

第12回日本毒科学会学術年会 プログラム・要旨集

昭和60年7月1日(月)、2日(火)

日本学会館

1985 東京

第12回 日本毒科学会学術年会

会 期 昭和60年7月1日(月), 2日(火)

会 場 日本大学会館

会 長

大 森 義 仁 (国立衛生試験所安全性生物試験研究センター)

実行委員

柏 谷 豊 (東京大学薬学部)

加 藤 隆 一 (慶応義塾大学医学部)

柳 田 知 司 ((財)実験動物中央研究所付属前臨床医学研究所)

戸 部 満寿夫 (国立衛生試験所安全性生物試験研究センター)

林 裕 造 (国立衛生試験所安全性生物試験研究センター)

石 館 基 (国立衛生試験所安全性生物試験研究センター)

高 仲 正 (国立衛生試験所安全性生物試験研究センター)

事 務 局

〒158 東京都世田谷区上用賀1丁目18-1

国立衛生試験所安全性生物試験研究センター内

☎ (03)700-1141 内線350, 400

目 次

日程及び座長一覧表	1
会場案内	2
お知らせとお願い	4
プログラム	
教育講演	6
シンポジウム	7
ワークショップ	9
一般演題	11
要 旨	
教育講演	19
シンポジウム	21
ワークショップ	53
一般演題	60

日程及び座長一覧表

月日	時刻	第1会場(2階大講堂)	第2会場(8階801会議室)
7月2日	9:00	一般演題 (29~30)	一般演題 (45~55)
	9:05	開会の辞 座長: 1~3 佐藤哲男 4~6 鎌流哲也 7~9 高島英伍	座長: 29~31 宇高重二 32~35 渡辺民朗 36~39 福島昭治
	11:00	教育講演 司会: 大森義仁	座長: 45&46 真板敬三 47~49 渡辺漢利 50~52 榎藤正義 53~55 福田英臣
	12:00	評議員会	総会
7月2日	13:00	一般演題 (40~44)	一般演題 (56~61)
	14:30	座長: 40&41 堀内茂友 42~44 井村伸正	座長: 56~58 水谷正寛 59~61 亀山純郎
	17:00	シンポジウムⅡ 司会: 土屋健三郎	ワーキングショップⅢ 司会: 藤原公策 林 祐造
	17:00		

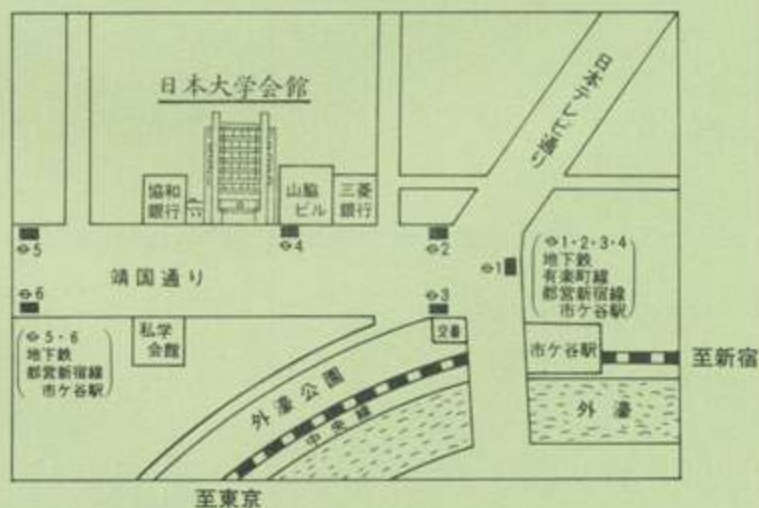
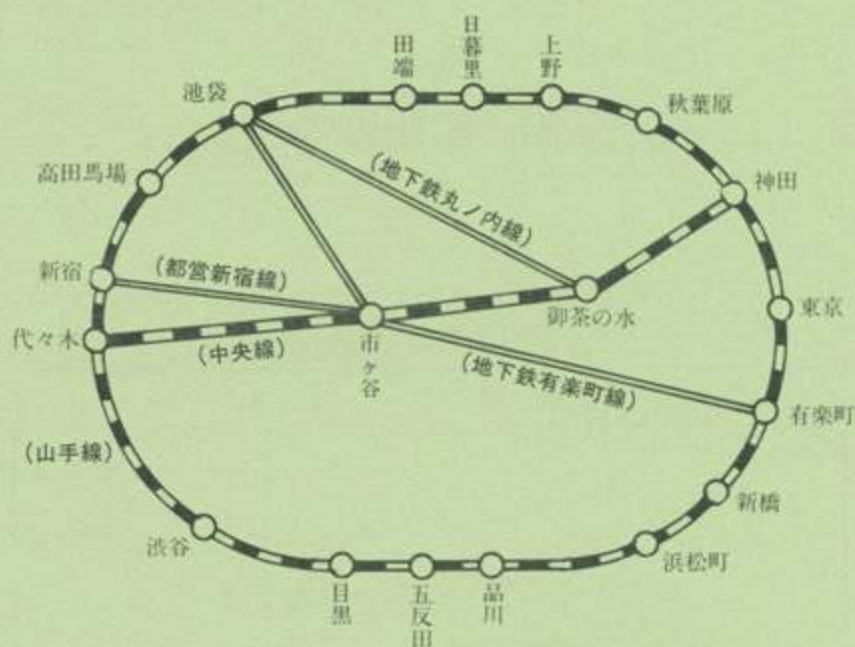
月日	時刻	第1会場(2階大講堂)	第2会場(8階801会議室)	第3会場(9階904会議室)
7月1日	9:00	開会の辞	一般演題 (16~25)	
	9:05	一般演題 (1~9)	座長: 16~18 坂本浩二 19~21 河合正計 22~25 榎本 真	
	11:00	教育講演 司会: 大森義仁		
	12:00	評議員会		
7月1日	13:30	一般演題 (10~15)	一般演題 (26~28) 座長: 重信弘毅	
	14:30	座長: 10&11 荒井昌之 12~15 小野寺威		
	15:00	シンポジウムⅠ 司会: 粕谷 豊 加藤隆一		ワーキングショップⅠ, Ⅱ 司会: 柳田知司(Ⅰ) 白須泰彦(Ⅱ)
	17:30			
7月1日	18:00		懇親会	
	20:00			

会場案内

名称：日本大学会館

所在地：東京都千代田区九段南4丁目8-2

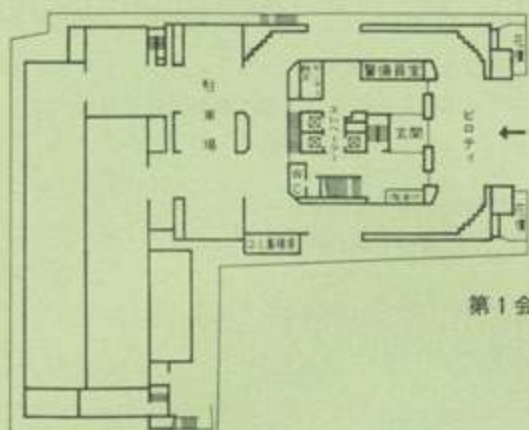
☎ (03) 262-2271



- 交通
- 国電：中央線（各駅停車）市ヶ谷駅より徒歩約2分
 - 地下鉄：営団有楽町線又は都営新宿線 市ヶ谷駅より徒歩約2分
- (注) 駐車場はとくに準備しませんので御了承下さい。

会場内見取図

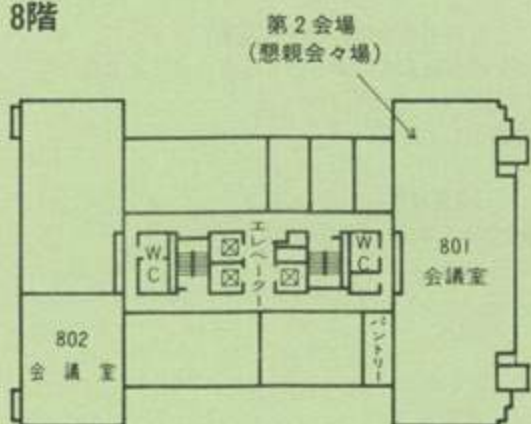
1階



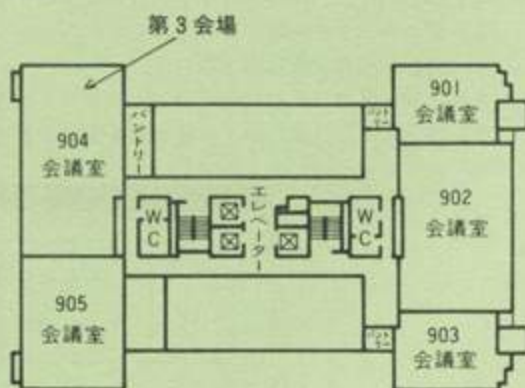
2階



8階



9階



(注) スライド受付及び座長受付は、当日各会場の入口付近に設けます。

お知らせとお願い

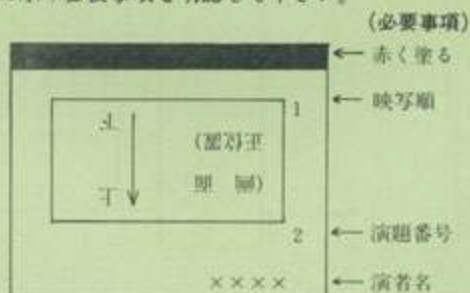
◆ 参加者の皆様へ

1. 予め参加申込をしてある方は、御手元の参加章に所属・氏名をご記入下さい。
2. 参加章をお忘れの方又は紛失された方は、総合受付へお申し出下さい。
3. 当日参加の方は、総合受付で参加費（¥5,000）をお支払の上、参加章及び「プログラム・要旨集」をお受け取り下さい。
4. 学会受付は午前8時15分より開かれています。
5. 会場へお入りの際は必ず参加章を胸におつけ下さい。胸ポケットのない方は、総合受付でピン付の名札入れをお受け取り下さい。
6. 会場内は禁煙です。喫煙は、必ず灰皿のある場所で行なって下さい。
7. 追加発言や討論の採択、時間の調整など、会場内での進行については座長の指示に従って下さい。
8. 駐車場は特に設けませんので御了承下さい。
9. 昼食は、会場内または付近の食堂・レストランを御利用下さい。但し、会場内の食堂は、12時半まで日大会館の職員専用となっておりますので、一般の方は12時半以降において下さい。
10. 会場内での写真撮影は固くお断り致します。
11. 懇親会（会費¥5,000）は当日の申し込みも受け付けます。出席を希望なさる方は、準備の都合上、なるべく早めに総合受付に御予約願います。

◆ 演者の方々へ

1. 一般演題

- 1) 口演時間は9分、討論・交代3分です。時間を厳守して下さい。
- 2) スライドは1演題10枚以内とします。
- 3) 発表の中止、演題又は演者の変更などは、できるだけ早く各会場の受付へお申し出下さい。
- 4) プロジェクターは1会場1台です。同一スライドを繰り返して使用される場合には、映写回数分の枚数を御用意下さい。
- 5) スライドはライカ判を使用し、なるべく横長の画面として下さい。
- 6) スライドには次に示す必要事項を明記して下さい。



- 7) スライドは予定時刻の30分前（午前9時～9時半開始の場合は15分前）に、各会場の受付へお渡し下さい。発表後、同じ受付でスライドをお受け取り下さい。
- 8) スライドをお渡しになる際に、「J. Toxicol. Sci.」に掲載する英文抄録を御提出願います。
- 9) 次演者は、早めに次演者席におつき下さい。
- 10) 口演中は座長の指示に従って下さい。

2. シンポジウム

- 1) 予め定められた口演時間を厳守して下さい。
- 2) スライドの枚数は、特に制限致しません。
- 3) その他の点は上記「一般演題4)～10)」を御覧下さい。

3. ワークショップ

- 1) 口演時間、スライド枚数ともに、予め定められたスケジュールに従って下さい。
- 2) その他の点は上記「一般演題4)～10)」を御覧下さい。

◆ 座長・司会者の方々へ

1. 当日は、御担当予定時刻の20分前（午前9時～9時半開始の場合は10分前）までに、各会場の座長受付で到着の旨を御登録願います。
2. 次座長は、早めに次座長席におつき下さい。

◆ 評議員会について

7月1日(月)正午より、第1会場（2階大講堂）にて開催致します。

◆ 総会について

7月2日(火)午前11時30分より第1会場（2階大講堂）にて開催致します。

◆ 懇親会について

7月1日(月)午後6時より、第2会場（8階801会議室）にて開催致します。
会場の受付でお名前をお示しの上、御入場下さい。

教 育 講 演

7 月 1 日(月)、11:00~12:00

第 1 会場 (2 階大講堂)

司会: 大森義仁 (国立衛試・安全性生物研)

The International Programme on Chemical Safety ; Past, Present and Future.

Dr. M. Mercier

(Manager, IPCS, Division of Environmental Health, WHO)

シンポジウム I

7月1日(月), 15:00~17:30

第1会場 (2階大講堂)

毒性発現機構の生化学的背景

司会：柏谷 豊 (東大・薬・薬品作用)

加藤隆一 (慶応大・医・薬理)

- S I. 1. Overview ——分子・生化学レベルからみた薬物の毒性発現
加藤隆一 (慶応大・医・薬理)
- S I. 2. チトクロムP-450による代謝的活性化および不活性化機構
鎌滝哲也 (慶応大・医・薬理)
- S I. 3. 代謝活性化体による生体高分子傷害とそのモデュレーション
山添 康 (慶応大・医・薬理)
- S I. 4. 薬物投与による毒性発現のモデュレーション
佐藤哲男 (東京薬大・薬理)
- S I. 5. 毒性発現における性差、系統差および種差
黒岩幸雄 (昭和大・薬・毒物)
- S I. 6. 腎毒性発現の生化学的特徴
高橋 惇、大野泰雄
(国立衛試・安全性生物研・薬理)
- S I. 7. 薬物性ペルオキシゾーム増殖の毒性上の意義
須賀哲弥 (東京薬大・臨床生化学)

シンポジウム II

7月2日(火), 14:30~17:00

第1会場 (2階大講堂)

微量元素の生体内動態と影響

司会: 土屋健三郎 (産業医大)

- | | | | |
|----------|--------------------|---------------|------------------------|
| S II. 1. | 生態学的見地からみた微量元素 | 鈴木継美 | (東大・医・人類生態) |
| S II. 2. | 元素間の相互作用 | 井村伸正 | (北里大・薬・公衆衛生) |
| S II. 3. | 必須性と修飾機構 | 木村修一 | (東北大・農・栄養化学) |
| S II. 4. | 解毒と耐性 | 吉川 博 | (岐阜大・医・公衆衛生) |
| S II. 5. | 量・反応関係における疫学 | 桜井治彦 | (慶応大・医・衛生) |
| S II. 6. | Comment 及びOverview | 和田 攻
野見山一生 | (東大・医・衛生)
(自治医大・衛生) |

ワークショップ

毒性試験における技術的問題をめぐって

7月1日(月), 14:30~17:30

第3会場 (9階904会議室)

W I. 薬物投与技術をめぐって

司会：柳田知司 (実中研・前臨床研)

(1) ラット胃内反復投与における誤投与の判定および防止技術

話題提供 飯塚 壮 (実中研・前臨床研・飼育実験)
大高忠彦 (野村生物科学研・毒性病理)

(2) ラット静脈内反復投与技術

話題提供 青野皆基 (武田薬工・中研・薬剤安全研)
堀井郁夫 (日本ロシュ研・毒性病理)

(3) ラットの胃内、静脈内投与限界容量

話題提供 和田直人 (ヘキストジャパン・総合開発研)

(4) 混餌経口投与における薬物濃度の調節

話題提供 田内清憲 (動物繁殖研・第三研)

(5) 投与困難な物性の薬物の剤形処理

話題提供 川崎 靖 (国立衛試・安全性生物研・毒性)

W II. 適切な臨床生化学検査法

司会：白須泰彦 (残留農薬研・毒性)

(1) 酵素活性測定の問題点

話題提供 松本一彦 (東洋醸造・安全研)

(2) 血漿と血清の選択

話題提供 津田修治 (残留農薬研・毒性)

(3) 電気泳動法による試料解析の問題点

話題提供 平田真理子 (実中研・前臨床研・血液化学)

(4) 臨床生化学検査値の統計処理の問題点

話題提供 田崎武信 (塩野義製薬・解析センター)

7月2日(火), 14:30~17:00

第2会場(8階801会議室)

WIII. 毒性病理組織診断をめぐって——毒性変化、死後変化及びアーチファクトの鑑別

司会：藤原公策 (東大・農・家畜病理)

林 裕造 (国立衛試・安全性生物研・病理)

話題提供 宮崑宏彰 (武田薬工・中研・薬剤安全研)

松沼尚史 (三共・安全研)

真板敬三 (残留農薬研・毒性)

渡辺満利 (実中研・前臨床研・実験病理)

今井 清 (食薬センター・病理)

堀井郁夫 (日本ロシュ研・毒性病理)

一般演題

7月1日(月)

第1会場(2階大講堂)

9:00 開会の辞

9:05~9:41 座長:佐藤哲男 (東京薬大・第一薬理)

9:05 1 四塩化炭素急性肝障害ラットの血液学的検討
○重永敏明, 大川直士, 早瀬孝子, 仙波 雅, 斎藤祐一
(大塚製薬・徳島研・安全性)

9:17 2 血漿グアナーゼ——ラットおよびマウスにおける測定条件について——
○鈴木 剛, 近藤正実, 須原郁雄
(武田薬工・中研・薬剤安全研)

9:29 3 マーモセットによるジメチルアミノアゾベンソン (DAB) の短期毒性試験
○松本清司, 落合敏秋, 関田清司, 川崎 靖, 内藤克司,
中路幸男, 降矢 強, 戸部満寿夫
(国立衛試・安全性生物研・毒性)

9:41~10:17 座長:鎌滝哲也 (慶応大・医・薬理)

9:41 4 1,1,1-トリクロロエタン (MC) 作用時ラット肝臓における過剰の酸素消費について
○高野健人, 宮崎良文, 本橋 豊
(東京医歯大・医・衛生)

9:53 5 肺異物代謝酵素系に対する重金属の影響
○福原守雄, 中浜隆之*, 高島英伍**, 藤田昌彦,
浦久保五郎*
(国立公衆衛生院, *東邦大・薬, **摂南大・薬)

10:05 6 Propylthiouracil によるラット肝マイクロゾームNADH cytochrome b₅ reductase の阻害
○李 英培, 仮家公夫
(神戸学院大・薬・薬理)

10:17~10:53 座長:高島英伍 (摂南大・薬・毒性)

10:17 7 兔肝ミクロゾームのシトクロームP-450再構成系による1,2-dibromoethane とhalothaneの脱ハロゲン反応
○田村信司*, 杉山俊博, 南 雄三*, 垂井清一郎*,
岡本光弘, 山野俊雄
(阪大・医・生化, *第2内科)

- 10:29 8 Allopurinol 投与によるラット Xanthine oxidase の誘導と薬動学的変化
○鈴木義裕, 須藤純一, 田辺恒義
(東日本学園大・薬・毒理)
- 10:41 9 エチルフェニルジチオカルバミン酸亜鉛 (ZEPC) の胎仔毒性(3)——ZEPC のメトヘモグロビン形成機序について
○中浦横介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中 悟, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁, 松本清司*
(国立衛試・安全性生物研・薬理, *毒性)
- 13:30~13:54 座長: 荒井昌之 (藤田学園保健衛生大・衛生・病理)
- 13:30 10 Dinitrofluorobenzene 塗布によるアミロイド症の誘発
○山本博昭, 浜田一枝
(河野臨牀医学研・病理)
- 13:42 11 Bis(4-amino-3-methylcyclohexyl)methane 投与ラットに見られた臨床病理学的変化について
○大島 晋, 芝田敏勝, 宮下雅子, 石塚正博, 清水禎彦, 藤田 勝, 佐々木則寛*, 奥田裕計*
(埼玉医大・第二病理, *労働衛生検査センター)
- 13:54~14:42 座長: 小野寺威 (第一製薬・中研)
- 13:54 12 実験的腎障害における血液および尿成分の変動——ラットおよびナキウサギの比較
○谷本義文, 平田真理子, 海上 智, 一戸一晃, 鈴木修三, 服部祐二
(実中研・前臨床研・血液化学)
- 14:06 13 銀染色法を用いた SDS-PAGE によるラット尿蛋白の解析
○一戸一晃, 海上 智, 平田真理子, 谷本義文
(実中研・前臨床研・血液化学)
- 14:18 14 Cisplatin の腎障害に対する抗酸化剤の影響
○杉原句美, 玄番宗一
(大阪薬大・薬理II)
- 14:30 15 ホスホマイシンによる抗癌剤の毒性軽減
○新里鉄太郎, 三木美智子, 梶田敏彦, 暮部 勝
(明治製薬・薬理安全研・安全性)

7月1日(月)

第2会場(8階801会議室)

- 9:00~9:36 座長:坂本浩二 (昭和大・医・第一薬理)
- 9:00 16 GLPに適合した毒性試験の自動化とその制御; 第7報 資料保管管理システム
○内田英一, 堀井郁夫, 塩崎裕通, 宇高奎二
(日本ロシュ研・毒性病理)
- 9:12 17 GLPに適合した毒性試験の自動化とその制御; 第8報 動物管理システム
○塩崎裕通, 堀井郁夫, 内田英一, 宇高奎二
(日本ロシュ研・毒性病理)
- 9:24 18 農薬の発癌性および生殖毒性についての国際機関による評価情報のデータベース化
○関沢 純
(国立衛試・化学物質情報)
- 9:36~10:12 座長:河合正計 (女子栄養大・保健衛生)
- 9:36 19 四塩化炭素一回吸入暴露での濃度一時間一反応の定量的関係
○上満信男, 美濃部安史, 仲吉 洋
(野村生物科学研)
- 9:48 20 吸入毒性試験における全身暴露, 鼻部暴露及び担体の影響
○岩崎 真, 吉田 稔, 池田孝則, 津田修治, 白須泰彦
(残留農薬研・毒性)
- 10:00 21 化学物質の吸入による気道及び肺の毒性学的研究(第2報)
○鎌田栄一, 内田雄幸, 鈴木幸子, 池田康和, 小川幸男,
金子豊蔵, 戸部満寿夫
(国立衛試・安全性生物研・毒性)
- 10:12~11:00 座長:榎本 眞 (日本バイオアッセイ研)
- 10:12 22 シリカ吸入ラットの肺および気管支リンパ節における粒子沈着と組織学的変化
○小木曾洋一, 山田祐司, 久保田善久
(放医研・内曝)
- 10:24 23 ブチルヒドロキシアニソール(BHA), ジブチルヒドロキシトルエン(BHT), およびt-ブチルヒドロキノン(TBHQ)のラット肺におよぼす影響
○坂本義光, 高橋 省
(都衛研・毒性)
- 10:36 24 BHT並びにBHAのマウス経皮毒性について
○宮川義史*, 古川文夫, 高橋道人, 林 裕造
(国立衛試・安全性生物研・病理, *日本たばこ生物センター)
- 10:48 25 コラーゲン合成抑制薬Dehydroproline と Paraquat 誘発肺線維症
○赤堀文昭, 沖中富朗, 政岡俊夫, 新井成之
(麻布大・獣医・薬理)

13:30~14:06

座長：重信弘毅

(東大・薬・薬品作用)

13:30 26 鎮咳剤配合成分の相互作用

○沼田弘明*, **, 飯塚宏美*, 岡 哲雄**, 柳田知司*

(* 実中研・前臨床研, ** 東海大・医・薬理)

13:42 27 ラットにおける薬剤の経口急性毒性に及ぼす摂餌条件の影響

○戸塚繁夫, 戸塚 保, 菅野昭永, 木村邦男, 森 昌弘,
増田 裕

(三共・安全研)

13:54 28 アスピリン服用時における活性炭のアスピリン吸着に及ぼす食物の影響

○新井克明, 佐藤信一, 吉野清高, 町島 啓, 山下 衛*,
内藤裕史*

(筑波大病院・薬剤, 麻酔*)

7月2日(火)

第1会場(2階大講堂)

- 9:00~9:36 座長:宇高奮二 (日本ロシュ研・毒性病理)
- 9:00 29 歯科材料の安全性評価(2)——Ni-Cr合金の変異原性——
○桑井康宏, 小沢和子, 吉居英一, 麻生田泉, 佐藤温重
(東京医歯大・歯・第二理工)
- 9:12 30 ラット肝の前癌病変を指標としたin vivo 短期検索法による農薬および生活関連物質の発癌修飾の検索
○井川悦男, 田川義章, 津田洋幸, 白井智之, 伊東信行
(名市大・医・一病)
- 9:24 31 各種酸化防止剤の肝前癌病変に対するin vivo 短期検索法による抑制作用の追求
○米良幸典, 井上忠志, 広瀬雅雄, 立松正衛, 伊東信行
(名市大・医・一病)
- 9:36~10:24 座長:渡辺民朗 (東北大・抗酸研・癌化学)
- 9:36 32 ラットBBN膀胱腫瘍発生に及ぼすBusulfanの影響
○日比野勤, 平沢 浩, 荒井昌之
(藤田学園保健衛生大・衛生・病理)
- 9:48 33 Na塩化合物投与ラットの尿性状および膀胱上皮の形態学的変化
○柴田雅朗, 倉田 靖, 小木曾正, 増井恒夫, 福島昭治,
(名市大・医・一病)
- 10:00 34 膀胱発癌における酸化防止剤のプロモーション作用とその用量効果
○小木曾正, 玉野静光, 柴田道子, 福島昭治, 伊東信行
(名市大・医・一病)
- 10:12 35 ラット膀胱発癌に対する α -Tocopherol, TBHQおよびPropyl gallateの効果
○倉田 靖, 柴田道子, 米良幸典, 立松正衛, 広瀬雅雄
(名市大・医・一病)
- 10:24~11:12 座長:福島昭治 (名市大・医・一病)
- 10:24 36 ラット神経系及び関連臓器組織の自然発生腫瘍
○前川昭彦, 小野寺博志, 林裕造
(国立衛試・安全性生物研・病理)
- 10:36 37 B6C3F1系マウスの自然発生腫瘍
○玉野静光, 萩原昭裕, 柴田雅朗, 白井智之, 津田洋幸
(名市大・医・一病)
- 10:48 38 Guazatineのラットにおける24ヵ月慢性毒性試験
○平野雅裕, 真板敬三, 三森国敏, 白須泰彦
(残留農薬研・毒性)

- 11:00 39 Guazatine のマウスにおける24ヵ月慢性毒性試験
 ○真板敬三, 三森国敏, 平野雅裕, 白須泰彦
 (残留農薬研・毒性)
- 13:00~13:24 座長:堀内茂友 (国立衛試・安全性生物研・毒性)
- 13:00 40 四塩化炭素連投後の肝重量の影響評価について
 ○上満信男, 西村千尋, 仲吉 洋
 (野村生物科学研)
- 13:12 41 ナキウサギの皮膚刺激試験用動物化への試み; (1)ナキウサギの皮膚構造について
 酒井健夫, ○山田俊治, 谷口雄三*, 児玉幸夫**, 堀内茂友**
 (日大・農獣医・衛生, *奈良医大, **国立衛試)
- 13:24~14:00 座長:井村伸正 (北里大・薬・公衆衛生)
- 13:24 42 メチルヒ素化合物(モノ, ジ, トリ)の代謝と排泄
 ○山内 博
 (聖マ医大・公衆衛生)
- 13:36 43 マウスの血漿中酵素活性値を指標としたメチル水銀と亜セレン酸ナトリウムの相互作用について
 ○姫野誠一郎, Ong Choon Nam*, 鈴木継美
 (東大・医・人類生態, *Nat. Univ. Singapore Fac. Med.)
- 13:48 44 亜セレン酸ナトリウム投与がマウスの体温に及ぼす影響
 ○渡辺知保, 鈴木継美
 (東大・医・人類生態)

7月2日(火)

第2会場(8階801会議室)

- 9:00~9:24 座長:真板敬三 (残留農薬研・毒性)
- 9:00 45 放射性医薬品(骨診断薬)の傷害骨に及ぼす影響について
○古川文夫, 豊田和弘, 高橋道人, 林 裕造
(国立衛試・安全性生物研・病理)
- 9:12 46 ラット関節軟骨の発達とピリドンカルボン酸系抗菌薬による関節障害について
○加藤道幸, 小野寺威
(第一製薬・中研)
- 9:24~10:00 座長:渡辺満利 (実中研・前臨床研・実験病理)
- 9:24 47 ラットにおける脊髄腔内投与法の検討
○柿畑耕司, 保科 孝, 野村 護, 小野寺威
(第一製薬・中研)
- 9:36 48 酢酸のラットにおける坐骨神経周囲への接触暴露による影響——注射による末梢神経麻痺の動物実験の試み——
○杉本哲朗, 浅野 忠, 福島 直, 鈴木繁生, 広瀬敬子, 二木力夫
(中外製薬・開発研)
- 9:48 49 ラットにおける高張輸液の大量投与による病理学的変化——特に脳病変について——
○栗栖和信, 川口義郎, 長沢孝二郎, 富山嘉六, 川島裕造
(大塚製薬・毒性薬理)
- 10:00~10:36 座長:後藤正義 (ヘキストジャパン・総合開発研)
- 10:00 50 ダクチマイシンのモルモット聴覚器試験
○坂本匡一, 小林文子, 横田正幸, 暮部 勝
(明治製薬・薬理安全研・安全性)
- 10:12 51 Phenobarbitalのleptophos 遅発性神経毒性軽減効果
○紺野信弘, 山口靖明, 山内 徹, 福島匡昭
(福島医大・公衆衛生)
- 10:24 52 キノホルム投与によって運動障害を発現したラットにおける脊髄反射
○小野秀樹, 日野正孝, 福田英臣
(東大・薬・毒性薬理)
- 10:36~11:12 座長:福田英臣 (東大・薬・毒性薬理)
- 10:36 53 有機塩素系殺虫剤によるマウスのけいれんについて
○森尾保徳, 矢ヶ崎修
(大阪府大・農・家畜薬理)

- 10:48 54 低酸素下のマウス横隔膜筋における自発性伝達物質遊離
○西村昌数
(大阪府大・農・家畜薬理)
- 11:00 55 神経機能障害性のin vitro 検索法に関する研究[1]: 神経系クローンNG108-15
の電気生理的特性に及ぼすクロルデンの影響
○井上和秀, 藤森観之助, 溝上敬之助, 藤内桃子,
高仲 正, 大森義仁
(国立衛試・安全性生物研・薬理)
- 13:00~13:36 座長:水谷正寛 (食薬センター)
- 13:00 56 Ochratoxin Aの新生仔期投与によるマウス小脳発育障害について
○福井義浩, 星野 清, 亀山義郎
(名大・環研)
- 13:12 57 Alloxanに対する新生仔, 離乳仔, 若齢成熟ラットの感受性について
○久野博司, 松井恭子, 白居敏仁
(日本メルク萬有研)
- 13:24 58 ラットにおけるtrypan blue 催奇形性の系統差
○星野 清, 織田鉄一, 福井義浩, 亀山義郎
(名大・環研)
- 13:36~14:12 座長:亀山義郎 (名大・環研)
- 13:36 59 Butyrophenone系向精神病薬のラットにおける着床遅延作用の検討
—Estrogenの役割について—
○原田滋雄, 持田一夫, 高山 敏
(第一製薬・中研)
- 13:48 60 Polychlorinated Terphenyls (PCTs) 投与妊娠マウスの血中Corticostero-
ne 量と口蓋裂発生に及ぼすMetyrapone の影響
○金子豊蔵, 小川幸男, 池田康和, 鎌田栄一, 戸部満寿夫
(国立衛試・安全性生物研・毒性)
- 14:00 61 ラットにおける胎生期動脈管の検索方法についての検討
○川島 明, 清水万律子, 宇高奎二
(日本ロシュ研・毒性病理)

教 育 講 演

THE INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY; PAST, PRESENT AND FUTURE: Dr Michel MERCIER (Manager, IPCS, Division of Environmental Health, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland)

The origins of the International Programme on Chemical Safety (IPCS) go back to 1977, when the World Health Assembly, concerned about the increase in the extent and nature of chemical pollution over the previous 30 years, requested the Director-General of the World Health Organization (WHO) to study the problem of long-term strategies to control and limit the impact of chemicals on human health and the environment.

The IPCS was initially conceived as a WHO activity; however, the need to ensure close collaboration and coordination with Organizations in the United Nations system was stressed by the WHO Executive Board. In April 1980 a Memorandum of Understanding was signed by the executive heads of UNEP, ILO, and WHO, making IPCS a cooperative effort. FAO collaborates with IPCS in the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and the Joint FAO/WHO meetings on pesticide residues.

The objectives of the IPCS can be summarized as follows:

1. to carry out and disseminate evaluations of the effects of chemicals on human health and on the quality of the environment; (These evaluations are published in several forms: Environmental Health Criteria Documents, Executive Summaries, Toxicological Monographs on Food Additives and on Pesticide Residues in Food, ...)
2. to develop guiding principles on exposure limits (such as acceptable daily intakes, and maximum permissible or desirable levels in air, water, food and the working environment), for several types of chemicals including household products, contaminants, cosmetics, food additives, industrial chemicals, toxic substances of natural origin, plastics, packaging materials, and pesticides;
3. to develop methods that could produce internationally comparable results, particularly as regards epidemiological and experimental laboratory methods, the effects of exposure to multiple chemicals and the extrapolation of experimental data to effects on human subjects;
4. to coordinate laboratory testing and epidemiological studies, when an international approach is appropriate, and to promote research on dose-response relations and on mechanisms of the biological action of chemicals;
5. to develop know-how for coping with chemical accidents, and to promote effective international cooperation in this field;
6. to promote technical cooperation with respect to specific issues concerning control of toxic substances in Member States;
7. to promote training and development of manpower in the field of toxicology.

Since 1980 there has been a steady growth in the number of Member States actively participating in the Programme through their national institutions. Agreement regarding collaboration between IPCS and governments or individual institutions is formalized in a Memorandum of Understanding. The Memorandum is therefore the basic instrument by which those governments who choose to support IPCS

undertake a commitment to implement specific IPCS activities through their national institutions and provide resources, both to the central unit and to their national institutions.

Memoranda of Understanding have been signed with 17 Member States (Belgium, Brazil, Bulgaria, Canada, Czechoslovakia, Finland, Federal Republic of Germany, India, Israel, Italy, Japan, Netherlands, Norway, Sweden, Union of Soviet Socialist Republics, United Kingdom, and the United States of America) and negotiations are well advanced with several others, including Australia, The Philippines, France, Saudi Arabia, Kuwait and Thailand.

The working mechanism of the IPCS is a network of Participating Institutions (PIs). Presently there are 47 national IPCS Participating Institutions within the Programme.

Two international lead institutions have been designed to assist and work closely with IPCS: the International Agency for Research on Cancer (IARC), in chemical carcinogenesis; and the International Register of Potentially Toxic Chemicals (IRPTC) of UNEP for the collection, retrieval and dissemination of information.

The IPCS derives its resources from the WHO regular budget, from UNEP and, to a large extent, from voluntary contributions by several Member States. Resources available in 1985 amount to approximately US\$ 3,5 million.

In addition to monetary resources, several countries assist the IPCS by providing "contributions in kind" which cannot be accurately quantified.

シンポジウム

S I. 1. Overview — 分子・生化学レベルから みた薬物の毒性発現

加藤 隆一

慶応大・医・薬理

薬物の毒性発現には投与された分子そのものが毒性発現の引き金になる場合と投与された分子が代謝されて生物学的に活性な中間体となって毒性を発現する場合に分けられる。

前者の場合は、特殊の化学物質に限定されており、化合物として安定ではあるが、生体の特殊な基・構造または受容体などと反応して毒性を発現する。一方、後者の場合には、主として肝および各臓器のチトクローム P-450 により代謝されると、さわめて反応性に富む中間体が生成され、蛋白・核酸・酵素などと反応して adduct (付加体) を作る。

現在、知られている細胞毒性・遺伝毒性・発癌性を示す有機化学物質のほとんどは代謝的活性化によって生体高分子を傷害して、毒性発現を示すものと考えられている。

それゆえ、代謝的活性化・不活性化のバランス、さらに生体側の防御機構などが毒性発現の鍵を握っており、これら諸因子の変動により、その毒性発現が規定されているといえよう。

本シンポジウムにおいては各方面からこれらの点に関して討議が行なわれ、今後の毒性学研究の指針となる成果が得られることを期待したい。

5.1.2. 肝ミクローム P-450による代謝活性化 および不活性化機構

鎌滝 哲也

慶応義塾大学 医学部 薬理

近年肝ミクローム P-450 (以下 P-450) の分子レベルでの研究が飛躍的に進歩しており、毒性学的立場からも新たな対応が求められているように思われる。そこで著者らの実験結果も交えながら最近の研究の方向と問題点につき述べる。

P-450の分子多様性に関連して

肝ミクロゾームを用いて研究していた当時から薬物代謝酵素の複数性が提唱され、それを実証する形で P-450 の分子多様性が研究された。カラムクロマトグラフィーにおける挙動、スペクトルの性質、鉄媒活性による区別に加え、免疫化学的検討、精製酵素の N-末端アミノ酸配列の決定そして cDNA のクローニングによりいくつもの P-450 種の分子多様性が確認された。各々の P-450 種の毒性学的意義としてその基質特異性と肝ミクロゾームにおける存在量が検討されている。著者らが PCB 前処置ラット肝ミクロゾームから精製した 4 種の P-450, P-450 I-c, I-d, P-448 II-a, II-d を例にとると、P-450 I-c と I-d はベンツピレンの活性化 (変異原生成) と不活性化 (水酸化) において区別されるが免疫的には区別できず各々を免疫定量することはできない。P-448 II-a (高スピン型) は Trp-P-2, IQ, Glu-P-1 の活性化能が高く、P-448 II-d (低スピン型) はベンツピレンの活性化と不活性化のいずれも効率よく鉄媒する。これらは免疫的に部分的に交叉反応を示す。これらのことは P-450 種は構造の似たグループに分かれ、各々のグループに何種類ものアイソザイムが含まれていることを示唆する。アイソザイムによって基質特異性が異なる以上、各々を厳密に定量できる方法

の開始が望まれる。

P-450による活性化と不活性化は精製酵素を用いて検討されている。しかしながら精製酵素の活性の再構成の方法によって活性値の変動がみられる。一方、クローン化されたcDNAをプラスミドに組み込み単一のP-450種を酵母や細菌で大量に発現させることがOhkawaらの研究グループによって実現されている。今後このようにして得られたP-450をどのように毒性学に導入して研究を進めるかということも重要な課題といえよう。

活性化・不活性化と毒性発現の場

発癌物質を投与するときに、フェノバルビタールなどのいわゆる薬物代謝酵素誘導剤を同時に投与すると、発癌が抑制されることが多い。このことは、たゞ之代謝されて毒性が発現するような物質であっても、他の解毒的経路が多いか否か、誘導酵素が解毒的代謝を触媒するか否かで毒性が変動することを示唆する。

生成された代謝産物の安定性(あるいは反応性)もしばしば問題となる。反応性が強いときは代謝産物生成に関与する酵素が最も近傍に存在するとこからその酵素タンパクに直ちに結合する。安定な代謝産物は他の器官にまで運搬されそこで生体高分子に結合して毒性を発現すると考えられる。一般に共有結合量と毒性発現の間に相関性があるといわれている。しかしながら、タンパクへの結合がDNAへの結合を防いでいるというようは防御的役割も考慮すべきと思われる。

S I. 3. 代謝活性化体による生体高分子傷害と そのモデュレーション

山 添 康

慶應義塾大学医学部薬理

化学物質の生体高分子への共有結合はその毒性や癌原性の発現の初期におこる重要なステップであり、その反応性は化学物質自身の反応性と共に生体側の諸条件によつて大きく影響されている。実際生体内における化学物質と生体高分子との反応は常に何らかの内的又は外的因子によるモデュレーションを受けると考えることが出来る。このことから生体高分子傷害とそのモデュレーションの機構を知ることによつて、化学物質による毒性発現の予知および毒性発現機構のより深い理解が得られるものと考えられる。

活性化の機構と生体高分子傷害

化学物質を生体に投与すると主として肝の酵素系により、その化合物の構造に応じ求電子性を有する究極活性体に変換され、ついで解毒を免れたその一部が生体高分子と反応し、付加体を形成する。生体高分子である蛋白および核酸への化学物質の反応選択性は個々で異なり、活性中間体が同じヒドロキシルアミンであっても、アセチルアミノフルオレン(AAF)は核酸と比較的反應するが、2,4-ジアミノアニソールはほとんど蛋白のみと反應する。一般に活性化化学物質と蛋白あるいは脂質との反応は、酵素の失活や代謝異常を引き起こし、結果的にその毒性を発現すると考えられる。一方DNAやRNAとの共有結合は発癌および遺伝毒性の原因となるとされている。

生体高分子傷害の機構とそのモデュレーション

芳香族アミンは肝のミクロゾーム酵素系によつてN-水酸化を受けN-ヒドロキシアミンあるいはN-ヒドロキシアミドに変換されたのち

直接あるいはさらには酵素的なエステル化を受けたのち生体高分子と反応する。よく知られているように薬物代謝酵素の誘導剤である3-メチルコラントレン(MC)を動物に前処置するとAAFの活性化経路であるN-水酸化が促進され、結果的にDNAへの結合も増加する。一方、肝の代謝活性系の変動が肝以外の組織における毒性にも影響を及ぼすことも知られている。4-アセチルアミノスチルベン(AAS)は胃底部および骨髄を傷害するが、この毒性はMCの前処置によって軽減される。MCの投与によって尿および胆汁に排泄される抱合体の量が増加すること、そしてヘモグロビンへのAASの結合量が著しく低下することから、活性化N-水酸化体の血流への移行の減少がこの毒性軽減の原因とされている。また可溶性酵素系によって触媒されるエステル化反応も様々なモデュレーションを受ける。AAFをSD系ラットに投与して起こる肝の壊死あるいは肝癌の発生には性差があり、その発生は雄が顕著であり、雌では軽微である。この毒性発現に見られる性差は代謝中間体であるN-ヒドロキシルAAFをより活性化は硫酸エステル体に通くアシル硫酸転移酵素の量比に由来するとされている。最近、我々はN-アセチル転移酵素がアミンのN-アセチル化だけでなく、おそらくは直接的なO-アセチル化によってN-ヒドロキシルアミンを活性化することを明らかにした。この酵素はN,O-アシル転移酵素とも同一と考えられるが、SD系とFischer系ラットの乳癌発生に認められる系統差はこの酵素活性の差異に基づくこととされている。上述の例のように種々の内的あるいは外的因子が化学物質による生体高分子傷害を修飾し、結果的にはその毒性の発現をも修飾していると考えられるが、毒性の発現は損傷を受けた生体高分子の生体内半減期や修復機構の有無、損傷の固定等の高分子傷害以降に起こる反応も考慮すべきと考えられる。

S I. 4. 薬物投与による毒性発現の モデレーション

佐藤哲男

東京薬科大学 第一薬理学教室

異物の毒性は生体がつ固有の修復能力の限界を越えた時初めて発現するもので、細胞機能の精巧なカラクリがそのまま毒性のメカニズムの複雑さとなって現われる。したがって、多くの場合、複数の要因が密にからみ合っている。日常臨床で用いられている多種の薬物は予防、治療効果という好ましい性質をもっている反面、生体にとっては産業化学物質と同様に単なる異物として認識し、同一のプロセスにより処理される。

薬物投与による毒性の発現は生体と薬物との相互作用に基づくものであり、これを考える場合、生体側の要因のモデレーションが重要なカギとなる。さらに、複数の異物が生体に対して同時に作用した時、それらの相互作用も考えねばならない。今回は臨床で繁用されている医薬を中心にそれらを投与した場合の毒性について述べる。

1. 代謝酵素活性の変動による毒性のモデレーション

広義の薬物代謝酵素の誘導、阻害に関する研究は近年多くの例について報告されており、特に医薬-医薬、医薬-化学物質間の相互作用は薬理効果、毒性を正確に理解する上で必須である。フェノバルビタール、フェニトイン、アルコールなどによる酵素誘導はよく知られた事実であるが、それ以外にもリファンピシン、エリスロマイシン、セフェム系、テトラサイクリン系などの抗生物質や、サルファ剤などによる酵素の誘導または阻害作用も併用薬物の毒性を修飾することから重要な意味をもっている。

2. 先天性酵素欠損による薬物毒性のモデレーション

薬物の毒性を考える場合、患者側の正常性を予め知る事が必要である。その点で薬理遺伝学的研究は重要な指針を与える場合が少くない。例えば、プロカインやサクシニルコリンの分解酵素である非特異性エステラーゼの欠損患者では、常用量でも明らかな副作用がみられる可能性が大きい。また、無カタラーゼ症、グルクロニルトランスフェラーゼ不全、アセチルトランスフェラーゼ不全の患者では、薬物代謝能の低下により毒性が発現する例が知られている。さらに、疾病により特定の器官の機能が低下した患者では、薬物の毒性が健常人に比べて発症し易いことがある。例えば、肝炎、腎炎の患者はそれらの代謝能が低下しているため、薬物を使用した時、薬効、副作用に直接影響する。

3. 細胞構成因子の薬物によるモデューレーション

薬物代謝酵素のみならず細胞の内在性物質が量的に変動した場合、薬物の毒性は大きく影響を受ける。例えば、解毒経路として近年注目されているグルタチオン抱合は、細胞内グルタチオンレベルやグルタチオン生成系により左右される。例えば、肝細胞内グルタチオンが何らかの原因で減少した場合、薬物の毒性が増強される例はよく知られており、特に活性代謝物の処理機構として重要な位置づけがなされている。また、異物の投与による脂質過酸化の亢進やフリーラジカルの生成も細胞毒性の重要な因子として考えねばならない。さらに、パラコートなどの肺毒性を解析する場合、酸素分圧も大きな要因となる。

以上の観点からみた薬物の毒性とそれに関与する諸因子について生化学的立場から考察したい。

黒岩 幸雄

昭和大学・薬学部・毒物学

生体に摂取された大部分の薬毒物は，肝臓をはじめとする種々の臓器に存在する薬物代謝酵素およびその他の酵素により代謝され，その薬効や毒性発現が左右されることは良く知られている。一般的に，薬毒物の毒性発現には，多くの場合代謝を受けて活性中間体を生じ，これが蛋白や核酸などの生体高分子と共有結合を形成することが重要なステップとなる。従って，生体内における薬毒物の毒性発現は，活性代謝物の生成速度とともに，その不活性化の機構の存在およびその速度により影響される。活性代謝物の生成およびその不活性化は，動物の種，系統，性により差異が認められており，このことが薬毒物の毒性発現の種差，系統差，性差の大きな原因とされている。

一方，化学発癌剤等の毒物の毒性発現過程においては，様々な酵素系の変動を伴うことも多く，またその様な変動にも，種差，系統差，性差があることが確認されている。今回，薬毒物の毒性発現に関与する酵素系に焦点をあて，当研究室で得られた結果も含め，上述した両面から眺め，述べることにする。

化学発癌剤をはじめ，典型的な毒性化合物の多くは，生体に侵入すると，先ずチトクロム P-450（以下 P-450）により活性代謝物に代謝される。現在，P-450 には多様な分子種が存在し，それは動物種，系統，性により異なり，さらには誘導剤の投与等によっても異なることが明らかにされている。この様な差異が毒性発現の大きな原因となってる例としては，2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF) による発癌作用がモルモットでは出現せず，またマウスや雌ラット

で弱いことが挙げられる。ブロムベンゼンの肝障害作用もマウスで系統差が認められ、またラットで誘導剤投与による差異も知られ、フェノバルビタールは肝障害を増強する。いずれの場合も、ブロムベンゼンエポキシド体の生成がどの種の P-450 によって生成するかその差異に基づいている。

毒物が P-450 により活性代謝物に代謝されると、それはさらに抱合反応等を受け、より反応性の高い代謝物の形成をみたり、あるいは反応性を消失（解毒）する。この過程にも、かなり大きな種差、系統差、性差が存在し、N-OH-2-AAF の硫酸転移酵素活性は雄ラット >> 雌ラット >>> マウス、ハムスター、モルモットであり、その肝癌誘発率とよく対応する。さらには、グルクロン酸転移酵素、グルタチオン転移酵素、エポキシド水解酵素等の活性にも種差、系統差、性差が顕著に認められており、この様な差異が薬毒物の毒性発現に大きく関与してくることは言うまでもない。しかしながら、薬毒物の代謝に関与する酵素系で認められている種差、系統差、性差が総ての薬毒物に対して、必ずしも同一方向に作動するわけではないため、対象とする薬毒物について一つ一つ詳細な検討を加えていかなければならない点を念頭に入れる必要がある。

ところで、薬毒物の多くは、毒性発現の過程において様々な生化的変動をもたらすが、2-AAF をはじめ化学発癌剤の作用はとくに興味深いものがある。

2-AAF を餌に混入し、ラットに投与すると、P-450 の増加、b5 の顕著な増加、グルクロン酸転移酵素、グルタチオン転移酵素およびエポキシド水解酵素活性の著明な上昇が認められ、一方硫酸転移酵素活性は有意に低下する。この様な現象に伴い、2-AAF の N-水酸化活性の上昇、さらには 2-AAF の変異原性活性の上昇も認められる。2-AAF 投与によるこの様な酵素系の変動は大雑把にみて雄ラットでより顕著であり、また若干のラット系統差も認められる。一方、マウスでは 2-AAF の効果はほとんど認められず、種によって異なることが明らかである。2-AAF 投与による薬物代謝酵素系のこの様な変

動は比較的長期にわたって持続する。P-450含量は後期には著明に低下するが、b5は最終的には対照値へと回復する。抱合系の酵素のうち、グルクロン酸転移酵素やグルタチオン転移酵素活性の上昇は発癌全過程を通して認められる現象である。個々の酵素の変動については、他の化学発癌剤についても確認されており、例えば3-MeO-AAB等はP-448(H)を選択的に誘導すること、あるいはエポキシド水解酵素はアフラトキシンB1や3-Me-DAB等でも誘導されること等々、発癌過程におけるこの様な酵素の変動をどの様に位置づけていくかが今後の課題であろう。

この様に、薬毒物の毒性は動物の種、系統、性をはじめ多岐にわたる要因を背景に発現されていると言えよう。薬毒物の毒性発現における種差、系統差、性差を明らかにし、その機構を解明していくことは、ヒトでの毒性評価の信頼性を高めていく上で有用な研究課題である。

高橋 惇, 大野泰雄

国立衛試・安全性生物研・薬理

腎臓は高濃度の化学物質に暴露され易い臓器であり、多くの化学物質が腎毒性を起こす。腎毒性発現機序には直接作用、免疫学的機序、血行動態の変化、尿細管あるいは尿管の閉塞などがあるが、この毒性発現機序を考える場合、その化学物質自身が作用するのか、その代謝物が作用するのかを考えなければならない。また、代謝物が腎毒性を発現する場合、その代謝物が肝臓で生成するものか、腎臓で活性化されるものか、あるいはこの両臓器が活性化に関係するものかを考えなければならない。腎臓における薬物代謝活性は肝臓に比較すると低く、肝臓のそれほど研究は進んでいないが、最近、腎臓での薬物代謝の生理学的、毒性学的役割の解明に関する関心が高まり、また、薬物代謝活性の高感度測定法が開発され、腎の薬物代謝活性およびその機能が明らかにされつつある。腎臓での化学物質の活性化には腎皮質のチトクロームP-450(Cyt.P-450)系と腎髄質のprostaglandin endoperoxide synthase(PES)系が主として関与しているとされている。腎臓のCyt.P-450含量は比較的種属差が小さく、また、その含量は肝臓の1/3 ~1/18であるのに対し、アミノピリンの脱メチル化活性には大きな種属差がみられ、肝臓の1/20 ~1/400であった。腎臓には脂肪酸の水酸化に関係するCyt.P-450と異物代謝に関係するCyt.P-450との少なくとも2つの分子種が知られている。また、肝組織ではmixed-function oxidaseが比較的均等に分布しているのに対して腎臓では主に近位尿細管細胞に局在している。そこで、これらの細胞はCyt.P-450系で活性化される化学物質の影響を受け易いことが予想され、クロロホルム、四塩化炭素、アセトアミノフェン、4-ipomeanolなどはこれらの細胞で活性化されるとされている。クロロホルムはtrichloromethanolを経てホスゲンとなり、腎毒性を発現させると考えられている。また、腎臓でのアセトアミノフェンの活性化には1) Cyt.P-450による活性化の他に、2) PES系による活性化、と3) アセトアミノフェンの脱アセチル化によって生じるp-アミノフェノールがさらに腎ミクロゾームの酵素によって活性化され

る少なくとも3つの機序が考えられている。一方、フェナセチン(PC)の腎毒性はラットよりモルモットにおいて強く現れ、また、モルモットの肝臓でのPCからのp-アミノフェノールの生成はラットより多く、PCの腎毒性発現には一部、肝での代謝も関係している可能性も否定出来ない。4-*Ipomeanol* は腎の主な障害部位である近位尿細管細胞の成分と共有結合し、腎髄質細胞成分とは結合しないことが報告されている。また、N-ニトロソジメチルアミン(NDMA)と2,4-キシリジンは腎組織成分と共有結合することからこれらの化合物の腎臓での活性化も示唆される。NDMAは腎臓でも脱メチル化され、その活性には種属差があった。セファロリジンは腎臓に取り込まれ、腎臓に特異的に蓄積することが腎毒性発現と密接に関係していると考えられているが、その毒性発現機序は明らかにされていない。おそらくこれもCyt.P-450系で活性化されるものと推定されている。PES系はベンチジンおよび5-ニトロフラン化合物をも活性化させるとされている。また、腎臓で特異的に活性化され、腎毒性を発現するものとしてhexachloro-1,3-butadiene(HCBD)についての報告がある。HCBDは肝臓でグルタチオン抱合されるが、腸管および腎臓でシステイン抱合体となり、これが腎のcysteine conjugate β -lyaseによって活性化され、特異的に腎障害を起こすとされている。

代謝的活性化を受けずにそれ自身が腎毒性を発現するものとしては次のような化合物がある。アミノグリコシド系抗生物質の腎毒性発現機序として、膜透過性の変化、ミトコンドリアの機能低下などの他、リソゾームとの関係が考えられている。リソゾームは多くの加水分解酵素を含むオルガネラであるが、アミノグリコシドは近位尿細管細胞のリソゾーム中に濃縮され、リソゾーム酵素活性に影響を及ぼす(phospholipidの代謝阻害など)か、リソゾーム酵素の遊離に関係すると考えられている。また、ピュロマイシン・アミノヌクレオシドの糸球体障害の発現機序として腎cathepsin D様蛋白分解酵素との関係が報告されている。一方、重金属の腎毒性発現機序としては蛋白のSH基と結合し、多くの酵素系を阻害するか、または脂質の過酸化を起こし、細胞膜の透過性、ミトコンドリアにおけるエネルギー産生などに影響を及ぼすとされている。最近、低用量の塩化第二水銀をRT1ⁿハプロタイプのBrown-Norway系ラットに投与すると自己免疫病と考えられる膜性糸球体症を誘発するが、RT1^lのLewis系ラットでは水銀に対する感受性が低いことより、水銀に対する感受性は主要組織適合遺伝子複合体(MHC)内の遺伝子に支配されているとの報告がある。免疫学的機序による糸球体腎炎を解明する上でこの種の研究も重要と思われる。

S I. 7. 薬物性ペルオキシゾーム増殖の 毒性上の意義

須賀哲弥

東京薬科大学 臨床生化学教室

ペルオキシゾームは動・植物細胞内小器官として広く分布しており、直径約300nmの比較的電子密度の高い顆粒である。ここには各種の酸化酵素が存在し、いずれも反応の過程で過酸化水素を生成することを共通の特徴とする。またこの過酸化水素を分解するカタラーゼもこの顆粒に存在する。

近年になって、クロフィブレートを始めとする各種脂質低下薬を投与したラットおよびマウス肝において、ペルオキシゾーム数の増加やある種のペルオキシゾーム酵素の増加が顕著に起ることが報告され、それらの変化と薬物の肝毒性との関連性が注目されている。

演者らはこれまでに脂質低下薬を中心に各種薬物の肝ペルオキシゾームに対する影響をラットを用いて生化学的に調べてきたので、その結果をもとにこれらの変化の特徴とその毒性学上の意義について論議したい。

1. 薬物による肝ペルオキシゾームの変化

各種ペルオキシゾーム酵素のうち、薬物によって誘導されやすい酵素は脂肪酸代謝に関与する fatty acyl-CoA oxidizing system (FAOS) および carnitine acetyl-transferase (CAT) であり、catalase がそれに続く。薬物に関しては、クロフィブレート誘導体は例外なく上記酵素を誘導するが、それと構造を異にする薬物でも酵素誘導を誘起するものは多い。また D-amino acid oxidase (DAAO) や urate oxidase (UO) などは薬物によって上昇する場合と低下する場合とがある。薬物によるこれらペルオキシゾーム酵素

の誘導は、変化する酵素群およびその程度により分類することができる。

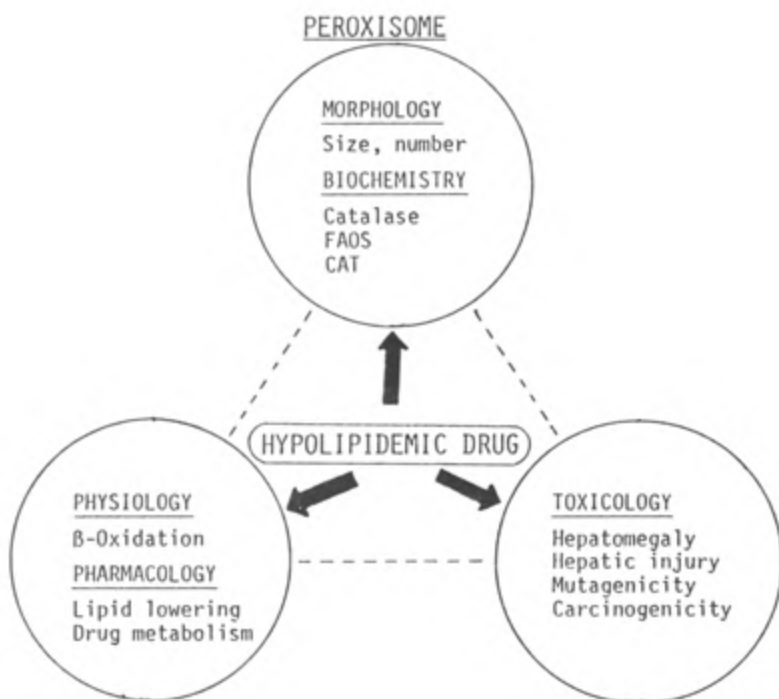
2. ペルオキシゾーム変化の特性

代表的な脂質低下薬であるクロフィブレートを用いて、肝ペルオキシゾーム酵素変化の特性を調べた。薬物による酵素誘導は、その細胞内分布や基質に対する特性には変化をもたらさない。その変化には種差があり、ラットは最も反応性の高い動物であり、ウサギ・ニワトリでは変化は小さい。また性差に関しては雄の方が変化の割合が大きい。

3. ペルオキシゾーム変化の意義

Reddy らは、ペルオキシゾーム増加作用の強い薬物を長期間投与すると、ラットやマウスで高頻度に肝癌が発生するとしている。彼らはその機序として薬物自身による DNA 修飾のほかに、ペルオキシゾーム酸化酵素の活性上昇にもとづく過酸化水素の過剰生成が肝肥大・肝障害・肝癌などに関与すると主張している。また一方で薬物による肝ペルオキシゾーム増加がその脂質低下作用の一部にも寄与するとの考えもある。従って薬物による肝ペルオキシゾーム変化は薬物の薬理作用あるいは毒性評価のスクリーニング法として重要であると考えられる。

薬物による肝ペルオキシゾームの生化学的変化を試験する場合に下記の事項について十分考慮する必要がある。すなわち薬物の投与方法（用法・用量）、投与期間および回復試験、測定項目（血中成分・肝酵素活性）、陽性対照薬物、動物の種差および性差などであり、これらについての適切な選択が必要である。



生態学的見地からみた微量元素

鈴木 糺美

東大医 保健 人類生態

I. はじめに——資源対汚染——

人類生態学領域において微量元素をどのような視点から扱うべきであろうか。まず第1に資源としての微量元素を、次に汚染物質としての微量元素をとりあげる必要があるだろう。資源としての微量元素は前工業化社会では主として食物に含まれる栄養素、さらに生活資材の安定供給を支えるものとして存在している。工業化社会では上述の存在様式のほかに、各種工業製品の成分・部品として利用されている。

他方、微量元素は自然の諸条件、人為的諸活動の結果、汚染物質として存在している。ここで汚染とは質的・量的に常在成分と異なる状態で局地的に集積している状態をさしている。

同一の微量元素が時に資源であり、時に（あるいは同時に）汚染物質であるといった状況も存在しうる。そして多種にわたる微量元素の Relative abundance の様態の変化に常に注目する必要がある。

II. 微量元素の生物地球化学的循環

グローバルな生態系をとりあげて、微量元素の生物地球化学的循環を調べる研究が進んでいる。汚染物質として問題となった各種元素がその対象であり、その他の微量元素については必ずしも十分な知見はえられていない。

グローバルではなく、局地的な地域生態系における循環の研究は部分的にしか行われていない。この場合も、汚染物質に対する関心が寄せられ、生態系構成要素毎にみた蓄積、生物濃縮等が研究されているが多種の微量元素を同時に測定し、それぞれの動態、交互作用等を調べる必要がある。

Ⅲ. 人口収容力と微量元素

地域生態系の人口収容力 (Carrying capacity) の研究は人類生態学にとって中心的な課題である。これまでの研究では主としてエネルギーの投入、獲得、消費を中心にし、それと人口変動との関係が追究されてきたが、近年ではタンパク質が加わり、さらに微量栄養素にまで目が向けられている。人口の再生産に対する微量元素の役割がこれとの関連でもっとも注目されるが、それだけでなく、摂食を含む各種の行動、罹病・老化との関連も注意深く検討する必要がある。

Ⅳ. 適応、微進化と微量元素

生態学的視点からみて、もう一つの重要な問題は適応、微進化との関連である。たとえば魚に依存する動物はメチル水銀をどのように処理しているか、といった問題に対し適応、微進化との関連で検討し直す必要がある。

S II. 2. 元素間の相互作用

井村 伸正

北里大 薬 公衆衛生

生体内に取り込まれた多くの元素が何らかの機序で反応し合い、その結果として互いの生理活性を修飾するという現象そのものは取り立てて目新しい事実とは言えないが、最近、特に微量元素間の生体内相互作用に対する毒性学的、あるいは栄養学的関心が高まって来たように見受けられる。

重金属毒性学において永い間主要な研究対象として取り上げられて来た水銀やカドミウム等の所謂有害性重金属の毒性が必須微量元素であるセレンを含む化合物との相互作用によって軽減される事実は既によく知られている。然しながら、どのような機構の相互作用が生じ、如何なる機序で元素の生理活性が修飾を受けるかについては未解明の部分が多い。

われわれは無機水銀がセレンと蛋白質の共存下に生体内で安定で不活性な高分子量複合体を形成し、かつ、そのために毒性発現の標的臓器への分布が変動することによって急性毒性が軽減されることを明らかにした。水銀と同じく酸素族のイオウやセレンに親和性の高いことで知られるカドミウムの毒性も同様にセレン化合物の同時投与によって軽減され、その機序は無機水銀の場合に類似していることが予測されるが、実際に無機水銀—セレン間の相互作用とマウスを用いた動物

実験で比較すると、相互作用の結果生ずる複合体の性質にかなりの相違が認められる。

さらに、無機水銀とカドミウムがマウス体内で同時にセレンとの相互作用にあずかった場合について検討したところ、相互作用によって血中で生成する複合体はセレンと共に水銀とカドミウムを同時に含有しており、時間の経過と共にその複合体からカドミウムとそれに相当する量のセレンが比較的速やかに消失することが明らかとなった。

一方、通常の食餌から摂取される栄養レベルの微量のセレンも、生体にとり込む化学物質の生理活性発現に影響を及ぼすことが明らかになった。即ち、セレン欠乏食で一定期間飼育されたマウスでは通常の毒性発現量を下廻る無機水銀、カドミウム、あるいはメチル水銀を投与した場合にも著明な毒性の発現が認められ、メチル水銀の胎仔毒性も食餌中セレン量を低下させることによって著しく増強された。栄養レベルをはるかに超えた量のセレンを投与した場合でも、一度、蛋白質の構成成分としてとりこまれた、いわゆる内因性のセレンは、前述の無機重金属イオンとの複合体を形成する相互作用には用いられないという実験事実と併せ考えると、重金属と同時にかなりの量で投与されたセレンと、食餌を介して微量摂取されるセレンでは、生体にとり込まれる他元素との間の相互作用の機構に大きな相違があると考えられる。

このように、同時に生体に投与され、あるいは摂取された元素間の相互作用は、それら元素の種類、数、あるいは相対的な量等によってそのパターンが異なることから、相互作用の結果として観察される生理活性の修飾は質的にも量的にも多様なものとなることが予測される。

必須性と修飾機構

木村修一

東北大・農・栄養化学

ある病的症状の原因究明から、ある微量元素の必須性が見出された一方、そのような病的症状の解明の結果、微量元素の毒性が明らかにされた、というように、微量元素の生体に対する働きは相反する方向からのアプローチによって認識されてきた歴史がある。それ故に、当初、必須元素としての有用微量元素と毒物としての有害微量元素とに分けられていたが、その後、両方向からの研究が進展するに従って、ある一つの元素が、ある低濃度レベルでは必須性を示すが、過剰になると毒性を示すといった例が出てくるようになり、量的な因子が、その生理作用の発現に重要であることが分ってきた。また同じ元素でも、その化学形態が異なれば、生理作用は全く異なり、生物体内での代謝によっても、そのような化学形態の変換が行なわれるなどの知見が得られるようになり、生理機能の発現には多くの要因のあることも明らかになりつつある。すなわち、遺伝的な要因（つまり種）によっても、またageによっても、さらには環境条件—とくに栄養条件—によって生理機能の発現は大きく修飾される。微量元素同士の共存の場合の相互作用も注目されている。上述のような条件で、その吸収、代謝、排泄などが異なってきた、生理機能の発現に違いが出てくるのである。本稿では、特にこれら微量元素の生理機能の発現を修飾する機構について論ずることとする。

1、必須性を示す微量元素とその機能

微量元素を「成人生体内存在量が5g以下の元素」とする定義に従えば、鉄、フッ素、亜鉛、ストロンチウム、銅、バナジウム、セ

レン、マンガン、ヨード、ニッケル、モリブデン、クロム、コバルトなど、必須性の分っているものが数を増しているが、ケイ素、スズ、リチウム、さらにはヒ素なども必須性をもつ可能性が示唆されている。その生体内での機能については、極めてよく研究されているものと、たんに欠乏症が知られているに過ぎないものまであり、現在検討されている段階のものが多い。

2、必須微量元素の必要量

微量元素と呼ばれる中で最も人体内含量の多い鉄については、古くから多くの知見が積み重ねられ、その必要量についても最も詳しく研究されている。この鉄の場合を一つとってみても、その必要量を定めることが、いかに単純にいかないかが分る。すなわち、有経女性が出血による鉄の要求を増すことはもちろんであるが、食物からの鉄の吸収については、さまざまな条件によって異なる。すなわち「ヘム鉄」は腸で容易に吸収されるが「非ヘム鉄」の吸収率は悪い。肉や魚などの動物性たんぱく質の摂取は鉄の吸収を倍加し、ビタミンCも3価鉄を2価鉄に還元するためそして鉄をキレート結合して吸収を増す効果がある。一方、フィチン酸塩、タンニン酸塩などは鉄を不溶化させるし、ポリリン酸の過剰も不溶性の錯塩をつくるので吸収を低下させる。また、銅の欠乏も鉄の吸収・代謝を妨げる。一見無関係と思われるビタミンB群の欠乏も胃酸分泌を低下させ、鉄の吸収利用を大きく阻害しているのである。一方、鉄過剰の条件では肝臓、すい臓などの組織の細胞内に鉄が蓄積してhemato-chromatosisを起こす原因となることがある。(これには遺伝病もある) イタリア赤ワインを大量に飲む地域で肝硬変の高い理由として、このワイン中に多い鉄を、アルコールの鉄吸収促進効果で過剰蓄積をもたらすことが大きな原因と考えられているのである。適量を摂取することがいかに難しく、また、それを修飾する因子がいかに数多くあるかを知るべきである。

3、必須微量元素の生体内動態とその修飾因子

ここでは微量元素の生体内動態におよぼすさまざまな修飾因子について述べることにしたい。演者らの追究している微量元素の一つにヨードがある。これを例にとって話をすすめることとする。ヨードはいうまでもなく甲状腺ホルモンの必須の材料である。これが欠乏すると甲状腺肥大をおこす。ところがこのヨード要求を増加させる他の因子がある。その一つは植物中に見出されるサボニンやフラボノイドなどの抗甲状腺物質であり、もう一つは腸内細菌である。つまり、germ-free では糞中への甲状腺ホルモンの排泄が増えることが分ったのである。甲状腺ホルモンは一般に、胆汁中にグルクロン酸抱合体の形で排泄される。そしてそれは腸内細菌のもつβ-グルコシダーゼによって加水分解をうけ遊離の甲状腺ホルモンとなり吸収されて再利用されることが分ってきた。このように腸内細菌が微量元素の動態に重要な影響を与えていることがあるのである。他のいくつかの微量元素についても述べることにしたい。

S II. 4. (4) 解毒と耐性

吉川 博

岐阜大学医学部公衆衛生学教室

金属毒性に対する生体の解毒作用は、いまだ明確ではないが、少しずつ知見が得られてきている。現在までの知見から、この解毒機構を考えると、少なくとも2つの現象が存在する。

- (1) 生体内での化学形の変化 : 主として金属結合たん白
- (2) 吸収、体内分布、代謝、および排泄動態の変化 : 主として排泄促進

また、金属毒性に対する耐性は、上記の解毒機構の亢進した状態ということができよう。

解毒と耐性とのいずれにしても、金属元素における問題としては、いまだほとんどすべてが現象として見出されているにすぎず、機構まで解っているものは少ない。なお、金属における解毒と耐性とは区別して論ずるにはいまだ時期が早い。ここではこれらを区別せずに、金属毒性の軽減作用または機構として論ずることにする。

1. 化学形の変化

- (1) メタロチオネインの誘導と毒性軽減
- (2) 有機金属形成と毒性軽減
- (3) 鉛結合たん白

2. 体内分布の変動と排泄促進

- (1) Fe による金属の体内分布の変動
- (2) Zn、Pb 前投与によるPbの排泄促進などについて述べる。

桜井 治彦

慶応義塾大学医学部衛生学公衆衛生学教室

微量元素の人における量反応関係を解明するのに疫学の果すべき役割りは大きい。特に慢性影響については、動物の長期曝露実験すら容易ではなく、人の曝露実験は不可能に近いから、微量元素の慢性影響に関する知見を得るのに疫学が重要であることは論をまたない。しかし疫学的方法には各種の限界があり、それらを顧慮せずにデータを解釈することにより誤った判断が行なわれることも少なくない。ここでは、いくつかの問題点について例を挙げて考察し、量反応関係における疫学的方法の特徴をのべる。

1. 量影響関係と量反応関係

量反応関係は、狭義には、曝露量と特定の反応の発生率との関係を意味し、曝露量と影響の大きさの関係を意味する量影響関係と区別して用いられている。疫学によって得られるデータは、特定の反応の有無に関する悉無的な応答のみでなく、影響に関する計量的な測定値である場合も少なくない。一般に量反応関係は個体差に関する情報も内包しており、一般生活環境や労働環境における許容曝露限界値の設定に有用であることが認められている。しかし、無影響レベルを推定しようとするとき、量影響関係のデータは、標本サイズの増加による推定精度向上の効率において量反応関係より劣ることはなく、また反応の定義によって左右されることがない点では量反応関係より優れている。微量元素の過剰ないし欠乏による慢性影響を調べようとするとき、しばしば影響の測定を主とする疫学的研究が行なわれるゆえんである。

2. 曝露量の推定

薬剤による副作用を調べる場合に比較して環境汚染物質による曝露量の測定には著しい誤差が伴なう。空气中濃度が正確に測定されたとしても、種々の条件により肺への沈着率、流血中への移行率などに大きな差異が現れる。それにもまして、曝露濃度それ自体の測定は非常に困難であり、過去の長期曝露量を正確に把握することはほとんど不可能である。従って量反応関係の横軸の「量」には大きな誤差が含まれており、これが量反応関係の定量性にどのような影響を与えているかは、検討を要する問題である。長期曝露の影響をみるために曝露量を濃度と時間の積によって表現することがしばしば行なわれるが、この場合にも、一時期における著しく大きな曝露が正当に評価されているかどうか問題がある。特に産業の現場における有害物濃度の測定値が低めに報告される傾向が強いことに注意しておかなければならない。量として基本的な空气中濃度あるいは飲食物中濃度が定量し難いために、生体の何らかの媒体の濃度を量として取り扱うことが微量金属中毒学の分野で繁用される。血中鉛濃度は最も成功した指標の例であるが、カドミウム (Cd) 中毒の場合は生物学的半減期が著しく長いために血中あるいは尿中Cdには量としての利用価値に限界があるので、標的臓器である腎皮質Cd濃度がとりあげられている。腎皮質濃度と、臨界影響である蛋白尿との間の量反応関係は、腎皮質の臨界濃度を知るための基礎として重要視されている。そして、Cdの一日摂取量の許容限界を推定するのに臨界濃度を利用する考え方が主流となっているが、一見合理的なこのアプローチには問題がある。曝露量と腎皮質濃度の関係に現れる個体差を無視すると、許容一日摂取量を常に過大に設定してしまう危険があり、その誤りの大きさは、腎皮質濃度の分布と、量反応関係の分布の両者によって規定され、今のところ誤りの程度は不明である。腎皮質臨界濃度の概念を利用するにはなお慎重さが必要であり、現実的には実際のCd摂取量と腎障害の間の量反応関係を直接明らか

にする努力が望まれるところである。

3. 交絡因子の評価

疫学的研究結果を正しく解釈するために交絡因子の適切な評価が不可欠である。特に無影響レベルに近い領域での量反応関係を取り扱う場合、非曝露集団における測定値の正常なばらつきの程度、それをもたらす変動要因の解析が充分に行なわれていないと、しばしば誤った結論が下される。例えば腎機能検査成績の多くは尿流量の影響を受け、希釈尿を用いると尿細管再吸収率は低く出る傾向があるがこの事実是一般に無視されている。一方、高齢者ほど随時尿は希釈されている傾向があるから、Cdの長期曝露を受けた高齢者の腎機能の判断に問題が生ずる。交絡因子としての年齢、尿流量、気温などに注意を払う必要があることを示す一例である。

以上、主として疫学の問題点を述べることによって疫学的データの特徴に触れたが、人の長期曝露における量反応関係を明らかにする方法としての重要性はゆるがない。健全な科学的判断にもとづいた、欠点の少ない疫学的研究が積み重ねられることが望ましいところである。

和田 攻

東京大学医学部衛生学教室

微量元素の過剰症および欠乏症を理解する上で、生態学的アプローチから始まって体内での動態および生体とのかかわり合いの生化学的、薬理学的アプローチ、さらには臨床的アプローチにまで至る一連の手法が相補い合って全体的な把握をすることが極めて重要である。とくに病因としての微量元素の立場のみならず、環境の側、およびヒトの側から微量元素を把らえることも必要になる。

(1) 生態学的見地からみた微量元素

必須性と海水中濃度および体内量の関係、食物連鎖を通しての移動と濃縮、摂取量の正規分布など微量元素とヒトとのかかわり合いを知る上で重要な知見が得られている。微量元素の栄養状態が居住する土壌含量に左右され易い家畜に比べ、ヒトでは流通機構の発達による食物の一樣化などにより偏在性は少ないが、セレンに見られる如き欠乏地域と過剰地域の混在とその影響などヒトでも局所的な差が表現されることもあり、また食物連鎖上最終段階に近いヒトの特性も考慮する必要があり、生活習慣による影響の差もある。経静脈高カロリー輸液などは摂取態様を急激に変化せしめ、長い間の適応である摂取量と必要量とのバランスをいっきょに失わしめた例である。

(2) 元素間の相互作用

元素間の相互作用では、相乗作用よりは拮抗作用の方が多く知られている。拮抗作用の部位は、生体膜、血漿タンパク、置換、吸収、排泄、移動、特異結合物質の誘導、代謝の間接的变化など多く知られている。通常直接接触して相互作用を示すことは少なく、タンパクその

他の介在物を必要とする。最も重要なことは、相互作用を介してある元素の過剰が他の元素の過剰の低下や欠乏をきたし、逆に欠乏が過剰をきたすことである。カドミウムによる亜鉛の欠乏、水銀によるセレンの欠乏、銅とモリブデンとの関係などが知られている。

(3) 必須性と修飾機構

微量元素では一般的に必須性と恒常性機構の発達とが相関していることが多い。先天性の過剰症や欠乏症では、この恒常性の欠陥が関係していることも多い。また、クロム含有の耐糖因子にみる如く、ある特定の化学形態を有するものが必須性作用に関与している。この化学形態の変化機構や体内代謝異常が欠乏症やその他の疾患と結びつけられることもある。

(4) 化学形態と作用

元素の特徴は電子価を変えることにより生体と関わり合うことが多く、バレンシーの差による生体影響の相違は多く知られている。またヒトの側からみた体内での金属との結合相手物質の把握は生体内代謝、移動、毒性など種々の面から重要である。さらに無機化合物と有機化合物との作用の相違も解明されるべきである。

(5) 解毒と耐性

微量元素の解毒の機構は、代謝、生体内隔離、特異結合物誘導、排泄増加などがあり、未知の部分も多い。クロムは生体内で3価になり、分子量1500位の低分子の結合物質(LM_{Cr} IとII)に結合し、毒性の減弱、腎クリアランスの著しい増加、尿細管再吸収率の低下などがみられる。

(6) 生体内での影響の機序解明

従来ブラックボックスとされた体内での作用機序の解明も進められつつある。この方面での他の分野の発展は著しく、その応用も可能である。有機スズ化合物は、生体膜での刺激応答系をブロックすること

から、膜リン脂質代謝阻害、さらには抗炎症作用、抗ガン作用などへの応用が試みられている。

(7) 量・反応関係における疫学

疫学的所見は、問題の糸口を提供するものとなる。量・反応関係は因果関係を論ずる上で重要となるが、中毒学で用いる量・反応関係とは異なる面も多く、その応用、解釈には十分注意すべきである。

以上、各シンポジストの御講演の要旨が不明のため、的はしぼられていないが、当日は必要に応じ御講演に合わせて comment, overview させて頂く予定である。

野見山一生

自治医科大学衛生学教室

はじめに 微量元素に関する研究報告数は全医学・生物学領域の3.8%（年間7800編）を占めており、微量元素が生命の維持に果している役割が如何に重要であるか分かる。しかし、これまで行われてきた多くの研究は、「単一微量元素の過不足によって起こる生理機能の変化」に関するものであった。ところが、近年、微量元素の分析技術が急速に進歩し、極微量の元素を短時間に、正確に、しかも多元素同時に分析出来るようになると、生体内の微量元素が互いに影響しあいながら、生物にとって好ましい、或は好ましくない作用を発現しており、一面的に、必須元素、有害元素などと分類出来ないことが分ってきた。このために微量元素の生体内動態と相互作用という新しい視点から生命の複雑な機構を解明しようとする動きが始まっている。

微量元素曝露による他の生体内微量元素の攪乱 無機水銀、鉛、カドミウム、クロム、銅などを長期間投与したサルやウサギの血漿、尿、臓器中の投与された以外の微量元素濃度は多くの場合上昇、時には低下している。何故、他の生体内微量元素の攪乱が起こるのか、その機序についてはよく分っていないものが多い。

カドミウムの生体影響出現は生体内の亜鉛や銅の変動と関連しており、また、銅をカドミウムと同時に投与するとカドミウムの生体影響の出現時期が遅れる。亜鉛欠乏状態では、カドミウム、無機水銀の毒性が強くなる。これらの現象は、微量元素が他の多くの微量元素と絡みあって生理的機能を営んでいることを示唆しており、生命維持における微量元素の役割が今後明らかにされてゆくものと考えられる。

生体試料中の微量元素の測定：精度管理 生体試料中の微量元素の測定には原子吸光法が広く使われてきたが、誰でも微量元素を正確

に測定出来るわけではない。最近では、正確に測定するため、または、正確に測定していることを保証するために、内部精度管理や外部精度管理を厳重に行うことが世界の趨勢になってきている。

GEMS(地球環境モニタリングシステム)のなかでUNEP(国連環境計画)とWHOが協力し、10カ国が参加して同一試料の微量元素を定量するのだが測定値が一致しない。大変な努力と時間をかけてようやく測定値が合うようになったという経験から、精度管理の必要性が叫ばれるようになった。IUPAC(国際純正応用化学協会)臨床化学部会でも、世界100カ所の研究組織が同一試料の微量元素を測定をして問題点を検討している。

日本では、労働省が全国労働衛生団体連合会(全衛連)に委託した健康診断適正化事業の中で150機関の外部精度管理を行っており、都道府県衛生研究所も同一試料を用いて微量元素を測定し測定機関の比較を行ったりもしているが、大学、国公立研究機関を含め一般の研究機関では外部精度管理は事実上全く行われていない。

内部精度管理を行っている研究機関も日本では非常に少ない。内部精度管理用の生体試料はヘキストジャパンから購入出来るので、微量元素を測定する研究機関は是非利用して欲しい。

多元素同時分析 これまでは、原子吸光法で一元素ずつ測定していたが、最近では、多数の微量元素を一度に測定してしまう放射化分析法、PIXE分析法、プラズマ発光分析法、蛍光X線分析法などが医学、生物学領域でも利用されるようになってきている。この結果、先に述べたような、微量元素間の複雑な相互関係が急速に明らかにされつつあり、この領域の研究は、今後、短期間に急激に発展し、微量元素の生命維持に係る機構が解明されてゆくと期待されている。

生体内微量元素のin vivo 測定 生物学的モニタリングを行うには、臨界臓器(最初に健康影響が発現する臓器)中の微量元素濃度を測定すれば良いのだが、血液や尿中の元素濃度で代用してきた。しかし、最近、即γ線中性子放射化分析法や蛍光X線法を応用して生体内の臓器中元素を直接in vivoで測定し、微量元素の生物学的モニタリングをおこなう試みがなされている。我々も数年前からin vivo測定

の研究を行い、現在では、中型動物の生体内微量元素の測定さえ可能となっている。

鉛作業者の指骨中鉛、カドミウム作業員やカドミウム汚染地域住民の肝、腎のカドミウムの測定が行われ、既に幾つかの報告もされているが、生体内微量元素の *in vivo* 測定結果の評価が未だ充分でなく、後になって自分の測定結果を訂正する研究者がいる現状である。今後、測定技術の改良と利用の開発、拡大とが緊急の課題である。

微量元素研究会と国際学会 微量元素に関するシンポジウムは昭和57年に始まり、既に4回開催されている。毎回250名の参加者があり、この参加者を中心に昭和59年に微量元素研究会が発足した。現在、会員は280名である。昭和61年7月には、国際毒科学会のサテライト会議として、国際微量元素学会が北九州市の産業医大で開催されることになっている。また、毎年、世界の各地で微量元素に関する国際学会が4～5回は開催されており、国際専門雑誌も4種類ほど発行されている。本年6月にはノルウェーで国際学会組織が発足することになっている。他の関連研究領域と協力しながら、今後、この研究領域が益々発展してゆくものと考えられる。

ワークショップ

柳田 知 司

実中研・前臨床医学研

大森会長のご英断により、今回より新たに毒性試験従事者のための技術ワークショップが開かれることになり、薬物投与の問題がテーマの一つに取り上げられた。薬物投与は丸ごとの動物を使用する毒性試験における最も基本的作業の一つであり、いろいろな技術的問題がある。そこで本セッションでは、実際に投与に従事している人達を中心にして、毒性試験における薬物投与について、日常しばしば遭遇する技術的問題をいくつか取り上げて討議し、投与技術の向上に役立たせたい。本ワークショップは学会発表形式を避け、なるべく多くの人に手短かに経験を語っていただきたいと考えているので、よろしくご協力願いたい。

話題としては、第一にラット胃内投与における誤投与の問題を取り上げる。胃ゾンデを用いて、長期間毎日強制投与を行う毒性試験にあっては、誤投与の防止は研究の質を左右する重要な問題であり、そのために作業の現場では各種の工夫や対策が施されていると考えられるので、それについて実験動物中央研究所の飯塚壮氏と野村生物科学研究所の大高忠彦氏に話題を提供してもらって討論に入る。誤投与防止のため、なんらかの工夫を試みられ、その結果が非常に良好であったというような経験をお持ちの方は、この際は是非ご発言願いたい。次にラット静脈内反復投与技術の問題について、武田薬工中央研究所の青野皆基氏と日本ロシュ研究所の堀井郁夫氏に話題提供願う。最近ではラットでも3カ月亜急性試験までは、静脈内投与が普通に行われるようになって来ているが、とくに薬物をゆっくり注入しなければならない場合や、局所刺激性が強い場合の対応策な

ど、頭の痛い問題が少なくないので、実用性の高い適切な方法を探したい。毒性試験では、投与限界容量をどのような理由から、どう定めるかという問題も重要である。しばしば、物理的限界という表現が用いられるが、これにも濃度、粘度、絶対量などの各種の条件が複合し、さらに静脈内投与や筋肉内投与では、この物理的限界の判定が一層複雑になる。これについて、ヘキストジャパン総合開発研究所の和田直人氏に検討実験の結果を伺い、それをもとにどのように定めたらよいかを討議したい。4番目に混餌経口投与における薬物調製の問題を取り上げる。一般に混餌経口投与は発癌性試験などの長期の試験や農薬、食品添加物の亜急性、慢性毒性試験に用いられているが、薬物を飼料に混ぜて摂取させるために、薬物濃度の調節が非常に重要になる。そこで、その調節技術の実際について動物繁殖研究所の田内清憲氏に話しを伺い、その上で設定投与量と実際摂取量との差の問題などについて他の方々のご経験も伺いたい。毒性試験では、しばしば投与困難な物性や剤形の薬物に手を焼かされることが多く、試験実施の成否が剤形処理にかかっている場合が少なくない。そこでこのような薬剤として、どのようなものがあり、またどのような対策があり得るかを論じた後、これを見事に解決した一例として、気体をマイクロカプセルに封入して、胃内投与を可能にした国立衛生試験所、川崎清氏のお話しを伺い、時間が許せば多数の方々から剤形処理のご経験談を伺いたいと考えている。

白須 泰彦

(財) 残留農薬研究所 毒性部

実験動物を用いた毒性試験において、臨床生化学検査は病理組織学検査と共に毒性評価に不可欠なものであるが、多くの問題点を抱えている。ここではいくつかの重要な問題点について検討したい。

第1の演者である松本は酵素活性測定の問題点をとりあげる。

実験動物の血清酵素活性を測定する場合でも、ヒトにおける測定法及び病態診断基準を用いることが多く、しばしば毒性診断に混乱を引き起こしている。トランスアミナーゼ(GOT, GPT), アルカリ性ホスファターゼ(ALP), 乳酸脱水素酵素(LDH), コリンエステラーゼ(Ch-E), ロイシンアミノペプチダーゼ(LAP)について、測定値に影響を及ぼす様々な因子ならびに測定意義について述べる。また、尿中酵素活性測定についてもいくつかの知見を報告する。

まず、GOT, GPTでは1) Karmen単位への換算係数—ラット, ウサギ, イヌとヒトとの違いについて、2)セフェム系抗生物質のGPT活性低下の原因について、ALPではラットによる1)日内変動、2)絶食での活性低下—とくに小腸由来アイソザイムについて、LDHでは1)血液放置時間による活性上昇について—ラット, イヌ, ヒトとの対比及びその対策—、2)アイソザイム分析のラットにおける測定意義について、Ch-Eでは1)基質親和性のヒトと動物の差、2)ラットにおける雌雄差について、3)ラット, イヌ, マウスにおける加齢差について、4)マウスにおける系統差について、LAPでは基質にLeucylamideを用いるtrue-LAPとLeucyl- β -naphthylamideなどの合成基質を用いるclinical-LAP(Arylamidase)の毒性診断的意義を1)胆汁鬱滞モデルラット、2)肝障害ラット, イヌ, 3)各種動物の胆汁内酵素活性から検討し、ヒトと動物の差について述べる。尿中酵素ではN-acetyl- β -aminoglucosaminidase(NAG)を中心に腎障害の早期診断への応用と問題

点について述べる。

第2の演者である津田は血漿と血清の選択の問題をとりあげる。

ラットでは血清LDH, GOT及びクレアチンリン酸キナーゼ等の活性値は全血放置時間と共に著しく増大する。例えばラットの血清LDHは30分放置により10倍も増加する。これらは一般に凝固過程で血小板から放出されるものと考えられており、もちろん臓器毒性とは無関係である。この点からは血漿を用いるのが望ましい。ただしSample分離後の血漿の安定性は血清に比較して悪いのでできるだけはやく測定する必要がある。血漿の抗凝固剤としてはヘパリンが望ましい。EDTA等のキレート剤はCaの測定値及びアルカリホスファターゼやLDH活性に影響を与える。しかしながらヘパリンを用いた場合にはラットの血小板数が不安定になるので注意が必要である。

第3の演者である平田は電気泳動法による試料解析の問題点について述べる。

各種動物血清蛋白の電気泳動に関する問題点の第1は、泳動法における諸条件の設定である。すなわち、(1)支持体の種類、(2)緩衝液の種類、pHおよびイオン強度、(3)通電条件(電流及び通電時間)及び(4)染色液の種類、濃度、染色時間などが考えられ、これらについて分画像及び分画値から得られたデータを基に概説を試みる。

第2の問題点は、泳動後の分析法及びその限界である。色素と各分画の結合性、濃度計の感度及び検出限界、再現性などについて報告する。

その他、分析される試料及び分析後のデータに関する問題のなかから、(1)保存安定性、(2)A/G比算出に関する2つの方法、すなわち色素結合法及び電気泳動法による値の解離について説明し、注意点にも言及する。

一方、リボ蛋白における電気泳動的な解析にも多くの問題点があり、特に支持体の選定、各分画の同定法及びリボ蛋白の不安定性が挙げられ、これらの諸点について検討する。そのほか、血清酵素の電気泳動における問題について簡単な概説をする予定である。

第4の演者である田崎は臨床生化学検査値の統計処理の問題点について述べる。

(1)正規性の仮定：臨床検査値のほとんどは正規分布を仮定して処理されているが、白血球百分比等を含めて母集団の分布をどのように仮定するか。

(2) 無作為化：統計処理は無作為抽出を原則としているが実際にはデータの処理上の手順等から完全な無作為化が困難な場合が多い。現実と理論をどのように一致させるか。また層化抽出法等，効率のより良い無作為化の選択。

(3) 二群間の比較及び多重比較：複数の投与群を用いて毒性を評価するにあたり通常は Dunnett 法等の多重比較が用いられる。この方法では，ある特定の用量群に対する毒性発現を過小評価することになる。一方， t 検定により2群間の比較を行うと試験系全体における毒性発現を過大評価することになる。この問題に対する考察。(4) 第2種の過誤：NOELの概念は本来作用が認められない用量を意味する。これを決定するには差がないといって誤まる確率が問題となる。これをどのように評価するか。(5) 異常値：毒性評価にあたり白血病動物の白血球数異常等をどのように取り扱うか。

Ⅲ. 毒性病理組織診断をめぐって—毒性変化、死後変化およびアーチファクトの鑑別

藤原公策*、林 裕造**

*東大・農・家畜病理、**国立衛試・安全性生物研・病理

話題提供 宮嶋宏彰（武田薬工・中央研・薬剤安全性係）

松沼尚史（三共㈱・安全性研究所）

真板敬三（残留農薬研・毒性）

渡辺満利（実中研・実験病理）

今井 清（食薬センター・病理）

堀井郁夫（日本ロッシュ研・毒性病理）

病理学的手法は各種毒性試験に広く応用されている。特に、亜急性毒性試験、慢性毒性試験、発癌性試験においては不可欠な検査項目に数えられ、実際に、病理学的診断の適否が試験結果の信頼度を左右する最大の要因になる場合も多い。一方、実験動物における病理学的診断は人体病理学に比し、その歴史は浅く、各種病変の診断基準あるいは用語の選択についてすらも、多くの検討すべき余地が残されているのが現状である。その意味で、毒性研究者が、日常の試験研究業務において遭遇する病理学的診断上の様々な問題を検討することは、毒性研究の進歩に有意義であると考え、本話題をワークショップのひとつにとりあげることとした。

毒性試験における病理学的検査の対象は極めて広く、従って討議を必要とする問題も多いが、今回は最初の試みとして、死後変化およびアーチファクトと実際の毒性変化との鑑別診断を話題に選んだ。毒性に関する試験・研究では、細胞の形態あるいは組織構造の微細な変化を扱う場合が多く、そのために、死

後変化やアーチファクトが診断を混乱させる要因、究極的には試験結果の変動要因になりうる。なお、病理学以前の問題ではあるが、多数の動物を使用する大規模な毒性試験においては病理標本の適切な保存と管理が試験結果の信頼性を保つ上で必要なため、この問題も今回の話題に加えた。

本ワークショップは藤原、林の司会のもとに次ぎの順序で進める予定である。先ず、死後変化に関する一般的な問題を宮嶋が述べ、松沼が組織標本作成の過程で生ずる各種アーチファクトを担当する。次いで、日常の毒性試験において遭遇する病理組織診断上の具体的な問題例を真板、渡辺、今井が臓器別に供覧し、最後に堀井が病理標本の保存管理の方法について触れる。出席者各位の活発な討論を期待したい。

一 般 演 題

四塩化炭素急性肝障害ラットの血液学的検討

○重永 敏明、大川 直士、早淵 孝子、仙波 雅
齋藤 祐一

大塚製薬株式会社 徳島研究所 安全性研究部

<目的> 四塩化炭素(CCl_4)は実験的肝障害を惹起させる薬物として知られている。ところが肝臓は血液を多く含む臓器の一つであり、肝障害時に血液性状が変化することが考えられる。そこで我々は CCl_4 急性肝障害ラットを作成し血液学的検討を試みた。

<方法> S.D.系雄性ラット(体重約250g)を用い、Ⅰ：無処置群、Ⅱ：溶媒群(olive oil, 10ml/kg)、Ⅲ： CCl_4 群(20% in olive oil, 10ml/kg, 経口)を設け、常法により血液生化学的検査と血液学的検査を実施し投与3日後までの変動を検討した。血液学的変動は摂餌・摂水量の変化やストレスにより容易に引き起こされるため、ⅡはⅢと同量の摂餌・摂水量に制限した。

<結果と考察> 投与24時間後Ⅱは摂餌・摂水量の制限により体重・肝重量共に著しく減少した。ⅢはⅡと同程度体重が減少したが、肝重量は減少せずⅡの約1.5倍あった。血液生化学的検査においてGOT, GPTの活性はⅡで殆ど変動しなかったが、Ⅲでは投与24時間後最高値に達し以後急速に低下した。血液学的検査において白血球数は環境の変化に伴うと思われる変動が大きく肝障害を反映した変動が明確ではなかった。血小板数はⅡで増加、Ⅲでは減少した。Ⅲの減少は肝障害による凝集のためと思われるが、GPTとの相関は認められなかった。赤血球数・ヘマトクリット値・ヘモグロビン量はⅡで増加、ⅢではⅡより更に有意に増加した。Ⅱの増加は血小板数と同様に摂餌・摂水量の制限による血液の濃縮のためと思われるが、Ⅲでのこれらの項目の変動はGPTと有意な相関が認められ、肝障害に起因していると考えられる。以上の結果、急性肝障害時の赤血球数・ヘマトクリット値の変化は肝障害に起因しており肝機能を反映するものと考えられる。

° 鈴木 剛, 近藤正実, 須原郁雄

武田薬品工業株式会社 中央研究所

近年、血中グアナーゼ（以下GUAと略）活性は肝に特異的であることでヒトの臨床検査において注目されている。今回、我々はラットおよびマウスの血中GUA活性測定法について採血から測定までの主な変動要因について検討したので報告する。

（方法） GUA測定法は8-アザグアニンを基質とする藤井法（GUAテストmaruho）を用いた。ラット（Wistar）およびマウス（ICR）は8~15週令を用い、採血はエーテル麻酔下でラットは腹大動脈より、マウスは腹大静脈より行った。

（結果） 反応容器として使いすてのプラスチック製チューブを用い、測定値のバラツキを低下させ、試料を半量にした。標準液の発色は37℃、10minで完了し、呈色は室温で4時間までは安定であった。同時再現性は、マウスで変動係数が2.1%、ラットでは2.5%と良好な成績を得た。20時間の絶食によりラットでは20%、マウスでは30%の活性の低下がみられた。測定試料として血清と血漿を比較すると、ラット、マウスともに血清の方がやゝ高値を示した。採血から血漿または血清分離までの時間の影響は、ラットでは血清の場合、経時的な増加傾向がみられた。また、溶血により、ラット、マウスともに著明な正誤差を認めた。血漿の保存によるGUA活性の安定性はラット、マウスともにかなり安定であり、室温で1週間、2℃で1ヶ月、-40℃および-80℃では4ヶ月間安定であった。

現在、これらの検討結果をもとに、種々の肝毒性物質を投与したマウスのGUA活性の変動と他の肝血液生化学的パラメーターおよび病理組織学的所見との相関について検討中である。

マーモセットによるジメチルアミノアゾベンゼン(DAB)の短期毒性試験

○松本清司, 落合敏秋, 関田清司, 川崎 靖, 内藤克司, 中路幸男, 降矢 強, 戸部満寿夫

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 毒性部

マーモセットは小型霊長類の一種であるが、毒性試験には広く用いられていない。今回、肝障害を誘発するとされる4-Dimethylaminoazobenzene(DAB)をマーモセットに15日間強制経口投与する短期毒性試験を行った。

【方法】 1.5-2.5 才のコモンマーモセット雄19頭(体重 330 ± 32 g)を用い、コーン油で2%溶液に調整した DAB 56 mg/kgを毎日胃管により経口投与した。投与開始後5, 10及び15日目に各々4~5頭(対照群は15日目に4頭)を解剖し、血液学的、生化学的、組織学的並びに骨髄の検査を行った。

【結果】 体重は投与日数に伴い減少した。10日目に、10及び15日群の各1頭が死亡した。血液形態学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値が減少し、MCV及び白血球数が増加した。生化学的検査では、尿酸及びグルコースが増加し、ALP及びLAPが低下した。アルドラーゼ、GOT及びGPTは10日目に高値を示した後、15日目に低下あるいは回復した。臓器重量(体重比)では、肝、腎、脾及び副腎重量の増加が見られた。組織学的検査では、甲状腺C細胞の増殖、肝類洞内の巨細胞出現及び白血球の増加が見られた。また、肝細胞壊死が投与群の各時期に各々1例認められた。骨髄検査では、細胞数の変動は見られなかったが、G/E比は低下した。

以上の様に、マーモセットにDABを投与したところ、大球性貧血、貧血に対応する骨髄赤芽球の増加並びに肝障害の指標となる生化学値の変動等が認められた。これらの所見は、従来毒性試験に汎用されているラットでは(112 mg/kg/day, 15日間^井)既に認められているところであり、今回の実験で、マーモセットでも同質の所見が得られることが確認された。毒性発現の感度について、マーモセットと他の動物との間にどのような差があるか即断し得ないが、マーモセットがある面で鋭敏であることも示唆された。

井 戸部ら(1981)衛生試報, 99, 156-176.

4 1,1,1-トリクロロエタン(MC)作用時のラット肝臓における過剰の酸素消費について

○高野健人 宮崎良文 本橋 豊

東京医科歯科大学 医学部 衛生学教室

MCは、生体内でほとんど代謝されず、未変化体のまま主として呼気中に排出されることが知られ、また、LD₅₀を指標とした場合、他の有機溶剤に比べ毒性が低いため、近年広範囲に使用されている溶剤のひとつである。しかしながら、我々はMCがラット肝臓において、それ自身が代謝されないにもかかわらず、多量の酸素消費を惹起せしめることを観察した。そこで今回はこの機序を明らかにするため、ラット(Wistar,雄,6-7週令)の(1)肝ミトコンドリア分画におけるMC添加時の酸素消費量、(2)肝ミクロソーム分画におけるMC添加時の酸素消費量、MC代謝率、H₂O₂産生量、(3)Krebs-Henseleit bufferによる灌流肝におけるMC添加時の酸素消費量、チトクロームP-450スペクトル変化(臓器分光分析法)、NAD(P)H蛍光量変化(臓器蛍光分析法)、MC摂取率、をそれぞれ測定した。(2)の実験の一部にはフェノバルビタールおよびアミノトリアゾール処理ラットを、また(3)の実験の一部にはフェノバルビタール処理ラットを用いた。実験の結果、MCは、1)ミトコンドリアの呼吸は促進させないこと、2)ミクロソーム分画において代謝されないが、酸素を消費し、H₂O₂を産生すること、3)灌流肝において、チトクロームP-450と結合し、過剰の酸素消費を惹起し、NAD(P)Hを減少させることが明らかとなった。MCとチトクロームP-450との結合スペクトルは、灌流液中MC濃度11.3μMより認められ、MC1分子摂取に対する消費酸素は5-9分子であった。以上より、MCは、生体においてチトクロームP-450系に対するuncoupling作用を有する可能性が推察された。

5 肺異物代謝酵素系に対する重金属の影響

○福原守雄, 中浜隆之¹⁾, 高島英伍²⁾, 藤田昌彦, 浦久保五郎¹⁾

国立公衆衛生院, ¹⁾ 東邦大・薬, ²⁾ 摂南大・薬

(目的)呼吸と共に肺に侵入してくる化学物質は, 肺の異物代謝酵素によって一部は代謝をうけるので, 肺の代謝酵素の特性とその変動は肺を標的器管とする化学物質の作用発現に大きな影響を及ぼす。演者らはカドミウムを吸入させたり, *in vitro* で作用させることにより肺の代謝酵素活性が抑制されることを明らかにした(Biochem. Pharmac. 30, 715, 1981, *ibid.*, 31, 3425, 1982)。そこで大気中や労働環境中に存在する種々の重金属が, 肺の一連の異物代謝酵素系にどのような影響を与えるかを *in vitro* の系で調べた。

(方法)正常のウサギ(日本白色系, 雄)の肺より, Microsome, Cytosol分画を得た。重金属の肺異物代謝酵素に対する作用は, 得られた細胞分画を重金属存在下に一定時間プレインキュベーションした後, 酵素基質を加えて活性を測定することによって行った。

(結果と考察)異物代謝系の第一相の酵素である Cytochrome P-450, Benzo(a)pyrene hydroxylase 及びその関連酵素の NADPH-cytochrome c reductase に対しては, 水銀(Hg)が強い抑制作用を示し, 次いでカドミウム(Cd)も抑制作用を示したが, ニッケル(Ni)は高濃度でのみ抑制作用があった。鉛(Pb)やベリリウム(Be)はこれらの酵素に対し殆んど作用を示さなかった。

異物代謝系の第二相の解毒酵素である UDP-glucuronyl transferase に対しては, Hg が強い抑制作用を示し, 次いで Cd も抑制作用を示したが, 他の重金属は殆んど作用を示さなかった。また Glutathione S-transferase に対しては, Pb が比較的強い抑制作用を示した。

6 Propylthiouracilによるラット肝マイクロゾーム NADH cytochrome b₅ reductase の阻害

○李 英培, 飯家 公夫

神戸学院大・薬・薬理

〈はじめに〉含硫化合物である propylthiouracil (PTU) は種々の有害反応を誘発させるが、この発現機構については明確でない。すでに我々は PTU の反復投与によりラットに顆粒球減少症を引き起こすこと、さらにこの毒性に関連して肝薬物代謝酵素系に対する影響を検討する過程で、cytochrome b₅ と NADH cytochrome b₅ reductase (fp₁) が PTU により誘導されることを明らかにした。今回はラット肝マイクロゾームの fp₁ に対する PTU の作用を in vitro で検討した。

〈方法〉fp₁ および fp₂ (NADPH cytochrome P-450 reductase) 活性はそれぞれ potassium ferricyanide と cytochrome c を電子受容体として測定した。

〈結果・考察〉1) PTU は肝マイクロゾーム fp₁ 活性を濃度依存的に阻害し、10 mM で約 50% の抑制がみられた。また、電子受容体として dichlorophenolindophenol を用いても PTU による阻害が観察された。2) 精製した cytochrome b₅ と fp₁ を用いた系においても PTU は著明な阻害作用を有していた。3) 肝マイクロゾームおよび精製した fp₂ は PTU により阻害されなかった。4) 脳あるいは赤血球を酵素標品としたとき、PTU は fp₁ 活性に影響を与えなかった。

以上のことから、PTU は肝マイクロゾームの fp₁ を選択的に阻害することが示された。さらに、PTU は cytochrome P-450 を介する薬物代謝反応における NADH-cytochrome b₅ 経路の生理的意義を解明するうえで有用な化合物と考えられる。

兎肝ミクロソームのシトクロームP-450 再構成系による
1,2-dibromoethane とhalothane の脱ハロゲン反応

○田村信司*、杉山俊博、南 雄三*、垂井清一郎*、
岡本光弘、山野俊雄
大阪大学医学部生化学、* 同 第2内科

ハロゲン化エタンは有機溶媒や麻酔薬として広く用いられているが、その脱ハロゲン反応時に生体に有害な中間代謝物を生じるとされている。前回、我々はウサギ肝ミクロソームによる1,2-dibromoethane (DBE) およびhalothane の脱ブロム反応を検討し、嫌氣的条件では好氣的条件に比し脱ブロム反応は遅いにもかかわらず free radical 中間体が生じることを報告した。今回さらに本反応におけるシトクロームP-450 (P-450) の関与を明らかにする目的で再構成系を用いて検討した。〔方法〕フェノバルビタール (PB) 誘導家兎肝ミクロソームより、PB誘導性P-450 ($P-450_{PB}$)、NADPH-P-450 還元酵素 (fp_2) およびシトクローム b_5 (b_5) を精製した。遊離されたブロムイオン濃度を前回報告したブロム電極を用いて連続的に測定した。〔結果〕DBE の脱ブロム反応は、dilauroylphosphatidylcholine (DLPC) の添加により反応速度の上昇を認め、 $P-450_{PB}$ $1\mu M$ に対し、DLPC $400\mu M$ で最高となった。さらに b_5 添加により脱ブロム反応の促進効果を認めた。 b_5 の有無にかかわらずDBE の脱ブロム反応速度は $P-450_{PB}$ と fp_2 とのモル比が約1:1 で最高に達した。最適条件での再構成系における脱ブロム反応速度はPB誘導ミクロソームにおける脱ブロム反応速度に比し2.5 倍であり再構成系は良好になされていると思われた。この脱ブロム反応は再構成系でモルモット抗 $P-450_{PB}$ 抗血清でdose dependentに抑制された。嫌氣的条件では好氣的条件に比し脱ブロム反応は約45%と小さかった。halothane の脱ブロム反応速度はDBE の脱ブロム反応速度に比し約1/4 と小さかったが、DBE とほぼ同じ挙動を示した。

O 鈴木義裕 須藤純一 田辺恒義

東日本学園大学 薬学部 毒理学教室

(目的) 先に我々はラットに高用量の Allopurinol (AP) を投与すると、投与初期に体重増加が抑制されるが、さらに継続投与すると、体重増加の抑制が減少するという知見を得た。このことから AP により惹起された障害に対して、生体は何らかの防禦機構を示す可能性があり、この可能性について検討した。

(方法) AP 3, 10, 30, 100 mg/kg を体重 200 g 前後のラットに 1 日 1 回 1, 3, 10 日間、腹腔内投与した。最終投与 24 時間後、(1) 肝、腎及び血液を採取し、Xanthine oxidase (XOD) 活性値を測定した。(2) さらに AP 2 mg/kg を静注して、血中 AP 濃度を HPLC で経時的に測定した。血中 AP 濃度-時間曲線から薬動学的パラメーターを算出した。

(結果) 肝 XOD 活性は AP 3, 10, 30, 100 mg/kg の 1 日投与から増加し、3 日間投与で最高値を示し、以後漸減した。これに対し、腎 XOD 活性は投与 1 日から増加し、10 日間投与で最高値を示した。この XOD 活性の増加は 100 mg/kg 投与群で最も著しく、対照群に比し、肝で約 1.5 倍、腎で約 3 倍の活性値を示した。AP 100 mg/kg 投与群の血中濃度-時間曲線は対照群に比し上方へ移動していた。AP 投与群の投与直後の血中濃度は対照群の約 2 倍に増加していた。一方、central compartment の分布容積、total body clearance は有意に減少していた。これらの変化のピークは 1 日後であり、投与日数の増加に伴い対照群に近づいた。

(考察) 以上の結果から AP 投与によって起こる障害を軽減する一因として XOD を含む酵素の誘導と薬物の細胞間隙から細胞内への移行が何らかの形での阻止されていることが示唆された。

9 エチルフェニルジチオカルバミン酸亜鉛 (ZEP C) の胎仔
毒性 (3) ZEP Cのメトヘモグロビン形成機序について

○中浦横介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中 悟,
高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁, 松本清司*

国立衛試・安全生物研・薬理, 毒性*

我々は、先に、ゴム類の加硫促進剤エチルフェニルジチオカルバミン酸亜鉛(ZEPC)による胚・胎仔致死作用は母ラットでのメトヘモグロビン(MetHb)形成が関与することを報告した(日本薬学会第105年会)。今回、MetHb形成の機序の解明を目的として、ZEPCを投与したラットの血液中の代謝分解物を分析し、MetHb形成との関係を検討した。

ウィスター系雌ラット(10週齢)にZEPC 1000 mg/kg を1回経口投与し、血液中の代謝分解物を酢酸エチルで抽出し、GC-MSで分析したところ、N-エチルアニリン(N-EA)及びアニリン(AN)の生成を認めた。

次に、ZEPC 1000 mg/kg またはN-EA 125 mg/kgをラットに1回経口投与し血液中MetHb形成量とN-EA及びANの血液中濃度の時間経過を比較した。ZEPCを投与した場合、MetHb量は4時間後から有意に増加し、12時間後に最大となった。以後漸減したが、5日でも対照群より高い値を示し、10日後ではほぼ投与前のレベルに回復した。N-EA濃度の消長は2日目までMetHb量とほぼ同様な推移を示したが、5日後では検出レベル以下となった。AN濃度もN-EA濃度とほぼ同様な経時的推移を示したが、N-EAに比較して低い値であった。一方、N-EAを投与した場合、MetHb量は1時間後から増加しはじめ、8時間後に最大となり、以後低下した。N-EA及びAN濃度もほぼ同様な推移を示した。

更にZEPC 250, 500 及び 1000 mg/kg, N-EA 62.5 及び 125 mg/kg, AN 125 及び 250 mg/kg を1日1回、3日間経口投与し、最終投与24時間後に血液学的検査を行い、赤血球系に及ぼす影響を比較した。3化合物各用量とも、血液中MetHb量は著しい上昇を示した。また、赤血球数及びヘモグロビン量の減少、ヘマトクリット値の低下、赤血球分布幅の増大が認められた。脾重量の増加も著明であった。

以上の結果から、ZEPCによる血液中MetHb形成は、生体内でZEPCが分解あるいは代謝されることによって生成したN-EA及びANの作用に起因したものと考えられた。

○山本博昭，浜田一枝

財団法人河野臨牀医学研究所・病理

Dinitrofluorobenzene (DNFB) は接触過敏症の実験モデルとしてマウスやモルモットに塗布感作すると遅延型過敏症を惹起することはすでに知られている。今回演者らはDNFBを長期間マウスの皮膚に連続塗布をくり返すことによってアミロイド症の発生を経験したのでその概要を報告する。

実験構成はⅠ群：DNFBを12ヶ月間連続塗布，Ⅱ群：初め3ヶ月間未塗布後DNFBを9ヶ月間連続塗布，Ⅲ群：初め6ヶ月間未塗布後DNFBを6ヶ月間連続塗布，Ⅳ群：初め9ヶ月間未塗布後DNFBを3ヶ月間連続塗布，Ⅴ群：溶媒を12ヶ月間連続塗布の計5群である。実験動物はICRの12週齢の雌マウス100匹を用い各群は20匹ずつとした。DNFBはアセトン：オリーブオイル(4:1)に0.2%溶液として，塗布はマウス当り0.03mlを背部皮膚に行い，1年間経続した。

実験の結果，皮膚の変化はDNFB塗布群に高度にみられ，その所見は表皮の肥厚，細胞浸潤，痂皮形成，錯角化等が主として著明であった。皮膚の炎症性変化はDNFBの塗布回数に相関してⅠ群が最も高度でDNFBの連続塗布は皮膚に対して著しい形態的变化を及ぼすことが示唆された。一方，アミロイド症の発生はⅠ群で100%，Ⅱ群で80%と高率であったが，Ⅲ群では45%と中等度でⅣ群では15%とはるかに低率であった。またⅤ群では5%(1匹)にアミロイドがみられた。これらのアミロイドは肝，脾，腎，膵，胃，小腸，大腸，副腎，卵巣，子宮，リンパ節，心臓，肺，皮膚の計14臓器に認め，特にⅠ群には多臓器にわたってアミロイドが沈着していた。

11 Bis(4-amino-3-methylcyclohexyl)methane 投与ラット
に見られた臨床病理学的変化について

○大島 晋¹、芝田敏勝¹、宮下雅子¹、石塚正博¹、清水禎彦¹、
藤田 勝¹、佐々木則寛²、奥田裕計²

1)埼玉医大第二病理 2)労働衛生検査センター

アミン系エポキシ樹脂硬化剤、bis(4-amino-3-methylcyclohexyl)-methane は、以前、取り扱い労働者の間に強皮症、多発性筋炎等、膠原病類似の中毒症状を誘発した原因物質として問題とされた。我々はこの物質のラットに対する亜急性経口毒性を今までに3回にわたって検索し、この物質の毒性に起因する病変の性格について検討した。実験は、Fischer 系ラット(5週令、雄)25-50匹を用い、被験物質のオリーブ油希釈液を投与量が25-100mg/kgになるように調製したものを週5回、2-10週間にわたって強制経口投与した。投与終了後、臓器重量の測定、血液検査、全身諸臓器についての病理形態学的検索ならびに電顕観察等を行なった。その結果、投与量に対応した体重増加の抑制、及びるいそう等の臨床症状、ならびに血中筋肉由来酵素の上昇等がみられた。病理形態学的変化としては、骨格筋における変性、再生像、ならびに脳室脈絡叢上皮細胞における空胞変性等が種々の程度にみられた。電顕的には骨格筋、脳室脈絡叢を始めとする全身諸臓器に、直径0.5-2.5 μ m で屢々内部にlamellar構造を有する球状封入体を多数認めた。骨格筋に見られた変化はchloroquine-induced myopathyにおいてみられるものに類似しているがその病理発生は明かでない。又、脳室脈絡叢上皮の変性は、脳-血液関門の欠如との係わりが示唆されるが、現在の段階では明かでない。全身諸臓器に見られた細胞質内封入体は、congenital lipidosiや、drug-induced lipidosiにおいて見られるものに類似しており、全身的な脂質代謝異常が誘発されている可能性が形態的に示唆された。

12 実験的腎障害における血液および尿成分の変動・ ラットおよびナキウサギの比較

○谷本義文, 平田真理子, 海上 智, 一戸一晃, 鈴木修三, 服部祐二

実中研・前臨床研, 血液化学

実験的腎障害時の血液学的, 血清生化学的および尿成分の変動がラットおよびナキウサギでどのような相違がみられるかについて検討を試みた。

〔方法〕ラット (Jc1:SD) およびナキウサギにカナマイシン 200 および 400 mg/kg, 7 日間筋注を行った。その間, 尿中の酵素および電解質を経日的に測定した。屠殺前に血液学的検査を行い, 屠殺時に得られた血清 (漿) について 16 項目にわたる検査を実施するとともに, 腎ホモジネート中の酵素活性を測定した。

〔結果および考察〕ラットの尿中 GOT, LDH, NAG および AcP 活性は 3 日目の低および高用量群で有意の高値となり, 7 日目では両用量群の NAG 活性に有意差がみられ, 他酵素は高用量群 (AcP は低用量群) のみに有意差が認められた。一方, ナキウサギでは高用量群が 7 日目に GOT および LDH 活性の上昇がみられた。ラットの尿中電解質は 7 日目の高用量群で Na および Cl が低値を示したが, ナキウサギは群間で差はみられなかった。

ラットの血清 (漿) 成分で用量依存性に有意の増加が認められたのは GOT, 総コレステロール, BUN およびクレアチニン, 低下がみられたのは Na, K およびアルブミン量であった。しかし, ナキウサギではほとんどの項目に有意差がみられなかった。なお, 血液学的検査ではほとんど異常はみられなかった。以上の結果から, カナマイシンにたいする生体の反応性はラットに比べてナキウサギのほうが低いことを示唆するとともに, 腎毒性における指標となるべき項目に若干の種差が存在することを物語っている。

○一戸一晃，海上 智，平田真理子，谷本義文

実中研・前臨床研，血液化学

腎障害時における尿蛋白量およびその質的な変化を検索することは障害部位を推定する上で重要な指標になり得る。今回，ラット尿について SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（以下 SDS-PAGE）を行い，鋭敏な感度を有しているといわれている銀染色を施し，尿蛋白に関する至適な条件を検討するとともに，実験的腎障害時の蛋白泳動像の解析を試みた。

【方法】 SDS-PAGE はほぼ Laemmli の方法¹⁾ に準じて行った。銀染色法は Oakley らの方法²⁾ を改変して行った。ラットの腎障害は，カナマイシン 200 および 400 mg/kg，7 日間筋注して近位尿細管障害を発現させるとともに，実験期間中に得られた尿について検討を行った。

【結果】 本実験で試みた泳動法は尿濃縮操作が不要で，かつ良好な泳動像が約 3.5 時間で得られた。正常ラット尿の SDS-PAGE では約 20 本の分画が認められた。中間位に易動度をもつアルブミン分画を中心に，陽極側のいわゆる低分子量領域に 3 本の主分画が認められた。腎障害時の尿蛋白量は高用量群の 7 日目に有意の増加を認めた。泳動像では最初にアルブミン位付近のバンドに変化がみられ，次いで低分子量領域，最終的には高分子量領域にも変化が認められた。ほかにラットにおける加齢に伴う尿蛋白泳動についても言及する予定である。

1) Laemmli, U. K. : Nature, 227: 680, 1970.

2) Oakley, B. R. et al. : Anal. Biochem., 105: 361, 1980.

○杉原 句美, 玄番 宗一

大阪薬科大学 薬理

[目的] cisplatin は、すぐれた抗腫瘍作用をもち、その dose limiting factor が、腎障害であることが知られている。今回、この腎障害に free radical 発生に伴なう脂質過酸化反応やチオール基の減少が関与しているのではないかと考え、抗酸化剤前投与によりそれらへの影響を検討した。

[方法] S.D.系雄性ラットを用い、cisplatin 5mg/kg, i.p. を投与した。dl- α -tocopherol あるいは N,N'-diphenyl-p-phenylene diamine (DPPD) は、cisplatin 投与1日前に腹腔内投与した。cisplatin 投与後5日目まで、1日毎に腎臓中の過酸化脂質(TBA値)および、チオール基(SH)を測定した。腎障害のめやすとしては、BUNを用いた。

[結果] cisplatin のみを投与したとき、BUN, TBA値ともに3日目から有意に上昇し、total SH は、4日目から減少した。体重は著しく減り胃腸障害がみられた。次に、一般的な抗酸化剤である dl- α -tocopherol 前投与した場合、BUN, TBA値は4日目まで上昇はなかったが、5日目で有意に上昇した。total SH は、減少しなかった。体重減少は、回復し、胃腸障害はなくなった。さらに強力なラジカルスカベンジャーである DPPD 前処置では、TBA値の上昇と total SH の減少が抑えられたが BUN は5日目に有意に上昇した。体重減少は回復し胃腸障害はなくなった。

[結論] 以上の結果から、cisplatin の腎障害にはラジカル発生による脂質過酸化反応が、深くかかわっている可能性が示唆された。

ホスホマイシンによる制癌剤の毒性軽減

新里 鉄太郎, 三木 美智子, 梶田 敏彦, 暮部 勝

明治製菓 薬理安全性研究所 安全性研究室

演者らは、ホスホマイシン(FOM)がアミノ配糖体抗生物質や制癌剤であるシスプラチン(CDDP)の腎毒性を軽減することをすでに報告した。今回は、FOMによるCDDPの毒性軽減を詳細に調べ、更にニトロソウレア系やアンスラサイクリン系制癌剤の毒作用に対するFOMの影響も調べた。

制癌剤としてはCDDP, 塩酸ニムスタン(ACNU), フロロゾトシン(DCNU), GANUおよびドキシソルビシン(ADM)を、それぞれ用いた。実験動物としては200g前後の雄性ラットを使用した。1) CDDPの毒性軽減; CDDPの1 mg/kgとFOMの80または160 mg/kgを併用して、静脈内に1日1回12日間連続投与し、経時的に諸検査を行いCDDP単独群の結果と比較した。その結果、FOMはCDDPによる造血臓器、消化器および腎臓等の障害を投与量に比例して軽減した。2) ニトロソウレア系の毒性軽減; FOMの40または80 mg/kgとACNUの30 mg/kg, DCNUの16 mg/kgおよびGANUの5 mg/kgを静脈内に1回併用投与して、その10日後に諸検査を実施し制癌剤単独投与群の結果と比較した。その結果、FOMはACNUの骨髄毒性、DCNUとGANUの腎毒性を軽減した。3) ADMの毒性軽減; ADM 2 mg/kgとFOMの80~320 mg/kgを併用し、静脈内に1日1回5日間連続投与して、その4日後および14日後に諸検査を実施しADM単独投与群の結果と比較した。その結果、FOMはADMの毒性を軽減した。

以上より、FOMはCDDP, ADM, ニトロソウレア系制癌剤の毒性を明らかに軽減することが結論される。

第7報 資料保管管理システム

内田英一, 堀井郁夫, 塩崎裕通, 宇高奎二

日本ロシュ研究所・毒性学病理学部

GLP規制における資料（記録および標本）の保管とその検索は、データ収集・解析・報告後の管理面での重要な位置を占めている。今回、既報データ処理システムの付帯システムとして、資料保管をGLPに適合した形で管理できるシステムを開発したので報告する。

〔システムの概要〕ホストコンピュータとして既設 PDP 11/70を使用、試験責任者による保管・検索依頼、資料保管責任者による保管管理はすべて端末を介して行われる。本システムの機能は①プロトコールに基づく資料保管②保管依頼とその承認・チェック③保管管理責任者による保管場所指定④資料閲覧と一時持ち出し⑤保管状態のレビュー・プリントアウト⑥移動・廃棄処理などの管理である。

〔管理実施とその運営〕既存データ処理システムによる正確なデータ収集・解析・報告等の処理後、プロトコールに基づき本システムが稼動し資料保管管理がなされる。端末を介して試験責任者による保管依頼がなされ、その依頼をもとに QAUによりチェックがなされる。資料保管責任者はチェックされた資料を端末で確認しシステムからのガイドを参考にし保管場所を決定し入力する。保管後の閲覧・一時持ち出し状態とその作業も資料保管管理責任者の管理のもとで実施される。また、常に端末より現在の資料保管管理状態、閲覧・一時持ち出し状態を正確にすばやく把握する事ができる。

〔GLPへの適合性〕プロトコールおよび SOPに基づく保管管理、また資料保管責任者のみの資格コードによる保管管理とその記録、保管の各段階におけるチェック機構による資料の安全性の確保などの点で GLPに充分適合し得るシステムである。

塩崎裕通, 堀井郁夫, 内田英一, 宇高奎二

日本ロシュ研究所・毒性学病理学部

GLP規制上、動物管理に関しては安全性試験遂行の際、常に監視・モニターしておかなければならない管理事項の一つである。今回、既報データ処理システムと平行して GLPに適合した形で動物管理ができる付帯システムを開発したので報告する。

〔システムの概要〕ホストコンピュータとして既設 PDP 11/70を使用、動物管理責任者による動物飼育管理、動物飼育用品管理、動物飼育補助員管理などすべての指示と対応データの入力は端末を介して行われる。本システムの機能は①プロトコールに基づいた全般的動物管理②管理日程のスケジュール化③動物の発注・入荷・検収・検疫・飼育などの管理④動物飼育用品の供給・洗浄・設置などの管理⑤動物飼育補助員の手配・作業記録⑥各試験と動物管理システムとの対応⑦管理状態のレビューとモニターなどである。

〔管理実施とその運営〕①動物飼育管理：プロトコールに基づく動物の発注と入荷が入力され、動物の検収・検疫・飼育状態のチェックがすべてスケジュール化され管理・記録される。動物管理責任者はシステムからのガイダンスに従い動物管理状況を入力し、また、疾病動物に対する対処事項も入力できる。②動物用品管理：各試験に必要なとされるケージ・ラックなどの供給・洗浄・配置の情報の指示入力に基づいた各作業のスケジュールが提示される。③動物飼育補助員管理：人の手配・作業記録についてスケジュールに従いその内容を入力する。上記①～③の事項は、すべて端末でモニターできる。

〔GLPへの適合性〕プロトコール、SOP、動物管理責任者の指示に基づき管理されるので GLPに充分適合しうるシステムである。

関沢 純

国立衛生試験所 化学物質情報部

(目的) 農薬の毒性については環境汚染、食物残留、使用者の安全との関連から正確に評価しておく事が重要である。しかし農薬の慢性毒性データが学術誌に公表される例は少ない。国際的な専門家会議による安全性評価のために提供された未公表データについてはその評価文書より内容の要点を知る事ができる。農薬の発癌性と生殖毒性に関するデータをFAO/WHO合同農薬残留専門家委員会(JMPR)、WHOの下部機関である国際癌研究機関(IARC)、WHO/UNEP/ILOの共同による国際化学物質安全性計画(IPCS)の三機関の評価文書より抽出、データベース化し、農薬の毒性研究に利用できる情報源として整備する。

(方法) 当部で収集した上記三機関の安全性評価文書より発癌性、または生殖毒性について評価された農薬の名称、種類、動物種別および人についてのデータの有無、評価結果、評価年次と引用文献などを調べ、データベースに入力した。

(結果) このデータベースでは例えば農薬の名称または種類、毒性と動物種を指定すると、上記三機関の評価文書中における該当するデータの有無、各機関での評価結果、評価に用いられた引用文献を検索する事ができる。評価データの見出された農薬の数は、発癌性については118、生殖毒性については146であったが、三機関のいずれもが共通して評価していた農薬の数は、発癌性については5、生殖毒性については2しかなかった。引用文献に関しては、例えばJMPRではひとつの農薬の生殖毒性の評価について平均4件の文献が引用されていたが、その6割が未公表文献であった。

○ 上満信男, 美濃部安史, 仲吉 洋

榑野村生物科学研究所

四塩化炭素の1回吸入暴露における暴露濃度-時間-反応の定量的関係の確立を試みた。Sprague-Dawley系雄ラット(175~219 g)に種々の暴露濃度($c = 1350, 2500, 3400, 5200, 6900$ ppm)と暴露時間($t = 1, 2, 3, 6$ hr)の組合せで暴露を行った。また反応(毒性)指標として血漿 GOT活性を測定した。その結果, 暴露濃度を一定にして暴露時間を変えた場合と, その逆の暴露時間を一定にして暴露濃度を変えた場合とも, GOT活性は暴露24時間後で最も高い値を示した。その活性値を g とすると, $\log g$ と t は各暴露濃度に対して直線関係が得られた。その関係は $\log g = \alpha \log t + \log \beta$ で表わされ, さらに $\log \alpha - \log c$, $\log \beta - c$ との直線関係から, 最終的に暴露濃度-時間-反応の定量的関係は次式で与えられた。

$$\log g = n c^m \log t + \gamma c + \log \delta$$

ここで n, m, γ, δ は経験的定数である。この関係式からつぎの三つの点が明らかになった。1つは従来から知られている $c \times t = \text{一定}$ (Haber's law)は成立しないこと, 2つ目は暴露時間より暴露濃度の方がより強く毒性に作用すること, 3つ目はいろいろな暴露時間に対する無作用濃度(NOEL)が推定可能であることの三つである。

岩崎真，吉田稔，池田孝則，津田修治，白須泰彦

(財) 残留農薬研究所 毒性部

吸入毒性試験は通常全身暴露か鼻部暴露の方法で行なわれている。また，薬物の担体としてはオリーブ油等が汎用されている。一般に全身暴露では経皮吸収の影響が，鼻部暴露では拘束の影響が示唆されているが体系的な報告は無く，担体の影響に関する報告も無いので検討を行なった。

鼻部暴露における拘束の影響については標準的な保定装置を用いた。3種の有機リン剤，fenthion, dichlorvos, chlorfenvinphos (CVP)をラットに経口投与し，ケージ群と拘束群を比較するとfenthionではケージ群のLD₅₀が約2倍高かったが，CVPでは差が見られなかった。dichlorvosではfenthionとCVPの中間に位置した。クロルピクリンの吸入毒性は全身・鼻部暴露で差が無かった。

経口投与で差の無かったCVPを用いて経皮吸収及び担体による希釈の影響を検討した。全身暴露群と鼻部暴露群を同一のCVPミストに吸入暴露すると，LC₅₀は両者とも約0.1mg/lであり有意な差は見られなかった。このような低濃度では被毛の濡れはほとんど認められなかった。次にこれをオリーブ油で2% (W/W)に希釈して吸入暴露すると，全身暴露群のCVP当りのLC₅₀は希釈前の値と変らなかったが，全身暴露群の被毛の濡れは著しく，死亡時期は著明に遅延した。一方鼻部暴露では希釈によってLC₅₀の増大傾向が見られた。

以上のことから，1.拘束の影響は薬物の作用様式により変化する，2.経皮吸収の影響は被毛の濡れの程度により変化する，3.担体による希釈は呼吸器系のみを介する吸入毒性を減少させる可能性がある，ことが示唆された。

化学物質の吸入による気道及び肺の毒性学的研究
(第2報)

鎌田栄一 内田雄幸 鈴木幸子 池田康和 小川幸男
金子豊蔵 戸部満寿夫

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 毒性部

雄F-344ラットにホルムアルデヒドを一回鼻部暴露することにより鼻粘膜や肺の過酸化脂質、肺胞表面活性物質に影響が認められたことを第11回の毒科学会で報告した。今回はこうした変化が暴露後どのような推移をとるのかを検討した。

方法：雄のF-344ラットに全身暴露装置を用いて、14.5ppm（L群）と105.3ppm（H群）のホルムアルデヒドを4時間1回暴露し、暴露直後、1日目、3日目、7日目の鼻粘膜中の過酸化脂質（LPO）と非蛋白性SH化合物（NPSH）、肺胞表面活性物質および肺胞マクロファージの変化を中心に検索を行った。

結果：H群では、著明な体重増加抑制がみられ7日間経過しても回復がみられなかった。LPOは、L、H群とも暴露直後、高い値を示し、以後回復した。H群のNPSHは、暴露直後より7日目まで低い値を示した。肺胞洗浄液中の脂質分画では、H群のTGに減少とPCの著しい増加が暴露直後より7日目までみられた。肺胞マクロファージでは、H群で総細胞数が1日目で著しく増加し、貧食能が3日目で増加した。病理学的所見においてL群で、暴露直後と1日目に鼻粘膜のみに軽度の変化がみられ、H群では、暴露直後より3日目まで鼻粘膜上皮の剥離、脱落および分泌物の増加が認められ、気管や肺にも軽度の分泌物の増加がみられた。

このことから吸入毒性試験において吸入された化学物質の毒性評価において鼻粘膜や肺胞内のパラメーターを調べることは、毒性学的に意義のあることが示唆された。

シリカ吸入ラットの肺および気管支リンパ節
における粒子沈着と組織学的変化

小木曾 洋一、山田裕司、久保田 善久

放射線医学総合研究所・内部被曝研究部

肺線維症誘発ダストのひとつであるシリカ粒子の呼吸器系への沈着と病変形成について検討した。粒子状ケイ砂を粉じん発生器により鼻部吸入曝露チャンパーに送り、W/Mラット(雄、300~350g)に1日/時間計6日間連続吸入させ、同令の無処置ラットを対照群として6カ月間観察した。粒子エアロゾル濃度および粒子径(MMD)はそれぞれ120~150 mg/m³および4.4 μm ($\sigma_g = 2.12 \mu\text{m}$)であり、またプレシスモグラフィにより測定した吸入中の動物(無麻酔)の呼吸量は平均して105~150 ml/minであった。肺洗浄を施して得られた細胞数とその構成比は観察期間を通じて変化がなく、また対照群との間に有意差はみとめられなかったが、粒子貪喰マクロファージの占める割合が50~60%(1カ月後)から5~10%(6カ月後)に漸減した。組織学的に、肺および気管支リンパ節における粒子沈着をみると、肺胞内には粒子貪喰マクロファージの集簇が明らかで、時として間質あるいは気管支周囲リンパ組織にも粒子が観察された。さらに気管支リンパ節の副皮質・髄索にも粒子沈着を伴うマクロファージの肉芽腫様集簇がしばしばみとめられた。以上の所見に加えて、肺では細気管支・小血管周囲の間質炎と胸膜下の肺胞炎が散見され、時として軽度の線維芽細胞増数および結合織増加が一部のラットで観察されたが、定型的な肺線維症は現在のところみとめられていない。このことは粒子の吸入量・沈着量等に左右されることが考えられるが明らかでない。

ブチルヒドロキシアニソール(BHA), ジブチルヒドロキシトルエン(BHT), および *tert*-ブチルヒドロキノン(TBHQ)のラット肺におよぼす影響

○坂本義光, 高橋 省

東京都立衛生研究所 毒性部

酸化防止剤 BHA の腹腔連続投与により, ラット肺に出血, 肺胞壁における細胞増生および脂肪滴の沈着などの変化をおこすことをオ71回日本薬理学会関東部会において報告した. ところで BHA を含め同じ酸化防止剤である BHT, TBHQ について腹腔投与によるラットへの影響の観察を目的とした実験例はほとんどない. このうち BHT はマウスに対して肺に障害作用をおこすことが知られているが, ラットへの作用を見た例は少ない. そこで今回は, 腹腔投与によるこれらの酸化防止剤のラット肺への影響を比較観察した結果を報告する. 《方法》 JCL-50 系雄ラットに BHA 250, 400 mg/kg, BHT 640, 1024 mg/kg, TBHQ 98, 156 mg/kg を 1 日 1 回 7 日間腹腔注射した. 各薬物はいずれも大豆油に溶かして用いた. 投与終了後血漿プロトロンビン時間および肺重量を測定し, 学法により肺の組織標本を作製した. 《結果》 体重は各投与群でその変動推移は多少異なるがいずれも対照群に比べ増加抑制傾向を示した. プロトロンビン時間は BHT 群および BHA 高用量群で有意な延長を示した. 肺は剖検時, BHA 群のみで大きく, 表面は黒赤色の斑点状模様を呈していた. 肺重量も BHA 群のみで有意な増加がみられた. 組織学的には BHA 群で出血, 毛細血管および, 小血管の充血, 血管周囲浮腫, 肺胞壁における細胞増生, 大きな脂肪滴の存在および炎症性細胞の浸潤など著明な変化が見られたのに対し, BHT 群では血管周囲の浮腫および毛細血管等の充血, TBHQ 高用量群で脂肪滴の存在がみられたが, いずれも BHA 群に比べ軽度なものであった. 以上のように腹腔投与によって BHA のみが, ラット肺に対し特徴的な強い作用を示した.

宮川義史* 古川文夫 高橋道人 林裕造

国立衛生試験所

病理部

*日本たばこ生物センター

Butylated Hydroxytoluene (BHT), Butylated Hydroxyanisole (BHA) は食品、薬品、化粧品の抗酸化剤として広く使用されている。今回我々は、BHT並びにBHAのマウス経皮毒性について検索した。8週齢のCD-1マウス雌雄各60匹の背部を剃毛後、6群(雌雄各10匹)に分け、0.1mlのDMSOに溶解したBHTの30, 20, 10, 5 mgあるいはBHAの30 mgを週3回、4週間塗布し、対照群にはDMSOのみを塗布した。実験期間中、一般状態、体重、死亡率を記録し、死亡例及び最終屠殺例を病理組織学的に検索し、一部の動物については肺の電顕的観察を実施した。BHT投与群では4日目より呼吸器症状を示し死亡する動物が現れ、5~7日目にかけて多数の動物が死亡し、死亡率は投与濃度に比例していた。しかし8日目以後は死亡はみられなかった。一方、BHT投与群、対照群では、臨床的異常、死亡例共に認められなかった。病理学的検索によると、死亡例の肺はすべてうっ血を伴い腫大しており、肺胞I型細胞の壊死並びに肺胞II型細胞、間質細胞、肺胞マクロファージの増殖が観察された。他臓器に異常は認められず、死因は肺障害によるものと考えられた。一方、BHT投与群の生存動物やBHA投与群、対照群の動物では、肺を含めいずれの臓器にも異常は認められなかった。既にBHTはマウスの腹腔内あるいは経口投与により、肺障害を起こし致死させることが知られているが、今回の実験から、皮膚塗布によっても同様の肺病変を惹起し、また、その致死効果もほぼ同様の強さであることが明らかにされた。また、BHAは今回の実験の用量では経皮毒性を示さないことが示された。

○ 赤堀文昭・沖中富朗・政岡俊夫・新井成之

麻布大・獣医・薬理

人のParaquat (PQ)中毒と同様の肺線維症を起こすといわれている犬(ビーグル)をモデル動物として用い、コラーゲン合成抑制薬Dehydroproline (DHP)の肺線維症に対する効果を検討した。

実験方法

1) 動物：25頭のビーグル犬をPQ投与群(17頭)又は生食投与群(8頭、対照群)へ無作為に割付た。2) 投与方法：予備実験の結果に基づいてPQ1mg/kgを皮下に7-11日間投与した。体重の減少を示した個体はPQの投与を中止し、PQ-DHP群とPQ-生食群とに無作為割付した。DHP(25mg/kg)又は生食(0.5ml/kg)は11日目より14日間皮下投与した。実験スケジュールに従い採血するとともに、犬を11日目、25日目および183日目に屠殺した。

結果

1) 体重：PQ投与犬17頭のうち、PQ投与期間中(0-10日目)体重の減少を示し急性中毒で死亡したもの2頭(11.8%)、体重の減少のみられなかったもの1頭(5.9%)、体重の減少を示し11日目まで生存した個体は14頭(82.4%)であった。2) 赤血球SOD、血中カタラーゼ、血清過酸化脂質：いずれも対照群とPQ投与群、PQ-生食群、PQ-DHP群との間で差は認められなかった。3) 肺過酸化脂質：PQ投与により対照群の約4倍に増加した。しかし、183日目ではPQ-DHP群はPQ-生食群より低値を示した。4) Hydroxyproline量：PQ投与により体重の減少したものは対照群の約2倍の高値を示したが、体重の減少しなかった犬では対照群と同レベルであった。PQ-DHP群は25日目、183日目とも対照群の約2倍の値であったが、PQ-生食群では25日目約2倍、183日目約3倍と著明な増加を示した。

沼田弘明^{1,2)}, 飯塚宏美¹⁾, 岡哲雄²⁾, 柳田知司¹⁾

1) 実中研・前臨床研, 薬理 2) 東海大・医・薬理

麻薬含有配合剤の鎮咳去痰薬には散発的に乱用されているものがあり、乱用の結果覚せい剤様の精神中毒症状なども報告されている。この種の鎮咳剤にはリン酸 dihydrocodeine (DC), dl-塩酸 methylephedrine, マレイン酸 chlorpheniramine および無水 caffeine などが配合されている。本研究ではこれら配合成分の併用が DC の血中動態および致死効果に対してどの様に影響を及ぼしているかを検討した。血中動態に関する実験は、上記の配合成分を市販鎮咳剤と同じ比率で処方した配合剤を SD 系オス・ラットに DC として 25 mg/kg の割合で胃内投与し、DC の血中濃度の時間的推移および投与後 1 時間の脳内濃度を DC の単独を投与した時の成績と比較した。DC の定量は radioimmunoassay 法により行った。急性致死効果に関する実験は、同じ組成比の 4 成分配合剤およびそれらの単独あるいは 2 ないし 3 成分配合を ICR 系オス・マウスの胃内に投与し、24 時間の観察を行い、Dixon の up and down 法で LD50 を求めた。

4 成分配合時の DC の最高血中濃度は単独の 2.7 倍、血中濃度曲線下面積は 2.4 倍であった。また、脳内濃度も 2.7 倍であった。いずれの配合成分にも致死効果が認められたが、その強さは 4 薬全部の配合の場合が最も強く、各配合成分の個々の効果の加算に比較するとそれより強い効果であった。このように配合剤では主薬の DC の生体利用率が単独投与の場合よりも増加すること、および配合により各成分の急性致死効果には相乗作用がみられることがわかった。

ラットにおける薬剤の経口急性毒性に及ぼす摂餌条件の影響

○戸塚 繁夫，戸塚 保，菅野 昭永，木村 邦男
森 昌弘，増田 裕
三共株式会社，安全性研究所

〔目的〕マウス、ラットの経口急性毒性試験の摂餌条件は通常絶食とされている。摂餌条件が薬剤の経口毒性に影響することは2，3報告されているが充分とは言えない。そこで、我々は3薬剤について絶食と非絶食下の経口急性毒性を比較検討した。

〔方法〕動物は雌雄のF344ラットを用い、絶食はOver night(18H)とした。薬剤はPhenobarbital sodium(PB), Imipramine(IMP), およびKetoprofen(KPF)を用いた。この他、PBを用いて両条件下における急性毒性値の再現性、消化管内容物や投与液量による差、消化管内吸収部位、腹腔内投与での毒性および経口投与された被験液の消化管内動態について検討した。

〔結果〕PBとIMPの経口急性毒性は絶食下で強く認められたがKPFに差はなかった。PBの急性毒性値の再現性は絶食で高く、同じ投与量でも消化管内容物が少ないほど、また非絶食下では投与液量が多いほど強く認められた。PBの消化管内吸収部位は小腸であり、経口投与された被験液は絶食下で早期に小腸へ達した。

〔考察〕ラットにおける薬剤の経口急性毒性は摂餌条件の違いによって影響され、絶食下で強くなる薬剤(PB, IMP)とならない薬剤(KPF)とがある。PBの経口急性毒性が絶食下で強く、しかも再現性が高くなる原因は、被験液が速やかに小腸へ達することから一時に大量のPBが腸管から吸収されるためと推察された。

LD50値は、毒性評価に際して絶対的なものではないが薬剤によっては摂餌条件の違いによって大きく異なってくることを認識しておく必要があろう。

○新井克明, 佐藤信一, 吉野清高, 町島 啓,*山下 衛,*内藤裕史

筑波大学附属病院薬剤部, 同麻酔科*

薬物等の中毒の際に, 吸着剤として活性炭(以下A.C.)が広く用いられている。第12回救急医学会において, 人のアスピリン(以下Asp.)服用時におけるA.C.の投与量とAsp.の吸着量について検討し, 大量の活性炭の投与が, より効果的であることを報告した。今回, 食物がA.C.のAsp.吸着に及ぼす影響について検討した。実験: 成人男子(21~26才)にAsp. 2.0gを投与し, 次の条件でA.C.を30g, 50g, および100g投与した場合のAsp.の尿中回収率を求めた。1)空腹時にAsp. 2.0g, その5分後にA.C.を投与。2)食後2時間にAsp. 2.0g, その5分後にA.C.を投与。3)食直後にAsp. 2.0g, その5分後にA.C.を投与。結果: 1)空腹時にAsp. 2.0g投与した場合のAsp.の回収率は, 86.6%であった。5分後にA.C. 30g, 50g, 100g投与した場合の回収率は, それぞれ, 68.1%±5.6, 53.7%±11.6, 25.9%±3.4であった。2)食後2時間にAsp. 2.0gとA.C. 30g, 50g, 100g, 投与した場合のAsp.の回収率は, それぞれ, 84.6%±10.3, 82.9%±4.1, 52.9%±23.8であり, A.C. 100g投与群ではA.C.の効果に大きなバラツキを見た。3)食直後にAsp. 2.0g, その5分後にA.C.を投与した場合, A.C. 100g投与でのみ効果がみられた。考察: 空腹時では, A.C.の量に依存的に効果がみられたが, 食直後では大量のA.C. 100gを投与しなければA.C.の効果はみられなかった。食後2時間経過した後におけるA.C.の効果は, 個人差が大きく, これは胃内に停滞している食物の残存量の差によるものと思われる。

29 歯科材料の安全性評価 (2)

- Ni-Cr 合金の変異原性 -

○ 茶井康宏, 小沢和子, 吉居英一, 麻生田泉, 佐藤温彦

東京医科歯科大学・歯学部・第二理工

歯科用 Ni-Cr 合金は貴金属合金の代替物として近年繁用される傾向にあるが, その変異原性についての報告はほとんど見られない。そこで本合金の溶解物の遺伝子突然変異誘発性について検討した。

[実験材料および実験方法]

市販 Ni-Cr 合金 (Ni 90, Cr 10 wt%) の鑄造体 (60 mg) を王水 1 ml に溶解させ, 減圧乾固後, 蒸留水に再溶解し NaHCO_3 で pH を補正して 3.0 ml の溶液とし, ろ過滅菌して試験原液とした。チャイニーズハムスター V79 細胞を牛胎仔血清 10% 添加イーグル最少必須培地を用い, 97% 空気 3% 炭酸ガス気相中, 湿度 100%, 37°C で培養した。Chou の方法に準拠し試験原液を公比 2 で 8 段階に希釈し, 各々培地の 1/100 容添加し 3 時間暴露させ, 再播種後 144 時間を形質発現期間として後, 6-4 オグアニン含有培地で 12 日間培養し, 変異コロニーを検出した。陰性対照には王水のみを試験原液と同様に処理して用いた。各群 5 例につき, 細胞生存率および突然変異頻度を求めた。

[結果]

対照群の細胞生存率は $104 \pm 7\%$, 突然変異頻度は 0 であった。合金 $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 投与群では細胞生存率は 0.1%, 突然変異頻度は 2.6×10^{-5} であった。合金 $0.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ 投与群の細胞生存率は $112 \pm 7\%$, 突然変異頻度は 2.4×10^{-5} であり, 合金溶解液を投与した両群とも対照群に比して突然変異頻度の有意な上昇をみた。本合金は口腔内で溶解することが知られており, それを模擬した王水溶解物による変異原性陽性の結果は注目すべきである。

井川悦男, 田川義章, 津田洋幸, 白井智之, 伊東信行

名市大・医・一病

殺虫剤、殺菌剤などの各種農薬をはじめ、食品添加物、防錆剤などの生活関連物質の発癌修飾効果をラット肝の前癌病変を指標とした *in vivo* 短期検索法で2回に分けて検索した。

実験1；7週令のF344雄ラット300匹を用い、イニシエーターとしてDEN 200mg/kg b.w. を腹腔内投与し、その2週後より1%Diphenyl、0.1%Thiram、0.01%Dieldrin、0.1% α -HCH、0.4%Malonealdehyde bis(diethylacetate) (MABD)、0.05%Potassium bromate (PBr)、0.4%Malonic acid (MA)を基礎食に加えて6週間投与し、全経過8週で屠殺した。対照群としてDENのみ及び被検物質のみの投与群を設けた。全群とも実験開始3週目に肝部分切除を行った。肝の前癌病変であるGlutathione S-transferaseの胎盤型陽性細胞巢(GST-P⁺)を指標とし、その単位面積当りの数と面積を測定した。

実験2；実験1と同様の方法で、0.3%Captan、0.3%Captafol、0.3%Dichlofluanid (DF)、0.2%Urethane、0.1%*m*-Phenylenediamine (*m*-PD)、2.5%Amaranth、0.3%Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)について検索を行った。

結果；GST-P⁺の数は実験1のDEN単独群で9.1個/cm²に対し、DEN→Diphenyl 6.6個/cm²、DEN→Thiram 11.5個/cm²、DEN→Dieldrin 14.4個/cm²、DEN→ α -HCH 14.0個/cm²、DEN→MABD 13.3個/cm²、DEN→MA 15.1個/cm²、DEN→PBr 9.6個/cm²となり、実験2では、DEN単独投与で11.6個/cm²に対し、DEN→Captafol 19.8個/cm²、DEN→DEHP 8.5個/cm²、DEN→Urethane 15.6個/cm²と有意に変動した。またGST-P⁺の面積でも同様な結果が得られた。

以上、ラット肝癌発生において、農薬のThiram、 α -HCH、Dieldrin、Captafol、生活関連物質のMABD、MA、Urethaneなどはいずれもプロモーション効果をもつことが示唆された。

31 各種酸化防止剤の肝前癌病変に対する in vivo 短期検索法による抑制作用の追求

米良幸典，井上忠志，広瀬雅雄，立松正衛，伊東信行

名市大・医・一病

酸化防止剤は我々の日常生活において広く使用されている食品添加物である。これらを発癌の2段階説に基づきイニシエーション後に投与した場合肝発癌を抑制する作用のあることが観察されており発癌の修飾因子として注目されている。今回我々はすでに抑制効果の報告されている酸化防止剤の用量効果（実験Ⅰ）と新たな酸化防止剤の抑制作用の有無（実験Ⅱ）についてGlutathione S-transferase・P type (GST-P)をマーカー酵素とした in vivo 短期検索法を用いて検討した。

方法：7週令のF344雄ラットにDEN (200mg/kg)を1回腹腔内投与し、2週間後より各被験物質を基礎飼料に混じて6週間与えた。対照群は基礎飼料のみを与えた。全ての動物は試験開始3週間後に肝の2/3部分切除を施行し全経過8週で屠殺した。肝のGST-P陽性細胞巢(GST-P⁺)は免疫組織化学的に染色し、その数と面積を定量測定した。被験物質として実験Ⅰで2.0, 1.0, 0.5%BHA、1.0, 0.5, 0.25%BHTおよび0.5, 0.25, 0.125%Ethoxyquin (EQ)の各濃度群、実験Ⅱで1.0%Propyl gallate、5%Sodium erythorbate、2.5%Quercethin、1.5% α -Tocopherolを用いた。

結果：〔実験Ⅰ〕 GST-P⁺の数と面積はBHA2.0%の投与群で0.75個/cm²と0.06mm²/cm²、1.0%で1.52個と0.11mm²、0.05%で3.08個と0.26mm²であり対照群(4.75個と0.54mm²)と比較して数、面積共に有意な減少を示し、しかも用量依存性が認められた。BHTおよびEQ投与群では数の減少傾向はみられたが明らかな用量効果はなかった。〔実験Ⅱ〕 α -Tocopherol投与群(7.85個と0.6mm²)のみに対照群(9.09個と0.77mm²)と比し有意なGST-P⁺数の減少が認められた。

以上のことからBHAおよび α -tocopherolに明らかな肝発癌抑制作用の存在が示唆された。

日比野勤, 平沢 浩, 荒井昌之

藤田学園保健衛生大学衛生学部病理学教室

抗腫瘍剤である Busulfan をラットに 10mg/kg 1 回強制投与により膀胱粘膜の単純性過形成の発生が見られたので、今回、我々は F344 ラットに N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) を前投与後、Busulfan を頻回強制投与し、BBN 膀胱腫瘍発生に対する影響を検索した。

動物は 6 週令 F344 系雄ラット 70 匹を用い、4 群を作成した。BBN は飲料水に 0.05% の割合に混じ投与、Busulfan は DMSO とオリーブ油の等量混合液 1ml 中に、2mg/kg の割合に溶解、Stomach tube にて強制投与を週 2 回おこなった。第 1 群は 20 匹で BBN 4 週間投与後、5 週目より 12 週まで Busulfan を投与、第 2 群は 20 匹で、Busulfan のみ投与、第 3 群は 20 匹で BBN のみ投与、第 4 群は 10 匹で、無処置の対照群。動物は実験開始後 32 週で屠殺し、膀胱を中心に変化の有無を検索した。動物の体重増加、並びに屠殺時の体重及び主要臓器の重量は実験群と対照群との間には有意の差はみられなかった。

病理組織学的に、単純性過形成は、第 1 群で 17 匹中 10 例 (58.8%)、第 3 群では 20 匹中 20 例 (100%)、乳頭状又は結節状過形成は、第 1 群で 3 例 (17.6%)、第 3 群では 11 例 (55%)、乳頭腫は第 1 群で 2 例 (11.8%)、第 3 群では 8 例 (40%) に見られた。第 2 群並びに第 4 群の膀胱及び主要臓器には腫瘍性変化は見られなかった。

BBN 前投与ラットに、Busulfan を頻回投与すると、膀胱粘膜の剝離が起り、initiate された細胞が脱落し、そのため過形成や乳頭腫の発生頻度が BBN 単独投与群に比し低下したものである。

柴田雅朗, 倉田 靖, 小木曾 正, 増井恒夫, 福島昭治

名市大・医・一病

膀胱発癌プロモーション作用を有するNa塩化合物に注目し、それら化合物自身の持つ生物学的特性を生化学的並びに病理学的に追求した。

F344雄ラットを用い、1群15匹とし、各群の動物に5% Sodium L-ascorbate, 5% Ascorbic acid, 5% Calcium ascorbate (CA), 5% Sodium erythorbate, 5% Erythorbic acid, 5% Sodium saccharin, 5% Saccharin acid, 2% Sodium o-phenylphenate (SOPP), 2% o-phenylphenol, 5% Sodium hippurate (SH), 5% Hippuric acid または基礎飼料のみを投与した。実験開始後8, 16 および24週後に各群5匹ずつ屠殺剖検し、膀胱について病理組織学的並びに走査電顕的検索を実施した。なお、各屠殺前には尿の電解質(Na, K, Ca, Cl, P, Mg)、浸透圧およびpHの測定を行い、さらに尿沈渣についても検査した。

尿所見では、SH群を除くNa塩化合物投与群で、 Na^+ およびpHの上昇、浸透圧の低下、さらに沈渣中の結晶成分の増加をほとんどの検査時期に認めた。また、CA群では Ca^{++} , Mg^{++} およびpHの上昇を各時期に認めた。膀胱の病理組織学的検索では、SH群を除くNa塩化合物群で8週より単純性過形成を、特にSOPP群では16週よりPN過形成を認めた。走査電顕的には、これらの群の8週よりshort, uniform microvilliやropy~leafy microridges 等が表層細胞表面に観察された。なお、酸化合物群の膀胱には何ら変化を認めなかった。

以上、Na塩化合物である膀胱発癌プロモーターは、尿性状の変化をもたらしそれ自身が膀胱粘膜に対する増殖性反応を惹起することが明らかとなり、高 Na^+ 尿とそのアルカリ化の関与の重要性が認識された。

小木曾 正, 玉野静光, 柴田道子, 福島昭治, 伊東信行

名古屋市大・医・一病

Butylated hydroxyanisole (BHA)、Butylated hydroxytoluene (BHT)およびEthoxyquin (EQ)の3種類の酸化防止剤を用い、BBN膀胱発癌におけるプロモーション作用とその用量効果を検討した。

6週令のF344系雄ラット200匹を用い、0.05%BBNを2週間飲料水にて投与後、BHAは2%, 1%, 0.5%、BHTは1%, 0.5%, 0.25%、EQは0.5%, 0.25%, 0.125%の各濃度で飼料に混じ、22週間自由摂取させた。実験第3週後に膀胱上皮の増幅をはかるために、左尿管結紮を施行した。対照群として、BBN投与のみおよび検体投与のみの群も設けた。実験開始24週後に動物を屠殺し、膀胱の病変を病理組織学的に、PN過形成・乳頭腫・癌に分類し、その発生率と膀胱基底膜(BM)10cm当りの数を比較検討した。

その結果、PN過形成の発生は、BBN→2%BHA群が18匹中11例(61.1%)・0.83個/10cmBM、BBN→1%BHT群が17匹中11例(64.7%)・0.83個/10cmBMで、BBN投与のみの群の14匹中3例(21.4%)・0.17個/10cmBMに比較し有意の差をもって増加していた。BHA、BHTのその他の群では程用量に相関したPN過形成の発生の増加がみられた。乳頭腫の発生は、BBN投与のみの群の3例(21.4%)・0.15個/10cmBMに対し、BBN→2%BHA群が5例(27.8%)・0.25個/10cmBM、BBN→1%BHTが8例(47.1%)・0.35個/10cmBMと増加を示したが、有意差はみられなかった。癌は、BBN→0.25%BHT群とBBN投与のみの群に1例ずつみられた。EQ投与群は各群とも対照群と同程度であった。

以上より、BHAおよびBHTの最高濃度投与群には、明らかなBBN膀胱発癌におけるプロモーション作用が認められた。また、その作用にはBHAとBHTと共に明らかな用量効果のあることが見出された。しかし、EQにはプロモーション作用は全く認められなかった。

35 ラット膀胱発癌に対する α -Tocopherol, TBHQおよび Propyl gallateの効果

倉田 靖, 柴田道子, 米良幸典, 立松正衛, 広瀬雅雄

名市大・医・一病

我々はラットBBN膀胱発癌において、酸化防止剤のBHA, BHTおよびSodium L-Ascorbateなどがプロモーターとして作用することを見出している。そこで、今回、同じ酸化防止剤である α -Tocopherol (α -TP), tert-butylhydroquinone (TBHQ) およびpropyl gallate (PG)が、ラット膀胱発癌に対してどの様に作用するかを検討した。

6週令のF344系雄ラット180匹を用い、イニシエーターとして0.05%BBNを4週間投与後、1.5%, 0.75%及び0.38%の α -TP, 1.0%PG および2.0% TBHQ 含有食をそれぞれ32週間投与した。また、対照群としてBBN投与後基本食だけを投与する群および各物質の単独投与群を設け、実験開始後36週にてラットを屠殺し、膀胱の前癌病変ならびに腫瘍の発生を病理組織学的に検索した。

その結果、膀胱の前癌病変であるPN過形成の発生頻度は、BBNのみの対照群において7/20(35%)であるのに対し、BBN投与後の α -TPでは1.5%投与群で11/20(55%) 0.75%で7/20(35%), 0.38%で10/20(50%)であり、TBHQ投与群では19/19(100%), PG投与群で13/20(65%)であった。また単位基底膜当りのその発生数もTBHQ群にのみ有意な増加を認めた。しかし、乳頭腫および癌の発生にはどの群も差異を認めなかった。

以上、TBHQはラット膀胱発癌において明らかなプロモーション作用を示すことが認められたのに反し、 α -TP とPGにはその作用がないことが明らかとなった。

前川昭彦、小野寺博志、林 裕造

国立衛試・病理

癌原性試験において、その背景病変としての自然発生腫瘍の把握はきわめて重要である。一般的にラットの自然発生腫瘍は内分泌臓器や生殖器、乳腺に多くみられ、神経系組織にはその発生はきわめて稀である。今回我々は、我国で癌原性試験に繁用されているF344及びWistarラットの神経系及び関連臓器組織における自然発生腫瘍を検索したので報告する。

検索したラットは、395 雄及び396 雌F344/DuCrj ラット（日本チャールス・リバー）、200 雄及び177 雌Slc:Wistar ラット（静岡実験動物）で、空調下動物室において何ら処置を加える事なく、基本飼料及び水道水で120～130 週齢まで観察した。

観察された主なる神経系腫瘍は神経膠腫及び神経鞘腫で、両系統のラットにみとめられた。計7例の神経膠腫中、6例は大脳に、1例は脊髄にみられ、1例が乏突起細胞腫であった他は全て星細胞腫であった。又5例の神経鞘腫のうち、2例は三叉神経に、3例は脊髄神経（根）にみられた。その他の神経系及び関連臓器組織の腫瘍としては、3例の大脳顆粒膜細胞腫、1例の松果体腫瘍、4例の副腎髄質由来の神経節細胞腫、1例の鼻腔末分化癌（*esthesioneuroepithelioma?*）及び2例の脊索腫がみとめられた。

メモ：

玉野静光，萩原昭裕，柴田雅朗，白井智之，津田洋幸

名市大・医・一病

長期毒性試験および発癌性試験で観察される自然発生腫瘍の集積は、発癌性の評価を行う為の背景データとして重要である。今回、我々は発癌性試験に繁用されているB6C3F₁系マウス（日本チャールズリバー）の自然発生腫瘍について観察し検討を加えたので報告する。

5つの発癌性試験のコントロール動物を検索対象とし、途中死亡動物並びに試験開始105週目で屠殺剖検した合計490匹（雄244匹雌246匹）について病理組織学的に検討した。飼育には市販の基礎飼料（オリエンタル酵母製MFまたは日本クレア製CE-2）を用いた。その結果、105週目の生存率は雄で72%，雌では74%と雌雄間に差はみられなかった。最初の腫瘍発生は雄で79週目に、また雌では59週目にそれぞれ肝細胞癌および子宮肉腫が観察された。担癌動物は雄で70.9%，雌では57.3%で、雄の腫瘍発生総数243のうち悪性腫瘍は130であり、雌の腫瘍発生総数183のうち悪性腫瘍は105であった。2%以上の高い発生率を示した悪性腫瘍として、雄では肝細胞癌、悪性リンパ腫・白血病、肺腺癌、皮膚または皮下の悪性線維性組織球腫および線維肉腫の順でみられ、雌では悪性リンパ腫・白血病、肝細胞癌、肺腺癌、子宮平滑筋肉腫の順でみられた。また雌雄間で腫瘍の発生を比較すると、肝腫瘍（過形成結節、肝細胞癌、血管腫）は雄に高率であり、悪性リンパ腫・白血病および下垂体腫瘍は雌に高率に認めた。死亡例のほとんどが79週以後の期間でみられ、死亡原因の多くは腫瘍によるものであり、雄では肝腫瘍が、雌では悪性リンパ腫・白血病が多数を占めていた。

○平野 雅裕, 真板 敬三, 三森 国敏, 白須 泰彦

(財) 残留農薬研究所 毒性部

殺菌剤 Guazatine を F344/Crj ラットに、飼料中濃度 0, 10, 100, 300 ppm で、24ヵ月間投与した。動物は各濃度群とも雌雄各 80 匹を用いた。試験開始後 6 および 12ヵ月目に各群雌雄 8 匹ずつを屠殺し、諸検査に供した。

300 ppm 群(雄 11.3 mg/kg/日, 雌 14.2 mg/kg/日)では、雌雄とも著しい体重増加抑制が認められ、累積死亡率も対照群に比し有意に高かった。また、雌雄とも食餌効率の低下、貧血傾向、総蛋白減少、腎・副腎重量増加、雄で K 減少、Ca 増加、雌で BUN, GOT, γ -GTP の増加、アルブミン減少、脾重量増加がみられた。病理組織学的には、腫瘍病変では雄の白血病、雌雄の副腎褐色細胞腫の発生が促進された。非腫瘍病変では腎尿細管上皮の腫大・変性・壊死、腺胃の腸上皮化生が雌雄にみられ、雄では、試験初期の精管粘膜炎に続く精管精子肉芽腫形成が高率にみられた。また精巣上体精子肉芽腫形成、脾結節性動脈炎(雌雄)、上皮小体過形成(雌)が有意に増加した。

100 ppm 群(雄 3.56 mg/kg/日, 雌 4.41 mg/kg/日)では、雌で体重増加抑制がみられ、雄で累積死亡率が軽度増加した。また検査時期により雄で Ca 増加、K 減少、腎重量増加、雌で γ -GTP 増加、腎・脾重量の増加がみられた。病理組織学的には、300 ppm 群と同様の腎病変が雌雄 1 例ずつにみられ、腺胃の腸上皮化生(雌雄)、精管精子肉芽腫形成(雄)の発生頻度も対照群に比し有意に高かった。

10 ppm 群(雄 0.356 mg/kg/日, 雌 0.428 mg/kg/日)では、雌雄とも本薬剤投与に関連づけられる変化は認められなかった。

○真板 敬三, 三森 国敏, 平野 雅裕, 白須 泰彦

(財) 残留農薬研究所 毒性部

殺菌剤 Guazatine を ICR-CRJ マウスに, 飼料中濃度 0, 10, 100, 300 ppm で, 24ヵ月間投与した。動物は各濃度群とも雌雄各 80 匹を用いた。試験開始後 6 および 12ヵ月目に各群雌雄 8 匹ずつを屠殺し, 諸検査に供した。

300 ppm 群 (雄 26.0 mg/kg/日, 雌 29.5 mg/kg/日) では, 雌雄とも著しい体重増加抑制があり, 雌では 54 週以降, 雄は 56 週以降死亡率の増加がみられた。また, 飼料摂取量の減少, 食餌効率の低下, 貧血, 血漿尿素窒素の増加(雌), ALP の増加, 腎重量の増加と肝の相対重量の増加が認められた。病理組織学的には, 肝のびまん性ないし小葉周辺性の肝細胞腫大, 腎の近位尿細管上皮の腫大から線維化にいたる病変の頻度が増加した。また, 脾の萎縮(雌雄), 卵巣の萎縮と褐色色素沈着(雌), 内涙腺の腺上皮萎縮(雄)も対照群に比し有意に増加した。さらに, 腎障害による二次的変化と考えられる皮下水腫(雌)と胸水増量の頻度が増加した。腫瘍性病変では, 明細胞型の腎上皮性腫瘍が雄で増加した(対照群 0/79, 300 ppm 7/79)。この腫瘍の初発は投与開始後 7ヵ週であった。

100 ppm 群 (雄 8.55 mg/kg/日, 雌 7.94 mg/kg/日) では病理組織学的検査において, 雌雄とも腎の近位尿細管上皮の腫大の頻度が増加した。

10 ppm 群 (雄 0.833 mg/kg/日, 雌 0.787 mg/kg/日) には雌雄とも本薬剤投与に関連づけられる変化は認められなかった。

○ 上満信男, 西村千尋, 仲吉 洋

榑野村生物科学研究所

前回の本学会で、1回高用量の四塩化炭素経口投与後の体重、湿重量、比重量の検討の結果、肝重量への影響を従来の指標である無処理対照群の湿重量ならびに比重量を使って比較することは、間違った解釈に導く可能性があり、適切な指標でないことを報告した。同時に四塩化炭素投与群と同じ体重変動を示すように物理的拘束と摂餌制限を施した“ホールド処理群”の湿重量との比較が、化学物質の直接的な臓器重量への影響を知るためには適切な指標であることを指摘した。今回は低用量（10 μl と50 μl CCl_4 /100 g体重）を14日間あるいは25日間 Sprague-Dawley 系雄ラットに経口投与を行った CCl_4 投与群2群、それぞれの CCl_4 投与群と同じ体重変動を示すように摂餌制限した摂餌制限群2群、無処理対照群1群の計5群について実施した。1群当り8匹あるいは16匹で、体重ならびに摂餌量を測りながら、14日目と25日目に解剖し、肝重量を測定した。体重、肝重量、比重量の詳細な検討の結果、1回高用量の結果と同じように、四塩化炭素の肝重量への影響を正しく把握するためには、摂餌制限群の湿重量と比較されるべきであるという結論が得られた。

約200匹の正常な Sprague-Dawley 系雄ラットの体重（20～445 g）と肝重量のデータをプロットした。その結果、これらのデータに対して $y = ax$ 、 $y = ax + b$ 、 $y = ax^b$ の各式とも、良好な相関が得られ、これら三つの式間で統計学的有意差はみられなかった。従ってこのことを通して比重量の妥当性を議論出来ないことが示された。摂餌制限群のデータを同グラフにプロットしたところ、正常なラットの体重-肝重量の関係より低い値が得られた。このことは毒性試験実施のつど、摂餌制限群設置の必要性を示唆した。

41 ナキウサギの皮膚刺激試験用動物化への試み

(1) ナキウサギの皮膚構造について

酒井 健夫¹⁾・○山田 俊治¹⁾、谷口 雄三²⁾、児玉 幸夫³⁾・堀内 茂友³⁾

1) 日大獣医衛生。 2) 奈良医大。 3) 国立衛試

我々は、ナキウサギ *Ochotona rufescens rufescens* (以下Pika) の実験動物化への有用性を見出す研究の一端として、Pikaが皮膚刺激試験に供試可能か否かを検討している。今回は、その基礎的資料を得る目的で皮膚構造について検討した。

材料および方法：Pikaは85～342g (40～300日令) の雄8匹、雌8匹であり、Sodium pentobarbital麻酔下で、腹大動脈より全採血して屠殺した。皮膚は刈毛後剥離し、10%中性ホルマリン液で1週間固定した後に、Vernier calipersで厚さを測定した。ついで、H-E染色およびAlcian blue-Van Gieson重染色などの組織標本を作製し、光学顕微鏡下でMicrometerを用いて表皮各層の組織学的構造および厚さを調べた。

成績：Pika軀幹部の平均皮膚厚さは1.16mmで、背部が最も厚く、腹部が最も薄かった。各局所皮膚の厚さの分布に性差は認められなかった。皮膚の厚さと体重は相関を示し、背部皮膚厚さと体重の関係は $y=0.426+3.59 \times 10^{-3}x$, $r=0.711$ であった ($P < 0.01$)。皮膚にはラフスキン局所も認められ、多数の毛包群を有した。軀幹部の平均表皮の厚さは29.5 μ mで、角質層、淡明層、顆粒層、有棘細胞層、基底層の区分は比較的明瞭であった。基底層の細胞配列は緻密で、表皮直下の皮下乳頭層にはAlcian blue陽性細胞が認められた。

以下Pikaの皮膚構造には、生物学的特性を有することも推測された。今後は経皮吸取性や刺激反応性などを検討して、皮膚刺激試験動物モデルとしての相対的順位を探究したい。

山内 博

聖マリアンナ医大 公衆衛生学教室

メチルアルソン酸（M A A）、ジメチルアルシン酸（D M A A）、トリメチルヒ素化合物（T M A）は哺乳動物の体内においてどのような化学形態のヒ素に代謝されるか、また、尿と糞便への排泄パターンについて経時的な観察を試みた。

〔実験方法〕 実験動物はゴールデン・ハムスター（雄）を一群5匹として使用した。M A Aは 5, 50, 250 mg/kg、D M A Aは50 mg/kg、T M Aは（アルセノベタイン）は 35.6 mg/kg をそれぞれ一回経口投与した。

〔結果〕 M A A、D M A A、T M Aを投与した後の肝臓から検出したヒ素の化学形態から、M A Aの一部はD M A Aに、D M A Aの一部はT M Aにそれぞれメチル化されることが示された。M A AのD M A Aへの変換については、M A Aの投与量の増加に伴いD M A Aの生成量が減少するDose-dependentの関係が成り立っていた。M A A、D M A A、T M Aは何れも体内では脱メチル化されにくいヒ素であった。一回経口投与した3形態のヒ素は、肺、肝、腎、脾に多く沈着するが、一方、臓器、組織から3形態のヒ素は速やかに消失することが示された。血液への分布パターンは、M A Aは投与後6時間目以内では血漿と血球に約1:1の割合に分布していて、T M Aは血漿中に大部分が分布していたが、時間の経過と共に血球中への分布比率が増加する傾向が示された。一回経口投与した3形態のヒ素の投与後5日目までの尿と糞便への排泄率は、M A Aは尿が約30%、糞便が約61%、D M A Aは尿が約49%、糞便が約36%、T M Aは尿が約91%、糞便が1%であった。M A A、D M A A、T M Aは何れも体外排泄は速くそして排泄率の高いヒ素であった。

マウスの血漿中酵素活性値を指標としたメチル水銀と
亜セレン酸ナトリウムの相互作用について

姫野誠一郎*、Ong Choon Nam**、鈴木継美*

*東大・医・人類生態、 **Nat. Univ. Singapore Fac. Med.

(はじめに) マウスの血漿酵素活性値を指標として、メチル水銀単独、およびメチル水銀と亜セレン酸ナトリウム(SS)を同時に投与した場合の影響について比較検討を行なった。

(方法) 5~6週齢のICR系雄マウスを用い、塩化メチル水銀(MMC) 10あるいは25 $\mu\text{mol/kg}$ 、およびMMCとSSを(10+10) $\mu\text{mol/kg}$ あるいは(25+25) $\mu\text{mol/kg}$ の投与量で同時に静注した。投与後3,6,24時間後に、エーテル麻酔下で腹部大静脈からヘパリン添加注射器を用いて採血を行なった。血漿中の酵素活性の測定には自動分析機(ABA200)を用い、CK, CK-MB, LDH, α -HBDH, GOT, GPT, ALP, Aldolaseの8項目の測定を行なった。

(結果) MMC単独投与群は、10, 25 $\mu\text{mol/kg}$ のいずれの投与量においても、3時間後に測定したすべての血漿酵素活性値が上昇した。10 $\mu\text{mol/kg}$ のMMCとSSの同時投与によっても、この傾向は変わらなかったが、25 $\mu\text{mol/kg}$ のMMCとSSを同時投与した時、CKとCK-MBの活性がMMC単独投与時よりさらに上昇を示した。

(考察) ラベルしたMMCとSSをマウスに同時投与すると、心臓へのそれぞれの蓄積量が増加すること、および当モルのbis(methylmercuric)selenideの投与時にも心臓への蓄積量が多いことが報告されている。今回、25 $\mu\text{mol/kg}$ のMMCとSSを同時投与によって、CK, CK-MBの上昇が認められたことは、メチル水銀とセレンの相互作用によって、心臓への影響が強まることを示唆している。

渡辺知保・鈴木継美

東大・医・人類生態学

はじめに Cd、有機錫などが哺乳類に低体温をもたらすとの報告があるが、セレンについての報告はない。本研究では亜セレン酸ナトリウムによる体温低下作用およびその環境温度依存性について報告する。方法 ICR 系雄マウス（11週令；一群 $n = 5$ ）に生理食塩水に溶解した亜セレン酸ナトリウム 10, 20, 30, 45, 60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ を投与、投与後 30min から 9hr の直腸温を深部温プローブを用いて測定した。環境温 (T_a) は 20, 30, 36 $^{\circ}\text{C}$ に設定した。結果 $T_a = 20^{\circ}\text{C}$: 20 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 以上の投与群で、量依存的な体温低下作用を認めた。体温低下のピークは 20, 30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 群では投与 30min 後、45, 60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 群では投与 1 から 2hr 後であり、以後時間経過と共に体温が上昇する一過性のパターンを示した。ただし 45, 60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 群では投与 9hr 後に至るまで有意な体温低下作用が持続していた。 $T_a = 30^{\circ}\text{C}$: 上記とほぼ同様の結果を得たが、体温低下の大きさは上記に比べはるかに小さかった。 $T_a = 36^{\circ}\text{C}$: 45 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 群で有意な体温低下を認めたが、60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ では認められなかった。また、45 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 群では 5 匹中 4 匹、60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 群では 5 匹全てが投与 11hr 後までに死亡した。考察 以上より亜セレン酸ナトリウムがマウスに低体温をもたらすことを確認したが、その作用は一過性であり、かつ環境温度依存性を示した。この結果は、Cd、有機錫などによる低体温の場合と類似している。現在のところ作用機序は不明であり、他の化学形、投与方法による実験を検討中である。また、 $T_a = 36^{\circ}\text{C}$ における体温低下が量依存的でなかった点についても、今後検討する必要がある。

古川文夫　豊田和弘　高橋道人　林裕造

国立衛生試験所　　病理部

放射性医薬品は短い半減期で各種の薬剤が特定臓器へ集まるという性質を利用して用いられている。放射性診断薬の場合、あらかじめその標的臓器に障害があることが多い。従って、傷害臓器に対する放射性診断薬の安全性の確認は急務である。我々は傷害が与えられた各種臓器に対する放射性診断薬の影響について検討を行っているが、今回は骨診断薬につき以下の実験を実施した。

実験は、7週齢ウイスター系雄ラット40匹を3実験群と対照群に分け、骨傷害としてラットの左側脛骨頸部に直径1mmの骨髄におよぶ緻密骨欠損を作成し、2時間後にメチレンジホスホン酸テクネシウム（ ^{99m}Tc ）を生理食塩水で希釈し、常用量（0.1 mCi/ml）と50倍常用量（5.0 mCi/ml）を尾静脈から投与した。1群（10匹）には骨損傷処理後、生理食塩水を投与した。2群（10匹）は骨損傷後に ^{99m}Tc 常用量を投与し、3群（10匹）は骨損傷後に ^{99m}Tc 50倍常用量を投与した。上記の各群は骨損傷処理後7日目と14日目に半数ずつを屠殺解剖した。4群（5匹）は ^{99m}Tc 常用量を、5群（5匹）には50倍常用量を投与し、14日目に屠殺解剖した。その結果、血清LDH値は骨損傷処理群においていずれも統計学的に有意の上昇を認めた。この上昇は骨損傷における組織破壊を反映したものと考えられる。病理組織学的には骨損傷群ではいずれも7日目に修復反応が認められ、14日目には骨欠損部分がほぼ完全に修復されていた。 ^{99m}Tc の常用量及び50倍常用量の投与ではラット脛骨の外傷性欠損部分の再生、治癒に際し重大な影響を与えないことが明らかになった。（国立機関原子力試験研究費による。）

○加藤道幸、小野寺威

第一製薬・中央研究所

ピリドンカルボン酸系抗菌薬は、幼若ラットの関節軟骨に水疱を形成することが知られており、また我々はこの系統の薬剤がラットにおける自然発生osteochondrosisの発生率および程度ともに増強することを報告した。そこでこれら病変の発生と関節軟骨の成熟度との関連性について若干の検討を加えたので報告する。

1) 正常雄ラット大腿骨顆の発達過程：osteochondrosisの発生部位である後面関節軟骨の発達過程は以下の通りであった。6週齢では、関節軟骨の特に深層が厚かった。8～10週齢で、深層細胞は減数し関節軟骨は顕著に菲薄化し、12～20週齢になると、さらにわずかに薄くなった。一方水疱の発生部位である腹側面の関節軟骨は、6週齢まで厚い例が散見されたが8週齢以後菲薄化した。

2) Osteochondrosisの増強：ofloxacin(OFLX)およびnalidixic acid(NA)の300mg/kgを5週齢のSD系雄ラットに26週間経口投与した。対照群では、数例で大腿骨内側顆後面に若齢時の厚い関節軟骨が保持されていたのに対して、投薬群ではそれに加えて、関節軟骨深層の裂隙形成、直下骨組織内における線維化巣の形成および裂隙の進展による軟骨弁形成が高率に認められた。しかし15週齢ラットではこのような増強は認められなかった。

3) 水疱形成：OFLXおよびNAの投与により、6週齢までのラットでは大腿骨顆腹側面の関節軟骨に水疱形成が認められたが、8週齢では認められなかった。

以上の成績から、ピリドンカルボン酸系抗菌薬による関節障害の発現は関節軟骨の成熟と密接に関連しているものと思われる。

○柿畑 耕司、保科 孝、野村 護、小野寺 威

第一製薬・中央研究所

医薬品の毒性試験に際しては、ヒト臨床適用経路と同じルートにより動物に投与することが要求されている。その為、ラットを用いる試験でも、経口、静脈内等のルーチン的なルートの他に、脳内、大槽内、動脈内等工夫をこらした技法により薬物投与が行われている。今回我々は、ラットにおいてこれ迄ほとんど報告されていない脊髄腔内投与法を検討すると共に、本ルートによる薬物の急性毒性につき、他の投与ルートによる成績と比較検討したので報告する。

方法：ラットをエーテル軽麻酔下で腹臥位に保定し、正中線に沿って腰部皮膚を小切開した。麻酔の覚醒後、手指で腰椎を確認したのち、27G注射針を脊柱に沿って腰椎間(L₃-L₄)に刺入し、薬液または生理食塩水を注入した。薬物として、脊髄麻酔剤およびDB-cAMP等を選び、単回投与後の毒性変化を検討した。

成績：1) 本法に従って造影剤や墨汁を注入し、軟X線写真、剖検で、これら物質のクモ膜下腔内注入が確認された。

2) 生理食塩水投与では、全く症状は認められず、投与直後の剖検で脊髄腔内出血はみられなかった。

3) DB-cAMPを用いた試験の結果、投与全例に過敏症状がみられ、LD₅₀値は雄1.5mg/kg, 雌3.1mg/kgであった。静注投与に比べ290(雄)-150倍(雌)強い毒性が認められた。

4) 以上の結果から、本投与法は、脳内、大槽内投与に比べ、投与部位からの脳脊髄液や注入液の流出が少なく、小脳-延髄損傷や脳室内圧の急激な変化による死亡および症状発現が無い等の利点があり、ラットの髄液腔内投与の一方法として十分に使用、応用可能な手技と思われた。

杉本哲朗, 浅野 忠, 福島 直, 鈴木繁生, 広瀬敬子, 二木力夫

中外製薬 開発研究所

注射による末梢神経麻痺の成因として、注射針による機械的損傷、神経幹内外の血管損傷・血腫形成、注入薬剤の影響、阻血、圧迫、牽引などが考えられている。今回、注入薬剤の影響を予測する一つの試みとして、ラットの坐骨神経周囲に薬剤を接触暴露する手技を案出し、局所刺激性試験の基準刺激物質である酢酸について検討したので報告する。【方法】 11週齢、3414～421.1 gのSD系雄ラットを4群各10匹とした。麻酔下で、左側坐骨神経を大腿中央部で露出し、臀部梨状筋の直後を走行する同神経へ、生理食塩液、1.7%酢酸、6%酢酸の接触暴露またはペアンによる30秒間圧挫の各処置を施した。接触暴露は被験液約0.02 mlを浸み込ませた滅菌・吸収性ゼラチンスポンジ(5×5×1 ml)の留置により行った。反対側は、神経の露出までの偽手術を施し、対照とした。症状、体重、第1-5足指間距離を処置後7日目まで毎日観察した後、筋重量(前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋)、脛骨神経伝導速度測定、病理組織学的検査を実施した。【成績】 生食群および1.7%酢酸群には、他2群と同様な一過性の体重減少がみられた以外著変なかった。6%酢酸群では足指間隔狭小化、足指湾曲がみられ、対照側に比して、足指間距離は1日目82.1%、以降79.8～92.1%、7日目90.0%に、筋重量は腓腹筋が90.9%に減少した。神経伝導速度の遅延はみられなかったが、病理組織学的には神経線維束に健常線維と明瞭に境された変性領域が接触暴露面に偏在していた。圧挫群では、外反・跛行を含む麻痺症状、足指間距離・筋重量の減少、神経伝導速度の遅延、神経線維の広範な変性が確認された。

○栗栖和信，川口義郎，長沢孝二郎，富山嘉六，川島裕造

㈱大塚製薬工場 毒性薬理

動物実験において高張輸液の急速大量投与により頭蓋内出血がみられることはよく知られている。一方，脳の病理学的変化に関する報告は髄膜の変化が主体であり，脳実質への影響については殆どなされていない。演者らはラットにおける高張輸液の急性毒性試験でみられた脳の変化について病理組織学的に検討を加えた。

材料と方法 高張輸液は23%グルコース加リンゲル液（浸透圧比6.5）を用い，ウイスター系ラットに単回投与した。投与経路は静脈内（投与速度10 ml / kg / min）及び腹腔内とした。剖検は死亡例を死後速やかに，生存例を14日間の観察終了後に行い病理組織学的に検索した。次いで脱水状態の経時的観察を目的としてLD₅₀値に相当する高張輸液を腹腔内に投与し，腹水量，Ht値，血清浸透圧を測定した。

結果と考察 ①高張輸液の大量投与により，いずれの投与経路でも頭蓋内出血のみならず海馬に主座した器質的变化，すなわち死亡例では海綿状態，生存例では神経細胞の虚血性変化が惹起される場合があった。②海綿状態は投与後死亡までの時間が長い動物にみられる傾向にあった。③脱水状態は投与後急速に発現するが，概して可逆的であり翌日には全身状態は回復した。しかし，一時的にせよ脳障害を受けた場合には虚血性変化として残るものと思われた。

④海綿状態や虚血性変化はその発現部位から脳循環不全による anoxia または hypoxia のカテゴリーに分類されると考えられ，高張アミノ酸輸液においても同様の変化がみられていることから，輸液の組成よりも浸透圧や投与速度に起因する非特異的な影響と思われた。

坂本匡一、小林文子、横田正幸、暮部勝

明治製菓、薬理安全性研究所、安全性研究室

ダクチマイシンは二環式アミノ配糖体抗生物質で、フォーチミシン系に属する。今回、演者等はダクチマイシン 200mg/kg、400mg/kg量を4週間にわたり、ハートレイ系モルモットにim投与し、聴覚器毒性について検討した。投与期間中、オーディオメーターによって、10、15、20KHzの純音を負荷し、耳介反射域値の変動をチェックした。尚、動物は体重300g前後で、一般状態良好な動物のみ1群5匹とした。対照薬としてリボスタマイシンを使用し、200および400mg/kgを投与した。その結果、ダクチマイシンおよびリボスタマイシン各投与群共死亡例はなかった。耳介反射の消失例はいずれの音域でも認められなかった。蝸牛の病理組織検索ではダクチマイシン 200mg/kgおよびリボスタマイシン 200および400mg/kgでは内、外有毛細胞に異常を認めなかった。ダクチマイシン 400mg/kgでは1例に起始部からhookの部分にかけて外有毛細胞の消失を、1例に起始部の外有毛細胞の消失(片耳性)をいずれも軽度に認めた。前庭器に関しては、ダクチマイシンおよびリボスタマイシン各投与群共卵形のう、球形のう、外側半規管膨大部等に有毛細胞の消失を認めたが、いずれもごく軽度であった。これらの事より、ダクチマイシンの聴覚器毒性はリボスタマイシンよりやや強いが、又はほぼ同等で、従来のアミノ配糖体抗生物質の中では最も弱い聴覚器毒性を有する薬物群に属することが推定された。このような毒性の強さはマウスやラットの急性毒性(LD₅₀値)およびラット横隔膜神経筋遮断作用の強さとはほぼ一致していた。

○紺野 信弘, 山口 靖明, 山内 徹, 福島 匡昭,

福島医大 公衆衛生

〔目的〕 Leptophos [0-(4-bromo-2,5-dichlorophenyl) 0-methyl phenylphosphonothioate] は遅発性神経毒性を示す有機リン化合物である。ニワトリでは leptophos 曝露後約 8 ~ 14 日目に脚の衰弱や運動失調が発現し、その後上行性に麻痺が進行し重篤な例では死に至る。今回は薬物代謝酵素誘導剤として知られる phenobarbital-sodium (PBと略記) の本毒性に及ぼす影響を検討した。

〔方法〕 雌成鶏 (約 23 ヶ月齢) を実験動物として用いた。Leptophos は結晶を DMSO・Tween 80・生理食塩水混液に溶解し、静脈内投与を行なった。実験群は生理食塩水溶液とした PB 75 mg / kg / 日を 3 日間腹腔内投与を行ない、最終投与 24 時間後に leptophos を投与した。神経障害の程度は leptophos 投与後 3 週間症状を観察し判定した。組織中 leptophos は蛍光光度型ガスクロマトグラフィーで定量した。

〔成績〕 Leptophos 40 mg / kg を投与した結果、対照群全例で神経障害が発現したのに対して、PB 処置群では半数のみが発症した。また leptophos 静注後 3 時間目の組織への分布を調べた結果、神経組織や筋肉に取り込まれる leptophos 量は、PB 処置群で有意に低かった。

〔結語〕 PB によって leptophos の代謝が促進され、その結果組織内 leptophos 濃度の低下を生じて遅発性神経毒性の発現を軽減したものと推論される。

○
小野秀樹, 日野正孝, 福田英臣

東京大・薬・毒性薬理

〔目的〕キノホルムの腹腔内連続投与によってラットに運動障害が発現することが報告されている。一方、運動系の一つの指標である脊髄反射は、ノルアドレナリン神経の核である青斑核、セロトニン神経の核である大縫線核等の脳幹モノアミン系によって調節されていることが知られている。本実験では、キノホルム投与により運動障害を発現したラットにおいて、脊髄反射および青斑核、縫線核条件刺激の脊髄反射への影響に関し正常ラットの場合との差異を検討した。

〔方法〕1) 脊髄反射：ラットをウレタン・クロラローゼで麻酔し、脳定位固定装置に固定した。腰髄部をラミネクトミーして脊髄を露出させ、L5前後根を単離した。L5後根を電気刺激(0.05 msec, 0.1 Hz, 10 V)した時のL5前根の電位変化を脊髄反射として記録した。2) 条件刺激：青斑核または大縫線核付近に刺入したステンレス製電極と頭部皮膚との間を通電(0.1 msec, 0.1 mA, 200 Hz, 4 trains)することにより、条件刺激を行った。3) キノホルム投与：キノホルムはTween 80に懸濁して、400 mg/kg, i.p./dayで投与した。脊髄反射測定は投与開始2日後に行った。

〔結果〕キノホルム投与開始一日後、全例のラットに、死または腰高で不安定な歩行、後肢の麻痺等の運動障害が認められた。キノホルム投与群と対照群では、単シナプス反射(MSR)および多シナプス反射(P SR)の波形振幅共に差は認められなかった。両群共、青斑核条件刺激でMSR増大およびP SR抑制が見られ、いずれもその程度に差は認められなかった。

〔結論〕キノホルム投与群と対照群との間で脊髄反射および条件刺激の効果に差が認められなかったことより、キノホルム投与による運動障害発現ラットにおいて、髄節内脊髄反射および青斑核、大縫線核からの下行路に機能異常は起こっていないものと思われる。

○森尾保徳, 矢ヶ崎修

大阪府大・農・家畜薬理

前報に引き続き有機塩素系殺虫剤のけいれん発現における各種神経要素の関与を薬理的に検討した。(実験方法) マウスに DDT または dieldrin を静注して発現する振戦やけいれんを採点し経時的に累積したものを症状の強さの index とした。各種神経しゃ断薬は、dieldrin 投与の 20~30 分前または、DDT により振戦が発現した時点で腹こう内に投与し、その影響をみた。また、ざ骨神経-ひ腹筋に対する前述の有機塩素剤の作用についても *in vivo* で検討した。(結果と考察) DDT 141 mg/kg による振戦は、phenobarbital (PhB) 20 mg で抑制され、phenoxybenzamine (PBZ) 7 mg, phentolamine 14 mg および haloperidol 1 mg で促進された。dieldrin 14 mg によるけいれんは、PhB, chlorpromazine 5 mg, atropine 20 mg, trihexyphenidyl 20 mg および diazepam 1 mg で抑制され、PBZ, yohimbine 7 mg, propranolol 6 mg および bicuculline 1 mg で促進された。用いた各種神経しゃ断薬単独では、認むべき行動の変化はなかった。前述の有機塩素剤により、正常側のひ腹筋には様々な強さの twitch が自発性に発現したが、一方、除神経側にはこのような変化はみられず、電気刺激による twitch にも明らかな変化はなかった。以上より、DDT および dieldrin による振戦・けいれんは主に中すう性のものであると考えられ、DDT のけいれん発現には、アドレナリン作動性神経が $\alpha 1$ 受容体を介して抑制的、また dieldrin のそれにおいては、 $\alpha 2$ および β 受容体を介して抑制的に作用していると考えられる。なお、dieldrin の作用にはコリン作動性神経の興奮が含まれ、GABA 作動性神経伝達が抑制的に関与する可能性も示された。

西村 昌教

大阪府立大・農学部

低酸素条件は運動神経筋接合部における微小終板電位 (MEPP) の頻度を増加させる。この作用は、高濃度Mgで抑制されることから外液Caに依存し、NaおよびKの能動輸送の抑制に続く神経末端の脱分極に起因すると考えられている (Hubbard & Løyring, 1966)。しかし、低Ca液中でもこの作用は認められており (Nishimura et al., 1984)、外液Ca依存性には疑問が残されている。本実験では、Ca除去液中、高Mg液中、低温下およびウワバイン存在下のMEPPの頻度におよぼす低酸素の影響を調べた。

ddy系雄マウスから左横隔膜筋を摘出し、Krebs-Ringer液中で細胞内誘導法によりMEPPを記録した。実験はCa除去2mM EGTA添加液 (Ca (-) 液) 中でも行なった。

36°Cの正常栄養液中におけるMEPPの頻度は低酸素下 (95% N₂, 5% CO₂通気) で増加した。この作用は温度の低下と共に減少したが、5mM Mg、20μM ウワバイン、Ca (-) 液などの影響をほとんど受けなかった。低酸素、低温下の正常栄養液中におけるMEPPの頻度は、10mM Kの添加により著しく増加した。

以上の成績において、低酸素条件は運動神経からの自発性伝達物質遊離を促進するが、その作用には、終末内Caの遊離促進および遊離Caの排除の抑制が関連する可能性が考えられる。

神経機能障害性の *in vitro* 検査法に関する研究 (I).
 神経系クローン NG108-15 の電気生理的特性に及ぼすクロルデンの影響

井上和秀, 藤森颯之助, 溝上敬之助, 藤内桃子, 高仲正樹, 森義仁

国立衛生試験所安全性生物試験研究センター 薬理部

環境汚染物質などヒトの生活環境に存在する化学物質は莫大の数のほるが, その神経機能障害性については不明な点が多い。我々はこれら化学物質の神経機能障害性を簡便にスクリーニングする方法として, 神経機能を有する神経細胞クローンを用的に *in vitro* の検査方法を検討している。今回, その一環として, 神経系ハイブリドーマ NG108-15 の電気生理的特性を指標に環境汚染物質クロルデンの作用を探索し, 新しい知見を得たので報告する。

〔方法〕急性効果実験: NG108-15 細胞をポリオルニチン処理ディッシュ中, 分化用培養液 (DMEM + 2% FCS + 0.1mM ヒポキサンチン + 16 μ M チミジン + 1mM ジブチリル cAMP) で 10 日間培養し, 電気生理実験に供した。クロルデン (エタノール溶液) は培養液中に添加してその効果を検討した。長期曝露実験: 同細胞を上記条件で培養し, 6 日目にクロルデン 0.2, 0.5 および 1.0 ppm の濃度で添加し, 13 日目に実験に供した。対照群にはエタノール (最終濃度 0.5%) のみを添加した。〔結果および考察〕NG108-15 細胞には Na^+ スパイクと Ca^{2+} スパイクが認められた。クロルデンは ① Na^+ スパイクにはほとんど影響を及ぼさなかったが, ② Ca^{2+} スパイクを著明に抑制した。また, クロルデン 7 日間曝露により ③ 入力膜抵抗は著明に抑制され, ④ 膜電位の興奮性が著明に低下した。以上の結果から, クロルデンは Ca^{2+} チャネルに作用してその機能を障害することにより, 神経細胞の電気生理的活性を低下させることが示唆された。また, これまで *in vitro* の電気生理実験では困難であった長期間曝露実験も行なえることが明らかとなった。

福井義浩, 星野 清, 亀山義郎

名古屋大学環境医学研究所

Mycotoxin の一種である ochratoxin A (OA) の妊娠マウスへの投与によって胎生末期の胎仔に強度の小頭が成立し, 生き残って成体に達した仔にも軽度から中等度の小頭の個体が含まれていることが明らかとなった。今回は OA を新生仔に投与して生後脳発育への影響を調べた。

生後 0, 1, 2, 4, 5, 7日の Slc:ICRマウスに, $5 \mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ 量の OA をマイクロシリンジを用いて直接四丘体上のくも膜下腔に注入した。対照群には $2 \mu\text{l}$ の 0.1M重曹を投与し投与群, 対照群とも生後30日で屠殺した。OAの皮下注射では全身への毒性が強くて長期生存させることは不可能であったためこのような投与方法を用いた。死亡率は投与時期が早いほど高く, 0日投与では約58%の仔が屠殺時まで死亡した。4日以後の投与群の死亡率は, 対照群と差がみられなかった。生後30日までの各投与群の体重増加率の低下は投与時期が遅い群の方が高い傾向が認められた。各投与群の全脳重量は対照群の85%から90%の間で, 投与時期が早い群の方が脳重の減少率は高かった。各投与群の小脳重量の低下率は体重, 全脳重量の低下率よりも高かった。特に生後 0, 1, 2, 4, 5日投与群の小脳重量は7日投与群よりも低く対照群の73%から78%の間であった。以上の結果より, OAをくも膜下腔へ投与することによって小脳発育障害マウスの作製が可能であることが明らかになった。全投与群とも強い小脳低形成を生じたが, 生後5日目ごろまでの投与によってより強い小脳低形成を生じることがわかった。

57 Alloxan に対する新生仔、離乳仔、若齢成熟ラットの
感受性について

○久野 博司、松井 恭子、白居 敏仁

日本メルク萬有株式会社 研究所

新生児、小児に適用する医薬品を開発する際には、一般的に新生仔、哺乳仔及び幼若動物における毒性を検討する。このためには、既知の毒物に対する幼若期の動物の感受性を検討しておくことが必須であると考えられる。今回、糖尿病を惹起することが知られている alloxan を新生仔、離乳仔及び若齢成熟ラットに投与し、これらの動物の alloxan に対する感受性の差について若干の成績を得たので報告する。

生後4日齢の Sprague-Dawley系ラット雌雄に alloxan を 65、130 mg/kg の用量で第9回毒科学会にて報告した方法¹⁾により静注した。生後3週齢の動物にも同一用量にて静注した。また、生後6～7週齢のラットには 65 mg/kg の用量で投与した。その後5～10週間に互り一般症状の観察、体重測定を行うとともに尿検査を実施した。

生後4日齢で処置した動物には、一般症状、体重、尿検査に異常は観察されず、alloxan に対する感受性がないことが示唆された。生後3週齢及び6～7週齢で処置した動物には、活動性の減少、削そう、体温の低下に加えて尿糖、ケトン尿の排泄が認められた。また、生後3週齢の 65 mg/kg 群の変化は、生後6～7週齢の 65 mg/kg 群の変化より軽度であった。

以上の結果から、ラットの alloxan に対する感受性は、生後発育に従い変化することが示された。すなわち、新生仔では alloxan に対する感受性が認められず、離乳仔、若齢成熟動物の順に感受性が高くなることが示された。

1) 久野博司他：第9回日本毒科学会学術年会・要旨集D-5(1982)：
新生仔ラットへの新しい静注法

○星野 清，織田銃一，福井義浩，亀山義郎

名古屋大学環境医学研究所

我々は先に，ラットの尾奇形遺伝子Tal の trypan blue 催奇形性に及ぼす影響を検索した際，Tal 遺伝子を導入したBDIX系ラットを使用した，BDIX系ラットは trypan blue 催奇形性に強い抵抗性を示すことを知った．そこで今回は，trypan blue 催奇形性のよく示される Wistar 系との間で系統差を検討した．

使用動物は WM/Nem(Wistar-Mishima) 系およびBDIX系ラットで，交配の組合せによって次の4群を設けた．1) 雌WM×雄WM：W群，2) 雌BDIX×雄BDIX：B群，3) 雌BDIX×雄WM：BW群，4) 雌WM×雄BDIX：WB群．各群の妊娠8日（膣栓日＝妊娠0日）に trypan blue 水溶液を20～120mg/kg体重の割合で腹腔内に注射し，妊娠20日に胎仔を取り出して外表観察を行った．

胎仔死亡率は W群では20mg/kg 投与で対照群より高く，投与量に応じて上昇して120mg/kgでは63.3%に達した．B群では60mg/kgでも有意ではなく，120mg/kgではじめて有意の上昇(42.7%)がみられた．BW群では投与量に応じた死亡率の上昇は W群と同程度で，120mg/kgでは60.0%に達したが，WB群では投与による死亡率の上昇は顕著でなく，120mg/kgでも34.1%に止まった．外表奇形としては外脳，脳ヘルニア，小眼又は無眼が主なものであったが，その頻度は W群では30mg/kg以上の投与で有意に上昇し，投与量に応じて頻度が上昇した．60mg/kgでは生存胎仔の50.0%，120mg/kgでは58.1%に外表奇形が観察された．これと対照的に B群では外表奇形がみられず，120mg/kgでもわずかに7.5%の胎仔に成立したのみであった．BW群では60mg/kg以上で有意に奇形が成立し，120mg/kgでは43.5%であった．WB群では60mg/kgでも有意ではなく，120mg/kgで19.1%に外表奇形が観察されたのみであった．

以上の結果から trypan blue 催奇形性に対してWM系ラットは高感受性を示し，BDIX系との正逆交配において，雌に抵抗性のBDIX系を使用した場合(BW群)にその逆交配(WB群)よりも死亡率および奇形の頻度が低かったことから，trypan blue の催奇形性には母体効果の存在することが示唆された．

原田滋雄・持田一夫・高山 敏

第一製薬(株) 中央研究所

向精神病薬はマウスおよびラットの妊娠初期に大量を投与すると、胚の着床を遅延させるとの報告があるが、その発現機序は十分解明されていない。

演者らは Butyrophenone系向精神病薬であるTimiperoneおよびHaloperidolによる着床遅延につき種々の角度から検討を加えており、昨年度本学会では、いずれの薬物も6.4 mg/kgの用量をSlc:SD系ラットの妊娠0日から4日まで連日尾静脈内に投与すると、ほぼ全例で着床が遅延すること、同様の処置を施した動物を経時的に屠殺して胚を観察すると、胚の移送と発育および透明帯の消失が遅れること、子宮の脱落膜形成反応が抑制されること、さらに末梢血中ホルモン濃度を測定したところ、薬物投与群ではLuteinizing Hormone(LH)とFollicle Stimulating Hormone(FSH)が対照群にくらべて低値で推移するが、Estradiol-17 β (E2)は高値を示し、Prolactin(PRL)は著しい高値を示すことを報告した。今回は、その後以下に述べる実験を追加実施した結果、これら薬物による着床遅延の発現機序の概略が明らかになったので報告する。

卵巣でのEstrogen分泌状況を正確に把握する目的で、TimiperoneあるいはHaloperidolまたはPlaceboを妊娠0日から連日尾静脈内に投与し、経時的に卵巣静脈血を採取してE2濃度を測定した。その結果、対照群では妊娠0日から3日の間に約3倍に増加したのに対して、薬物投与群では全く増加しなかった。そこで薬物投与群のラットの妊娠3日にE2 0.1 μ gを併用投与したところ、全例で正常な時期に胚が着床した。また、胚の移送と発育および透明帯消失の遅れと子宮の脱落膜形成反応もE2併用投与によって正常に回復した。

以上これまでに判明した事実から着床遅延の発現機序を考察すると、まず薬物の作用によってLHとFSHの分泌が抑制され、PRLの分泌は亢進する。次に血中PRLの上昇とLHおよびFSHの低下に起因して卵巣でのEstrogen分泌が抑制される。そして、Estrogen低下の影響で子宮の脱落膜形成反応が抑制されるとともに胚の発育が遅れ、その結果胚の着床が遅延すると推察される。

60 Polychlorinated Terphenyls (PCTs) 投与妊娠マウスの血中Corticosterone 量と口蓋裂発生に及ぼすMetyrapone の影響

金子豊蔵 小川幸男 池田康和 鎌田栄一 戸部満寿夫

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 毒性部

妊娠マウスへのPCTs やCaffeine などの薬物投与によって、母体の血中Corticosterone (COR) 量が増加し、同時に胎仔に口蓋裂が起こることをすでに報告した。今回、副腎の11- β -hydroxylase活性を抑制し、CORの合成を阻害するとされるMetyrapone (MA) をPCTs 処置妊娠マウスに投与し、母体血中COR量と口蓋裂の発生に関連があるか否か検討した。

【方法】PCTs を投与していない妊娠マウスには、MAの0, 100, 200mg/kgを、PCTs 2500ppm 投与妊娠マウス(妊娠14日齢)にはMAの0, 200, 400, 600 mg/kgを一回皮下注射し、時間をおいて、血漿COR量を測定した。また、妊娠0日目よりPCTs の2500ppm を投与しているマウスに妊娠10日目より16日目まで6時間間隔でMAを次の様に投与し、18日目に母体を開腹して胎仔の外形検査を行い、口蓋裂の発生を比較した。

第I群 MA非投与群(オリーブ油 0.1ml/10g 体重)

第II群 MA 200mg/kg皮下投与群

第III群 MA 400mg/kg皮下投与群

第IV群 MA 400mg/kg皮下投与+MA 0.27%飲水投与群

【結果】 MAの100 mg/kg単独投与群は1~6時間、200mg/kg群では1~9時間、血中COR量に減少が見られた。しかし、PCTs 処置マウスへのMA投与では、200mg/kgで3時間目ですでに減少が見られなかった。400mg/kgでは3時間目では減少しているが、6時間目では差がなかった。口蓋裂の発生は、対照としたPCTs 単独投与の第I群で75.5%であるのに対し、第II群では62.1%、第III群では49.4%、MA 400mg/kgとMAの0.27%含有飲水同時投与の第IV群では30.3%であった。

以上の結果から、PCTs による口蓋裂の発生に何等かの形でCORが関与すると考えられた。

ラットにおける胎生期動脈管の検索方法 についての検討

川島明, 清水万律子, 宇高奎二

日本ロシュ研究所・毒性学病理学部

胎生期の動脈管は、血中および動脈管壁のプロスタグランジンの作用により拡張開存しているが、出生時の呼吸開始による血中酸素分圧上昇とともに収縮閉鎖することがわかっている。近年、非ステロイド性酸性抗炎症剤が、妊娠末期の母体に投与された時、胎生期動脈管を収縮させ、胎児死亡、新生児チアノーゼ、肺高血圧持続症等の副作用を引き起こす恐れが示唆されてきた。

今回、動脈管の人工的な収縮を最小限に抑え、指定した胎仔の動脈管をより容易に検討できるような、胎仔急速冷凍を用いた動脈管検索方法の改善をラットを用いて試みた。その結果、被験薬物の動脈管収縮作用を検討する上で、以下の事項が結果に影響を与える要因であろうと考えられた。

1. 胎仔凍結温度：従来用いられてきた -80°C アセトン・ドライアイスの中に胎仔を浸けると、ほとんどの胎仔は胸部～腹部にかけ割れ目が入り、その後の検索が不能となる。最適凍結温度は何度か。
2. 薬物投与から開腹までの時間：薬物投与後、動脈管がもっとも収縮する時間はいつか。動脈管の収縮はどのくらい続くか。
3. 凍結切片作成部位、主肺動脈、動脈管のどこを薄切したらよいか。動脈管はどこがもっとも収縮するか。
4. ラットの系統差、個体差、妊娠満期日はいつか、1腹の胎仔数、胎仔体重が動脈管の収縮に影響するか。

以上の要因に対して、いくつかの結果を得たので報告し、御批判を仰ぎたい。