曝露した際の毒性を評価した。【方法】ラット肝細胞を、10%FBSを含むD-MEM培養液で24wellコラーゲンプレートに接着させた後、マトリゲル含有のWE培養液を用いて無血清条件下でサンドイッチ培養した。薬物曝露は96時間の前培養後から開始し、以後24時間毎に240時間まで連続的な曝露を行った。24、120、240時間曝露の時点での毒性を、WST-1還元能および上清中のLDH、GOT、アルブミンを測定することにより評価した。薬物はジクロフェナクNa、メトトレキサート、3-メチルコラントレン、アセトアミノフェン、イミプラミン、アミオダロン、クロロプロマジン及びイソニアジドについて評価した。【結果・考察】薬物によってその毒性は異なるものの、以下のような共通の傾向が確認された。1) LDHおよびGOT漏出量は、曝露120時間後までに著明な増加を示した後は対照群よりも低値を示す場合が多く、毒性によるこれらの酵素の枯渇が反映されたものと考えられた。2) アルブミン合成能およびWST-1還元能は、曝露期間および濃度に依存した減少が認められ、短期曝露では毒性の見られない低濃度においても細胞機能の低下が検出された。【結論】マトリゲルサンドイッチ培養法を用いることで、長期曝露による肝細胞毒性を評価できた。本法は短期毒性に加え、経時的に進行する長期的な毒性も評価できることで、生体で慢性的に進行する肝毒性の評価や肝毒性発現メカニズム検証の試験薬として、既存の単層培養法よりも優れた有用性を持つものと考えられた。

P7-23 各種細胞を用いた細胞毒性試験とLD50値との相関

○小平 輝明^{1,6}、伊藤 雅仁^{2,6}、岩井 久和^{3,6}、池田 朋子^{4,6}、齋藤 昌隆^{4,6}、佐藤 哲男^{5,6}

¹旭化成ファーマ(株)開発研究所、²田辺製薬(株)、³(株)三和化学研究所、⁴セリア新薬工業(株)、⁵NPD-HAB研究機構付属産長研
機研研究所、⁶安全性評価研究会

The correlation between cytotoxicity test and LD50 value in various cell lines.

○Terutomo KOHIRA^{1,6}、Masahito ITOH^{2,6}、Hisakazu IWAI^{3,6}、Tomoko IKEDA^{4,6}、
Masataka WASHIZUKA^{4,6}、Tetsuo SATOH^{5,6}

¹Asahi Kasei Pharma Corporation Lab. For Safety Assessment & ADME、²Tanabe Seiyaku Co., Ltd.、³Sanwa Kagaku Kenkyusho Co.,
Ltd.、⁴SERIA Pharmaceutical Co., Ltd.、⁵Biomedical Research Institute, NPD-HAB Research Organization、⁶Anzensei Hyoka Kenkyukai

【目的】細胞毒性試験は医薬品開発の探索において有効な化合物選択試験である。しかし、使用細胞株・試験方法等は施設により異なり結果の判断の妥当性に問題がある場合もある。Evans¹らは、げっ歯類の静脈内投与或いは腹腔内投与時のLD50値とCHO細胞を用いた毒性試験のIC35と相関性が高いことを示した。そこで我々は、CHO細胞を用いた細胞毒性試験の施設間比較を含む相関及び細胞毒性試験に汎用される他の株細胞における相関を検討した。方法:細胞は、CHO-K1、CHL/U、HL60、Balb/C 3T3、HCT116、H4IIE、HepG2及びLLC-PK1を用いた。6000cells/wellで96wellプレートに播き込み24時間前培養を行った。23種の被験物質を添加し24時間反応させた。細胞生存率は、AlamarBlueにより検出した。IC35の算出はPrismを用い、生存率20%から80%の間のできる限り3点を含む用量反応曲線を実施した。結果:CHO細胞の結果は施設間で差は認められず、文献値とも一致し再現性が高いことが明らかとなった。またHL60、Balb/C3T3及びHCT116では、CHOの結果及び、*in vivo*のLD50値とも良い相関が認められた。一方HepG2及びLLC-PK1等では得られるIC35値の幅が狭く*in vivo*のLD50値との相関性は低かった。結論:CHO細胞を用いた細胞毒性試験は施設間で安定した結果が得られ、またLD50とIC35との相関性も確認された。その他の細胞では、HL60、Balb/C3T3及びHCT116でLD50との相関性がみられ、LD50を予測する為の細胞毒性試験では、反応域の広い細胞の選択が必要であると考えられた。参考文献:S.M. Evans, A.Casartelli, et al., 2001, Toxicol. In Vitro, 15, 579-584

P7-24 初代培養系を用いた肝細胞毒性スクリーニング系の検討

○吉川 理恵、福島 民雄、山本 利恵、堀井 郁夫

ファイザー(株)中央研究所 安全性研究統括部

Investigation of the Hepato-Toxicity Screening system in primary cell culture

○Rie KIKKAWA, Tamio FUKUSHIMA, Toshinori YAMAMOTO, Ikuo HORII

Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc., Aichi, Japan

一般薬部(157-7)

【目的】近年医薬品開発における安全性評価は、創薬早期に多種類の化合物を短期間に評価することが求められており、*in vivo*の毒性を反映する*in vitro*スクリーニング系の確立が必要とされている。*in vitro*での細胞障害性の検出にはミトコンドリア呼吸能、LDH漏出量、ATP抑制量の測定などの報告がある。今回、医薬品開発において問題視される肝毒性を標的とし、肝細胞における毒作用のスクリーニング系確立のための細胞毒性検出を目的として、LDH漏出量およびミトコンドリア呼吸能の測定(WST-1 reduction assay)について検討を行なった。【方法】4-6週齢の雄のC57BL/6J(6SD) IGSラットより、肝細胞をコラーゲンゼラチン法にて採取し、コラーゲンコート処理96穴マイクロプレートに播種した。3時間の前培養後に肝毒性を惹起することで知られている各種化合物(アセトアミノフェン、アミオダロン、テトラサイクリン、四塩化炭素)に暴露し、3、6、24時間後にミトコンドリア呼吸能および培地へのLDH漏出量の測定を行なった。【結果】LDHの漏出量は、化合物暴露後3および6時間では化合物暴露群と陰性コントロール群に大きな差は認められなかったが、化合物暴露後24時間において用量依存性に上昇が認められた。一方、ミトコンドリア呼吸能は、化合物暴露後3時間から用量依存性に低下が認められた。【結論】LDH漏出量は細胞膜の破壊を起している段階での検出であるのに対しミトコンドリアの呼吸能低下は細胞機能に発現している早期の毒性を検出しているために、より短い暴露時間で変化が認められたと考えられる。細胞機能毒性検出の指標としてミトコンドリア呼吸能を用いることは*in vitro*スクリーニング系の確立に有用であると考えられる。現在、他のトキシコゲノミクス関連のバイオマーカーについても検索中である。

● P7-25 ERストレス性アポトーシスの発現に対する Caspase-9 の関与

○加藤 秀規, 中川 博史, 松尾 三郎

大阪府立大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻毒理学研究室

Is there caspase-9 activation in causing ER stress-induced apoptosis?

○Hidenori KATOU, Hiroshi NAKAGAWA, Saburo MATSUO

Osaka Prefecture University, Graduate School of Agriculture and Biological Sciences, Laboratory of Toxicology

【目的】異常蛋白の合成はERストレスとなりUPRを誘導する。しかし、ERストレスの増加はアポトーシスを誘導する。このERストレス性アポトーシスにはCaspase-12が必須と言われているが、そのシグナリング経路はほとんどわかっておらず、Caspase-9の関与についても相反する意見がある。本研究では、2種類のERストレス誘導剤を用いてERストレス性アポトーシスのシグナリング経路を調べた。【方法】PC-12細胞を用い、2種類のERストレス誘導剤thapsigargin (TG)、tunicamycin (TM) 処置後12、18、24、30、36、48時間に生存率の測定とCaspase-3およびCaspase-9活性の測定をそれぞれ行った。又、Caspase-9の関与を調べるために、Caspase-9阻害剤を2時間前処置しERストレス誘導剤処置後24、30、48時間に同様の観察を行った。【結果】TG処置群では処置後18時間から生存率の低下とCaspase-3、Caspase-9の活性化が見られた。TM処置群では18時間でCaspase-3の活性化が見られ、24時間から生存率が低下した。処置後18時間ではCaspase-3の活性化にCaspase-9は関与していなかった。Caspase-9阻害剤を前処置した場合、TG処置群では、生存率の大幅な回復とCaspase-3活性化抑制が見られた。TM処置群でも、生存率の回復とCaspase-3活性化抑制が見られたが、TG処置群に比べるとはるかに軽度なものであった。【結論】ERストレスが誘導するアポトーシス経路には、TGが誘導するCaspase-9に依存した経路とTMが誘導するCaspase-9に独立した経路の2つの経路が存在すると示唆された。又、このアポトーシス経路におけるCaspase-12の役割についてはさらなる研究が必要である。

P7-26 Induction of in vitro metabolism - species comparison

Hans-Eric WOLLNY

RCC Cytotest Cell Research GmbH

Rifampicin and St. John's wort were used to induce CYP 3A4 in hepatocytes.

Cryopreserved inducible human and primary rat hepatocytes were cultivated in 6-well plates. Each well contained a gelatinised plastic cover slip. After incubation the medium was removed and washed, followed by a second incubation. The medium was replaced with that containing rifampicin and St. John's wort and incubated. The medium was then removed, replaced with the same and reincubated. Cold buffered saline was added to each well, cells were harvested transferred to medium, placed on ice and centrifuged. Supernatant was collected, microsome pellets resuspended and protein concentration determined. Enzymatic activity of CYP 3A4 was measured. Relevant induction of CYP 3A4 was determined in the microsomes of both species human and rat, following treatment with Rifampicin and St. John's wort.

P7-27 Genetic Toxicology - Comparative evaluation of data from compounds tested in both - Chromosome Aberration Test and Mouse-Lymphoma Rest in vitro

Albrecht POTH

RCC Cytotest Cell Research GmbH

For regulatory purposes, testing for genotoxicity of compounds in mammalian cells *in vitro* is mandatory. Until late, the chromosome aberration test *in vitro* (CA) has been the common test giving information on the clastogenic potential of the test substance. New strategies exist which prefer the Mouse-Lymphoma Test (MLTK) as the more adequate test system in mammalian cells *in vitro* due to the possibility to detect gene mutations and chromosome breakage in parallel. It is well known that about 25% of the test substances investigated in the CA were found positive, therefore, the MLTK is proposed to be less sensitive. We have performed genotoxicity studies with 32 compounds, 21 agrochemicals and 11 industrial chemicals, with both test systems following the current international guidelines. Based on our results, it has to be concluded that the MLTK is the less sensitive mammalian test system for genotoxicity testing *in vitro*.

🌸 P7-28 注射針を用いた骨髓細胞数の簡便測定法の毒性評価への応用

松本 清司¹, ○斎藤 敬樹², 劉 芳¹, 藤井 哲夫², 石川 孝之², 北條 隆男²

¹信州大学, ²(財)日本生物科学研究所

Application of a simple method for measuring nucleated marrow cell counts using a needle to evaluation of toxicity

Kiyoshi MITSUMOTO¹, ○Toshiki SAITOH², Fang LIU¹, Tetsuo FUJII², Takayuki ISHIKAWA², Takao HOJO²

¹Shinshu University, ²Neon Institute for Biological Science

一般演題 (ポスター)

安全性試験、特に血液・骨髄毒性や免疫毒性の評価において、骨髄細胞数は重要なパラメーターの一つである。我々は従来の骨髄細胞数測定法（メランジュール法など）に比べ、簡便かつ短時間で正確に骨髄細胞数が測定できる方法を開発した。その方法の概略とそれを用いた実験成績について報告する。

ラットから大腿骨を摘出後大腿骨頭の一部を切断し、予め18Gの注射針の重量を測定後、この注射針をシリンジに取り付け針を大腿骨内へ挿入した。骨髄液を針内に吸引した後、針の重量を測定し、この重量差を骨髄量とした。再度、針をシリンジに取り付け緩衝生理食塩液中で吸引排出を繰り返して細胞浮遊液とし、自動血球計数器で細胞数を測定した。この方法を用い、SD、BN、MESラット（体重範囲:53～418 g）における左右大腿骨の骨髄細胞数の差、および4～10週齢の正常SDラットの骨髄細胞数を調べた。また、G-CSF（0、2および6 U/kg/day）をラットに4日間皮下投与し、骨髄への影響の評価における本法の有用性を検討した。

SD、BN、MESラットにおいて左右大腿骨の骨髄細胞数にほとんど差はなく、SDラットの4、5、6、10週齢における骨髄細胞数はそれぞれ雄で2.72、2.39、2.26、1.96、雌で2.34、2.04、2.15、1.72（ $\times 10^6$ 個/mg骨髄）であった。G-CSF投与の結果、骨髄細胞数は微増したが有意差はみられなかった。骨髄塗抹細胞検査により、G-CSF投与群で好中球（分葉核および桿状核）の増加が認められ、細胞の構成比の変化が確認された。以上のように、本法は体重が約60g以上の動物であれば適用可能であること、左右大腿骨間の骨髄細胞数に差はないことが示された。G-CSF投与実験から、本法と骨髄塗抹細胞検査と併用することで骨髄毒性に関する有用な情報が得られることが明らかとなった。

P7-29 BriHan: WIST@Jcl (GALAS) に見られた自然発生侏儒症ラットの臨床病理学的特徴

○豊田 直人¹、並木 正人¹、芦名美智子¹、土居 卓也¹、土谷 稔¹、高野 克代¹、大江みどり¹、小林 厚子¹、田中 美帆¹、中島 幸博²、那須 昌弘²

¹(株)三菱化学安全科学研究所、²(株)パナファーム・ラボラトリーズ

Clinical pathological characteristics of a spontaneous dwarf mutation in BriHan: WIST@Jcl (GALAS) rat

○Naoto TOYOTA¹、Masato NAMIKI¹、Michiko ASHINA¹、Takuya DOI¹、Minoru TSUCHITANI¹、Katsuyo TAKANO¹、Midori OOE¹、Atsuko KOBAYASHI¹、Miho TANAKA¹、Yukihiro NAKASHIMA²、Masahiro NASU²

¹Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.、²Panapharm Laboratories Co. Ltd.

【目的】我々は、BriHan: WIST@Jcl (GALAS) ラットの交配によって、極端に体型の小さい雄2例を発見し、これを兄妹交配で維持している。この症例は、Csk: Wistar-Imamichi ラットで発見された *rdw* ラットと類似しており、遺伝的な甲状腺機能不全を発症する侏儒症ラットであると思われる。この動物の同定および特徴を明らかにするために臨床病理学的所見を収集したので報告する。

【方法】8から49週齢のBriHan: WIST@Jcl (GALAS) 侏儒症ラット、正常な同腹子ラットおよび新たに入荷したBriHan: WIST@Jcl (GALAS) あるいは同系統のラットを用いて、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査および血中ホルモン測定を実施した。また、病理組織学的検査についても実施した。

【結果】BriHan: WIST@Jcl (GALAS) 侏儒症ラットの臨床病理学的な特徴を示す。RBC、Hgb、Hetは低値を示したが、網赤血球に変化はなかった。また、PLTも低値傾向を示した。PTの延長傾向がみられたが、APTTおよびFbgに変化はなかった。AST、ALT、ALP、 γ -GTおよびUNが高値を示した。また、ナトリウムも高値を示す傾向があった。TSHは高値、T3およびT4は低値、GH、PRLも低値を示した。甲状腺には、特徴的な病理組織変化が認められた(20th JSTP、神戸)。

【結論】我々が発見した侏儒症ラットは、Wistar-Imamichi系の *rdw* ラットと特徴が類似していた。また、外因系凝固因子に対する影響も示唆された。しかし、コレステロールの高値および血糖の低値は確認できなかった。今回確認された変化は、甲状腺機能不全に関連する変化と考えられたが、より詳細な調査が必要と思われる。

P7-30 クマネズミにおけるワルファリン抵抗性機構の解明

○岡崎 史絵¹、谷川 力²、石塚真由美¹、数坂 昭夫¹、藤田 正一¹

¹北海道大学大学院獣医学研究科、²イカリ酒造(株)技術研究所

Differences of warfarin hydroxylation and vitamin K epoxide reduction between warfarin resistant and sensitive rats (*Rattus rattus*)

○Fumie OKAJIMA¹、Tsutomu TANIKAWA²、Mayumi ISHIZUKA¹、Akio KAZUSAKA¹、Shoichi FUJITA¹

¹Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University、²Ikan Co.

ワルファリンは、ビタミンK依存性の凝固因子である第II、VII、IX、X因子の産生を抑制し、抗凝結作用を有することから、抗血栓療法的基本的薬剤や、殺鼠剤の主成分として用いられている。ワルファリンは、ビタミンKのリサイクルに重要なビタミンKエポキシド還元酵素を阻害することで、その効果を発揮する。最近、このビタミンKエポキシド還元酵素がクローニングされ、ワルファリン耐性を有するヒトや欧州のドブネズミでは、その還元酵素に変異が存在し、酵素自体がワルファリン抵抗性であることが報告された。一方、現在、わが国ではクマネズミの異常増殖が問題となっており、その原因として、これまで使用されていた殺鼠剤ワルファリンに耐性を持った個体が増加していることがあげられる。そこで、クマネズミのワルファリン抵抗性について、その耐性機構を明らかにすることを目的とした。クマネズミは東京より採集し、1ヶ月のワルファリン投与によって、ワルファリン抵抗性および非抵抗性を判別した。ワルファリン非抵抗性のクマネズミは小笠原諸島より採集して、その系統を維持した。クマネズミの肝ミクロソームにおけるビタミンKエポキシド還元酵素活性はHPLCを用いて測定した。また、ワルファリンはシトクロムP450によって代謝を受け、水酸化体となって尿中に排泄される。そこで、HPLCを用いて、ワルファリン抵抗性、非抵抗性の肝ミクロソームにおけるワルファリン代謝活性を調べた。ワルファリン耐性クマネズミの肝ミクロソームではワルファリン感受性個体に比べると、ラセミ体ワルファリンを基質としたときに、4位、6位、7位、8位、10位の水酸化活性がいずれも高かった。従って、ワルファリン抵抗性の原因として、シトクロムP450による代謝能の増加が考えられた。

P7-31 ヒトに密着して棲息するドブネズミに蓄積する環境化学物質とその生体影響

○石塚真由美¹、高菅 卓三²、谷川 力³、数坂 昭夫¹、藤田 正一¹

¹北海道大学大学院獣医学研究科、²(株)鳥津テクノリサーチ、³イカリ消毒(株)技術研究所

Suppression of testosterone syntheses in testes of wild rats in Japan: Accumulation of persistent organochlorine pollutants and polybrominated diphenyl ether

○Mayumi ISHIZUKA¹, Takumi TAKASUGA², Tsutomu TANIKAWA³, Akiyo KAZUSAKA¹, Shoichi FUJITA¹

¹Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, ²Shimadzu-Techno-research Inc., ³Ikan Co.

ドブネズミはヒトの生活に密着した生活環境を持っており、陸生野生動物としてだけでなく、ヒトの環境化学物質への曝露のモデルにもなると考えられる。そこで、ドブネズミを札幌、東京、大阪から採集し、肝臓に蓄積する環境化学物質(有機塩素系化合物: polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), polychlorinated dibenzofurans (PCDF), polychlorinated biphenyls (PCBs), DDTs, HCHs, chlordane, heptachlor, heptachlor epoxide, HCB, aldrin, dieldrin, endrin, 臭素系難燃剤: polybrominated diphenyl ether (PBDE))について分析を行った。ドブネズミはすべて年齢査定を行い、実験には7週齢前後の雄ドブネズミを用いた。また、同時に肝臓や精巣への影響などについて、マイクロアレイを用いて発現遺伝子の変動についてスクリーニングを行った。ゴミ処理場から採集したドブネズミではTEQ値は3600pg/g fatであり、その約80%をPCDDやPCDFが占めていた。一方で、東京由来のドブネズミでは、肝臓TEQ値が7800pg/g fatと最も高く、その70%以上をcoplanar-PCBが占めていた。また、同週齢の実験室飼育ラット (*Rattus norvegicus*) 個体に比べて、東京やゴミ処理場由来のドブネズミでは薬物代謝酵素シトクロムP450の中でも、CYP1ファミリーの発現量が増加していた。また、東京由来の個体ではメタロチオネインやHO1のmRNAレベルもコントロール群に比べて増加していた。結果では、東京由来のドブネズミにおいて、テストステロン産生にかかわる酵素やSARのmRNA発現が減少していることが明らかとなった。

P7-32 Effects of Ketamine hydrochloride on Hematological and Serum Biochemical values in Cynomolgus Monkeys

○Choang-Yong KIM, Su-Cheol HAN, Jeong-Doo HEO, Shin-Woo CHA, Junghee HAN,

Yasuo TARUMOTO, Moon-Koo CHUNG

Korea Institute of Toxicology, KRIT, Korea

Cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) is quite widely used in pre-clinical research, because their anatomical, physiologic, and metabolic characteristics are similar to humans. The most commonly used drug for the chemical restraint of nonhuman primates is ketamine hydrochloride, since anesthesia will not only reduce stress to the animal but promote safety and quality. In the present study, the effects of ketamine anesthesia on both hematological and serum biochemical variables were investigated in nineteen male and fifteen female cynomolgus monkeys. Blood samples were obtained from the cephalic vein within 30 minutes after intramuscular injection with or without ketamine hydrochloride at the dose of 10 mg/kg. Ketamine anesthesia caused a decrease in leukocyte counts with a significant decrease in percentage of lymphocytes. The decrease in leukocyte counts may be explained by a redistribution of leukocytes from circulation into extravascular pool after ketamine anesthesia. Ketamine anesthesia increased serum activities of AST, ALT and CPK, while it decreased serum concentration of glucose, inorganic phosphate, sodium and potassium. The increases in CPK and AST activities may be associated with muscle irritation as a result of the intramuscular injection of ketamine. These alterations should be considered when designing studies and interpreting toxicity data for the preclinical study using cynomolgus monkeys.

Key words : Ketamine anesthesia, Hematology, Serum biochemistry, Cynomolgus monkey

P7-33 Toxicity Study of DHP2, a hydrophobic drug delivery vehicle : Single and 2-week Repeated Oral Dose Toxicity Study in Mice

○ Junghee HAN¹, Hesson CHUNG², Shin-Woo CHA¹, Choong-Yong KIM¹, Jeong-Eun SUH¹

¹Korea Institute of Toxicology, ²Biomedical Research Center, KIST Korea

The present study was conducted to investigate the single and 2-week repeated dose toxicity of DHP2, a hydrophobic drug delivery vehicle, in ICR mice. The test article was administered orally to mice at the dose levels of 2.5, 12.5 and 37.5 g/kg for single dose toxicity study and at the dose levels of 0, 2.5, 5, and 10 g/kg for repeated dose toxicity study. In both studies, there were no treatment-related effects on mortality, clinical signs, food and water consumption, ophthalmoscopy, urinalysis, hematology, serum biochemistry, necropsy findings and organ weights of all animals treated DHP2. Based on these results, it was concluded that the 2-week repeated oral dose of DHP2 may have no toxic effect in mice at a dose level of 10 g/kg. In the condition of this study, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was considered to be 10 g/kg/day for both sexes.

Key Words : DHP2, Single and 2-week repeated dose toxicity study, no-observed-adverse-effect level (NOAEL) , mice.

P7-34 Toxicity Study of 9-nitro-20 (S) -camptothecin (Rubitecan) via the Oral Route

○ Hui WANG, Yong-Zhen LIU, Wei-Jun ZHENG, Mei-Ying WANG, Jie FENG, Xing-Ju YUAN,

Hua SHENG, Ming DU, Li-Kong GONG, Xiang-Hong LI, Jin REN

Drug Safety Evaluation and Research Centre, Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, China

Rubitecan (RB) is a semisynthetic derivative of camptothecin. In order to determinate the toxicity of RB, we carried out single dose toxicity studies in mice and in SD rats, and 26-week repeated dose toxicity studies in SD rats and in Beagle dogs. In single dose toxicity study in mice, LD50 is 33.8mg/kg and 95% confidence interval (CI) is from 27.5 to 41.4mg/kg. In single dose toxicity study in SD rats, LD50 is 91mg/kg and 95% CI is from 77.6 to 106.99mg/kg. The 26-week repeated dose toxicity study in SD rats was performed at the schedule of 6x1- at doses of 0.4, 1.8 and 3.6mg/kg via the oral route. At 3.6 and 1.8 mg/kg, suppression of body weight gain was observed. At 0.4mg/kg, no chemical-related changes were observed. The 26-week repeated dose toxicity study in Beagle dogs was conducted at the schedule of 5x2- at doses of 0.2, 0.4 and 0.8mg/kg. At 0.8mg/kg, one dog died at 27th day after administration. It was also observed that clinical signs such as nausea and subtle stools, decrease of food consumption, suppression of body weight gain, decrease of WBC and mean of RT, inflammatory enteritis and bone marrow depression in pathology examination, and granulocyte mature-obstacle in bone marrow smear. At 0.4mg/kg, suppression of body weight gain, decrease of food consumption, WBC and mean of Rt were observed. At 0.2mg/kg, no chemical-related changes were observed. It is suggested that the toxicity of RB is dose-dependent. In conclusion, the toxicity target organ of RB in SD rats and Beagle dogs were the gastrointestinal track and bone marrow.

Key Words Rubitecan Toxicity

P7-35 殺菌・保存剤 o-cymen-5-ol (biosol) のラットを用いた3ヶ月間混餌投与毒性試験-Biosolによる腎障害と胸腺のapoptosisの誘発

○松島 裕子、内藤 克司、斎藤 実、伊佐間和郎、川崎 靖、関田 清司、小川 幸男、鹿庭 正昭、井上 達、菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所

【目的】 Biosolは、医薬品、医薬部外品、化粧品、殺菌・消毒剤として家庭用品に広く使用されている。我々は、biosolの安全性を点検するために、比較的多量のbiosolをラットに反復投与し、毒性が発現する標的臓器を見だし、最大無作用量 (NOEL) を求め、ヒトへの毒性影響の推定に資することを目的とする。

【材料および方法】 動物は、5週齢の雌雄Wistarラットを用いた。Biosolは、F2粉末飼料に公比8で0、0.05、0.38および3.0%濃度で混入後、固形飼料に形成し、自由摂取させた。動物は、投与開始後1あるいは3ヶ月目に屠殺剖検し、尿検査、血液学的検査、血清生化学検査、臓器重量測定、病理組織学的検査を行った。

【結果および考察】 動物は、全例生存した。体重は、雌雄3.0%群で試験開始初期から顕著な増加抑制がみられた。尿検査は、全投与群とも対照群と有意な差はみられなかった。

腎の絶対重量は、雌雄共に1及び3ヶ月で対照群と変わらなかったが、相対重量は1及び3ヶ月で雄は0.38%以上の群から、雌は3.0%群で用量及び期間依存的に増加した。血清生化学検査で腎機能障害となるマーカーは、雌雄共に1ヶ月目では有意な変化はみられなかった。3ヶ月目では、雌雄共に3%群で無機リンの増加、雄0.38%以上の群でUAの増加、雌3.0%群でBUNの増加がみられた。病理組織学的検査では、雌雄共に1ヶ月目から尿細管のカリウム沈着及び尿細管の拡張、集合管の拡張、腎盂移行上皮の過形成等の腎臓障害の所見がみられ、3ヶ月目ではいずれも進行した。

胸腺の絶対重量が、雌雄3%群で1及び3ヶ月目とも減少した。病理組織学的検査で、皮質におけるapoptosisが雌雄共に体重抑制のみみられない0.05%群から用量相関性にみられ、胸腺障害性が最も高感度に現れることが示唆された。

NOELは0.05%群で種々の検査項目で有意差があり、更に、病理組織学的検査で胸腺細胞にapoptosisの増加がみられることより、NOELは0.05%未満であると考えられた。

P7-36 制限給餌条件下におけるラットの体重、摂餌量および摂水量の日内変動について

○森山 智之¹、宮沢 英男¹、藤掛 登¹、松本 浩良²

¹万有製薬(株)つくば研究所 安全性研究所、²万有製薬(株) 研究開発本部

Circadian Variation in Body Weight and Food and Water Consumption in Rats under Optimized Food Restriction

○Tomoyuki MORIYAMA¹、Hideo MIYAZAWA¹、Noboru FUJIKAKE¹、Hiroyoshi MATSUMOTO²

¹Safety Assessment, Tsukuba Research Institute, Banyu Pharmaceutical Co., Ltd.、²Research & Development Head Quarters, Banyu Pharmaceutical Co., Ltd.

一般演習(ポスター)

【目的】適切な制限給餌 (FR) が飽食 (AL) に比較し、動物の自然発生病変を抑え、寿命を延長させることから、特に長期毒性試験については、FR条件下で実施することの有用性が示唆されている (Keenan KP, 1997, 1998)。この条件で毒性試験を行うにあたり、毒性試験の重要な指標である体重、摂餌および摂水量の日内変動を把握することは、より適切な試験の実施・評価につながると考える。今回、FR条件下でのラットの体重、摂餌量および摂水量の日内変動を明らかにすることを目的に本実験を実施した。【方法】5週齢のSDラットを雌雄それぞれALおよびFR群に15匹ずつ分け、それぞれの条件下で1週間飼育した後、体重、摂餌および摂水量を毎日9時、13時、17時および21時に測定した。動物は12時間の明暗周期 (明暗7-19h) の環境下で個別飼育し、FR群の雌雄にはそれぞれ16および22gの固形飼料を毎日13時の測定直後に与えた。【結果】AL群については、いずれの測定項目も暗期に増加する傾向がみられ、夜行性的変動パターンを示した。これに対し、FR群では、給餌を起点にいずれの項目も顕著に増加し、17時もしくは21時をピークとするパターンが認められた。またその後、AL群における体重の日内変動の個体差はFR群のそれと比べて顕著であった。【まとめ】FRにすることにより、測定項目の変動パターンは変化した。また、FRではALに比べ、ばらつきの少ない体重変動を示すことが示唆された。さらに、試験の実施・評価の点から考察すると、①給餌を起点に体重が変動することから、給餌は毎日定期的に行うこと、さらに各種測定時刻も各日で均一にすることが必要と考えられた。また、②体重の変動パターンは摂餌のタイミングに関連しシフトしうるため、毒性試験においては、それによる見かけ上の体重変化を考慮に入れて解析する必要があると考えられた。

P7-37 新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 - 腎毒性バイオマーカー -

○百々 哲史, 黒田 聡子, 上山 清市, 高橋 光一, 淺野間光治, 天野 幸紀, 田中 猛, 吉岡 薫, 内藤 真策, 松澤 利明, 佐神 文郎

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

Current analysis and prospects of new toxicological biomarker - biomarkers of nephrotoxicity -

○Tetsushi DODO, Satoko KURODA, Seiichi UYAMA, Koichi TAKAHASHI, Koji ASANOMA, Yukinori AMANO, Takeshi TANAKA, Keoru YOSHIOKA, Shinsaku NAITO, Toshiaki MATSUZAWA, Fumio SAGAMI

Subcommittee of Non-Clinical Evaluation, Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

現在、非臨床領域の腎毒性評価には、糸球体濾過能や尿の定量/定性分析を指標としたバイオマーカーが汎用されている。しかしながら、腎臓は、非侵襲的な方法での毒性モニタリングが困難な臓器の一つであることが一般的に知られており、特に障害が軽度の場合には、既存の検査では影響を捉えることが難しいとされている。実際に、血液中あるいは尿中マーカーの変動を検出できる段階に至っては、既に重篤な器質的変化が起こっている場合が少なくない。また、薬物による腎毒性に関しては、糸球体や近位/遠位尿管等に発現部位に限られる場合が多いが、その部位の特定には、病理組織学的検査等の侵襲的方法を主に用いているのが現状である。以上のように、既存の腎毒性バイオマーカーは、毒性発現の予測性や部位特異性の面において十分ではないため、非侵襲的な方法によって、特定部位における腎障害の発現を早期に検出できる新規バイオマーカーの確立が望まれている。近年、心毒性あるいは肝毒性を評価するバイオマーカーと同様に、腎毒性評価においても新たなバイオマーカーを用いた研究が数多く報告されており、検討段階のものも含めると、有用性が期待されるマーカーは多数存在する。そこで今回、我々は、1) 測定法(原理、対象、難易度)、2) 臓器特異性、3) 感受性、4) 予測性、5) ヒト/動物のブリッジングの各項目(FDA心毒性EWGの分類)において、有用性が高いと考えられるバイオマーカーを最近10年間に公表された文献をもとに検索し、体系的にまとめた結果を報告する。特に新規腎毒性バイオマーカーとして注目され文獻的にも多くの報告があるKidney injury molecule-1 (KIM-1)、Glutathione transferase isoforms (GSTs)等を中心に、今後の研究次第では有用なマーカーになり得るものについても紹介する。

P7-38 新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 - 心毒性バイオマーカー -

○淺野間光治, 高橋 光一, 天野 幸紀, 上山 清市, 黒田 聡子, 田中 猛, 百々 哲史, 吉岡 薫, 内藤 真策, 松澤 利明, 佐神 文郎

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

Current analysis and prospects of new toxicological biomarker - biomarkers of cardiotoxicity -

○Koji ASANOMA, Koichi TAKAHASHI, Yukinori AMANO, Seiichi UYAMA, Satoko KURODA, Takeshi TANAKA, Tetsushi DODO, Keoru YOSHIOKA, Shinsaku NAITO, Toshiaki MATSUZAWA, Fumio SAGAMI

Subcommittee of Non-Clinical Evaluation, Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

心疾患に関するバイオマーカーは循環器領域で最も注目されているテーマの一つで、臨床の第一線では広く活用されている。しかし、臨床ではその有用性が認められ、広く使用されているのに対し、非臨床の領域における毒性評価にはこれまで主にAST、LDH、CK、CK-MB等が使用されているにすぎなかった。しかし、特にAST、LDHは心毒性に特異的なマーカーとはいえ、感度にも問題があった。最近、FDAにおいて、薬剤による心毒性に関するバイオマーカーのExpert Working Groupが、非臨床での薬剤評価の効率化を目的とした調査結果を報告した(2003)。この報告では薬剤誘発性の心毒性に特異的で、感度が高く、更には非臨床と臨床とのブリッジング等も考慮した新規バイオマーカーが調査され、非臨床安全性試験への適用について報告されている。この例のように、新規のバイオマーカーを非臨床における毒性評価に使用することにより、従来検出が困難であった心毒性の兆候を特異的、早期に予測できる可能性がある。

今回、我々は心毒性に関するバイオマーカーについて最近10年間に報告された文献を調査し、レビューした。更に、臨床で汎用されている既存のバイオマーカーが非臨床の分野に適用できるかどうかを検討することにより、今後の非臨床における毒性評価に役立てられるかを考察した。また、新規バイオマーカーについても調査をおこなった。

調査の対象臓器は心臓を選択した。検索項目はFDAの心毒性EWGの分類に従い、①測定法(原理、対象、難易度)、②臓器特異性、③感受性、④予測性、⑤ヒトと動物とのブリッジングとした。その結果、非臨床で用いられている既存のマーカーと比較し、トロポニンTが各項目において有用である可能性が示唆された。また、心臓型脂肪酸結合蛋白(H-FABP)、脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)等の有用性についても言及する。

P7-39 新規毒性バイオマーカーの現状分析と展望 -肝毒性バイオマーカー-

○田中 猛, 吉岡 薫, 淺野開光治, 天野 幸紀, 上山 清市, 黒田 聡子, 高橋 光一, 百々 哲史, 内藤 真策, 松澤 利明, 佐神 文郎

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

Current analysis and prospects of new toxicological biomarker –biomarkers of Hepatotoxicity-

○Takeshi TANAKA, Kaoru YOSHIKAWA, Koji ASANOMA, Yukinori AMANO, Seichi UHEYAMA, Satoko KURODA, Koichi TAKAHASHI, Tetsushi DODO, Shinsaku NAITO, Toshiaki MATSUZAWA, Humio SAGAMI

Subcommittee of Non-Clinical Evaluation, Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

肝臓は生体内薬物の代謝の中心となる臓器であり、その代謝様式は多岐に亘る。生体内に投与された大部分の薬物は、投与経路によって程度の差はあるものの肝臓に運ばれ、代謝・活性化を受ける。このため肝臓は薬物の影響を受けやすく、非臨床試験における肝障害の発生頻度も高い。

肝障害の指標としてはALT、ASTといった代謝酵素や色素などが古くから臨床現場で用いられており、これらは非臨床における毒性試験においてもそのまま利用されている。これら現行で用いられているものの多くはヒトでも用いられている点、測定の手軽さなどで多くの利点を持つ反面、acetaminophenによる肝障害などでは変化が現れない、多臓器にわたって存在するため特異性は高くないなど欠点も挙げられる。

これらの点を改善するため、近年肝障害の指標となる多くの新規バイオマーカーが報告されており、中には感受性や特異性の点で、現在汎用されているバイオマーカーより優れるものも多く見られる。

そこで今回、我々は最近10年間にわたって報告されたバイオマーカーを文献的に調査し、それらについて 1) 測定法(原理、対象、簡易度)、2) 臓器特異性、3) 感受性、4) 予測性、5) ヒト/動物のブリッジングの5項目(FDA、心毒性EWGの分類)による評価を行い、体系的にまとめた結果を報告する。さらに、GLDH、arginase、GSTなど、特定の肝毒性を検出する上で従来のALT、ASTにくらべて有用なマーカーとなり得るものについて、あわせて報告する。

P7-40 完全静脈栄養飼育下ラットにおける1,25(OH)₂D₃のカルシウム作用

○浅沼健太郎, 小松俊一朗, 桜井 貴之, 高井 了, 千葉 修一

中外製薬(株)安全性研究部

The changes of 1,25(OH)₂D₃-induced calcium action in the rat total parenteral nutrition model

○Kentaro ASANUMA, Shun-ichiro KOMATSU, Takayuki SAKURAI, Ryo TAKAI, Shuichi CHIBA
Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. Safety Assessment Dept.

【目的】活性型ビタミンD₃である1,25(OH)₂D₃の主要な毒性は、血中カルシウム(Ca)の上昇とそれに伴う石灰沈着である。この毒性は主に1,25(OH)₂D₃による腸管からのCa吸収促進の結果と考えられているが、この現象を*in vivo*で直接示した報告はない。そこで、腸管からのCa吸収がない状態(食餌の経口摂取のない状態)である完全静脈栄養(TPN)飼育下ラットに1,25(OH)₂D₃を単回投与し、そのCa作用を検討した。

【方法】正常食ラット(固型飼料の自由摂取)およびTPNラット(TPN施行中の絶食)について、溶媒(MCT)経口投与(対照)、1,25(OH)₂D₃経口投与および静脈内投与の3群を設け、各群8例のSD系ラット(雌、10週齢)を充当した。正常食ラットでは3SD-マンニトール、TPNラットでは高カロリー輸液を持続静脈内投与した。溶媒あるいは1,25(OH)₂D₃投与はTPN施行開始後3日とし、8日間のTPN施行中、経時的に体重測定、尿検査および血液化学的検査を行った。【結果】1,25(OH)₂D₃投与によるCa上昇作用について、TPNラットと正常食ラットの間に明確な差が認められた。1,25(OH)₂D₃100 μg/kg経口投与後48時間の血清Caは、TPNラットで12.22±0.45mg/dL (Mean±SD, 以下同様)、正常食ラットで13.80±0.52mg/dL、TPNラットの対照群は11.21±0.16mg/dL、正常食ラットの対照群は11.35±0.26mg/dLであった。TPNラットでの1,25(OH)₂D₃投与群と対照群の差は1.01mg/dL、正常食ラットでの1,25(OH)₂D₃投与群と対照群の差は2.45mg/dLであった。【結論】TPNラットにおける1,25(OH)₂D₃のCa上昇作用は、正常食ラットの50%程度であることが明らかとなった。

P7-41 化合物Aにより惹起された骨格筋障害は投与を継続したにも関わらず完全に回復する？

○田中 宏治、清沢 直樹、社領 聡、寺西 京広、真鍋 淳
三共(株) 安全性研究所

Skeletal Muscle Injury Caused by Compound A completely recovers in Spite of Further Treatment?

○Kohji TANAKA, Naoki KIYOSAWA, Satoru SHARYO, Munehiro TERANISHI, Sunao MANABE
Medicinal Safety Research Laboratories, SANKYO Co., Ltd.

【目的】HMG-CoA還元酵素阻害作用を有する化合物A(8-オキシムデカリン誘導体)をラットに投与すると、骨格筋障害が惹起されるが、同様の投与を継続しても骨格筋障害は検出されない、すなわち耐性の獲得を示唆する知見が得られた(第43回米国トキシコロジー学会)。本実験では、投与期間をさらに延長して耐性獲得に関与している遺伝子発現を検索した。

【材料および方法】F344ラット(雄、7週齢)に化合物Aを0.12% (100mg/kgに相当)で混じた餌を56日間自由に摂取させた(n=5)。投与期間中に骨格筋障害の指標であるクレアチン・キナーゼ(CK)を経時的に測定した。投与56日目に骨格筋を採り、病理組織学的検査およびGeneChip解析(UG34Aチップ:Affymetrix社)を行った。また投与8日および28日目に化合物Aの代謝物であるM1を測定した。なお無処置対照群として化合物Aを混じらない餌を与えた群を設けた。

【結果および考察】従来の報告と同様、投与8日からCKから上昇し、投与11日では対照群と比較して約30倍の著明な高値を示した。しかし、投与を継続したにも関わらず、CK値はその後減少し、投与18日以降対照群と同レベルで推移した。骨格筋に病理組織学的な変化は観察されなかった。GeneChip解析では、対照群と比し遺伝子発現プロファイルに著明な変化はみられなかった。M1の血漿中濃度推移には、変化がみられなかった。これらの所見は、化合物Aの曝露が継続した条件下でも、遺伝子レベルで障害が完全に回復したことを意味する。しかし、本実験結果から骨格筋障害に対する耐性の原因を本チップ解析では明らかに出来なかった。耐性獲得には転写後修飾の変化に関与している可能性が考えられた。

P7-42 耳式体温計を用いたラット体温測定の見直し

○笹山由紀子、嶋村 雅憲、浜田 悦昌
ファイザー(株) 中央研究所 安全性研究統括部 毒性研究室

Measurement of the body temperature in rats using infrared ear thermometers.

○Yukiko SASAYAMA, Masanori SAKIMURA, Yosimasa HAMADA
World Wide Safety Sciences, Pfizer Global Research and Development, Pfizer Inc.

【目的】体温は動物の健康状態を知る上で重要な指標である。ラットの場合、直腸で体温を測定する方法が標準的に用いられるが、この方法では保定時間が長く動物にストレスがかかる上、プローブを挿入することにより直腸を傷つける可能性がある。一方、ヒトでは近年、測定時間が短く、乳幼児にも負担の少ない耳式体温計(鼓膜から放出される赤外線強度を温度に変換)が急速に普及してきた。耳式体温計は動物においても同様のメリットがあることから動物用の耳式体温計も開発されているが、小動物における測定事例は少なく、機種ごとの特性に関する報告はみられない。そこで、我々は耳式体温計がラットの体温測定に使用できるかどうかを検討するため、ヒト用耳式体温計4機種及び動物用耳式体温計1機種を用いて鼓膜温を測定し、直腸温と比較した。【方法】ラット(7週齢、雄)に体温上昇又は低下を起こさせるため、リボ多糖(LPS) 50 µg/kg又はエタノール4g/kgを、また、対照として同容量の生理食塩水を腹腔内投与した。体温は、耳式体温計5機種を用いて投与前、投与後30分、1、2、3、4、5、6、7及び8時間に測定し、同時に測定したデジタル温度計による直腸温を基準として差を評価した。【結果・考察】対照群では、投与後明らかな体温の変化はなく、LPS投与では約1℃の体温上昇が、エタノール投与では約2℃の体温低下が認められた。使用した耳式体温計5機種のうち、ヒト用2機種、動物用1機種では、体温低下時、体温上昇時のいずれにおいても直腸温とほぼ同等の測定値が得られた。ただし、耳式体温計は測定可能範囲が狭く、その温度計の特性を考慮する必要がある。【結論】以上の成績より、ラットの体温測定にヒト用及び動物用耳式体温計が使用可能であり、その精度は直腸温に劣らないことが明らかとなった。また、測定時間が短いことから動物愛護上のメリットもあると考えられた。

P7-43 機能性食品あるいは健康食品であるドクダミ抽出物のF344系ラットを用いた90日間反復投与毒性試験

○吉野 裕子¹、河部 真弓¹、今井 則夫¹、廣田 毅¹、萩原 昭裕¹、佐野 真士¹、白井 智之²
¹(株)大塚製薬科学研究所、²名古屋市立大学大学院医学部医学研究科実験病理学

Ninety-day toxicity study of dokudami extract in F344 rats.

○Hiroko YOSHINO¹, Mayumi KAWABE¹, Norio IMAI¹, Takeshi HIROTA¹, Akihiro HAGIWARA¹, Masashi SANDO¹, Tomoyuki SHIRAI²

¹Daiyu-Kai Institute of Medical Science, ²Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya city university graduate school of Medical Science

【目的】機能性食品あるいは健康食品としてのカテゴリーに属する物質の安全性評価に関して、現在のところ明確な規定はないが、その毒性を確認することは極めて重要と考えられる。今回、血圧の調整、利尿、整腸あるいは便秘等の用途に用いられるドクダミ抽出物をラットに90日間反復投与し、その毒性について検討した。【方法】5週齢のF344/DuCrj系ラット雌雄を用い、ドクダミ抽出物を0、0.5、1.5、および5.0%の濃度で90日間混餌投与した。投与期間中には一般状態の観察、体重、摂餌量および摂水量の測定、眼科的検査および尿検査を実施した。また投与期間終了後の剖検時には血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的病理学検査および病理組織学的検査を実施した。【結果】一般状態、体重、摂餌量、摂水量、眼科的検査、尿検査および肉眼的病理学検査ではドクダミ抽出物投与の影響を認めなかった。剖検時の腎臓重量（絶対および相対）において雌雄の5.0%投与群で対照群と比較して有意な高値を示し、血液生化学的検査では尿素窒素（BUN）が雌の5.0%投与群で有意な高値を示した。さらに病理組織学的検査では腎臓被膜境界部の鉱質沈着の発生率およびその程度が雌の1.5および5.0%投与群、雄の5.0%投与群で有意な高値を示した。その他の期間には被験物質投与の影響を認めなかった。【結論】ドクダミ抽出物を0.5、1.5および5.0%の濃度で雌雄のF344系ラットに90日間投与したところ、雌雄ともに5.0%投与群で腎臓重量の高値、病理組織学的に腎臓被膜境界部の鉱質沈着発生率および程度の増強を認めた。また雌の1.5%投与群においても発生率および程度の増強を認めた。以上の結果から、本試験におけるドクダミ抽出物の無毒性量（NOAEL）は雌0.5%（349.9mg/kg/day）、雄1.5%（330.7mg/kg/day）であると結論した。

P7-44 胃酸分泌低下モデルラットを用いたBt蛋白質の28日間混餌投与毒性試験

○小野 遼一、今井 則夫、蓮村 麻衣、西 永暁、広瀬 雅雄
国立医薬品食品衛生研究所 病理部

28-Day Dietary Toxicity study of Bt protein in a gastric-acid secretion-suppressed rat model

○Jun-ichi ONOSE, Toshio IMAI, Mai HASUMURA, Young-man CHO, Masao HIROSE
Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

【目的】害虫に対する抵抗性獲得を目的として遺伝子組換え農作物に導入された*B.thuringiensis*のcry遺伝子から生成されるBt蛋白質の多くは、ヒトなど哺乳類が経口摂取しても、胃内の強酸性条件下にペプシンが作用し、ほぼ完全に消化されると考えられ、抗潰瘍剤の服用あるいは胃切除術により、胃内pHが上昇してBt蛋白質の消化が不十分のまま腸に移行すると考えられ、その毒性あるいはアレルギー性が懸念される。本研究では、ラット胃酸分泌低下モデルを確立し、Bt蛋白質の混餌投与毒性試験を実施した。【方法】F344雄ラットを用いた胃酸分泌低下モデルとして、胃底腺部分切除及び胃酸分泌抑制剤であるファモチジン持続投与モデルを確立した。胃底腺部分切除は、エーテル麻酔下にて外科的に胃底腺を1/2～2/3切除した後縫合した。ファモチジンは浸透圧ミニポンプの背部皮下埋植により、最大11mg/kg体重の用量で28日間持続投与を可能とした。予備実験において胃液pHは、無処置動物の平均1.4に対し、各モデルでは4.3及び4.6であった。Bt蛋白質の濃度は、餌が全て組換え作物とした際に含まれるBt蛋白質をもとに10ppmとした。実験期間中は体重、摂餌量を、終了時には深麻酔下で腹部大動脈より採血し、血液学及び血清生化学的検査、血中ガストリン、ヒスタミン濃度、IgE、IgG抗体価測定を行った。採血後放血屠殺し、全身臓器を肉眼的に観察、摘出後、主要臓器の重量測定を行い、組織標本を作製して病理学的検索を行った。【結果】胃底腺切除及びファモチジン持続投与モデルのいずれでも無処置群に比して有意なガストリン濃度の上昇を認めた。しかし、Bt蛋白質による変化はいずれの検索項目でも認められず、本胃酸分泌低下モデルにおいてBt蛋白質の28日間混餌投与による毒性学的影響はないと判断された。

P7-45 免疫法による便潜血キットの有用性 -ラット、イヌでの検討-

○山崎 尚子, 眞子 智美, 浜田 悦器, 堀井 郁夫
ファイザー (株)

Usefulness of fecal occult blood kit by the immunity method -Examination in rats and dogs -

○Naoko YAMASAKI, Tomomi MAKO, Yoshimasa HAMADA, Ikuo HORII
Pfizer Global Research & Development

【目的】便潜血検査は、消化管の炎症などによる出血性病変のスクリーニング検査として重要な検査である。便潜血検査は化学法と免疫法があり、実験動物では化学法が汎用されているものの、食物などの影響を受けることから免疫法に比べ特異性が低いといわれている。そこで、今回、ラットとイヌにおける市販の便潜血キットの有用性について検討を行った。【方法】ラットおよびイヌの糞便および給餌飼料について便潜血測定を行った。ラットでは、免疫法としてバナテスト®ラットヘモグロビン (バナファームラボラトリーズ) を、化学法として便潜血スライドシオノギII B法グアヤック法 (シオノギ製薬) を用いた。但し、バナテストはラットの尿中ヘモグロビン測定キットであるため、糞便および飼料を検体希釈液で溶解し、その上清を試料として用いた。イヌでは、免疫法としてテストントイヌ便潜血 (ビーエル) を、化学法としてラットと同様のキットを用いた。【結果】いずれの方法もラット又はイヌの溶血試料で濃度依存的な反応が認められた。しかしながら、ラットについては、バナテストでは糞便中のヘモグロビンが経時的に酸化分解され正確な値が得られないため、新鮮便を用いることが重要であると考えられた。便潜血スライドでは正常ラットの糞便や飼料でも陽性反応を示すことが明らかになった。一方、イヌの正常糞便については、テストントでは全て陰性、便潜血スライドでは23/30例で陰性、残りの7/30例が擬陽性を示した。なお、イヌ飼料に対しては、両法とも陰性であった。【結論】イヌについてはテストント (免疫法)、便潜血スライド (化学法) とともに便潜血反応に用いることができることが明らかになった。但し、便潜血スライドについては擬陽性反応に留意する必要性が示唆された。ラットについてはバナテスト (免疫法)、便潜血スライド (化学法) とともに実用性の判断にはより詳細な検討が必要と考えられる。

☼ P7-46 仔ラットに及ぼす母ラットの低濃度カドミウム摂取の影響

○中村 康宏, 前島 幸, 中川 妙子, 太田 久吉
北里大学医療系研究科環境衛生科学研究所

Toxic effects to newborn rats by low-level cadmium intake of mother rats.

○Yasuhiro NAKAMURA, Yuki MAEJIMA, Taeko NAKAGAWA, Hisayoshi OHTA

Department of Environmental, Occupational Health and Toxicology, Graduate school of Medical Sciences, Kitasato University

Wistar系雌ラット (6週齢) に経口投与用カニューレを用いてCd溶液、1, 2, 5mgCd/kgを週6日投与した。対照群には蒸留水を投与した。妊娠出産後、雌雄仔ラット各々4匹ずつに哺乳させ、投与開始から10週間後に屠殺した。投与は妊娠中、哺乳中も継続した。生後1日目と4週目の仔ラットの腎臓及び肝臓における、Cd、Zn及びCu濃度と、母ラットの子宮中メタロチオンニン (MT) 濃度を測定した。さらに、母ラットの子宮中iso-MT (I, II, and III) のmRNA発現を、RT-PCRにより測定した。

生後1日目の仔ラットの肝臓中Cd濃度は、腎臓中よりも高値であった。しかし生後4週目の仔ラットでは肝臓中よりも腎臓中において高値であった。仔ラットの肝臓中Znと腎臓中Cuは、5mgCd/kg群において、母ラット子宮中へのCd蓄積に応じて減少していた。そして5mgCd/kg群において仔ラットの成長が阻害され、出生率も低下していた。また、母ラット子宮中と、仔ラットの腸管組織中および胃内ミルク中のMT濃度が増加していた。子宮中でのiso-MT特にMT IIIのmRNA量増加が、5mgCd/kg群で確認された。しかし子宮においては、MT IIIのmRNA発現に応じた、タンパク質量の増加は確認できなかった。

摂取されたCdが母ラットから仔ラットへ分布し、ZnとCu代謝に影響を及ぼし、仔ラットの成長を阻害するものと考えられた。仔ラットの肝臓と腎臓へのCd分布の様子から、子宮内のMTは、Cdの仔への移行には関与していないと考えられた。一方生後4週目の仔ラットのCd分布は、腸管組織中のMTによってCd-MTとして腎臓に多くのCdが移送されたと考えられた。

● P7-47 有色ラットにおける視覚誘発電位を利用したエタンブトール (EB) の視覚毒性検出の検討

○佐々木正治、八木久美子、山下 晴洋、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

Ocular Toxicity of Ethambutol Detected by Visually Evoked Cortical Potential (VECP) Using Pattern-Reversal Stimulation in Pigmented Rats

○Shoji SASAKI, Kumiko YAGI, Haruhiro YAMASHITA, Isamu NAKAMURA, Yoshinobu IWAKI, Masaki KIMURA

TOXICOLOGY LAB., MEDICINAL LABS., TAISHO PHARM. CO., LTD

【目的】視覚誘発電位 (VECP) はフラッシュVECP (F-VECP) とパターンVECPに大別され、いずれも視覚障害評価法として使用されてきた。今回、我々は、視覚障害物質であるエタンブトール (EB) を6週間反復投与した有色ラットのP-VECP及びF-VECPを測定し、視覚障害評価法としての有用性を比較検討した。【材料及び方法】9週齢のlar:Long Evans雄性ラットを8例使用した。VECP測定のための電極装着は、測定の1週間前までに麻酔下で実施した。電極は、脳波用ビス電極をbregmaの前方2mm、正中線側方2mm (不閉電極) 及び後方6mm、正中線側方4mm (閉電極) を頭がい骨中に埋め込み、歯科用セメントで固定した。群構成は対照群 (C群)、EB500mg/kg (EB群) の2群、各群4例とした。VECP測定は1週間間隔で実施した。測定条件は、モニターまたはストロボまでの距離:150mm、Checker Size:12.5mm、刺激頻度:2Hz、モニターの平均輝度:25cd/m²、ストロボ光:1.2J、加算回数:200回、解析時間:300msec、Reject Level:±4div、Low-filter:1Hz、High-filter:100Hzとした。得られたVECP波形のP1波の潜時及びPIN1の振幅、F-VECPについてはN1波の潜時も解析した。【結果及び考察】P-VECPではC群のP1潜時は投与期間中変化しなかったが、EB群では投与4Wに有意な延長が認められた。PIN1の振幅及びF-VECPの各成分については、EBによる影響は明確でなかった。以上の結果、有色ラットにおけるEBの視覚機能への影響はP-VECPにおいてのみ補らえられた。このことから、P-VECPはF-VECPで補らえることのできない視覚障害を検出でき、医薬品の視覚毒性評価法としてより有用であると考えられた。

● P7-48 IGSラットを用いたがん原性試験における自然発生性の痙攣について

○須貝 友晴、岡村 俊也、板谷越重人、榎並 倫宣、望月 雅裕、岡崎 和志、岡崎 修三

(株) ボンリサーチセンター 動物実験研究室

Spontaneous convulsion in carcinogenicity study in IGS rats

○Tomoharu SUGAI, Toshiya OKAMURA, Shigeto ITAYAGOSHI, Tomonori ENAMI, Masahiro MOCHIZUKI, Kazushi OKAZAKI, Shuzou OKAZAKI

BOZO Research center Inc. Goteriba Laboratory

実験動物において、使用する動物での自然発生性変化の発生状況を把握することは、被験物質の評価上重要である。当施設で実施あるいは実施中のIGSラットを用いたがん原性試験において、自然発生性と考えられる痙攣が認められたので報告する。調査対象は動物試験終了のがん原性試験3試験と動物試験中のがん原性2試験 (それぞれ55週および40週経過) の対照群雌雄各290例である。これらの動物から得られた状況をまとめると、①投与26週以降になり発生しはじめる (発生率0~10%) ②症状が観察される主なケースとして、試験従事者との接触によりその発生が誘発されている③症状の持続性は60秒ほどで収まる④一度痙攣を発症した動物はその後数度の発症が確認されることもあり、まれに死亡にいたるケースも確認されている⑤当施設ではF344ラットのがん原性試験では確認されていない。以上より、今回報告した痙攣の原因は不明であるが、IGSラットが持つ何らかの形質が関与した自然発生性の所見と判断した。

P7-49 ラットにおける副腎機能毒性試験法の検討

○西村 次平、渡邊 隆夫、大道 浩三、秋葉 知英、岡村 信志、田中 猛、天野 幸紀、田辺 宗平
興和 (株) 富士研究所 安全性研究部

Adrenal functional study in rats

○Jihei NISHIMURA, Takeo WATANABE, Kouzou OHMACHI, Tomohide AKIBA, Nobuyuki OKAMURA,
Takeshi TANAKA, Yukinori AMANO, Souhei TANABE

Fuji Research Laboratories Pharmaceutical Division, Kowa Company, LTD.

【緒言】副腎機能の評価には、Adrenocorticotrophic hormone (ACTH) の負荷による血漿中副腎皮質ホルモンレベルの反応を確認する試験、即ちACTH負荷試験が一般に用いられている。これは副腎皮質ホルモン産生能の異常の検出に有用な手法であり、ヒト、サル或いはイヌ等に適応した報告は多く見受けられるものの、ラットにおける報告は少ない。我々は化学物質のげっ歯類に対する副腎機能毒性を副腎皮質ホルモン合成能の観点から評価するため、ラットを用いたACTH負荷試験におけるACTHの投与量、投与時間、採血時間等の条件検討をおこなった。

【材料及び方法】8週齢のC57BL/6J (SD) IGS系の雄ラットを用い、無処置動物における血漿中Corticosteroneの日内変動を確認する目的で、1時間毎に断頭採血を行った。ACTH負荷の至適投与ルートを経管内、皮下及び静脈内の3つのルートで比較した。ACTHの投与量は文献値を参考に40及び50 μ g/kgを比較した。ACTH負荷後の採血開始時間については各投与ルート毎に時間をふり（腹腔内投与：15、25分後、皮下投与：15、25分後、静脈内投与：10、20、30分後）比較した。次に、副腎皮質ホルモン合成阻害剤として知られるTrilostaneを用いて今回のACTH負荷条件が妥当であるか否かを確認するため、Trilostaneの150mg/kgをラットに1週間経口反復投与し、その血漿中Corticosterone量を測定した。

【結果及び考察】雄では約18時頃に、雌では19時頃に血漿中Corticosteroneがピークを示すことが明らかになり、これによりACTH負荷後の採血時間をこの範囲で実施できるようACTH投与を行うことが望ましいと考えられ、最終的にACTH負荷後の血漿中Corticosterone濃度が最も高かったのは、ACTH 40 μ g/kgを静脈内投与し、その20分後に採血する条件であり、これをACTH負荷の至適条件と判断した。この条件によりTrilostaneの副腎皮質の影響を確認したところ、Trilostane非投与で認められたACTH負荷による血漿中Corticosterone濃度の上昇は、Trilostane投与群では認められなかった。以上よりラットにおけるACTH負荷試験の至適条件は採血を18～19時の間で実施できるようACTH 40 μ g/kgを静脈内投与し、ACTH負荷20分後の血漿中Corticosterone濃度を測定することが妥当であると考えられた。

P7-50 ニューキノロン剤のラット血糖及びインスリン分泌に及ぼす影響

○平塚 一幸、下郡 望、伊藤 富美、柴崎 義明、鈴木平治郎、仲野 善久、黒沢 亨
明治製薬 (株) 医薬開発部門動物安全性研究所

Effects of New Quinolones on Serum Glucose and Insulin in Rats

○Kazuyuki HIRATSUKA, Nozomi SHIMOGAOKI, Fumi ITO, Yoshiaki SHIBAZAKI, Heiji SUZUKI,
Yoshihisa NAKANO, Tooru KUROSAWA

MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. Pharmaceutical Development Dept. Toxicology Lab.

【目的】キノロン剤の臨床使用上の副作用のひとつに低血糖が知られているが、その副作用発現の程度は種々のキノロン剤で必ずしも同等ではない。本報告では、ラットを用いてニューキノロン剤のブルリフロキサシン、ガチフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンについて、血糖値及び血漿中インスリン濃度に及ぼす影響を検討し、化学構造との関連について考察した。【方法】C57BL/6J (SD) IGS系雄ラットに約18時間の絶食を施し、UFX (ブルリフロキサシンの活性本体)、ガチフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンを20、40または80mg/kgの投与用量で尾静脈内に投与した。投与前及び投与後5、15、30及び60分は無麻酔下で頸静脈より採血し、血漿中のグルコース及びインスリン濃度を測定した。【結果】UFX、ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンでは80mg/kgまで血漿中のグルコース濃度及びインスリン濃度に対照群との差はほとんどみられなかった。一方、ガチフロキサシン及びロメフロキサシンでは20または40mg/kg以上で、対照群と比較し投与後5分までインスリン濃度が有意に増加し、投与後15分から60分までグルコース濃度が減少した。レボフロキサシンでは80mg/kgで投与後5分にインスリン濃度の増加が、投与後15分から60分でグルコース濃度の減少が認められた。【考察】本実験の結果から、ニューキノロン剤による血糖低下には血中インスリン濃度の上昇が関与している可能性が示唆された。また、本実験条件下では、キノロンの8位に置換基のないブルリフロキサシン、ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンの方が8位に置換基を有するガチフロキサシン、ロメフロキサシン及びレボフロキサシンよりもその作用が弱い傾向が示された。

P7-51 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 ethynyl estradiol, genistein, methoxychlor および ICI 182,780 の複合効果

○片山 誠一¹、芦沢 幸二²、永井 賢司¹、山本 由徳¹、大保真由美¹、秋山龍之介¹、山下 保志¹

¹三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所、²鹿児島大学大学院連合農学研究科 生物生産科学、³宮崎大学農学部 食料生産科学科

Combined effects of ethynyl estradiol, genistein, methoxychlor and ICI 182,780 on the estrogen-responsive gene expression in immature female rat uterus

○Seiichi KATAYAMA¹, Koji ASHIZAWA², Kenji NAGAI¹, Yoshinori YAMAMOTO¹, Mayumi OBO¹, Kennosuke AKIYAMA¹, Yasushi YAMASHITA¹

¹Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., ²Science of Bioresource Production, The United Graduate School of Agricultural Sciences, Kagoshima University, ³Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agriculture, Miyazaki University

【目的】エストロゲン様物質の複合影響に関する知見を得るため、単独投与では明瞭な子宮肥大反応の評価が困難な用量（陽性・陰性のボーダーライン用量）でエストロゲン様物質および抗エストロゲン様物質の混合物を投与し、子宮重量および子宮の遺伝子発現量変化について比較を行った。【方法】19日齢の雌性C57BL/6J (SD) IGSラットに ethynyl estradiol (EE, 0.0003mg/kg), genistein (GEN, 10mg/kg), methoxychlor (MXC, 30mg/kg) および ICI 182,780 (ICI, 10mg/kg) の単独投与液または混合投与液を単回経口投与した。投与後24時間に炭酸ガス麻酔下で子宮を摘出し、重量を測定後、RNAlater中で保存した。エストロゲン応答遺伝子 (complement C3, Wnt7a等) 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】子宮重量では、EE, GENおよびMXCの単独投与により、明瞭な影響は認められなかった。しかし、2種混合群および3種混合群では、明瞭な子宮肥大反応が認められた。complement C3 mRNAおよびWnt7a mRNAの発現量についても、単独投与では不明瞭な影響しかみられない用量を2種あるいは3種混合投与することで、明瞭な変化として検出された。子宮重量、子宮のcomplement C3 mRNAおよびWnt7a mRNA発現量に対するEE, GENおよびMXCの複合効果は、estrogen receptor (ER) antagonistであるICIの混合投与により、いずれもキャンセルされた。したがって、本実験でみられたEE, GENおよびMXCの複合効果は、ERを介したものであると考えられた。

P7-52 PCBによる血清中甲状腺ホルモン濃度低下の作用機構

○大西 真央¹、加藤 善久¹、鈴木 寛¹、生城 真一²、木村 良平¹

¹静岡国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1講座

Mechanistic study of reduction of serum thyroid hormone level in PCB-treated mice

○Mao ONISHI¹, Yoshihisa KATO¹, Hiroshi SUZUKI¹, Shinichi IKUSHIRO², Ryohei KIMURA¹

¹Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan, ²Himeji Institute of Technology, Faculty of Science, Hyogo, Japan

【目的】PCBの血清中サイロキシシン (T₄) 濃度低下作用機構を検討した。【方法】C57BL/6系マウスに3, 3', 4, 4'-tetrachlorobiphenyl (CB77) (50mg/kg), 2, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (CB118) (50mg/kg), 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl (CB153) (100mg/kg) を投与し、それぞれ7, 5, 3日後に、血清中total T₄, free T₄濃度を測定した。また、その時に¹²⁵I-T₄を静脈内投与し、血中からの¹²⁵I-T₄のクリアランス、尿中¹²⁵I-T₄のグルクロノイド (Glu) の排泄量、トランスサイレチン (TTR) に対する¹²⁵I-T₄の結合率を測定した。【結果・考察】各PCB投与により、血清中total T₄, free T₄濃度は有意に低下した。血中¹²⁵I-T₄のクリアランスは、CB118, CB153投与により有意に増加したが、CB77投与では変化しなかった。また、尿中¹²⁵I-T₄-Gluの排泄量は、いずれの投与の場合にも増加したが、PCBによってその排泄量は異なっていた。また、¹²⁵I-T₄とTTRの結合率は、CB118投与では著しく、CB77投与ではわずかに低下したが、CB153投与では変化しなかった。この時、¹²⁵I-T₄とアルブミンとの結合率は、CB118投与では顕著な増加が、CB77投与では増加傾向が見られたが、CB153投与では変化が見られなかった。以上、異なるタイプのPCB投与時の血清中T₄濃度の低下には、尿中へのT₄-Gluの排泄量の増加や、血中TTRおよび血中T₄のクリアランスがそれぞれ異なった割合で関与している可能性が示唆された。【謝辞】本研究の一部は厚生労働科学研究費 (H14-食品・化学-025) の補助を受けた。

◎ P7-53 低および高用量エストロゲン処理におけるラット乳腺増殖・腫瘍化とエストロゲンレセプター発現の変動比較

○美谷島克彦¹、柿本 恒知¹、竹腰 進²、小泉 治子¹、正田 俊之¹、高橋 明美¹、岩坂 俊基¹、宮川 義史¹、長村 義之²

¹日本たばこ産業(株)医薬総合研究所 安全性研究所、²東海大学 医学部 基礎診療学系 病理診断学

Effect of various dose of estrogen on mammary cell proliferation and tumorigenesis in normal and tumor-induced rats.

○Katsuhiko MIYAJIMA¹, Koichi KAKIMOTO¹, Susumu TAKEKOSHI², Haruka KOIZUMI¹, Toshiyuki SHODA¹, Akemi TAKAHASHI¹, Toshiki IWASAKA¹, Yoshihumi MIYAKAWA¹, Yoshiyuki OSAMURA²

¹Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco Inc., ²Department of Pathology, Tokai University School of Medicine

【目的】ラット乳腺の増殖・腫瘍化に及ぼすエストロゲンの用量反応性を明らかにするため以下の検討を行った。

【方法】**実験1**正常雌ラット(SD系11週齢)にEstradiol (E2)を0(溶媒)、10(低)、3000(高)μg/kg/週で筋注し、4週ないし13週間後に採取した。**実験2**乳腺発癌モデルとして雌ラット(SD系7週齢)に7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)を投与し、2週間後に卵巢を摘出(OVX)し、さらに2週間後からE2を0(溶媒)、10、30、1000μg/kg/週(低、中、高用量)で筋注し、30週間後に採取した。対照としてDMBA投与Sham群を設定した。両実験ともに乳腺の組織学的検査に加え、Estrogen Receptor (ER)α及びβを免疫組織化学、RT-PCR、Western blot法により検出し、さらに細胞増殖活性(Ki-67)、Apoptosis等についても検出した。

【結果及び結論】**実験1**低用量では、導管の細胞増殖がやや増加した以外、溶媒群と明らかな差はなかった。高用量では、腺房の発達や導管拡張に加え、ERα蛋白及びmRNAの減弱、ERβ mRNAの増強が見られた。**実験2**OVXにより溶媒群では腫瘍は発現しなかった。いずれのE2用量群も腫瘍発現はSham群を下回り、特に高用量で腫瘍発生率や個数が明らかに低値を示した。また組織学的にSham、低及び中用量では乳管由来の腺腫/癌が、高用量では腺管内乳頭腫/癌が発生し、組織型に差が生じた。さらに高用量のみでERαの減弱、ERβの増強傾向が認められた。このように両実験ともE2高用量処置ではERαのdown regulationと、ERβの相補的なup regulationが認められたが、低及び中用量に変動は見られなかった。

P7-54 フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP) の妊娠期・授乳期曝露が産仔の成長および甲状腺におよぼす影響

○小林 健一、宮川 宗之、王 瑞生、須田 恵、関口純一郎、本間 健資

(独)産業医学総合研究所

Effect of *in utero* and lactational exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on somatic growth and thyroid status in developing rats

○Kenichi KOBAYASHI, Muneyuki MIYAGAWA, Rui-sheng WANG, Megumi SUDA, Soichiro SEKIGUCHI, Takeshi HONMA

National Institute of Industrial Health

【目的】フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP) の妊娠期・授乳期曝露に伴う産仔の成長発達および甲状腺のホルモン動態におよぼす影響について検討した。【方法】SD-IGS系統妊娠ラットの妊娠期(GD)6日から授乳期(PND)20日にかけて、DEHPを各群0、25、100、400mg/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、肝臓重量、腎臓重量を測定した。また、甲状腺機能の発達影響を調べる指標として血漿中甲状腺ホルモン(チロキシン(T₄)およびトリヨードチロニン(T₃))濃度を時間分解蛍光免疫測定法により測定した。母親は離乳時(PND21)に剖検して得られた血漿から、産仔と同様に血中T₄およびT₃濃度を測定した。【結果】投与期間中、母親の体重は被験物質依存的な影響を受けなかった。産仔の体重、体長、尾長は全ての週齢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。肝臓重量および腎臓重量にも差が認められなかった。血中T₄およびT₃濃度は、全ての週齢の産仔および母親において、曝露群は対照群と比べて差が認められなかった。【考察】本試験の比較的高用量におけるDEHPの妊娠期・授乳期曝露に対し、甲状腺ホルモンへの影響からの観点による新生仔期から成熟期における成長発達に明確な影響をおよぼさなかった。本被験物質曝露に対する他の内分泌学的影響については更なる検討を要する。【謝辞】村瀬正氏および渡辺智子氏に謝意を表す。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15年度)」を使用した。

P7-55 ラットにおけるハロペリドール投与後のプロラクチンの変動に関する各種採血法の比較検討

○杉浦 正幸、平野 紀子、藤原由佳理、山田 久陽、木村 正明

大正製薬(株) 医薬研究所 安全性研究室

Influence of blood collection on blood prolactin level in male rats treated with haloperidol

○Masayuki SUGIURA, Noriko HIRANO, Yukari ORIHARA, Hisaharu YAMADA, Masaaki KIMURA

Taiho pharmaceutical Co., Ltd. Toxicology Laboratory

【目的】内分泌毒性の評価では、血中ホルモンが有用なパラメータであり、様々なホルモンについて測定が行われている。しかし、ホルモン分泌はストレス・麻酔などの影響を受けることが知られていることから採血の際には十分な配慮が必要となる。本研究では、ラットにハロペリドール(HAL)を単回投与後の血中プロラクチン(PRL)に対する影響を、3種の採血法により比較検討した。【方法】9週齢の雄SD系ラットにHAL0(対照群:0.3%酒石酸)、0.25及び1mg/kgを単回腹腔内投与し、投与後30分から3ないし3.5時間の間に、1) フリームービングカニューレによる連続採血、2) 断頭による採血、3) ケタミン麻酔下での頸静脈採血(ケタミン麻酔)を行った。得られた血漿について、PRLをELISA法により測定した。【結果】いずれの採血方法においても、HAL0.25及び1mg/kg投与により、血中PRLの増加がみられた。この増加は投与後30分で最も高く、時間が経過するとともに低下する傾向がみられた。ケタミン麻酔の対照群では、他の採血方法の対照群と比べて、PRLレベルが低下する傾向がみられ、麻酔の影響が示唆された。さらに、同群では、他の採血法を含めたいずれの群と比較しても、測定値の分布の指標となる変動係数が高かった。なお、HAL投与群のうち、ケタミン麻酔においてのみ、対照群と比べて、投与後3時間まで、統計学的に有意な増加が継続した。【結論】動物へのストレスを最小限に抑えた断頭あるいはカニューレによる採血では、血中PRLは同様な変動パターンがみられたが、個体レベルでのホルモン推移が把握可能なカニューレによる採血が、内分泌毒性評価において、最も適した方法であると考えられた。一方、ケタミン麻酔剤を使用した採血は、血中PRLレベルに影響を与えることから、適切な方法ではなかった。

P7-56 新規輸送系Lアミノ酸トランスポーターの同定とメチル水銀輸送特性の検討

○Golam FERDOUS, Eliappan BABU, Arthit CHAIROUNGDU, 安西 尚彦, 金井 好克, 遠藤 仁

杏林大・薬学部

Identification of novel system L transporters and their methyl mercury-cysteine conjugate transport properties

○Golam FERDOUS, Eliappan BABU, Arthit CHAIROUNGDU, Naohiko ANZAI, Yoshikatsu KANAI, Hitoshi ENDOU

一般演題(口演)

アミノ酸輸送系Lは、中性アミノ酸の細胞膜透過を担当するトランスポーターであり、一般の細胞にアミノ酸を供給する他、血管・脳門や胎盤門を介するアミノ酸透過の通路となる。水俣病の起原物質であるメチル水銀は、生体内においてシステインと非酵素的に容易に反応し、メチオニンと類似構造をもつ化合物を生成するため、輸送系Lを透過し体内に分布すると考えられてきた。以前我々は、輸送系Lに相当するトランスポーターLAT1、LAT2を同定し、それらがメチル水銀システイン複合体を輸送することを明らかにした。これらが属するL1サブタイプの他に、古典的輸送系Lには、L2のサブタイプが知られているが、その分子実体は明らかにされていなかった。今回その分子実体解明の目的で、ヒト肝細胞癌由来FLC4細胞から発現クローニングを行い、新規トランスポーターLAT3を同定した。LAT3遺伝子の塩基配列を指標にデータベース検索を行うことにより類似分子(LAT4)を見い出し、LAT3とLAT4からなる新たな遺伝子ファミリー(SLC43)を確立した。LAT3及びLAT4は、L2サブタイプに相当する機能特性を示し、メチオニンを含む中性アミノ酸を基質とした。LAT3及びLAT4をアブリカツメガエル卵母細胞に変現させ、ロイシン取り込みに対するメチル水銀システイン複合体の阻害活性を測定したところ、メチル水銀システイン複合体のLAT3とLAT4への拮抗は弱く、メチル水銀システイン複合体の主要輸送経路はLAT1及びLAT2であることがさらに裏付けられた。

P7-57 Effects of amphetamine or chlorpromazine on motor activity in juvenile rats.

○D P Myers, A M Bottomley, M J Collier
Huntingdon Life Sciences Ltd, UK

The effects of amphetamine or chlorpromazine on the motor activity of juvenile CD rats have been assessed on Days 13, 17 and 22 of age. The activity of each of 10 male and 10 female juvenile rats per group was measured individually throughout a one hour recording period in an automated monitoring system thirty minutes after dosing with either 2.0 mg/kg/day amphetamine or 10.0 mg/kg/day chlorpromazine. A similarly constituted Control group received saline vehicle. Cage floor activity and rearing were measured by the interruption of four low and four high height-adjustable infrared beams which passed across the width of each cage. There was a statistically significant increase in total levels of cage floor activity of males and females treated with amphetamine on Days 13, 17 and 22 of age, with a higher level of activity apparent throughout the one hour recording period compared with Controls. The total level of rearing activity of these animals on Days 17 and 22 of age was also increased, and again the difference was apparent throughout the one hour recording period. Treatment with chlorpromazine was associated with a significant reduction in the total level of cage floor activity of males and females on Day 13 of age, and of total rearing activity on Days 17 and 22 of age. It was concluded that the automated activity monitoring system was capable of detecting both increase and decreases in the activity of juvenile rats.

P7-58 ラットのオープンフィールド行動に及ぼす各種薬物の比較

○白井 真紀, 真子 智美, 井手上圭一, 山田 弘, 堀井 郁夫

ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部

Comparison of the chemicals on open-field activities in rats

○Maki SHIRAI, Tomomi MAKI, Keiichi IDEGAMI, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII

Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc., Japan

【目的】創薬研究早期における薬物安全性評価への応用を目的とし、自覚運動に影響を及ぼすことが報告されている各種薬物を用いて、ラットのオープンフィールド行動に及ぼす影響をビデオ画像行動解析装置により比較検討した。【方法】雌性SD (IGS) ラット (5-7週齢) を用いた。動物に自覚運動亢進あるいは抑制する薬物 (NMDA受容体拮抗薬、カンナビノイド受容体作用薬、オピオイド受容体作用薬、精神安定薬) を皮下あるいは腹腔内投与し、30あるいは45分後に角形オープンフィールド (50cm (W) × 50cm (D) × 50cm (H)) 中央に各区画あたり1匹ずつ静置した。その後、20分間のラットの行動をビデオ画像行動解析装置 (Smart, Pan Lab社) を用いて記録し、移動距離、最大移動速度、中央部滞在時間、活動時間 (fast, slow, rest)、移動軌跡を測定した。また、ビデオ画像により、立ち上がり回数およびグルーミング回数を計測した。【結果及び考察】今回測定したパラメータは各種薬物によって特徴的な変化を示した。これらのパラメータを測定することにより、場所運動活性や情動性などに関する薬物の安全性について、より質的・量的に評価できる可能性が示唆された。

P7-59 ラット脳発達障害モデルにおける胎児脳の神経病理学的検討

○小川 哲郎、塩田 清二

昭和大学医学部第一解剖学教室

Neuropathological examination of fetal brain in a rat model for neurodevelopmental disorders

○Tetsuo OGAWA, Seiji SHIODA

Department of Anatomy, Showa University School of Medicine

近年、胎生期のサリドマイドあるいはバルブロンサン暴露が自閉症を、また妊娠期の飲酒が注意欠陥多動性障害の出現に関与することが報告されている。これらの報告は、脳発達障害の原因の一つに胎生期化学物質暴露が大きく関与することを示唆している。しかし、新規化学物質の開発にあたり、脳発達障害の危険性を現行のガイドラインで論じることは困難であると思われる。脳発達障害動物モデルを用い、危険性が十分に評価でき、しかも現行の試験に組み込むことが可能なエンドポイントの検索が急務であると思われる。我々は、神経病理学的アプローチによる胎児脳をエンドポイントとした研究を進めている。本演題では、ラット胎児脳の病理組織標本作製の紹介と細胞分裂の指標として用いられる5-ブromo-2-デオキシウリジン (BrdU) の胎生期暴露によるラット多動性障害モデルにおいて、胎児脳に何が起きているか観察した結果を報告する。標本作製妊娠ラットを深麻酔下で開腹後、胎児脳を速やかに取り出し、4%パラホルムアルデヒド-リン酸緩衝固定液に浸し固定を行った。固定後、組織をゼラチンに包埋、ピブラトームで薄切し、連続切片を得た。浮遊法による免疫染色あるいはNissl染色を行った。妊娠9-15日に1日16回50mg/kgのBrdUを腹腔内投与し、妊娠16日にその親から得た胎児の脳を観察した。BrdU投与により、新皮質の神経上皮及び中間帯に細胞死が観察され、この細胞死はTUNEL陽性であった。この細胞死の誘発に関して、胎児・腹間で個体差が認められた。各観察胎児に一定して観察された所見として、皮質板の崩壊・不明瞭化が認められた。脳幹の領域には異常は認められなかった。この結果は、成熟動物に対し一般に使われている用量の化学物質が、胎児脳の初期発生に対し顕著な毒性を有することを示している。今後、胎児脳をエンドポイントにした研究が重要と考えられる。

✿ P7-60 Levobupivacaineのラット脊髄内投与における脊髄内残存性

○関 和代¹、熊谷 正道¹、森 照代¹、白仁田明夫²、渡邊 幸彦¹、田矢 廣司¹、王岐 孝子¹

¹丸石製薬(株)中央研究所、²(株)新日本科学

Disappearance of Levobupivacaine after intraspinal administration in rat

○Kazuyo SEKI¹, Masamichi KUMAGAI¹, Teruyo MORI¹, Akio SHIRANITA², Yukihiko WATANABE¹, Koji TAYA¹, Takako OHKURA¹

¹Marushi Pharmaceutical Co., Ltd. Central Research Laboratory, ²Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd

LevobupivacaineはBupivacaineの心毒性を軽減する目的で光学分割された局所麻酔薬である。Bupivacaineと同じく高い脂溶性の薬物であることから、神経組織への親和性が高くなり、そのため神経における残存性が懸念された。本研究はこの神経組織における残存性を検討するために実施された。方法エーテル麻酔下で、背部の皮膚を切開し、脊髄を露出させた。非絶食の雄性ラット (Crj:CD (SD), 7週齢, 1時点につきn=3) に、¹⁴C-Levobupivacaine (3mg/kg) を0.1mL/kgの容量で脊髄内 (L4~L6) に投与した。投与後5、15、30および60分に頸椎から腰椎までの脊髄を抽出した後、抽出した脊髄を隣椎側から約10mm間隔で切断し、9~11画分とした各断片から脊髄を抽出した。抽出した脊髄は組織溶解剤(ソルエン-350)で溶解後、液体シンチレーションカウンターにより組織中放射能を計測し、¹⁴C-Levobupivacaineの脊髄内分布と消失の経時的変動を検討した。結果:トータルの脊髄組織内濃度は15分後に最高値(165.6±31.2g eq/g)となり、30分後までに急速に減少し、その後60分後までは緩慢な減少となった。脊髄の各断片における分布は、投与部位付近に最も多く、投与部位から第3分画までの範囲で分布した。また、この分布の濃度は投与部位からの距離が遠くなる程低下した。結論:¹⁴C-Levobupivacaineの脊髄内 (L4~L6) 投与において、15分後に最高濃度となるが、その後30分までに急速に消失し、その後緩慢に減少する。さらに、頭部への移行はほとんど認められず、従って、本薬の神経への高親和性から懸念された脳内への移行はないと示唆された。

P7-61 イヌ脳脊髄液の経時的採取と neurotransmitter の分析

○原田 拓真、藤川 真章、井手上圭一、阿部 純子、浜田 悦昌、堀井 郁夫
ファイザー (株)

Cerebrospinal fluid sampling and neurotransmitter analysis in the fluid of conscious dogs

○Takuma HARADA, Masaaki FUJIKAWA, Keiichi IDEGAMI, Junko ABE, Yoshimasa HAMADA,
Ikuo HORII
Pfizer Japan Inc.

投与した薬物が中枢神経系に及ぼす影響を解析するために脳脊髄液 (CSF) 中の薬物および神経伝達物質を測定することはイヌにおいても既に行われていることである。しかしながら、イヌからのCSF採取はほとんどが麻酔下で実施されているのが現状である。この場合、麻酔薬の使用によってCSF中の神経伝達物質のバランスが変化するために、正確に神経伝達物質の量を評価することは困難となる。そこで本実験では、大槽から脊髄腔内にポリウレタンチューブを留置する手術をイヌに実施し、一般状態が回復後、4時間毎に2日間、無麻酔下でCSF (0.3mL/time point) を採取した。CSF中の神経伝達物質として、glutamate、serotoninの代謝物である5-HIAAおよびdopamineの代謝物であるHVAの濃度をHPLCを用いて測定した。その結果、HVAについては夜間高値/日間低値のパターンを示す個体が認められた。一方、glutamateおよび5-HIAAについては昼夜間での明らかな差異は認められなかった。以上のことから、無麻酔イヌのCSFを経時的に採取し、CSF中の神経伝達物質の変動幅や日内変動パターンを比較することにより、脳内神経伝達物質の変動、すなわち薬物投与あるいは病態による脳の機能変化を推測できる可能性が示された。

P7-62 3-Acetylpyridineのラット単回腹腔内投与による神経に対する毒性影響

○姜 景涛、小林 吉彦、根田 公一
(株)富士バイオメディックス小浜沢総合研究所

Neurotoxic Effects of 3-Acetylpyridine in Sprague-Dawley Rats at Single Intraperitoneal Injection

○Jingtao JIANG, Yoshihiko KOBAYASHI, Koichi NEDA
Kobuchisawa Laboratories, Fuji Biomedix Inc., LTD.

【目的】3-Acetylpyridineは、ラットに腹腔内投与することにより延髄のオリブ核神経細胞の消失など中枢神経障害を誘発することが知られている。今回我々は3-Acetylpyridineの中枢及び末梢の神経に対する毒性影響を検討した。【材料および方法】SD系雄性ラット (6週齢) を用いた。3-Acetylpyridineの0、30及び60mg/kgを単回腹腔内投与し、各群5匹について投与後4時間、1、7及び14日に詳細な症状観察、感覚運動検査、前肢/後肢握力、自発運動量測定を実施した。また、投与後6時間、1、3、7及び14日に各群より3匹ずつ灌流固定した後、大脳、小脳、延髄、脊髄、脊髄神経節及び近位の坐骨神経、近位の脛骨神経および脛骨神経の腓骨筋分枝部を採取し、常法に従って光学及び電子顕微鏡を用いて検索した。【結果】症状等の観察、測定では30mg/kg群に著明な異常が認められなかった。60mg/kg群では投与後1日に歩行異常、よろめき歩行、痙攣及び嘔き呼吸がみられた。その後、歩行異常及びよろめき歩行は投与後14日まで観察された。機能検査では投与後7日及び14日に前肢握力の減少傾向及び後肢の有意な減少がみられた。自発運動量では投与後4時間-1日に自発運動量が減少し、神経病理学的検査では30mg/kg群では異常が認められなかった。60mg/kg群では投与後6時間から延髄のオリブ核神経細胞の変性、壊死、投与後7日から多数のmicrogliaとastrocytesが同部位に認められた。投与後1日から頸部及び腰部脊髄神経節の神経細胞変性もみられた。末梢神経では坐骨神経、脛骨神経及び腓骨筋分枝部の髄鞘及び軸索の変性、崩壊が投与後3日から観察された。【結論】以上の成績から、3-Acetylpyridineのラット単回腹腔内投与により中枢神経および末梢神経に障害が認められた。

P7-63 白色LED光源一体型電極を利用したラットにおけるFull-field ERGの検討

○山下 晴洋, 佐々木正治, 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

Full-Field ERG obtained using a contact lens electrode with built-in high intensity white light-emitting diodes in rats.

○Haruhiro YAMASHITA, Shoji SASAKI, Isamu NAKAMURA, Yoshinobu IWAKI, Masaaki KIMURA

Toxicology Laboratory, Medicinal Research Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.

【目的】ヒトの臨床においてERGはISCEVにより、正確な診断、病態の進行度把握のために5つの反応（Full-field ERG: rod response (RR), maximal response (MR), oscillatory potentials (OP), cone response (CR) 及び flicker response (FR)) を測定することが推奨されている。今回我々は、白色LED光源一体型電極を用いてFull-field ERGのラットへの応用性を検討した。【材料及び方法】動物は生後7-11週齢のCD (SD) IGS系雄性ラットを使用した。キシラジン・ケタミン混合液の腹腔内投与により鎮静し散瞳剤の点眼にて散瞳させ、白色LED発光装置、白色LED光源一体型電極及び誘発電位検査装置を用いERGを記録した。本研究では実験①として測定条件を検討し、実験②として網膜症を惹起することが知られているSodium iodate (SI) 30mg/kgを単回静脈内投与した時のFull-field ERGへの影響を検討した。【結果及び考察】実験①の結果、ERGの測定条件は刺激光をRR測定時に $3.5 \log \text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$ 、MR、OP、CR及びFR測定時に $1.2 \log \text{cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$ 、CR及びFR測定前の明暗応答時間を10分、測定時の背景光を $10 \text{cd}/\text{m}^2$ とした。実験②の結果、MR、OPに先立ってRRが先行して減弱し、中にはSI投与後3時間でRRが消失し、3日後に全ての反応が消失した例もみられたことからラットにおいてSIは錐体より先に桿体に影響を与えることが示唆された。以上の結果より白色LED光源一体型電極を用いた方法はラットにおいて薬物性視覚障害における桿体と錐体への影響を分離し、より早期に検出できることから視覚障害検出法として有用である可能性が示唆された。

P7-64 ラット胎生期5-bromo-2'-deoxyuridine暴露による運動量増加へのモノアミン神経系の関与

○折戸 謙介¹, 森島 昭彦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・獣医・薬理, ²昭和大学・医・第一解剖, ³食薬・試験部・安全性

Involvement of abnormalities of aminergic system in the hyperactivity induced by prenatal 5-bromo-2'-deoxyuridine exposure in rats

○Kensuke ORITO¹, Akihiko MORISHIMA¹, Tetsuo OGAWA², Katsumasa MUNEDA²,

Makiko KUWAGATA³, Mitsuyuki SHIRAI¹, Fumiaki AKAHORI¹

¹Department of Pharmacology, Azabu University, School of Veterinary Medicine, ²Department of Anatomy, Showa University School of Medicine, ³Safety Testing Laboratory, Hitano Research Institute, Food and Drug Safety Center

一般薬理(523-1)

我々はラットにおいて胎生期に5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を暴露すると、出生子の運動量が増加することを明らかにしてきた。本研究では、BrdUにより惹起される運動量増加におけるモノアミン神経系の関与を追究するため、これら神経終末の再取り込み部位に親和性を有する薬物を用いた負荷試験を行った。SD系ラットの妊娠9-15日にBrdUを50mg/kg腹腔内投与し、生後5-8週齢の雄ラットを実験に供した。デシプラミン（ノルエピネフリン再取り込み阻害薬）およびメチルフェニデート（神経刺激薬）を腹腔内投与した20分後よりオープンフィールド（底面45cm×45cm、壁の高さ40cm）内での移動距離を20分間観察した。これまでの報告と一致して、胎生期にBrdUを暴露したラット（B群）は、BrdUの溶解度であるCMCを腹腔内投与したラット（C群）に比べ有意な運動量の増加を示した。デシプラミン（1, 3, 10mg/kg）はB, C両群において同様に用量依存性に運動量を減少させた。メチルフェニデート（1, 3, 10mg/kg）は、C群で10mg/kgのみが増加を示したが、B群では、もともと運動が亢進しているにもかかわらず、3mg/kgより用量依存性に運動量をさらに増加させた。以上の結果より、胎生期BrdU暴露は、ドーパミン系の発達に影響を及ぼすことが示唆された。

P8-01 サルの毒性試験におけるホルター心電計によるQT計測評価

○坂本 憲吾¹、木谷 伸一¹、武藤 紀生¹、野村 謙¹
(株)イナリサーチ

Evaluation of QT prolongation by Holter ECG system for toxicity studies in monkeys

○Kengo SAKAMOTO, Shin-ichi KITANI, Norio MUTO, Memoru NOMURA
INA Research Inc.

【目的】サルの一般毒性試験での安定した心電図計測のためのホルター (HT) 心電計導入を目的とし、HT装着訓練、QT延長作用のある塩酸ソタロール (SL) を用いたテレメトリー (TM) 心電図との比較、ならびにSL反復投与時のHT心電図測定を行った。【方法】実験1: カニクイザル雄雌各3頭 (2.5歳) にジャケットを1週間連続着用させ馴化後、週1回3週間目まで24時間HT心電図を測定した。同時にストレス因子として血中コルチゾールを測定した。実験2: カニクイザル雄3頭 (5歳) にSL5mg/kgを単回経口投与し、TMにより心電図を測定した。休養後SL5mg/kgを単回経口投与し、HTにより心電図を測定した。実験3: 実験2と同じ動物にSL1mg/kgを14日間反復経口投与し、週1回HT心電図を測定した。【結果】実験1: 馴化1週目の心拍数 (回/分) は、HT装着後2時間以内に140以下に低下し、拘束下の場合 (通常200以上) より明らかに低かった。馴化第2および3週目の心拍数は、第1週と比べて10ないし20低い推移を示した。HT群のコルチゾール値は、非馴化の対照群と比べ概ね低かった。実験2: SL投与後のQTcF (Fridericia) は前値と比べてTMでは約20%、HTでは約32%延長した。実験3: SLの反復投与により、QTcFは前値と比べて第7日に約21%延長したが、第14日には延長はみられなかった。【結論】心拍数および血中コルチゾール値の推移から、1週間でHT装着に対する馴化は可能であると考えられた。またHTにより、TMと同様にSL単回投与によるQTc延長のほか、低用量のSL反復投与によるQTc延長も捉えられた。以上のことから、毒性試験へのHT心電計の導入は心電図のQT評価に有用であると考えられた。

P8-02 イヌおよびサルの心電図および血圧に及ぼすE-4031およびVerapamilの影響 - テレメトリーシステムによる観察 -

関谷 浩司¹、山本 恵司²、○坂本 憲吾¹、木谷 伸一¹、武藤 紀生¹
(株)イナリサーチ、²武田薬品工業 (株)

Effects of E-4031 and Verapamil on electrocardiogram and blood pressure in dogs and monkeys

Koji SEKIYA¹, Keiji YAMAMOTO², ○Kengo SAKAMOTO¹, Shin-ichi KITANI¹, Norio MUTO¹
¹INA Research Inc., ²Takeda Chemical Industries, Ltd.

【目的】イヌおよびサルの心電図および血圧に及ぼすE-4031およびverapamilの影響を比較した。【方法】ビーグル (雄、18~21ヶ月齢、10~16kg) およびカニクイザル (雄、4~6歳、4~8kg) 各4匹にテレメトリー送信器を留置して用いた。0.5%メチルセルロース水溶液、E-4031 (0.3, 1, 3mg/kg) またはVerapamil (1, 5, 15mg/kg) をラテン方格法で割り付け、絶食下で強制経口投与した。測定項目: 心拍数、平均血圧、心電図 (第II誘導) のRR、PQ、QRS、QT、QTc間隔 (Fridericiaの式を使用) および血中濃度を投与後24時間後まで連続計測した。【結果】E-4031: イヌ、サルのいずれにおいても、ほぼ用量依存的なQT延長がみられた。前値と比べたQTcの増加率は、低用量から順にイヌで11, 21および25%、サルで33, 46および47%であった。その他の観察項目に影響はなく、E-4031血中濃度のCmaxは、低用量から順にイヌで7.7, 37.1および146.5ng/mL、サルで35.4, 105.6および433.2ng/mLであった。Verapamil: イヌの15mg/kgでPQの延長、5および15mg/kgで心拍数の増加が、また、サルの15mg/kgで心拍数の増加傾向が見られた。【考察】E-4031のCmaxがほぼ等しかったイヌの3mg/kgとサルの1mg/kgを比較すると、サルのQTcの増加率はイヌの約2倍であった。従って、少なくともQT間隔に及ぼす影響の観察では、E-4031に対するサルの感受性はイヌより高い可能性が示唆された。Verapamilでは、イヌでは既報と同様にPQ延長と心拍数増加がみられる用量範囲においてもQTcに影響はみられず、また、サルにおいても心拍数増加を惹起する用量においてもQTc延長を生じないことが確認された。

P8-03 In vitro心室筋活動電位試験を用いた薬物のQT延長作用の評価:ベプリジルのモルモット乳頭筋の活動電位に対する作用

○下里 貴¹、島田 千明²、佐治 大介¹、堀 克彦¹、木村伊佐美¹、西森 司雄¹

¹(株) 環境バイオス研究所 生物科学研究部、² 扶桑薬品工業(株) 研究開発センター

In vitro action potential duration assay for assessing the potential for QT prolongation: effects of bepridil on action potentials in guinea-pig papillary muscles

○Takashi SHIMOSATO¹, Chiaki SHIMADA², Daisuke SAJI¹, Katsuhiko HORI¹, Isami KIMURA¹, Tsukao NISHIMORI¹

¹Environmental Biological Life Science Research Center Inc. Biological Science Laboratories, ²Fuso Pharmaceutical Industries, Ltd. Research and Development Center

不整脈及び心房症の治療に用いられるカルシウムチャンネルブロッカーのベプリジルはさまざまなイオンチャンネルに対する作用があり、稀にQT延長及びTorsade de pointesを引き起こすことがある。我々は微小電極法を用いてモルモット乳頭筋活動電位に対するベプリジルの作用を0.1、1、10及び100 μ mol/Lの濃度について検討した。全ての刺激頻度(0.5、1.0及び2.5 Hz)において、ベプリジルは100 μ mol/Lで活動電位高(APA)とその最大立ち上がり速度(Vmax)を抑制し、静止膜電位(RMP)に対しては影響を及ぼさなかった。活動電位持続時間(APD)に対し、ベプリジルは全ての刺激頻度で濃度依存的にAPD₅₀を短縮し、10 μ mol/Lを最大としてAPD₅₀を延長した。なお、0.5及び1.0Hzで認められたAPD₅₀の延長は5%以下の軽微なものであった。一方、APD₉₀(APD₅₀とAPD₁₀₀の差)は全ての刺激頻度で濃度依存的な延長が認められた。この事実よりAPD₉₀はベプリジルのQT延長作用を明確に示すものであると考えられた。また、ベプリジルのI_{Ca}の抑制作用はAPD₅₀の短縮として、I_{Ca}の抑制作用はAPA及びVmaxの低下として反映された。さらに、APD₅₀の延長が頻度依存的に認められたことはベプリジルのAPD₅₀延長作用にIKsが関与していることを示唆している。以上の結果から、in vitroモルモット乳頭筋を用いた活動電位試験によってカルシウムチャンネルブロッカーであるベプリジルのQT延長作用の評価が可能であることが確認された。また、本試験方法から得られた結果はベプリジルの複数のイオンチャンネルに対する作用を示唆するものであった。

P8-04 自動パッチクランプシステムを用いたhERG試験の最適化

○津崎 健二、米沢 恵子、片山 義三、阿部かなえ、鶴岡 裕治

(株) 薬物安全性試験センター 薬理研究室

Optimization of the hERG assay using an automated patch-clamp system.

○Kenji TSUZAKI, Keiko YONEZAWA, Yoshimi KATAYAMA, Kanoe ABE, Yuji TSURUBUCHI

Drug Safety Testing Center Co. Ltd.

一般薬理(P3/P7)

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として、human ether-a-go-go-related gene (hERG) 発現細胞を用いたホールセルパッチクランプ法がある。パッチクランプ法はhERGチャンネルを通過するカリウムイオン電流を直接測定できるため、薬物のhERGチャンネルへ影響を評価する上で、信頼性の高い評価系として広く用いられている。パッチクランプ法による評価には、熟練者による長時間にわたる実験を必要とするため、現在多くの自動パッチクランプシステムが開発されている。しかし実験条件によっては、従来のパッチクランプ法と自動パッチクランプシステムの評価結果に違いが生じることが報告されている。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チャンネルを発現させたHEK293細胞を用い、従来のパッチクランプ法と自動パッチクランプシステムについてhERG電流抑制作用の評価能を比較し、両評価系で結果に違いが生じる原因について検討を行った。その結果、自動パッチクランプシステムにおいて適用時まで被験物質溶液を貯留するプレートへの被験物質の吸着が、その主たる要因であることが確認された。被験物質の調製及び適用に使用する容器等の材質や適用法を検討したところ、プレートの材質を最適化することにより、両評価系でほぼ同等の評価能を得られることが明らかとなった。

P8-05 Terfenadineの無麻酔無拘束カニクイザルにおけるQT間隔に及ぼす影響

○橋 美樹¹、藤岡 繁¹、清水 憲次¹、中井 恵子²、藤野 明治¹

¹(株)富士バイオメディックス、²三菱化学安全科学研究所

Influence that exerts it in the QT interval in unanesthesia unrestraint monkey of Terfenadine

○Yoshiki TATE¹, Shigeru FUJIOKA¹, Noritugu SHIMIZU¹, Keiko NAKAI², Akiharu FUJINO¹

¹Fuji biomedix, ²Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.

【目的】TerfenadineのQT延長作用については、未だ不明な点が多い。今回は、カニクイザルにおけるQT延長作用を明らかにするために、Terfenadine単独の単回経口投与及び7日間反復経口投与、並びにKetoconazole併用による単回経口投与を行い、各試験のQT延長及び血中動態を比較検討した。

【方法】カニクイザル4頭を用いて、Terfenadineの単回投与は0、30及び100mg/kgで、7日間反復投与は100mg/kgで、Ketoconazole併用投与はKetoconazole50mg/kg+Terfenadine100mg/kgで投与した。心電図は無麻酔無拘束でホルター法により記録し、QT及びRR時間を計測した。また、Terfenadine100mg/kg投与、Ketoconazoleとの併用投与、反復投与の第1と7日に、投与後0から24時間まで経時的に採血し、Terfenadineの血漿中濃度測定を実施した。

【結果】Terfenadineの単回投与では100mg/kgでも明らかなQT延長は観察されなかった。Ketoconazole50mg/kg+Terfenadine100mg/kg併用投与では、投与後2時間から12時間まで明らかなQT延長が観察された。反復投与では投与回数に応じてQT延長がより明らかになったが、その程度はKetoconazole併用投与と比べて軽度であった。血漿中濃度測定は現在測定中である。

【考察及び結論】単回投与によるQT延長は、Terfenadine単独では明らかでなかったが、Ketoconazole併用で明確に認められたことから、通常状態での単回投与ではTerfenadineは速やかに代謝されてQT延長作用は示さないものと考えられた。また、反復投与ではQT延長が次第に明らかになったことから、Terfenadineの血漿中での存在あるいは心臓組織内への蓄積が推察された。

P8-06 無麻酔無拘束カニクイザルを用いた imipramine の経口投与による心電図 QT 間隔に及ぼす影響

○今泉 真和、佐々木一徳、飯塚 宏美、直 弘、于 文蔚、戎亥 辰巳、加藤 淳子、西 勝英

(株) パナファーム・ラボラトリーズ

Effect on QT interval by oral administration of imipramine in unanesthetized and unrestrained cynomolgus monkeys

○Masakazu IMAIZUMI, Kazuaki SASAKI, Hiromi IIZUKA, Hiroshi ATA, Wen-ge YU, Tatsumi INUI, Atsuko KATOU, Katsuhide NISHI

Panapharm Laboratories Co., Ltd.

近年、中枢作用薬をはじめ、多くの薬物で致死性不整脈が報告されている。当研究室で実施した imipramine によるモルモット横位心臓の心電図、モルモット心筋細胞活動電位およびhERG細胞のカリウム電流などの *in vitro* 実験でも QTc の延長や活動電位幅の延長が観察されている。しかし、*in vivo* での imipramine についての報告は少ない。オスのカニクイザル (3-4歳、3.0-6.0kg、ヴェトナム産) を用いて、麻酔下にテレメトリー送信機 (TL11M2-D70-PCT, Data Science International, USA) を埋め込み、標準四肢第二誘導法に従って皮下に心電図電極を留置した。今回、埋め込み手術より2週間以上経過した動物に imipramine を経口投与し、無麻酔無拘束カニクイザルの血圧、心拍数及び心電図を解析 (hem, Notocord, France) し、心電図QT間隔を指標に imipramine の不整脈作用について *in vitro* 実験の結果と比較検討する。

P8-07 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 1) モルモット乳頭筋活動電位試験の標準プロトコール及び施設間差

○山崎隆三¹、木谷 伸一¹、小林 和雄¹、奥田 千明¹、下里 貴¹、谷口 真也¹、森 辰也¹、菅波 秀規²、山田 雅之²、山本 恵司²、佐神 文郎²

¹日本製薬工業協会 QT PROTECT, ²日本製薬工業協会 統計・DM部会

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 1) Standard Protocol and Inter- and Intra-Facility Differences in APD Assay Using Isolated Guinea Pig Papillary Muscles

○Ryuzaburo YAMAZAKI¹, Shinichi KITANI¹, Kazuo KOBAYASHI¹, Chiaki SHIMADA¹, Takashi SHIMOSATO¹, Shinya TANIGUCHI¹, Tatsuya MORI¹, Hideki SUGANAMI², Masayuki YAMADA², Keiji YAMAMOTO², Fumio SAGAMI²

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PROTECT, ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) Biostatistics and Data Management Subcommittee

製薬協のQT PROTECT活動の一環として、製薬企業16社及びCRO 6社の22社においてモルモット乳頭筋活動電位 (APD) 試験を実施し、施設内及び施設間のデータの比較を行った。

APD試験は、施設間でのデータのバラツキを小さくするため、灌流液の組成や温度、電気刺激強度等の試験条件を一定にした標準プロトコールに従って実施した。各施設で使用している機器、解析ソフト等、条件が一定でない項目に関しては施設間差の原因となるかどうかを検討した。

d, l-Isotalolol (30 μ mol/L) は静止膜電位 (RMP)、活動電位振幅 (APA)、最大立ち上がり速度 (V_{max}) に影響を与えなかったが、活動電位持続時間 (APD) の APD_{50} 及び APD_{90} (APD_{50} と APD_{90} の差) をいずれも延長させた。溶媒 (0.1% DMSO) は、各パラメータに影響を与えなかった。投与前値においては、施設内及び施設間ともにAPA及びRMPが変動の少ないパラメータであり、 V_{max} が変動の大きいパラメータであった。また、APDはその中間に位置するパラメータであった。APDに関しては、 APD_{50} の施設間差が APD_{50} 及び APD_{90} に比べ大きかった。 APD_{90} は APD_{50} により影響を受けることから、施設間差は APD_{50} と同様な傾向を示した。d, l-Isotalolol 適用後において、 APD_{50} 、 APD_{90} 、 APD_{50} 及び APD_{90} の施設間差はAPA、RMP、 V_{max} よりも大きかった。しかし、施設間差の程度は施設内差を超えるものではなかった。

以上、施設間差は施設内差を超えるものでなく、d, l-Isotalolol のAPD延長作用が、全ての施設で確認されたことから、本試験系は標準的なプロトコールを用いる事により、いずれの試験施設においてもQT延長の評価として使用可能であることが示唆された。

P8-08 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 2) モルモット乳頭筋を用いたAPD試験の有用性—hERG試験およびイヌPurkinje線維APD試験との比較—

○田保 充康、米野 雅晴、林 誠治、木井 由秀、天野 秀人、山本 恵司、佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PROTECT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 2) The Usefulness of APD Study in Isolated Guinea Pig Papillary Muscles -Comparison with hERG study and canine Purkinje fiber APD study -

○Mitsuyasu TABO, Maseharu KOMENO, Seiji HAYASHI, Yoshihide Kii, Hideto AMANO, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PROTECT

一般試験 (10/2)

【目的】製薬協基礎研究部会ではICH S7Bガイドラインの作成に寄与することを目的に、QT PROTECTとして共同研究を行っている。その一環として、製薬企業19社及びCRO 7社が参加して、陽性対照薬11と陰性対照薬10の計21薬物についてモルモット乳頭筋活動電位に対する作用を検討し、本試験系の有用性を評価した。【方法】雄性モルモットの右心室乳頭筋を摘出し、微小電極法により心筋活動電位を測定した。被験物質はいずれも3~4濃度を設定し、1標本につき1濃度のみを適用した (n=6)。被験物質の適用前と適用開始後30分に刺激強度1、0.5、2.5Hzの順で2~3分間刺激し、各刺激強度における最大立ち上がり速度 (V_{max})、活動電位持続時間 (APD_{50} 、 APD_{90} 、 APD_{50}) 及び APD_{90} (APD_{50} と APD_{90} の差) を解析した。【成績】①陽性対照薬のうち、 I_{Kr} 特異的遮断薬は濃度依存的に APD_{50} 及び APD_{90} を延長させた。② I_{Kr} に加えて I_{Ks} あるいは I_{Kd} 遮断作用のあるマルチチャンネル遮断薬では、濃度依存的な V_{max} の低下あるいは APD_{50} の短縮がみられたが、 APD_{90} の濃度反応性は複雑で、一方性の延長又は短縮あるいは釣鐘型延長を示した。 APD_{90} を指標とした場合、モルモット乳頭筋APD試験はイヌPurkinje線維APD試験 (文献) よりも感度、特異度ともに優れていた。③ほとんどの I_{Kr} 阻害薬は APD_{90} の濃度依存的な延長作用を示し、 APD_{90} を10%延長させる濃度とhERG IC_{50} 値 (文献) に相関がみられた。【総括】モルモット乳頭筋APD試験は従来の測定パラメータに APD_{90} を加えることにより、 I_{Kr} (hERG)、 I_{Ks} 及び I_{Kd} に及ぼす影響を同時に評価することが可能となるので、薬物の心筋における電気生理学的作用の解明に有用であると考えられた。

P8-09 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 3) イヌテレメトリー試験における施設間差

○佐々木弘幸、金納 明宏、安東賢太郎、今別府 進、渡邊 裕之、菅波 秀規、山本 恵司、佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODUCT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 3) Inter-facility Differences in Electrocardiographic and Hemodynamic Parameters in Telemetered Dogs

○Hiroyuki SASAKI, Akihiro KANNO, Kentaro ANDO, Susumu IMABEPPU, Hiroyuki WATANABE, Hideki SUGANAMI, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODUCT

【目的】薬物誘発性QT間隔延長に関するICH安全性薬理試験ガイドラインS7Bの作成に寄与すること、並びにデータベースを構築することを目的に、JPMA QT PRODUCTでは、種々のモデルを用いた共同研究を行なっている。今回我々は、in vivo評価の一環としてイヌを用いたテレメトリー試験の標準化を試みた。本試験では、8つの試験施設においてd(-)-sotalolの影響を同一プロトコールで評価し、施設間差を検討した。また、併せてブリーダー間及び月齢（または体重）とd(-)-sotalolの反応性についても若干の検討を加えた。【方法】実験には雑種ビーグル犬（7.8-14.2kg、8-23M、Covance, MarshallまたはTOYO）を用いた。麻酔下に皮下に送信器を埋設（第Ⅲ誘導またはA-B誘導）し、2週間以上の回復期間後、試験に供した。媒体またはd(-)-sotalol（10mg/kg）を経口投与し、投与前並びに投与後1、2、4、8及び24時間の心電図（RR、PR、QRS及びQT間隔）、平均血圧、心拍数を測定した。なお、QT間隔の補正（QTc）はFridericiaの式に従った。【結果及び結論】媒体投与前24時間の平均QTc間隔は233±5msから252±9msであり、施設間に差がみられた。d(-)-sotalol投与による反応性（最大反応時間等）も施設間でわずかに異なったが、全ての施設でQTc間隔の延長が認められた。血圧、心拍数とd(-)-sotalolの反応性では、血圧との間に関連がある可能性が示唆された。また、反応性について、ブリーダー間差はみられなかったが、月齢（または体重）の間には関連がある可能性が示唆された。以上の結果から、イヌテレメトリー試験では、投与前QTc間隔、最大反応時間に施設間でわずかに差を認めたが、d(-)-sotalol投与によるQTc間隔の延長は各施設ともに認められた。

P8-10 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 4) サルテレメトリー試験における施設間差

○清水 憲次、日誌 信吾、佐々木弘幸、安東賢太郎、今別府 進、山本 恵司、佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODUCT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 4) Inter-facility Differences in Electrocardiographic and Hemodynamic Parameters in Telemetered Monkeys

○Noritsugu SHIMIZU, Shingo HIZUME, Hiroyuki SASAKI, Kentaro ANDO, Susumu IMABEPPU, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA)

【目的】薬物誘発性QT間隔延長に関するICH安全性薬理試験ガイドラインS7Bの作成に寄与すること、並びにデータベースを構築することを目的に、JPMA QT PRODUCTでは、種々のモデルを用いた共同研究を行なった。我々は、その活動の一環としてサルを用いたテレメトリー試験について、6つの施設において同一薬物（sotalol）の評価を行い、施設間差を検討した。

【方法】各施設ともカニクイサル4頭を用いて、麻酔下で腹腔内にテレメトリー送信器を埋め込んだ。埋め込み手術回復後、媒体（メチルセルロース5mL/kg）またはd(-)-sotalol（5mg/kg）を経口投与し、心電図（電極位置：右胸部皮下（-）、左腹側部皮下（+））を測定した。投与前並びに投与後1、2、4、6、8及び24時間に心電図（RR、PR、QRS及びQT間隔）、平均血圧、心拍数を測定した。なお、QT間隔の補正（QTc）はBazettの式を用いた。

【結果および結論】QT間隔及びQTcは各施設ともd(-)-sotalol投与により延長した。その程度に施設間差は認められなかったが、施設内における個体のばらつきは大きかった。なお、QT間隔の最大延長を示した時間には施設間差が認められ、個体別には投与後1-4時間と6-8時間に2極化していた。このQT間隔のばらつきについて心拍数と動物の性格との関連を検討したが、いずれも関連は認められなかった。その他のパラメーターのうち、平均血圧及びPRには差は認められなかったが、心拍数及びQRSには施設間差あるいは個体によるばらつきが認められた。以上のとおり、サルにd(-)-sotalolを投与することで、各施設ともQT延長は認められたが、延長の時間帯には施設間あるいは個体間のばらつきが大きいことが確認された。

P8-11 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 5) 麻酔イヌ心電図の標準プロトコールと施設間差

○太田 幹雄、岸本 直、田道 弘行、山本 恵司、今別府 進、佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODOACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 5) Standard protocol and inter-facility differences in electrocardiographic determination in anesthetized dogs.

○Mikio OTA, Tadashi KISHIMOTO, Hiroyuki TASHIBU, Keiji YAMAMOTO, Susumu IMABEPPU, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODOACT

【目的】薬物誘発性QT間隔延長に関するICH安全性薬理試験ガイドラインS7Bの作成に寄与すること、並びにデータベースを構築することを目的に、JPMA QT PRODOACTでは、種々のモデルを用いた共同研究を行なっている。今回我々は、*in vivo*評価の一環として、イソフルラン麻酔イヌモデルの標準化を試みた。本実験では、5つの試験機関において、心電図及び循環動態プロファイルに及ぼすsotalolの影響を同一プロトコールで評価し、その施設間差について検討した。【方法】実験には雄性ビーグル犬（体重8-13kg; N=4）を用いた。チオペンタールNa（20mg/kg, i.v.）で導入麻酔後、実験中は人工呼吸下で酸素及びN₂O（2:3）をキャリアガスとして1-2%イソフルランにより吸入麻酔を行った。sotalolは0.3mg/kg/minの投与量で10分間、静脈内持続投与し、投与溶液（1%乳酸溶液）と比較検討した。平均血圧、心拍数、心電図（標準肢第II誘導:RR, PR, QRS及びQT間隔）は投与開始前、5、10、15、20、25分後に測定した。QT間隔の補正（QTc）はFridericiaの式に従った。背景パラメーターとして実験開始前後の体温、動脈血液ガス、動脈血pHを測定した。【結果及び結論】背景パラメーターのうち、投与前の心拍数、体温、動脈血pHの値には各施設間で差が認められたものの、全ての施設においてsotalolはQTcの延長作用を示した。QTcの延長と心拍数、体温、動脈血pHの各投与前値との間に関連性がある可能性が考えられた。以上の結果から、イソフルラン麻酔イヌモデルにおいて、麻酔状態の適切な維持は薬物によるQT間隔延長の検出に重要であることが示唆された。

P8-12 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 6) イヌテレメトリー各薬物の用量反応性

○豊島 茂樹、金納 明宏、北山 哲也、関谷 浩司、春名 正雄、三野 裕正、宮崎 裕康、矢野 浩二、山本 恵司、佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODOACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 6) Dose (concentration) -response analysis of drug-induced QT interval prolongation in conscious dogs.

○Shigeki TOYOSHIMA, Akihiro KANNO, Tetsuya KITAYAMA, Koji SEKIYA, Masao HARUNA, Terumasa MIINO, Hiroyasu MIYAZAKI, Koji YANO, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODOACT

【目的】薬物の心電図QT間隔延長作用について、安全性薬理試験S7Bガイドラインの作成に寄与することを含め、製薬協QT PRODOACT (QT Interval Prolongation: Project for Database Construction) としてデータベースの作成を行う。その*in vivo*評価の一環として、セトで心電図QT間隔を延長させると考えられる10薬剤（陽性化合物）、及びそのような作用がないと考えられる8薬剤（陰性化合物）が、無麻酔イヌのQT間隔に及ぼす影響についてテレメトリーシステムを用いて検討した。

【方法】実験方法及び解析方法については、通常実施される安全性薬理試験を想定して設定した。実験はQT PRODOACTで作成した共通プロトコールに基づき、9施設で実施した。各被験薬はテレメトリー送信器を埋め込んだ4例の雄性ビーグル犬に経口投与した。いずれの動物にも溶液及び3用量の被験薬を、ラテン方格または漸増法で投与した。心拍数、血圧、心電図を投与後24時間まで測定し、Fridericiaの補正式でQTcFを算出した。また陽性化合物については血中濃度を測定した。

【結果と考察】陽性化合物についてはすべての薬剤で、溶液に対して最高で10%以上のQTcF延長がみられ、ほとんどが用量依存性であった。陰性化合物によるQTcF延長作用については、Nifedipineを除いていずれも最高で10%以下であり、有意差もみられなかった。Nifedipineでは10%以上のQTcF延長がみられたが、心拍数が著しく増加しており、さらに詳細な解析が必要と考えられた。以上の結果、薬物により誘発されるQT間隔延長のリスク評価に、イヌテレメトリーモデルは有用と考えられた。一方、陰性化合物でも10%近くのQTcF延長（ばらつき）が一部の薬剤でみられたことから、カットオフ値は10%とするのが適切と考えられた。

一般演習 (E15-9)

P8-13 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 7) サル テレメトリー試験における薬物誘発性QT間隔延長に対する用量反応性の検討

○池田 博徳、安東賢太郎、山本 恵司、佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODUCT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 7) DOSE- RESPONSE ANALYSIS OF DRUG-INDUCED QT INTERVAL PROLONGATION IN CONSCIOUS MONKEYS

○Hironobu IKEDA, Kentaro ANDO, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODUCT

【目的】安全性薬理試験でサルを用いたテレメトリー試験が増えているにも関わらず、心電図パラメーターに関する背景データは少ない。そこで、JPMA QT PRODUCT ではサルを用いたテレメトリー法において各種薬物の心電図QT間隔に対する影響を検討し、背景データを取得した。【方法】実験は6施設で実施し、JPMA QT PRODUCTの標準試験計画に従い薬物毎にテレメトリー用送信機を埋め込んだカニクイザル4頭を用いた。被験薬（溶媒及び3用量）は休薬期間においてラテン方格又は漸増的に経口投与し、心電図（第II誘導）を測定した。QT間隔はBazett式で補正し、QTc間隔を算出した。陽性化合物として cisapride, astemizole, E-4031, haloperidol, MK-499, pimozone, quinidine, terfenadine 及び thioridazine を、陰性化合物として aspirin, captopril, ciprofloxacin, diphenhydramine, propranolol 及び verapamil を評価した。いくつかの陽性化合物については、血中濃度を測定した。【結果】殆どの陽性化合物は溶媒群に対しQTc間隔を10%以上延長した。血中濃度を測定した Cisapride, E-4031, Quinidine 及び Thioridazine は血中濃度に相関してQTc間隔を10%以上延長した。Terfenadineの血中濃度は3/4例で定量限界以下であった。陰性化合物では明確なQT延長作用は認められなかった。【結論】殆どの陽性化合物はQTc間隔を10%以上延長した。これらの結果、QTc間隔が10%以上延長するとQT延長作用ありと判断できると考えられた。しかしながら、陽性化合物で明確なQT延長作用が認められない例があったことから、その判断には薬物動態を考慮する必要があると考えられた。

P8-14 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 8) 麻酔イヌ各薬物濃度反応性

○田邊 弘行、宮崎 裕康、秋江 靖樹、太田 幹雄、山本 恵司、佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODUCT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 8) Dose (concentration) response analysis of drug-induced QT interval prolongation in anesthetized dogs

○Hiroyuki TASHIBU, Hiroyasu MIYAZAKI, Yasuki AKIE, Mikio OTA, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODUCT

【目的】薬物誘発性QT間隔延長に関するICH安全性薬理試験ガイドラインS7Bの作成に寄与すること、並びにデータベースを構築することを目的に、JPMA QT PRODUCTでは種々のモデルを用いた共同研究が行われている。その一環として、イソフルラン麻酔イヌモデルを用い、ヒトでQT間隔延長・不整脈を引き起こすことが知られている10化合物（陽性化合物）と、その様な作用は極めて小さいと考えられている8化合物（陰性化合物）を、QT PRODUCTで定めた標準プロトコールに従って評価し、本モデルの有用性を検討した。【方法】雄ビーグル犬（体重8-13 kg; N=3-4）を用い、チオペンタールNa（20mg/kg, Iv.）で導入麻酔後、人工呼吸下で酸素及びN₂O（2:3）をキャリアガスとして1-2%イソフルランにより吸入麻酔を行い、心電図第II誘導をモニターした。心電図パラメータ安定後、被験物質3用量及び溶媒を漸増法により30分間隔で30分間、静脈内持続投与した。陽性化合物については各投与終了0及び15分後の血漿中濃度を測定した。また、試験実施に先立ち、被験物質の代わりに溶媒を3回投与し、QTc間隔（Fridericiaの式）に対する影響を評価した。【結果及び考察】溶媒の30分間隔、4回投与はQTc間隔に影響を及ぼさなかった。試験した全ての陽性化合物はQTc間隔を10%以上延長した。一方、陰性化合物では明確なQTc間隔の延長は何れの化合物にも認められなかった。さらに、陽性化合物により誘発されるQTc間隔の延長は血漿中濃度依存性であった。従って、ヒトにおいてQT間隔延長を誘発する全ての化合物は本イソフルラン麻酔イヌモデルにおいて10%以上のQTc間隔の延長を示すことが明らかとなった。【結論】以上のことから、イソフルラン麻酔イヌモデルは薬物誘発性QT間隔延長のリスク評価に非常に有用であると結論される。

P8-15 QT prolongation: Project for Database Construction, 9) 薬物のQT延長作用に関する個体毎のQT補正法を用いたイヌテレメトリー試験系の検出感度

○宮崎 裕康, 西 泰宏, 北山 哲也, 関谷 浩司, 春名 正雄, 三野 照正, 菅波 秀規, 渡邊 裕之, 山本 恵司, 佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODOACT

QT prolongation: Project for Database Construction, 9) Individual QT-RR correction and sensitivity to detect drug-induced changes in QT interval for canine telemetry assay

○Hiroyasu MIYAZAKI, Yasuhiro NISHI, Tetsuya KITAYAMA, Koji SEKIYA, Masao HARUNA, Terumasa MINO, Hideki SUGANAMI, Hiroyuki WATANABE, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODOACT

【目的】安全性薬理試験S7Bガイドラインの作成に寄与することを含め、製薬協QT PRODOACT (QT Interval Prolongation: Project for Database Construction) として、薬物によるQT延長作用に関するデータベースの作成を進めている。本検討は、そのデータベースを用いて、薬物のQT延長作用に関する個体毎のQT補正法を用いたイヌテレメトリー試験系の検出感度および特異度を算出した。【方法】試験は4匹のビーグル犬に薬剤4用量を一定間隔で投与するラテン方格法あるいは漸増法により実施され、9施設で、MK-499, E-4031, terfenadine, haloperidol, quinidine, pinozine, cisapride, astemizole, thioridazine, bepridil (陽性化合物), propranolol, diphenhydramine, captopril, aspirine, verapamil, nifedipine, amoxicillin, ciprofloxacin (陰性化合物) およびdl-sotalolが評価された。解析は、先ず、投与前24時間のQTおよびRR間隔を個体毎にlog変換し、QT-RR model with unequal slopeを用いて薬剤投与後のQT値を補正した。その後、試験毎に分散分析し、17化合物の結果を総合して感度および特異度を算出した。なお、QTcは補正式: $\text{Log}(QTc) = \text{log}(QT) - \beta * 1 [\text{log}(RR) - \text{log}(RRm^2)]$ により算出した。*1 beta: 各個体の投与前24時間のQT-RR modelの傾き *2 RRm: 標準心拍数。【結果および考察】薬物のQT延長作用に関する個体毎のQT補正法を用いたイヌテレメトリー試験系の検出感度および特異度は約5%と考えられた。

P8-16 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 10) サルテレメトリー試験における個体別QT-RR補正法による検出感度

○北山 哲也, 宮崎 裕康, 清水 憲次, 坂本 憲吾, 今泉 真和, 菅波 秀規, 渡邊 裕之, 山本 恵司, 佐神 文郎

日本製薬工業協会 QT PRODOACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 10) Sensitivity to detect drug-induced changes in QT interval for monkey telemetry assay with individual QT-RR correction

○Tetsuya KITAYAMA, Hiroyasu MIYAZAKI, Noritsugu SIMIZU, Kengo SAKAMOTO, Masakazu IMAIZUMI, Hideki SUGANAMI, Hiroyuki WATANABE, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODOACT

【目的】テレメトリー試験による薬物誘発性QT間隔延長評価において、QT-RR関係に基づくQT補正法が用いられているが、各動物種におけるQT-RR関係が十分に考慮されてとは言えない。特にカニクイザルは安全性薬理試験ならびに毒性試験に常用されているにもかかわらず、QT間隔補正法に関して体系的な検討がなされていない。そこで、我々はJPMA QT PRODOACTにおいて収集されたテレメトリー試験データを解析し、カニクイザルのQT間隔補正方法について検討した。【方法】投与前24時間において6分毎、連続5拍の平均QT、RRを用いて日内変動を解析した。明期における個体別QT-RR関係を求め、Akaike's Information Criterion (AIC) によりLogQT-LogRRプロット最適モデルを選択した。被験物質投与後0.5、1、2、3、4、8、24時間において、連続10拍の平均QT、RRにより、個体別補正 (QTcI) とBazettの補正 (QTcB) について検出力の比較を行った。【結果】カニクイザルのQT、RRは明期に短く、暗期に長い日内変動を示し、QT-RR関係は明期と暗期で異なった。カニクイザルの最適QT-RRモデルはQTcIであったが、E-4031, MK-499, verapamil, ciprofloxacinの評価において、QTcI、QTcBともに、感度・特異度から計算したカットオフ値は5%であり、両者の検出力はほぼ同じであった。【結論】カニクイザルのテレメトリー試験では日内変動を考慮した個体別QT-RR関係に基づいたQTcIが最適なQT補正方法であるが、QTcBも同等の検出力で評価が可能であると考えられた。

一般演題 (P23-2)

P8-17 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 11) イヌテレメトリー試験における個体別QT-RRプロット法を用いた詳細解析

○北山 哲也、菅波 秀規、宮崎 裕康、関谷 浩司、春名 正雄、三野 昭正、渡邊 裕之、山本 恵司、佐神 文郎
日本製薬工業協会 QT PRODDACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 11) Evaluation of the drug-induced QT interval change using the individual QT-RR interval relationship in telemetered dogs

○Tetsuya KITAYAMA, Hideki SUGANAMI, Hiroyasu MIYAZAKI, Koji SEKIYA, Masao HARUNA, Terumasa MINO, Hiroyuki WATANABE, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI
Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODDACT

【目的】テレメトリー試験におけるQT間隔の評価は、心拍変動により困難になることが多い。そのため、QT間隔を心拍変動で補正するための式が幾つか提案されているが、必ずしも正確な補正がなされるとは言えない。個体別QT-RRプロット法による解析が、既存の補正式よりも正確な評価が可能であることが報告されているが、種々の薬剤で十分に検証されていない。そこで、我々はJPMA QT PRODDACTにおいて収集されたイヌテレメトリー試験データについて個体別のQT-RR関係を用いた解析法を試みた。【方法】被験物質投与後24時間において6分毎、連続5拍の平均QT、RRを個体別にプロットし、その分布を溶媒投与時と比較した。投与後8時間のLogQT-LogRRプロットにフィットする回帰直線式を求め、RR=600、900、1200 msにおけるQTの計算値(QT₆₀₀、QT₉₀₀、QT₁₂₀₀)を算出した。【結果】QT-RRプロットは、*d*-sotalol、terfenadineでは用量依存性に右上にシフトし、thioridazine、cisaprideでは左上にシフトした。QT-RRプロットはE-4031、bepridilでは上方にシフトしたが、propranololではほとんどシフトしなかった。陽性薬ではQT₆₀₀、QT₉₀₀、QT₁₂₀₀が有意に延長し、特に特異的IK_rブロッカーである*d*-sotalol、E-4031では、他の陽性薬と比較して、明らかに逆相度依存性の延長作用が認められた。また、陽性薬、陰性薬ともに高い検出力でQT_nに対する作用を評価できた。【結論】個体別QT-RRプロット解析は、QT間隔と心拍数に対する薬物の作用を同時に視覚的に、かつ既存の補正式よりも高検出力で評価できる手法であると考えられた。

P8-18 QT Prolongation: Project for Database Construction, 12) QT prolongation: 薬剤のQT延長作用に関するイヌのテレメトリー試験系およびイソフルラン麻酔モデルの検出感度の比較

○宮崎 裕康、西田 昌広、北山 哲也、田端 弘行、安東賢太郎、山本 恵司、佐神 文郎
日本製薬工業協会 QT PRODDACT

QT Prolongation: Project for Database Construction, 12) QT prolongation: Comparison of the Sensitivity Between Canine Telemetry Assay and Isoflurane-Anesthetized Model

○Hiroyasu MIYAZAKI, Masahiro NISHIDA, Tetsuya KITAYAMA, Hiroyuki TASHIBU, Kentaro ANDO, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI
Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODDACT

【目的】安全性薬理試験S7Bガイドラインの作成に資することを含め、製薬協QT PRODDACT (QT Interval Prolongation: Project for Database Construction)として、薬物の心電図QT間隔延長作用に関するデータベースの作成を進めている。本検討は薬剤のQT延長作用に関するイヌのテレメトリー試験系およびイソフルラン麻酔モデルの検出感度を比較した。【方法】テレメトリー試験は4匹のビーグル犬(雄、体重8-13 kg)に薬剤3用量およびVehicleをラテン方格法あるいは漸増法により経口投与し、9施設で実施した。麻酔モデルを用いた試験も同様に4匹に3用量およびVehicleを30分間隔の漸増法により静脈内投与し、5施設で実施した。薬剤はE-4031、MK-499、テルフェナジン、ハロペリドール、キニジン、ピモザイド、シサブリド、アステミゾール、チオリダジン、ペプリジル、アモキシシリン、シプロキシリン、ルソタロール、プロプラノロール、ジフェンヒドラミン、カプトプリル、アスピリン、ベラハミルあるいはニフェジピンを使用し、血中濃度とQT延長作用に関する反応性を比較した。【結果及び結論】テレメトリー試験系の濃度反応曲線は麻酔モデルと比べ緩やかな傾斜を示したが、テレメトリー試験系および麻酔モデルの薬物のQT延長作用に関する最小検出感度はともに約5%であり、その時の血中濃度もほぼ同等だった。テレメトリー試験系は一般的に麻酔条件の差による反応のバリエーションが無く、動物種固有の薬物の濃度反応性を示すことが可能であると考えられている。今回の検討で、麻酔モデルとはほぼ同等なQT検出感度を有することが明らかになったことにより、テレメトリー試験系が薬物の安全域を算出するために有用な試験系であることが示された。

P8-19 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 13) テレメトリー試験におけるモデル間の比較

○藤西智恵子、国分寺悦子、木村伊佐美、安東賢太郎、本坊 敬保、豊吉 亨、狩野真由美、山本 恵司、佐神 文郎
日本製薬工業協会 QT PRODACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 13) Species-Difference in Dose-Response Relationship of Drug-Induced QT Interval Prolongation

○Chieko KASAI, Etsuko KOKUBUNJI, Isami KIMURA, Kentarou ANDOU, Toshiyasu HONBO, Tohru TOYOSHI, Mayumi KANO, Keiji YAMAMOTO, Fumio SAGAMI
Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODACT

【目的】最近、心血管系の安全性薬理試験において、動物種としてサルを選択するケースが増えてきている。試験に使用する動物種は慎重に選択すべきと考えられるが、各施設とも、そのための背景データを十分に有しているとは言えない。また、薬物誘発性QT間隔延長を評価するための安全性薬理試験において、動物種間でその作用を比較検討した報告は殆ど見受けられない。今回我々は、JPMA QT PRODACTにおいて収集されたテレメトリー法によるECG測定試験データを解析し、サルを用いる試験の有用性を検証した。

【方法】QT/QTc間隔(サル:Bazen, イヌ:Fridericia)は、動物種毎に各薬物による反応性を比較した。また、QTc間隔を10%延長させる投与量と血漿中濃度を求め、動物種間の比較も行った。その他、心拍数と血圧に関しても、同様に比較検討すると共に、一部データについてはミニプタを用いた試験とも比較した。

【結果】イヌとサルのいずれにおいても、殆どどの陽性化合物で、対照群と比較して10%以上のQTc間隔延長が認められ、QTc間隔を10%延長させる投与量と血漿中濃度は、イヌとサルではほぼ一致していた。また、サルではdl-sotalol (10 mg/kg, p.o.)の投与後2時間以内に致死性不整脈(TdP)が誘発されたが、イヌではQTc間隔延長は認められるものの不整脈は誘発されなかった。一方、陰性化合物に関しては、イヌにおいて心拍数の影響を十分に補正できなかった1化合物を除き、10%以上のQTc間隔延長は認められなかった。

【結論】薬物によるQTc間隔延長作用に関しては、標準的な手法で実施されるサルのECG試験は、イヌとほぼ同等の検出感度と特異性を有することが明らかになった。さらに、不整脈の検出感度に関しては、イヌよりもサルの方が優れている可能性が示唆された。

P8-20 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 14) 薬物誘発性QT間隔延長に関する安全域

○小俣 武志、高田昌太郎、齋藤 守、矢花 秀雄、小川 真実、山田 毅史、村上 真、橋本 宗弘、佐神 文郎、山本 恵司

日本製薬工業協会 QT PRODACT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 14) Safety Margins of Drug-Induced QT Interval Prolongation: Comparison of Non-Clinical Animal Models and Clinical Data

○Takeshi OMATA, Shotaro TAKATA, Mamoru SAITO, Hideo YABANA, Masami OGAWA, Kiyoshi YAMADA, Makoto MURAKAMI, Munehiro HASHIMOTO, Fumio SAGAMI, Keiji YAMAMOTO
Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODACT

【目的】薬物誘発性QT間隔延長に関するICH安全性薬理試験ガイドラインS7Bの作成に資すること、並びにデータベースを構築することを目的に、JPMA QT PRODACTでは、種々のモデルを用いた共同研究が実施されている。今回我々は、当該プロジェクトで得られたデータを臨床データと比較して安全域について検討した。【方法】モルモット輸出乳頭筋を用いた活動電位測定試験ではAPD₅₀及びAPD₉₀を、イヌとサルのテレメトリー及び麻酔イヌの試験ではQTc間隔を、それぞれ10%延長させる濃度あるいは血中濃度を求めた。そして、これら数値とヒトにおけるeffective therapeutic plasma concentrations (ETPC, 文献値)との比 (APD₅₀/ETPC, QTc/ETPC)を算出した。【結果】陽性化合物のAPD₉₀はIKr阻害の文献値とよく一致し、APD₉₀/ETPC値は、11化合物中8化合物が10未満、3化合物が300未満となった。一方、陰性化合物では、11化合物中1化合物のみが10未満となった。In vivo試験では、全ての陽性化合物で10%以上のQTc間隔延長が認められ、ETPCとほぼ一致した。さらに、陽性化合物のQTc/ETPC値は、イヌのテレメトリー試験で20未満となり、サルのテレメトリー及び麻酔イヌの試験においてもほぼ同様の結果が得られた。陰性化合物に関しては、イヌのテレメトリー試験で心拍数の補正が十分でなかった1化合物を除き、10%以上のQTc間隔延長は認められなかった。【結論】薬物誘発性QT間隔延長のリスク評価には、モルモット輸出乳頭筋を用いた活動電位測定試験のAPD₉₀が適していること、安全域の評価には、QTc/ETPC値が有用なパラメータに成り得ることが、それぞれ示唆された。

P8-21 QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 15) 薬物誘発性QT延長作用の pharmacokinetics/pharmacodynamics 解析 - イヌ及びサルにおけるテレメトリー法によるQT延長作用 -

○笹辺 裕行、谷河 寛彦、中井 恵子、井上 晃一、浦野 陽介、林 直之、佐神 文郎、山本 恵司
日本製薬工業協会 QT PRODUCT

QT Interval Prolongation: Project for Database Construction, 15) Relationship of pharmacokinetics and QT prolongation by various therapeutic agents: Telemetry study in dogs and monkeys

○Hiroyuki SASABE, Takahiko TANIGAWA, Keiko NAKAI, Kouichi INOUE, Yosuke URANO, Naoyuki HAYASHI, Fumio SAGAMI, Keiji YAMAMOTO
Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) QT PRODUCT

【目的】我々QT-PRODUCTは日本製薬協（JPMA）の特別プロジェクトとして、無麻酔下のイヌ及びサルにおけるQT間隔変化の評価法について、テレメトリー法を用いて検討している。今回、臨床にQT延長作用を有している種々の化合物について、心電図を測定し、同時に血漿中薬物濃度も測定した。その成績をもとに、pharmacokinetics (PK) 及び pharmacodynamics (PD; QT延長作用) の関係を、NONMEMを用いてPK/PD解析した。【結果及び考察】今回試験を実施した薬物のほとんどで、イヌにおいて、Fridericiaの式で補正したQTcに用量依存的な延長が認められた。d,l-ソタロール、キニジン及びE-4031等では、QT延長作用と血漿中薬物濃度の関係が直接的な相関を示した。これらのQT間隔延長作用は、その薬理作用から推察すると、I_{Kr}阻害活性に直接由来するものと推察された。一方、テルフェナジン及びベプリジル等では、QT間隔延長作用の時間推移と血漿中濃度推移に時間的な乖離があり、アンチクロック型のヒスタレシスを示した。これらの薬物においては、I_{Kr}阻害だけでなく、その他のK電流やイオンチャンネルへの影響あるいは二次的な反応によってQT間隔延長作用が生じている可能性が考えられる。また、サルにおいてはBazettの式で補正したQTcにおいても、同様なPK/PDの関係が認められ、顕著な種差は認められなかった。さらに、種々の薬物によって誘発されたQT間隔延長作用における薬物間差について、PK/PD解析を実施している。

P8-22 イヌのQT間隔に及ぼす自律神経系の影響

○阿部 純子、原田 拓真、塩谷 元宏、浜田 悦昌
ファイザー（株）中央研究所 安全性研究統括部

The effect of autonomic nervous activity on QT interval in dogs

○Junko ABE, Takuma HARADA, Motohiro SHIOTANI, Yoshimasa HAMADA
Worldwide Safety Sciences, Global Research & Development Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc.

【緒言】心電図QT間隔は心拍数に逆相関（RR間隔に正の相関）することが古くから知られており、Bazett式などで補正して心拍の影響を除いたQTc間隔での評価法が現在、一般的に用いられている。しかし、生理的なQT間隔の延長/短縮には心拍数のみでなく、その他の自律神経活動も影響するという報告も散見される。そこで、本研究では、イヌのQT間隔が心拍数以外の自律神経によって影響を受けるか否かについて検討した。【方法】ビーグル犬8頭を用い、2日間ジャケット調化をした後、ホルター心電計を用いて心電図を24時間記録した。解析にはホルター心電図解析装置を用い、全心拍解析および心拍変動解析を行い、QT間隔、心拍数、RR間隔、HF成分、LF成分、LF/HF値、HF (ms) およびLF (ms) を算出し、特定のRR間隔（調周期）における自律神経緊張度とQT間隔の関係を解析した。【結果および考察】1.心拍変動解析ではHF成分が高値を示した。これは、イヌでは洞性不整脈（RR間隔の変動）が顕著に認められ、この洞性不整脈は呼吸による副交感神経刺激により誘発されるという事実と一致していた。2.RR間隔が一定の時、QT間隔はHF成分が低値な（副交感神経の働きが低い）時に比べHF成分が高値な（副交感神経の働きが高い）時に有意に延長した。3.一方、交感神経と副交感神経のバランスを表すLF/HF値（交感神経活動の指標とされる）について高値を示す時と低値を示す時と比較したところ、明らかな傾向は認められず、また、LF/HF値自体がHFの値に大きく依存していた。以上の成績より、ビーグル犬の心電図QT間隔は交感神経活動よりも副交感神経活動に大きく依存し、さらに自律神経系が調周期のみならず心室筋再分極過程へ影響することにより心電図QT間隔が変化することが明らかとなった。

P8-23 Automated patch clamping - use in screening of novel compounds for cardiac safety

○Leslie PATMORE, Alison TEMPLETON, Kirsty MACFARLANE

Quintiles Ltd, UK

Using an automated patch clamp (AP) system (PatchXpress 7000A) we studied effects of compounds on HERG channel and hH1a (human cardiac sodium channel) currents both expressed in HEK 293 cells. E-4031, a selective blocker of IKr, blocked of HERG tail current with an IC50 of 20 nM using AP vs 21 nM using conventional recording (CR) (voltage protocol = Vh -80 mV step to +20 mV for 4.8s then -50 mV for both). Similarly terfenadine and cisapride, compounds associated with incidences of QT prolongation and life threatening arrhythmias, had IC50's of 32 and 29 nM using AP compared to 33 and 27 nM respectively for CR. Many novel compounds have been found to affect cardiac sodium channels indicating potential risk of conduction abnormalities. The effects of sodium channel blockers lignocaine, mexilitine and flecainide on the human cardiac sodium channel clone hH1a will be compared using AP and CR.

AP technology provides higher throughput compared to CR while maintaining high quality recordings. It enables screening of novel compounds for interactions with ion channels at an early stage in the discovery-development process.

P8-24 完全房室ブロック犬における心血管系の適応現象の時間経過

○秋江 靖樹¹, 杉山 賢¹, 橋 美樹¹, 石山 秀剛¹, 正木 文夫¹, 藤野 明治¹, 杉山 篤²

¹(株)富士バイオメディックス, ²山梨大学・院・医工・薬理学・山梨臨床薬理研究所

Time-course of cardiovascular adaptation in the complete atrioventricular conduction block model

○Yasuki AKIE¹, Masaru SUGIYAMA¹, Yoshiki TATE¹, Yoshinori ISHIYAMA¹, Fumio MASAKI¹, Akiharu FUJINO¹, Atsushi SUGIYAMA²

¹Fuji Biomedix Co., LTD., ²Department of Pharmacology, University of Yamanashi, Yamanashi Research Center of Clinical Pharmacology

一般演題 (P8-P9)

目的:近年、安全性評価の中でも薬物によるQT延長に伴う致死性不整脈の発生が重視されるようになり、日米欧合同のICH57Bガイドラインが現在作製されている。僅不整脈モデルとしては麻酔ウサギや慢性房室ブロック犬が用いられているが、後者の多形性心室頻拍 (Torsades de Pointes/TdP) 検出感度は前者の100倍以上であることが最近報告された。今回の研究では慢性房室ブロック犬モデルの高い不整脈検出感度の機序について検討した。方法・結果:雄性ビーグル犬 (n=5) の房室結節領域に大腿静脈より電極カテーテルを挿入し高周波通電し、完全房室ブロックを誘発した。誘発後4週まで1週間隔でホルター心電図を記録した (n=5) (HS1000システム, フクダ・エム・イー)。また、血圧をテレメトリー自動計測システム (DATA SCIENCES, INC.) を用いて計測した (n=3)。完全房室ブロック誘発1週後の心拍数は約40bpmであったが、2-3週後に上昇し、4週後では減少した。QT間隔は徐々に延長した。収縮期圧にはほとんど変化を認めなかったが、拡張期圧は35-45%減少した。5例中1例は完全房室ブロック作成2週後に徐脈による (<30bpm) うっ血性心不全で死亡した。また、1例に一過性の洞調律復帰を認めた。4週以降に摘出した心臓には著明な解剖学的・組織学的肥大を認めた。結論:持続性の徐脈、容量負荷性心肥大、再分極過程の延長が慢性房室ブロック犬モデルの高い不整脈検出能力に関与すると考えられた。

P8-25 hERG 電流および活動電位の37薬物における相関性

○秋山賢之介, 別府奈美恵, 天野 秀人, 横田 由美, 大保真由美

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

Correlation between hERG current blockage and APD prolongation in 37 drugs

○Kennosuke AKIYAMA, Namie BEPPU, Hideto AMANO, Yumi MAKITA and Mayumi OBO

Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan

【緒言】心筋活動電位の再分極過程を遅延させる薬物は、心電図QT間隔を延長し、致死性の心室性不整脈を引き起こす可能性がある。我々は、その作用を検討するためにin vitroではhERG電流および活動電位持続時間 (APD) の測定に関する2種類の試験を実施している。今回、これまでに実施した試験の結果に基づいてhERG電流の抑制とAPD₅₀またはAPD₉₀延長の相関性について検討を行った。【方法】当施設で、37薬物についてhERG電流およびAPD測定を実施し評価した。①hERG電流測定：細胞はhERGを導入したHEK293を用い、ホールセルクランプ法により測定した。薬物適用後の抑制率を算出した。②APD測定：標本はHartley系雄性モルモットの右心室より抽出した乳頭筋を用いた。薬物適用後のAPD₅₀およびAPD₉₀の延長率を算出した。【結果およびまとめ】hERG電流は、37の薬物中21の薬物によって抑制された。これに対してAPD₅₀の延長は9薬物でみられた。APD₅₀を延長させた薬物はすべてhERG電流の抑制を示し、APD₉₀を短縮または変化させない薬物のうち約40%がhERG電流の抑制を示した。hERG電流を抑制したがAPD₅₀を延長させなかった薬物についてAPD₉₀で評価した場合、APD₉₀を延長させた薬物は3薬物であった。以上のことから、APD₅₀の延長がみられた薬物はhERG電流を抑制する薬物の半数以下でしかみられなかったが、APD₅₀にAPD₉₀を追加し評価することで再分極遅延と判断できる薬物の検出率を上げることが可能と考えられる。

P8-26 ガラクトサミン/リボポリサッカライド投与ラットにおける肝グルタチオンS-トランスフェラーゼの酸化・限定分解による活性化

○安仁屋洋子, 仲間 真司, 木下しずか

琉球大学大学院医学研究科分子薬理学分野

Oxidative/proteolytic activation of membrane-bound glutathione S-transferase in galactosamine/lipopolysaccharide-treated rats

○Yoko ANIYA, Shinji NAKAMA, Shizuka KINOSHITA

Laboratory of Molecular Pharmacology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus

【目的】ラット肝ミクロソームのglutathione S-transferase (GST) はin vitroで活性酸素によるダイマー形成やトリプシンによる限定分解で活性化されることが知られている。今回、ガラクトサミン (GalN) とリボポリサッカライド (LPS) 投与ラット肝のミクロソーム (mic) とミトコンドリア (mt) GSTの活性化について検討した。【方法】SDラットにGalN (600mg/kg, sc) とLPS (0.5 μg, ip) を投与24時間後に断頭し、常法によりmic, mt外膜を分離し、諸活性を測定した。【結果・考察】GalN/LPS投与により血清酵素活性 (AST, ALT, GSTs) は増加し、また、肝の過酸化脂質 (LPO) やNOおよび血清NOレベルが増加し、酸化ストレスによる肝障害が示唆された。GalN/LPSにより肝サイトソームのGST活性は血清への遊離を反映して減少した。micGST活性はGalN/LPSで1.3-2倍に増加し、この増加は還元剤のDTTでやや減少し、一方mtGST活性はほとんど増加しなかった。micGST抗体に対するイムノブロットではGalN/LPS投与ラットのmicにわずかではあるがGSTのダイマーが検出され、また、GSTの分解産物と思われる分子量14kDaのフラグメントが検出された。mtでもGalN/LPS投与群にかすかにGSTダイマーが見られたが、フラグメントはむしろコントロールに検出された。セリンプロテアーゼ基質へのプロテアーゼ活性はサイトソームでは若干増加したが、mic, mtでは減少した。当教室で分離したmicプロテアーゼ抗体に反応する成分がGalN/LPS投与群のmicでは減少する傾向がみられた。以上、micおよびmtGSTがGalN/LPS酸化ストレスで酸化および蛋白分解による変化を受けていることが示唆された。

P8-27 Nrf2欠損マウスの肝発がん物質ペンタクロロフェノールに対する感受性

○梅村 隆志¹、北村 泰樹¹、神吉けい太¹、今沢 孝喜¹、児玉 幸夫²、伊東 健³、山本 雅之³、西川 秋佳¹、
広瀬 雅彦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毒性病部、³筑波大学先端学際領域研究センター

Susceptibility to pentachlorophenol, a mouse liver carcinogen in Nrf2-deficient mice

○Takashi UMEMURA¹, Yasuki KITAMURA¹, Keita KANKI¹, Takayoshi IMAZAWA¹, Yukio KODAMA²,
Ken ITOH², Masayuki YAMAMOTO², Akiyoshi NISHIKAWA¹, Masao HIROSE¹

¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, ²Division of Toxicology, National Institute of Health Sciences, ³Institute for Basic Medical Sciences and Center for TARA, University of Tsukuba

遺伝子制御領域に抗酸化応答配列を有する異物代謝系第2相酵素群の転写因子と知られるNrf2は、発がん剤などの環境化学物質に対する生体防御機構に重要な役割を果たしていると考えられている。今回、Nrf2の野生型 (+/+), ヘテロ欠失 (+/-) ならびにホモ欠失 (-/-) マウスに、その発がん機構に酸化ストレスの関与が予想されるマウス肝発がん剤ペンタクロロフェノール (PCP) を投与し、肝細胞増殖活性ならびに酸化DNA損傷について比較検討した。【方法】雄7週令のNrf2欠損マウスにPCPを0, 150, 300, 600および1200ppmの濃度に混じた飼料を4週間自由に摂取させた。剖検前にBrdUを前処置し、肝細胞のBrdU標識率 (BrdU-LI) を免疫染色標本より算定した。また、肝から核DNAを抽出し、HPLC-ECDにより8-オキシデオキシグアノシン (8-oxodG) レベルを測定した。【結果】肝細胞のBrdU-LIはいずれの動物においても投与量相関的に増加した。しかしその値は何れの投与量においても、+/+ < +/- < -/-の順となり、統計学的有意な上昇は+/+では300ppm以上からであったのに対し、+/-および-/-では150ppm以上の群より認められた。肝DNA中の8-oxodGレベルは、+/-および-/-では600ppm以上の群で有意な上昇が認められ、特に-/-の1200ppm群では対照群の約4.5倍の高値を示した。一方、+/+では何れの群においても変化は認められなかった。【考察】PCPはベンゾキノンに至る代謝過程で酸化ストレスを発生すると予想されている。今回、Nrf2欠損マウスがその野生型に比べてPCPの酸化ストレスに高感受性を示したことから、Nrf2を介したキノン解毒代謝系がPCPによる酸化ストレスの防御の役割を担っていることが示唆された。

P8-28 パターン認識による変異原性予測におけるサンプリング手法に関する考察

○満田浩太郎¹、張渡 雄彦²

¹富士通(株)、²(独)産業医学総合研究所

Sampling methods on Mutagenicity prediction by pattern recognition

○Kohtaro YUTA¹, Katsuhiko SAWATARI²

¹FUJITSU Ltd., ²National Institute of Industrial Health

序論:毒性予測を行う手法としてパターン認識手法が最も有望であることが既に示されている¹⁾。変異原性予測はその特性上、少しでも高い予測率の実現が望まれる。パターン認識によるデータ解析を信頼性高く行う上で最も重要な仕事は解析対象サンプル群の分類である。今回はリビンスケールに関するパラメータを用いた分類について報告する。データは労働安全衛生法に基づいて提出された微生物を用いた変異原性試験データ2737化合物 (POS:431, NEG:2306) を用いた。本論:サンプル数が多い場合パターン認識によるデータ解析は実施困難となり、解析信頼性も低下する。この問題解決手法として母集団のサブセット化が行われるが、化学分野の研究では化合物の構造式に応じてサブセットに分類することが多い²⁾。しかしこの手法の欠点は複雑な化合物や群に属しない新規化合物を扱う時に分類ミスによる予測率の低下がおこることである。また、複数の群にアサインされた場合は1化合物に予測結果が複数存在する一元多項対応となり、予測結果の決定が困難となる。化合物の分類実験従来手法での分類の欠点 (一元多項対応) を克服すべく、一元一項対応を実現し、同時にデータ解析を信頼性高く実施できる分類手法の開発を目指した。分類指標として今回はリビンスケールで利用される、水素結合供与/受容体数、回転結合数、分子量、LogP値およびADME禁則について検討した。カラム解析により、水素結合受容体数が統計的な安定性 (サンプルポピュレーション等) の観点で優れていることが判明した。文献:J.N.F.Cariello et al., *Mutagenesis*, 17, 321-329 (2002), V.K.Gomber et al., *Chemosphere*, 31, 2499 (1995)。

P8-29 プレオマイシン経気管投与によるマウス肺線維症モデル改良型としての左葉限定モデル

○竹川 潔、日下部愛泉、坂入 鉄也、杉本 次郎、高木 司郎、務台 衛

三菱ウェルファーマ（株）安全性研究所

The left lobe model as an improved mouse pulmonary fibrosis model by intratracheal bleomycin administration

○Kiyoshi TAKEGAWA, Manami KUSAKABE, Tetsuya SAKAIRI, Jiro SUGIMOTO, Shiro TAKAGI, Mamoru MUTAI

Toxicology Laboratory, Mitsubishi Pharma Corporation

プレオマイシン (BLM) を経気管的に肺に注入したマウス肺線維症モデルを用いた研究は多く報告されている。我々は当初、通常の方法で肺全葉に経気管投与したが、強い障害が肺全体に及び死亡率が高かったため、左葉限定投与によるモデルの改良を検討した。6週齢の雄性ICRマウスを用い、全葉モデルおよび左葉モデルともに、独自に作成した専用チューブを用いて、麻酔下でBLM0.025、0.05または0.1mg/mouseを肺全葉および左葉に単回経気管投与して3週間飼育し、病理組織学的に評価した。全葉モデルおよび左葉モデルの投与液量は50および20 μ L/mouseとした。さらに左葉モデルの別の実験では0.05mg/mouse単回投与後6週間まで経時的に検査した。全葉モデルでは0.025、0.05および0.1mg/mouse群の死亡率は2/8、2/8および7/8例で、体重は0.05mg/mouse以上の群で減少した。線維化の発生率は生存例では各群それぞれ2/6、4/6および1/1例であったが、死亡例に線維化が認められず合計発生率は低かった。左葉モデルでは、各群とも死亡はなく体重も順調に増加した。線維化発生率は0.025、0.05および0.1mg/mouse群でそれぞれ0/5、4/5および5/5例と高かった。6週間飼育した実験においても死亡はなく体重の推移も順調であった。線維化発生率は1.5週後には1/5例で軽度であったが、3週後には全5/5例にみられ、その後6週まで一定に推移した。以上、全葉モデルではBLMによる障害が均一に分布するほど死亡率が高く線維化に関する病理学的な評価が困難になった。左葉モデルでは呼吸が維持されるため、肺の単位体積あたりのBLM投与量を高く設定したり投与期間を延長しても死亡を惹起せず、適切な病理組織学的評価を可能にする有用なモデルと考えられる。

P8-30 リツキサンを用いた抗Fab抗体標準品作製に関する基礎的検討

○林 砂緒、大竹 直美、古川 絵理、原田 勝彦、川原 潤一

キリンビール（株）医薬開発研究所 毒性グループ

Preparation of anti-Rituxan Fab control antibody

○Sunao HAYASHI, Naomi OHTAKE, Eri FURUKAWA, Katsuhiko HARADA, Jun-ichi KAWAHARA

Toxicology Group, Pharmaceutical Development Laboratories, KIRIN BREWERY CO., LTD

【背景と目的】モノクローナル抗体医薬品の開発では、動物への投与に伴って産生される抗イデオタイプ抗体を測定する必要がある。抗体産生により、抗体医薬と抗原との結合阻害など、非臨床試験成績に影響を与える可能性があるためである。そこで、抗イデオタイプ抗体測定系立ち上げの一環として、抗体測定系における標準品を作製するために、市販されている抗体医薬品であるリツキサンを用いて、抗リツキサンFab抗体を作製した。また、本標準品を用いて、抗体医薬を投与したウサギ抗血清の抗イデオタイプ抗体定量化と、抗原への結合阻害能に関して検討した。【方法】Fab Preparation Kit (Pierce) を用いてリツキサンのFab fragmentを作製し、日本白色ウサギに週1回3週免疫した。Protein Aカラムを用いてウサギ抗血清より精製した抗体を抗リツキサンFab抗体標準品とし、この標準品とBiacore 3000を用いて、ウサギ抗血清中の抗リツキサンFab抗体価を測定した。また、ウサギ抗血清と予め4℃でインキュベートしたFITC-conjugatedリツキサンをサル単核球と反応させ、Flow CytometerでFITC蛍光を測定することにより、リツキサンとサル単核球との結合能について検討した。【結果及び考察】ウサギ抗血清から抗リツキサンFab抗体を精製して標準品とすることにより、抗血清中の抗イデオタイプ抗体の定量化ができた。また、リツキサンFabを投与したウサギ抗血清は、リツキサンとサル単核球との結合を阻害することが示された。以上のことから、抗体医薬品に対する抗イデオタイプ抗体を測定する際の標準品作製に関し、定量化と抗原への結合阻害能を評価できるという点で、抗Fab抗体標準品の有用性が示された。

P8-31 CB6F1-rasH2 マウスの経皮発がん性試験の基礎的検討

○浦野 浩司¹、町田 一彦¹、菊地 宏治²、吉村マズミ¹、澤 延子¹、江口奈津子¹、田邊亜希子²、西中 栄子²、服部 祐二¹、鈴木 修三¹、臼居 敏仁¹

¹ (株)実験動物中央研究所、² (株)ジェー・エー・シー

Effect of vehicles for a dermal carcinogenicity testing of CB6F1-rasH2 mice

○Koji URANO¹, Kazuhiko MACHIDA¹, Koji KIKUCHI², Masumi YOSHIMURA¹, Nobuko SAWA¹, Natsuko EGUCHI¹, Akiko TANABE², Eiko NISHINAKA², Yuji HATTORI¹, Shuzo SUZUKI¹, Toshimi USUI¹

¹Central Institute for Experimental Animals, ²JAC

CB6F1-TgrasH2 (rasH2) マウスはヒト発がん物質に対して高感受性を有する試験系として、ILSU/NTP合同会議で認証されてきた。昨年の本学会で我々はrasH2マウスの自然発生腫瘍や陽性対照物質 (N-Methyl-N-nitrosourea) 投与時の腫瘍発生などの基礎データについて紹介した。新規開発薬物の臨床での投与経路としては経口、吸入、経皮などが適用されるが、代謝系や薬物の体内動態などを考慮すると前臨床試験においても臨床と同じ経路で投与することが要求される。昨年検討した皮下投与に続き今回はrasH2マウスに対する経皮投与について検討した。【方法】経皮投与時の溶媒として兼用されるアセトン (1mL/kg)、エタノール (1mL/kg) およびワセリン (10⁻²L/匹) を、rasH2マウスおよび同型のCB6F1-nonTg (nonTg) マウスの雌雄各15匹の胸背脊部に、本試験系の標準投与期間 (26週間、1回/日) それぞれ塗布した。また、経皮投与時の発がん感受性を検討するため、皮膚発がんのpromoterであるphorbol 12-myristate 13-acetate (TPA, 2.5 μ g/匹) を週3回、26週間塗布した。いずれも塗布部位の変化を観察し、また病理組織学的に検討した。【結果】アセトン、エタノールおよびワセリン塗布rasH2およびnonTgマウス、TPA塗布nonTgマウスでは塗布部に変化を認めなかった。TPA塗布rasH2マウスでは塗布開始後7週目より塗布部に腫瘍発生を認めた。塗布期間終了時の腫瘍発生率はオス46%・メス50%、腫瘍発生個体での平均腫瘍数はオス1.5個・メス1.8個であった。以上より、今回使用した3溶媒は本マウスの経皮発がん性試験の溶媒として使用可能であり、また、本マウスは皮膚発がん性試験にも有用性があることが明らかになった。

P8-32 無麻酔下ラットの呼吸機能に及ぼすコリンエステラーゼ阻害薬の影響:Whole body plethysmograph法の検討

○長谷川和美、片山 誠一、秋山賢之介、山本 由徳、大保真由美、山下 保志

三菱化学安全科学研究所

Effect of cholinesterase inhibitor on the respiratory system in unanesthetized rats: A study on the usefulness of whole body plethysmograph system

○Kazumi HASEGAWA, Seichi KATAYAMA, Kenosuke AKIYAMA, Yoshinori YAMAMOTO, Mayumi OBO, Yasushi YAMASHITA

Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.

一般演題 (ポスター)

【目的】アルツハイマー型痴呆の進行を抑制できる治療薬として、コリンエステラーゼ阻害薬 (ChE阻害薬) が開発されている。しかし、ChE阻害薬は、コリン作動性物質の蓄積を起こすことにより、呼吸興奮作用を含む多様な薬理作用を発現する可能性が考えられる。今回、我々は、ChE阻害薬が呼吸機能に及ぼす影響を評価するために、代表的なChE阻害薬であるphysostigmineおよびtacrineを無麻酔下でラットに投与し、whole body plethysmograph法 (WBP法) によって呼吸機能の変化を解析した。また、呼吸機能測定を行う各時間帯において、発現する症状を経時的に観察した。【方法】SD (IGS) 系雄性ラット (6週齢) にphysostigmine (0.015, 0.05, 0.15および0.5mg/kg群) あるいは注射用水 (対照群) を単回皮下投与した。投与前、投与後0.5, 1, 2, 4, 6および8時間の呼吸機能を呼吸機能測定装置 (BioSystem XA, Buxco Electronics, Inc.) を用いてWBP法により評価した。測定項目はf (呼吸数)、TV (1回換気量)、MV (分時換気量)、Penh (気道狭窄の指標)、PIF (最大吸気流量)、PEF (最大呼気流量)、RT (呼気量がTVの65%になるまでの時間)、Ti (吸気の開始から終了までの時間)、Te (呼気の開始から終了までの時間) とした。【結果】Physostigmine 0.15および0.5mg/kg投与群では、投与後2時間まで流涎、挙縮および縮喘等の代表的なコリン作動性症状が認められた。呼吸機能については、physostigmine 0.15および0.5mg/kg投与群でTVが高値を示し、呼吸波形の変化も認められた。Tacrineについては現在検討中であり、詳細な結果については、当日報告する。

P8-33 薬剤誘発性肝ホスホリビドーシスのin vitro スクリーニング評価

○富澤 香織¹, 山田 弘¹, 堀井 郁夫²
ファイザー (株)

Validation of an In vitro assay for detection of drug-induced phospholipidosis

○Kaori TOMIZAWA, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII
Pfizer Japan Inc.

ホスホリビドーシスとは細胞内にリン脂質が過剰に蓄積する現象を指し、創薬研究では薬剤が誘発するホスホリビドーシスがしばしば問題となる。薬剤誘発性ホスホリビドーシスの原因としてホスホリパーゼの活性阻害やリソソーム内にリン脂質と薬剤との結合物が蓄積すること等が挙げられている。ホスホリビドーシスの評価は一般毒性試験の際に肺軟マクロファージや肝臓、腎臓等の組織に細胞内封入体の形成を認めることで判断されることが多く、評価までには時間がかかることも多い。そこで本研究では、薬剤が誘発するホスホリビドーシスを短時間でスクリーニングできるin vitro評価法を検討し、バリデーションを実施した。本評価の方法は蛍光標識リン脂質アナログをプローブとした方法 (Ulrich, et al, 1991) を改良したものである。雄性5週齢ラットよりコラゲナーゼで単離した肝細胞を96穴カラーゲンプレートに播種し、前培養後に被験物質と蛍光標識リン脂質アナログを同時に24時間曝露した。曝露後に細胞をリンス、固定し、蛍光顕微鏡にて観察を行った。In vivoでのホスホリビドーシスを予測可能であるかを検討するために、ホスホリビドーシス陽性化合物を含む14化合物で本試験を実施し、全ての陽性化合物で本試験でも陽性の結果が得られた。これらの結果から、本評価法は薬剤候補化合物スクリーニングを目的としたホスホリビドーシス評価試験として有効であることが示唆された。現在、細胞サンプルを自動撮影・画像処理可能なシステムの開発を進めており、さらにスループット性が高まることが期待される。

P8-34 臨床副作用予測ツールとしてのbeam walk testの有用性の評価

○井手上重一¹, 国原 肇男², 白井 真紀¹, 山田 弘¹, 堀井 郁夫³

¹ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部 探索毒性病理研究室, ²ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部 非臨床科学事業部, ³ファイザー (株) 中央研究所 安全性研究統括部

Beam walking test: A tool for detection of clinical side effects

○Keiichi IDEGAMI¹, Mineo KUNIHARA², Maki SHIRAI¹, Hiroshi YAMADA¹, Ikuo HORII³

¹Investigative Toxicology & Pathology, Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc., ²Non-Clinical Regulatory Sciences, Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc., ³Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc.

目的

Beam walk testは、運動機能の評価系の一つである。Beamを踏み外すことなく駆け抜けるためには高度な協調運動能と平衡感覚が要求されることから、薬物の臨床における「運動失調」や「ふらつき」、「めまい」の予測に役立つものと考えられる。今回、種々の薬物のbeam walkに対する作用を検討し、当該試験系の副作用予測に対する有用性について評価を行った。

方法

床より約90cmの高さに設置した、幅2.5cm×高さ6cm×長さ1.7mの角材の一端に動物が駆け込める程度の入り口を持つ暗箱 (20cm×20cm×高さ30cm) を設けたbeam walking装置を用いた。SD系雄性ラットには2日間訓練を施し、薬物投与前のbeamの渡り時間が10秒以下、かつ踏み外し回数が1回以下の動物を試験に供した。薬物投与後、経時的に渡り時間及び踏み外し回数を、それぞれ30秒、5回をcut-offとして測定した。

結果及び結論

種々の薬物のbeam walkに対する作用を検討したところ、臨床で「運動失調」や「ふらつき」の報告されていない薬物では、渡り時間に影響を及ぼしたものの、踏み外し回数を増加させることはなかった。一方、臨床でこれらの副作用が報告されている薬物では、踏み外し回数を用量依存的に増加させ、高用量ではbeamより落下する動物も見られた。

以上、beam walkの試験結果は臨床における「運動失調」や「ふらつき」の有無と一致していた。また、臨床において「眠気」を示す薬物では踏み外し回数に影響が見られなかったことから、本試験系が薬物の協調運動に対する作用の評価に有用であることが示唆された。

P8-35 血球分析装置XT-2000iによる動物血測定の基礎的検討

○豊田 直人¹、大江みどり¹、花香奈津美¹、田中 美帆¹、小田 康雅²、坂田 孝²

¹(株)三菱化学安全科学研究所、²シスメックス(株)

Basic evaluation of hematology analyzer XT-2000i for laboratory animals

○Naoto TOYOTA¹, Midori OOE¹, Natsumi HANAKA¹, Miho TANAKA¹, Yasunori ODA², Takashi SAKATA²

¹Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., ²Systemex Corporation

【目的】ヒト用に開発された血球分析装置XT-2000i(シスメックス社製)の動物血への有用性及び問題点について報告する。1965年にテクニコン社から多項目血球分析装置が発売され、現在のヒト用分析装置は、ほぼ完成の域に達している。また、動物血においても、ヒト用分析装置を改良した装置が市販されているが、採血量や血小板凝集の問題があり、現在の装置は必ずしも満足できるものではない。シスメックス社は、これらの問題点を考慮し、XT-2000iを動物に適用するための改良を試みた。

【測定原理】XT-2000iは、赤血球、血小板測定系にレーザーフローDC検出法、網赤血球、白血球測定系には半導体レーザーを用いたフローサイトメトリー法を採用し、前方散乱光、側方散乱光、側方蛍光を測定・解析して各血球を計測する。ヘモグロビン測定は、ノンシアン法(SLS-Hb法)を採用している。

【方法・結果】ラット、マウス、イヌ、サル及びウサギから得られたEDTA加血液を用いて測定した。XT-2000iの再現性及び希釈直線性は良好な結果であった。XT-2000iとADVIA120(バイエル社製)の相関性は、全ての動物種において、ほとんどの項目で相関係数0.9以上であった。白血球分類の目視法との比較については、解析中である。

【結論】XT-2000iは、動物血においてもヒトと同等の再現性及び希釈直線性を示した。必要血液量は、マニュアルモード85 μ L、キャピラリーモード40 μ Lであり、CBC、白血球5分類、網赤血球の測定が可能であるが、サンプラーモードにおいて、さらなる血液量の低減が望まれる。また、解析プログラムの充実が必要と思われた。しかし、基本性能に優れ、微量血液で測定可能であることから、採血量の低減、動物数の削減、採回回数など、実験デザインにも影響を与え、動物用としての有用性が期待される。

P8-36 ウサギ屈曲反射モデルを用いた血管痛評価法の確立

○尾崎 秀次、藤島 和幸、藤沼 恵子、庄司 陽子、黒沢 亨

明治製薬(株)医薬開発部門 動物安全性研究所 安全性研究室

Evaluation of algia with flexion reflex in a rabbit model

○Syuji OZAKI, Kazuyuki FUJISHIMA, Keiko HASUNUMA, Yoko SHOJI, Tohru KUROSAWA

MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. Pharmaceutical Development Department, Toxicology Laboratory

【目的】注射薬の投与場所における血管痛をより適切に評価するため、ウサギの耳介静脈を用いた組織障害性と麻酔下ウサギによる屈曲反射を応用した痛覚評価法を組み合わせて、種々の血管刺激物質について検討を行った。【痛覚評価法】JW雄性ウサギに、イソフルラン麻酔下で大腿動脈にサーフローを逆行性に挿入して薬物を投与した。筋電図は同側の手錠様筋または大腿二頭筋から同心型針電極で導出し、生体アンプを介してレクチコーダ上に記録した。評価化合物はNaCl溶液(0.23~5.4%)および0.2M酢酸緩衝液(pH4.8~4.0)を陽性対照とし、注射薬としてミノマイシンおよびホスホマイシンについて2~20mg/mLの濃度で検討した。【結果および結論】NaClの0.23~1.8%溶液では筋電図変化はなく、浸透圧比が3以上となる2.7%から5.4%溶液において痛覚反応が認められた(2.7, 3.6, 4.5, 5.4%;各3/6例)。酢酸緩衝液ではpH4.8から筋電図変化が認められ、pHが低下するほど発現例数が増加した(pH4.8:2/6例, pH4.4:4/6例, pH4.0:5/6例)。この様に痛覚反応を示す筋電図変化によって感度よく血管痛をモニターできることが明らかとなった。ミノマイシンでは5mg/mL以上で筋電図変化が認められ(5mg/mL:4/6例, 10mg/mL:5/6例, 20mg/mL:6/6例)、ホスホマイシンでは20mg/mLまで変化はなかった。以上の結果から、ウサギを用いた屈曲反射は血管痛評価に有用であると考えられた。発表では平行して実施した耳介静脈の組織障害性の評価結果と合わせて報告する。

P8-37 Procedures for inhalation treatment of neonatal rats and dogs

© Chris BANKS, Michelle STOUTE, Andre VIAU, Lorri PINSONEAULT, Kerth ROBINSON
CTBR Bio-Research Inc., Canada

Greater concern for the safety of pharmaceuticals and biotechnology products for pediatric use has resulted in an increased demand for non-clinical neonatal animal models for safety testing. Modified cones and masks were employed to provide similar treatment of neonates to that given to adults. The effect of these exposures upon the pups was studied with non-inhalation dosed littermates used for comparison.

The Beagle females and pups were housed in modified cages. Exposure was performed within negative pressure, walk-in booths. Following acclimation to restraint procedures on days 7 to 9 *post partum* (pp), pups were exposed to 15 minutes of a saline aerosol from days 10 to 49 pp. The atmosphere was generated using the Pari LC Plus nebulizer.

Litters of CD-1GS rat pups were acclimated to the restraint tubes from Days 7 to 9 pp. The rat pups were exposed to an air atmosphere (generated by a nebulizer) on a nose-only flow-through chamber for 4 hours daily from days 10 to 34 pp. Detailed examinations and body weights were monitored. Pups were euthanized on Days 21 or 35 pp and underwent a macroscopic examination.

The dosing procedure was well tolerated and there were no effects of inhalation treatment upon the behavior, growth or clinical pathology of the dog pups. For the rat pups there were neither clinical signs nor macroscopic observations. Slightly lower body weight gains in inhalation exposed rat pups were seen. In conclusion, inhalation exposure of neonatal rat and dog pups, using oro-nasal or nasal procedures, from as early as day 10 pp did not adversely effect development.

P8-38 Ocular toxicity testing in the nonhuman primate: Incidence of spontaneous lesions in cynomolgus monkeys and marmosets

© Birgit NIGGEMANN, Uta KORTE, Sven KORTE, Friedhelm VOGEL, Gerhard WEINBAUER
Covance Laboratories GmbH, Germany

Man and nonhuman primates share many ocular similarities such as retinal cell anatomy, blood vessel system and presence of a fovea. Because of these similarities ocular function can be investigated satisfactorily in nonhuman primate models in toxicity studies. The cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) has proven to be a highly suitable model for examining the ocular toxicity of drugs, and the spectrum of ophthalmoscopic techniques for evaluation of the posterior part of the eye is comparable to that of man, i.e. indirect ophthalmoscopy, fluorescein angiography, fundus photography and electroretinography. The fundus of 1829 animals was examined in untreated animals and altogether 134 (7.3%) spontaneous findings were seen, such as optic nerve variations or differences in retinal pigmentation. Specifically, drusen, variable macula pigmentation, altered translucence, vascular variability, microaneurisms, punctiform hemorrhages and optic nerve disk variability were encountered. The marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) is the smallest nonhuman primate commonly used in biomedical research and has gained particular value for toxicity studies when compound supply is limited. Examination of the fundus by indirect ophthalmoscopy was performed in 488 untreated marmosets. Overall, spontaneous ocular findings were seen in 6 (1.2%) cases and these findings were similar to those encountered in the cynomolgus monkey. In conclusion, both species show similar background findings and can be used for toxicity testing of pharmaceutical drugs. Because of the small size of the marmoset eye, the use of other ophthalmoscopic techniques is limited and, hence, the cynomolgus monkey is the preferable model for ocular toxicity testing.

P8-39 Chlorpromazine hydrochloride および Saponin の溶血性試験 — in vivo と in vitro の比較 —

○長瀬 孝彦、富岡 三和、田中 勝幸、古橋 忠和

(株)日本バイオリサーチセンター

The hemolysis test of Chlorpromazine hydrochloride and Saponin — Comparison with in vivo and in vitro —

○Takahiko NAGASE, Miwa TOMIOKA, Katuyuki TANAKA, Tadakazu FURUHASI

Hashima Laboratory, Nihon Bioresearch Inc.

＜目的＞溶血性試験は、ウサギあるいはヒトの血液を用いて *in vitro* 試験で行われることが多い。しかし、*in vitro* 試験ではヒト生体における曝露状態とは試験条件が異なっている。そこで、ウサギでの *in vivo* 試験を実施し、*in vitro* 試験と比較検討した。＜方法＞被験物質としてクロルプロマジン塩酸塩（以下CPZ、4.38, 8.75, 17.5mg/mL）およびSaponin（5, 10, 20mg/mL）を用いた。*in vivo* 試験では、ウサギを約20時間絶食後、CPZまたはSaponinの各濃度を0.4mL/kg静脈内投与し、投与後5, 15, 30分, 1, 2, 4および24時間に耳動脈から採血した。*in vitro* 試験では、CPZまたはSaponinとヒトあるいはウサギ血液を1:10の混合比で37℃、1分間incubationした。いずれも遠心して得られた上清について肉眼的観察およびHb濃度測定を行った。*in vivo* および *in vitro* 試験ともに陰性対照にはSalineを用いた。さらに、ヒトおよびウサギ血液の脆弱性試験をParpart法に従って行った。＜結果、考察＞*in vivo* 試験では、CPZおよびSaponinともに投与後5～15分で軽度～高度の溶血が認められ、その後、Hb濃度は減少傾向を示した。*in vitro* 試験では、ヒトおよびウサギ血液ともにCPZおよびSaponinのいずれの濃度も強度の溶血が認められた。ヒト血液とウサギ血液との比較では、ウサギ血液の方が強い溶血性を示し、血球の脆弱性もウサギ血液の方がヒト血液に比べて強かった。以上、本試験条件下での溶血の強度は、ウサギ *in vitro* > ヒト *in vitro* > ウサギ *in vivo* の順であった。

P8-40 ミニブタを用いた各種外用剤の皮膚刺激性試験—ウサギ、モルモットなら びにヒトとの比較—

○山田 恭史、岩崎 栄、田中 勝幸、浅野 真子、久木 浩平

(株)日本バイオリサーチセンター 羽島研究所

Skin irritation study of various dermatological preparations using miniature swine - Comparison with rabbits, guinea pigs and humans -

○Yasushi YAMADA, Sakae IWASAKI, Katsuyuki TANAKA, Ikuko ASANA, Kouhei KYUKI

Hashima Laboratory, Nihon Bioresearch Inc.

一般演題 (B12F)

目的 前回、動物種における皮膚刺激性の比較について報告したが、今回引き続き、一般に使用されている他の軟膏剤について、皮膚構造がヒトに似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、ミニブタの背部皮膚ならびにヒトの上腕部に4種の市販製剤（軟膏剤）を貼付閉塞した。貼付後24時間に除去し、除去後約30分、24時間、48時間に皮膚反応を観察した。

結果 ウサギでは、3種の軟膏剤に軽度の皮膚反応がみられ、他の1種ではごく軽度の皮膚反応がみられた。モルモットでも、3種の軟膏剤に軽度の皮膚反応が、他の1種にごく軽度の皮膚反応がみられた。しかし、モルモットでの一次刺激インデックス (P.I.I.) はウサギのP.I.I.より若干小さかった。一方、ミニブタでは、2種の軟膏剤で皮膚反応がみられなかったが、他の2種ではごく軽度の皮膚反応がみられ、P.I.I.はウサギ、モルモットよりも小さかった。また、ヒトでも2種の軟膏剤で皮膚反応がみられなかったが、他の2種ではごく軽度の皮膚反応がみられ、P.I.I.はミニブタとほぼ同数値であった。

以上の結果、刺激性の強度はウサギ、モルモット、ミニブタ・ヒトの順になった。今回用いた軟膏2種について、ウサギ、モルモットでは刺激性が確認されたものの、ミニブタ、ヒトでは刺激性がみられなかった。また、他の2種ではミニブタ、ヒトとも同程度の刺激性がみられた。このことから皮膚刺激性においてミニブタとヒトとの相関がみられ、ミニブタで皮膚刺激性を評価することにより、ヒトへの外挿性において信頼性がより高くなると考えられた。

P8-41 ラットにおける vitamin K 依存性凝固因子異常の簡便な評価方法

○倉田 昌明、飯高 健、山崎 尚子、笹山由紀子
ファイザー（株）、中央研究所、安全性研究統括部、毒性研究室

Simple methods for evaluating abnormality in vitamin K-dependent coagulation factors in rats

○Masaaki KURATA, Takeshi IIDAKA, Naoko YAMASAKI, Yukiko SASAYAMA

Toxicology, Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc., Japan

【目的】ラットにおける vitamin K (VK) 依存性凝固因子異常の簡便な評価法を確立する目的から、warfarin 投与ラットを用いて検討を行なった。【方法】雄性ラット (IGS, 9週齢) に、warfarin を経口投与 (3, 10mg/kg) し、24時間後にクエン酸加血漿を得た。プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン (Fib) の他、市販のヒト凝固因子欠乏血漿を用いて第II、V、VII、IXおよびX因子活性を測定した。トロンボテスト (TBT) とヘパプラスチンテスト (HPT) はヒト用試薬キットを用いた。第II因子総活性は *Echis carinatus* 蛇毒凝固時間にて測定した。【結果】Warfarin 投与群では、PTとAPTTの顕著な延長がみられたが、Fibには変化がみられなかった。VK依存性凝固因子である第II、VII、IXおよびX因子において活性の低下が確認された。一方、VK非依存性凝固因子の第V因子に変化はなかった。TBTとHPTでは顕著な凝固時間延長と活性低下がみられた。第II因子総活性を反映する *Echis carinatus* 蛇毒凝固時間に変化はなく、前述の第II因子活性低下との対比により、異常プロトロンビン (abnormal "protein induced by vitamin K absence or antagonists"; PIVKA) の存在が確認された。【結論】以上の成績より、ラットの毒性試験においてPTとAPTTの延長がみられた場合、VK依存性凝固因子異常は、(1) ヒトでの方法を用いて簡便に検出可能なこと、また、(2) その組み合わせにより、機序を確認することが可能であることが示された。

P8-42 マウスにおける繰り返し採血と血液検査法の検討

○倉田 昌明、山崎 尚子、真子 智美、飯高 健、浜田 悦昌
ファイザー（株）中央研究所、安全性研究統括部、毒性研究室

Technical examination for repeated blood collection and hematological tests in mice

○Masaaki KURATA, Naoko YAMASAKI, Tomomi MAKI, Takeshi IIDAKA, Yoshimasa HAMADA

Toxicology, Worldwide Safety Sciences, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc., Japan

【目的】マウスの採血法と血液検査法について、背中心静脈穿刺採血と微量 (10~20 μ L) 測定特性を持つ自動血球計数装置 Sysmex F-820 を組み合わせた経目的な血液検査法を検証した。【方法】背中心静脈採血は、保定者がマウス (雄性、CD-1) を持ち、他1名が背中心静脈を穿刺し、血液をピペットで採取する方法によった。血液学的パラメータは、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH、MCHC、血小板数および平均血小板容積を測定した。その他、CV値算出や Advia 120 との比較検討のため、EDTA処理したマウスの後大静脈血、ラット (IGS) の頸静脈血およびイヌ (beagle) の頸静脈血/橈側肢静脈血を使用した。【結果】(1) 背中心静脈穿刺によって2.5週間にわたり計6回採血 (10~20 μ L/回) した繰り返し採血群と対照群 (繰り返し採血群の初回と最終に採血を実施) の間で、いずれの血液学的パラメータにも差はなかった。また両群の体重推移も同等であった。この成績は、本法により2~4日の隔日採血による血液学的パラメータ測定が可能であることを示している。(2) マウスでの Sysmex F-820 測定値の CV 値は、既知のヒト血液における CV 値と同等であり、精密性が示された。(3) マウス血小板数の Sysmex F-820 測定値は、Advia 120 測定値に比べて低値 (約82%) を示した。この傾向はラット血液にはなかったが、イヌ血液で同様の傾向がみられた。血小板数の機器間差は、対照群を設けることにより、問題は回避できる程度と判断された。他のマウス血液学的パラメータに機器間差はなく、正確度に問題はなかった。【結論】今回、背中心静脈穿刺採血と Sysmex F-820 の組み合わせにより、マウスでの経目的な繰り返し採血と血液検査が可能であることが検証された。

P8-43 サルの血漿と血清におけるCK活性値の相違に関する検討

○浅井 幸治¹、塚田 幸子¹、田中 春樹²、日比野信裕²、堀川 純¹、菅沼 権純¹、築館 一男³
エーザイ（株）安全性研究所 筑波研究室、²エーザイ（株）安全性研究所 川島研究室、³エーザイ（株）動物安全性担当

Study on the difference of CK activity between plasma and serum in monkey

○Koji ASAI¹、Sachiko TSUKADA¹、Haruki TANAKA²、Nobuhiro HIBINO²、Satoru HOSOKAWA¹、
Akiyoshi SUGANUMA¹、Kazuo TSUKIDATE³

¹Tsukuba Research, Drug Safety Research Laboratories, Eisai Co. Ltd. ²Kawashima Research, Drug Safety Research Laboratories, Eisai Co. Ltd. ³Director of Drug Safety & Disposition, Eisai Co. Ltd.

【目的】Creatine kinase (CK) 活性の測定に際しては、一般的に血漿あるいは血清のいずれを用いても、測定可能であるとされている。血中CKの変動が認められた場合、アイソザイム分画の確認などによる標的臓器の把握が重要であるが、その場合、試料の保存安定性が確保されていなければならない。今回、サル血清・血漿についてCK活性の保存安定性を検討し、興味深い活性値の変化を認めたため報告する。

【方法】サイコンプレック社より購入した9歳齢カニクイザルの雌を使用し、樹木下において、一夜絶食後、ケタラールで麻酔し、無菌注射筒にて全血を5mL採取した。次にヘパリンナトリウム処理した注射筒にて、全血を2mL採取した。常法にて遠心分離を行い、血清および血漿中のCKを採取当日に自動分析装置にて測定した。試料は予め、小分けし、冷蔵（約4℃）にて1、2および7日間保存後、測定に供した。

【結果及び考察】保存安定性を確認した結果、血清中のCK活性は保存により低下傾向は認められたものの最大20%の低下に留まり、ほぼ安定であることが確認された。一方血漿中のCK活性については、保存翌日に有意に低下（最大20%低下）したが、3日目以降はさらなるCK活性値の低下は認められなかった。以上より、サルにおける血中CK活性の測定においては、ヘパリンナトリウム添加による血漿は不適切であることが明らかとなった。また、ヘパリンナトリウム添加によるCK活性の低下傾向とアイソザイム分画の関連性について検討中である。

P8-44 Historical control serum clinical chemistry values for the adult Crl:CD SD IGS BR Rat

Matt Coffee, S. Haley, W. Lawrence, ○C. P. Chengelis
of WIL Research Laboratories, Inc USA

Several studies in which "control" or "background normal data" on the Crl:CD SD IGS BR Rat have been published since the strain was introduced in the mid 1990s; however, these studies used relatively small groups of animals that were held for short periods of time. We have assembled a data base of the control groups from 22 different thirteen-week studies conducted over a four year period of time that includes at total of 306 IGS rats/sex. Here we report on the serum clinical chemistry historic control for the adult CD IGS rat (19 to 25 weeks of age). Samples were prior to scheduled necropsies from fasted animals. Tables will be presented showing the historic control range for 20 different common serum clinical pathology parameters: A/G ratio, alanine, aspartate and glutamyl transferases, alkaline phosphatase, calcium, chloride, cholesterol, creatine kinase, globulin, glucose, phosphorus, potassium, sodium, bilirubin, total protein, triglycerides, and urea nitrogen. The data were also analyzed and show that there are slight, statistically significant differences between genders for 17 parameters, slight differences caused by bleeding techniques (collected from the vena cava isoflurane anesthetized rats or from the tail vein of unanesthetized rats) for four parameters (both sexes), and slight differences between instruments (Hitachi 911 vs. Hitachi 912) for 5 parameters (both sexes). These differences should not meaningfully effect data interpretation in a well controlled study, but indicate that historical control data must be used with a certain degree of caution.1

P8-45 創薬初期での探索的な毒性試験における曝露量の推定

○藤川 真章¹、酒井 孝範¹、佐藤 晴¹、山田 弘¹、堀井 郁夫¹、岩崎 一秀²

¹ファイザー（株）中央研究所安全性研究統括部、²ファイザー（株）中央研究所薬物動力学研究部薬物動態研究部

Estimation of exposure in toxicology study in discovery stage

○Masaaki FUJIKAWA¹、Takanori SAKAI¹、Yasushi SATO¹、Hiroshi YAMADA¹、Ikuo HORII¹、
Kazuhide IWASAKI²

¹Worldwide Safety Sciences, PGRD Nagoya, Pfizer Japan Inc. ²Drug Metabolism, Pharmacokinetics Dynamics Metabolism, PGRD Nagoya, Pfizer Japan Inc.

【目的】合成される化合物量が少なくPK情報も乏しい創薬の初期段階において、曝露量を予測して探索的な毒性試験のデザインを構築することは適切な試験を実施する上で重要である。今回、化合物Aの探索的な毒性試験において曝露量をあらかじめ予測し、さらに実際の曝露量と比較した。【曝露量の予測】化合物Aのラットにおける曝露量を構造情報や文献情報から予測し、目標とする血漿中濃度（12 μ g/mL）に達する300mg/24h/headを最高投与量に設定した。【試験方法】SD系ラットに化合物Aを0、100及び300mg/10mL/24h/headで72時間にわたり定速静注し、症状観察、組織的検査及び生化学検査を実施した。また定速静注終了直前及び終了後3時間の血漿中化合物A濃度を測定した。なお、定速静注試験と同時期に別のSD系ラットに化合物Aを60及び120mg/kgの投与量で急速静注し、同様に毒性所見の抽出及びPK測定を実施した。【結果】定速静注試験において定速静注終了直前の血漿中濃度は100及び300mg/24h/headの投与量のときそれぞれ259-278及び336 μ g/mLであった。また120mg/kgの投与量で急速静注した後5分及び3時間における血漿中濃度はそれぞれ821及び126 μ g/mLを示した。【考察】定速静注試験における血漿中濃度は予測値を下回ることはなく、構造情報や文献情報からの予測でも曝露量が低すぎて毒性試験が成立しないというリスクを避けることができた。また急速静注試験を実施して毒性所見やPK情報（VdとCL）を事前に得ておくことが可能であればその後実施する定速静注試験における曝露量をより正確に予測できると考えられた。

P8-46 ラットにおけるペルフルオロオクタン酸の尿中排泄機構の解析

○片倉 賢紀、工藤なをみ、川崎 洋一

城西大学薬学部

Studies on mechanism of renal transport of perfluoro octanoic acid in rats

○Masanori KATAKURA, Naomi KUDO, Yoichi KAWASHIMA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University

【目的】フッ素系工業製品として利用されてきたペルフルオロオクタン酸（PFOA）は、近年、環境中のみならず一般人の血液からも検出されており、汚染が広がっている化合物である。我々は、PFOAがラットにおいて主に尿中から排泄されること、尿中排泄には何らかの輸送担体が関与していること、尿中排泄には性差があることを明らかにしてきた。本研究ではPFOAの尿中排泄に関与する輸送担体を明らかにすることを目的として実験を行った。【方法】さまざまな性ホルモン状態のラットにPFOAを単回静注し、経時的に採尿・採血を行い、腎クリアランス（CL_r）を求めた。さまざまな性ホルモン状態のラットを作製し、腎臓からmRNAを抽出後、RT-PCR法を用いて種々の有機酸輸送担体のmRNA発現量を定量した。アフリカツメガエル卵母細胞を準備し、oatp1、NPT2およびOAT3 cRNAまたは水注入後、¹⁴C-PFOAの取り込み実験を行った。【結果と考察】PFOAの尿中排泄率がマニトールの持続注入により雌雄とも上昇したことから、PFOAは尿管管で再吸収を受けると考えられた。PFOAのCL_rは、プロベネシドを共存させると、いずれのホルモン状態のラットにおいてもCL_rは有意に低下し、性ホルモン状態による差が認められなくなった。oatp1 mRNAはテストステロンにより増加した。また、cNPT2 mRNAはエストラジオールにより減少した。OAT3 mRNAは、卵巣を抽出したラットでのみ有意に上昇した。アフリカツメガエル卵母細胞にoatp1およびOAT3を発現させるとPFOAの取り込みは顕著に上昇した。以上の結果からPFOAはOAT3により尿管管上皮細胞へ取り込まれ、何らかの機構で尿管管管腔に排出され、尿管管管腔に発現しているoatp1により一部が再吸収を受け、残りが尿中へ排泄されるものと考えられた。

P8-47 ラットの飼育環境が行動観察に及ぼす影響の検討

○吉田 香¹、堀井 郁夫¹、奥村 貴子²、藤田 勇²、中村 雄志²、白石 智³、加藤 善³、加藤 順文³、田島 恵子³

¹ファイザー（株）中央研究所 安全性研究統括部、²ファイザー（株）中央研究所 生物科学研究統括部、³（株）ケー・イー・シー

Investigation of environmental influences on the behavioral observation in rats.

○Kaoru YOSHIDA¹、Ikuo HORII¹、Takako OKUMURA²、Isami FUJITA²、Yuji NAKAMURA²、Satoshi SHIRAIISHI³、Akane KATO³、Yorifumi KATO³、Keiko TAJIMA³

¹Pfizer Japan Inc. Global Research & Development Nagoya Laboratories, Worldwide Safety Sciences、²Pfizer Japan Inc. Global Research & Development Nagoya Laboratories, Discovery Biology Research、³KAC Co. LTD.

【目的】動物実験を行うにあたり、飼育環境が実験結果に影響を及ぼす可能性は十分考えられ、環境条件として温度、湿度、換気、照明などを設定し、騒音、振動及び塵埃の対策を立てておくことはとても重要である。また飼育器具は多様であり、その条件の違いや変更による影響を吟味することも実験を行う上で必要である。本実験は、ラットの行動観察から結果を導き出す実験系において、飼育方法を変更するにあたり、飼育条件が行動に及ぼす影響を把握することを目的とし、自動洗浄ラックの洗浄音の影響と1ケージあたりの飼育匹数が、行動観察結果に影響を及ぼすか否かを検証するものである。【方法】実験には日本チャールスリバー社のIGSラットオス4週齢80匹を用いた。それらを20匹ずつ4群に分け、4つの異なる条件（①:自動洗浄を稼働させた状態で、1匹/ケージ飼育、②:自動洗浄を稼働させた状態で、2匹/ケージ飼育、③:自動洗浄を稼働させない状態で、1匹/ケージ飼育、④:自動洗浄を稼働させない状態で、2匹/ケージ飼育）で飼育し、各群20匹のうち10匹はABSS（Automated behavioral scoring system）を用い行動を観察し、別の10匹はRandall selitto testを行い、それぞれの飼育条件で違いが生じるか比較した。【結果】①:ABSSによる行動観察の結果、環境馴化に要する時間は、自動洗浄装置を稼働しない環境の方が比較的長く、また2匹飼育の方が1匹飼育よりも短い傾向が見られたものの、検定では有意な差はみられなかった。②:Randall selitto testの結果、実際に試験を行うことができた個体の割合は自動洗浄を稼働させた状態で、1匹飼育の場合がもっとも多く安定していたが、実測値には飼育条件による大きな差は見られなかった。

P8-48 安全性薬理試験実施に必要なGLP要件に関するアンケート調査結果-製薬協 基礎研究部会A1グループ GLP要件検討サブチーム

○池田 孝剛¹、岡谷内 博²、奥津 広士³、越智 誠支⁴、久保田訓世⁵、齋藤 守⁶、佐神 文郎⁷、佐藤 憲幸⁸、野村 俊治⁹、村木由起子⁹、森 辰也¹⁰

¹興有製薬（株）、²マルホ（株）、³科研製薬（株）、⁴日本新薬（株）、⁵（株）ツムラ、⁶エーザイ（株）、⁷藤本製薬（株）、⁸ファイザー（株）、⁹白濁キョーリン製薬（株）、¹⁰協和発酵工業（株）

Questionnaire Survey about GLP Requirements for Safety Pharmacology-JPMA Basic Research A1 group GLP requirement subteam

○Takanori IKEDA¹、Hiroshi OKAYACHI²、Hiroshi OKUTSU³、Seishi OCHI⁴、Kunitzugu KUBOTA⁵、Mamoru SAITO⁶、Fumio SAGAMI⁷、Noriyuki SATO⁸、Shunji NOMURA⁹、Yukiko MURAKI⁹、Tatsuya MORI¹⁰

¹Banyu Pharmaceutical Co. Ltd.、²Maruho Co. Ltd.、³Kakien Pharmaceutical Co. Ltd.、⁴Nippon Shinyaku Co. Ltd.、⁵Tsumura & Co.、⁶Eisai Co. Ltd.、⁷Fujimoto Pharmaceutical Corp.、⁸Pfizer Japan Inc.、⁹Nissin Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd.、¹⁰Kyowa Hako Kogyo Co. Ltd.

安全性薬理試験（コアバッテリー試験）は、2003年7月より医薬品GLP省令を準用し、GLP試験として実施されている。現在、このGLP試験に関する既実施のアンケート調査（製薬協・JSQA等）の結果が利用可能となりつつあり、また医薬品機構からは安全性薬理試験をGLP試験として実施する場合に考慮すべき点も公表されている（医薬品GLPガイドブック2003、第8回GLP研修会資料）。加えて、安全性薬理試験を対象とした機構調査も行われてきつつある。しかしながら、新しい試験故にどのようにGLPに基づき試験を行ってよいか判断するとき困難なことも多々ある。そこで、製薬協基礎研究部会検討A1グループのGLP要件検討サブチームでは安全性薬理試験をGLP試験として実施するに当たって、科学的に妥当であり必要な要件を明らかにすることで、今後の安全性薬理試験の円滑な実施を目標にして活動している。その一環として、製薬協加盟製薬企業各社の安全性薬理試験担当者（試験モニターを含む）が、現在どのように安全性薬理試験をGLP試験として具体的に実施あるいは調査しているのか、あるいは今後実施あるいは調査する予定であるのかアンケート調査を実施し、安全性薬理試験をGLP試験として行うに当たって必要と思われる要件を明らかにすることを試みた。このアンケートは、GLP試験に必要なと思われる項目あるいは必ずしも必要ではないと思われる項目を含めた網羅的な質問（13項目・94設問）からなっており、明らかにGLP省令に基づき必須と思われる内容については一部含まれていない。今回は、本グループにおけるアンケート実施前の検討結果及び本アンケートの結果を提示し、前述の既存の情報を含めてGLP安全性試験に必須の要件を提示する。

一般商標(ボスナー)

P8-49 安全性薬理試験における国内外CROにおけるGLP運用に関する調査報告

河野 茂生、岩永 裕氏、齋藤 守、鳥居 慎一、○豊島 茂樹、中井 祥二、浜田 修一、橋本 宗弘、門田 利人、佐神 文郎

日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会

Questionnaire survey of GLP operation for S7A Safety Pharmacology Study in Japanese and foreign CROs.

Shigeo KAWANO, Yuji IWANAGA, Mamoru SAITO, Shinichi TORII, ○Shigeki TOYOSHIMA, Shoji NAKAI, Shuichi HAMADA, Munehiro HASHIMOTO, Toshihito KADOTA, Fumio SAGAMI

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

安全性薬理試験ガイドライン (S7A) は2003年7月より完全に施行されたが、製薬協加盟会社の安全性薬理担当者から、実際の運用面において様々な疑問点や問題点が提示され、特にGLP運用面において苦慮していることが判明した。そこで、製薬協基礎研究部会検討グループのGLP運用検討サブチームでは、安全性薬理試験に関してGLP運用上のような問題が生じたか、S7Aが完全に施行された現状において、その問題に対しどのような対策を講じたか、あるいは講じる必要があるかを明らかにすることにより、今後の安全性薬理試験を円滑に実施できるようにしたいと考えた。その際、製薬企業から試験を受託している受託研究機関 (CRO) が、規制当局と委託企業の間でこの問題に最も直面していると考え、CRO各社に対して安全性薬理試験ガイドラインにおけるGLP運用に関するアンケート調査を実施した。また、アンケート作成に際し、国内CROと外国資本CROのGLP運用上の差異についても検討できるよう配慮した。調査は2004年12月に実施し、調査項目として、1) 試験のGLP対応状況、2) 試験担当者、3) 試験実施上の諸問題、4) 対規制当局の諸問題、5) 最終報告書、6) 生データ、及び7) パリテーションについて、合計39項目の質問を行った。調査対象は安研協加盟国内CROおよび国内に事務所を構える外国資本CROとした。本学会では、調査により判明した安全性薬理試験におけるGLP運用上の諸問題について報告及び今後の改善策 (案) について考察した結果および提言を報告する。

P8-50 乳酸鉄過負荷ラットの肝臓および脾臓中のアデニンヌクレオチド含量およびアデノシン3'-リン酸 (3'-AMP) 産生酵素活性に及ぼす影響

○藤森 廣幸¹、尾崎 清和²、松浦 哲郎²、芳生 秀光¹、奈良間 功²

¹ 摂南大学薬学部、² 摂南大学薬物安全科学研究所

Effect of Iron Lactate Overloading on Adenine Nucleotide Levels and Adenosine 3'-Monophosphate (3'-AMP) Forming Enzyme in Rat Liver and Spleen

○Hiroyuki FUJIMORI¹, Kiyokazu OZAKI², Tetsuro MATSUURA², Hidemitsu PAN-HOU¹, Isao NARAYAMA²

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, ² Research Institute of Drug Safety, Setsunan University

【目的】動物に過剰摂取された鉄はフェリチンおよびヘモシデリンとして肝臓、脾臓等に蓄積される。鉄イオンは鉄の過酸化を亢進すること等により細胞毒性を発現することが知られているが、鉄の酸化還元状態に依存して諸酵素の活性調節機能を有することも推定される。RNaseの一種である3'-AMP産生酵素は、SH基に富むRNase阻害物質と複合体を形成しつつ細胞内のRNA代謝に関与すると考えられるが、その生体内意義は不明である。本研究では、3'-AMP産生酵素の病態生理学的意義解明の一端として、鉄を過剰負荷したラット肝臓および脾臓中のアデニンヌクレオチド、特にATP、含量および3'-AMP産生酵素活性に及ぼす影響を検討した。【方法】5週齢のSD系ラット雄に乳酸鉄を0、0.625および5.0%添加した粉末試料を4週間投与した。【結果および考察】肝臓では小葉辺縁部の肝細胞とクッパー細胞、脾臓では赤脾臓のマクロファージに鉄が沈着していたが、臨床生化学的および病理組織学的に明らかな細胞障害は認められなかった。肝臓および脾臓中のATP含量は有意に低下したが、ミトコンドリアを含まない赤血球中のATP含量は変化しなかった。また、鉄負荷された肝臓および脾臓の粗抽出液をSH試薬で処理して得た総3'-AMP産生酵素活性はRNase阻害物質と結合していない遊離の酵素活性と同程度であった。以上の結果より、鉄負荷によりミトコンドリアのATP産生能の低下およびRNase阻害物質との複合体の解離による3'-AMP産生酵素の活性化等の生化学的変化が細胞障害に先行することが示唆された。

P8-51 ブレオマイシンをinstillしたモルモットの呼吸機能パラメータに対するタバコの煙曝露の影響

○馬 成俊、守住 孝輔、牛島 壮太、有吉 美秋、藤村 洋、今泉 真和、直 弘、西 勝英
(株) パナファーム・ラボラトリーズ

Effect of cigarette smoke exposure on respiratory function parameters in bleomycin-instilled guinea pigs

○Cheng Jun MA, Kousuke MORIZUMI, Souta USHIJIMA, Miaki ARIYOSHI, Hiroshi FUJIMURA,
Masakazu IMAIZUMI, Hiroshi AITAI, Katsuhide NISHI
Panapharm Laboratories Co., Ltd

Bleomycin has been known to induce lung fibrosis, but the effect of bleomycin on respiratory function parameters is little known. The present study investigated the effects of cigarette smoke exposure on respiratory function parameters in unanesthetized and unrestrained bleomycin-instilled guinea pigs. As a result, cigarette smoke exposure decreased respiratory rate and increased Penh (an index of bronchoconstriction) though no significance, and significantly increased tidal volume compared with the sham group. Bleomycin significantly increased respiratory rate and significantly shortened expiratory time, but did not significantly affect Penh compared with the sham group. Bleomycin + cigarette smoke exposure significantly increased respiratory rate, expiratory time and Penh, resulting in symptoms of bronchoconstriction in the unanesthetized and unrestrained guinea pigs

－ 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

次回年会のお知らせ

第32回 日本トキシコロジー学会学術年会

年会長：土井 邦雄

(東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医病理学研究室教授)

年会事務局 TEL：03-5841-5400

FAX：03-5841-8185

E-mail：akunio@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

会 期：平成17年6月29日(水)～7月1日(金)

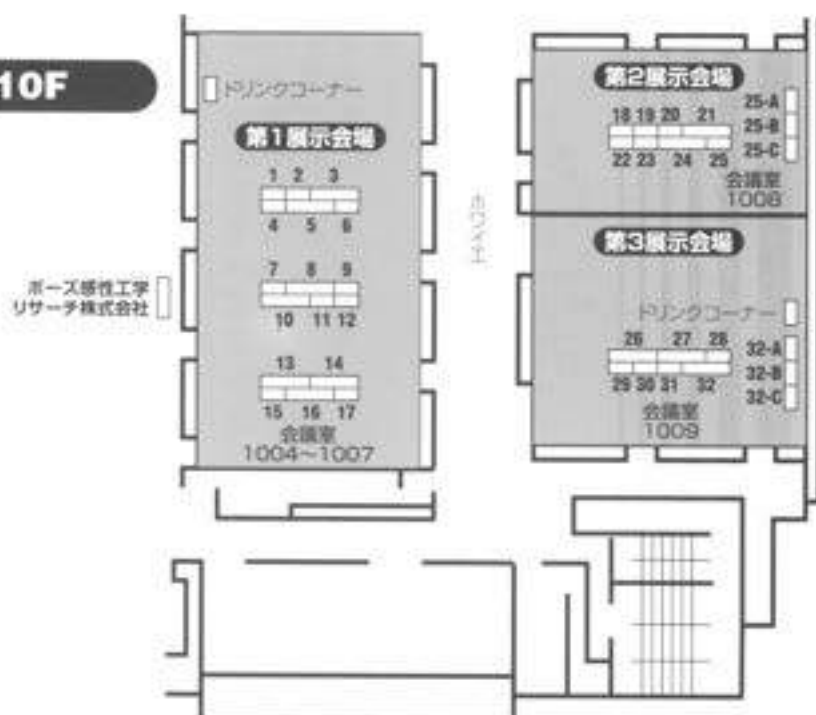
会 場：江戸川区総合区民ホール

第31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

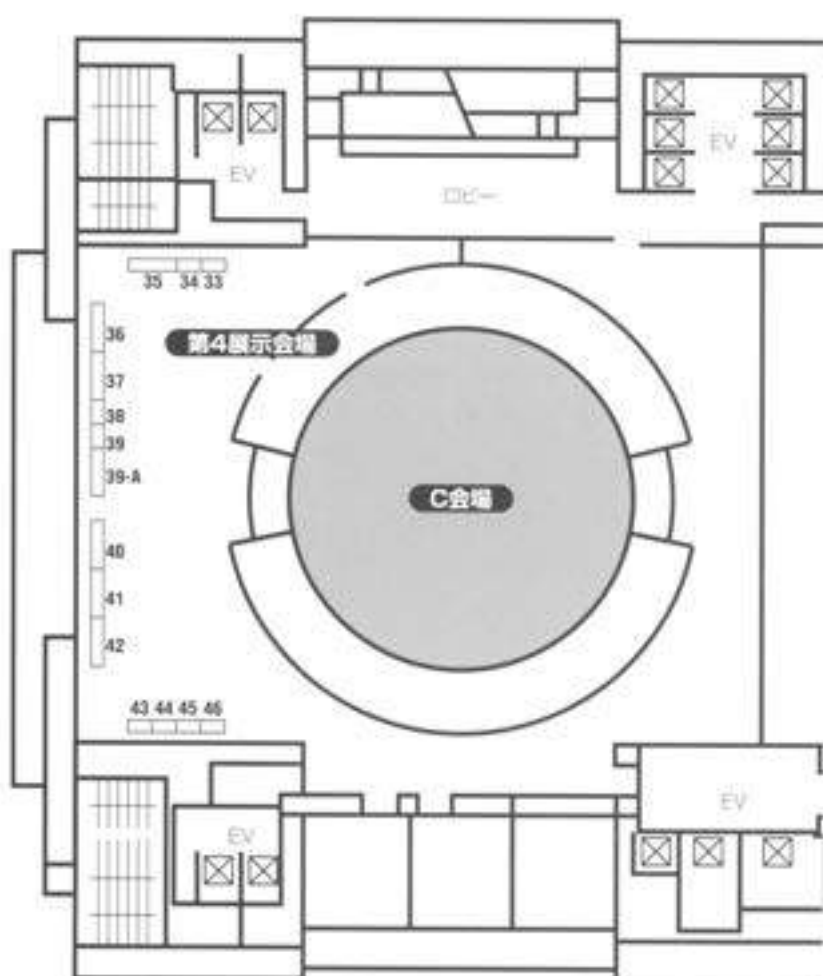
- 1 株式会社日本バイオリサーチセンター
〒501-8251 岐阜県羽前市地味町町尾6丁目104番地
- 2 株式会社リブレ CTL日本オフィス
〒103-0025 東京都中央区日本橋茅場町3-5-3
- 3 Fraunhofer ITEM
フラウンホーファー ITEM研究所
〒104-0043 東京都中央区浅草1-8-13 中層第2ビル5階
エルエスピー(有) フラウンホーファー ITEM 日本総代理店
- 4 第一化学薬品株式会社 薬物動態研究所
〒319-1182 茨城県那珂市海浜村4-2-117
- 5 CTBR (連絡先 エルエスピー株式会社)
〒162-0814 東京都新宿区新小川町6-30 SSSビル
CTBR (A Member of the Inveresk Research Group)
87 Senneville Road Senneville (Montreal) Quebec, Canada
H9K 3R3
- 6 NOTOX 日本事務所
〒130-0001 東京都墨田区西横場2-12-2
- 7 ハムリー株式会社
〒110-0005 東京都台東区上野7-6-5 上野Xマビル5階
- 8 韓国化学研究所附設安全性評価研究所 (KIT)
〒305-343 大田広域市貴城洞区5路100
- 9 株式会社セントラル科学貿易
〒111-0052 東京都台東区朝陽1-6-1
- 10 シスメックス株式会社
〒651-2271 神戸市西区高塚台4-4-4
- 11 財団法人食品農薬医薬品安全性評価センター
〒437-1213 静岡県静岡市駿河区南田582-2
- 12 ザイファージェン・バイオシステムズ株式会社
〒240-0305 神奈川県横浜市保土ヶ谷区神戸町134
横浜ビジネスパーク イーストタワー 14階
- 13 株式会社大誠会区科学研究所
〒491-0113 愛知県一宮市津井町西通共栄館64
- 14 日本農産工業株式会社
〒220-8146 横浜市西区みなとみらい2-2-1
ランドマークタワー46F
- 15 スリーエス・ジャパン
〒170-0013 東京都豊島区東池袋1-33-4302
- 16 クインタイルズ・トランスナショナル・ジャパン
〒108-0074 東京都港区芝4-1-23 三田NMビル11階
- 17 株式会社薬物安全性試験センター
〒355-0071 埼玉県熊谷市山手大学新館68-75
- 18 Experimental Pathology Laboratories, Inc.
P.O. Box12784 Research Triangle Park, NC 27709 USA
- 19 株式会社環境バイロリサーチ研究所
〒528-0052 滋賀県甲賀郡水口町宇山字船場556番地
- 20 TNO Pharma
〒222-0033 横浜市港北区新横浜2-12-6第一KSビル7F
- 21 日本シイベルヘグナー株式会社
〒542-0081 大阪市中央区南船場4-3-11 船田ビル
- 22 システムサイエンス株式会社
〒197-0011 東京都墨田区錦糸125-3-15
- 23 株式会社シバヤギ
〒377-0027 群馬県太田市石巻1062-1
- 24 コーヴァンスインク日本支社
〒103-0010 東京都中央区日本橋小塚町3番12号
近ビル5階
- 25 フクダエム・イー工業株式会社
〒270-0163 千葉県流山市南流山8-26-8
- 25-A 株式会社東レリサーチセンター
〒103-0022 東京都中央区日本橋茅場町3-1-8 都ビル5階
- 25-B 株式会社ニューロサイエンス・イデア
〒532-0011 大阪府淀川区西中橋6-7-9-3F
- 25-C 日本クレア株式会社
〒153-8533 東京都目黒区青葉台2-20-14
- 26 株式会社新日本科学
〒291-1394 鹿児島県鹿児島市高島町西之浜2438
- 27 Inveresk
〒136-0076 東京都江東区高田2-2-5
株式会社ACRONET Inveresk 日本代理店
- 28 株式会社ベリタス
〒105-0001 東京都港区虎ノ門2-7-14 八洲ビル
- 29 株式会社ケー・イー・シー
〒520-3001 愛知県栄6-91
- 30 株式会社日立ハイテクノロジーズ
〒105-6717 東京都港区西新橋1-24-14
- 31 株式会社M・I・P・S
〒536-0004 大阪市東淀川区福西3丁目2番2号
プレジデントビル1105
- 32 株式会社富士バイオメディックス
〒104-0045 東京都中央区築地5-25-10
築地センタービル11F
- 32-A 三木産業株式会社
〒103-0027 東京都中央区日本橋3-15-5
- 32-B 株式会社イナリサーチ
〒399-4501 長野県伊那市西長輪2148-188
- 32-C フライムテック株式会社
〒112-0002 東京都文京区小塚11-3-25 小塚11大岡ビル9F
- 33 株式会社エイチ・アンド・ディー
〒577-0061 大阪府森野内橋2丁目20-4
- 34 株式会社医薬分子設計研究所
〒113-0033 東京都文京区本郷5-24-5 角川本郷ビル4F
- 35 横河アナリティカルシステムズ株式会社
〒192-0033 東京都八王子市高倉町3-1
- 36 ハンティンドン ライフサイエンス(株)
〒102-0076 東京都千代田区五番町12番地1 基研会館
- 37 株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区八木山3-36-7
- 38 日本チャールズ・リバー株式会社
〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3-17-6
- 39 株式会社CR-アイディアス
〒170-0013 東京都豊島区池袋1-48-10
25山京ビル727号室
- 39-A 株式会社メディアサービス/セーフファーム・ラボラトリーズ
〒103-0025 東京都中央区日本橋茅場町2-14-1
第一ビル303
- 40 株式会社三菱化学安全科学研究所
〒105-0014 東京都港区芝2-1-30 (豊化ビル)
- 41 株式会社バナファーム・ラボラトリーズ
〒855-0425 熊本県宇土市東橋町1285
- 42 MPI Research, Inc.
〒101-0054 東京都千代田区神田錦町3-20 錦町実ビル6F
- 43 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社
〒153-0209 東京都港区浜松町2-6-1 新南庄ビル3F
- 44 株式会社富士通九州システムエンジニアリング
〒814-8589 福岡市早良区百道浜2-2-1
富士通九州R&Dセンター
- 45 大日本製薬株式会社
〒564-0053 大阪府吹田市江の木の4 33番84号
- 46 茶谷産業株式会社
〒107-0051 東京都港区赤坂1-6-6
- ホワイエ ボース感性工学リサーチ株式会社
〒532-0011 大阪府淀川区西中橋5-2-12
新大阪ワックスビル201

展示会場図

10F



12F



索引

著者索引 (日本名)

- あ—
- 青木 豊彦 P6-44, P6-57
 青木 嘉信 P6-27
 青山 博昭 P6-28
 赤木 正明 P7-03
 赤堀 文昭 P7-64
 秋江 靖樹 P8-14, P8-24
 秋田 正治 P6-30
 秋葉 知英 P7-49
 秋山賢之介 P7-51, P8-25, P8-32
 浅井 幸治 P8-43
 浅野 育子 P8-40
 浅沼健太郎 P7-40
 浅沼富美子 O-01
 浅野 雅秀 P6-08
 浅野間光治 S13-1, P7-37, P7-38, P7-39
 芦沢 幸二 P7-51
 芦名美智子 P7-29
 芦野 隆 S12-5, P6-07, P6-08
 東 幸雅 O-18
 阿瀬 善也 P6-24
 直 弘 P8-06, P8-51
 安仁屋洋子 P8-26
 阿部かなえ P6-10, P8-04
 阿部 陽一 P7-17
 阿部 純子 P6-14, P6-20, P7-61, P8-22
 阿部 真治 S12-4
 阿部 正義 P6-26
 安部 陽一 O-24, P7-13, P7-19
 天野 恵子 Sm-4
 天野 秀人 P8-08, P8-25
 天野 幸紀 S13-1, P7-37, P7-38, P7-39, P7-49
 荒川 真悟 P6-32
 荒木 葉子 Sm-1
 有吉 美秋 P8-51
 有賀 千浪 P6-52
 安西 尚彦 P7-20, P7-56
 安東賢太郎 W4-4, P8-09, P8-10, P8-13, P8-18, P8-19
- い—
- 飯田 憲二 P7-02
 飯高 健 P6-38, P8-41, P8-42
 飯塚 宏美 P8-06
 五十嵐良明 P7-05
- 生城 真一 O-14, P7-52
 池田 孝則 P8-48
 池田 敏彦 S6-2
 池田 朋子 P7-23
 池田 博信 P8-13
 池田 正行 S5-2
 伊佐間和郎 P7-35
 石井 一弘 S4-1
 石井俊一郎 O-22, P7-14
 石川 孝之 P7-28
 石川 智久 S3-3
 石毛久美子 S5-5
 石塚真由美 P7-30, P7-31
 石山 芳則 P8-24
 磯部 好彦 P6-21
 板井 昭子 P6-49
 板谷越重人 P7-48
 市原 敏夫 P6-42
 井手上圭一 P7-58, P7-61, P8-34
 伊藤 和美 P6-32, P6-47
 伊藤 圭一 P6-24
 伊東 健 P8-27
 伊藤 格 O-13
 伊藤 徳夫 O-04
 伊藤 富美 P7-50
 伊藤 真紀 W4-7
 伊藤 雅仁 P6-52, P7-23
 伊藤 芳久 S5-5
 稲上 敦士 P6-44
 戌亥 辰巳 P8-06
 乾 嘉孝 P6-16, P6-17
 井上 秋晴 S3-6
 井上 晃一 P8-21
 井上 忠志 S14-1
 井上 達 P7-35
 井上 智彰 O-31
 井上 誠 S9-5
 井上 芳巳 O-22, P7-14
 今井 京仁 P6-15
 今井 清 P6-24
 今井 節夫 P6-22
 今井 俊夫 P7-44
 今井 則夫 P7-43
 今井 聖子 P7-21, P7-22
 今泉 真和 P8-06, P8-16, P8-51
 今沢 孝喜 P6-43, P8-27

織原由佳理	P7-55	菅野 純	P7-35
		上堀 美幸	P6-47
—か—		—き—	
貝瀬 利一	P6-35, P6-36	木井 由秀	P8-08
柿沼 千早	P6-11	木内 洋一	P6-21
柿本 恒知	P7-53	菊地 宏治	P6-41, P8-31
葛西智恵子	P8-19	菊池 康基	S10-3
笠原 利彦	P6-51, P6-53, P6-54, P6-55, P6-56	岸本 直	P8-11
加塩麻紀子	P6-21	木谷 伸一	P8-01, P8-02, P8-07
榎田 陽子	O-12, O-13, O-16	北村 泰樹	P6-43, P8-27
数坂 昭夫	P7-30, P7-31	北山 哲也	P8-12, P8-15, P8-16, P8-17, P8-18
嘉田 良平	OF-3	吉川 理恵	P7-24
片岡 広子	P6-1	城戸 昭彦	O-07, O-08, O-09
片倉 賢紀	P8-46	鬼頭 剛	Sm-5, P6-13
片山 誠一	P7-51, P8-32	木下 健司	P6-35, P6-36
片山 義三	P6-10, P8-04	木下しずか	P8-26
勝田 元子	P7-06	木藤 貴之	O-25
勝谷 成男	P6-57	木村伊佐美	P8-03, P8-19
勝山 宏巳	P6-44	木村 重紀	O-07, O-08, O-09
加藤 茜	P8-47	貴色富久子	Sm-2, Sm-3
加藤 淳子	P8-06	木村 正明	O-01, O-28, P6-21, P7-47, P7-55, P7-63
加藤 聡	P6-44	木村 良平	O-14, P7-52
加藤奈津美	O-15	木屋 昭憲	P6-39
加藤 秀規	P7-25	久木 浩平	P8-40
加藤 正巳	P6-18	清沢 直樹	P6-32, P6-47, P7-41
加藤 善久	O-14, P7-52		
加藤 順文	P8-47	—く—	
門田 利人	S11-1, O-07, O-08, O-09, P8-49	日下部愛泉	P8-29
金井 好克	P7-20, P7-56	申間 清司	P6-27
鹿庭 正昭	P7-05, P7-35	工藤なをみ	P8-46
金田 信也	P7-07	工藤 佳久	S5-1
狩野真由美	P6-18, P8-19	国原 峯男	P8-34
ガブリエル ジョセフ	P6-25	久保田訓世	P8-48
鎌田 満稔	P6-12, P6-15	久保田久代	P6-29
亀井 千晃	O-26	久保田善久	O-32
亀田 治子	P6-19	熊谷 正道	P6-33, P6-34, P7-60
河合 悦子	O-23	熊谷木曜美	O-13
川口 義郎	P7-07	久米 英介	P6-52
川崎 靖	P7-35	倉田 昌明	P8-41, P8-42
川嶋 洋一	P8-46	栗原千絵子	SS-1
河野 茂生	P8-49	黒沢 亨	O-30, P7-50, P8-36
川原 潤一	S3-6, P8-30	黒田 孝一	S4-2
河部 真弓	P6-42, P7-43	黒田 聡子	S13-1, P7-37, P7-38, P7-39
川村 祐司	O-30, P7-21, P7-22	梶形麻樹子	P7-64
カン ジンソック	P6-02	桑原 孝	P7-07
神吉けい太	P6-43, P8-27	桑原 真紀	P6-28
金納 明宏	P8-09, P8-12		

桑原 伸介	S12-2	坂本 憲吾	P8-01, P8-02, P8-16
-け-		坂本 信一	P7-20
玄番 宗一	CL, O-23, P7-15	崎村 雅憲	P7-42
-こ-		佐久間恭子	P6-47
小泉 治子	P7-53	桜井 貴之	P7-40
幸田 祐佳	P7-15	佐々木一暁	P8-06
国分寺悦子	P8-19	佐々木沙由里	O-32
小嶋五百合	O-02	佐々木淳矢	O-02
小関 直輝	P7-21, P7-22	佐々木正治	P7-47, P7-63
児玉 幸夫	P8-27	佐々木弘幸	P8-09, P8-10
後藤 純雄	O-05	佐々木正徳	P7-04
殊才 孝則	S3-6	佐々木 有	O-13, O-20
小西 優子	O-26	笹辺 裕行	P8-21
小林 厚子	P7-29	笹山由紀子	P7-42, P8-41
小林 和雄	P8-07	佐治 大介	P8-03
小林 和子	O-31	佐藤 至	O-27
小林 健一	P6-29, P6-31, P7-54	佐藤 秀蔵	P6-12, P6-15
小林 晴男	O-27	佐藤 哲男	S3-1, P7-21, P7-22, P7-23
小林 光	P6-35, P6-36	佐藤 憲幸	P8-48
小林 吉彦	P7-62	佐藤 宏	O-32
小平 輝明	S3-6, P7-21, P7-22, P7-23	佐藤 公道	S9-3
小松俊一朗	P7-40	佐藤 靖	O-06, P8-45
古宮 俊幸	S12-2	佐野 真士	P7-43
米野 雅晴	P8-08	佐村 恵治	S7-3
近藤 宏子	O-25	鮫島 裕樹	P6-24
-さ-		サリム エリ サイド	P6-02
斎藤 明美	O-07, O-08, O-09	澤 延子	P6-41, P8-31
斎藤 敏樹	P7-28	猿渡 雄彦	O-05, P8-28
斎藤 秀哉	P6-04	-し-	
斎藤 博	P6-35, P6-36	姜 景清	P7-62
斎藤 守	S7-4, P8-20, P8-48, P8-49	塩田 明文	O-31
斎藤 実	P7-35	塩田 清二	P6-08, P7-59
三枝 順三	P6-29	塩谷 元宏	P6-14, P6-20, P8-22
佐賀 彩子	O-13, O-20	重高 誠	P6-49
酒井 孝範	P8-45	重本 有紀	O-26
酒井 洋樹	O-13	四宮 一昭	O-26
坂井田泰二	P6-18	柴崎 義明	P7-50
坂入 鉄也	P8-29	柴田亜希子	O-07, O-08, O-09
坂田 孝	P8-35	柴田 誠司	P7-06
佐神 文郎	S3-6, S13-1, PD2-1, O-07, O-08, O-09, P7-37, P7-38, P7-39, P8-07, P8-08, P8-09, P8-10, P8-11, P8-12, P8-13, P8-14, P8-15, P8-16, P8-17, P8-18, P8-19, P8-20, P8-21, P8-48, P8-49	柴田 博	O-22, P7-14
		柴田 雅美	O-07, O-08, O-09
		柴田 寛司	O-04
		渋谷 淳	O-15
		島田 千明	P8-03, P8-07
		島田奈央子	P6-05, P6-06
		清水 憲次	P8-05, P8-10, P8-16
		清水 雅良	P6-18
		下郡 望	P7-50

下里 貴	P8-03, P8-07	関田 清司	P7-35
下野 和之	P7-07	関戸 徹	P6-44
下本 睦子	P6-13	関谷 浩司	P8-02, P8-12, P8-15, P8-17
ジャパン モハマド	P7-20		
社領 聡	P7-41	—そ—	
松向寺孝臣	O-24, P7-13, P7-17, P7-19	祖父尾俊雄	S1-3
庄司 陽子	P8-36		
正田 俊之	P7-53	—た—	
白井 俊行	W3-2	高井 了	P7-40
白井 智之	P6-42, P7-43	高岡 昌徳	P7-16
白井 紀光	P6-38	高木 司郎	P8-29
白井 真紀	O-06, P7-58, P8-34	高木 規孝	S5-5
白井 明志	P7-64	高木 広憲	O-15
白石 啓二	P7-02	高島佳代子	P6-51, P6-53, P6-54, P6-55,
白石 智	P8-47		P6-56
白仁田明夫	P7-60	高須 伸夫	P6-39
白根 里加	O-28	高菅 卓三	P7-31
新宅 芳久	O-22	高瀬 堅吉	Sm-2
神藤 敏正	P7-18	高田昌太郎	P8-20
陣内 宏行	P6-42	高野 克代	P7-29
		高橋 明美	P7-53
—す—		高橋 芳	P6-52
須貝 友晴	P7-48	高橋 研	P6-28
菅波 秀規	P8-07, P8-09, P8-15, P8-16,	高橋 光一	S13-1, P7-37, P7-38, P7-39
	P8-17	高橋千太郎	O-32
菅沼 樟純	P8-43	高橋 馨	P7-04
菅原 正喜	P6-1	高橋 尚史	P6-28
核内 仁子	P6-07, P6-08	高松 康雄	O-25
杉浦 正幸	P7-55	龍上 周	O-15
杉本 次郎	O-22, P7-14, P8-29	滝口 祥令	S12-4
杉山 明男	O-22	滝口 理恵	O-14
杉山 篤	P8-24	竹川 潔	P8-29
杉山 賢	P8-24	竹腰 進	P7-53
鈴木 栄子	P6-19	竹中 重雄	P6-58
鈴木 和夫	P7-18	武吉 正博	P7-02
鈴木 幸一	O-27	武脇 義	O-27
鈴木 修三	P6-41, P8-31	田湊 弘行	W4-5, P8-11, P8-14, P8-18
鈴木 孝昌	W2-1, P6-54, P6-55	田島 恵子	P8-47
鈴木 忠彦	O-27	楯 美樹	P8-05, P8-24
鈴木 勉	S9-4	立松 正新	P6-38
鈴木 寛	O-14, P7-52	田中 勝幸	P8-39, P8-40
鈴木平治郎	P7-50	田中 公夫	S1-2
須田 恵	P6-31, P7-54	田中 慶一	O-04
住田 住代	O-16	田中 宏治	P7-41
		田中 仁	P7-21, P7-22
—せ—		田中 猛	S13-1, P7-37, P7-38, P7-39,
関 和代	P6-33, P6-34, P7-60		P7-49
関川 賢二	P6-08	田中 春樹	P8-43
関口総一郎	P7-54	田中 秀和	S9-1

田中 雅治	P6-24
田中 美帆	P7-29, P8-35
田邊 兼希子	P6-41, P8-31
田辺 宗平	P7-49
谷内 三郎	O-23
谷川 力	P7-30, P7-31
谷河 賞彦	P8-21
谷口 勝彦	S11-3, O-07, O-08, O-09
谷口 真也	P8-07
谷口 雄三	P6-23
谷藤 久人	O-21
田保 充康	P8-08
玉井 朝子	P6-13
玉岡 晃	S4-1
玉川 忠	P6-09
玉置 俊晃	S12-4
玉田 聡	S12-2
玉野 静光	P6-42
田村 工	P7-07
田矢 廣司	P6-33, P6-34, P7-60
丹野 聡彦	P6-58

—ち—

千葉 修一	P7-40
チャイロングデュアルネット	P7-20
曹 水晚	P7-44

—つ—

塚田 幸子	P8-43
塚本 徹哉	P6-38
築館 一男	P8-43
角崎 英志	P6-13
津崎 健二	P6-10, P8-04
土谷 稔	P7-29
土屋浩一郎	S12-4
土屋 利江	P7-05
土屋 由美	P7-18
筒井 健機	S4-3
筒井 尚久	O-25, P6-05, P6-06
津山 伸吾	P6-58
鶴洲 裕治	W4-1, P6-10, P8-04

—て—

デグズマン ダン	P6-25
出倉絵里葉	P6-52, P7-21, P7-22
寺西 宗広	P7-41
寺本 昭二	P6-28

—と—

土井 邦雄	P6-52
土居 卓也	P7-29
土井 悠子	P6-42
遠山 千春	EL-2
徳竹 孝好	P6-35
戸田 庸介	P6-42
百々 哲史	S13-1, P7-37, P7-38, P7-39
富岡 伸夫	P6-49
富岡 三和	P8-39
富澤 香織	P8-33
富田 和夫	P6-11
富永 有吏	P7-18
豊吉 亨	P6-18, P8-19
豊島 茂樹	W4-3, P8-12, P8-49
豊田 直人	P7-29, P8-35
鳥居 慎一	P8-49
鳥井 幹則	P6-39
鳥海 亘	P6-52
鳥塚 尚樹	P6-51, P6-53, P6-54, P6-55, P6-56, P7-21, P7-22

—な—

内藤 克司	P7-35
内藤 真策	S3-4, S3-6, S13-1, P7-37, P7-38, P7-39
内藤 弓子	P6-07, P6-08
中井 恵子	P8-05, P8-21
中井 祥二	P8-49
永井 賢司	P7-51
長井 大地	P7-21, P7-22
永井山紀子	O-24, P7-13, P7-17, P7-19
中江 大	O-11
永江 祐輔	P6-19
長尾 拓	P6-51, P6-53, P6-54, P6-55, P6-56
中川 妙子	P7-46
中川 貴之	S9-3
中川 博史	P7-25
永木 康弘	S3-6
長崎 修治	O-21
中澤 隆弘	S8-2
中下 富雄	P6-12
中島 信明	O-02
中島 幸博	P7-29
中島 品	S9-6
中島 淳志	P7-16
長瀬 孝彦	P8-39
水田 良一	P6-13

中西 剛	O-04	根本 真吾	S3-6
中西 良文	S7-1, O-05	根本 昌宏	P6-04
仲野 貴子	S10-1		
仲野 善久	P7-50	—の—	
仲間 真司	P8-26	野田 幸裕	S5-4
中村 勇	O-01, O-28, P7-47, P7-63	野村 俊治	P8-48
中村 和市	W1-1	野村 護	P8-01
中村 武彦	P7-04		
中村 益久	O-23	—は—	
中村 考志	P6-43	萩原 昭裕	P7-43
中村 康宏	P7-46	萩原 裕子	Sm-3
中村 雄志	P8-47	橋本敬太郎	EL-6, P6-14
木山 隆	O-07, O-08, O-09	橋本 宗弘	P8-20, P8-49
那須 昌弘	P7-29	蓮沼 恵子	P8-36
那波 弘康	P6-11	蓮村 麻衣	P7-44
難波江恭子	P6-42	長谷川和美	P8-32
鍋島 俊隆	S5-4, S9-2, S9-6	長谷川美奈	P6-58
並木 正人	P7-29	長谷川義和	S7-2
奈良岡 功	P8-50	服部 祐二	P6-41, P8-31
成田 年	S9-4	花香奈津美	P8-35
南谷賢一郎	P7-21, P7-22	馬場ひさみ	P6-35
		浜上 尚也	S2-2, P6-04
—に—		浜田 修一	P8-49
新野 調代	P6-32, P6-47	浜田 悦昌	P6-14, P6-20, P6-45, P7-42, P7-45, P7-61, P8-22, P8-42
西 勝英	P8-06, P8-51		
西 泰宏	P8-15	林 砂緒	P8-30
西賀 美幸	O-26	林 誠治	W4-2, P8-08
西川 秋佳	P6-43, P8-27	林 直之	P8-21
西田 昌広	P8-18	林 良太	P6-16
西中 栄子	P6-41, P8-31	原 洋明	P6-25
西村 泉	P6-22	原田 勝彦	P8-30
西村 次平	P7-49	原田 孝則	O-02
西村 正吾	P6-25	原田 拓真	P6-14, P6-20, P7-61, P8-22
西村 達也	P6-24	原田 芳樹	O-03
西村 正利	P6-32	原田 嘉充	S14-2
西村 (鈴木) 多美子	S8-4	張替美智子	P6-28
西森 司雄	P6-23, P8-03	春名 正雄	P8-12, P8-15, P8-17
西矢 剛淑	P6-1	芳生 秀光	P8-50
西山 成	S12-1, O-24, P7-13, P7-17, P7-19	—ひ—	
新田 淳美	S9-6	比嘉 良喬	P6-42
丹羽 美苗	S9-6	東原 信彦	P7-02
		久田 茂	W1-2, O-21, P7-06
—ぬ—		菱田 明	PL-3
沼澤 聡	S12-5, P6-07, P6-08	日詰 信吾	P8-10
		日比野信裕	P8-43
—ね—		水見 敏行	S5-2
根岸 保則	P6-10	平尾 潤	P6-32
根田 公一	P7-62	平澤 由貴	P7-21, P7-22

平田美由紀 P6-35, P6-36
 平塚 一幸 P7-50
 平手 純司 W3-4
 平野 紀子 P7-55
 平林 容子 S1-4
 平藤 雅彦 S2-2, P6-04
 平山 晃久 O-19
 広瀬 雅雄 O-15, P6-43, P7-44, P8-27
 廣田 毅 P7-43
 廣田 衛彦 P7-01

—ふ—

方 雅群 O-32
 笥本 修 S11-4
 深井 康臣 P6-35, P6-36
 福井 英夫 S2-1
 福石 信之 P7-03
 福島 昭治 S1-5, S4-5, P6-02
 福島 民雄 P6-45, P6-46, P7-24
 福島 亮 P6-39
 福田 美紀 P6-49
 藤井 彩 O-23
 藤井 哲夫 P7-28
 藤井 登志之 P6-23
 藤岡 繁 P8-05
 藤掛 登 P7-36
 藤川 真章 P7-61, P8-45
 藤崎 浩 O-25
 藤島 和幸 P8-36
 藤田 勇 P8-47
 藤田 正一 P7-30, P7-31
 藤野 明治 P8-05, P8-24
 藤村 昭夫 EL-3
 藤村 久子 P6-52
 藤村 洋 P8-51
 藤森 廣幸 P8-50
 藤原 歩 P6-58
 藤原 道夫 P6-27
 船戸 秀幸 P6-11
 船橋 利也 Sm-2, Sm-3
 古川 絵理 P8-30
 古川 賢 P6-26
 古川 茂典 P6-23
 古川 忠司 P6-32
 古川 義之 P6-16, P6-17
 古田 盛 S14-4
 古橋 忠和 P8-39
 古濱 和久 P6-1, P7-18

—へ—

別府奈美恵 P8-25

—ほ—

北條 隆男 P7-28
 北條 仁 P6-28
 宝来 玲子 P6-08
 ホサインムハマド・ムバラク O-27
 寶珠山五月 P7-02
 細川 晩 P6-44, P8-43
 堀田 啓子 P6-10
 堀 克彦 P8-03
 堀 正敏 P6-03
 堀井 郁夫 O-06, P6-14, P6-38, P6-45,
 P6-46, P7-24, P7-45, P7-58,
 P7-61, P8-33, P8-34, P8-45,
 P8-47

本坊 敏保 P8-19

本間 健資 P6-31, P7-54

—ま—

馬 成俊 P8-51
 前川 昭彦 O-11
 前島 一淑 SS-4
 前島 幸 P7-46
 槇田 由美 P6-09, P8-25
 真子 智美 O-06, P7-45, P7-58, P8-42
 正木 文夫 P8-24
 増井 徹 SS-2
 町田 一彦 P6-41, P8-31
 町田 登 O-16
 松井 聡敦 P7-03
 松浦 哲郎 P8-50
 松尾 三郎 S11-2, P7-25
 松岡 雅人 O-29
 松木 則夫 S2-4
 松澤 利明 S13-1, O-07, O-08, O-09,
 P7-37, P7-38, P7-39
 松島泰次郎 O-05
 松島 裕子 P7-35
 松沼 尚史 P6-47
 松根 圭子 P6-17
 松林 久一 P7-18
 松村 靖夫 P7-16
 松本 清司 O-01, P7-28
 松本 真一 S3-6
 松本 浩良 P7-36
 真鍋 淳 P6-47, P7-41
 マリナオ シリアコ P6-25

- 丸山 寛 P6-35
- み—
- 三浦 克之 S12-2
三木 直正 S9-1
溝口 佳伸 P6-49
美津島 大 Sm-2
三森 国敏 O-12, O-13, O-16
南 勝 S2-2, P6-04
三野 照正 P8-12, P8-15, P8-17
宮内 聡 P7-04
宮内 慎 P6-11
宮川 義史 P7-53
宮川 宗之 P6-31, P7-54
宮城島利一 P6-51, P6-53, P6-54, P6-55,
P6-56
宮崎 達也 P7-04
宮崎 裕康 P8-12, P8-14, P8-15, P8-16,
P8-17, P8-18
宮沢 英男 P7-36
美谷島克宏 P7-53
宮嵩 宏彰 PD2-2
宮園 優子 P6-39
宮田 裕人 O-01, O-28
宮田 満 S3-5
宮本 好明 P6-33
三輪 恵子 P6-52
- む—
- 六角 香 P6-23
務台 衛 S3-6, S5-3, O-22, O-25,
P7-14, P8-29
武藤 朋子 O-12, O-16
武藤 紀生 P8-01, P8-02
武藤 奈子 O-32
宗岡 克政 P7-64
村上 真 P8-20
村木由起子 P8-48
村松 啓子 P6-32
- も—
- 望月 雅裕 P7-48
本 光喜 O-12
本岡 覚 P6-44
初井 明 P7-07
百浜 英一 P6-03
森 和彦 P6-1
森 辰也 P8-07, P8-48
森 千里 P6-45
- 森 照代 P6-33, P6-34, P7-60
森 洋樹 O-03
森下 克美 P6-51, P6-53, P6-54, P6-55,
P6-56
森島 昭彦 P7-64
守住 孝輔 P8-51
森田 育男 S5-2
守永太賀彦 P6-23
森村圭一郎 P6-02
森山 智之 P7-36
茂呂 修 P7-01
- や—
- 八木久美子 P7-47
安井ゆみこ P7-03
柳橋 和利 P6-11
矢野 浩二 P8-12
矢花 秀雄 P8-20
八巻 耕也 O-03
山崎 尚子 P7-45, P8-41, P8-42
山崎 文明 P6-11
山崎隆三郎 P6-21, P8-07
山下 晴洋 O-01, P7-47, P7-63
山下 保志 P7-51, P8-32
山田 毅史 P8-20
山田 清文 S9-2
山田 敏広 O-18
山田 久陽 P7-55
山田 弘 O-06, P6-46, P7-58, P8-33,
P8-34, P8-45
山田 雅之 P8-07
山田 恭史 P8-40
山田裕一郎 S9-6
山中 健三 S4-4
山中 伸弥 EL-4
山内 一也 OF-1
山本 恵司 P6-12, P6-15, P8-02, P8-07,
P8-08, P8-09, P8-10, P8-11,
P8-12, P8-13, P8-14, P8-15,
P8-16, P8-17, P8-18, P8-19,
P8-20, P8-21
山本 敏誠 P6-05, P6-06
山本 利憲 P6-45, P6-46, P7-24
山本 雅之 P8-27
山本 山徳 P6-09, P7-51, P8-32
矢本 敬 P6-47
- ゆ—
- 于 文刺 P8-06

湯田浩太郎	P8-28
-よ-	
八日市谷隆	W3-1
横井 毅	EL-1
横山 篤	P6-30
横山 徹	P6-11
吉岡 薫	S13-1, P7-37, P7-38, P7-39
古川 哲也	P6-13
古橋 正典	S12-4
古田 香	S4-2, P8-47
古田 武美	S12-5, P6-07, P6-08
古田 緑	O-11
古野 伸	O-03
古野 裕子	P7-43
古見 佳子	P7-16
古村 功	S1-1
古村マスミ	P6-41, P8-31
与那嶺春乃	P6-13
米沢 恵子	P6-10, P8-04
米田 幸生	O-18

-5-

ラフィクルイスラム	P7-20
-----------	-------

-り-

李 京烈	O-15
劉 芳	P7-28

-わ-

若林 拓朗	W3-3
若松 容子	P6-49
和久井 信	PD2-3
鷺塚 昌隆	P7-23
渡邊 隆夫	P7-49
渡辺 徹志	O-19
渡邊 裕之	P8-09, P8-15, P8-16, P8-17
渡邊 幸彦	P6-33, P6-34, P7-60
鰐淵 英機	S4-5, P6-02
王 瑞生	P6-31, P7-54

著者索引 (英名)

- A —
- Adamo Maria P7-10
 Aisaki K PL-1, O-17
 Akunda Jacqueline P6-39
 Alam A.H.M.Khurshid O-03
- B —
- Babu Ellappan P7-56
 Banks Chris P7-10, P8-37
 Black Lauren E. S13-4
 Bleavins Michael R. S13-3
 Bottomley A M P7-57
 Bussiere Jeanine L. S8-1, W2-2
- C —
- Cai Yan P7-12
 Caldwell Robert W1-3
 Cha Shin-Woo P7-32, P7-33
 Chairoungdua Arthit P7-56
 Chen Fang-Ping P7-12
 Chen Genfu O-25
 Chengelis C. P. P8-44
 Chihaya Yutaka W2-4
 Cho Jae-Woo P6-48
 Cho Kyu-Hyuk P6-48
 Chung Hesson P7-33
 Chung Moon-Koo P7-32
 Coffee Matt P8-44
 Collier M J P7-57
- D —
- Du Ming P7-34
- E —
- Endo Ginji O-10
- F —
- Feng Jie P7-34
 Ferdous Golam P7-56
 Frings Werner P7-11
- G —
- Gong Li-Kong P7-34
 Gong Li-Kun P7-12
- H —
- Habib Md. Ahsan O-10
 Haley S. P8-44
 Han Junghee P7-32, P7-33
 Han Sang-Seop P6-48
 Han Su-Cheol P7-32
 Heo Jeong-Doo P7-32
 Hisada Shigeru PD1-2
 Horinouchi Akira P6-37
 Hossain Md.Aslam O-03
- I —
- Igarashi K PL-1, O-17
- J —
- Jackson Keven W2-4
- K —
- Kahl Regine S12-3
 Kanno J PL-1, O-17
 Kato Kaneyoshi P6-37
 Kerns William D. S13-2
 Kim Choong-Yong P7-32, P7-33
 Kimber Ian PL-2, PD1-1
 Kodama Y PL-1, O-17
 Koelling Mariko W2-4
 Korte Sven P8-38
 Korte Uta P8-38
 Kumai Yuko O-10
 Kuroda Koichi O-10
- L —
- Langenbach Robert P6-39
 Lawrence W. P8-44
 Lee Sun-Hwa P6-48
 LeSauteur Lynne P7-10
 Li Xiang-Hong P7-12, P7-34
 Liu Lin-Lin P7-12
 Liu Yong-Zhen P7-12, P7-34
- M —
- Maas Ir.W.J.M. P6-34
 Macfarlane Kirsty P8-23
 Manabe Sunao S6-1
 Mann Peter W2-4
 Meyer Steven W2-4

Miki Takuhiro	O-10	Viau Andre	P8-37
Mori Ikuo	P6-37	Vogel Friedhelm	P8-38
Munro Ian C.	EL-5		
Murabayashi Mika	P6-37	– W –	
Myers D P	P7-57	Wang Hui	P7-12, P7-34
		Wang Mei-Ying	P7-34
– N –		Wang-Fan Weizheng	P7-09
Nakatsu N	PL-1, O-17	Weinbauer Gerhard	P7-11, P8-38
Niggemann Birgit	P8-38	Wing Mark	W1-4
		Wollny Hans-Eric	P7-26
– O –		Wu Xiong-Fei	P7-12
Okasaki Keikou	W2-4		
Ono A	PL-1, O-17	– X –	
		Xiao Ying	P7-12
– P –			
Patmore Leslie	P8-23	– Y –	
Pinsonneault Lorri	P8-37	Yokoi Tsuyoshi	S6-4
Pinsonneault Lorri	P7-10	Yoon Seokjoo	P6-48
Poth Albrecht	P7-27	Yoshida Kaoru	O-10
Pouliot Louise	P7-10	Yuan Xing-Ju	P7-34
– Q –		– Z –	
Qi Xin-Ming	P7-12	Zheng Wei-Jun	P7-34
– R –			
Ren Jin	P7-12, P7-34		
Robinson Keith	P7-10, P8-37		
– S –			
Sato Kenichi	W2-4		
Sato Shuzo	P6-37		
Shen Liya	S9-6		
Sheng Hua	P7-34		
Silber Paul	O-25		
Song Chang-Woo	P6-48		
Sterz Helmut	PL-4		
Stoute Michelle	P8-37		
Suh Jeong-Eun	P7-33		
– T –			
Tarumoto Yasuo	P7-32		
Templeton Alison	P8-23		
– U –			
Utrecht Jack	S6-5		
Ullmann Ludwig	P7-08		
– V –			
Vessotskie J.	S10-2		

平成16年6月10日現在

- | | |
|---------------------|--------------------|
| 旭化成ファーマ(株) | 帝人ファーマ(株) |
| アストラゼネカ(株) | テルモ(株) |
| (株)アズウェル | トーアエイコー(株) |
| アベンティスファーマ(株) | 東和薬品(株) |
| アムジェン(株) | 富山化学工業(株) |
| アラガン(株) | 寿居薬品(株) |
| 栄研化学(株) | 日研化学(株) |
| エーザイ(株) | 日東電工(株) |
| エスエス製薬(株) | 日本イーライリリー(株) |
| エルメッドエーザイ(株) | 日本オルガノン(株) |
| 大塚製薬(株) | 日本化薬(株) |
| (株)大塚製薬工場 | 日本ケミファ(株) |
| 小野薬品工業(株) | 日本シエリング(株) |
| 化研生薬(株) | 日本新薬(株) |
| 科研製薬(株) | 日本製薬(株) |
| カネボウ(株) | 日本臓器製薬(株) |
| キッセイ薬品工業(株) | 日本たばこ産業(株) |
| 杏林製薬(株) | 日本ベーリンガーインゲルハイム(株) |
| 協和発酵工業(株) | ニプロファーマ(株) |
| キリンビール(株) | ノバルティスファーマ(株) |
| グラクソ・スミスクライン(株) | バイエル薬品(株) |
| グレラン製薬(株) | 万有製薬(株) |
| 興和(株) | ファイザー(株) |
| 佐藤製薬(株) | 藤沢薬品工業(株) |
| 沢井製薬(株) | 扶桑薬品工業(株) |
| 三共(株) | プリストル・マイヤーズ(株) |
| 参天製薬(株) | 丸石製薬(株) |
| (株)三和化学研究所 | マルホ(株) |
| シェリング・プラウ(株) | 三笠製薬(株) |
| 塩野義製薬(株) | 三菱ウェルファーマ(株) |
| (財)食品薬品安全センター 薬野研究所 | (株)ミノファージェン製薬 |
| (株)新日本科学 | 明治製薬(株) |
| 住友製薬(株) | 明治乳業(株) |
| ゼリア新薬工業(株) | メルク・ホエイ(株) |
| 千寿製薬(株) | 持田製薬(株) |
| 第一製薬(株) | 森永乳業(株) |
| 大正製薬(株) | (株)ヤクルト本社 |
| 大日本製薬(株) | 八洲薬品(株) |
| 大腸薬品工業(株) | 山之内製薬(株) |
| (株)大塚会医科学研究所 | ヤンセンファーマ(株) |
| 武田薬品工業(株) | 雪印乳業(株) |
| 田辺製薬(株) | ロート製薬(株) |
| 中外製薬(株) | ワイス(株) |
| (株)ツムラ | わかもと製薬(株) |
| 帝國臓器製薬(株) | |

(五十音順)

なお、参加証用のネームカードケースを(株)新日本科学様よりご提供いただきました。

第31回日本トキシコロジー学会学術年会の運営にあたり、上記の企業および団体よりご協賛をいただきました。ここに深甚なる感謝の意を表します。

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

第31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 2004年7月
 発行代表者 玄番 宗一
 発 行 所 第31回日本トキシコロジー学会学術年会 事務局代行
 株式会社ジェイコム コンベンション事業本部
 〒530-0001 大阪市北区梅田2丁目4番9号
 サンケイビル本館7階
 TEL 06(6348)1391(代) FAX 06(6456)4105

学会本部

平成16年度日本トキシコロジー学会評議員会・学会総会 次第

日時：平成16年7月7日（水）13時～14時

場所：大阪国際会議場 A会場

日本トキシコロジー学会 理事長 遠藤 仁

司会：第31回日本トキシコロジー学会学術年会会長 玄番 宗一

1. 開会の辞	担 当 玄 番
2. 理事長挨拶	遠 藤
3. 報告及び議事	
3.1 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 名譽・功労会員選考小委員会報告	
④ 次期役員選挙報告	
⑤ 今後の事務局体制について	
⑥ その他	
2) 編集委員会	吉 田
① 編集委員会報告	
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	
⑤ IART 委員会報告	
4) 学術広報委員会	玄 番
① 学術広報委員会報告	
② 田邊賞選考小委員会報告	
3.2 平成15年度決算及び監査報告	佐藤秀／宮 真
3.3 平成16年度補正予算（案）及び平成17年度予算（案）、事業計画について	佐藤秀
3.4 各集会の報告及び進捗状況	
1) 次々期（第33回）日本トキシコロジー学会学術年会について	遠 藤
2) 第27回トキシコロジー研連シンポジウムについて	黒 澤
3) IUTOX, ASIATOXについて	佐藤哲
4. 次期（第32回）日本トキシコロジー学会学術年会会長挨拶	土 井
5. 閉会の辞	玄 番

- 表2 (表紙裏) CTBR ((株) エルエスジー)
- 中表紙 (プログラム) (株) 日本医学臨床検査研究所
- 中表紙 (講演要旨) コーヴァンス インク日本支社
- 中表紙 (一般演題 (口演)) Inveresk ((株) ACRONET)
- 中表紙 (一般演題 (ポスター)) シンジェンタCTL ((株) リブレ)
- 表3 (裏表紙裏) 対面 日本電子 (株) 大阪支店
- 表3 (裏表紙裏) (株) メディアサービス
- 表4 (裏表紙) 日本チャールズ・リバー (株)
- 後 付 (株) 大雄会医科学研究所
- バイオリサーチセンター (株)
- フランホーファーITEM ((有) エルエスピー)
- (株) 環境バイリス研究所
- (株) ニューロサイエンス・アイデア
- (株) 東レリサーチセンター
- (株) ヤクルト本社
- 三木産業 (株)
- 和光純薬工業 (株)
- (株) 新日本科学
- (財) 食品農医薬品安全性評価センター
- ファイザー (株) 中央研究所
- (株) システムサイエンス
- (株) ケー・イー・シー
- (株) M・I・P・S
- (株) OGGI Corporation/MPI Japan Office
- (株) ポゾリサーチセンター
- (株) コスモ・バイオ
- 日本エスエルシー (株)

大雄会医科学研究所は

化学物質の発がん性の有無を短期的に予測することが可能な**中期発がん性試験**を開発確立した研究所です。そのユニークな方法と膨大な過去の成果から国際的に高い信頼と評価を得ており新規化学物質の開発を推進する上で重要なデータを提供することができます。



GST-P陽性細胞集



【受託試験の内容】

食品添加物、医薬品、農薬などの化学物質について、マウスまたはラットを用いた下記の試験をGLP対応により実施いたします。

- 1 中期発がん性試験
(肝、膀胱、胃、腎臓、肺、甲状腺、鼻腔、皮膚等)
- 2 中期多臓器発がん性試験
- 3 発がん性試験
- 4 一般毒性試験(単回および反復投与毒性試験)
- 5 病理組織標本の作製及び検査
- 6 独自開発のがん転移モデルによる試験

このモデルを活用して転移抑制剤の開発に有用なデータを提供することが可能です。

DIMS

わたしたちは化学物質と人の関係を考えています。

DIMS株式会社 大雄会医科学研究所

〒491-0113 愛知県一宮市浅井町西浅井郷裏64番地

PHONE 0586-51-1201代 FAX 0586-51-5634

E-mail: query@daiyu-kai.com

URL: <http://www.daiyu-kai.com/> 情報発信中!

FDA CFR 21 Part 11準拠

バリデーションサポート

リアルタイムデータ記録解析システム

Ponemah Physiology Platform

解析モジュール

- 血圧解析
- 左心室圧解析
- 冠血流量解析
- 全身血流量解析
- ECG解析
- 単相性活動電位解
- 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
- 脈動組織と内蔵運動性解析
- EMG解析

データセキュリティオプション(DSO)

- スマートカードでアクセス
- 電子署名の徹底
- ユーザーごとのアクセス権のレベル設定
- Audit Trailを保存

データ解析レビューオプション

- 波形データのバリデーションマークの追加、消去、変更が可能



BRC

バイオリサーチセンター株式会社

東京都中央区新富1丁目24-10 3F
TEL:03-5521-4401 FAX:03-5521-4705

東京都千代田区北千代7-7-7 4F
TEL:03-2641-7001 FAX:03-4661-7022

大阪府北区西中島4-2-4 5F
TEL:06-6309-2130 FAX:06-6309-2132

<http://www.brck.co.jp>

フラウンホーファーグループは 欧州最大の応用科学研究所です



Fraunhofer Institut
Toxikologie und
Experimentelle Medizin

フラウンホーファーITEMの医薬、化学業界及び公的機関からの受託試験の歴史は20年以上になります。今日では、ヒトの健康はフラウンホーファーITEMの重要な研究課題となっています。

ヒトの健康の保護や維持においては、環境や職業毒性、消費者保護のための試験やリスクアセスメントを実施しています。健康の回復においては、診断技術や新しい治療法の開発に対して顧客の皆様をサポートしています。



受託試験内容

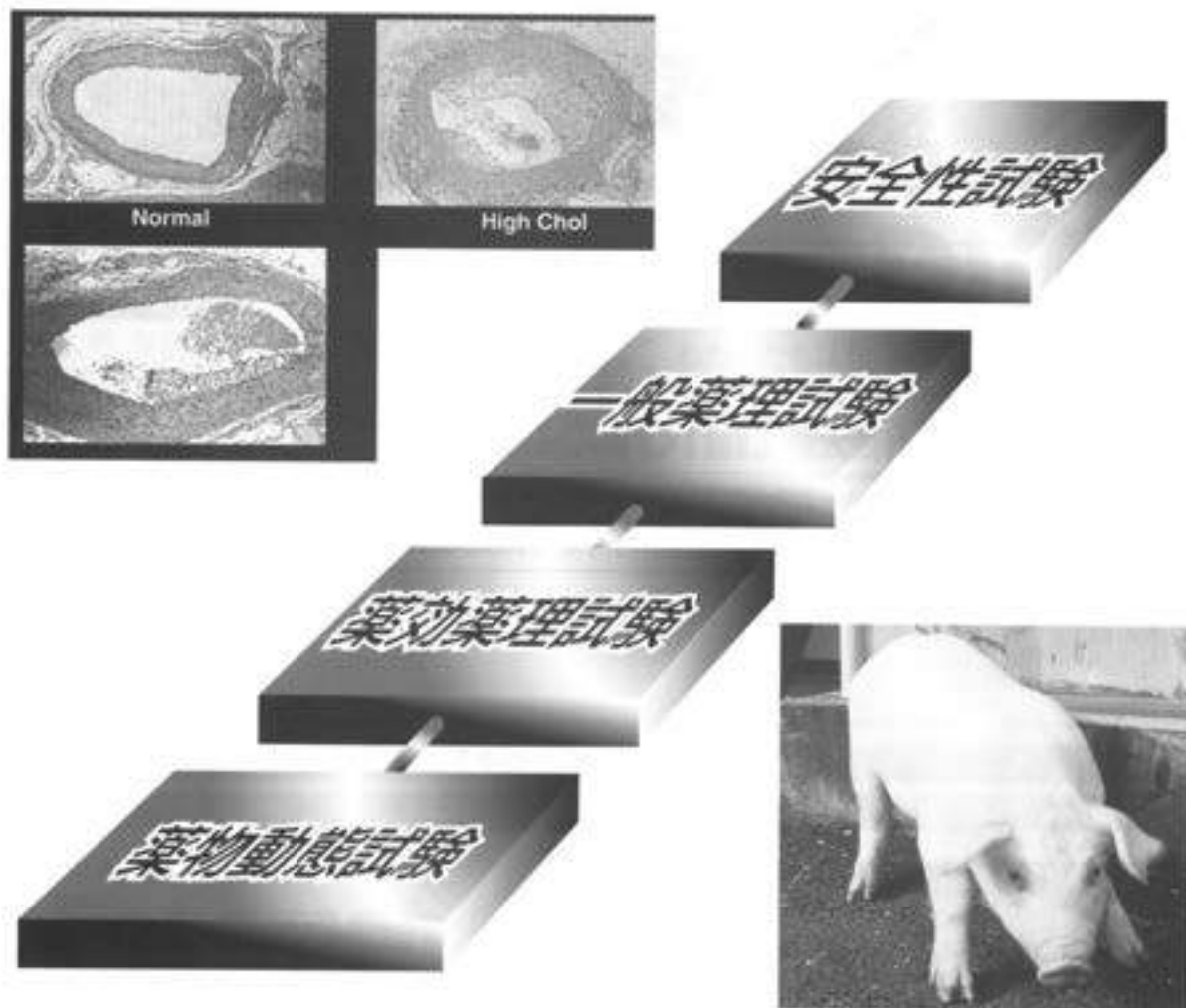
- 喘息・COPD・アレルギー性鼻炎に特化した臨床試験 (I-IV)
- 新薬開発及び評価試験
- 非臨床試験
- 毒性動態、薬理動態試験
- ゲノム代謝・ゲノム薬理・ゲノム毒性試験
- ファーマコゲノミクス・トキシコゲノミクスによる薬理・毒性評価
- CULTEX, in-vitroトキシコロジー
- 高周波電磁場の影響評価
- 空気汚染分析
- バイオモニタリング
- エアゾールの分析及び作製
- ケミカルリスクアセスメント (医薬品・動物用薬品・農業・化学品) (EHC/CICAD-WHO IPCS, ICCA-ILUCLID, SIARs, SIAPs, FSS, ICSC, SNF)



お問い合わせ：エルエスピー 有限会社（フラウンホーファーITEM日本総代理店） 担当：鈴木、吉田
〒104-0043 東京都中央区湊1-8-13 中銀第二八丁目9F
Tel: 03-3523-9115 Fax: 03-3551-0019 Email: lsp@lsp-c.com

確かな情報をより早く

ハムスター・ラット・モルモット・ウサギ・フェレット・イヌ・ミニブタ・サル等を用いた各種薬効評価モデルと最新の技術で新薬開発をサポートいたします。



最新情報は
ホームページで
ご覧頂けます。



株式会社 環境バイロリス研究所

本 社 〒528-0052 滋賀県甲賀郡水口町字川555
TEL(0748)63-5253 FAX(0748)62-9062
東京事務所 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町4番9号 (小伝馬第一生命ビル日本精化株式会社内)
TEL(03)3661-8484 FAX(03)3664-7866
ホームページアドレス <http://www.jungle.or.jp/bilis/>

マウス行動測定の新世代標準 **KUROBOX** の御紹介 移動行動から運動能力、記憶学習能力などを抽出する。



KUROBOXはマウスの探索行動を利用した各種行動能力の測定装置です。画期的な三つの特徴

- 1 夜行性動物マウスの行動評価の対象は、日中(夜間)が妥当である。
 - 2 実験者の介入をなくし、実験データの再現性を保証する。
 - 3 自動測定系の導入により、測定中の実験者の労力が大幅となる。
- こうした、理論的かつ実践的な設計思想が**KUROBOX**を強力な魅力的なツールに仕立てています。



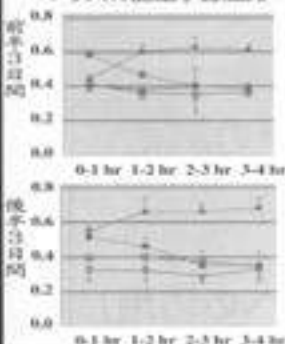
KUROBOXの原理

一定時間毎(3-4hr)に探索可能な領域が変化する環境下で、変化する状況への適応能力を複数の探索への時間行動を連続に観測します。
この移動行動のパフォーマンスには移動速度、移動角度等の運動能力と適応能力として時間単位の記憶力日単位の学習能力が反映されます。

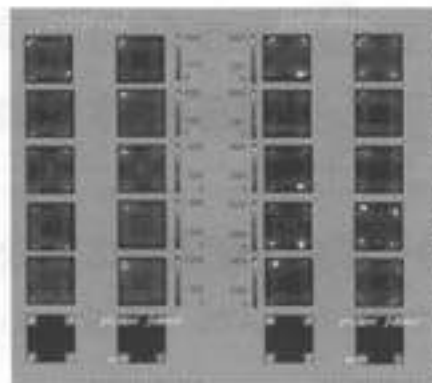
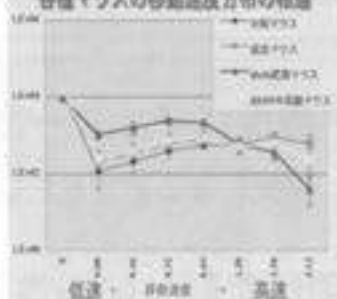
マウンテンプロット、移動速度分布、記憶学習能力、移動角分布、その他、経時記録から様々なデータ表示が可能です。

ノックアウトマウス・トランスジェニックマウスなどの遺伝子改変マウスを用いた行動表現実験に最適です
(小脳失調モデル・アルツハイマーモデル・前脳虚血モデル
老化度・雌雄差などの行動パフォーマンスを抽出)

マウスの記憶学習能力



各種マウスの移動速度分布の経時



通常のマウス(C57BL/6)では探索領域が変化しても学習効果により一定の時間探索領域が同一の場所であることを記憶し、探索可能な領域へ効率的な探索を行うようになる。

左図の1列目と2列目のような、探索時間分布グラフを修正して、常に探索可能な領域に探索可能な領域があるように再構成してみると、前脳虚血による海馬障害マウス(4列目)では、制御マウス(2列目)に比べて、ランダムな探索が目立っているのがわかる。

通常のマウスの探索行動では、ROI時間の正解率も時間とともに高まり、探索領域が変化する正解率も下がる。この傾向はトレーニング効果として実験後半3日目では健康な正解率になる。(下左の2列)が制御マウス、(下右の2列)は海馬障害マウス、(上)は直前探索領域への探索時間

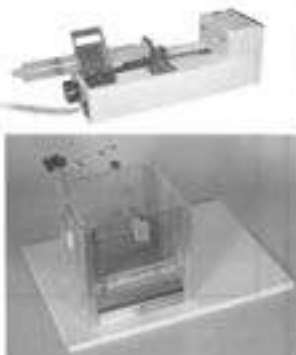
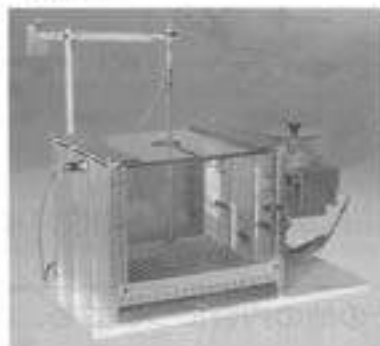
薬物依存測定装置(CPP)



薬物の依存性実験などに使用されます。実験ケージは2つのコンパートメントからなり、選択コンパートメントとして、黒色(ステンレスグリッド床)、白色(プレート床)の居室が用意されています。ニュートラルからの仕切板には電動ギロチンドアを付属させることができ、赤外線ビームセンサーで動物の移動反応を検出します。実験ケージ、制御装置とパソコンから構成されます。(オプションにてステンレスメッシュ床などご要望に合わせて作成いたします)

小動物用セルフインジェクション装置

動物の反応に対して、薬液が一定条件のもとでインジェクションされます。実験ケージ(オペラントケージ)には、条件刺激モジュール(光・音)が用意され、また反応用としてレバーが付属いたします。ケージ上部中央には、フリームービングのシールドが薬液チューブのねじれを防止、動物に対する拘束を軽減します。



*オペラントケージはご要望に合わせて作成いたします。

NSi

NeuroScience*ide, Co.,Ltd.
株式会社ニューロサイエンス・イデア

◇E-mail: info@neuro.s.com ◇URL: http://neuro.s.com

本社
◇〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島6丁目7番8号 大昭ビル3F
TEL: 06-6307-7311 FAX: 06-6307-7727
名古屋支店
◇〒454-0868 名古屋市中川区草薙町1丁目39番1号 アクティブ河津C棟
TEL: 052-355-5388 FAX: 052-355-5377

生体試料中薬物濃度測定を受託します

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。

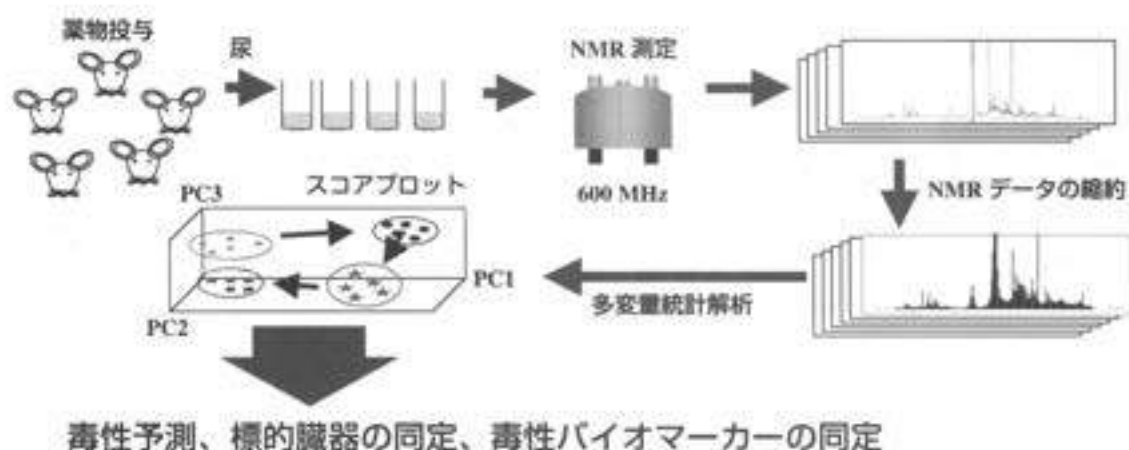
主な受託試験内容

- 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

ヤクルト医薬品

医療用医薬品 薬価基準収載

抗悪性腫瘍剤(塩酸イリノテカン注)
新薬・指定医薬品・要指示医薬品

カンプト®注

抗悪性腫瘍剤(シスプラチン注)
新薬・指定医薬品・要指示医薬品

シスプラチン注「マルコ」

前立腺癌治療剤(フルタミド)
新薬・指定医薬品・要指示医薬品

フルタミド錠125「KN」

乳酸菌製剤(カゼイン製剤)

ビオラクチス® 散

乳糖分解酵素製剤
(β-ガラクトシダーゼ(アスペルギルス)製剤)

**オリザチール®
オリザチール® 散**

高カロリー輸液用微量元素製剤
指定医薬品

ボルビックス®注

高カロリー輸液用微量元素製剤
指定医薬品

ボルビスール®注

経皮吸収エストロジオール製剤
(エストロジオール貼付剤)
指定医薬品・要指示医薬品

フェミエスト® 4.33mg/2.17mg

副腎皮質化学療法剤、副腎皮質ホルモン合成阻害剤
(ミトタンカプセル)
新薬・指定医薬品・要指示医薬品

オヘプリム®

医療用具

動脈塞栓材

スフェレックス®

一般用医薬品

ビフィズス菌・乳酸菌製剤

ヤクルトBL 整腸薬

便秘薬

アロI錠「MY」

※「効能・効果」「用法・用量」「警告」「禁忌」「使用上の注意」等については添付文書をご参照ください。

〈資料請求先〉 **株式会社ヤクルト本社**

〒104-0061 東京都中央区銀座7-16-21 銀座木挽ビル

TEL:03(5550)8965(医薬品部)

WIL Research Laboratories, Inc.



Improving
human health
and
protecting
the environment
through scientific
research services.

WIL Research Laboratories, Inc. is an interdisciplinary non-clinical contract research organization providing product safety toxicological assessment research and services to the pharmaceutical, biotechnology, chemical, agricultural, veterinary and food consumer products industries.

Our professional staff possess the scientific and regulatory experience to develop the most effective research studies on the market today, and the knowledge to conduct, interpret and report the results to both domestic and international regulatory agencies.

Providing high-quality studies in:

- General Toxicology
- Developmental & Reproductive Toxicology
- Inhalation Toxicology
- Neurotoxicology
- Metabolism
- Bioanalytical Chemistry
- Safety Pharmacology
- Juvenile Toxicology
- Infusion Toxicology
- Telemetry



WIL RESEARCH LABORATORIES, INC.

Japanese Office:

MIKI & Co. LTD., No.2 MIKI Building,

3-15-5 Nihonbashi, Chuo-Ku, Tokyo 103-0027 JAPAN

Attention: Mr. Y. Hitokabe Phone: 03(3271)4162

Advanced Electronic Reports
Submission-Ready • Flexible • User Friendly

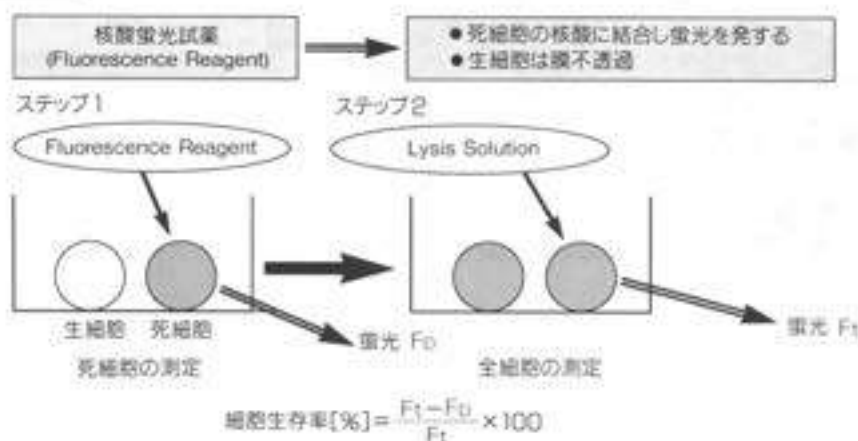
細胞毒性 / 細胞増殖能 / 細胞の生死の割合が測定できます

死細胞を選択的に蛍光測定 Cytotoxic Fluoro-test Wako

細胞毒性フルオロテストワコー

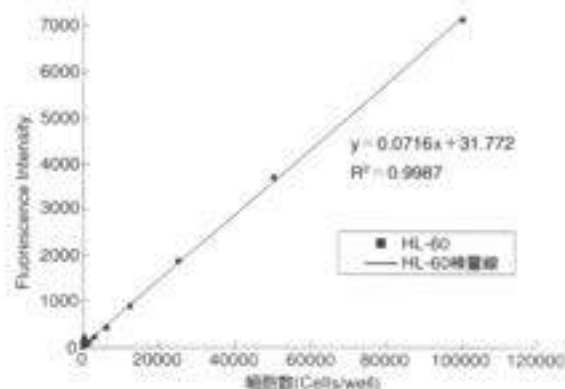
- 同一ウエル内で死細胞、全細胞、および細胞生存率を測定
- 操作は2ステップで迅速測定(5分程度)
- 細胞洗浄、遠心分離などの煩雑操作不要
- 蛍光マイクロプレートリーダーで測定
- 死細胞のDNA量を測定

測定原理



検量線作成例

HL-60を用いて蛍光/吸光マルチプレートリーダー“スベクトラフルオ”で測定し、検量線サンプルを作成。
励起波長: 420nm
蛍光波長: 460nm



293-55001

細胞毒性フルオロテストワコー

1,000円/本

【内容】 Fluorescence Reagent 500 μ l 1本
Lysis Solution 10 μ l 1本

★マイクロプレートをご請求下さい。

和光純薬工業株式会社

本社: 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号
東京支店: 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号
営業所: 北海道・東北・筑波・横浜・東海・中国・九州

問い合わせ先

フリーダイヤル: 0120-052-099 フリーファックス: 0120-052-806

URL: <http://www.wako-chem.co.jp>

E-mail: labchem-tec@wako-chem.co.jp



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



(鹿児島)

薬物代謝分析センター



(和歌山)

新日本科学グループは、前臨床試験をはじめとして、臨床試験(CRO業務・SMO業務・フェーズⅠ試験)の受託事業、さらに、創薬や医療技術のシーズを橋渡しするトランスレーショナルリサーチ事業を通じて、医薬品開発のあらゆるプロセスを支援致します。

連絡先:

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

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 03-3500-5045 FAX 03-3500-5046

大阪支社

大阪府中央区伏見町2-1-1 三井住友銀行高麗橋ビル
TEL 06-6233-8411 FAX 06-6233-8412

SNBL U.S.A., Ltd.

6605 Merill Creek Parkway Everett, WA 98203
TEL +1 425 407 0121 FAX +1 425 407 8601

<http://www.snbl.com> e-mail: info@snbl.co.jp

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

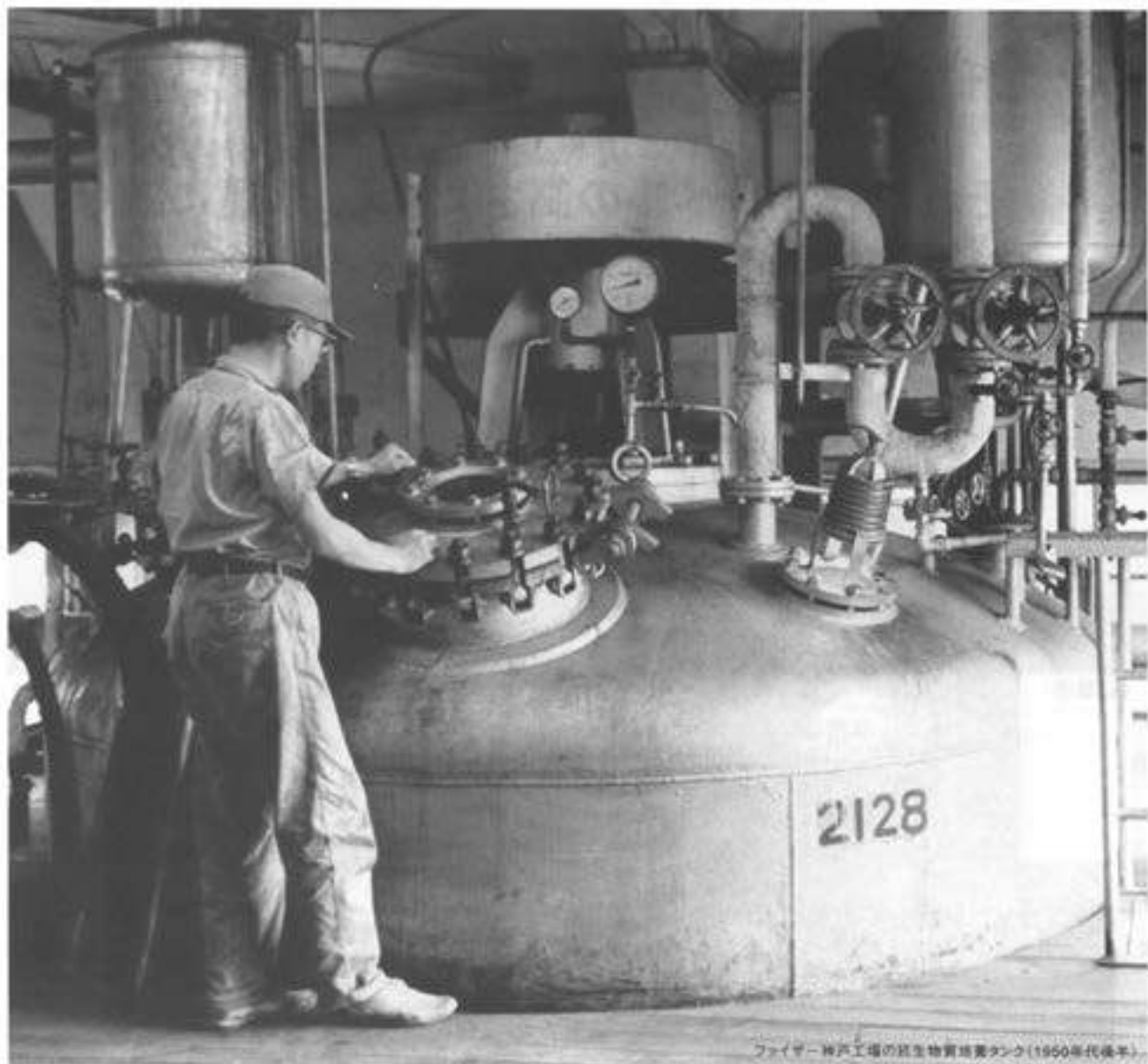
<http://www.anpyo.or.jp/>

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

50年前から、メイド・イン・ジャパン。



ファイザー神戸工場の経生物質培養タンク(1960年代後半)

最高品質の処方薬を患者さんに確実に届ける体制を整える。そのためにファイザーは、経緯からわずか8年後の1953年、

すでに日本国内での生産を決断していました。その後、神戸に工場を開設し、当時世界で革新的発見といわれていた広範囲抗生物質「テラマイシン」の本格的な一貫生産を、日本の技術者の手で実現したのです。1967年には、名古屋に生産拠点を移し、翌年、研究所も開設。

以来、世界の医薬研究の最前線と連携を図りながら、新薬の研究と製造を進めてきました。

その結果、現在では、日本で処方されるファイザーの薬は、ほとんどすべて日本で生産されています。

そして、さらに、より高いクオリティ・オブ・ライフの実現をめざして、昨年、私たちファイザーはファルマシアと統合しました。これにより医療用医薬品事業では、循環器系、精神・神経系、感染症・アレルギー系、泌尿器系、筋骨格系などに、糖、脂質、内分泌系が加わり、新薬の開発能力と効率が一層高まりました。

「テラマイシン」生産以来、日本と共に歩んで50年。これからもファイザーは、新薬の開発に取り組み、日本のヘルスケアを支えています。

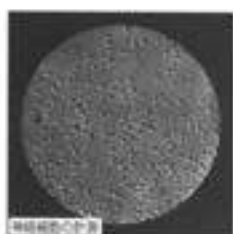
あなたは今の検出感度・測定精度に満足していますか？

数、面積、面積率、直径、粒度分布を自動計測
多目的高速画像解析装置 PCA-11D

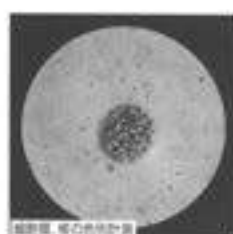


高速画像積算機能装備

検出感度強化



優れた操作性



画像の保存



マルチ機能



最適画像入力

試料の均一化
自動シェーディング補正機能により
培地等不均一な試料を均一に補正。

優れた操作性
プログラムを組む必要がなく、パラ
メータを設定したらスタートボタン
を押すだけ。

エクセル対応
エクセルワークシートに計測データ
を直接入力可能。

画像の保存
外部ビデオ出力により、本装置から
生画像をパソコン、ビデオプリンタ
等に保存可能。

自動測定エリア
細胞、葉の病斑等の不定形エリア内
計測。

マルチ機能
面積率、生死細胞数などの選択計測。

強力な分離機能
接触したコロニー、細胞、ブランク、
阻止円等を自動分離して計測。

最適画像入力
試料の濃淡を自動的に検出し、見つ
らい試料を最適な状態で入力。

※ 現在測定しているサンプルを、お客様の所へ伺って測定するデモを行っております。

製造発売元

SSC システムサイエンス株式会社

本社・工場 / 〒197-0011 東京都福生市福生1253-16
TEL 042(552)5956(代表) FAX 042(552)5727
URL: <http://www.ssc-bios.co.jp> E-mail: info@ssc-bios.co.jp

ヒト・動物組織由来 研究用試薬を 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

試薬部 東京事業所

〒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)
Advanced in vitro cell technologies (BARCELONA, SPAIN)

ヒト・動物組織由来製品群

- ▶ **ヒト肝細胞 (非凍結)** **NEW**
24wellプレートまたはフラスコ接着済み。
- ▶ **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・ハムスター・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。マウス・ラット・イス・サル・ヒト由来をご用意しております。
- ▶ **セルライン HepaRG** **NEW**
ヒト肝ガン由来の新しいセルラインで初代培養肝細胞の機能をよく保持しています。B型肝炎ウイルスの増殖サイクルをサポートしています。
- ▶ **CACOREADY™システム** **NEW**
21日間培養したCaco-2細胞を ready to use のプレートでお届けいたします。

血液由来製品群

- ▶ **ヒト血液細胞**
Mononuclear Cells (単核球), Monocytes (単球), Lymphocytes (リンパ球)
- ▶ **ヒトプラズマ**
各種抗凝固剤 (ヘパリンLi, ヘパリンNa, EDTA, CPD, ACD) にて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。
- ▶ **ヒト血清** **NEW**

サービス

- ▶ **新鮮肝細胞を用いた試験受託サービス**
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**
規格式品以外のヒト・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。

安全性試験用呼吸モニター

Respytox - 4/8 FDAP11



対象動物

マウス
ラット
モルモット
ラビット
ドッグ
モンキー
etc.

解析パラメータ

Penh	Enhanced Pause Time
Tidal Volume:	一回換気量
Respiratory Rate:	分時呼吸数
Peak Expiratory Flow:	最大呼気流速
Peak Inspiratory Flow:	最大吸気流速
Minute Volume:	分時換気量
Expiratory Time:	呼気時間
Inspiratory Time:	吸気時間
Relaxation Time:	無呼吸時間
Ratio:	呼吸時間比率

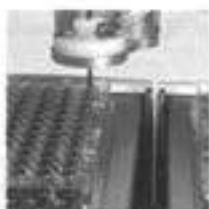
エム・アイ・ピー・エス



株式会社 M・I・P・S レスピー研究室

本社 〒536-0004 大阪市城東区今福西3丁目2番2号1105

TEL:06-6935-7720 FAX:06-6935-7718 e-mail:mips@medical.email.ne.jp



INTEGRITY PERFORMANCE EXCELLENCE

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.

Our GLP certified testing capabilities include:

- Analytical Services
- Immunotoxicology
- In-Vitro Pharmacology
- Experimental Therapeutics
- ADME
- Discovery Pharmacokinetics
- Safety Pharmacology
- General Toxicology
- Developmental/Reproductive Toxicology
- Neuroscience
- Surgical Services
- Clinical Pathology
- Pathology Services

MPI RESEARCH

Japan Office:

OGGI Corporation, Mr. Yoshikazu Hasegawa
Nishiki-cho Yasuda Bldg. 6F
3-20 Kanda Nishiki-cho
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0054
Tel 03.3518.0171 • Fax 03.3518.0178
Email ogsun@mti.biglobe.ne.jp

USA Office:

54943 North Main Street
Mattawan, MI 49071-9399 USA
Tel 269.668.3336 • Fax 269.668.4151
Email marketing@mpiresearch.com

www.mpiresearch.com

MPI-CARDION
LABORATORIES
Divisions of MPI Research

FAST
SYSTEMS

MPI
ANALYTICAL

BOZO 安全性試験受託機関 GROUP

- 一般毒性試験 ●癌原性試験 ●生殖・世代試験 ●刺激・感作性試験 ●変異原性試験
- 抗原性試験 ●安全性薬理試験 ●病理組織標本作製・検索
- 機器分析/トキシコキネティクス



御殿場研究所



西南研究所

ボゾリサーチセンターは、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(西南研究所)、病理試験(東京研究所)の受託を行っています。

- Inhalation ●Infusion Study ●一般毒性試験 ●薬物動態試験・特殊薬理試験



ITR研究所



Nose-only Exposure System

ITR Laboratories Canadaは、カナダ・モントリオールでボゾリサーチセンターの子会社として、サル・イス・ラット試験の受託を行っています。



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/Fax.03-3327-2115
東京本部 〒151-0065 東京都渋谷区大山町36-7 Tel.03-5453-8101/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/Fax.06-6397-2852
研 究 所 御殿場研究所・西南研究所・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/(514)457-7303

COSMO**BIO**

確かな品質、優れた試薬を世界から。

研究用

不可能を可能に！

実験動物用搾乳装置 WAT-2001

日本大学TLO NUBIC開発品 国際特許取得

薬物・生理活性物質・母仔免疫・ウイルス・ダイオキシン・環境ホルモン…乳中移行の動物実験に

ラットやマウスは、乳頭が小さく、また乳量も少ない為有効に搾乳することが大変困難で、母乳への移行実験の報告はほとんどありません。環境汚染物質・薬物・生理活性物質・ウイルスなど、幅広い分野で乳中移行の動物実験へのニーズは多く、意義の高い装置です。

ラット/マウス
の搾乳に！医療研究/医薬開発
環境問題研究に！

中国でパンダの搾乳に成功しました！

(日本大学獣医学科獣医生化学研究室)

パンダは変わった習性を持つ動物で、初産で生まれた赤ちゃんを母親はほとんど哺乳しません。中国四川省成都、国立成都パンダ繁育研究基地でも過去3年間初産で生まれたパンダはほとんど死んでしまいました。パンダが成長する上で必要な栄養分は粉ミルクなどでいくらかでも補えますが、病気などに打ち勝つ免疫はどうしても母乳からでないと摂取することができません。そこで渡部教授の考案した世界初のコンピューター制御による実験動物用の搾乳器を使ってパンダの母乳を搾り、それを飲ませるといふ実験が行われて、搾乳と人工哺乳に成功しました。

信頼をお届けする

コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016 東京都江東区東陽2丁目2番20号 (東陽駅前ビル)

営業部 TEL.03-5632-9610・9620

FAX.03-5632-9619

<http://www.cosmobio.co.jp>

SLCの 実験動物



SPF動物

- クローズドコロニー
- マウス
Sic: ddY
☆lar: Mice
Sic: ICR
- ラット
Sic: SD
Sic: Wistar
Sic: Wistar/ST
Hos*: Donryu
☆lar: Wistar/Water-maniche
☆lar: Long Evans
- モルモット
Sic: Hartley
- ウサギ
Sic: JW/CSK
Sic: NZW
Sic: Syrian

- 近交系
マウス
- BALB/c Cr Sic
C57BL/6 Cr Sic
C57BL/6J Jms Sic
C3H/He Sic
DBA/2 Cr Sic
NZW/N Sic
A/J Jms Sic
AKR/N Sic
CBA/N Sic
C3H/He N Sic
C3H/He J Yok Sic
129X1/SvJ Jms Sic
C57BL/10 Sn Sic
B10.A/Sg Sn Sic
B10.BR/Sg Sn Sic
B10.D2/nSn Sic
B10.QBR/Sx Sic
B10.S/Sg Sic
F344/N Sic
WKAH/Hm
BN/SeN Sic
LEW/SeN Sic
ACI/N Sic

- B10
コンジュニック
- B10.A/Sg Sn Sic
B10.BR/Sg Sn Sic
B10.D2/nSn Sic
B10.QBR/Sx Sic
B10.S/Sg Sic

- ラット
- F344/N Sic
WKAH/Hm
BN/SeN Sic
LEW/SeN Sic
ACI/N Sic
- Wistar/Ms Nrs
●WM/Nrs

- モルモット
- Strain 2/Sic
Strain 13/Sic
MON/Jms Gbs Sic

- 交雑群
マウス
- Sic: BDF1
Sic: CBF1
Sic: CDF1
Sic: B6C3F1

- ミュータント系
ヌードマウス
- BALB/c Sic-nu
KSN/Sic

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(奄美大島) 輸入ザル(ベトナム)
アカゲザル 国内繁殖生産ザル(奄美大島)
ミニブタ (日生研、ジャパンファームクラウン)

疾患モデル動物

- マウス
- BxSB/Moj Jms Sic-Yas (自己免疫疾患)
C3H/HeJ Jms Sic-git (自己免疫疾患)
C3H/HeJ Jms Sic-lar (自己免疫疾患)
C57BL/6J Sic-git (自己免疫疾患)
C57BL/6J Jms Sic-lpr (自己免疫疾患)
MRL/MpJ Jms Sic-lpr (自己免疫疾患)
NC/Nga Sic (皮膚炎)
NZB/N Sic (自己免疫疾患)
Sic (NZWxBxSB)F1 (心筋梗塞)
☆Hos* HR-1 (ヘアレスマウス)
Sic: NZBWF1 (自己免疫疾患)
Sic: WBS6F1-W, W* (肥満遺伝子疾患)
Sic: WBS6F1-SL, SL* (肥満遺伝子疾患)
CTS/Shi (免疫不全)
DBA/1J Jms Sic (コラーゲン産生)
Sic (DBA/1J × B6/129)F1 (老化促進)
AKITA/Sic (II型糖尿病)
HIGA/Nsc Sic (I型糖尿病)
B6.C-CgJ-R-Apoe Sh (高脂血症)
NSY/Hos (II型糖尿病)
☆C57BL/6J Jms Sic-lpr (II型糖尿病)

- ラット
- DA/Sic (コラーゲン産生)
DA/Sic-hg/hg (NK細胞産生)
HWY/Sic (ヘアレスラット)
SDR (骨髄細胞産生)
NAR/Sic (免疫不全)
WBN/Kob Sic (高血糖好発)
Sic: Wc-Wc, Wc (糖尿病)
Sic: Zucker-fa-fa (肥満)
Gunn/Sic-lpr (高血糖好発)
DIS/Eis (食塩抵抗性)
DIR/Eis (食塩抵抗性)
EHR/Eis (食塩抵抗性)
SHR/lzm (高血圧)
SHRSP/lzm (脳卒中)
WKY/lzm (高血圧)
SHR/NDmcr-cp (肥満・高血圧)
GK/Sic (II型糖尿病)
MES (好酸球増多症)
☆コペンハーゲンラット (前立腺腫瘍)
Rc-TgR/Sic (心臓モデル)
J2N-k (心臓モデル)
J2N-n (心臓モデル)
モルモット
BHS*/NZ Sic (気道過敏系)
BHR*/NZ Sic (気道過敏系)

その他

実験動物用床草・ソフトチップ(ス)・ペーパーグリーン(紙)
小動物用飼料・クイックカラーペイント
輸送給水瓶 アニマルボトル
薬箱 シェアードシャック
実験動物用器具A試薬(デンカ生研)
ラット注射用保定器

- 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
 - ・生殖毒性試験
 - ・次世代毒性試験
 - ・皮膚毒理学試験
 - ・刺激性試験
 - ・日本薬学会に基づく生物学的試験
 - ・ウサギの眼毒 - 皮内・発熱性物質試験
 - ・マウスの急性毒性試験
 - ・急性毒性試験
 - ・慢性毒性試験

- 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
 - ・皮膚炎マウス (NC) の試験
 - ・その他自社発症モデルマウス、ラットの試験
 - ・外科的疾患モデルの試験
 - ・糖尿病 皮下注射、皮下注射、経口投与、経口投与、経口投与マウス、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
 - ・CC-急性肝炎ラットの試験
 - ・ST-糖尿病マウス、ラットの試験
 - ・食餌性疾患モデルの試験
 - ・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
路的採血試験
- マウス、ラット、モルモット、ウサギのモノクローナル
抗体およびポリクローナル抗体の作製
- 病理標本作製・鏡検
- トランスジェニック動物 (マウス、ラット) の作製
- ノックアウトマウス (キメラマウス) の作製

お問い合わせは ☎(053)437-5348 受付試験部まで

- 外科的疾患モデル動物
- ・各種腫瘍 (皮下注射、皮下注射、経口投与、経口投与、経口投与)
 - ・糖尿病 皮下注射、皮下注射、経口投与、経口投与、経口投与
 - ・皮膚炎マウス (NC) の試験
 - ・動物内皮損傷ラットの試験
 - ・高血圧マウス (SHR) ラット
 - ・コレステロールラット
- 薬物毒性モデル動物
- ・TAA肝硬変ラット
 - ・CC-急性肝炎ラットの試験
 - ・ST-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

- 特殊処置動物
- ・発熱・皮下注射・皮下注射・皮下注射
 - ・糖尿病 皮下注射、皮下注射、経口投与、経口投与、経口投与
 - ・心臓腫瘍 (動物内皮損傷) ラット
 - ・糖尿病マウス、ラット
 - ・高血圧マウス
 - ・VX2およびVX4癌がんウサギ
 - ・免疫低下による腫瘍発生用トレーニングラット
 - ・運動量調節試験のロータロッドにおいて一定時間落ちないラット

- マウス、ラットの子宮切除術によるSPF化
- マウス、ラットの経移植による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)

Micro Volume Technology!

検体量わずか30 μ L(10倍希釈)で21項目分析可能!
 — 超微量自動分析装置 *BioMajesty* シリーズ —

創薬、ゲノムの機能解析などに不可欠な超微量検体による多項目分析に
*BioMajesty*は精度の高いデータでお応えします。



検体量30 μ L

元検体の希釈倍率を大きくし、検体使用量を
 低減する希釈ディスクによる希釈条件

- 通常(5倍希釈)の条件
 元検体:30 μ L+希釈液:120 μ L=希釈後検体:150 μ L
- 特殊(10倍希釈)の条件
 元検体:15 μ L+希釈液:135 μ L=希釈後検体:150 μ L
- 通常(25倍希釈)の条件
 元検体:6 μ L+希釈液:144 μ L=希釈後検体:150 μ L

<希釈倍率(5倍、10倍、25倍)による再現性>

項目	5倍希釈(μ L)			10倍希釈(μ L)			25倍希釈(μ L)		
	mean	range	C.V.	mean	range	C.V.	mean	range	C.V.
1 TP	5.5	0.1	0.915	5.5	0.1	0.481	5.4	0.2	1.029
2 ALB	3.9	0	0.000	3.9	0	0.000	3.9	0.1	0.466
3 AST	88.9	2	0.506	93.5	2	0.611	107.8	5	1.144
4 ALT	107.1	1	0.323	107.5	1	0.473	115.3	4	1.067
5 LDH	125.9	3	0.819	125.8	3	0.783	125.1	15	2.566
6 ALP	173.2	4	0.447	170	12	1.529	176.1	27	2.964
7 GGT	45.8	1	0.827	46.2	2	1.229	42.5	5	3.592
8 CPK	76	4	1.360	74.9	5	1.744	72.1	2.3	5.832
9 AMY	76	4	1.360	74.9	5	1.744	72.1	2.3	5.832
10 UA	3.3	0.1	0.563	3.3	0	0.000	3.3	0.1	1.143
11 Fe	125.9	3	0.506	125.8	3	0.677	114.8	20	4.379
12 Ca	8.8	0.2	0.504	8.7	0.3	0.792	8.8	0.4	1.278
13 CHE	1484.3	36	0.727	1494.1	35	0.630	1493.5	45	0.792
14 CHO	115.3	3	0.484	115.9	3	0.743	118.6	5	1.304
15 TG	97.2	1	0.390	99.1	2	0.687	97	3	0.877
16 HDL	47	2	0.641	43.5	1	1.169	47.4	2	1.398
17 CRE	1.2	0.05	1.155	1.2	0.1	1.999	1.3	0.1	1.742
18 BUN	13.8	0.3	0.588	13.7	0.5	0.939	13.9	1.7	2.878
19 CRP	1.20	0.05	0.992	1.20	0.09	1.904	1.17	0.46	8.853
20 TBIL	0.4	0	0.000	0.4	0	0.000	0.4	0.1	4.537
21 DBIL	0.2	0	0.000	0.2	0	0.000	0.2	0.1	16.210



JCA-BM1650

お問い合わせは第2営業本部(医用機器) ☎(042)528-3325

JEOL
 Serving Advanced Technology

日本電子株式会社

<http://www.jeol.co.jp/>

本社・総機製作所 〒190-0209 東京都板橋区北町3-1-2 ☎(042)543-1111
 営業総務本部 〒100-012 東京都千代田区有明2-1-3 新有明ビル3F ☎(042)528-3381
 札幌 011-756-9590・仙台 022-222-3224・東京 03-556-3070・横浜 042-528-9311 横浜 045-474-2181
 大阪 092-581-1400・神戸 06-6304-3941・広島 082-321-2500・福岡 091-821-5487 福岡 092-471-2381



化学物質の安全性試験受託機関（英国）

セーフファーム・ラボラトリーズ・リミテッド

高い技術水準と低廉な料金で、世界をリードする研究所です。



<主な受託試験>

- ① げっ歯類を用いた一般毒性試験（経口、経皮、吸入、筋肉内；
静脈内投与～単回投与から慢性・がん原性まで）
- ② 特殊毒性試験（変異原性、刺激性、感作性、生殖毒性など）
- ③ 動物代替毒性試験法の研究および開発、OECD/EPA/FDA ガイドラインに準拠した動物
代替毒性試験法による皮膚刺激性、皮膚感作性、光毒性試験
- ④ 医療器具に要求される ISO 対応各種安全性試験
- ⑤ 農薬に要求される各種運命試験や有用生物試験、医薬品に要求される体内動態試験、一般化
学物質、医薬品および農薬の環境毒性試験、物理化学的性状試験
- ⑥ 国内外の規制当局に対する申請代行業務およびコンサルティング業務

**SafePharm
Laboratories**

Testing for a Safer Future

P.O. Box 45 Derby DE1 2BT England
Telephone: 44(0)1332-792896
Fax: 44(0)1332-799018
e-mail: sgreen@safepharm.co.uk

www.safepharm.co.uk



日本総代理店

株式会社 **メディアサービス**

テクノサポート部

東京都中央区日本橋茅場町2-14-1
〒103-0025 第一井上ビル303号
Tel. (03) 3666-9915 Fax. (03) 3666-9916
e-mail: support@mediaservices-jp.com

●英国 ダービー市/創立 1970年/従業員350名/敷地 117,000 平方米

チャールス・リバー・グループが
世界で実績のある毒性・代謝研究のための
画期的ソフトウェアを提供!

毒性・代謝予測ソフトウェア

マルチケース

MULTICASE[®] and META[®] Program

Windows Version

FDAの評価レポートをご覧ください。

- 化合物の毒性の有無を予測します。
- 化合物の生分解、代謝経路、代謝物を予測します。
- 50種以上のデータベースを用意しています。
 - Carcinogenicity
 - Mutagenicity
 - Irritation
 - Developmental and acute toxicity
 - Ecotoxicity
 - Biodegradation
- FDAとの契約により、FDAが独自に所有する「医薬用化合物に関するげっ歯類carcinogenicity」のデータベースが使用できます。
- 貴社の毒性データを付加して、独自のデータベースを構築できます。
- 簡単な操作で使用できます。お問い合わせください。

あらゆるBio Technical Serviceは、まず当社にご相談ください



お問い合わせは

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3-17-6 イノテックビル11F

TEL 045(474)9336 FAX 045(474)9341

E-mail: crj-sd@yokohama.email.ne.jp

<http://www.crj.co.jp>