

T. Harada

第5回毒作用研究会

プログラム

講演要旨

昭和53年5月19日(金)

東京都千代田区大手町 農協ビル

集会幹事

残留農薬研究所 白須泰彦

会場案内図



1. 所在地 千代田区大手町1-8-3
2. 連絡先 農協ビル管理会
TEL(279)0311内3850~3
3. 地下鉄丸の内線大手町駅下車徒歩約5分
* 東西線、千代田線、都営6号線大手町駅下車徒歩約5分
4. 国電東京駅より徒歩約10分

第5回毒作用研究会次第

集会幹事	残留農薬研究所	白須泰彦
会期	昭和53年5月19日	AM9.30 ~ PM8.30
会場	農協ビル	
	受付	7階 ロビー
	第1会場	7階 ホール
	第2会場	6階 第1大会議室
一般講演	午前の部	AM9.30 ~ 12.10
	午後の部	PM1.30 ~ 5.00
ワークショップ	毒性試験のフロンティア	
		PM6.00 ~ 8.30
評議員会	PM0.30 ~ 1.10	第1会場

◇ 注 意 ◇

参加の方へ

1. 既に参加をお申込みの方は受付で名札（参加章）を受け取り、左胸部につけてください。
2. 当日参加をお申込みの方は受付で参加費（3,000円）を納入して名札と講演要旨を受け取ってください。当日参加の評議員には食事を用意してありませんので御諒承ください。
3. 参加章をもって受領証といたしますが、特に受領証を必要とされる方はお申し出ください。
4. 追加・討論の採択、時間などの進行に関しては座長に一任させていただきます。
5. 原則として呼出しはいたしませんので御諒承ください。
6. 会場内における写真撮影は御遠慮ください。

演者の方へ

1. 講演時間は1題について8分、追加・討論の時間は2分です。時間超過しないよう御協力ください。
2. スライドは講演開始30分前までに該当会場のスライド受付に提出してください。使用後のスライドは同じ受付でなるべく早くお引取りください。スライドプロジェクターは1台です。
3. 登壇の前に必ず「次演者席」で待機してください。
4. 講演の中止、演題・演者の変更などはなるべく早く集会幹事に申出てください。
5. Jap. J. Toxicol. Sci. に掲載するための講演抄録は当日会場のスライド受付係に提出してください。抄録は英文の場合 300語以内、日本語の場合 800字以内で、超過については別途料金を請求されることがあります。

プログラム

第 1 会 場

座 長

- 1-3 柳 浦 才 三 (星 薬 大)
4-5 平 野 修 助 (東 邦 大)
6-8 林 裕 造 (食薬センター)
9-12 伊 藤 信 行 (名 市 大)
13-15 秋 元 健 (第 一 製 薬)
16-18 柳 田 知 司 (実 中 研)
19-20 平 賀 興 吾 (都 衛 研)
21-23 河 合 清 之 (労 衛 研)
24-25 螺 良 義 彦 (奈 良 医 大)
26-27 上 野 芳 夫 (東 理 大)
28-31 今 道 友 則 (日 獣 大)
32-35 福 田 英 臣 (東 大)

第 2 会 場

座 長

- 1-4 柳 谷 岩 雄 (阪 府 大)
5-8 井 出 源 四 郎 (千 葉 大)
9-12 和 田 功 (群 大)
13-15 酒 井 文 徳 (東 大)
16-19 石 津 澄 子 (女 医 大)
20-22 堀 口 俊 一 (大 阪 市 大)
23-25 粕 谷 豊 (東 大)
26-28 加 藤 隆 一 (慶 大)
29-31 北 川 晴 雄 (千 葉 大)
32-34 山 野 俊 雄 (阪 大)

一 般 講 演

第 1 会 場 (農 協 ホール)

9.30 ~ 12.10

1-1

食餌制限のラットに及ぼす影響

○高橋 博, 鈴木信夫, 佐藤七平, 加島和美, 本山守夫,
佐藤隆一(日本実験医学研)

1-2 イヌの慢性脳波

佐藤隆一, ○加島正明(日本実験医学研), 香川基一(北里
大・薬・薬理)

1-3 毒性領域における薬物の抗原性試験についての検討

○桜井恵子, 小田島寿子, 宇高奎二(日本ロシユ研・毒性病理)

1-4 ラットの条件回避反応と飲水日周リズムに対する効力差からみたデポー型
神経抑制薬の副作用予測

○栗原 久, 田所作太郎(群大・行動分析)

1-5 Morphine に対する preference の消去過程

柳浦才三, ○鈴木 勉(星薬大・薬理), 河合貞子(星薬大・
心理)

1-6 Ethylene Cyanohydrin (ECH) のマウスとラットに対する影響
についての病理組織学的検討

○柴田道子, 小木曾正, 広瀬雅雄, 伊藤信行(名古屋市大・医・
一病理)

1-7 新抗炎症薬 Oxepinac (DD-3314) のビーグル犬における慢性毒性

○野村 護, 加藤道幸, 山田明甫, 小野寺 威, 秋元 健(第
一製薬・研)

1-8 p-phenylenediamine (Hair Dye) の肝及び皮膚に及ぼす影響に
ついての電顕的観察

○日比野 勤, 荒井昌之(名古屋保健衛生大・衛生・病理)

1-9 胆汁酸投与による家兎大動脈の中膜硬化症

○今井 清, 畔上二郎, 吉村慎介, 山口 肇, 林 裕造(食品
薬品安全センター)

- 1-10 薬物による実験的リン脂質症における内臓神経系の電顕的観察
○吉村慎介, 渡辺純次, 林 裕造 (食品薬品安全センター・病理)
- 1-11 抗潰瘍剤 (Sodium Polyacrylate, Amylopectin Sulphate) による兔の潰瘍性大腸炎に関する組織学的研究
○山下 巧, 松田 明 (日本化薬・薬品研), 蜂屋 昇, 坪崎 正寿, 木葉徳安 (日本化薬・安全研)
- 1-12 クロロキン中毒の病理学的変化について
田中順一, 米沢 猛 (京都府医大・一病理)
- 1-13 アカゲザルへの静脈内 13 週間反復投与によるニコチンの亜急性毒性
○服部治子, 田中寿子, 渡辺満利, 野村岳之, 柳田知司 (実中研・前臨床, 慈恵医大・病理)
- 1-14 免疫抑制剤 Bredinin と Imuran の比較毒性試験 (特に肝毒性について)
○守野豊彦, 原 利己, 矢野謙次, 松本一彦, 辻野正俊, 早野 和夫 (東洋醸造・研)
- 1-15 高張アミノ酸輸液の毒性に関する考察
小佐妻恒夫, ○島津 肇, 林 俊文, 武田京一 (森下製薬・薬理研)

1.30 ~ 5.00

- 1-16 TDI の生体作用に関する動物実験的研究
○石津澄子, 野沢五郎, 安田和臣 (東京女子医大・二衛生)
- 1-17 Alloxym-sodium (ADS) の毒性学的研究 (第4報), ADS の亜急性毒性について
福田芳郎 (順天堂大・医), 蝶良義彦 (奈良医大), 西部忠幸, 貫井孝士, 高折 均, 後藤和則, 今井 修, 佐々木高義, 星野良孝 (日曹・生科研)
- 1-18 マウスにおける Polychloronaphthalene の毒性
上野芳夫, ○伊藤照夫 (東京理科大・薬), 大久保 薫 (埼玉医大・病理), 浅野菊枝 (三島・臨床分析センター), 上野郁子 (東大医科研・ガン体質)

- 1-19 2, 4-Dinitrophenol (DNP) のウズラに対する白内障誘発効果
高橋和明, ○齋藤 徹, 白須泰彦 (残留農薬研)
- 1-20 メタジニトロベンゼンの経皮呼吸に関する研究
○石原信夫, 池田正之 (東北大・医・衛生)
- 1-21 四塩化炭素吸入毒性, III暴露時間と濃度との関係について
○上満信男, 三好幸二, 小林紀子, 仲吉 洋, 仲沢政雄 (野村
総研)
- 1-22 ホルムアルデヒド吸入による循環・呼吸系抑制効果の機序について
堀口佳哉, 小儀国太郎, 谷 孝之, 池田陽男 (神奈川衛研)
- 1-23 クロム鉱さい粉じんのラットによる1月持続吸入実験
坂本義光, 神谷信行, 平賀興吾 (東京都衛研・毒性)
- 1-24 ICRマウスにおける Hexachlorobenzene と Polychlorinated
terphenyl の発癌性について
○小木曾正, 柴田道子, 中西敬介, 伊藤信行 (名古屋市大・医・
一病理)
- 1-25 脾臓と副腎 Corticoidogenesis に対する移植癌の毒作用
○増淵美子, 島 澄夫, 平井正直 (聖マリアンナ医大・薬理),
関山重孝 (慈恵医大・病理)
- 1-26 サイアベンダゾールの変異原性試験
白須泰彦, ○寺本昭二, 森谷正明, 手塚英夫 (残留農薬研)
- 1-27 金属化合物の変異原性
○兼松宣武 (岐阜歯大), 賀田恒夫 (国立遺伝研)
- 1-28 イヌおよびマウスの精巣に及ぼすトリメラルセンの毒性について
○茂木国男, 佐久間是行, 信永利馬, 石田名香雄 (東北大・医・
動物実験)
- 1-29 Alloxym-sodium (ADS) の毒性学的研究 (第3報), ADSの
催奇形性について
山本博昭 (奈良医大), 貫井孝士, ○後藤和則, 西部忠孝
(日曹・生科研)
- 1-30 マウスの新生仔期に投与された monosodium glutamate の生殖機能

に及ぼす影響

○早坂郁夫, 中塚敏夫, 藤井孝明(メルク万有・生物化学研)

1-31 新生仔期グルタミンソーダ大量投与によるマウスの発育遅延

○井上 稔, 村上氏広(愛知県心身障害者コロニー発達障害研)

1-32 繁殖試験における学習試験法の簡易化

○高垣 祐三, 宇高奎二, 稲垣幹男, 竹内裕幸(日本ロシユ研・
毒性病理)

1-33 ラット次世代の中樞神経機能および甲状腺に対する Ethylenthiourea
の影響

田内清憲, ○前山由紀, 五十嵐章之(動物繁殖研), 今道友
則(日本獣畜大)

1-34 高フェニールアラニン血症環境下における胎児の脳発達障害とその神経化
学的研究

○平野修助, 金松知幸, 高木芳男(東邦大・医・二生理)

1-35 Cytosine arabinoside 投与によるラット胎仔脳内ライソゾーム酵
素活性の変動

○田丸政男, 松谷天星丸(保健衛生大・医・総医研・発達生理
学), 塚田裕三(慶大・医・生理)

第 2 会 場 (6 階第一大会議室)

9.30 ~ 12.10

- 2-1 腎ネフロン構成蛋白に及ぼす重金属の影響(その2)
 $H_g Cl_2$ 投与後の腎ネフロン糖蛋白の変化
 遠藤 仁, 木村康志, 須藤純一, 中島智子, 酒井文徳(東大・医・薬理)
- 2-2 マウスの日本脳炎感受性に及ぼす重金属の影響
 小山 徹, ○中村 泉, 瀬子義幸, 三浦悌二(帝京大・医・衛生)
- 2-3 妊娠マウスへの微量の金属投与が仔の swimming test および water maze test に与える影響
 星島啓一郎(福島医大・衛生)
- 2-4 めん羊の血液中銅分布に及ぼすモリブデンと硫酸塩の影響
 ○石田直彦, 吉川登志子, 川島良治(京大・農)
- 2-5 クロム化合物の硬組織への影響(その2)
 緒方敏子(東京医歯大・難治疾患研)
- 2-6 塩化メチル水銀の発症と体内分布の経日変化(II)
 ○田頭栄治郎, 泉 知子, 柳浦才三(星薬大・薬理), 今枝一男, 大沢敬子, 徳弘えり子(星薬大・薬品分析)
- 2-7 ラットにおける塩化メチル水銀の30か月慢性毒性試験
 白須泰彦, 白居敏仁, ○三森国敏, 平野雅裕, 高橋和明, 俣野修身, 後藤真康(残留農薬研)
- 2-8 脳組織 Cholinergic System に及ぼすメチル水銀の in vitro での影響
 ○小林晴男, 湯山 章, 松坂尚典(岩手大・農・家畜薬理), 竹野 一, 柳谷岩雄(大阪府大・農・家畜薬理)
- 2-9 末梢交感神経ニューロンからのノルアドレナリン放出に対する水銀化合物の影響
 ○中里幸和, 浅野 忠, 大賀 皓(北大・獣医・家畜薬理)
- 2-10 無機錫の毒性発現機構についての基礎的研究

(第8報) 腸管からのCa吸収の低下

○山口正義, 久保芳美, 山本丈夫(静岡薬大)

2-11 高分子有機錫(TPTC)の毒性, 特に血中酵素に及ぼす影響 (1)

○湯本典夫, 岩崎 勇, 高木康史, 井出源四郎(千葉大・医・一病理)

2-12 アルキル錫化合物の毒性に関する実験的研究

○森信 茂, 石津澄子, 百溪 浩, 佐藤 稔, 海老沢 久(東女医大・公衛), 河瀬恵信(予研・獣疫)

2-13 有機錫の生殖腺に及ぼす影響

○舟橋紀男, 岩崎 勇, 井出源四郎(千葉大・医・一病理)

2-14 有機錫化合物の腸管吸収と生体内代謝に関する研究

○岩井秀明, 真鍋真由美, 小野 哲, 和田 功(群大・医・衛生), 金 泰宏, 荒川泰昭(東大・医・衛生)

2-15 ラットの骨折修復に及ぼす無機スズおよびカドミウムの影響

○和田昭治, 林 秀茂, 森山忠重(奈良医大・公衛)

1.30 ~ 5.00

2-16 カドミウムの腎および脳皮質切片内とりこみに及ぼすアミノ酸の影響

○大宮彬男, 中井健五(秋田大・医・薬理)

2-17 カドミウム汚染米による慢性毒性の実験的研究(3)

○道岡 攻, 加美山茂利(秋田大・医・衛生)

2-18 カドミウム投与ウサギのアルカリファクターゼアインザイムに関する研究

○吉田京介, 山本昭子, 小野 哲, 和田 攻(群大・医・衛生)

2-19 ラットにおける¹⁴C-プロリン代謝に及ぼすカドミウムの作用

○坂元倫子(北陸大・薬), 岡田 晃(金沢大・医)

2-20 カドミウムの生体膜に対する作用

野上裕作, 長谷川 亨, 緒方正名(岡山大・医・公衛)

2-21 芳香族ブロム化合物の生体膜機能に及ぼす作用

○井上豊治, 石田立夫(岡山県環境センター), 緒方正名(岡

山大・医・公衆衛生)

- 2-22 生体内重金属代謝に関する研究，特にクロム結合物質について
○山本昭子，中島克行，松井寿夫，小野 哲，和田 攻（群大・医・衛生）
- 2-23 各種鉛化合物の生体内運命に関する研究（その3）
○中野碩夫，堀口俊一（大阪市大・医・衛生公衆衛生）
- 2-24 用量を異にするメチル水銀経口投与ラットの経時的臓器吸収率と蓄積パターンについて
増原泰三，○中村康則（日歯大・新潟・薬理）
- 2-25 高速液体クロマトグラフィーによるトルエン，キシレン，スチレンの尿中代謝産物の測定
○松井寿夫，小野 哲，山本昭子，真鍋真由美，和田 功（群大・医・衛生）
- 2-26 スチレン中毒に関する研究（その2） 組織中スチレン濃度
○寺本敬子，堀口俊一（大阪市大・医・衛生公衆衛生）
- 2-27 ラット赤血球 Aminotransferase 活性について第2報
○本間雅裕，森 典子，金津赫生（日本ロシユ研・毒性部）
- 2-28 動物およびヒトのNOHb，Met Hb について
○野上浩志，織田 肇，中島泰知（大阪府公衆衛生研・公害衛生）
- 2-29 四塩化炭素の代謝的活性化とCyt. P-450 の分解
○山添 康，鎌滝哲也，杉浦正彦，加藤隆一（慶大・医・薬理）
- 2-30 フェノバルビタール腫大肝の肝細胞核へのチミジンの取り込みについて
高橋 洋， 岡田 正， 野田 正彦
- 2-31 異物代謝に関するシトクロームP-450 の分子多様性
○三木伸士，山野俊雄（阪大・医・一生化）
- 2-32 Studies on the Metabolism of Di-(2-ethylhexyl) phthalate in Pregnant and Non-Pregnant Mice
○中村好志，青木 登，八木康興，富田 勲（静岡薬大）
土川 清（国立遺伝研）

- 2-33 Ouabainの Na^+ , K^+ -ATPaseに対する阻害機構 — Ouabain 結合による ^{22}Na の Na^+ , K^+ -ATPaseへの結合のallosteric阻害について

○松井英男, 菅田晴夫(杏林大・医・生化)

- 2-34 北海道におけるホタテ貝毒の分離精製

○市原 侃, 佐藤秀男, 佐藤七七朗, 石下真通, 川瀬史郎(北海道衛研・毒性病理)

ワークショップ：毒性試験のフロンティア

1. Recent trends in toxicology

Colin N. Roberts (Life Science Research,
England)

2. 吸入毒性試験

上 満 信 男 (野 村 総 研)

3. 眼毒性試験

高 橋 和 明 (残 留 農 薬 研)

4. アレルギー性試験 (遅延性アレルギー試験)

岡 本 暉 公 彦 (花 王 石 鹼)

5. 周産期および授乳期投与試験

水 谷 正 寛 (食 品 薬 品 安 全 セ ン タ ー)

講 演 要 旨

食餌制限のラットに及ぼす影響

1-1 Fundamental studies on the physiological actions of dietary control in Rats

○高橋 博 鈴木信夫 佐藤七平 加島和美

本山守夫 佐藤隆一 (日本実験医学研究所)

今回、我々は亜急性および慢性毒性試験の設定に際し、飼料混入実験で最大投与量を如何に決定するかを食餌制限したラットと比較検討した。

〈実験方法〉 約150♀のWistar系雄ラットを用い、1群5匹からなる無処理対照群と3群(水だけ自由摂取させた群(W)、固型飼料だけ自由摂取させた群(F)、水と飼料を与えない群(non-W.F.))を作り、それぞれの症状経過の観察、血液学ならびに生化学的観察、病理組織学的検索を実施した。

〈実験成績〉 体重の変動についてみると、対照群に対してW.F.ならびにnon-W.F.群は実験開始初期から著明な体重減少が出現した。

症状観察からは、実験開始2~3日目時点から、いらだち、落付きの消失、立毛が目立ち、W群6.4±2.3日、F群12.8±2.3日、non-W.F.群6.2±1.5日目で死亡した。血液学的検査では、non-W.F.群にR.B.C.の増加とW.B.C.の減少、血清の生化学的検査では、W群とnon-W.F.群にGOT、GPT値の上昇、血糖値の低下、血清蛋白増加が認められた。なお、尿検査では、non-W.F.群に尿酸結晶の出現が認められた。

臓器重量では、全群に肝、腎、脾の重量の減少が認められ、病理組織学的検査では、肝細胞索の削瘦、脾リンパ濾胞からのリンパ球流出と胃粘膜の出血などの諸変化を観察した。

以上の諸結果から、飼料混入実験の最大投与量を決定する際に、検体の性質(特に味、臭気など)により忌避現象が考えられたので、この点充分に検討すべき問題があるものと示唆された。

イヌの慢性脳波

1-2

日本実験医学研究所 佐藤隆一 ○加島正明
北里大学薬学部薬理学教室 香川恭一

(目的) イヌで慢性脳波の記録を試みた。

(方法) 雄ビーグル犬に Shimizu 等の脳図譜を参考にして、右側の扁桃核、海馬核、中脳網様体(電気刺激用)に同心型双極電極を、そして同じく右側の頭頂部および後頭部の硬膜上皮質に白金球のついた皮質用双極電極を植込み、頭蓋骨表面に露出している電極部分はエポキシ樹脂、アロンアルファーおよびデンタルセメントで絶縁固定した。各電極よりのリード線は頭蓋骨に直接木ネジで固定したコネクターに集めた。また一部のビーグル犬は前記方法の改良法として自作の銀線を使用した皮質用電極を使用し、コネクターは木ネジで固定せず各電極よりのリード線を皮下を通して頸背部の皮膚より外部に露出させ、その先端にコネクターをつけた。

この様に慢性電極を植込んだ犬は、1~2週間観察および局所療法後、非麻酔下で懸垂式犬固定器に固定し、月1度脳波を記録した。他の観察項目としては、一般症状、体重、食餌量、飲水量、尿、血液、生化学的変化について観察した。

(結果) 全使用動物14頭中6頭はコネクター固定用ネジ周囲が化骨せず、3頭はケージ等に頭頂部を打つたためそれぞれ1ヵ月以内に記録不可能となり、1頭は長時間手術中体温下降により死した。残り4頭は2ヵ月経過時点で記録可能であり実験継続中である。体重、餌、水、尿、血液、生化学的検査にはほぼ影響なかった。

(考察) 上記改良法により慢性電極を植込み、飼育管理に気をつければ、イヌの慢性脳波の記録は少くとも2-3ヵ月は可能である。

毒性領域における薬物の抗原性試験についての検討

1-3

○ 桜井 恵子, 小田島 寿子, 宇高 奎二

(日本ロシュ研. 毒性病理)

毒性領域において薬物の抗原性を検討する場合、検討の対象は注射剤、外用剤のみならず水に不溶の低分子経口剤がその大半を占めている。そのため動物実験では、薬物自身が果たして抗体の産生を機縁づける性質を持っているか否かを指標に、生理的条件下でどの様な剤型にも適用できる方法について探索してきた。

1). モルモットを用いた能動感作試験: 通常薬物1-10mgを生食懸濁液とし、鳥居・堀内法¹⁾に従い1%ホモ血清アルブミン(GPSA)と7%で24時間加熱後、薬物-GPSA沈降物を調製する。これにアラムを添加、5日間隔で2回皮下注射し、最終注射より10日後に同一抗原を耳静脈又は腹腔内注射して *Anaphylaxis shock* 発現の有無を検索する。ペニシリンG-K塩, BSAを抗原とした時、静脈注射ではそれぞれ12mg, 100μg、腹腔内注射では300mg, 20mgでショック死を誘発した。

2). IgE抗体産生能を指標とした能動感作試験: 板田・水島法²⁾に準じ、C57BLマウスを用いて行なった。薬物は1)と同様ホモ血清アルブミンで処理した後10μgを腹腔内注射し、更に4週後に1μg注射する。2週後に採血し抗血清を分離する。多少とも水に可溶の薬物の場合は抗血清0.1mlをSD-ラットに皮内注射し、24時間後に Evans Blue を混じた惹起抗原1.0mlを静注、PCA反応誘発能を検索する。Ovalbumin, ペニシリンG-K塩共に強い陽性反応を示す。一方不溶薬物の場合、腹腔内注射を試みたがPCA反応の誘発を見なかった。このため局所PCA反応誘発能の検索、更に腹腔内肥細胞の脱顆粒現象を指標とした腹腔内 *Anaphylaxis* 反応誘発能についての検索を進めている。

1) 鳥居・堀内; Nature, 192 429 '61 2) 板田・水島; 医学のあゆみ, 112 812 '77

ラットの条件回避反応と飲水日周リズムに

1-4 に対する交力差からみたテポ-型神経抑制薬の副作用予測

○栗原 久・田所 作太郎

群馬大学医学部行動医学研究施設行動分析学教室

ゴマ油中に溶解したfluphenazine enanthate (FE)およびfluphenazine decanoate (FD), つまりテポ-型抗精神病薬の2~8 mg/kgを成熟雄ラットの筋肉内に投与すると, FEでは2~3週間, FDでは4~5週間にわたって条件回避反応が著明に抑制される。このように長期間作用が持続する薬物のアドバース反応を動物レベルで予測するに当たり, 摂餌, 飲水等の生体にとって基本的な行動に対する影響について検討し, 特異的効果と比較することは重要であると考えられる。われわれは今回ラットの飲水行動を連続的かつ定量的に自動測定しうるドリンコメータを開発し, FEおよびFD 8mg/kg投与後の飲水日周リズムの変化を観察し, あわせて条件回避反応抑制効果と比較検討した。〔方法〕正確に0.05mlの水滴を形成するカートリッジを介して給水瓶と飲水口を連結し, 飲水時に落下する水滴数を電気的にカウントするとともに, 1時間ごとの測定値を自動プリンターでうち出させた。実験は12時間毎の明暗サイクル下で行い, 薬物は暗期開始直前(6:00 P.M.)に筋肉内投与した。〔結果〕薬物投与前の1日の総飲水量は体重の約15%で, 各個体は暗期に高い飲水を行い, 85~95%が暗期に記録された。FEおよびFD投与後24時間, 飲水は明らかに抑制されたが, この変化はFEの方がFDより著明であった。しかしその後は明暗サイクルに従った飲水が再開され, わずか数日後にはほぼ薬物投与前と同様の規則的な日周リズムに復帰した。すなわち条件回避反応に対する抑制効果に比較して, 飲水行動に対する抑制ははるかに短かつ軽く, 両薬物が基本的行動に影響することは少ないものと推測された。

Morphine に対する preference の消去過程

1-5

柳浦才三、○鈴木勉、河合貞子*

星薬科大学・薬理学教室、*心理学教室

〔目的〕我々は薬物混入飼料（DFA）法を用いて、薬物依存ラットが獲得できること（Jap. J. Pharmacol. 25, 453, 1975）、また morphine（M）に対する preference rate（PR）が急激に上昇することを報告した（Jap. J. Pharmacol. in press）。今回、M に対する PR が上昇した M 依存ラットを用い、PR の消去過程を検討した。

〔方法〕SD 系雄 6 週令ラットを 1 群 6 匹とし、摂餌は 9:00~17:00 の 8 時間とした。M は普通飼料に 1 mg/g food の濃度で混入した。実験スケジュールは、選択試行（CT；1 個の M 混入飼料 vs. 4 個の普通飼料）1 日、強制試行（FT；M 混入飼料のみ）2 日間を、1 session とし 7 session 行い、つづいて、G-1 では、毎日 CT を 3 日間試行し、その後 1 カ月間普通飼料すなわち、休薬とし、後再び CT を 3 日間試行し、このようなサイクルを約半年間くり返した。また、G-2 では、毎日 CT を 1 カ月間試行し、G-1 と同様のサイクルで約 1 年間実験を行った。測定項目は、体重、摂餌量、M 摂取量、それに、M に対する PR（M 混入飼料の摂餌量 × 100 / 総摂餌量）を求めた。〔結果〕G-1、G-2 共、CT ごとに M に対する PR が上昇し、約 5 回目の CT 試行で 60% レベルに達し、その後の毎日 CT でも 60% レベルを維持した。その後休薬を行うと、体重減少、摂餌量の減少などの禁断症状が観察された。1 カ月ごとの CT 時における M に対する PR は、G-1 で 69.5 10.0 7.3% と急激に減少するのに対して、G-2 では 66.3 34.0 34.6 29.8 7.3 8.3 3.7% とゆるやかな減少を示した。M の摂取量は、両群共 PR と平行に減少した。〔結論〕M に対する PR を上昇させその後消去過程を検討した結果、PR は毎日 CT の期間に対応して減少した。

Ethylene Cyanohydrin(ECH)のマウスとラットに対する
1-6 影響についての病理組織学的検討

○柴田道子、小木曾正、広瀬雅雄、伊東信行
(名市大、一病)

高分子凝集剤であるEthylene Cyanohydrin(ECH)の発癌性について
Wistar系雄ラットおよびICR系雄マウスを用いて検索した。

7週令のラットおよび8週令のマウスを用い、3000, 1000, 100 ppmの実験群3群と対照群の計4群で行なった。ラットでは各実験群43匹、対照群21匹を用い、78週間粉末飼料中に混じり摂取後、屠殺、剖検した。またマウスでは、各実験群50匹、対照群30匹を用い、78週間摂取させ、その後実験終了まで、対照群と同様基礎食を摂取させた。飼育期間は各群における生存匹数が5匹になった時点で生存動物を屠殺、剖検しラットと同様に病理組織学的に検索した。なお、ラットでは血液学的、血液生化学的検索も行なった。

その結果、白血病が、3000 ppmで1例(5.0%)、1000 ppmで1例(3.4%)、下垂体腫瘍が1000 ppmで1例(3.4%)、100 ppmで1例(5.0%)副腎腫瘍が3000 ppmで2例(10.0%)、1000 ppmで2例(6.9%)、100 ppmで1例(5.0%)対照群で1例(6.7%)、その他皮下の腺腫を100 ppm投与群で認められた。またマウスでは、白血病が3000 ppmで2例(6.1%)、100 ppmで6例(25.0%)、100 ppmで3例(10.0%)、対照群で2例(11.1%)であり、肺の腺腫も対照群を含めて各群に低頻度にみられた。肝癌は1000 ppmのみに2例(8.3%)みられ、かつ結節性肥大は1000 ppm 1例(4.2%)、100 ppm 1例(3.3%)とそれぞれ認められたが、これらの腫瘍発生は、ECHによるよりも自然発生腫瘍によるものと解釈される。

以上の結果から、ECHのラット、マウスに対する慢性毒性検索の結果ECHによると考えられる特異な変化はなく、また腫瘍発生を示唆する所見も全くみとめられなかった。

新抗炎症薬 Oxepinac (DD-3314) のビーグル犬における

1-7

慢性毒性

○野村 護、加藤 道幸、山田 明甫、小野寺 威
秋元 健 (第一製薬 研究所)

Oxepinac (DD-3314) は indomethacin (IM) と同等以上の活性を有する抗炎症薬で、種々の動物における急性毒性、およびラットにおける亜急性、慢性毒性についてはすでに報告した (薬学会第 97 年回)。今回はさらにビーグル犬を用いて、oxepinac の経口慢性毒性を IM と比較検討した。

実験方法：生後 43 週 of ビーグル犬 30 匹を用い、雌雄各 3 匹に oxepinac の 2、6 および 18mg/kg および IM の 6mg/kg を 26 週間経口投与した。対照群の雌雄各 3 匹にはゼラチンカプセルのみを投与した。その間一般症状の観察 (毎日)、血液一般検査、血清化学検査、尿糞便検査および眼科学的検査 (以上、投与前、5、13 および 26 週後) を行なうとともに、実験期間終了後、と殺解剖し病理学的検査を行なった。

実験結果：oxepinac 2 および 6mg/kg 群では雌雄ともにいずれの検査においても変化が認められなかつた。oxepinac 18mg/kg 群では、血便排泄 (雄で 6~10 週、雌で 24~26 週) が認められたが死亡の発生はなかつた。臨床検査では、軽度の貧血以外著変がなかつた。剖検では胃幽門部の潰瘍が雌にのみ認められた。一方 IM 6mg/kg 群では、血便排泄が雄で 2 週後からみられ 3~6 週に全例が死亡した、雌では 8 週から血便排泄がみられ 10~13 週に 2 例が死亡した。死亡例では貧血に基づく変化が顕著であり、1 例を除きいずれも穿孔性腹膜炎を併発していた。考察：oxepinac の毒性として消化管潰瘍形成が認められたが、その程度は IM と比較してかなり弱いものと推察される。

p-phenylenediamine (Hair Dye) の肝及び皮膚に及ぼす影

1-8 響についての電顕的観察

○日比野勤, 荒井昌之

名古屋保健衛生大学衛生学部病理

染毛剤の一種である P-phenylenediamine (Paramine) の肝, 及び皮膚に及ぼす影響の有無を, 四塩化炭素 (CCl_4), 及び 9, 10-Dimethyl -1, 2-benzanthracene (DMBA) と対比検索したのでその大要を報告する。

動物は体重 140g 前後のフイッシャー系雄ラット 94匹を用いた。実験 I ; 25mg/kg Paramine, 10mg/kg Paramine, 2.75mg/kg CCl_4 及び生理的食塩水をそれぞれ 0.5ml 宛, 左背部に皮下注射を行い, 24時間, 48時間後に, 屠殺, 肝の変化を検索した。実験 II ; アセトンに 50mg/ml Paramine, 0.6mg/ml DMBA を溶解し, 右背部を剃毛の上滴下塗布した群, 及びアセトンのみ塗布の対照群を, 5週及び10週後に屠殺, 皮膚を中心に検索を行った。

結果 ; 実験 I では, CCl_4 投与群で 24時間後肝に著明な脂肪変性が見られ, 48時間後に於てもその変化は持続した。電顕的にも, 肝実質細胞の脂肪変性, 空胞の出現, 滑面小胞体の拡張増加が認められた。25mg/kg Paramine 投与群では, 24時間後に肝実質細胞の軽度変性を見た。電顕的にライソゾームの増加, 滑面小胞体の拡張増加を見たが, 脂肪変性や空胞化は認められなかった。これ等の変化は 48時間後消褪し, ほぼ正常肝の所見であった。10mg/kg Paramine 投与群には著変は見られなかった。実験 II ; DMBA 塗布群では 5週目より皮膚は限局的に多層化し, ケラトヒアリン顆粒も豊富に見られたが, 乳頭状発育には至っていなかった。Paramine 塗布群では, 多層化の部は殆んどなく, ヒアリン顆粒も少なかった。

以上急性実験に於て Paramine の毒性は肝・皮膚に認められなかったが, 現在更に慢性実験を継続追求中である。

胆汁酸投与による家兎大動脈の中膜硬化症

1-9

○今井清，畔上二郎，吉村愷介，山口肇，林裕造

(食品薬品安全センター秦野研究所)

大量の胆汁酸の1回経口投与により家兎の大動脈に中膜硬化症が生ずる事を見出した。

体重 2.5 kg ~ 3.0 kg の New Zealand - White 雌性家兎に Chenodeoxycholic acid 800mg/kg を1回経口投与した。投与後 6 ~ 18 時間目から大動脈起始部から大動脈弓に局在するピン頭大の内膜の隆起がみられる様になり組織学的には内膜及び内膜直下の弾性線維間の浮腫と弾性線維の走行の乱れが認められた。投与後約 30 ~ 72 時間後には同部に直経約 0.5 cm 大の内膜の肥厚部が散在性にみられる様になりしばしば肥厚した内膜の中央部に浅い靡爛が観察された。投与後1週間目にはこの様な病変は中膜の内膜側のほぼ 1/2 にまで及ぶ様になりしばしば石灰沈着が観察された。

電子顕微鏡的には極めて初期の段階から内皮細胞に大きな空胞の出現が観察された。

同様の病変は deoxycholic acid 1000 mg/kg、lithocholic acid 1000 mg/kg、ursodeoxycholic acid 1000 mg/kg、投与例にも認められたが、cholic acid 投与例では大動脈にほとんど著変は認められなかつた。

ラット，マウス，モルモット，ハムスターでは胆汁酸投与による動脈病変は見られなかつた。

薬物による実験的リン脂質症における

1-10 内臓神経系の電顕的観察

○吉村 慎介、渡辺 純次、林 裕造
(食品薬品安全センター)

ある種の薬物によって引き起こされるリン脂質症、いわゆる Drug-induced phospholipidosis は、超微形態学的には細胞質内に出現する層状あるいは格子状の封入体によって特徴づけられている。これら封入体の形成機序については、肝、腎を中心にして研究がなされている。神経組織については Azacholesterol、Triparanol、Chlorphentermine による脳脊髄の変化の報告はあるが末梢神経節については少ない。今回我々はリン脂質症を起こす数種の薬物を用い、Auerbach 神経叢および腹腔神経節の変化を電顕的に観察したので報告する。

5週齢のSD系ラットに Triparanol 400 mg/kg、Quinacrine 100mg/kg、Chloroquine 200 mg/kg、4,4'-diethylaminoethoxy hexestrol 200 mg/kg、Perhexiline 320 mg/kgを、それぞれ7日間連日経口投与し、空腸および腹腔神経節をグルタルアルデヒド、オスミウム酸にて二重固定し、アルコール脱水後エポキシ樹脂にて包埋した。厚切り切片トルイジンプルー染色の光顕的観察後、超薄切片を作製し、酢酸ウラニルおよび鉛で染色し電顕的観察を行なった。

トルイジンプルー染色切片では、どの薬物の例にも光顕的にはオスミウム好性の顆粒が Auerbach 神経叢、および腹腔神経節の神経細胞細胞質に多数観察された。電顕的には多数の層状あるいは格子状の封入体が神経細胞、グリア細胞の細胞質にみられた。また細胞内小器官には変化は認められなかったが、シナプス小胞の変性と思われる像がみられた。

抗潰瘍剤 (Sodium Polyacrylate, Amylopectin Sulphate

1-11

による兎の潰瘍性大腸炎に関する組織学的研究

日本化薬薬品研 日本化薬安全研*

○山下 巧 蜂屋 昇* 坪崎正寿* 木葉徳安* 松田 明

カラゲナン (Cr) の家兎潰瘍性大腸炎の発生機序について R. ABRAHAM
らは盲腸粘膜固有層内に浸潤した macrophage に Cr が取り込まれた後
lysosome が崩壊し、酵素が放出されるとしている。今回我々は Cr 等と
同様なポリアニオンの 1 つである Sodium polyacrylate (PANA) と
Amylopectin Sulphate (APS) について家兎の潰瘍性大腸炎の発生の
有無を含め、消化管にいかなる作用を有するか病理組織学的に検討し
た。方法：日本白色種 SPF 家兎、体重 1.6~2.0 Kg を用い、一群 5 羽
とした。投与量は 800 mg/Kg、400 mg/Kg、200 mg/Kg、APS 800 mg/Kg、
400 mg/Kg とし、週 6 回、5 週間胃ゾンデにより強性投与を行なった。
実験終了後、消化管について光顕及び電顕的観察を行なった。結果：
PANA 各投与群では実験期間中のわずかな体重増加の抑制がみられた
以外は光顕、電顕的にも著明な変化は認められなかった。APS 投与
群では実験期間中、体重の減少、貧血、下痢、糞便中の潜血反応陽性
化が著明で、800 mg/Kg 投与群の全例が死亡し、400 mg/Kg 投与群では 1
例が死亡した。肉眼的検索では盲腸部に限局して広汎な潰瘍形成、壁
肥厚、点状出血がみられ、組織学的検索では潰瘍、浮腫、肉芽形成、
腸上皮の再生性過形成が認められた。PANA 及び APS は共に Cr にみら
れた盲腸粘膜固有層内に集簇した macrophage に物質が取り込まれる像
は認められなかった。結語：PANA は家兎消化管に対して Cr、APS
等にみられた障害は全く観察されなかった。APS では家兎盲腸部に
限局して著しい潰瘍性大腸炎が発生したが、この成立には Cr の場合に
みられた macrophage と物質取り込みとの関連は認められなかった。

クロロキン中毒の病理学的変化について

1-12

京都府立医大・病理

○田中順一，米沢 猛

クロロキン (chloroquine) の連続長期投与は神経組織および骨格筋に種々な障害を引き起こす。それらの病理組織学的変化はミオパチーや脂質蓄積症の発病機序を究明するための手掛かりを与える。

Wistar 系ラットにクロロキン燐酸塩 (Sigma 社製) 水溶液を胃チューブで連日経口投与した。A 群はクロロキン 200 mg/kg/日，B 群は 150 mg/kg/日，C 群は無処置の対照とした。

A 群では投与 5 週で筋力の低下が後肢に現われ，次第に前肢から咀嚼筋へと拡がり，飼料の摂取が困難になる。後肢筋の筋電図は自発電位の低下として記録され，著しく障害される筋肉は主として赤筋線維から成るヒラメ筋や咬筋であり，筋線維の顆粒・空胞変性，横紋の消失，筋形質の均質化，核の中心移動などが観察され，壊死に陥った筋線維間には単核細胞の浸潤や貪喰像が出現した。酵素組織化学的検索ではコハク酸脱水素酵素の活性が低下することから I 型線維が選択的におかされる。

一方，B 群では筋力の低下は殆んど認められずに経過するが，さらに投与を続けると 6 か月頃から動作が緩慢になり腹部が膨隆する。肝および脾は腫大し，細網内皮細胞に脂質の蓄積を認めた。神経系でも三叉神経や頸部神経節の細胞が風船様に腫脹し，胞体は細顆粒物質で満たされる。蓄積物質は組織化学的に複合糖脂質の性質を示し，酸性ホスファターゼ活性が陽性であった。このことはリソゾームの障害により脂質の蓄積がもたらされたことを示唆する。

アカゲザルへの静脈内13週間反復投与による

1-13

ニコチンの亜急性毒性

○服部治子，田中寿子，[※] 渡辺満利，野村岳之，
柳田知司（実中研・前臨床医研，[※] 慈恵医大病理）

アカゲザルを用い長期喫煙の影響の病理学的検索を進める上の対照として，ニコチンの亜急性毒性を明らかにするため，アカゲザルが耐え得る高用量のニコチンを静脈内に頻回投与した。サルはオス6頭を用い，うち2頭を生理食塩水投与の対照群，4頭を投与群とした。サルは金属性のハーネスおよびアームにより個別ケージに係留し，頸静脈内に挿入した留置カテーテルを介して自動注入装置により1時間ごとに200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のニコチンを午前9時より1日12回(2.4 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$)13週間反復注入した。ニコチンは生理食塩水を用いた0.08%溶液とし，対照群には同一条件で同容量の生理食塩水を投与した。その結果，投与期間中のサルの一般症状，血液，血清生化学検査値にはニコチンの影響とみなされる変化は認められなかった。組織学的には，ニコチン投与群および対照群いずれにも肺動脈枝の血栓形成が認められたが，肺以外の臓器の小動脈には変化がなかった。このことから血栓形成は頸静脈内に留置したカテーテルの影響と考えられた。また肺の電顕による観察の結果，ヒトでの喫煙による変化として報告されている血管内皮細胞の腫脹やマクロファージにおけるライソゾームの著しい増加などは，これらのサルでは認められなかった。心冠状動脈，心筋，肺実質，気管等にも特記すべき変化は認められなかった。これにより，最大耐量に近い用量のニコチンをサルの静脈内に13週間投与した範囲では，ニコチンの亜急性毒性はきわめて低いことがわかった。

免疫抑制剤 Bredinin と Imuran の

1-14

比較毒性試験 (特に肝毒性について)

東洋醸造株式会社 研究所

○守野豊彦, 矢野謙次, 原 利己, 松本一彦, 辻野正俊, 早野和夫

〔目的〕弊社で新しく開発されたBredinin (Br.)はImuran (Im.)に比し免疫抑制作用において同程度あるいは若干優れた効果を持つており、一方、Im.は臨床および動物実験において強い肝毒性を示すことが知られている¹⁾。今回、Beagle犬によるIm.とBr.の比較毒性試験を、血液および血清酵素変動を中心に行ない若干の知見が得られたので報告する。〔方法〕Beagle成犬、体重6.4~9.3kg、♂20頭♀4頭の生後、7~9ヶ月令を使用し、投与量は薬効量よりBr. 10, 20mg/kg/日, Im. 5, 10mg/kg/日の各2段階、および対照群の計5段階とし、各群4頭を用い、連続9週間経口投与を行なった。週2回の採血を行ない、血液検査はRBC, WBC, Ht, Hemogram, 血清生化学検査はGOT, GPT, ALP, ChE, LDH, LAPの他T・Gro, T・Protein, Alb, Glucose, BUN, TGの項目と、病理組織学的検索を行なった。〔結果と考察〕Im. 5, 10mg/kg 群の高度に白血球減少を認めた犬において著しい口内炎が見られ、5mg/kg 群の1例、10mg/kg 群では3例が途中死亡した。Br. では死亡例はなく変化は見られなかつた。Br. の10, 20mg/kg 群, Im. の5, 10mg/kg 群にRBC, Htに軽度の減少が見られ、WBCではIm. 5, 10mg/kg 群で投与10日目頃より著明な減少が見られたが、Br. では変化はなかつた。GOT, GPT, ALPについてはIm. 10mg/kg 群の投与7日目よりGPT, ALPはGOTに先行し著明な上昇が見られ、5mg/kg 群においても投与35日後より次第に上昇が見られた。その他、LDH, ChEにおいてもIm.は肝障害を疑わせる所見が見られたがBr.ではその様な変化は見られなかつた。肝に対する病理組織学的検索ではIm. 5mg/kg 群では核の変性、壊死および肝細胞索の配列の乱れ、細胞質の萎縮が見られた。10mg/kg 群では5mg/kg の変化に加え中心性の脂肪滴変性と核のヘマトキシリン好染物質の増加が見られた。しかしこの様な変化はBr.には見られなかつたが、20mg/kg 群に軽度の細胞質の粗鬆化が認められた。以上の結果よりBr.はIm.と異なり、肝毒性はないと思われる。文献) TE Starzl, et al. Surgery. 58:131, 1965.

高張アミノ酸輸液の毒性に関する考察

1-15

小佐妻恒夫, 島津 肇, 林 俊文, 武田京一

(森下製薬・薬理研)

アミノ酸輸液のラットにおける急性毒性では、その致死量は静脈内注入の速度と一つの相関があり、最小致死量の得られる注入速度の存在すること、各輸液の晶質浸透圧の増加に従つてLD₅₀値は小さくなることが、福田らによつて報告されている。今回は亜急性毒性について報告する。

使用した輸液は浸透圧 630 m Osm/l から 1260 m Osm/l のアミノ酸輸液 3種と厚生省指定のアミノ酸組成をもつ対照輸液である。

投与期間中は飲水量の増加、摂餌量の減少、体重増加の抑制がみられ、高投与群では顔面浮腫や呼吸促迫がみられた。死亡例では肺のうつ血と水腫、肝細胞の水腫変性、腎のボーマン氏のうの拡張がみられた。これらの所見は各輸液に共通した所見で、輸液のアミノ酸組成による差は見い出せず、むしろ晶質浸透圧の影響の大きいことが推察された。また、死亡例の所見は急性毒性の所見と一致したが、生存例にはこのような変化はなかつた。

以上の結果を考察し、アミノ酸輸液の毒性試験について考察する

T D I の生体作用に関する動物実験的研究

1-16

○石津 澄子 安田 和正 野沢 五朗
(東京女子医大 第二衛生)

Polyurethane Foam Plastic 製造中に発生するToluene-2,4-diisocyanate (T D I) は暴露作業者にぜん息様症状を起させることから、感作性作用がある化学物質として、よく知られている。演者らはT D I の特異な生体作用を動物実験的に確認するため、皮膚感作性試験を中心に検索したので報告する。

(実験方法) 動物はBALB/C雄性マウスを用い、まず5%T D I、オリーブ油液を抜毛した背部皮膚に1日1回5日間連続塗布した。塗布終了4日後に両耳の厚さをdial thickness gaugeで測定し、これを前値とした。対照群にはオリーブ油のみを塗布し、同様に両耳の厚さを測定した。次に1%T D I、オリーブ油液を、対照群をも含め両耳の表裏に塗布し、48時間後に再び両耳の厚さを測定して比較した。測定後直ちに動物をと殺剖検し、胸腺、脾臓、肝臓など各臓器の重量を測定後、病理組織学的に検索した。

(結果) 実験群の耳は顕著に発赤、腫脹し、厚さは前値の2倍以上となり、病理組織学的には高度の浮腫と血管拡張、好酸球を主とする多型核白血球の浸潤という変化を示した。なお、胸腺重量は対照群に比し、著減していたが、病理組織所見は全般的なリンパ球の減少が主であった。逆に脾臓重量は増加し、病理組織学的には髄外造血の亢進がみられた。

Alloxydim-sodium (ADS)の毒性学的研究(第4報)

1-17

ADSの亜急性毒性について

福田芳郎(順天堂大・医), 虫巣良義彦(奈良大), 西部忠幸, 貫井孝士
○高折均, 後藤和則, 今井修, 佐々木高義, 星野良為(日曹・生科研)

Alloxydim-sodium (ADS) (化学名: Sodium salt of 2-(1-allyloxyamino-butylidene)-5,5-dimethyl-4-methoxycarbonylcyclohexane-1,3-dione) は, 日本曹達(株)が開発した新除草剤である。今回, ADSの安全性および標的臓器を明らかにするために, ラットおよびイヌに対する亜急性毒性試験を行なったので, その成績を報告する。

ラットにおける方法と成績: 240匹のSLC:Wistar系ラット(6週令)を6群に分け, 3ヶ月間ADSを含む飼料(0.30, 100, 300, 900, 2700 ppm)を食べさせた。臨床検査の結果, 全群に異常は認められなかった。病理学的観察においては, 肝重量の増加, 小葉中心性肝細胞の腫脹(PAS陽性)および脂肪変性が, 900ppm投与群以上に見られた。

イヌにおける方法と成績: 40匹の日本EDM産ビーグル犬(7ヶ月令)を4群に分け, 3ヶ月間(週6日)ADS(0.50, 100, 200mg/kgBW)を強制経口投与した。その結果, 臨床検査では, 血清アルブミン減少, 血清ALP活性値の上昇, BSP色素排泄遅延が高投与群で認められた。病理学的観察においては, ラットと同じ所見に加え, 光顕的に胆汁停滞が見られ, また電顕的にはグリコーゲン蓄積が認められた。これらの変化は100mg/kg以上の投与群にみられた。

まとめ: ADSの標的臓器は, ラット, イヌ共に肝臓であり, その変化は肝細胞の腫脹が主体であった。両種の比較では, イヌにおいてのみ胆汁停滞が認められ, この変化は臨床検査の成績からも示唆された。以上の結果より, ADSの最大無作用量は, ラットで300ppm, イヌで50mg/kgと考えられ, 従ってADSは安全性の高い農薬であると推察される。

マウスに対する polychloronaphthalene の毒性

1-18

上野芳夫¹⁾, 伊藤照夫²⁾, 大久保薫²⁾, 浅野菊枝³⁾, 上野郁子⁴⁾

¹⁾ 東理大・薬 ²⁾ 埼玉医大・病理 ³⁾ 三島市医師会臨床分科センター ⁴⁾ 東大医科研が併員

〔目的・方法〕 polychloronaphthalene (PCN) のマウスに対する急性及び6ヶ月の亜急性毒性試験を行なった。動物はddyS系雌雄マウスを用い、急性毒性では強制経口投与、亜急性では0.5, 0.2, 0.1, 0.01, 0.001 及び0.0001%の割合で飼料に添加した。6ヶ月後に臓器重量、血液・生化学的検査及び病理学的検索を行なった。

〔結果〕急性毒性：PCNは2³/kg迄の1回投与、0.1³/kgの7日間投与では致死毒性を示さず、1%添加飼料投与では16日迄に全例が死亡し、肝肥大、肝細胞壊死、肝薬物代謝酵素の著しい増加を認めた。亜急性毒性：PCNの亜急性時の致死毒性は強く、特に0.1%以上の群では4週内に全例が死亡した。PCN投与の平均生存日数は0.5%群雄9日、雌16日、0.2%群雄22日、雌30日、0.1%群雄24日、雌76日であり、雄の方が幾分感受性が高い。体重は0.01%以上で低下ないし増加抑制が見られ、低用量群では促進傾向を認めた。臓器重量では肝・腎重量の増加以外著明な変化はなく、血液・生化学検査値にも著変は認められなかった。病理学的検索では諸種の臓器に幅広い障害が認められた。肝は中心性肝細胞変性が著しく、早期死亡例で既に単細胞壊死、線維化、小型肝細胞の増殖を認めた。心は血栓性心内膜炎が多発し、リンパ組織は退行性変化が著明で胸腺皮髄質逆転が認められた。精巣は巨細胞を形成するものが多く、円形細胞肉腫の発生をみた。脳は軟化巣を形成し、胃・腎にも障害が認められた。

〔考察〕PCNのマウスに対する急性毒性は比較的弱い、亜急性では早期に低用量で諸臓器に幅広い障害をもたらす事から、PCNの毒作用はまわめて強いと思われる。

0.25 (27-31)

2,4-Dinitrophenol (DNP) のウズラに対する

1-19

白内障誘発効果

高橋和明、○齋藤 徹、白須泰彦 (残留農薬研)

2,4-Dinitrophenol (DNP) は、1930年代に抗肥満剤として売られ、本薬物を数ヶ月間摂取した後で、200人近い人々に非可逆的な白内障が発生した。一方、実験動物に対するDNPの白内障誘発効果について見ると、Robbinsがヒヨコや幼若アヒルにおいて発症することを1944年に報告し、その後、1946年にBettmanが先天性肥満マウスで、1967年にOginoらがモルモットで、1969年にGehringらがウサギでそれぞれ発症することを認めている。著者らは、今回、ウズラに対する効果について検討した結果、幼若ウズラにおいて白内障の発生を認めたので報告する。

1, 2, 3, 5, 10週令の雄および2週令の雌ウズラにDNPを単一経口投与した結果、1, 2, 3および5週令の動物において白内障の発生が認められた。そのED₅₀ (95% Confidence limits) は1週令雄が25 (21 ~ 29) mg/kg、2週令雄が25 (21 ~ 30) mg/kg、3週令雄が32 (28 ~ 36) mg/kgであった。^{25 (27-31)} 水晶体の混濁は投与後1 ~ 2時間で発生し、1 ~ 9時間持続した後、消失した。^{cloudy lens} 混濁の持続時間の長い個体が高用量群において見られた。10週令の動物では、21 ~ 52 mg/kg (52 mg/kg : LD₁₀₀) 投与した結果、白内障の発生は認められなかった。

以上の如く、幼若ウズラは、ヒヨコや幼若アヒルと同様DNP処置後、急性に可逆性の白内障が発症することから、白内障誘発モデルの一つとして有用であり、かつ、前記のヒヨコ、幼若アヒル、モルモット、ウサギ等の動物種に比較し、はるかに小型で、取扱が容易である。

メタジニトロベンゼンの経皮吸収に関する研究

1-20

東北大・医・衛生

○石原信夫 池田正之

我々はすでに、保護手袋を用い、メタジニトロベンゼン (*m*-DNB) を含む溶液 (溶液A) を取扱う作業員に起きたメトヘモグロビン (*met*-Hb) 血症が、*m*-DNBの経皮吸収によることを報告した。その後、当該事業所及び系列会社においては、溶液Aとは組成が異なるが *m*-DNB濃度が同じ溶液 (溶液B) を長年にわたり溶液Aと同じ方法で、何らの障害もなく使用していることが判明した。そこで、これらの溶液Bを取扱う作業員について検討したが、*met*-Hbは検出されず、尿中代謝物排出量は対照者との間に有意差が認められなかったが、溶液B中の *m*-DNBは保護手袋を容易に透過することがわかった。つまり溶液B中の *m*-DNBは経皮吸収を受けないことが示唆された。そこで、モルモットの背部を約 4×4 cmに剪毛 (24時間前)、溶液A及びBを塗布、4時間後に *met*-Hb濃度を測定したところ、対照群と比べ、溶液Aの場合には有意の *met*-Hb濃度の増加が認められ、溶液Bの場合には有意差が認められず、したがって溶液B中の *m*-DNBは経皮吸収されないことが判明した。溶液Aは溶質として *m*-DNBの外にアジピン酸-NH₄ (NH₄-AD) および水を含むので、溶液Aより *m*-DNB以外の溶質を順次除いた系をつくりモルモットを用い実験したところ、いずれの系においても明らかな *m*-DNB形成が認められた。一方、溶液Bは溶質としては *m*-DNBの外にセバシン酸-NH₄ (NH₄-SB) を含むのみであり、溶媒は溶液Aとほぼ同じである。

以上の事実より、溶液Aと溶液Bの毒性の差を生じせしめる原因としては、共存する溶質の効果 (例えば NH₄-SB による経皮吸収抑制)、溶媒少量成分による修飾などが考えられ、検討を進めている。

四塩化炭素吸入毒性Ⅱ

1-21

暴露時間と濃度の関係について。

○ 上 渡 信 男, 三 好 幸 二, 小 林 紀 子,

伊 吉 洋, 伊 沢 政 雄 (野村総合研究所)

吸入毒性における投与条件の設定項目として、暴露濃度のみから他経路にみられるような時間の factor が加わった。これら暴露濃度と暴露時間に生物反応、すなわち毒性の factor がどのような関係にあるかを検討した。

本研究では今までの検討としてまた四塩化炭素とエチルアルコールとの、SD系ラットを用いて暴露濃度 1000 ~ 8000 ppm, 暴露時間は 15分 ~ 6 時間に施すの組み合わせの中で下で投与を行った。

その結果、発現した毒性指標として、血清生化学的毒性を中心として、肝の病理組織学的変化の2項目について観察し、暴露濃度及び投与時間との関連性を議論した。

ホルムアルデヒド吸入による循環・呼吸系抑制

1-22 効果の機序について

○堀口佳哉・小儀国太郎・谷 孝之・池田陽男
(神奈川県)

(目的) 我々は無麻酔家兎におけるアクロレイン吸入によって惹起される循環・呼吸系の抑制は主として鼻粘膜等からの求心性神経を介する反射に由来する成績を得た。今回ホルムアルデヒドについて同様の実験を行ったので報告する。

(方法) 無麻酔家兎の頸部気管に2本のT字管を挿入し、曝露装置からの検体ガスあるいは空気を肺および鼻腔の2方向に別々に送ることを可能にした標本を作製し、検体ガスの曝露を行いながら、心拍数(HR)、動脈圧(BP)、脈圧(PP)、呼吸運動(RM)を測定記録した。

(結果) 1) 5 ppm のホルムアルデヒド (HCHO) を頸部気管から肺と鼻腔の両方向に灌流すると、数分後にはHRならびにRMが著明に減少する。そこで鼻腔方向のみHCHOに代って空気を送るとHR・RMは回復に向った。2) 鼻腔方向へ空気を送り、肺へのみHCHOを送ってもほとんど影響を認めないが、鼻腔方向への灌流を開始すると、HR・RMの著明な抑制が発現した。3) この抑制は、ペントバルビタール (20 mg / Kg i.v.) により消失した。4) アクロレインによるHR・RMの抑制はアトロピン (2 mg / Kg i.v.) により遮断されたのに対し、HCHOによる抑制は α 型抗アドレナリン薬フェントラミンによつて著明に抑制された。

以上の成績からアクロレイン、ホルムアルデヒド等のアルデヒド類の吸入による循環・呼吸系の抑制は、主として鼻粘膜等からの求心性神経を介する反射に由来するものであるが、両者は反射系を異にすることが示唆された。

クロム鉱さい粉じんのラットによる1月間持続

吸入実験

○坂本義光 神谷信行 平賀興吾

都立衛生研究所毒性部

クロム鉱さい粉じんの経気道摂取による生体への影響を觀察するため、粉じん吸入実験装置を試作し、その概要をオ4回毒作用研究会で報告した。今回この装置を使用して、ラットによる1月間持続(昼夜連続)吸入実験を行なった。

ラットは5週令, Wistar系雄を用い、1群20匹とし、鉱さい粉じん(Cr含量3%, 平均粒径 3μ) $21\text{mg}/\text{m}^3$ および $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ 、比較対照のJIS試験用粉体11種(関東ローム, 平均粒径 2μ) $21\text{mg}/\text{m}^3$ の曝露群と曝露用空気のみの方照群の4群を設定し、実験は28日間行なった。

鉱さい $20\text{mg}/\text{m}^3$ では対照群に比べ、肺の重量の有意な増加を示し、大食細胞の腫大および崩壊、肺胞上皮細胞の腫張、さらに肺胞壁の崩壊が認められた。血液学的検査ではHct, HCVの有意な増加を示した。鉱さい $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ では肺の重量増加および組織変化はみられなかった。JIS粉体では有意な肺重量の増加を示したが、程度は鉱さいに比べ小さかった。また肺の組織変化は肺胞上皮細胞の腫張が主で、鉱さいにみられた大食細胞の腫大、崩壊は軽度で、肺胞壁の崩壊像もみられなかった。鉱さい $21\text{mg}/\text{m}^3$ でみられた肺胞壁の損傷を伴う変化は、別に行なった同濃度の1週間持続実験でもすでに認められ、粉じんの物理的な作用に加え、鉱さい成分による直接的な作用が示唆された。各群において吸入された粉じんは、多くが大食細胞に貪食されていたが、鉱さい $21\text{mg}/\text{m}^3$ では、その崩壊によって放出されたものも多かった。その他鉱さいおよびJIS粉体 $21\text{mg}/\text{m}^3$ では、肺内リンパ組織、胸腔リンパ節中にも存在が認められた。鼻腔、気管・気管支および肺以外の諸器官には、特に変化は認められなかった。

ICR マウスにおける Hexachlorobenzene と Polychlorinated
1-24 terphenyl の発癌性について

○ 小木曾正、柴田道子、中西敬介、伊東信行
(名市大、一病)

Benzene hexachloride (BHC) と Polychlorinated biphenyls (PCB) が、マウスの肝臓に対して発癌性のあることが報告されている。我々は、BHC に化学構造が類似している Hexachlorobenzene (HCB)、PCB に類似した Polychlorinated terphenyl (PCT) の発癌性を検索した。

実験は、7 週令、ICR 雄マウスを用い、HCB 及び PCT は粉末飼料に混じ、1 群は、10ppm HCB 単独投与、2 群は、50ppm HCB 単独投与、3 群は、250ppm PCT 単独投与、4 群は、500ppm PCT 単独投与、5 群は、50ppm HCB と 250ppm PCT 同時投与、6 群は無処置で、24 週間投与し、実験開始後、40 週まで観察し、屠殺剖検し、病理組織学的に検索した。

その結果、1 群、2 群の HCB 単独投与群には、小葉中心性に肝細胞の肥大がみられたのみで、腫瘍性変化はなく、PCT 投与群に肝癌の発生をみた。前癌病変としての肝結節性肥大が、3 群に 28 匹中 3 例 (10.7%)、4 群に 21 匹中 6 例 (28.6%)、5 群に 26 匹中 23 例 (88.5%) 認められた。肝細胞癌は、3 群にはみられず、4 群に 21 匹中 3 例 (14.1%)、5 群に 26 匹中 8 例 (30.8%) に認められた。1 群から 5 群までの肝臓以外の臓器、及び、6 群の無処置群には、何ら変化は認められなかった。

以上より、PCT はマウスの肝癌に対し発癌性を示すことが明かとなった。さらに、PCT と HCB の同時投与により、肝結節性肥大、及び、肝細胞癌の発生率は増加しており、PCT 肝癌発生過程に対し、HCB は促進効果を有することが示され、PCT 肝癌発生作用の本態について示唆ある結果が得られたと考える。

脾臓と副腎 Corticoidogenesis に対する移植癌の毒作用。

1-25

○ 増淵美子, 島澄夫, 平井正直 (聖マリアンナ医大・薬理学)
関山重孝 (慈恵医大・法医学)

目的： 実験的移植癌 (Fibrous sarcoma P-690721) の研究で、癌発育にともなう脾の有意な増大と異常副腎 corticoidogenesis (corticosterone-B-の増加と 18-OH-DOC の減少) を報告して来た。又脾摘出ラットに癌移植で、癌発育は有意に促進された。一方、脾と癌の各細胞の定量的同時移植で癌の発育が担癌動物由来の脾細胞 (感作脾) で有意に抑制され、比の時副腎 B は増加、18-OH-DOC は減少を示した。今回、癌細胞の副腎コルチコイド産生への作用と脾細胞の役割について検討を加えた。

方法： 恒温、湿度飼育 Donryu ラット雄の副腎を Saffran 法に準じ incubation した。腫瘍細胞、脾細胞を夫々定量的に添加し、B と 18-OH-DOC を分離・純化・定量した。

結果： 副腎中 B は、正常副腎に癌添加で変化なく、脾が加ると産生が有意増加した。B の medium / 副腎・比は脾が加ると低下した。副腎中 18-OH-DOC は、癌に正常脾の添加で増加し、一方、その medium / 副腎・比は、感作脾添加で有意な増加を示した。次に medium 中 + 副腎中の steroids は、18-OH-DOC は正常脾細胞添加で有意に増加し、B では群間有意差はなかった。

考察と結語： In vitro で癌の存在下、脾は副腎 B の産生を増加し、medium 中へ 18-OH-DOC の放出を増加した。感作脾が、癌の存在下に起った 18-OH-DOC の放出を増加した。正常脾は、癌の存在下、副腎 B, 18-OH-DOC の有意増加を起した。以上から、担癌生体の corticoidogenesis には、癌細胞からの下垂体刺激因子の存在が推定されると同時に、脾が corticoids 産生放出に関与している事が考えられた。

サイアベンダゾールの変異原性試験

1-26

白須泰彦、○寺本昭二、森谷正明、手塚英夫
(残留農薬研)

殺菌剤、サイアベンダゾール(2-(4-thiazolyl)benzimidazole)の突然変異誘起性を検討するために、以下の試験を行った。

I. 微生物を用いた試験: *B. subtilis* H-17とM-45を用いたRec-assayでは、disk上に2~1000 μg のサイアベンダゾールを滴下したが両株に生育阻止はみられなかった。また、*E. coli* WP2 hcr株と*S. typhimurium* TA系5株を用いた復帰変異試験並びにラットの肝ホモジネートを用いた代謝活性化試験でも復帰変異菌数の増加はみられなかった。宿主経路試験では7週令のJCL-ICR雄マウスにサイアベンダゾール300または1000 mg/kgを24時間間隔で5回経口投与した。5回目の投与直後に*S. typhimurium* G 46株を腹腔内に注入したが、復帰変異菌数の増加は認められなかった。

II. 細胞遺伝学的試験: *in vitro*の試験ではヒト胎児上皮培養細胞を2~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のサイアベンダゾールで3または24時間処理した。*in vivo*の試験では8週令のSLC-Wistar雄ラットにサイアベンダゾール100~1000 mg/kgを1回経口投与または30~300 mg/kg/日を5回連続投与し、24または6時間後に骨髓細胞を採取した。いずれの試験にも染色体の構造的異常の増加は観察されなかった。

III. 優性致死試験: 10週令のCRJ-C3H雄マウスにサイアベンダゾールを200または600 mg/kg/日5日間連続経口投与した。投与後各々の雄に同系の未処置雌を毎週2匹の割合で6週間にわたって交配した。試験期間中優性致死誘発率の有意な上昇は認められなかった。

以上の結果から本実験条件下においてサイアベンダゾールの突然変異誘起性は陰性であると考えられる。

金属化合物の変異原性

1-27

○兼松宣武 (岐阜歯科大学)

賢田恒夫 (国立遺伝学研究所)

128種類の金属化合物について、DNAに対する障害に及ぼす可能性、およびその突然変異原性について検討した。枯草菌を用いた Rec-assay 法では、セシウム化合物 ($CsCl$, $CsNO_3$, Cs_2SO_4 , Cs_2CO_3), 4塩化ゲルマニウム ($GeCl_4$), オスニウム酸 (OsO_4), 白金化合物 ($PtCl_4$, H_2PtCl_6 , $(NH_4)_2PtCl_6$), テルル化合物 ($Na_2H_4TeO_6$, Na_2TeO_3), ロジウム化合物 ($RhCl_3$, $Rh(NO_3)_3$), バナジウム化合物 (NH_4VO_3 , V_2O_5 , $VOCl_2$) が、いずれも陽性を示し、DNA に障害を誘発していることが示唆された。なお、アンチモン、ヒ素、ベリリウム、コバルト、セレン、水銀、6価のクロムなども、同様の所見がえられた。また、大腸菌およびサルモネラ菌をもちいた検索で、ロジウム ($RhCl_3$), テルル ($Na_2H_4TeO_6$, Na_2TeO_3), 白金 ($PtCl_4$, $(NH_4)_2PtCl_6$) などの金属化合物にそれぞれ突然変異原性がみられた。

これらの結果と、金属の発癌性・遺伝毒性との関連を論じる。

イヌおよびマウスの精巣におよぼすトリメラルセン
1-28 の毒性について

○茂木 国男 佐久間 是行 信永 利馬
石田 名香雄 (東北大・医：動物実験施設)

近年、本邦におけるイヌのフィラリア成虫駆除剤として、Trimelarsen (売薬名：Trimelarsan (仏)ローヌ・プーラン社)が広く用いられている。本剤はヒ素系化合物 (Potassium pentyl thiarsaphenylmelamine)で、その毒性については数多く検討されているが、その多くは血液性状、肝機能等の変化についてであり、いずれも著変がないといわれている。

演者らは偶然ではあったが、本剤が精巣細胞に対して影響をおよぼすことを知った。しかるに、生殖器系に対する本剤の作用に関する報告は、きわめて少なく、本剤の臨床応用上若干の不安をともなってきた。そこでイヌおよびマウスを用い、使用書に従って常用量とその倍量投与を行ない、投与後経日的に精巣を摘出し組織学的な検討を加えた結果、その一部の個体に、実質細胞の脱落が起こり、約3週間はその影響を受けるという結果を得た。また、投与方法によっては、その程度に若干の差異があるように思えた。

(実験材料と方法)

イヌ：雑種 2～3才

マウス：IVCE系マウス 60～105日令

これらの実験動物にTrimelarsenを0.1%溶液で常用量 (5 mg/kg)および2倍量 (10 mg/kg)をそれぞれ2日連用とし、イヌには筋注および静注、マウスには皮下注および静注投与した。

1週間隔で4週までをそれぞれ安楽死させ、精巣および精巣上体を摘出し、中性ホルマリン固定してH・E染色を施し鏡検した。

Alloxydim-sodium (ADS)の毒性学的研究(第3報)

1-29

ADSの催奇形性について

山本博昭(奈良医大)

貫井秀土, 後藤和則, 西部忠幸(日曹・生科研)

Alloxydim-sodium (ADS)は、化学名を Sodium salt of 2-(1-allyloxyamino-butylidene)-5,5-dimethyl-methoxycarbonylcyclohexane-1,3-dione と称し、日本曹達(株)で開発した新除草剤である。

今回、ADSの安全性評価の一環として、ラットに対する催奇形性試験を行ったので報告する。

〔実験方法〕 実験には、17週令のSLC:Wistar系ラットを使用した。精子の確認の日を妊娠0日として、妊娠7~17日の11日間本剤を強制経口投与した。投与群はLD₅₀値(♀; 2,260mg/kg)の約1/10である225mg/kgを高用量として、中用量群(150mg/kg)、低用量群(100mg/kg)及び対照群(0mg/kg; pH 9.6 NaOH水溶液)の計4群を設けた。胎仔は妊娠21日に取り出し、胎仔毒性学的検討を行った。各群の妊娠動物数は21~24匹(検索胎仔数: 各群183~241匹)であった。

〔成績〕 母ラットにおける変化は、肝重量の増加が225mg/kg群に認められたのみであった。また胎仔の骨格観察では、頸肋(100, 150mg/kg群; 各4例, 225mg/kg群; 17例), 腰肋(0mg/kg群; 2例, 100mg/kg群; 3例, 150, 225mg/kg群; 各8例), 椎体分離(100mg/kg群; 2例, 150mg/kg群; 3例, 225mg/kg群; 8例)などの骨格変異や、化骨進行度の遅延(150, 225mg/kg群)が認められた。しかし、骨格奇形の所見は各群において全く認められなかった。骨格変異についてもその発生頻度はいずれも自然発生率との間に統計学的に有意な差は認められなかった。また、外表の観察でも全く異常を示す所見は認められなかった。

〔結論〕 以上の成績より、本剤に催奇形性はないと考えられた。

マウスの新生仔期に投与された monosodium glutamate の
1-30 生殖機能に及ぼす影響

○ 早坂 郁夫， 中塚 敏夫， 藤井 孝朗

日本メルク萬有株式会社 生物化学研究所

Monosodium glutamate (MSG) をいろいろな哺乳動物の新生仔期に投与することにより，視床下部の弓状核の傷害，それに伴う下垂体中の成長ホルモン，黄体形成ホルモンおよびプロラクチン量の減少あるいは乳腺の不可逆的变化が起こることが報告されている。これらに関する研究の盛んなことは多数の報告例からもうかがうことができるが，生殖機能に及ぼす影響を調べた報告は少ない。そこで本実験においてはマウスの新生仔期に MSG を投与し成熟後の生殖機能について調べた。

JOL:IOR 雌雄マウスに MSG の 2.5mg/g 体重を生後 5 日から 10 日にわたって毎日 1 回皮下注射し，その後の成長発達を成熟期まで観察するとともに，さらに雌動物については無処置雄動物と交配させ妊娠，分娩および哺育への影響について調べた。これらの対照として無処置雌雄動物を使用した。

その結果 MSG 処置動物は週令が進むに従って肥満を呈し，14 週令の処置雄動物においては肥満の指標である Lee Index ($\sqrt[3]{\text{体重}}/\text{頭殿長}$) が有意に大きかった。処置雌動物は交配開始 4 日以内に全例交尾したが約 40% が妊娠しなかつた (対照群での妊娠率は 100% であつた)。妊娠した処置雌動物において妊娠期間の延長および分娩後 1 および 2 週に体重増加抑制が認められた。さらに娩出された産仔においては処置群で 1 腹仔数の減少が認められたが，分娩率 (分娩仔数 / 着床痕数 $\times 100$) は対照群と同等の値を示した。また処置群での産仔の体重が生下時より離乳時まで減少した。離乳率については処置群と対照群との間に有意の差は認められなかつた。

新生仔期グルタミン酸ソーダ大量投与による

1-31

マウスの発育遅延

○井上 稔 村上 氏廣

(愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所)

マウスの新生仔にグルタミン酸ソーダ (MSG) を大量投与すると視床下部の神経細胞が傷害される。それは脳下垂体の内分泌機能に影響をおよぼし、成長阻害、肥満、甲状腺機能減退、生殖機能不全などの諸症状をひきおこすことが知られている。今回は以上の機能障害と関連して、MSG が脳の発達におよぼす影響を小脳の細胞増殖動態の面から検討した。

JOL:OF #1 マウスの新生仔を1腹8匹以内に制限し、さらに1腹のうちをMSG投与群と対照群に分けた。MSG投与群にはPottsらの方法に準じて生後1日2.2mg/kgより10日4.2mg/kgまでの10日間MSGを連続皮下投与し、対照群にはこれと等モルの食塩で同様に処理したものと無処理のものをもちいた。その後、生後11日、14日、17日、20日に³H-チミジン₂を5 μ Ci/g皮下投与して2時間後に動物を殺し、小脳をとりだして固定、虫部の矢状断切片よりオートラジオグラムを作製し、虫部葉の外顆粒細胞の数、標識率を求め対照群と比較した。また一部の動物はそのまま成獣まで飼育して体重を比較した。

MSG投与群の体重は生後12日まで対照群と差がなかつたが、15日以後対照より軽くなつた。その後対照群で体重増加がほぼ止まる7-9週以後もMSG投与群では増加し続け著しい肥満を示した。小脳外顆粒細胞の数、標識率とも12-17日齢で明瞭な差はみとめられなかつたが、20日齢まで残存する外顆粒細胞の数と標識率がMSG投与群でわずかに多い例があつた。しかしこの差は同腹仔間で比較した時みとめられるのみで個体差の範囲を越えるほど大きなものではなかつた。

繁殖試験における学習試験法の簡易化

1-32

高垣 禎三, 稲垣 幹男, 竹内 祐幸 宇高 全二.

(日本Dシユ研, 毒性病理)

前回, 我々は新乗用経過程で必要とされる繁殖試験の一環として行う所仔の学習試験法として, 被験動物を軽度の飢餓状態に保つこととKFリ, Feed-seeking Response を指標としたT-maze法が可成りの精度を持った学習能を導くことを報告してきた¹⁾.

今回はより簡便な方法として, Avoidance Responseを指標とした水槽迷路試験について検索をすすめてきたので, その試験法と成績結果について報告する。

本法は水温の温度調節のみで, 既報¹⁾ T-maze試験と比較すると体重制限や維持なども必要とせず, 操作も容易で, 短期間に学習能が得られる。本法に用いた試験装置は模E型の水路と可動式の目標台からなる。所仔を中央の脚部踏ふり入ると, 泳いでGoal Boxより逃避する。

1) 訓練: 1日2回, 20試行で学習能をテストする。本試験: 30秒間隔で連続10回繰返した時, 8回以上, 5秒以内で目標台に到達したものを陽性動物とし, 連続3日間陽性を示した時のみ学習能ありと判定した。結果: 3週間以内でほぼ100%の学習能を示した。

2) 訓練: 1日1回, 10試行で5日間連続実施した場合, 本試験: 1週間後にも全く同じ条件下で学習能を検索する。結果: 平均80%以上の学習能を示した。

これらの結果は本水槽迷路試験法が所仔の学習能評価を裏すける方法であることを示す。この学習能試験法が所仔に適用されている。

1). Takagaki, et al, J. Tox. Sci, 2, 339, 1977.

ラット次世代の中樞神経機能および甲状腺に対する Ethylethioureaの影響

田内清憲、○前山由紀、五十嵐章之、川西広明、今道友則*
動物繁殖研究所、日獣畜大*

Ethylenthiourea(以下ETU)はラットの甲状腺機能を低下させる(Graham, 1973)他、催奇形性作用(Kehla, 1975)を示すことが知られている。前回、著者らはETUの飼料混入率500ppmでラット胎仔に中枢神経の障害を主徴とした奇形が多発したが、これらの奇形のみられない250ppmでも授乳期に水頭の形成がみられ、哺育仔死亡の主因であることを報告した。今回、著者らは前回と同様Wistar Imamichi rat(5週令、雌雄)に対しETU混入飼料(0、25、100、150、200ppm)を継続的に摂取させた条件下で10週令以降繁殖させ、次世代における影響について検索した。その結果、1)200ppmで外観的に水頭症を呈する乳仔が高頻度に発現し授乳期間中および離乳後早期に死亡した。一部の例では外観上異常はなかったが離乳時における脳重量では有意な減少がみられた。2)150、200ppmでは離乳時に甲状腺重量の顕著な増加がみられた。3)次にこれらETUの効果と投与時期との関連性を明らかにするため、胎仔の器管形成期(妊娠7~17日、交尾翌日:妊娠0日)に限ってETU混入飼料を摂取させ、継続投与群との比較を試みた。その結果、200ppmにおける水頭症発現頻度では両群に相異は認められなかった。しかし、甲状腺重量の増加については器管形成期投与群で全く観察されなかった。以上の結果より甲状腺重量の増加は胎生末期~授乳期におけるETU感作の結果と考えられるが、脳の形態的障害に関しては胎仔の器管形成期に作用したETUの遅発性効果と考え得る。また脳重量低下の明らかであった200ppmにおける中枢神経機能については明暗弁別学習でみる限り異常は認められなかった。

高フェニルアラニン血症環境下における胎児の脳脊髄 障害とその神経化学的研究

○平野修助, 金松知幸, 高木芳夫
東邦大学 医学部 第二生理学教室

高フェニルアラニン血症下で乳児期を経過すると、フェニルケトン尿症で見られるように精神萎弱となることが知られているが、フェニルケトン尿症の母親から生まれた子供では、フェニルアラニン(Phe)の代謝異常が存いものにもか、わらず精神萎弱となる例が屡々報告されている。このことは高Phe血症環境下にあった胎児では脳の脊髄が障害され後遺症として神経機能の障害を残す事を示唆する。

このような神経機能障害の発生機構を明らかにするため、Wistar系妊娠白鼠を高Phe食で飼育し、その仔鼠を授乳期にある正常の鼠に養育させ脳の脊髄過程に伴う変化を神経化学の面から追究した。

妊娠後半期の10日間に亘って高Phe血症にいた仔鼠は、正常例と比べ開眼の時期も遅れ脳重も相、低下し、特に脳外套部での重量低下は著しくDNA量の減少もみられた。主脳の脊髄過程に伴う脳内諸酵素活性の変化は、髄鞘の指標酵素である2'-3'-cyclic nucleotide 3'-phosphohydryase (CNase)の活性において正常例に比べ遅れを増大すること明らかとなった。

一方、明暗弁別オパラント学習を指標とし妊娠期の如何なる時期に高Phe血症であった場合に学習能力の遅滞が引き起こされるかを調べた。妊娠の後半10日間の高Phe血症の場合では明らかに遅れがみられ、妊娠前半期のうち後半の5日間でとやほり学習能力の遅滞を認めおり、妊娠中における高Phe血症と脳機能の脊髄障害とが密接に関連していることが明らかとなった。

○田丸政男, 松谷天星丸(保健衛生大・医・総医研・発達生理)

塚田裕三(慶大・医・生理)

ラット胎仔脳を、Methylazoxymethanol(MAM)又はCytosine arabinoside (ara-C)で経胎盤的に障害すると、出生後の仔動物に小頭症が出現する。これまで私共は、MAMの経胎盤的投与により胎仔脳を障害した場合、幼若神経細胞の崩壊に伴う胎仔脳内の急性変化として、DNA量の増加抑制及びLysosome 酵素(L.E.)-acid DNase (DNase)及び β -glucuronidase (β -glu.)-の活性上昇について既に本研究会で報告した。今回はMAMと作用機序の異なるara-CをWistar-Imamichi系の妊娠15日目のラットに、280 $\frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ を一回腹腔内投与し、胎仔脳内のDNA量及びL.E.活性の変動をMAM投与時の変化と比較した。胎仔大脳DNA量はara-C投与後24時間で対照の約 $\frac{1}{2}$ に減少し、24時間以後漸時増加を示したのに対し、MAM投与群では投与後8時間で対照の約 $\frac{1}{2}$ に減少し、4日間その増加が抑制された。又、湿重量当りのDNA量は、対照及びMAM投与群では発育に伴って減少を示すのに対して、ara-C投与群では発育に伴った減少が見られず横ばいを示し、MAM投与群とは異った変化を示した。胎仔脳のL.E.活性はara-C投与によりDNase活性上昇が投与後48時間目で、 β -glu.活性は72時間目で、最大値を示したが、MAM投与群のDNase活性は投与後8時間目で、 β -glu.は投与後48時間目で最大活性値を示し、何れも投与後120時間で対照値に戻った。L.E.活性の増加率と活性上昇の経過はMAMとara-Cとは多少差を示したが、ara-C投与による発育脳の障害時にもL.E.活性の上昇が確かめられた。ラット胎生期において発育脳が毒作用をうけた場合、脳内DNA量の減少とL.E.活性の上昇を示すことから、L.E.活性測定がラット胎仔脳における毒作用時の細胞崩壊の有無を知るための生化学的指標の一つになると考えられる。

腎ネフロン構成蛋白に及ぼす重金属の影響 (その2)

2-1

HgCl₂投与後の腎ネフロン糖蛋白の変化

遠藤 仁, 木村康志, 須藤純一, 中島智子

酒井文徳 (東大, 医学部 薬理学教室)

〔目的〕 昇汞投与後、尿中に或る時期に限って糖蛋白の排泄増加が認められる事は前回の当研究会で報告した。今回はそのorigin検索として単離ネフロン中の糖蛋白像を昇汞投与群と対照群に分けて分析し報告する。〔方法〕 Collagenase & ニュージージーラニド兔の腎動脈より注入後、microdissection法でネフロンを単離した。位相差顕微鏡下で、ネフロンを8部分に分けた。即ち、糸球体、近位尿細管 S₁ S₂ 及び S₃ (電顕による Muunsbach の分類)、太いヘンレ上行脚、遠位尿細管、集合管皮質部及び髄質部。これらを SDS で可溶化し一部は当教室で確立した Ultramicro Lowry による蛋白定量、残りを microgel 電気泳動後、PAS 染色により糖蛋白の同定を行った。なお昇汞は 2 mg/kg 腹腔内に投与した。

〔結果〕 対照群での腎ネフロン糖蛋白分布は兔の個体差が認められるが、多くは近位尿細管に存在する。次いで糸球体、遠位、ヘンレ、集合管の順で、分子量の非常に大きい 2~3 の糖蛋白は近位尿細管に特有であった。近位の S₁, S₂, S₃ の間での糖蛋白パターンも夫々異っていた。昇汞 2 mg/kg 腹腔内投与後 16~24 時間での腎ネフロン構成糖蛋白のうち、S₂ の部分で中程度の分子量 (現在分子量測定を行っているが) にもつ糖蛋白の低下が認められ、他のネフロン segments では著変がなかった。

〔考察〕 既に Oliver らや Biber らによつて nephrotoxic agents の腎ネフロン障害部位の形態学的、生理学的方法で報告されており、障害物質と障害部位の特異性が示唆されている。今回の我々の結果は昇汞の障害作用が近位 S₂ の部分に強いと推定される。

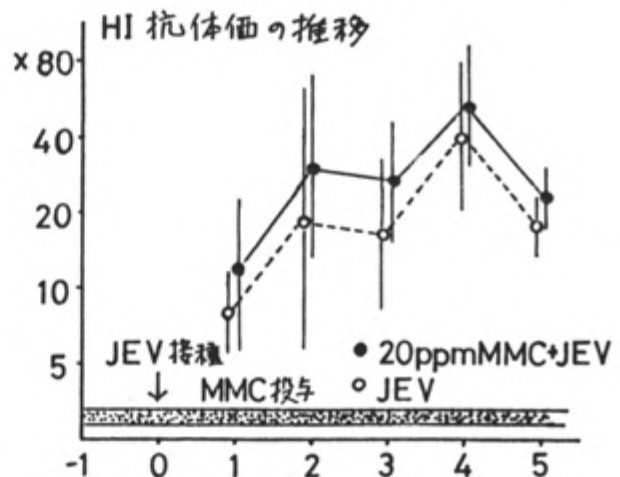
マウスの日本脳炎感受性に及ぼす 重金属の影響

小山 徹, 中村 泉, 瀬子義幸, 三浦 悌二
(帝京大. 医. 衛生)

重金属が動物の感染に対する感受性を変える可能性を考え、各種の重金属について検討を始めた。

今回は水銀について行い、ICR マウス(4-8週令)に各濃度の塩化メチル水銀を自由に飲ませ、1週間後に日本脳炎ウイルス(JEV) G-1株、 10^{36} smicLD₅₀/0.2ml を尾静脈内接種した。1週間毎に尾静脈から部分採血し、マイクロタイター法を用い、HI抗体価を求めた。JEV接種後、死亡したものについては蛍光抗体法で脳を観察、死亡が脳炎によるものか否かを観察した。20ppm投与の場合を下図に示す。Hg+JEV群のHI抗体価はJEVのみの群と比べて、少し高い傾向が認められるが有意な差ではなかった。死亡率では、Hg+JEV群とJEVのみの群とでは、有意な差は認められなかった。尚、マウスの体内水銀濃度は、Hg+JEV群と、Hgのみ投与した群とでは差は認められなかった。(例えば脳では、Hg+JEV群が27ppm、Hgのみの群が29.5ppm)しかし、脳炎接種後4週以降に死亡し、蛍光抗体法、その他の観察から、JEVではなく水銀による死亡と考えられるマウスを比較すると、Hg+JEV群の方が、Hgのみの群よりも低い体内Hg濃度を示した。

カドミウムについても、同様の検討を行、たので、報告する。



妊娠マウスへの微量の金属投与が仔の swimming test および water maze test に与える影響
 福島医大 紀生 星島啓一郎

著者らは数年来、微量な金属投与がマウスの生体に及ぼす影響について研究を行なっている。妊娠マウスに微量な 26種の金属を投与すると、得られた乳のみマウスにおける反射系、運動系の発達等、さらに6週令よりの学習にも変動を与えることを本研究会等で報告した。今回は swimming test, water maze test を行い、前回までの結果と比較し、微量な金属の生体反応をみるよりよい手段を行動的に確立しようとするものである。

8週令のCFW系マウスに妊娠中 Y: 9.0, V: 2.0, T1: 2.4 ng/mouse/day を夫々 11 回注射し、得られた仔マウスにつき実験を行った。swimming test は S. Schapiro ら (1970) の方法に基づいて、6日令から 23 日令までの雌雄 9 匹ずつ用いた。マウスを水面より体長の 5 倍の高さから 27°C の温水槽 (26.5 X 42.5 X 15.0 cm) 内に落とし nose position および front legs response を観察した。

water maze test は W.B. Essman (1961) の方法に基づき 18日令、及び 24 日令の雌雄各々 6 匹ずつについて行った。マウスを水面より 15cm の高から同様の温水槽に落とし、約 30cm はなれた 32 度の傾斜板上のゴールプレートに前脚をかけて登るまでの所要時間 (秒) を記録した。その後 15 分間温風下に放置後、同じ操作を繰返して、計 4 回行った。

今回は上記 3 種の金属についての結果を、前回までのものと比較し、報告する。

めん羊の血液中銅分布に及ぼすモリブデンと硫酸塩の影響

○石田直彦・吉川登志子・川島良治 京大農

目的：反すう動物におけるMo・Cu・Sの3元素は、その不均衡な摂取により銅欠乏症様の重大な障害を家畜にもたらすことから、その相互作用機構の解明が家畜栄養学上重要な課題の1つとなっている。本研究ではめん羊を用いてMoあるいはMoとSO₄の同時摂取が血液中の銅分布に及ぼす影響を検討した。方法：去勢めん羊6頭を2頭づつ3区に分け飼料1Kgあたり10mgの銅を硫酸銅の形で含む基礎飼料を1日1頭あたり体重の2.5%与え6週間予備飼育し、次に1区を対照区、2区をMo投与区、3区をMo+SO₄投与区として6週間飼育した。Mo、SO₄は200mg Mo/Kg飼料及び飼料の1%の割合で、それぞれ(NH₄)₂MoO₇・O₂・4H₂O、Na₂SO₄・10H₂Oの形で飼料に混入して与えた。予備期を含めて5日毎にけい静脈より採血し、全血中(B)、血しょう中(P)のCu及びMo、血しょう中の直接反応性Cu(DR-Cu)、セルロプラズミン(Cp)活性を測定した。結果：B-CuとP-Cuに対するMo、Mo+SO₄投与の影響は殆んどみられなかった。Cp活性は、Mo投与により低下する傾向があり、Mo+SO₄投与では有意な低下がみられた。DR-CuはMo投与、Mo+SO₄投与により共に顕著に増加するが特に後者の場合では投与後1週間で0.93ppmと投与前の約10倍に達し、その後も高い値を維持した。B-MoはMo投与により投与前の13~20倍に増加し、Mo+SO₄区でも投与後3週目まで同様に増加したが、その後漸減し7週目では投与前の4~5倍の値にまで減少した。以上の結果から、SO₄はMo投与のCp活性、DR-Cuに対する影響を増強する作用を持つと考えられ、またMoとSO₄は、その吸収において互いに競合の関係にあるのではないかと推察された。

クロム化合物の硬組織への影響 (その2)

2 - 5

緒方敏子 (東京医歯大. 難研. 実験兼理)

クロム(Ⅳ)は毒性の少ない元素といわれているが、硬組織に限ってみると、必ずしも毒性が少ないとは言えず、第二回毒作用研究会で報告したように、非常に特徴的な反応を示す。今回は投与後の硬組織の変化と血清Ca、P値の変化との比較、及び、他の数種金属の作用との比較検討を行う。

① 酢酸Cr(Ⅳ) 0.15mmol/kg を静脈注射したウサギの歯牙象牙質には、投与直後石灰化不良層が現われたが、投与後3日目、6日目には石灰化の良い層が現われた。これを血清のCa、P値と比較してみると、投与直後にはCa、P値共に低下したが、石灰化の良い3日目、6日目にはCa値の低下、P値の上昇を示した。② 酢酸Pb (0.15mmol/kg)、酢酸Zn (0.05mmol/kg) についても同様のことを行なった。歯牙象牙質にはCrの場合と類似の周期的変化がみられたが、血清組成を対応させてみると、Zn塩の作用はCr(Ⅳ)の場合に類似していたが、Pb塩の場合は石灰化不良層の現われる時期に血清Ca値も低下した。③ 対照として生理食塩水 1ml/kg を静脈注射した場合、投与直後には石灰化不良層が現われ、血清Ca、P値も低下したが、その後には顕著な変化はみられなかった。④ 以上より、投与直後の石灰化不良層は特異的なものではないと思われるが、投与3~4日後から象牙質に現われる変化は重金属に特有のものと思われる。そして、それは必ずしも血清Ca値に対応して現われるものではなく、特にCr塩において顕著に現われたところの、石灰化が良い時期に相当して血清Ca値が低下するという結果は、興味ある問題を提起した。

塩化メチル水銀の発症と体内分布の経日変化 (II)

2 - 6

○田頭栄治郎、泉知子、柳浦才三、今枝一男、[※]

大沢敬子、徳弘えり子、星薬大・薬理学、分析学教室[※]

演者らは先の第4回毒性研究会において、マウスにみられる塩化メチル水銀 (MMC)の神経症状と急性中毒時 (- 50 - 100 PP_m)の脳内総水銀含量との相関性について報告した。今回は少量を慢性適用したときの中毒発症例について発症と脳内および血液中総水銀との相関性について検討した。〔実験方法〕 ICR系マウス雌雄50匹に16 PP_mおよび雄にのみ30 PP_m水銀 (MMC)混入飼料を6ヶ月間水と共に自由摂取させた。適用期間中、1ヶ月間隔で採血および諸臓器の摘出を行つた。血液は血漿と血球に分離し、臓器は凍結乾燥し総水銀含量を測定した。〔結果・考察〕 16 PP_m適用群では発症に散発的な傾向がみられるが、雄では約6ヶ月、また雌では約4ヶ月適用後半数以上の動物に重症の神経症状 (開脚、運動失調等)がみられた。これら各動物群の発症時期における血液内水銀含量は、16 PP_m 雄、雌それぞれ7および16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (血漿は血球中含量の約 $1/4 - 1/5$)であり、先の50 PP_m適用時 (45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、血漿 : 血球は1 : 8) に比べ低い濃度で発症した。また脳内含量はそれぞれ 8 ± 1.2 (n=5) および 11 ± 2.8 $\mu\text{g}/\text{g}$ (湿重量)で雌雄ほぼ同じレベルで発症した。雄30 PP_mにおいても 11 ± 0.9 $\mu\text{g}/\text{g}$ ではほぼ同じであつた。脳内濃度も急性中毒時 (20 $\mu\text{g}/\text{g}$) に比べ2低く約半量蓄積したレベルで発症した。発症時の神経症状には相異はみられなかつた。結論的にchronic onsetにおける中毒発症の閾値はヒトで報告されている如く、acute onsetのそれよりも低くなり、本実験から脳内と血中濃度はほぼ等しくなることが判つた。

ラットにおける塩化メチル水銀の30ヶ月慢性毒性試験

2-7

白須泰彦、白居敏仁、○三森国敏、平野雅裕、高橋和明、
俣野修身、後藤真康（残留農薬研）

SD系 SPF ラットに塩化メチル水銀（MMC）を2年半混餌経口投与し、慢性毒性および臓器内蓄積を検討した。飼料中濃度0, 0.4, 2 および 10 ppm の4群で、各群雌雄56匹を用いた。

10 ppm群では雌雄ともに体重増加抑制が見られ、雄は119週までに全例死亡した。加齢に伴う自然発生性の末梢神経障害例を除き、雄10例、雌7例に神経症状が発現した。血液学的には雄に貧血が見られた。腎では投与13週から重量の増加と共に近位尿細管上皮の変性を主体とする慢性腎障害が認められ、これらの病変と対応して尿素窒素およびコレステロール値の増加、上皮小体肥大、骨線維化等が見られた。神経系の病変は末梢知覚神経障害にとどまり、大脳・小脳には著変を認めなかった。非腫瘍性疾患として雌に結節性動脈周囲炎の増加が見られ、盲腸・結腸潰瘍が雌雄の少数例に観察された。

2ppm群の腎には投与初期から78週まで重量の増加を伴い軽度の変性病変が雌雄に認められた。しかし78週以後自然発生性のネフローゼ腎症が顕著となり判定困難となった。神経系にはMMCに起因する変化は見られなかった。雌雄に結節性動脈周囲炎が軽度増加した。

0.4 ppm群では雌雄とも各検査項目に異常を認めなかった。

78週までの各群の臓器内全水銀測定値を比較検討すると、被毛・腎への蓄積が顕著であった。78週においても被毛・肝・血液では蓄積傾向が見られたが、腎・神経系では増加は認められず、10 ppm群で大脳に最高の蓄積を示した個体の分析値は7.13 ppmであった。

以上のように、ラットではMMCの著しい腎障害性が認められたが、中枢神経系のMMCに対する感受性は比較的低いと考えられる。

○ 小林晴男, 湯山 章, 松坂尚典 (岩手大・農・家畜薬理)
竹野 一, 柳谷岩雄 (大阪府立大・農・家畜薬理)

水銀化合物の Cholinergic System に対する影響を明らかにする目的で、choline acetyltransferase (ChA) ならびに cholinesterase (ChE) に対する影響を検討し、メチル水銀は ChE 活性に対しては 10^{-4} M 以下では影響しないが ChA 活性を強く阻害すること ($I_{50} \approx 2 \times 10^{-5}$ M) を第 3 回 本研究会で報告した。今回、その他の cholinergic parameter である ACh 遊離 ならびに choline の取り込み系に対するメチル水銀の影響を検討した。

ACh 遊離におよぼす影響 : 厚さ 0.2 mm のマウス大脳スライスを $10^{-7} \sim 10^{-4}$ M 塩化メチル水銀 (MMC) と normal Krebs 液 (N-K) あるいは 30 mM KCl-Krebs 液 (H-K) 中で $O_2 + CO_2$ (95:5) 混合ガス通気下、 $38^\circ C$ 、30 分間 インキュベートした。遊離される ACh 量をヒル背筋法によって測定した。N-K の条件下でも、また ACh 遊離が促進される H-K の条件下でも、medium 中への ACh 遊離に対して MMC の影響はほとんど認められなかった。

Choline uptake におよぼす影響 : マウス大脳 P₂ 分画による choline の取り込みに対する MMC の影響を ^{14}C -Choline を用いて、high affinity uptake および low affinity uptake の条件下で検討した。MMC は choline の取り込みを強く抑制した。K_i 値は high affinity uptake では約 4×10^{-5} M、また low affinity uptake では約 2.5×10^{-4} M であり、阻害様式は non-competitive であった。

硝酸水銀についても検討したところ、MMC と同様の傾向であった。

以上の成績から、MMC ならびに無機水銀は ACh release に対してはほとんど影響を持たないようである。一方でこれら水銀化合物は choline の取り込み系、殊に high affinity uptake 系に対して強い阻害作用を示し、その K_i 値が前報の ChA 活性に対する I_{50} 値に匹敵することを併せ考えると、水銀化合物は cholinergic effect としては主として ACh 合成系に対する阻害が考えられる。

末梢交感神経ニューロンからのノルアドレナリン

2-9

放出に対する水銀化合物の影響

○中里 幸和, 浅野 忠, 大賀 皓

北海道大学 獣医学部 薬理

最近, 水銀化合物は副腎からのカテコールアミンの分泌, 交感神経節および運動神経終末からの伝達物質の放出を促進させることが報告されている。我々はモルモット精管を用いて, 交感神経終末からのノルアドレナリン(NA)の自発性および誘発性放出に対する塩化メチル水銀(MMC), パラクロールマーキュリフェニルスルホン酸(PCMBS)ならびに HgCl_2 の影響を比較観察した。(1) MMC ($2.5 \times 10^5 \sim 2 \times 10^{-6} \text{M}$)は濃度依存性にNAの放出を増大させた。最高濃度による放出の時間経過をみると, 放出量の増加は最初の5分から認められ, 10分目には最大に達し, その後しだいに減少した。(2) PCMBS ($2.5 \times 10^{-4} \sim 10^{-3} \text{M}$)もまた濃度依存性のNA放出増大を引き起した。しかし, MMCと比較した場合, その力価は弱く, 効果発現に要する時間も遅延した。(3) HgCl_2 ($5 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-4} \text{M}$)も同様濃度依存性にNA放出を増大させた。(4) 外液のCaに対する依存性は, MMCと HgCl_2 では全くみられず, PCMBSの場合Ca不在下で放出効果発現までの時間が遅れた。(5) シス테인またはペニシリンを水銀化合物と当量もしくは2倍量添加すると, NA放出増大効果は可逆的に抑制された。(6) 40分間隔でhigh K (K 60mM)もしくは壁在神経刺激を行い, それによって誘発されたNA放出に対して, MMC ($10^{-5}, 2 \times 10^{-5} \text{M}$)は殆んど影響を与えなかった。以上の成績から, 水銀化合物は交感神経終末より自発性NA放出を促進させるが, その作用は外液のCaに対して依存性が極めて低いことがわかった。SH基供与薬の同時添加により, 放出効果は抑制されたことから, その作用発現にはSH基が関与しているものと思われる。誘発性放出に対する水銀化合物の作用についてはなお検討中である。

無機錫の毒性発現機構についての基礎的研究

(第8報) — 腸管からのCa吸収の低下 —

○山口正義, 久保芳美, 山本丈夫 (静岡薬大)

錫による中毒事例は古くから見られるにもかかわらず、その毒性についての知見は十分に集積されていながら現状である。

著者らは、錫の毒作用を動物実験的に究明しつつ、これまで無機錫の短期経口暴露により、胃酸分泌、インシュリン分泌ならびに肝糖原分解などの減少と、さらにCaの胆汁排泄増加などを知るにいたった。そこで本研究においては、腸管からのCa吸収に及ぼす錫の影響を調べることにした。

まず供試動物のラットに SnCl_2 (Sn^{2+} , 3mg/100g) を3日間連続経口投与し、その後のCa吸収に与える影響とCaの経口投与後の血清Ca値の変動によって検討した。その結果、Ca経口投与後の血清Ca値の増加は錫投与により有意に抑制され、錫の投与量に依存していた。このことは、錫投与により腸管からのCa吸収が低下されることを示唆している。実際に十二指腸粘膜のCa量は錫投与により著明に減少された。なお十二指腸のCa吸収促進因子であるCa結合蛋白およびアルカリ性フォスファターゼの活性が顕著に低下していた。

このように腸管からのCa吸収が低下することから体内Caの減少が考えられたので、大腿骨のCa量の変動をも調べたところ、骨Ca量は錫投与により有意に減少していることを知った。

以上のことから、錫の投与により引き起こされた腸管からのCa吸収の低下とともに胆汁へのCa排泄の増加にもとづき、血清Caの恒常性が乱れることにより、骨Caの減少が誘発されるものと推察されるが、さらに骨形成に関与している内分泌因子の挙動への影響をも調べるのが今後に残されている。

高分子有機錫 (T P T O) の毒性—特に血中酵素に及ぼす影響—(I)

2-11

○ 湯本典夫・岩崎 勇・高木康史・井出源四郎

千大一病 ※千大中検病理

先に本研究会で岩崎らにより T P T O の急性・亜急性毒性につき報告がなされているが、今回は S D 系雄性ラットに T P T O を 6 カ月連続経口投与し、その一般毒性につき検索したので報告する。方法：動物は Japan Charles River Co., LTD の 5 週令雄性ラットを用いた。各群 6 匹とし T P T O は 1.4 mg/kg, 2.8 mg/kg, 5.6 mg/kg を胃ゾンデで 0.1 cc / 100 g 量を週 5 回ずつ投与した。体重は週毎に計測した。各ラットに血液生化学的、病理組織学的検索を行い、必要に応じて特殊染色を行った。検索は神経系、内分泌系、消化器系、造血系の全臓器と腎、骨格筋につき行った。末梢血液の形態学的変化には走査型および透過型電子顕微鏡を用いた。結果：体重は対照群と比較して 5.6 mg/kg 群では減少、1.4 mg/kg 群ではやや増加した。5.6 mg/kg 群は一例において 139 日目に四肢の麻痺が出現、歩行困難となり、159 日目に屠殺した。臓器重量比では、脳は 5.6 mg/kg, 2.8 mg/kg 群で増加、下垂体および胸腺は全群で減少した。血清生化学的検索では 1.4 mg/kg 群の L D H 値の著明な減少を認め、その isoenzyme 分画比は I (型) に軽度の上昇が認められた。又、同時に行われた急性実験で O P K の isoenzyme に筋及び神経の病変を思わす所見が得られた。病理組織学的検索において心筋の融解像、5.6 mg/kg 群において小脳の下小脳脚の水腫及び脱髄と顆粒細胞の減少、走査型電顕所見において赤血球の形状変化が認められた。特に今回の慢性実験で一部の小脳核に変性崩壊を認めたが、上述の isoenzyme pattern を参考にこの点につき血清生化学的所見と病理組織学的所見を対比して検討を加えたので報告する。

アルキル錫化合物の毒性に関する 実験的研究

○森信茂、海老沢久、河瀬恵信*、佐藤 稔
白溪浩、石津 澄子(東女医大・公衛,*予研・獣疫)

ジオクチル錫スルフィド(DOTS)をマウス、ラットに経口(混飼)又は経皮(塗布)的に連続投与すると血清ロイシン・アミノペプチダーゼ(LAP)の活性と血清総蛋白量(SP)が低下し、肝細胞に著明な鉄の沈着がみられ、十二指腸粘膜細胞の空胞化変性等が出現する。私共はこれらの現象がアルキル錫化合物の中でオクチル錫に独得なものであるか否かを明らかにするため、他のジオクチル錫化合物について検討してみたので報告する。

[方法および結果]

ジオクチル錫ジクロリド(DOTC)およびジオクチル錫ビス(イソオクチルメルカプトアセテート)(DOTOM)を用い、5週令ICR系雄性マウスに混飼による連続経口投与、オリーブ懸濁液を背部に1回皮下投与という方法で投与した。LAP活性はヤトロンの試薬、SPはビウレット法で測定した。

DOTC混飼投与群は、LAP、SPともに投与濃度に対応して低下した。そしてこの現象が発現するのは投与開始後比較的早期で、経時的にその程度が強くなる傾向を示した。

またDOTOMを用いて皮下投与してみると、経口投与群と同様LAP、SPの低下が観察され、どのような侵入経路であれ、オクチル錫化合物が体内に入ればLAP、SPの低下がおこることが明らかになった。

有機錫の性殖腺に及ぼす影響

2-13

○舟橋紀男・岩崎 勇・井出源四郎

千葉大学医学部・第一病理

第2、第3および第4回当研究会にて Tri-butyltin-Oxide (TBT
O) 経口投与によるSD系雄ラットの急性および慢性実験について脳下
垂体、副腎、甲状腺およびリンパ系臓器の変化について報告してきた。
今回は、5週令SD系雌ラットをもちい対照群オリーブ油1 ml/kgと
TBTO 0.01 ml/kgの2群について20日間毎日経口投与を行ったと
ころ、雄に認められた諸変化に加えて卵巣および子宮の著しい萎縮が
認められた。即ち、平均重量と比臓器重量は、卵巣では対照群(3匹)
128.6 mgと65.4 mg、TBTO群(5匹)68.1 mgと50.3 mg、子
宮では対照群353.3 mgと185.7 mg、TBTO群103.4 mgと77.5
mgで、対照群に比しTBTO投与群は約1/2の重量であった。組織学
的には、卵巣では卵の壊死が処置群に多く認められ、且つ顆粒膜細胞
層の形成が悪かった。子宮では内膜細胞の萎縮がみられた。なお、
現在までの実験で雄の性殖腺に著変を認めていないことは極めて興味
深い。以上の結果、TBTOは雌性殖腺特に卵胞形成能および内膜細胞
の増殖に対して著しい影響を与えることを知った。これに対し雄性殖
腺に著変がないことから推定すると、TBTOは卵胞と顆粒膜細胞およ
び子宮内膜細胞に強い障害作用を有しているものと想定される。更に、
すでに報告した副腎の機能亢進を考慮すると、有機錫はステロイド系
ホルモンに特異的な作用を示すものと思われ、これらのことについて
エストロゲン、プロジェステロンの血清値を計測し、併せて検討した
ので報告する。

有機錫化合物の腸管吸収と

2-14

生体内代謝に関する研究

○岩井秀明, 真鍋真由美, 小野哲, 和田攻 (群大医歯)
余泰宏, 荒川泰昭 (東大医歯)

有機金属の生体内代謝ならびに作用機序に関する知見を得る為に, 本研究ではまず有機錫化合物の経口投与における腸管吸収部位と体内分布を検討し, 合せて諸臓器におけるテトラアルキル錫の脱アルキル化を観察した。

方法 動物実験: テトラ及ワトリアルキル錫化合物を各々10, 3mg/kgとなるようにラットに経口投与(12hr毎に5回)し, 最終投与4hr, 12hr後に諸臓器を摘出した。腸管各部位は生食, エタノール(70, 100%)で十分洗淨して分析に供した。 分析法: 生体試料からのアルキル錫の分離は塩酸酸性下で酢酸エチル抽出し, n-ヘキサン転溶後, シリカゲルカラムで段階溶出により精製し, GLCに供した。

結果及び考察 トリアルキル錫投与ではトリエチル, トリプロピル錫濃度が回腸において最も高く, 又トリブチル錫は空腸において高い。2) テトラアルキル錫投与のテトラ体濃度は空腸部位において最も高い。3) 腸管から各臓器への移行はテトラおよびワトリアルキル錫において各々観察され, 腸管における吸収が確認された。4) テトラ体投与動物の腸管, 腸管内容物および他臓器からトリ体が検出されたという事実は①テトラ体は速やかに腸管内容物で脱アルキル化されトリ体となって腸管吸収されたものであるか②それともテトラ体が吸収後腸管粘膜において脱アルキルされたものか③又は肝などで脱アルキル化されたトリ体の腸管排泄によるものかなどの機構が考えられる。今のところテトラ体, トリ体の腸肝循環は証明されたが, 腸内容物, E. coli. による *in vitro* 実験ではテトラアルキル錫の脱アルキル化は証明されなかった。④については現在検討中である。

○和田昭治 林 秀茂 森山忠重 (奈良医大公衛)

無機スズもカドミウムと同じ様に Osteo dystrophia osteo porosis を誘発する毒作用があることを指摘してきた。今回はラット大腿骨を骨折させ、その修復に及ぼすこれ等重金属の影響を明らかにし選択的に硬組織形成細胞が倍増される機構を究明する。〔方法〕生後3週令 Wistar系ラットをスズカドミウム群に分け、それぞれ 50 ppm 含有した飲料水で飼育し2週間目に右大腿骨を骨折させ副木処置なしに引続き同じ飲料水で飼育しソフテックス観察を行ひ骨折3週間後に患部を取り出し組織学的検索を行った。〔結果〕ソフテックス所見。対照群は骨折部の癒合膨隆が著しくその石灰化進み骨染構築も順調である。スズ摂取群では膨隆が小さく、その石灰化が不完全で骨染は薄くしかも複雑性がな粗網状である。カドミ群では更に修復が遅延しその障害の強さを示している。〔病理組織学的所見〕対照群では。骨幹側面より骨折間隙に向って線維芽細胞が活発に増殖し増殖し骨折端の周辺は Osteogenic 細胞が出現し著しい増殖がみられ軟骨層を形成し。骨皮質の近傍は Osteo blast に分化し骨性仮骨を作り骨染は厚く緻密である。スズ摂取群では。線維芽細胞から軟骨芽細胞への分化に見られるが新生軟骨の形成が散在的に阻害され骨染内部は粗網状で骨染形成の数も少ない。軟骨細胞の核の萎縮配列の乱れ骨化への移行部も明確でなく石灰沈着も悪い。カドミ摂取群は。肉芽組織のまま骨折間をうづめ Osteo genic 細胞への分化が阻害された像を示す。軟骨芽細胞軟骨細胞も変性を起し骨染形成が著しく乱れている。これ等の所見は肝腎障害の二次的結果として発現したもので無い事を強調したい。

カドミウムの腎および脳皮質切片内とりこみに及ぼすアミノ酸の影響

2-16

○大宮彬男・中井健五（秋田大・医・薬理）

カドミウム (Cd) による腎毒性はL-cysteineの投与で増強することが報告されている (Kennedy, 1968)。腎はアミノ酸が活発に輸送される組織なので、Cd-cysteine複合体がアミノ酸の能動輸送に乗った形で腎組織内にとりこまれる可能性がある。Cdの腎および脳組織内とりこみに及ぼすcysteineその他のアミノ酸の影響を、切片を用いたin vitroの実験で検討した。

〔方法〕 ラットの腎および脳を摘出し厚さ0.4mm以下の切片を作成した。その約100mgを、 $^{115m}\text{CdCl}_2$ を含有するKrebs Ring 液 (pH 7.4) 1 ml中に入れ、37℃でincubateした。一定時間後組織にとりこまれたCd量をオートウエルガンマシステムで測定した。

〔結果〕 1. Cd (10 μM) の腎切片内とりこみは1~2時間で平衡に達し、その約15%が組織内に移行した。L-cysteine 0.5~5mMを添加すると、30分以降のCdのとりこみが著明に増加した。 2. N-acetyl-L-cysteineはL-cysteineに比べやや弱いながら同様なCdとりこみ促進効果を示したが、S-methyl-L-cysteineには効果がみとめられなかった。 3. L-histidine, L-lysine, L-methionine等のアミノ酸はCdの腎切片内とりこみに何らの影響を与えなかった。 4. L-cysteine (5mM) の添加によるとりこみ促進は50~500 μM のCdに最も強くみとめられ、L-cysteineと等モルの5mMではかなり低下した。 5. 組織切片を加熱または塩酸処理により変性させると、L-cysteineのCdとりこみ促進効果は消失した。 6. 脳組織においても腎切片とほぼ同様な現象が観察された。またD-cysteineはL-cysteineよりも強い効果を示した。

〔結論〕 生体内におけるCdの組織内移行は、一部はアミノ酸との複合体による能動輸送で行われる可能性が示唆された。

○道岡 攻、加美山 茂利 (秋田大・医・衛生)

カドミウム汚染米を原料とした特製の固型飼料で飼育したラットの飼料、飲料水の摂取量および体重、血圧の変動については第3回本研究会で、肝および腎への Cd^{*} の蓄積とその細胞内分布ならびに、ミトコンドリア呼吸系におよぼす影響については第4回本研究会で報告した。今回はリソゾーム、ミトコンドリアの酵素化学的変動について検討した結果を報告する。

実験動物としてWister系雄性ラットを使用、3群に分け、特製の固型飼料(各群固型飼料の Cd^{*} 濃度はI群用0.125 ppm、II群用1.325 ppm、III群用8.055 ppmである)を自由摂取させたのち経時的に肝ホモジネート(T)を調整、900×g、10分遠沈した上清(S_1)を7,000×g、10分遠沈(F_1)、上清はさらに10,000×g、10分遠沈(F_2)し、上清を(S_2)と分画した。

各画分についてacid phosphatase およびsuccinate-acceptor oxidoreductase 活性を測定し、acid phosphatase の肝および腎での消長、 S_2 / S_1 比、 F_2 / F_1 比を求め、リソゾーム酵素の遊離およびリソゾームの F_1 、 F_2 画分の混在程度を検討するとともに、succinate-acceptor oxidoreductase の肝および腎での消長、 F_1 / F_2 比を求め、ミトコンドリアの F_1 、 F_2 画分での混在程度を検討した。

S_2 / S_1 比の増加はIII群では10週から、II群では50週から生じた。またマウスに1 mg Cd^{*} / kg を腹腔内投与した場合にみられたリソゾームの F_1 画分への移行およびミトコンドリアの F_2 への移行(第1回本研究会)もわずかではあるが本実験においても観察された。

Effect of Cadmium on ^{14}C -Proline

2 - 19

Metabolism in Female Rats

M. Sakamoto (Hokuriku Univ. School of Pharm.)

A. Okada (Kanazawa Univ. School of Med.)

It is already known that the Itai-itai disease is caused renal tubur disfunction by chronic cadmium poisoning, as a result of that lead to osteomalacia. Urinary findings of that is proteinuria, glucoseuria and general amino acid uria etc. The greatly increased excretion of proline- and hydroxyproline-peptide to urine in Itai-itai disease case was found by Iguchi et al. or Hoshino et al. Iguchi et al. mentioned in relation to collagen metabolism disorder that lxyloxydase activity was inhibited by cadmium. The result showed that bone collagen was not fully matured by cadmium. It is interested whether cadmium has a direct action on bone metabolism or an indirect influence from endocrine organs. This study was made on relationship between cadmium intake and bone metabolism. After female rats were given cadmium 100 ppm for about 5 months and 8 months, the rats were abdominally injected ^{14}C -proline. The excretion rate of ^{14}C -proline in urine was significantly higher in the group given cadmium than in the control. The incorporation of ^{14}C -proline into its tissues was highest in the hair than in the other tissues, was secondly high in the liver, kidney cortex, bone and skin, and was lowest in the lung, spleen and kidney marrow. No significant differences were found between the group given cadmium and control group. Therefore, the result indicated that cadmium had relation to collagen metabolism.

カドミウム の 生体膜 に対する 作用

2-20

野上裕作・長谷川亨 積元正名(岡大医.公衛)

カドミウムの生体に対する作用機序には未だ不明な点が多い。特にカルシウム代謝との関連については、カルシウムの吸収、排泄の点で注目されているが、その外については、報告が数少ない。我々は、カドミウムの生体作用機序の解明の一環として、生体膜に対する作用を検討してみた。その結果、カドミウムの生体膜に対する傷害作用と、ほぼ完全にカルシウム結合部位修飾剤であるルテニウムレッドが抑制する事実を見い出した^{1)~3)}。今回は、生体内必須金属である Mg^{2+} 、 Ca^{2+} との関係について検討した結果、興味ある事実を見い出したので報告する。

材料及び方法：ラット肝ミトコンドリアをHogeboom, Schneiderの手法により分離した。ミトコンドリアの酸化リン酸化反応は反応液、 $0.15M KCl$, $10mM Tris-HCl$ buffer (pH 7.5), $2.5mM Pi$, $5mM$ succinate, $0.3mM$ ADP中にミトコンドリアを懸濁し、浴液酸素濃度減少と酸素電極(給水化学)を用いて経時的に測定した。その結果より、呼吸調節能と算出した。

結果： Ca^{2+} はミトコンドリアの酸化リン酸化に対し脱失後作用を示し、濃度依存的に呼吸調節能を低下させるが、 Mg^{2+} は $0 \sim 15mM$ の範囲でこの傷害作用を抑制する。この濃度範囲では Mg^{2+} はほとんど単独ではミトコンドリアに対し作用を示さない。 Ca^{2+} は $0 \sim 100\mu M$ の範囲で Ca^{2+} の傷害作用を強める。この濃度範囲では Ca^{2+} は酸化リン酸化に対し何ら作用を示さない。 Ca^{2+} の Ca^{2+} 傷害作用増強作用は反応液にルテニウムレッドが存在すると消失する。これらの結果より若干の考察を加える。1) 岡山医学会雑誌89(1969)7) 1-8. 2) 岡山医学会雑誌89, 1501-1505. 3) 岡山医学雑誌89, 1507-1510

芳香族ブロム化合物の生体膜機能に及ぼす作用

2-21

○井上 豊治・石田 立夫 (岡山県環境センター)

緒方 正名 (岡大・医・公衛)

有機ブロム化合物は、くん蒸剤、化学合成の中間体、防炎剤等多岐にわたって利用されており、年間1,000トン以上の生産が推定されている。したがってこれら化合物による環境汚染とその生体への影響については十分な把握が必要である。このような観点から、われわれは芳香族ブロム化合物の毒性ならびにその作用機序に関する検討を行い、その中で2,2-Bis(3',5'-dibromo-4'-hydroxyphenyl)propane [Tetrabromo bisphenol A; TBBP·A]が生体膜に対し次のような作用をもつことを明らかにした。

I. ヒトおよび家兔赤血球に対する作用; 1) 赤血球をTBBP·Aと共に37°Cの反応液(0.15M塩化コリン-10mM Tris-HCl, pH 7.4)中で10分間インキュベートすると、TBBP·A濃度に依存してK⁺の遊出、次いで溶血が起こる。2) この際、赤血球はTBBP·A濃度および時間経過と共に正常形→カップ形(内方陥没)→球形→破裂、といった形状変化をえる。

II. 分離ミトコンドリア(Mt)に対する作用; 1) ラット肝より分離調製したMtに対し、上記濃度のTBBP·Aは赤血球に対するよりも鋭敏にK⁺遊出促進作用をえる。2) コハク酸, α -KGを基質とした呼吸に対し、低濃度(25 μ M)のTBBP·Aはstate 4の呼吸増進とstate 3の呼吸抑制をえし、したがって呼吸調節能および酸化のリン酸化能の低下が起こる。しかし高濃度(250 μ M)のTBBP·A添加により呼吸阻害が起こる。3) TBBP·AはMg²⁺依存性ATPase活性を著明に促進するが、DNP1によって促進されたATPase活性に対しては抑制的に作用する。4) TBBP·AはCa²⁺の取込みを阻害する。

生体内重金属代謝に関する研究

2-22

特にクロム結合物質について

○山本 昭子 中島 克行 松井 寿夫

小野 哲 和田 文 (群馬大. 医. 衛生)

金属の生体によえる影響を考へるとき、生体内の金属の代謝を知り毒性に対する防衛作用を理解することは極めて重要なことである。我々はマウスを用いて数種の金属を腹腔内投与し、金属の代謝は、中心と考えられる肝の可溶性部分について金属結合物質の経時的消長を検し、昨年の本研究会で報告した。今回はこれらの金属のうち特に動きが著しく興味ある行動を示したクロム結合物質について研究をすすめた。

♂雄マウスに重クロム酸カリ $200 \mu\text{mole/kg}$ を腹腔内投与し、経時的に採取した臓器、血液、尿、糞について次のことを検討した。1) クロムの生体内分布。2) クロム生体内循環と排泄。3) 循環系と排泄系におけるクロムの形態。4) 肝低分子クロム結合物質とその部分精製

クロム投与後5~24時間では肝と腎にその大部分が見出され、脾がこれについていた。血液では血漿、血球ともにクロム含量はすくなくかたに上昇し2時間後には最高値を示した。血漿中のクロム量は15時間後には低下し、尿および糞でも血漿とほぼ同じ傾向を示した。

Sephadex G-25によるゲル濾過で、尿、糞に含まれるクロムはバシトラミン (M.W. 1450) の画分に溶出され、肝の低分子結合物と類似のものと考えられた。血漿も同じ画分にはすくなくクロムが存在し、その量はクロム投与後2時間の方が15分より多かつた。

正常マウス homogenate の遠心上清にクロムを添加すると、In Vitro で低分子クロム結合物の生成を認めたが、この物質はクロム投与マウスの肝、尿、糞、血漿のそれとクロマトグラフ上で一致した。この低分子クロム結合物の性質、生理的役割について検討中である。

各種鉛化合物の生体内運命に関する研究

2-23

(その3)

0 中野 碩夫 堀口 俊一

(大阪市立大学医学部、衛生・公衛)

鉛の生体内収支とともに鉛の生体影響は、鉛化合物の種類、投与量、投与方法、さらには供試動物などの実験条件の相違によつて差異があることは演者らがこれまで報告してきたところである。さらに詳細に追究するため、演者らは放射性鉛化合物(酢酸鉛、硝酸鉛、チタン酸鉛)の比較的少量を、普通の状態に飼育したテンジクネズミに投与しその体内運命に関して検討している。前報までに静脈内注射、経口投与実験の成績を報告したが、今回は経気道投与実験を行ない次の知見を得た。

1、血中鉛活性の消失パターンは、酢酸鉛と硝酸鉛でほぼ同様の傾向を示したが、その速度には相違が認められた。チタン酸鉛においては前二化合物に比べその摂取は少なかつた。

2、肝の鉛摂取・消失パターンは、酢酸鉛と硝酸鉛でほぼ同様の傾向を示した。チタン酸鉛は前二化合物に比べ摂取は少なく、消失速度も急速であつた。

3、肺への鉛摂取・消失は、酢酸鉛と硝酸鉛で、ほぼ同様の傾向を示した。しかし、チタン酸鉛では、肺に多量の摂取を認め、しかも前二化合物と異なり、気管、食道にも多量の鉛摂取が認められた。

4、骨格系においては、化合物の種類によつて、鉛摂取のピークや鉛摂取量が異なることが認められた。

5、消化管壁、消化管内容物の鉛摂取の相違から、鉛化合物の種類による消化管輸送の差が示唆された。

6、体外排泄鉛は、硝酸鉛が80%、酢酸鉛が70%、チタン酸鉛が67%であつた。

2-24 用量を異にするメチル水銀経口投与ラットの経時的臓器吸収率と蓄積パターンについて

増原泰三 ○中村康則

日歯大新潟校 薬理

目的：従来、我々はメチル水銀 (MMC) の連続経口投与実験で、投与用量、暴露期間、蓄積量および中毒発現の相互関係をみているが、今回は、各種臓器内 MMC の経時的蓄積パターンが、用量によって相違することを認めたので報告する。

方法：S.D 系 雄性ラット (約260g) を用い、1 群20匹からなる3 段階用量 (0.5, 1, 2mg/kg/day) の MMC を総投与量が20mg/kgとなるように経口ゾンデで連日投与した。各試験群は経時的に4 匹ずつ5 回に分けて屠殺したが、その前日に $\text{Me}^{203}\text{HgCl}$ を併用投与し、29時間後に、生食液→緩衝ホルマリンで全身灌流固定した。そして、5 種の臓器について、MMC 量は BCD付ガスクロで、 ^{203}Hg は Well型 γ -シンチで測定した。なお、各種臓器の病理組織標本を作製した。

成績：各種臓器のメチル水銀蓄積量を臓器別に比較すると、何れの用量群でも高い順に全血、腎、肝、脳であった。一方、これを総投与量20mg/kgを与えたものについて比較してみると、肝、腎にそれぞれ差はみられなかったが、全血では2mg 投与群に対し、1mg 群および0.5 mg群が低く、脳では1mg 群に対し、0.5 mg群が高値を示した。次に、各用量における各臓器の経時的蓄積経過についてみると、ほぼ3 つの異なるタイプに分けられた。さらに本実験で同時に観察した observed ratio には、経時的に変化するものがみられ、これは蓄積パターンに反映されていると思われる。

ちなみに、これらの蓄積パターンについて、生物半減期を考慮して算出した理論蓄積曲線との適合性をみると、特に低用量の0.5 mg投与群では、投与半ばより以後、実測値の方が高く、脳ではこれが著明であった。

高速液体クロマトグラフィーによるトルエン、
キシレン、スチレンの尿中代謝産物の測定
○ 松井寿夫、小里孝哲、山本昭子、真鍋真由美
和田 攻 (京大・医・衛生)

有機溶剤の生体への影響を考へる場合に、実際に吸入した曝露量を
を知る事が重要であり、トルエン、キシレン、スチレンについては
、それぞれ尿中代謝産物である馬尿酸、メチル馬尿酸、フェニル
グリオキシル酸が曝露指標として用いられている。しかし現在用い
られている比色法、ガスクロマトグラフ法などの測定法は、特異性
簡便性などに問題がある。そこで、高分離能を示し、煩雑な前処理
を必要としない高速液体クロマトグラフィーで尿中代謝産物の定量
を検討した。《方法》以下の条件で行なった。

装置: Waters社 ALC 204型液体クロマトグラフ

カラム: μ Bondapak C18 検出: 254 nm

移動相: 1) メタノール/0.01M KH_2PO_4 /酢酸 (20/79.6/0.4)
2) アセトニトリル/水/酢酸 (10/90/0.1)

尿の前処理 1) 酢酸エチルで抽出 2) 等量のメタノールを加
え遠心。得られた抽出物および遠心上清を注入試料とした。

《結果》馬尿酸およびメチル馬尿酸の定量は 1) の移動相で行ない、尿
の正常成分および他の溶剤の尿中代謝産物とは良く分離した。測定
値はペーパークロマトグラフで分離した後発色定量した値と一致した
が塩化ベンゼンスルホンによる比色定量法に比べてかなり低値を
示した。フェニルグリオキシル酸の定量は 2) の方法で前処理した尿
を 2) の移動相を用いて行なった。尿中成分による定量妨害はほとんど
みられず、スチレン曝露の評価に利用できる。さらに、本法は測定感
度、定量性、再現性ともに優れていることや従来の特異的定量法に比
べて簡易であるので、曝露評価の測定法として広く利用できる。

Studies on Styrene Poisoning (Part 2)

2-26

Concentration of Styrene in Tissues.

OK. Teramoto and S. Horiguchi (Department of Preventive Med. & Public Health Osaka City Univ. Med. School)

In part 1 of the studies, the present authors made a report on gaschromatographic analysis of styrene in blood of the workers in a plastic factory and of rats. Presently, a study was made on analytical method for styrene in tissues by gaschromatography and, distribution and biological half-time of styrene in rats exposed to styrene.

Methods : Rats were exposed to styrene vapor in exposure chamber under control of air flow rate at 2L/min. After 4 hour exposure to styrene, the blood, liver, kidney, spleen, brain, muscle and adipose tissue were excised from the ether-anesthetized rats. The excised tissues were washed with 0.85% saline, and wiped dry with filter paper. Then, each 5g of tissue was taken into a tube with 5ml n-hexane and analyzed for styrene by gaschromatography. Styrene in air samples was analyzed directly by gaschromatography.

Results : 1. Recovery and coefficient of variation were shown in Table 1.

2. After 4 hour exposure to styrene in rats, the concentration of styrene in the tissues in decreasing order and ratio (when styrene concentration in blood is 1) and half-time were shown in Table 2.

Table 1. Recovery and coefficient of variation

tissues	N	Rec. (%)	N	c.v. (%)
blood	10	99.6	8	2.8
liver	9	102	6	5.5
adipose tissue	9	92.0	9	14

Table 2. Distribution and biological half-time

	adipose tissue	brain	liver	kidney	blood	spleen	muscle
distribution	35	2.1	2.8	1.5	1	0.9	0.7
half-time(h)	6.3	2.1	2.1	2.2	2.4	2.2	2.0

ラット赤血球 Aminotransferase 活性について

2-27

才 2 報

○ 本間雅裕, 森 典子, 金津 稔生
(日本ロシエ社, 毒理学・病理学)

生体内 Aminotransferase (GOT, GPT) 活性に影響する要因として V B6 栄養状態, 摂取蛋白質量, 妊娠, 貧血, ストレス, コルチコステロイド投与等が知られてゐる。こゝらのうち, ステロイド投与, ストレスは一般に赤血球 GPT に影響しないといわれてゐるが, その実験的証明は見当たらない。Cheney¹⁾ は, 全血中の GPT が Cortisone 投与で上昇することをみてゐる。そこで, 赤血球中および血漿中の GPT 活性の分離測定を試みた。赤血球 GPT 活性は GSH 加溶血液を用いて Tonkazy²⁾ の方法で, 血漿 GPT 活性はヘパリン血にて測定した。

1. 1 群 8 匹の雄 SD ラット (7 週令) に hydrocortisone 5 mg/日 (100g 体重) を ^{5日間} 皮下投与, 最終投与後 17 時間絶食させた後の赤血球 GPT 活性 (平均 ± 標準偏差: $10.6 \pm 0.84 \mu\text{M pyruvate/ml RBC/hr}$) は生食対照群のそれ (10.4 ± 0.66) と比較して差がみられなかった。一方, 血漿 GPT 活性 ($19.5 \pm 4.73 \text{ Ku}$) は対照群 (16.3 ± 2.76) より明らかに高値を示した。

2. 8 匹の雄 SD ラット (6 週令) について, 体重当り 2.5% の割合で心穿孔により浮血し 66 時間後の赤血球 GPT 活性 (10.1 ± 0.71 , PCV 0.38 ± 0.02) は無処置対照群 (9.4 ± 0.70 , PCV 0.45 ± 0.02) より若干高値を示した。一方, 浮血群血漿 GPT 活性 (20.2 ± 3.14) は対照群のそれ (20.6 ± 2.33) と差がなかった。

コルチコイドによる血漿 GPT は上昇するが赤血球 GPT は上昇しない。浮血による赤血球 GPT は上昇するが血漿 GPT は変らない。

1) Cheney et al: Can. J. Physiol. Pharmacol. 43:579 (65) 2) 本間 10: J. Tox. Sci. 2:338 (77)

動物およびヒトのNOHb, MetHbについて

2-28

野上若志, 織田肇, 中島泰知
(大阪府立公衆衛生研究所, 公衆衛生室)

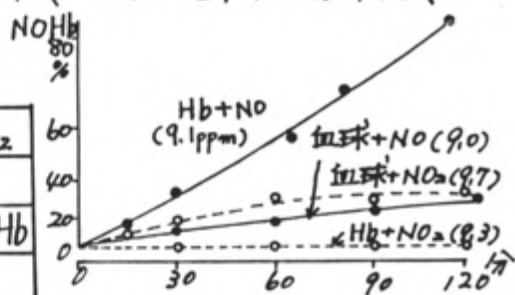
一酸化窒素(NO)に暴露したマウスでのNOHbの生成量は, NOとHbの強い結合力にも拘らず, 極めて少なく, 一方同条件のヒトの吸入実験ではNOHbの生成は見られなかった。またマウスのNO暴露でMetHbの増加も見られたが, NO₂暴露ではNOHbは生ずるがMetHbは生成しなかった。これらについては以前に報告した。今回はこれらの点についてHb溶液または血球浮遊液とNO, NO₂との反応を*in vitro*の系で実験的に検討した。

〔方法〕試料はHb濃度で $5 \times 10^{-5} M$ (pH 7.4, 0.15 M 磷酸緩衝液)とした。NOおよびNO₂の発生は標準ガス精密希釈装置を用い, 試料にN₂ガスを通気して還元型Hbにした後, 所定の濃度の希釈ガスと反応させ(37°C), 分光的にNOHb, MetHbを定量した。

〔結果〕(1)NOとの反応: マウス試料の結果を図に示す。MetHbは生成せず, NOHbは生成後N₂ガスを通気しても2~3時間では減りせず, その後空気を入れると速かにMetHbが生成した。ヒト試料の場合もほぼ同じ結果であった。(2)NO₂との反応: Hb溶液とNO₂ではNOHbは出来ず, MetHbの生成が見られた。一方血球浮遊液ではこれに反しMetHbは出来ずNOHbの生成のみが認められ(図), その後空気を導入するとMetHbが生成した。図 NOHbの生成表に成績をまとめて示した。

表 *in vitro* と *in vivo* の比較

	NO → +O ₂	NO ₂ → +O ₂
Hb (-O ₂)	NOHb → MetHb	MetHb
血球 (-O ₂)	NOHb → MetHb	NOHb → MetHb
<i>in vivo</i> (+O ₂)	NOHb, MetHb	NOHb



四塩化炭素の代謝的活性化と Cyt. P-450 の分解

2 - 29

慶大, 医, 薬理.

。山添 康, 鎌滝 哲也, 杉浦 正彦, 加藤 隆一

〔目的〕 四塩化炭素(CCl_4) 肝障害の発現機構については、脂質過酸化促進によるという説と CCl_4 の活性代謝産物の蛋白への共有結合による説とがあって何れが真の原因となっているか未だ決着がつかない。 CCl_4 を動物に投与したり、*in vitro* で肝ミクロゾーム (MS) と共にインキュベートすると MS のキトクローム P-450 (P-450) が急激に減少することも知られている。この P-450 の減少についても脂質過酸化の亢進によるヘムの分解によるものと CCl_4 が還元的に代謝されて生ずる活性代謝産物の共有結合によるものとの2つの原因が考えられている。そこで演者らは CCl_4 の還元的代謝に注目し、その反応機構の解明を究極的な目的とした。既に演者らは *in vitro* の系にメチルバイオローゲン (MV) やフラビンを加えると P-450 による薬物還元活性が著るしく増加することを見出している。そこでこれらの添加により CCl_4 の還元的代謝を変化させ、それに伴って MS 酵素がどのような変化を受けるかについて検討した。

〔結果〕 ① NADPH 存在下嫌氣的条件で肝 MS を CCl_4 とインキュベートすると P-450 量は減少した。又キトクローム P-420 (P-420) の生成は見られなかった。この系に更に MV を加えると P-450 の減少は一層著るしくなったが、リボフラビン (Rf) の添加ではほとんど変化しなかった。② MS のプロトヘム含量は CCl_4 代謝に伴って減少した。③ MS の b_5 含量や f_p 活性は CCl_4 代謝を促進しても全く影響されなかった。④ クロロホルム生成活性は、MV の添加により増加し、Rf 添加ではほとんど変化しなかった。

フェノバルビタール腫大肝の肝細胞核への
チミジンの取り込みについて
○渡辺 満利 (実中研・前臨床医研)

Phenobarbitalなど種々の薬物の投与によって肝の薬物代謝酵素の誘導が起り、同時に肝細胞の腫大および小胞体の増生を伴うことはよく知られている。これらの薬物のうち、ある種のものでは肝細胞核の肥大、あるいは巨大化がみられる。たとえばlorazepamを4週間連続投与したラットの肝には、小葉中心帯肝細胞の腫大と核の巨大化および無糸分裂様の変化が認められている。このような肝細胞核の変化が、薬物代謝酵素誘導に付随した適応性変化であるか否か、およびこのような核における核酸合成亢進の有無を調べる目的で、ラットが耐え得る最高用量のphenobarbitalを連続投与し、肝細胞核のthymidineの取り込みについて光顕オートラジオグラフィを用い調べた。実験には4週齢のメスS.D.系ラットを用い、50 mg/kgから200 mg/kgに次第に増量したphenobarbitalを45日間連続投与した後、屠殺4時間前に³H-thymidine(1 mC/kg B.W.)を腹腔内に投与した。無処置ラットに同様に³H-thymidineを投与し対照とした。所定の方法でパラフィン包埋後、薄切した肝の組織切片を用い、オートラジオグラムを作製した。その結果、対照例の標本においては、70日間の露出では³H-thymidineの肝細胞核への取り込みを示す像はみられなかったが、phenobarbital投与例では、同期間の露出でthymidineを取り込んだ核が肝細胞の腫大した小葉中心帯に多く認められた。しかし小葉辺縁帯の肝細胞核にはthymidineの取り込みは認められず、肝細胞の核酸合成の促進が肝細胞の腫大に伴って惹起されていることが伺われた。また無糸分裂様の核はphenobarbital投与においてもみられ、この様な核および巨大化した核にはthymidineの取り込みはみられず、これらの核は核酸合成促進の結果生じたものと考えられた。したがって薬物代謝酵素誘導と惹起する薬物の投与においてしばしば認められる肝細胞核の巨大化は、肝細胞の適応性変化に付随して生じるものであらうと考えられる。

異物代謝に関するシトクローム P-450 の
分子多様性

2-31

大阪大学医学部 生化学第一教室

三木伸士・山野俊雄

3つの異なったシトクローム P-450 分子種を固定化シトクローム b_5 上にクロマトグラフする事により、未処理兔肝ミクロソームから収率 10~15% で比含量 17~18 nmoles/mg of protein に分離精製した。これら 3種の精製シトクローム P-450 標品から NADH-cytochrome b_5 レダクターゼ, cytochrome b_5 , 及び NADPH-cytochrome P-450 レダクターゼは検知され得なかった。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による標品の分子量は約 51,000, 53,000, 及び 55,000 ダルトンと算定され, 分子量 51,000 と 53,000 の 2 標品は分光学的にはほとんど同一であり低-スピン 3 価鉄に特徴的な 570, 535, 及び 418 nm に吸収極大を有していた。他方分子量 55,000 の標品は 418 nm 近傍に, 標品に残存する界面活性剤に起因するかすかな肩が認められるが, 吸収極大は 645 と 394 nm に有り高-スピン状態のヘムタンパク質と考えられている。

精製した NADPH-cytochrome P-450 レダクターゼ, ホスホリビッド, 及び本シトクローム P-450 標品を用いた再構成酵素系によるエトキシレゾルフィン O-デエチラゼ活性は用いたシトクローム分子種に大きく依存していた。更に興味ある事に, これらシトクローム P-450 分子種のうち少なくとも 1 種は NADH-cytochrome b_5 レダクターゼ, cytochrome b_5 , 及びホスホリビッド存在下かつ強嫌気状態で NADH により還元されうる事を判明した。

Studies on the Metabolism of Di-(2-ethylhexyl)
2-32 phthalate in Pregnant and Non-Pregnant Mice.

⁰Y.Nakamura*, N.Aoki*, Y.Yagi*, I.Tomita* and K.Tutikawa**
*Shizuoka Coll. Pharmaceut. Sci., **Natl. Inst. Genetics.

It has been commonly assumed that the metabolism of drugs differs during the pregnancy from that in the normal condition. In connection with the strong teratogenic effect of di-(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP) on mice(1), the present study was undertaken to determine if the oral administration of DEHP at the different stage of pregnancy induced any changes in its metabolism.

Experiments: DEHP(10 ml/kg) was given orally to pregnant and non-pregnant mice at the 8, 13 or 18th day of gestation. The levels of DEHP and MEHP, one of the main metabolites of DEHP, in organs (and fetuses) were determined by ECD-GLC. The change of MEHP concentration was examined 1, 3 and 12 hours after the oral administration of DEHP to mice of the 8th day of gestation.

Results and Discussion: DEHP level of liver and pancreas was lower in pregnant mice than in non-pregnant animals. The level of MEHP, however, was higher in the former mice especially in pancreas and increased when DEHP was given at the later stage of pregnancy. Both DEHP and MEHP level in fetuses were significantly high in the administration of DEHP at the 8th day of gestation. The concentration of MEHP in organs reached to a maximum 1 and 3 hours after DEHP administration in pregnant and non-pregnant mice respectively. These results suggest that the rate of absorption, distribution and excretion of DEHP is greater in pregnant mice than in non-pregnant mice, while DEHP is more quickly metabolized to MEHP in the former compared to the latter animals.

1) Y.Yagi et al., J.Toxicol.Sci.,2(3), 317(1977).

Ouabain の Na^+, K^+ -ATPase に対する阻害機構 —

2-33 Ouabain 結合による ^{22}Na の Na^+, K^+ -ATPase への結合の allosteric 阻害について

○松井英男, 倉田晴夫

(杏林大学医学部生化学教室)

強心配糖体 Ouabain の Na ポンプ及び Na^+, K^+ -ATPase への阻害機構を検討し Ouabain の Na^+, K^+ -ATPase への結合が ^{42}K の酵素への結合を阻害することを見出し報告した。今回はさらに実験的には困難のため、 ^{22}Na の結合についても検討し、Ouabain 感受性の ^{22}Na の化学量論的結合を検出したので報告する。

比活性 $1,000 - 1,500 \mu\text{mol Pi} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ の Na^+, K^+ -ATPase を、 $0.1 \text{ mM } ^3\text{H}-\text{Ouabain}$ 有無の Imidazole-buffer 中で 37°C に incubate し、氷冷後 $0.5 \text{ mM } ^{22}\text{NaCl}$ を加え遠心し、Ouabain 感受性の ^{22}Na の結合を測定した。酵素 1 mg 当り 2 nmol の $^3\text{H}-\text{Ouabain}$ が結合すると同時に、約 4 nmol の ^{22}Na 結合の低下が見られた。この Ouabain 感受性の ^{22}Na の結合は、 ^{42}K のそれと同様に、positive cooperative で、 0.5 mM 以上の NaCl で急速に飽和し、最大結合量は Ouabain 1 個当り 3 個に収斂し、見かけ上の解離定数 (appKd) は 0.35 mM であった。この Na^+ 結合の Scatchard plot は、 K^+ の場合と同様に、楕円様の曲線となり、 1 catalytic unit 当り 3 個の Na^+ が cooperative に結合する式で、 $K_1 = 0.5 \text{ mM}$, $K_2 = K_3 = 0.3 \text{ mM}$ として計算すると実験 data によく近似した。至適 pH は K^+ の結合よりもアルカリ側で pH 7.8 付近であった。 Hg^{2+} は K^+ の場合と同様に、Ouabain 感受性結合の affinity への影響はわずかで非感受性の結合を強く抑制した。ATP 依存性の Na^+ 結合、 Na^+ 結合の ATP による促進は見られなかった。感受性 Na^+ 結合は K^+ によって強く阻害され、 ^{22}Na と ^{42}K を同時に使用した実験では、両イオンの結合 site は同一である可能性を支持した。

北海道におけるホタテ貝毒の分離精製

2-34

北海道立衛生研究所疫学部毒性病理科

佐藤 七七朗、市原 侃、佐藤 秀男、石下 真通、川瀬 史郎

目的：有毒赤潮による麻ひ性貝中毒は、北米沿岸で古くから発生しており、米国、カナダでは毒性の監視体制が確立し、中毒防止策がとられている。我が国でも岩手県大船渡湾、三重県尾わせ湾等の二枚貝については、近年、毒性調査が行われ、中毒防止策がとられている。これらの貝毒の化学的研究については、既に多数の報告があるが未だ不明の点が多く、特に現在では、貝毒の多様性に関心が持たれている。我々は、北海道のホタテ貝について、昭和50年9月から、地域的、経時的な毒性の変化を調査してきたが、貝毒の多様性にも注目し、精製貝毒について、各地の毒成分の比較、双べん毛藻 Gonyaulax catenella 由来の精製麻ひ性貝毒、サキシトキシン (STX) との比較を行って興味ある知見を得たので報告する。

方法：ホタテ貝中腸腺を酸性エタノールにて抽出し、Sephadex G- / 5、Biogel 1 P- 2 カラムクロマトグラフィーを用いて、部分的に精製し、薄層クロマトグラフィー (TLC)、濾紙電気泳動 (PEC) を用いて毒成分を分離した。毒性試験は米国A、O、A、C法により行った。

結果：マウスを用いての毒性試験から、ホタテ貝毒により引き起こされる症状はSTXによるものと非常に良く似ていた。カラムクロマトグラフィーにおける貝毒の挙動は、いずれもSTXと同様な吸着パターンを示した。TLC、PECにより貝毒は複数の成分に分離され、それぞれH₂O₂処理により蛍光物質に変化するが、主要成分はSTXとは異った移動度を示した。これらの諸性質は、Gonyaulax tamarensis 由来の一連の麻ひ性貝毒 ゴニオトキシンと一致する点が多いと思われる。