

巻頭言

お祝いとお礼

先ずは久留米事業所の新研究棟の完成、おめでとうございます。監事としてまたOBの一人として心からお祝いを申し上げます。

同時に私から化評研の役職員の皆様方にお礼を申すべくこの文章を記しています。この度、日本分析化学会から2004年度の技術功績賞を受賞しました。受賞対象となった業績は次頁にあるとおり、私の化評研（当時は化検協）時代の仕事であり、多くの皆様方の御指導、御協力があったからです。たまたま私が代表として頂くことになったと思っています。以下、次頁の1～4について若干補筆させていただきます。

1. 化学物質の環境内運命の解析技術の開発

生分解試験課、濃縮性試験課時代に行なった仕事です。当時は限られた予算の中でいかに多くの機器を導入するかについても頭を悩まし、HPLCについては完成品でなくポンプ、カラム、レコーダーなどを別々に購入し組み合わせて用いたものです。GCについては充填剤を自ら作ったりもしました。当時のHPLCの充填剤は値段も高く、空カラムを持って知人の研究所へ行き、無料で充填してもらったりもしたものです。

大変だったのがGC-MSの購入でした。当時の役所はGC-MSは研究用機器という考えを持っており、試験を主体とする協会には不用ということをやたらと説得してGC-MSを導入できたのはその後のこの領域の研究に大いに力になったと

淑徳大学国際コミュニケーション学部教授
財団法人化学物質評価研究機構 監事
北野 大



思います。今はLC-MSの時代となりましたが。

2. 化学物質の生態毒性試験の妥当性の確立と業務

“先んずれば人を制す”と言いますが、小生の米国出張がきっかけとなり米国EPAの研究所に職員を派遣し生態毒性の技術、また試験生物を日本に導入できたのがこの領域における現在の化評研の実績とレベルの高さを示すものとなったと自負しています。

3. 高分子物質の安全性評価手法の開発

管理課時代の仕事でMETIの指導のもと、多くの企業にも参加を頂き、最終的にリングテストを実施し、この考え方の実施可能性を確認した次第です。今でも審査に用いられているのは嬉しいことです。

4. OECDにおける化学品規制および管理計画への参加

最も努力したのが化審法に定める分解、濃縮性試験法のOECDテストガイドラインへの採択でした。OECDでの作業により化学品の安全性を幅広く考えることが出来、私にとっては大きな財産となっています。

最後に化評研の仕事はどの部門においても分析化学が基礎となっています。今回の久留米事業所の新研究棟の完成を機に、ハード、ソフト両面にわたり化評研が名実とも世界一の分析ラボとなることを確信し、かつ期待しています。

CERI 財団法人 化学物質評価研究機構

CONTENTS

●巻頭言

お祝いとお礼

淑徳大学国際コミュニケーション学部教授 財団法人化学物質評価研究機構 監事 北野 大

●ぶんせき

●特集1（化学物質安全部門Ⅱ）日田事業所

- ・マウスを用いた経口剤の光毒性評価法
- ・免疫毒性試験（Plaque forming cell assay）
- ・Non-RI Local lymph node assay 相対比較法による化学物質の感作性強度の推定

●特集2（安全性評価技術研究所）

- ・内分泌かく乱作用の試験法開発と国際貢献
- ・化学物質の有害性評価手法の開発
- ・ライフサイクルをカバーした化学物質管理
- ・タンパク質の網羅的解析のトキシコロジー等への応用

●機械紹介 新規鼻部暴露吸入装置の導入

●競輪補助事業完了のお知らせ

●久留米事業所落成披露

●編集後記

2004 年度日本分析化学会技術功績賞受賞者

北 野 大 氏

(Masaru KITANO)
(淑徳大学国際コミュニケーション学部教授)

1942 年 5 月東京都足立区に生まれる。1972 年東京都立大学大学院工学研究科工業化学専攻博士課程修了、工学博士。1973 年財団法人化学品検査協会（現化学物質評価研究機構）に入所。企画管理部長を経て、1994 年淑徳短期大学食物栄養学科教授。1996 年淑徳大学国際コミュニケーション学部教授。経済産業省化学物質審議会、産業構造審議会委員。環境省中央環境審議会臨時委員。趣味は野球観戦（特に巨人軍のファン）および家庭菜園。

【業 績】

化学物質の分析化学的安全性評価手法の開発と普及

北野 大君は、東京都立大学の工業分析化学教室において様々な分析化学的手法の基礎と応用を学んだ。化学品検査協会に入所後は、この手法を環境に放出された化学物質の挙動の研究に応用し、多くの化学物質の環境内運命を明らかにしてきた。また、分析化学的手法を用いた高分子物質の安全性評価フロースキームを国のプロジェクトの主査として完成させるなど、分析化学の社会的認知度を著しく高めた。さらに同君は、経済協力開発機構 (OECD) における試験手法の開発に際して、専門委員として安全性試験における分析化学的知見の重要性を強調し、この考え方は各種の OECD テストガイドラインに組み入れられた。このほか、国際海事機関 (IMO) においてバルクケミカルの安全性評価の専門委員として海洋汚染物質の査定を分析化学的手法をもとに実施してきた。

1. 化学物質の環境内運命の解析技術の開発^{1)~6)}

環境に放出された化学物質には、種々の作用で変化する反応、又は安定で環境中に残留し、さらには生物体に濃縮される反応がある^{1)~3)}。これらの反応、経路の解析には分析化学の技術を用いることが必須であり、そのために同君は多くの高感度分析技術を開発してきた。また、同君は魚介類中の化学物質分析のため前処理方法開発、誘導体の生成法の検討を行い、さらには従来 GC では困難な物質を当時あまり普及してはいなかった HPLC による分析法として確立して多くの知見を得てきた。これらの結果は既存化学物質安全性点検データ集としてまとめられ、出版されて⁴⁾、現在も安全性の基礎データとして重視されている。このほか、嫌気性条件の下での生分解試験手法の開発も行っている⁵⁾⁶⁾。

2. 化学物質の生態毒性試験法の妥当性の確立と普及^{7)~12)}

多くの化学物質は水圏に移行するため、化学物質の生態系生物への影響の把握は水生生物を用いる毒性試験から始められる。同君は、OECD におけるこれら試験方法の開発に際して、試験溶液中の化学物質濃度の分析の重要性を指摘してきた⁷⁾⁸⁾。その結果、試験溶液の分析が試験結果の妥当性を保証する条件の一つとして OECD のテストガイドラインに採用された⁹⁾¹⁰⁾。また、採用されたテストガイドラインを用いて実際にテストを行い、種々の知見を得ている¹¹⁾¹²⁾。

3. 高分子物質の安全性評価手法の開発^{13)~15)}

高分子物質に対しては通常の低分子物質とは異なる安全評価方法が必要との認識の下、同君は経済産業省の委員会主査として高分子フロースキームを完成させた。そのスキームは現在も広く用いられているが、具体的には GPC 分析による分子量分

布の変化の有無、各種溶媒への溶解性などに基づく評価手法を完成させた¹³⁾。また、海外での高分子物質の安全性評価を調査研究し、その考え方を広く普及させた¹⁴⁾¹⁵⁾。

4. OECD における化学品規制および管理計画への参加^{16)~18)}

OECD は、各国による化学品規制の相違が非関税障壁となる恐れがあることなどから種々の作業を行ってきた^{16)~18)}。同君は、専門家としてこれらの活動の多くに参加し貢献した。例えば、易分解性試験においては試験物質本体の分析ばかりではなく変化物の分析、CO₂、BOD 分析などの重要性を指摘し、その結果は易分解性試験法の分析条件として採用された。また、濃縮度試験においても、脂質含有量測定的重要性を強調した。これら試験結果の信頼性確保および評価に関する条件は、それぞれのテストガイドラインに取り入れられている⁹⁾¹⁰⁾。

5. IMO における海洋汚染防止のための規制手法開発と普及¹⁹⁾²⁰⁾

IMO はバルクケミカルとして海上輸送される化学物質の安全性評価を実施し、その評価結果に応じ必要な船型要件、洗浄液の処理基準などを定めている¹⁹⁾。同君は、1987 年から 1993 年まで専門家としてその任に当たってきた。担当した主な審査項目は化学物質の濃縮性、着臭性であり、特に着臭性については、官能検査に根拠を置く手法の結果と化学物質の物理化学的性質との関係を研究開発し審査に用いてきた²⁰⁾。

以上、北野 大君は、主として分析化学の専門性を活用して化学物質の安全性に取り組み多くの業績を残した。同君の化学物質の環境および安全性への分析化学による貢献、並びにその普及活動には顕著なものがある。

〔千葉大学工学部 小熊幸一〕

文 献

- 1) 日本香粧品科学会誌, 7, 125 ('83).
- 2) ぶんせき, 1977, 420.
- 3) 化学と工業, 31, 901 ('78).
- 4) 化審法の既存化学物質安全性点検データ集, (日本化学物質安全・情報センター) ('92).
- 5) *The Sciences of the Total Environment*, 170, 31 ('95).
- 6) *ibid.*, 170, 43 ('95).
- 7) 生態化学, 4, 35 ('81).
- 8) 日本香粧品科学会誌, 7, 238 ('83).
- 9) OECD Guidelines for Testing of Chemicals, OECD CODE 301-C.
- 10) OECD Guidelines for Testing of Chemicals, OECD CODE 305 ('96).
- 11) 環境毒性学会誌, 6, 31 ('03).
- 12) *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21, 57 ('91).
- 13) 化審法新規化学物質届出ガイドブック, p. 197 ('95).
- 14) 日本ゴム協会誌, 66, 454 ('93).
- 15) 新素材, 61-65 ('95).
- 16) 環境技術, 16, 690 ('87).
- 17) 生態化学, 2, 231 ('80).
- 18) "Biodegradable Plastics and Polymers", pp. 217-227 (Elsevier Science B. V.) ('94).
- 19) GESAMP Report and Studies, No. 64, p. 92 ('02).
- 20) "水産学シリーズ 77 魚貝類の生息環境と着臭", pp. 19-28 (恒星社厚生閣) ('89).

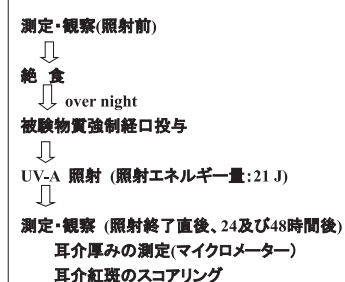
特集 1 (化学物質安全部門Ⅱ) 日田事業所

マウスを用いた経口剤の光毒性評価法

近年、キノロン及びニューキノロン系抗菌剤は有効菌種及び適応症の拡大により、抗生物質と共に広く使用されていますが、紫外線照射によって皮膚に光毒性反応を生じることが知られています。これら経口剤の光毒性反応の予測法としてはガイドライン化された試験方法はありませんが、Wagaiら(1991)¹⁾によって行われた例があります。私共では以前より化学物質の光毒性評価試験方法の検討を行ってまいりました。今回、光毒性を生じることが知られているキノロン系抗菌剤の中から2物質(物質A、B)を用いて行った経口投与による光毒性試験結果について紹介いたします。

動物はBALB/c雌マウスを使用し、試験群には媒体投与群、物質A投与群(投与量12.5、25、50、100 mg/kg)、物質B投与群(投与量25、50、100、200 mg/kg)を設け、さらに各群についてUV-A照射群とUV-A非照射群を設けました。照射終了直後(0.5h)、24h、48h後に耳介の発赤の評点化及びマイクロメータによる耳介厚の測定を実施しました(Fig.1)。耳介紅斑はDraize²⁾の皮膚反応の判定基準

Fig.1 マウス光毒性試験のフロースキーム



における紅斑と痂皮のスコアリング基準を参考にして0:紅斑なし、1:ごく軽度の紅斑、2:明らかな紅斑、3:中等度から重度の紅斑、4:深紅色の重度の紅斑から軽度の痂皮形成として評点化を行いました。耳介厚に関しては各用量群の反応値を媒体対照群との間で多重比較検定(Dunnett test)を行うと共に、24h後の用量反応曲線をLogistic式(Hill式)に適用し、50%有効濃度(EC50)を算出しました。

その結果、耳介の紅斑は物質A及び物質BのUV-A照射群共に用量依存的に発現することが確認されました(Table.1)。また、耳介厚についても用量依存的な増加が確認されました。また、物質A及び物質BのEC50値はWagaiらの報告¹⁾と同程度の値となりました(Figs.2,3)。

Table.1 BALB/c マウスのUVA照射による紅斑評点の推移

被験物質	投与量 (mg/kg)	UVA照射後経過時間(h)		
		0.5	24	48
物質 A	0	0.00	0.00	0.00
	12.5	0.00	0.00	0.00
	25	1.00	0.60	0.00
	50	2.00	1.80	1.60
	100	2.00	2.00	2.00
物質 B	0	0.00	0.00	0.00
	25	0.00	0.00	0.00
	50	0.00	0.00	0.00
	100	0.80	0.60	0.80
	200	1.80	1.00	1.00

UVA+: UV-A照射

UVA-: UV-A非照射

これらのことから、当機構で検討した試験方法は経口剤の光毒性評価法として有用なものと考えられます。

(日田・飯田)

Fig.2 Ear thickness in phototoxicity test of chemical A in BALB/c mice
*:Significantly different from the control (0mg/kg, UV+, Dunnett's test, P<0.01)

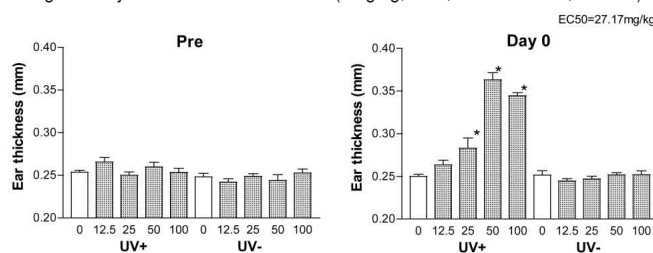
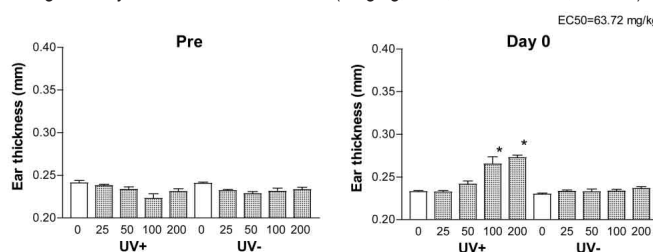


Fig.3 Ear thickness in phototoxicity test of chemical B in BALB/c mice
*:Significantly different from the control (0mg/kg, UV+, Dunnett's test, P<0.01)



参考文献

- 1) Draize, J.H. (1959) Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics. Association of Food and Drug Officials of the United States, Austin, Texas, 46-48.
- 2) Wagai, N., Tawara, K., 1991. Quinolone antibacterial-agent-induced cutaneous phototoxicity: ear swelling reactions in Balb/c mice. Toxicol Lett. 58 (2). 215-223

免疫毒性試験 (Plaque forming cell assay)

1. はじめに

医薬品の承認申請等のために行われる免疫毒性試験については、そのガイダンスがEUで既に制定されており、米国でも最終化がなされています。国内でも免疫毒性試験ガイダンス(案)が作成されており、今後最終化されるものと思われます。国内案では、免疫毒性を有する多くの化学

物質が反復投与毒性試験の免疫毒性関連検査項目において異常を示すことを利用し、原則として、反復投与毒性試験の結果に基づき免疫毒性が疑われる場合に、さらに免疫毒性試験を行うこととしています。免疫毒性試験項目は、2段階に分かれており、第1段階試験として、①抗体産生検査と②NK細胞活性検査があります。第2段階試験は、第1

段階で異常が認められた場合に必要な試験を適宜選択し、実施することになっています。今回紹介する Plaque forming cell assay (PFC アッセイ) は、NK 細胞活性の検査とともに第1段階の免疫毒性試験として位置付けられています抗体産生検査法の一つです。

2. 方法

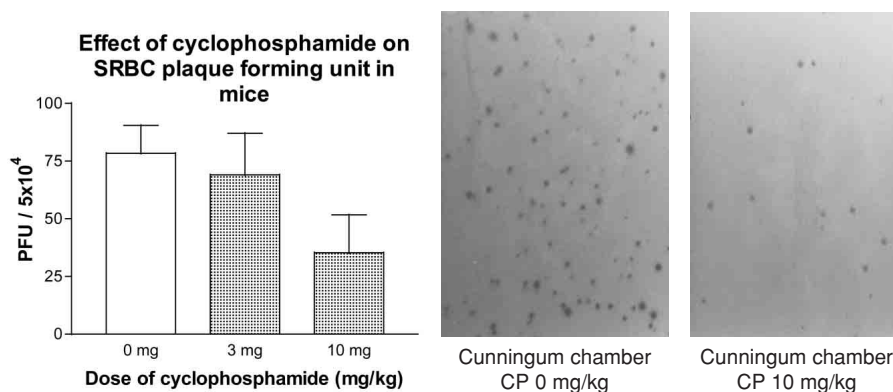
PFC アッセイは、抗体産生を検査する試験法で、被験物質の投与期間中の適切な時期に、ヒツジ赤血球等の T リンパ球依存性抗原により免疫し、脾臓細胞を調製して Plaque アッセイを行います。ヒツジ赤血球を免疫原として用いる場合には、解剖4日前に単回静脈内投与により免疫を行い、被験物質最終投与の翌日に動物を放血屠殺後、脾臓より細胞浮遊液を調製します。調製した脾臓細胞と別途用意した補体を免疫原に用いたヒツジ赤血球浮遊液に混合し、混合液を Cunningham chamber に添加して、37℃、1時間培養し、形成した Plaque (溶血斑) 数を計数して評価します。Plaque が形成されるのは、免疫により分化した抗体産生細胞から産生される抗体によって、その周辺にあるヒツジ赤血球が攻撃され、溶血が起こるためであり、抗体産生細胞の数を反映しています。

3. 結果

マウスに免疫抑制剤であるシクロフォスファミドを0、3、10 mg/kg/day、1群3匹、7日間経口投与した実験例を図に示します。図には、脾臓細胞 5×10^4 cell 当たりの形成 Plaque 数と実際の Cunningham chamber の写真を載せてあります。シクロフォスファミドの投与量の増加に伴って、形成される Plaque 数が減少していることから、免疫抑制作用を評価できることを確認できます。免疫抑制剤であるシクロフォスファミドを用いた実験例によって、本法が免疫毒性の評価として妥当であることを示しました。抗体産生検査には、本法以外にも血清抗体価を酵素免疫測定法 (ELISA) 等で測定する方法もあります。

(日田・宮浦)

図 Plaque 形成細胞数に対するシクロフォスファミド (CP) の影響



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

Local lymph node assay (LLNA) は従来の皮膚感作性試験とは異なり、初回抗原刺激によるリンパ球の増殖反応を指標にしており、短期間に化学物質の感作性を推定できる新しい皮膚感作性試験法です。当機構では [3H]-Thymidine の代わりに Bromodeoxyuridine (BrdU) を用いることにより放射性化合物 (RI) を使用しない LLNA の変法 (Non-RI LLNA) を既に開発し、多方面より好評を戴いております。今回は本法を用いて正確に化学物質の感作性強度を推定することの出来る Non-RI LLNA 相対比較法について紹介します。

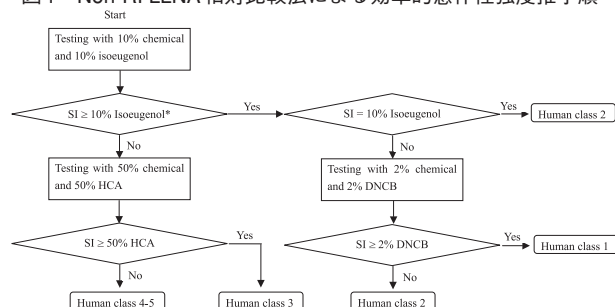
LLNA 相対比較法は既知のヒト感作性物質を比較対照として用い、被検化学物質の感作性強度を推定する方法であり、比較対照物質として 2% 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB、強度感作性物質、Human class 1)、10% Isoeugenol (IEUG、中等度感作性物質、Human class 2)、50% α -hexylcinnamaldehyde (HCA、弱感作性物質、Human class 3) を用い、これらの引き起こすリンパ球増殖反応と同濃度に調製した被検物質による反応とを比較することによって感作性物質の強度を推定するものです (表1: 判定基準)。

表1 Non-RI LLNA 相対比較法による感作性強度の判定基準 (Takeyoshi et al., 2004)

Human class	Requirements	Sensitization class
1	SI for 2% test chemical $\geq$ SI for 2% DNCB	Strong sensitizer
2	SI for 2% test chemical $<$ SI for 2% DNCB SI for 10% test chemical $\geq$ SI for 10% Isoeugenol	Moderate sensitizer
3	SI for 10% test chemical $<$ SI for 10% Isoeugenol SI for 50% test chemical $\geq$ SI for 50% HCA	Weak sensitizer
4-5	SI for 50% test chemical $<$ SI for 50% HCA	Extremely weak or Non-sensitizer

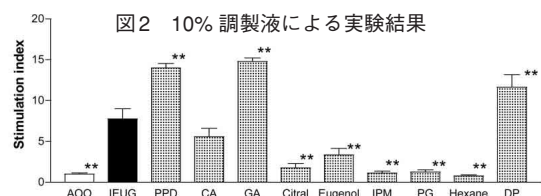
実験例を以下に示します。実験では効率的に多くの化学物質の感作性強度を推定するため、既にヒトに対する感作性強度が既知の物質を段階的実験 (図1) により検討しました。

図1 Non-RI LLNA 相対比較法による効率的感作性強度推手順



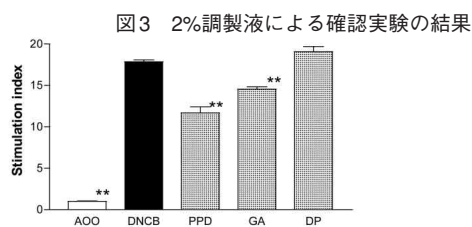
*各濃度の化学物質が示す反応値 (SI) を同濃度の比較対照抗原の反応値と比較する。結果は統計的手法、例えば Dunnett's multiple comparison test, etc.) によって判断する。
HCA: α -hexylcinnamaldehyde, DNCB: 2,4-dinitrochlorobenzene.

その結果、実験に用いた殆どの物質は既知の感作性強度に分類され（図2-図4,表2）、今回設定した実験条件でLLNA 相対比較法を実施することにより、既知の感作性物質がその感作性強度に従って分類可能であることが確認され、本法が化学物質の感作性を迅速且つ効率的に分類、評価する方法として有用であることが示されました。また、この方法は既知アレルゲンを内標準として用いるため、結果の再現性にも優れています。（日田・武吉）



**：比較対照抗原の反応に対して有意差あり(P<0.01, Dunnett's test)

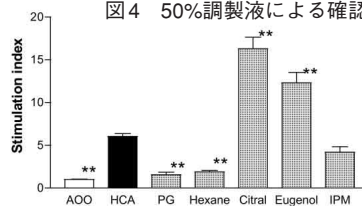
Abbreviations: AOO, acetone/olive oil (4:1); PPD, *p*-phenylenediamine; CA, cinnamaldehyde; GA, glutaraldehyde; IPM, isopropyl myristate; PG, propyleneglycol; DP, diphenylcyclopropanone.



**：比較対照抗原の反応に対して有意差あり(P<0.01, Dunnett's test)

Abbreviations: AOO, acetone/olive oil (4:1); PPD, *p*-phenylenediamine; GA, glutaraldehyde; DP, diphenylcyclopropanone.

図4 50%調製液による確認実験の結果



**：比較対照抗原の反応に対して有意差あり(P<0.01, Dunnett's test)

Abbreviations: AOO, acetone/olive oil (4:1); PG, propyleneglycol; IPM, isopropyl myristate.

表2 Non-RI LLNA 相対比較法による感作性強度推定結果

Test chemicals	Human class reported**	Human class predicted by the new procedure
dinitrochlorobenzene (DNCB)*	1	1
diphenylcyclopropanone	1	1
<i>p</i> -phenylenediamine	1	2
cinnamic aldehyde (cinnamal)	2	2
glutaraldehyde	2	2
isoeugenol*	2	2
citral	3	3
eugenol	3	3
hexyl cinnamic aldehyde (HCA)*	3	3
isopropyl myristate	4	3
propylene glycol	4	4-5
hexane	5	4-5

*: Reference contact allergens used in the study.

**：Human contact allergen classes reported by Basketter et al (2000).

参考文献

Takeyoshi M, Iida K, Shiraishi K, Hoshuyama S. (2004) Novel approach for classifying dermal sensitizing potency of chemicals with non-radioisotopic modification of local lymph node assay, J Applied Toxicol. (In press)

特集 2 (安全性評価技術研究所)

内分泌かく乱作用の試験法開発と国際貢献

野生生物やヒトの内分泌系を一部の化学物質がかく乱し、生殖器異常や繁殖障害、神経・免疫系の異常が世代を超えて生じる危険性があり、そのような性質を有する有害化学物質を社会的に排除すべきとして、シーア・コルボーン博士が著書“奪われし未来”（1996年初版）の中で警鐘を鳴らして以来、我が国では、内分泌かく乱化学物質（いわゆる環境ホルモン）による過度な報道が国民の間に化学物質に対する不信や将来に対する不安を引き起し、国会でも内分泌かく乱化学物質問題の解決に向け早急な施策が決議されるなど大きな社会問題となった。政府はこの問題に取り組むための調査・研究予算として平成10年以降、多額の予算を計上し、各省庁により科学的研究や各種の調査が開始された。

当機構は国家的事業要請に應えるため、平成11年度には安全性評価技術研究所（以下、評価研という）の体制・機能を強化し、評価研を中核として、久留米・日田両事業所との連携のもとに内分泌かく乱作用の試験法開発に着手し、以後今日まで一貫して試験法の開発・改良とデータ取得を実施してきた。特に、経済産業省と環境省からの受託事業に関しては、事業規模も大きく、評価研が事業全体を取りまとめなが

ら展開してきた。本稿では評価研との関わりが深い両省の内分泌かく乱作用関連事業について、これまでの主な取り組みと国内外における成果について概略を紹介する。なお、両省から受託した主な事業の内容と成果の概略については、末尾の一覧表にまとめた。

環境省の事業予算で当機構が取り組んできた事業は、魚類（メダカ）における内分泌かく乱作用の *in vitro* および *in vivo* 検出法および確認試験法の開発である。評価研ではメダカのエストロゲン受容体等を用いた結合試験を、また、久留米事業所では、スクリーニング試験としてビテロジェニンアッセイおよびパーシャルライフサイクル試験、確定試験としてフルライフサイクル試験法を確立した。環境省は「環境ホルモン戦略計画SPEED'98」で選定した65物質群の中から、優先的にリスク評価をすべき物質を毎年8-12物質選定し、当機構を含む複数の機関がこれらの物質についてメダカを用いた各試験を実施してきている。本年7月現在、試験の終了した24物質について内分泌かく乱性の評価結果が環境省から公表されており、ノニルフェノール、4-オクチルフェノール、ビスフェノールAの3物質が魚類に対し内分泌かく乱作用を

有すると判定されている。また、これらの試験法を国際的に標準化された試験法にするため、OECD（経済協力開発機構）では加盟国の分担により、個々の試験法の検証作業を進めている。魚類の試験法検証の運営に関しては、専門家によるVMG-eco（生態影響評価試験法検証管理グループ）会議で討議される。日米欧の複数機関の参加によるビテロジェニンアッセイの検証試験が昨年から開始されている。当機構はパーソナルライフサイクルおよびフルライフサイクル試験のプロトコルをOECDへ提出し、この検証試験にも全体の取りまとめを行うリードラボとして参画しており、国際的にも貢献している。評価研は環境省と関連諸機関との接点として、円滑な事業の推進に不可欠な先案内人的な役割を果たしている。

経済産業省の委託事業では、ヒト健康影響評価のための試験法開発を主目的として一連の事業を展開してきた。評価研は日田事業所と分担・協力して、*in vitro*試験法、ほ乳動物を用いるスクリーニング試験法や子宮内暴露試験のような確認試験法の開発に取り組んできた。下表にみられるように、各種の試験法の開発に着手し、確立した試験法を用い、逐次、データの取得を行ってきた。例えば、評価研が開発に主体的に取り組んだ*in vitro*試験法（性ホルモン作用を検出するための手法である受容体結合試験や細胞を用いる試験法）では3次元構造活性相関手法（QSAR：受容体結合性をコンピュータ・シミュレーションにより予測する技術）を開発・改良するために、すでに1,200件を超える膨大な性ホルモン受容体結合性データを保有している。昨年に新設されたOECDのVMG Non-Animal（非動物試験法検証管理グループ）会議

で、*in vitro*試験法の国際的な検証作業に関して、当機構が指導的役割を担うよう要請された。以来、EPA（米国環境保護庁）とも適宜情報交換を行っており、来年には欧米でスタートする受容体結合試験法の予備的検証に国内の代表機関として参画することも決定している。一方、QSARの開発は実用的なシステム完成までには、まだ技術的に解決すべき課題が多いが、開発に先行していた米国が行き詰まっている模様で、今後、日本のシステムへの期待は高まるものと予想される。国際的な技術動向の流れを見ても、欧米での動物愛護の精神に基づく動物試験実施の低減方針の動きが減速するとは考え難く、動物実験代替法としての非動物試験法開発の意義、要請はさらに高まると考えられる。

振り返ると、経済産業省のミレニアム事業の目的は、この流れを十分意識したものであったといえよう。平成12年度から行われてきた同事業も今年度で終了し、内分泌かく乱作用の試験法開発も一つの節目を迎える。5年間の地道な努力により、個々の試験法の特性、試験管内試験法と動物試験法との間のデータの相関性について、十分な考察が可能なレベルにまでデータが蓄積している。今や当機構は内分泌かく乱作用の試験法に関する領域では、世界で一番多くデータを保有している機関に相違なく、評価研が中心となって、この成果をまとめ国内外に広く喧伝していくことが大事である。また、これまでに開発が完了した試験法を用いて、既存化学物質の試験・評価を進め、有害性評価/リスク評価を行っていくことと、確認試験法の継続開発および国際的な試験法検証事業への継続的貢献を、この分野における評価研の今後の重点課題と位置づけたい。（評価研・美濃部）

表 主な内分泌かく乱作用関連事業の内容と成果の概要（経済産業省・環境省からの発注事業）

年度	事業名	主な内容	主な成果
H11～H13	中小企業知的基盤整備等委託費（通称：テクノインフラ、経済産業省委託）	●試験管内試験法の開発 ●動物試験法の開発	・受容体結合試験法の新規アッセイ系開発（非放射能リガンド） ・動物試験法の条件検討（子宮増殖アッセイなど）
H11～H13	知的基盤創成・利用技術研究開発（通称：21世紀枠、NEDO委託）	●簡易試験法（レポーター遺伝子アッセイ等）の開発（住友化学、大塚製薬と共同開発） ●動物試験法（スクリーニング試験法）の開発 ●環境中生物利用試験法の開発（住化テクノス/東和科学で実施）	・細胞を用いる簡易試験法の手法の確立 ・動物を用いるスクリーニング試験法の確立 ・国際貢献（OECDバリデーションへの参画） ・メダカ・カエルを用いるスクリーニング法の開発
H12	平成11年度2次補正（NEDO委託）	●7物質の2世代繁殖毒性試験（CERIと他4機関で実施）	・当該物質の内分泌攪乱作用の確認（有害性評価） ・試験結果の公表（METIのHP上） http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/sonota/endocrine/nisedai.htm ・論文投稿準備中
H12年度～H16年度	環境対応技術開発等（通称：ミレニアム、経済産業省委託）	●3次元構造活性相関手法の開発 ・ER結合予測性システム（医薬分子設計研、九州大学と共同開発） ●試験管内試験法によるデータ取得 ・ER/AR結合性（大塚製薬で一部実施） ●動物試験法によるデータ取得 ●確定試験法の開発（子宮内暴露試験法）	・個別試験法の確立、有効性検証 ・データ取得（例：化学物質のER結合性に関する取得データ件数は15年度末で累積約1,200件に達する） ・試験結果の公表（METI/NITEのHP上）、一部は学会報告、論文掲載 http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/sonota/endocrine_top.html ・国際貢献（OECDバリデーションへの参画、EPAとの情報交換） ・既存化学物質に対する内分泌かく乱作用評価スキームの提案
H12年度～H16年度	ミレニアム・プロジェクト（通称：環境省生態、環境省請負）	●メダカを用いる試験法開発 ●個別物質の試験 ●リングテスト（OECD）	・試験法の確立（ビテロジェニンアッセイ、ライフサイクル試験） ・メダカエストロゲン受容体等への結合試験法の確立 ・試験結果・評価結果の公表（環境省のHP上） http://www.env.go.jp/chemi/end/index2.html ・国際貢献
H14～	中小企業知的基盤整備事業（通称：新テクノ：経済産業省委託）	●内分泌攪乱作用の新規メカニズム（AhR、アロマターゼ等）に対応した簡易試験法の開発（大塚製薬と共同開発）	・一部は完成し、スクリーニングに利用
H14～	技術開発等調査委託費（通称：国際規制対策、経済産業省委託）	●試験法開発のための先導調査 ●15物質の有害性評価書改訂	・試験法開発事業への応用 ・評価結果の公表（METIのHP） ・METIが選定した15物質の有害性評価書の改訂 http://www.meti.go.jp/report/data/g20515bj.html

化学物質の有害性評価手法の開発

1. 有害性評価の目的

現代の我々の生活は、化学物質の持つ利便性によるさまざまな製品に取り囲まれ、今や化学物質は、我々の生活に必要不可欠なものとなっています。その一方、化学物質の中には人の健康や環境中の生物に有害な影響を与えるものが少なからずあります。従来、これらの化学物質の管理は、環境残留性、生物濃縮性および有害性の強さによって分類し、製造量を評価することによって行ってきましたが、最近では化学物質が有害性を発現するリスクを評価することによって、適切な管理を行うことが提唱されています。そのような背景の下で、化学物質のリスク評価に必須である有害性評価の重要性はますます増しているといえます。

当機構では、経済産業省受託事業により作成した「既存化学物質安全（ハザード）評価シート」に続き、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構からの委託を受け、化学物質総合評価管理プログラムの中の「化学物質のリスク評価およびリスク評価手法の開発プロジェクト」の下で、有害性情報の整備および有害性評価分析に取り組んでいます。本プロジェクトにおける当該開発項目は、平成13～18年度の6年間で、化学物質排出把握管理促進法（PRTR法）対象物質のうち、高生産量化学物質を中心に、約180物質の有害性情報を収集・整備するとともに、これらの情報を利用した有害性評価手法の開発を行うものです。

2. 有害性評価書の特徴および評価結果の例

有害性評価書は、1) 化学物質の同定情報、2) 一般情報、3) 物理化学的性状、4) 発生源情報、5) 環境中運命、6) 環境中の生物への影響、7) ヒト健康への影響の全7章で構成され、6章と7章の有害性評価の部分は、既存評価文書および文献検索により得られた最新の情報を収集・整理して作成します。すなわち、PRTR法対象物質のうち、化審法指定化学物質や、有害性、生産量等を考慮して選定した物質の有害性データは、国際的評価機関等で発行されている既存評価文書（世界保健機構環境保健クライテリア、国際がん研究機関のモノグラフ、米国EPAのIRIS、オーストラリアやカナダの評価文書など）と文献検索により収集し、必要な基本的情報が含まれているかどうか等により信頼性を確認し、採用の可否を判断します。

有害性評価書の作成にあたっては、作成方針検討会および最終検討会を開催し、担当者の評価と全体の合意を得る機会を設定しています。有害性評価書は内部レビュー、外部専門家によるレビューを経て、時期を改めて、経済産業省の化学物質審議会管理部会・審査部会安全評価管理小委員会において審議され、承認が得られたものから順次公開されます。平成15年度までに、97物質の有害性データの

収集・整備が完了するとともに、有害性評価書が作成され、このうち32物質の有害性評価書が、独立行政法人製品評価技術基盤機構のホームページから公開されています（http://www.safe.nite.go.jp/data/sougou/pk_search_frm.html?search_type=list）。

有害性評価書の目的は、ヒト健康の場合にはリスク評価を実施するための無毒性量（NOAEL）を評定することにあります。表1に15年度選定物質のヒト健康に対する有害性評価結果の例を示します。ヒトの疫学データや実験動物を用いた試験結果の中より、原則として長期に実施された試験の最小値を、吸入暴露（経路）および経口投与（経路）でのNOAELあるいは最小毒性量（LOAEL）として決定します。有害性評価書には、エンドポイントとともに採用したNOAELを明記し、調査した範囲内で得られない場合にはその旨を明記することとしています。

また有害性評価書の作成に取り組むとともに、有害性評価書としてまとめる際の標準的な手順を記載した評価指針および作成マニュアルを作成してきました。当初は諸外国で行われている有害性評価手法や評価書の記載方法を参考にし、まとめたものでしたが、改訂を重ねる中で、本プログラムの目的に添った独自の方法が盛込まれ、作成担当者によらない統一的な評価が可能となりました。

表1. ヒト健康に対する有害性評価結果例（15年度選定物質）

物質名	反復投与毒性							
	NOAEL mg/m ³	動物種	吸入 投与期間	エンドポイント	NOAEL mg/kg/日	動物種	経口 投与期間	エンドポイント
テトラフルオロ エチレン	LOAEL 156	ラット	15か月 2年間	腎原細管の変性				調査した範囲内で得られない
ビス(水素化牛脂)ジ メチルアンモニウ ムクロリド			調査した範囲内で得られない		100	ラット	28日間	血液生化学的検査値 の変動
α-クロロアニリン			調査した範囲内で得られない		LOAEL 2	ラット	103週間	脾臓への影響
アリルアルコール	12.1	ラット	12週間	体重増加抑制	6.2	ラット	15週間	腎臓の相対重量増加
りん酸ジメチル 2,2-ジクロロビニル	0.05	ラット	2年間	脳のコリンエ ステラーゼ活 性低下	0.05	イス	52週間	血漿および赤血球、脳 のコリンエステラー ゼ活性の低下
トリクロロアセト アルデヒド			調査した範囲内で得られない		16	マウス	90日間	肝臓大および肝臓ミ クロソームの酵素活 性増加
ベンズアルデヒド	2,200	ラット	14日間	肝臓への影響	LOAEL 300	マウス	2年間	前胃の過形成
クロロベンゼン	234	ラット	16週間	肝臓重量増加	LOAEL 60	ラット マウス	13週間	肝細胞壊死、脾臓重量 減少

3. 今後の応用展開

有害性評価書は、既存評価文書および文献検索により得られた最新の情報を収集・整理して作成されており、有害性に関する項目は、国連勧告の「化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）」（2003年7月）における有害性クラスに対応しています。従って、GHSがわが国へ導入された際には、信頼性の高い情報源の一つになりうるといえます。その反面、リスク評価を実施するための無毒性量等の評定を目的とした有害性評価書であるために、一部GHS分類を行うための情報が盛り込まれていない面もあり、現在、有害性評価の過程で収集・整備された有害性データから、GHS分類を行う上での問題点の整理を進めています。その他、今までの有害性評価書を作成す

る上で培った技術力を、現在EUで導入が検討されているREACH（Registration, Evaluation, and Authorization of Chemicals）への対応等、さまざまな分野で幅広く活用していきたいと考えています。

当機構の化学物質の安全管理に果たす役割は、産業界、

消費者、専門家、政府の間で科学的知見に基づいて正確かつ適切に化学物質のリスクについて認識しうる情報を提供することです。今後より一層リスクコミュニケーションが円滑に行える情報を発信すべく努力を重ねていきます。

（評価研・藤野・石井聡）

ライフサイクルをカバーした化学物質管理

環境問題は、水質汚濁などの公害型問題などから、製品に含有される揮発性有機物質によるシックハウス問題、あるいは製品を焼却処理することで発生したダイオキシン問題や廃棄物問題へと変わってきている。このような環境問題の変質は、これまでの大量生産、大量消費、大量廃棄の社会構造に大きく依存している。そして、化学物質管理においても、製品などに含まれる化学物質の用途や使用形態にも注目すること、また、ライフサイクルにおける環境への排出や挙動、その負荷の程度を把握することが必要となっている。さらに、化学物質の使用は、貴重な資源・エネルギーの枯渇、オゾン層の破壊、あるいは動植物の生息や人の健康に悪影響を及ぼす可能性もある。したがって、化学物質のライフサイクルにおいて管理すること、資源を有効に利用することがますます重要となってきている。

わが国においては、2000年に“循環型社会形成推進基本法”が公布され、3R（リサイクル・リユース・リデュース）政策により、廃棄物の発生の抑制、資源の有効利用が進められている。わが国のリサイクルシステムは、環境理念では先行している欧米に先駆けて始められた循環型社会形成の一つのモデルである。使用する化学物質の性状等の情報を的確に伝えることにより、環境負荷に配慮した閉鎖系で物質を有効に利用し、環境への負荷を低減できるシステムでもある。

さらに、1999年に制度化された化学物質排出把握管理促進法に基づくPRTR制度は、環境中に化学物質を出すこと自体が問題といった捉え方をするのではなく、事業者が自ら取り扱う化学物質の環境への排出量等を把握し、自主的に管理するといった新たな考えのもとに成り立っている。そして、人の健康のみならず、生物、オゾン層などへの影響も考慮した幅広い物質が選定されている。さらに、物質安全性データシート（MSDS）制度が導入され、化学物質を利用するサプライチェーンにおいて化学物質の情報を提供することが義務付けられた。ライフサイクルにおいて化学物質の情報を共有するシステムが充実されつつある。

欧州では、製品のライフサイクルにおいてエネルギー使用などの環境影響を減少させるといった理念のもと、2001年に統合的製品政策（Integrated Products Policy：IPP）が採択されている。この政策では、製品の設計の段階で、環境に悪影響を及ぼす物質を使用しないとする環

境配慮設計（Design for Environment：DfE）、および製品が使用、廃棄された後においても、当該製品の適切なリユース・リサイクルあるいは処分に、製造事業者が物理的または財政的に一定の責任を負う拡大生産者責任（汚染者負担の原則）に焦点が当てられている。また、経済開発協力機構（OECD）では、環境での残留性や生物への蓄積性が高く毒性を有する化学物質、また、製品などに含有され人の健康および環境に対し影響を及ぼす可能性があるものに着目し、管理する化学品政策（Chemical Products Policy：CPP）、すなわち、化学物質管理へのIPP概念の適用が検討され、2002年に東京でワークショップを開催している。

さらに、2001年に採択された“欧州連合の新しい化学品政策の基本となる法律案（Registration and Authorization of Chemicals：REACH）”では、化学品の基本的なリスクアセスメントを化学物質の製造者に求めることのみならず、これを利用した新たな製品とする事業者にも、安全性確保の責任の一端を負わせるものになっている。しかし、このシステムを実行可能なものとするには、リスクアセスメントに不可欠な情報を共有する方法、現在進んでいる高生産量物質（High Production volume：HPV）点検プログラムのインセンティブとの関係などと、まだ、多くのハードルを越えなければならない。

2003年に欧州委員会で採択された“エネルギー使用製品のエコデザインに関する枠組み指令案（A framework for eco-design of energy using products：EuP）”は、エネルギー使用製品のDfEが重要であるとの観点から、製品の全般的な環境性能向上と、それによる環境保護を目的としたものである。製品のライフサイクルにおいて環境負荷を低減させるために、環境に配慮して環境負荷の少ない素材や部品を用いて製品を開発設計するといったエコデザイン要件（表1）が起案されている。

表1：EuPにおけるエコデザイン要件（抜粋）

各ライフステージで評価される影響	- 物質とエネルギー、その他の資源の予想使用量 - 大気、水、底質への予想排出量 - 廃棄物の予想排出量 - 物質のリサイクル、リユースと回収の可能性 など
これらの影響に対して、改善あるいは配慮がなされたかを評価する指標	- ライフサイクルを見据えたエネルギー消費 - 廃棄物の総量と有害廃棄物の総排出量 - 大気への排出（揮発性有機化合物、重金属、残留性有機化学物質、微粒子および浮遊粒子など） - 水への排出（重金属、残留性有機化学物質など） - 土壌への排出（特に製品の使用段階における有害物質の流出と溶出および廃棄物からの溶出） など

欧州のこのような動向を見据えると、製品などに含有される化学物質の管理はますます重要になってくるものと思われる。そして、ライフサイクルをカバーしたリスクアセスメントには、各ステージでの暴露評価技術あるいは最終製品の環境負荷評価技術などの要素技術も必要となる。また、製品に含有される化学物質を管理するには、製品含有物質の有害性情報などの整備や表示や分類など情報共有化の手段、含有物質や含有量を分析する技

術や基盤の整備も必要となってくる。しかしながら、このような情報や技術は十分に整備されてはいないのが現状である。そのため、安全性評価技術研究所では、物質のライフサイクルをカバーした化学物質管理あるいは環境負荷評価技術に係る技術開発や基盤整備を重要課題と位置付けており、産業界、研究機関および関連省庁と情報を共有し、緊密な連携を進めているところである。

(評価研・江藤)

タンパク質の網羅的解析のトキシコロジー等への応用

(1) プロテオーム解析への期待

細胞、組織や器官は、化学物質の暴露等のさまざまな環境変化に対して恒常性を維持する反応をする。恒常性の維持は、ポジティブおよびネガティブ・フィードバック系が多重に、あるいは直列・並列に組み込まれた複雑、冗長でありながら、「ロバストネス」(頑健性)に富むシステムで行われている。このような恒常性の破綻は、がん、高血圧、糖尿病、感冒、胃炎(潰瘍)といった病気で表現されることになる。1990年代に本格的に始まったゲノムシーケンシングは飛躍的に進展し、ヒトをはじめとする多くの生物でゲノムの全塩基配列が明らかにされた。このゲノム情報と近年急速に発達した質量分析装置を利用することによりタンパク質のハイスループットな分析が可能となり、タンパク質の網羅的解析(プロテオーム解析)を基盤とするプロテオミクスとよばれる学問領域も発展してきている。化学物質暴露の有無等の環境変化に対する恒常性維持のための応答や恒常性の破綻に起因する疾患特異的なタンパク質発現の変化に対して、このプロテオーム解析を適用することによる新規な診断マーカー、毒性マーカーや創薬ターゲット分子の探索が活発に行われている。特に毒性や薬効の発現は、複雑、冗長なフィードバック系の応答に基づくものであり、タンパク質発現の定量比較を行う定量プロテオミクスによるメカニズムの解明や毒性や薬効に特徴的な発現パターンの発見が期待されている。当機構においても2D-Differential Gel Electrophoresis (2D-DIGE)法によるタンパク質発現の定量比較とnano-LCとESI Q-TOF MS (ElectroSpray Ionization Quadrupole - Time Of Flight Mass Spectrometry)を用いたタンパク質同定を基盤とするプロテオーム解析を展開している。本稿ではこれらに関する最新の成果について紹介する。

(2) トキシコゲノミクスプロジェクトでの取り組み

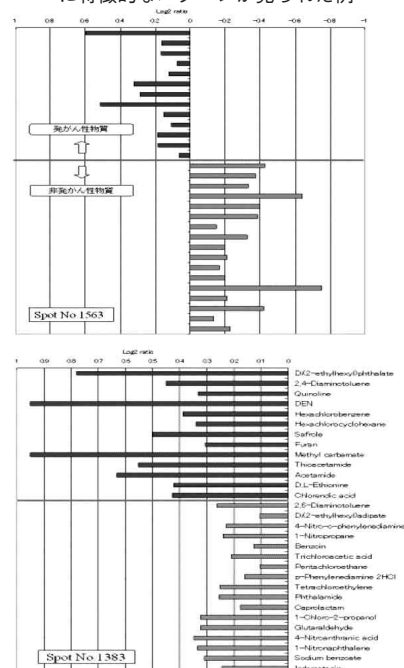
当機構は、現在1物質あたり数億円の試験費用および2年間の試験期間が必要な発がん性試験の劇的な短縮化と低コスト化を目指して平成13年度に5ヵ年計画でスタートした独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)トキシコゲノミクスプロジェクトの中で、プロテオミクスを利用した基礎研究の分野を担当している。発

がん性の有無が既知の85物質をラットに28日間反復投与後の肝たんぱく質発現変動のデータを今年度中に取得終了予定であり、解析するゲルイメージは約1500枚に及ぶ。2D-DIGEを基盤とする定量比較プロテオミクスの長所の一つとして多検体間での比較を比較的容易に行い得る事が挙げられるが、実際このような大規模解析は定量プロテオミクスの他の手法では現実的には不可能と思われる。また、本プロジェクトにおいてはマイクロアレイのデータ解析を主目的としたバイオインフォマティクス技術の開発を行っているが、2D-DIGEにより得られたタンパク質発現データは適切なデータの前処理を行えば、ほぼそのままマイクロアレイ用のデータ解析ツールが利用できる事も利点の一つと考えられる。

①発がん物質投与に特徴的なタンパク質の発現変動

全85物質のデータの中で信頼性の低い3物質を除く82物質についてラット肝発がん性物質31物質、ラット肝非発がん性物質51物質の高用量データ間で検定を行い、t値の絶対値が2.0以上のタンパク質のデータを用いて階層的クラスター解析を行い、グループ化した発がん物質-非発がん物質間で特徴的な発現変動を示したタンパク質のデータの中で代表的なものを図-1に示した。発がん物質において、発現量が増加したタンパク質(Spot No.1563)や発現が抑制されたもののほかに、いずれの物質を投与した場合でも発現量が増加するが、増加率は発がん物質の方が高いタンパク質(Spot No.1383)も見られた。

図-1. 発がん性物質投与-非発がん性物質投与間で肝タンパク質の発現量変化に特徴的なパターンが見られた例



②発がん物質の予測

2D-DIGEにより得られたタンパク質発現データを用いた発がん性の予測においては、マイクロアレイでの戦略をそのまま適用した。遺伝子解析との比較をクリアにするためマイクロアレイで解析を行ったものと同一の26物質（発がん性物質：11物質、非発がん性物質：15物質）についてのデータを用いて発がん性予測を行った。1300程度のたんぱく質発現量データのうちt値が2.0、2.5、3.0、3.5以上のものは各々78、46、19、11種あった。また、サポートベクターマシンの使ってクロスバリデーションを行った際の予測率は、t値が3.5以上の11種のたんぱく質発現データを使用した場合には、92.3%でありマイクロアレイのデータによる予測率と同等の結果が得られた。

(3) 微量なタンパク質の解析に向けた取り組み

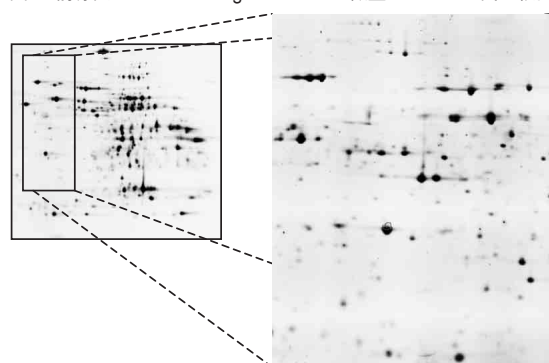
現在の手法で検出可能なものは、恒常性維持のための変動の結果であり、そのような変動の引きがねとなる微量なタンパク質の解析は残念ながら出来ていない。細胞内に存在するタンパク質のダイナミックレンジは極めて広く、多量に存在するタンパク質の共存下で微量なタンパク質の定量比較を再現性よく行うという困難な課題が定量プロテオミクスには課せられている。我々は、この問題を解決するための手段として2つのアプローチを採用し、取り組んでいる。1つは、タンパク質のpHや界面活性剤に対する溶解性の差を利用した前分画とpHレンジが1以下のNarrow Rangeのストリップを1次元目の分離に使用した分解能の向上の組み合わせによる方法である。もう一つのアプローチは有用な情報が得られるタンパク質のみをアフィニティークロマトグラフィーや免疫沈降法等で濃縮し、この特定タンパク質集団の網羅的解析を行うものである。

①前分画によるアプローチ

前分画によるアプローチの例として、Solution IEFにより前分画したサンプルをNarrow Rangeのストリップで分離した際のゲルイメージを図-2に示した。HIVとの関連で注目されているinterleukin 7 receptor alpha chain (gi|34854360) や細胞増殖と関連のあるseptin 10 isoform 1 (gi|34882181) やpre-B-cell colony-enhancing factor (gi|29293813) 等これ

まで検出できなかったタンパク質が同定されてきている。今後、このような前分画とリン酸化や糖鎖等の翻訳後修飾解析技術の組み合わせにより、より詳細なプロテオーム解析を行っていく予定である。

図-2. 前分画 + Narrow Range IEF による微量なタンパク質の検出



②アフィニティークロマトグラフィーによるアプローチ

アフィニティークロマトグラフィーで特定のタンパク質集団を解析する際の課題は、非特異的な吸着を如何に減らすかという事と定量解析の観点からは如何に再現性良く高効率で目的のタンパク質を回収するかという事になる¹⁾。非特異的な吸着に対しては、タグの種類、溶媒、反応時間等のパラメータを最適化して絶対的な非特異吸着量を減らす試みも行われているが、全てのタンパク質に適用可能な条件を見つけ出すのは極めて困難である。そこで、ディフュゼンシャルアフィニティークロマトグラフィーのような方法は、現実的な手段として有用であると考えられる。実際に抗がん剤としての開発が進められているE7070の標的分子探索に応用した例を紹介する。E7070は細胞周期の回転を止める事によりがん細胞を死滅させる事はわかっているが細胞内の標的たんぱく質が何かは明らかとなっていない。この手法は活性に関与する部分のみの構造が異なるがその他の部分の構造が類似している化合物を使用する事を特徴とする手法で、この2化合物に吸着するたんぱく質を比較する事により構造が似ている部分に吸着する非的特異的なたんぱく質群と活性な化合物に特異的に吸着したたんぱく質を見分ける事が可能となる。E7070の場合には、活性中心から離れた部位にカラムに固定化するための官能基を有するモデル化合物が利用でき、標的たんぱく質候補を決定する事に成功した²⁾。

(4) 今後の展望

プロテオミクスの研究領域も、新技術の開発や基礎研究への適用だけでなく臨床研究や毒性評価および創薬などの分野まで急速に応用の範囲が拡大してきており、すでにいくつかの“がんマーカー”が、プロテオーム解析の成果として診断への応用が始まりつつある。

しかしながら、現在使用されているような疾患特異的な発現に基づくマーカーはその原理から疾患がある程度進行しなければ当然使用できない。今後、我々が展開しているような精密な定量プロテオミクスデータによる“Digital diagnostics”に基づく早期の診断や毒性、薬効や疾患のメカニズム解明が今後ますます重要になると予想される。

(評価研・須藤、山中)

参考文献

- 1) H. Yamanaka, T. Okano, et al. Affinity chromatography with collapsibly tethered ligands, *Ana.Chem.* 2003; 75 (7) ; 1658-1663.
- 2) Y. Oda, T. Owa, et al. Quantitative chemical proteomics for identifying candidate drug targets, *Ana.Chem.* 2003; 75 (9) ; 2159-2165

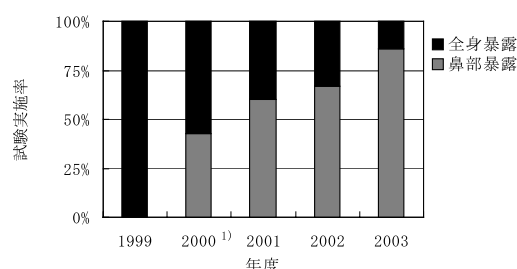
機械紹介 新規鼻部暴露吸入装置の導入

1. 全身暴露と鼻部暴露

当機構では、全身暴露および鼻部暴露装置を所有しており、現在これらを用いた吸入実験に取り組んでいます。全身暴露と鼻部暴露の大きな違いは、全身暴露は経皮吸収や身繕いなどによる経口摂取を伴う可能性が懸念される暴露方法であるのに対し、鼻部暴露は、暴露中、動物をホルダーに拘束しなければならないという問題点がありますが、吸入経路のみの暴露方法であるという点にあります。したがって、化学物質を吸入経路のみで摂取した場合の毒性評価に適した暴露方法は鼻部暴露となります。更に、鼻部暴露には、使用する被験物質が比較的少量で実施可能であり、コスト面、安全面からも大きな利点があります。

2. 当機構における吸入毒性試験の動向

当機構において最近5年間に実施した吸入毒性試験について、全身暴露と鼻部暴露の実績を図1に示します。



一 図1-1 当機構における吸入毒性試験の実績
1) 鼻部暴露装置導入

鼻部暴露装置を導入した2000年度から鼻部暴露試験の実施率が年ごとに増加しています。この傾向から暴露装置等の技術の進歩とともに、被験物質の吸収部位を呼吸器に特定した鼻部暴露での吸入毒性評価の重要性和社会的なニーズが高まっていることがうかがえます。

3. 鼻部暴露装置の導入

鼻部暴露では被験物質にさらされる部位が鼻先端部に局限されることから、被験物質の吸収部位を呼吸器に特定した吸入試験が可能となります。すなわち、本装置では鼻先

端部のみが外部に露出する構造をした拘束ホルダー(写真1)に動物を拘束し、それを専用の鼻部暴露チャンバー(写真2)に取り付けることにより、被験物質の暴露を行います。

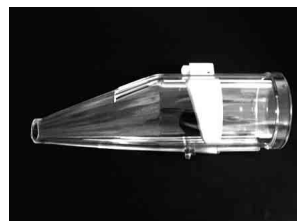


写真1 鼻部暴露用の動物拘束ホルダー



写真2 鼻部暴露チャンバー

今回動物の体型に近い形状をした拘束ホルダーを導入し、暴露チャンバーについては、被験物質の給気槽と排気槽が分離しているFlow-past型を採用しました。また、暴露チャンバーは差圧計によって内部が常に陰圧に保たれるよう制御することで、外部への被験物質の漏洩を防止します。さらに、個々の暴露チャンバーがドラフトチャンバーで覆われていることから、チャンバー間での被験物質のcontaminationを防止するとともに、作業者の安全性についても考慮されています。

4. まとめ

我々を取り巻く環境中には、多種多様な化学物質が存在し、人に取り込まれる場合の主要な経路は、食物や水を介した経口経路、経皮経路および空気を介した吸入経路が考えられます。近年、化学物質の管理として「リスク評価」の考え方が提唱されています。化学物質の「有害性(ハザード)」を評価するだけでなく、経路や暴露(吸ったり食べたり触れたりすることの総称)量を併せて評価することによりリスクを評価し、その結果に基づいて管理していくことが大切となります。今後、化学物質の性質・使用用途を考慮するとともに、実際に化学物質によって生体がさらされる状態等を考慮し、試験の目的に応じて適切な暴露方法(全身暴露、鼻部暴露等)を選択し、精度と信頼性の高い試験を実施することが重要になると考えられます。(日田・一瀬、辻村)

KEIRIN



競輪補助事業完了のお知らせ

平成16年度の競輪の補助金を受けて、下記事業を完了いたしました。

- 事業名：平成16年度化学物質による公害防止研究機器の整備補助事業
- 事業の内容：液体クロマトグラフ質量分析計 1式
- 補助金額：7,980,000円
- 実施場所：福岡県久留米市宮ノ陣3-2-7
- 完了年月日：平成16年9月21日
- 事業目的：自然環境の保護に関する調査研究に資するため、また、化学物質による汚染防止のための機器を整備し、もって公益の増進に寄与する。



久留米事業所落成披露

当機構久留米事業所は、昭和24年に財団法人ゴム製品検査協会九州ゴム検査所として開設し、その後、化学物質の安全性試験研究を実施する久留米事業所に改組、現在に至っております。しかし、業務拡張により施設が手狭になったことに加えて一部の建屋が著しく老朽化したこと、さらには周囲の住宅化が進んだこともあり、今後の拡張が望めない状況になっておりました。そこで、将来の発展が望める環境を求めて新設工業団地である久留米ビジネスパーク（久留米市宮ノ陣）に移転することになりました。

その新設しました久留米事業所の見学会および落成式を9月17日に執り行い、官公庁、企業等から110名のお客様にご来場頂きました。落成式は、当機構近藤理事長の挨拶で始まり、ご来賓を代表して経済産業省製造産業局化学物質管理課長補佐 村越正毅様、地元久留米市長 江藤守國様からのご祝辞をいただきました。つづきまして、久留米市議会議長 川地東洋男様のご発声で乾杯の後、懇談いたしました。

新事業所は、福岡県久留米市宮ノ陣の工業団地久留米ビジネスパーク内にあり、敷地面積9,600m²、延床面積5,200m²と旧事業所に比べて敷地面積で約3倍となりました。業務内容は、化学物質審査規制法の新規物質の申請に必要な試験（分解、濃縮、物理化学性状、生態毒性試験）、農薬取締法に基づく試験（水産動植物に対する毒性、物

理化学性状）、環境調査（農薬モニタリングも含む）、医薬品の薬物動態と安定性試験、さらに国からのこれらの関連分野の受託研究等となります。また、当機構内で開発を進めている遺伝子工学的手法を用いた安全性評価手法に基づく新規事業拡張も計画しています。これらの試験研究に必要な化学分析のための液体クロマトグラフ質量分析計、ガスクロマトグラフ質量分析計等、最新の分析機器も整備充実しました。特に、日本自転車振興会からの補助事業（平成16年度化学物質による公害防止研究機器の整備）を受けて最新鋭の四重極型液体クロマトグラフ質量分析装置を導入いたしました。

平成13年の東京事業所の移転に続き、西のメインラボの位置づけにある久留米事業所を移転リニューアルしたことで、今まで以上に安全性評価研究分野における社会、行政のニーズに高いレベルで迅速に対応し、皆様方のお役に立つべく努力を続けていく所存です。今後とも一層のお引き立てを賜りますようお願い申し上げます。



財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所の概要

〒839-0801
福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号
TEL 0942 (34) 1500
Fax 0942 (39) 6804
敷地面積：9,600m²
建築面積：3,300m²
延床面積：5,200m²
役職員数：約120名

編集後記

第47号秋季号をお届けいたします。
いよいよ秋も本番となり、皆様ますますご健勝のことと存じます。日頃はいろいろとお世話になり、お礼申し上げます。

巻頭言は、2004年度日本分析化学会技術功績賞を受賞されました、淑徳大学国際コミュニケーション学部教授の北野 大 先生（本機構監事）からこの受賞についての「お祝いとお礼」をご寄稿いただきました。誠にありがとうございました。

今回は、特集1としまして化学物質安全部門Ⅱ・日田事業所を、特集2としまして安全性評価技術研究所における活動を紹介させていただきました。

今回の特集は、環境技術部門および化学標準部門について掲載する予定です。

また、このたび久留米事業所は、福岡県久留米市中央町から福岡県久留米市宮ノ陣へ移転いたしました。今後とも倍旧のご支援、ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。（企画部・吉岡）

化学物質評価研究機構
ホームページ

<http://www.cerij.or.jp>

CERI NEWS 第47号 秋季号 発行日 平成16年10月

編集発行 財団法人 化学物質評価研究機構 企画部

〒112-0004 東京都文京区後楽 1-4-25 日教販ビル7F

Tel:03-5804-6132 Fax:03-5804-6139 mail to:cerinews@ceri.jp