

ImmunoTox Letter

日本免疫毒性学会 : The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 9 No. 2 (通巻18号) 2004

目次

第11回日本免疫毒性学会学術大会報告	1
	日下幸則
第12回日本免疫毒性学会学術大会(予告1) ...	1
	大沢基保
年会賞	
3才児の食物並びに吸入アレルゲン特異的IgE抗体の実態調査	3
	国立医薬品食品衛生研究所 手島玲子他
ICH免疫毒性試験ガイドライン案	4
	塩野義製薬株式会社 中村和市 国立医薬品食品衛生研究所 澤田純一
都市大気中ナノ粒子の健康影響	6
	独立行政法人国立環境研究所 山元昭二
「免疫毒性試験プロトコール」第8回	8
Non-RI Local lymph node assay (Non-RI LLNA) 法 (BrdU法)	
	財団法人化学物質評価研究機構 武吉正博
お知らせ	
(1) ImmunoTox Letterのホームページへの移行 ...	11
(2) 揮発性化学物質の生体影響ワークショップ ...	11

第12回日本免疫毒性学会学術大会(JSIT 2005) (予告1)

日本免疫毒性学会の第12回学術大会を下記の要領で開催致しますので、予告1としてご案内申し上げます。

期 日：2005年(平成17年)9月21日(火)-22日(水)

会 場：東京大学弥生講堂(農学部キャンパス内)
東京都文京区弥生1-1-1 東京大学農学部内
(Tel. 03-5841-8205)

(交通：メトロ東京南北線 東大農学部前
下車 徒歩数分)

協 賛：日本トキシコロジー学会、日本薬学会ほか
(予定)

サブテーマ：免疫毒性研究 - 個体、細胞、分子のクロ
ストーク

内 容：特別講演、シンポジウム2件(ナノ粒子と
免疫系、In Vitro immunotoxicologyなどの
トピックスを検討中)、ワークショップ、
一般演題を予定

発表形式：一般演題は口演発表
(ポスター展示発表も可能)

演題申込締切日：2005年7月4日(月)

年会長(実行委員長)：大沢 基保(帝京大・薬)

問 合 先：第12回日本免疫毒性学会学術大会・年会事
務局

FAX. 0426-85-3754

TEL. 0426-85-3752

(近日中に専用電話とホームページ開設予定)

第11回日本免疫毒性学会学術大会報告

日下 幸則(学術大会会長)

本年度の学術大会は第44回日本産業衛生学会アレルギー免疫毒性研究会と第35回日本職業・環境アレルギー学会との三者協賛大会で2004年免疫毒性・アレルギー学会としての、9月10日(金)~11日(土)に福井県国際交流会館で開催された。

本学術大会のメインテーマは「アレルギー性化学物質に抗する国際的予防体系を構築する」である。招待講演は「ナノ粒子：粒子毒性学の最前線」のテーマでケネス・ドナルドソン教授(英国 エジンバラ大学)が、特別講演は「環境と鼻アレルギー」のテーマで藤枝重治教

授(福井大学医学部耳鼻咽喉科学)が、ミニレクチャーとして中野ユミ子主任研究員(大阪府立公衆衛生研究所)が講演した。このほか、「アレルギー性化学物質に抗する国際的予防体系を構築する」(6題)および「呼吸器アレルギーモデルのエヴィデンス」(5題)をテーマとしてシンポジウムを行った。「Non-RI使用代替免疫毒性試験法」(5題)に関するワークショップが行われた。それ以外に一般口演も37題あり活発な討論が行われた。

学会の参加者は、県内外から180名余りの呼吸器専門医・皮膚科専門医・衛生公衆衛生専門医・薬学研究者が集まり、学術的に大変有意義なものであった。

1. 招待講演

エジンバラ大学医学部呼吸器毒性学教授のケネス・ドナルドソン講師から、「ナノ粒子：粒子毒性学の最前線」の講演を賜った。環境中の粒子による健康被害は、近年燃焼由来のナノ粒子であることが明らかになっている。ご自身のナノ粒子に関する最先端の研究を紹介されるとともに、ナノ毒性学（Nanotoxicology）の重要性を講演され非常に興味深い刺激的な内容であった。

2. 特別講演

福井大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教授の藤枝重治講師から、「環境とアレルギー性鼻炎」の講演を賜った。近年アレルギー疾患が増えているが、中でもアレルギー性鼻炎の増加が著しい。IgE産生亢進を認める大気汚染・内分泌攪乱物質・感染の3つの要因とアレルギー性鼻炎との関連をご自身の研究を含めて紹介されるとともに、アレルギー性鼻炎を予防できる方法を環境の面から提案された。

3. ミニレクチャー

大阪府立公衆衛生研究所生活環境部生活衛生課主任研究員の中野ユミ子講師から、「皮膚感作モデルの分子生物学：cDNAアレイ解析による感作性物質と化学物質過敏症誘導物質の作用機構の比較検討」の講演を賜った。近年増加しているアレルギー疾患の発症要因として、環境中の微量化学物質の増加やストレスとの複合影響が考えられている。ご自身の研究として、接触皮膚炎や化学物質過敏症様モデルマウスを作成し、近年発展して来たcDNAアレイ技術を用い局所での遺伝子発現変化の解析を紹介された。

4. シンポジウム

「アレルギー性化学物質に抗する国際的予防体系を構築する」

世界には2,000万種以上の化学物質が存在し世界中で移送・取引されているため、化学物質の有害性を分類し、ラベルや安全性データシート（MSDS）による情報提供をするため国際連合が提案する共通の統一されたシステム（国際調和システム、GHS）が2003年7月国際連合より勧告出版された。基調講演として（独）産業界総合研究所研究企画官の宮川宗之講師がGHSの分類基準の現状を報告し、群大医呼吸器アレルギー内科臨床教授の土橋邦生講師が臨床家の立場から、大阪府立呼吸器アレルギー医療センター皮膚科部長の片岡葉子講師がアレルギー性化学物質による皮膚障害を、日本化学工業協会常務理事の

中田三郎講師が生産者の立場から、環境監視研究所所長の中地重晴講師が市民参加による化学物質管理を、福大医環境保健助教授の佐藤一博講師がGHSに準拠した感作性化学物質リスト（提案）について、それぞれご自身の研究を含めて最近の知見を紹介した。

5. シンポジウム

「呼吸器アレルギー・モデルのエヴィデンス」

気道を介して曝露される微小粒子状物質の呼吸器系の細胞毒性の実験動物による研究が進んでいる。北里大医衛生公衆衛生助教授の角田正史講師（第一発表者）が肺胞マクロファージ由来MH-S細胞を用いた細胞毒性試験法について、国立環境研究所のTin-Tin-Win-Shwe講師（第一発表者）がマウスを用いたナノ粒子の気管内投与による蛋白質産生とmRNA発現の修飾を、国立環境研究所主任研究員の山元昭二講師（第一発表者）がマウスを用いたナノ粒子の気管内投与がグラム陽性菌リポペプチドによる炎症に及ぼす影響について講演した。

6. ワークショップ

「Non-RI使用代替免疫毒性試験法：LLNAとNK活性測定の代替法」のテーマでヤンセンファーマ牧栄二座長と国立医薬品食品衛生研究所の澤田純一座長で行われた。三菱ウエルファーマ安全性研究所の筒井尚久講師は「LLNA法に関する製薬協共同研究報告」を、（財）化学物質評価研究機構日田事業所の武吉正博講師は「LLNA代替法としてのBrdU法」を、ダイセル化学工業㈱評価・解析センターの山下邦彦講師は「Non-RI代替法としてのLLNA-DA法」を、帝国臓器製薬安全性・代謝研究部の柴田誠司講師（第一発表者）は「フローサイトメトリーを用いるNK細胞活性測定及びNK細胞数との相関性」を、塩野義製薬㈱新薬研究所の永田雅史講師（第一発表者）は「蛍光色素を用いたNK細胞活性測定法」を報告した。

7. 一般講演

今回は口頭発表のみの募集であった。42題集まったが、内5題はシンポジウムに変更依頼した。最終的に口頭発表37題となった。

3年目となった優秀発表に対する年会賞、奨励賞の表彰は今大会は次のように決定された。年会賞は国立医薬品食品衛生研究所の手島玲子氏の「3才児の食物並びに吸入アレルゲン特異的IgE抗体の実態調査」に、奨励賞は万有製薬安全性研究所の皆川愛氏に決まった。授与式にて、会長から副賞と共に賞状が授与された。

年 会 賞

3才児の食物並びに吸入アレルゲン特異的IgE抗体の実態調査

手島 玲子¹、高木加代子¹、奥貫 晴代¹
中村 亮介¹、蜂須賀暁子¹、澤田 純一¹
小島 幸一²、大沢 基保³、吉田 貴彦⁴

¹国立医薬品食品衛生研究所、²食品薬品安全センター

³帝京大学薬学部、⁴旭川医大

目的

小児での生活環境リスク評価のための免疫影響指標開発の一環として、3歳児健診において得た血清中総IgE値及びアレルゲン（抗原）特異的IgE抗体の測定を行った。本研究は、厚生労働科学研究費補助金「生活環境汚染物質による小児の毒性評価のための免疫指標の開発に関する研究」（平成13-15年、主任研究者；吉田貴彦）の一環で、行ったものである¹⁾。本研究で用いた検査項目は、先行厚生省委託研究で免疫指標について動物実験で検討した結果を踏まえ、人、特に小児での健康影響調査において有用と思われる指標として選択された項目であり、先行して行った1年間を含め²⁾、4年間にわたって行った調査研究をまとめたものである。血清中IgE濃度はアトピー性アレルギー患者において有意に高値を示すので、気管支喘息、皮膚炎、鼻炎などの場合、アトピー要素の有無を調べるためにも用いられている。胎児のIgE産生量は微量で、母体のIgEは胎盤を通過しないとされており、生まれた直後は極めて低い値を示すが、健康な小児では年齢とともに総IgE値は上昇し、10-15歳位に健常成人と同じ値を示すようになる³⁾。血清中総IgE値が非特異的IgE値と言われるのに対し、アレルゲン（抗原）に特異的なIgEを検出する特異的IgE検査法がある。アレルギー性疾患が疑われる場合は、総IgE値が基準値の範囲内であっても、アレルゲンに特異的なIgEの存在が確認されることもある。試料となる血清は、2000年度から2003年度にかけて、関東地区の3地点、東京都東久留米市、多摩市、神奈川県横浜市旭区、および北海道旭川市の4地点において、保健所・保健センターにおける3歳児健診の機会を利用し、保護者の同意を得た上で、満3歳に達した総計612人から採血して調製された。採血はいずれの年度も10月から翌年1月にかけて行い、同時にアレルギー性疾患による受診歴、自覚症状等についてアンケート調査も実施した。

方法

総IgE値については、蛍光酵素免疫測定法（FEIA）で定量し、アレルゲン特異的IgE抗体価は、食物アレルゲン4種（卵白、牛乳、大豆、小麦）及び室内吸入アレルゲン3種（ネコ上皮、コナヒョウヒダニ、ハウスダスト）に対する特異的IgE抗体価につき、ELISAで半定量測定を行った。室外吸入アレルゲンは、関東地区（東久留米市、多摩市、横浜市）ではスギ、旭川市ではシラカバにつき、ELISA並びにAlaSTATで定量を行い、さらに総IgE抗体値との関連について検討した。

結果

総IgE抗体値を測定することができた3歳児血清は、平成13年度187検体、平成14年度204検体、平成15年度147検体であり、予備的調査を行った平成12年度74検体を合わせると総数612検体であった。これら血清につき、抗原特異的IgE抗体の測定も行き、これらの調査結果とアンケート結果をもとに、総IgE抗体値と個々の抗原別IgE抗体価あるいは症状との関係、地域による違い、年度による推移等を解析した。総IgE抗体値は全体では34.7 IU/ml、関東地区で44.7 IU/ml、旭川市が22.5 IU/mlであり、旭川市の方が幾分低い傾向が得られた（幾何平均）。また、図1に、関東地区と、旭川地区の3歳児の総IgE値のヒストグラム（横軸：総IgE値対数目盛、縦軸：人数%）を示すが、旭川地区では、総IgE値10以下の人数の割合が高いことがわかった。特異的IgE抗体陽性率は、旭川25.7%（58/226）、東久留米27.0%（54/200）、多摩33.3%（10/30）、横浜33.3%（52/156）、全体では28.4%（174/612）であり、食物アレルギー陽性者の割合は、旭川3.5%（8/226）、東久留米7.0%（14/200）、多摩13.3%（4/30）、横浜9.6%（15/156）、全体では6.7%（41/612）で、室内吸入アレルギー陽性者の割合は、旭川25.7%（58/226）、東久留米22.5%（45/200）、多摩23.3%（7/30）、横浜30.8%（48/156）、全体では25.8%（158/612）であった。また、総IgE値が80 IU/ml以上の群では何らかのアレルゲン特異的IgE抗体を有する者が67.6%（123/182）

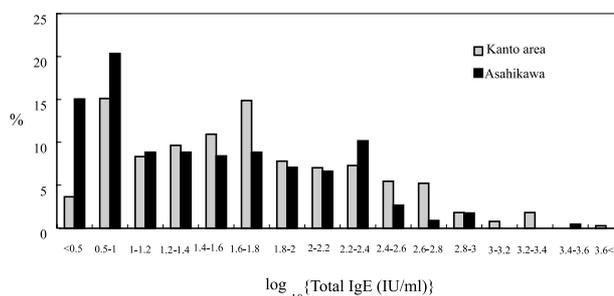


図1 関東地区と旭川の3歳児の総IgE値のヒストグラム

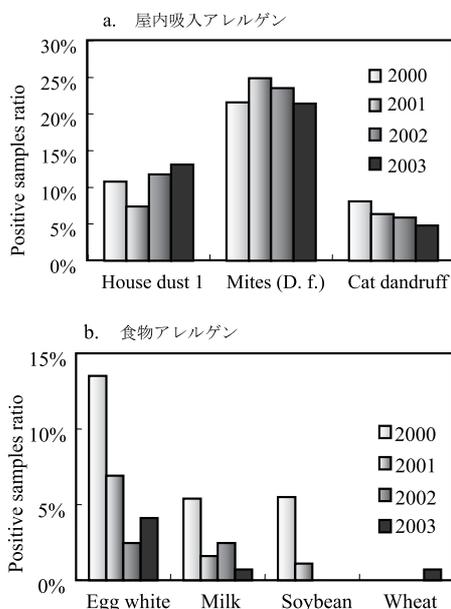


図2 抗原特異的IgE陽性者率の年度別推移

と高い値を示した一方、総IgE値が40 IU/ml未満の群では6.6% (21/320)であったことから、総IgE値はアレルギー状況のよい指標であることが確認された。食物アレルギー特異的IgE抗体陽性者率の内訳は、卵白5.6%、牛乳2.1%、大豆1.0%、小麦0.2%の順であった。室内吸入アレルギー特異的IgE抗体陽性者率の内訳は、ダニ23.2%、ハウスダスト10.6%、ネコ上皮6.0%であった。また、アレルギー特異的IgE抗体陽性者数の年度別推移を図2に示すが、年度による陽性者数に大きな違いはみられなかった。室外吸入アレルギーでは、旭川の試料の内の高IgE群の50名中8名が陽性(シラカバ)と判定され、陽性率は16.0%であった。また、精製したスギ花粉抗原を用いて関東地区全員を対象としたELISA法による抗原特異的IgE陽性者は15.6%であった。以上、食物抗原、室内型吸入抗原に対するIgE抗体ばかりでなく、3歳児においても室外型の吸入抗原に対するIgE抗体の産生のみられることが判明し、総IgE抗体値及び吸入アレルギー特異的IgE抗体価が、環境リスクを評価する指標となることが示された。なお、東京と旭川で、特異的IgE抗体陽性率には大きな違いは見られなかった。

考察

今回用いた総IgE値及びアレルギー特異的IgE抗体価の2つのアレルギー指標は、地域住民への環境リスク評価のための予見的アプローチ手段として、実用面において有効性が示された。また、Kuligらによればドイツにおける3歳児のカンパおよび草花粉による感作率が6-7%、発症率が3%であるが⁹⁾、今回の調査において、わが国に

においても室外吸入アレルギーに、3歳児ですでに陽性となる例が、関東、旭川ともにみられ、室外抗原陽性の低年齢化がすすんでいるというデータを示すことができた。一般児、特に低年齢児を対象とする採血を伴う調査は日本ではあまり例がないため、本研究で得られた結果は、現時点における小児のアレルギー傾向を知る上で貴重な資料であると考えられる。

参考文献

- 1) 吉田貴彦 (2004): 一般人集団に適応する免疫指標を用いた環境リスク検出の試み, ImmunoTox Letter 9(1), 5-7
- 2) 環境基本計画推進調査事業「環境リスク対策における予見的アプローチに関する調査研究(免疫影響)」平成12年度委託事業結果報告書 主任研究者 大沢基保:
- 3) 森川利夫 (2001): 血清IgE値の基準値の検討, 日本小児アレルギー学会誌15(5), 546-552
- 4) Kulig, M., Klettke, U., Wahn, V., Forster, J., Bauer, C-P., Wahn, U (2000): Development of seasonal allergic rhinitis during the first 7 years of life. J.Allergy Clin. Immunol., 106, 832-839

ICH免疫毒性試験ガイドライン案

中村 和子 (塩野義製薬株式会社)

澤田 純一 (国立医薬品食品衛生研究所)

2003年11月11日に免疫毒性試験がICH (日米EU医薬品規制調和国際会議)の新規トピックS8として承認された。ICH S8 (免疫毒性試験)の専門家作業部会 (EWG)においては、その後、ICH免疫毒性調査のデータ解析を行うと同時に、ICH免疫毒性試験ガイドライン案の作成作業を進めてきた。今回、2004年11月15日から18日にかけて開催されたICH横浜会議において、S8 EWGが開かれたので、日本側出席者を代表して、その概要を報告したい。会議の出席者は以下の通りである。

- 厚労省: 澤田純一、笛木 修、山口光峰
- 日本製薬協: 中村和子、筒井尚久、久田 茂、佐神文郎
- EU: Jan Willem van der Laan, Henk van Loveren
- 欧州製薬協: Steven Spanhaak, Jennifer Sims
- FDA: Kenneth L. Hastings, James L. Weaver
- 米国製薬協: Thomas T. Kawabata, Stephen Durham
- Health Canada: Tibor I. Matula (オブザーバー)

今回の会議で、ICHのStep 2文書すなわちICH免疫毒性試験ガイドライン案が作成された。以下、今回S8 EWGにおいて全会一致で合意に達し、主要6団体が署名したICH免疫毒性試験ガイドライン案の概要について述べたい。

今回のガイドライン案においては、免疫毒性の範囲を、低分子化合物の免疫抑制に限定し、免疫毒性評価の一般原則を以下のように定めた。

- 1) すべての新規治験薬について、免疫抑制を起こす可能性を評価する。
- 2) 免疫抑制の試験方法には、標準的毒性試験と追加の免疫毒性試験が含まれる。免疫毒性試験を実施するか否かについては、懸念事項の重大性を総合的に評価し決定する。

免疫毒性試験の必要性の検討の対象となる懸念事項としては、まず初期スクリーニングとしての一般毒性試験の結果で得られた知見がある。一般毒性試験における検討項目としては(1)血液学的所見、(2)免疫系臓器の重量及び病理組織学的所見、(3)血清イムノグロブリン値、(4)感染症の増加、(5)がんの発生があげられる。これらの項目で見いだされた懸念事項を、統計学のおよび生物学的有意性、重篤度、用量依存性などの観点から勘案して、免疫毒性試験の必要性を判断する。

また一般毒性試験の結果の他に、以下の4つの要素を同時に考慮し、追加免疫毒性試験の必要性を決定する。

- 1) 化合物の薬理学的性質：化合物の薬理作用により、免疫抑制作用を引き起こす可能性。
- 2) 対象患者集団：免疫抑制状態にある患者さんに用いられるか否か。
- 3) 既知免疫抑制化合物との構造的類似性：免疫抑制の知られている化合物と類似の化学構造を有するか否か。
- 4) 薬剤の蓄積性：原体や代謝物が免疫系細胞や臓器に蓄積するかどうか。

上述のように、一般毒性試験の結果及び上記4つの要素の中から見いだされた懸念される要因に関して、その重大性を評価する。このうち1つでも免疫毒性に関する重大な懸念を認めた場合には、免疫毒性試験を実施するか、免疫毒性試験を実施しないときはその科学的な理由を示さなければならない。

免疫毒性試験においては、免疫毒性の標的細胞が不明な場合はT細胞依存性抗原に対する抗体産生能を検討することを推奨している。また化合物の各白血球ポピュレーションに与える影響を調べることは臨床でのバイオマ-

カーを決めるうえでも有用であることが記載された。

原則として、免疫毒性試験における動物種、投与期間、用量及び投与経路は、免疫毒性所見の認められた一般投与毒性試験と同じにすべきである。一般的にはラットを用いた1ヶ月経口投与試験となることが多いと予想されるが、非げっ歯類を用いることもできる。用量を決める上での注意点としては、無毒性量からストレスのような間接的に免疫系に影響を及ぼすことのない用量の間で複数の用量を設定し用量相関性を調べることとされた。

免疫毒性試験で免疫毒性所見が認められなかった場合は、さらにフォローアップ免疫毒性試験を実施する必要はないが、免疫毒性所見があった場合には、免疫毒性作用を受ける細胞の特定や作用機序の検討が必要とされる。その際には、NK細胞活性試験、宿主抵抗性試験やマクロファージの機能試験などの実施を含めることができる。

免疫毒性試験を実施する場合は、多数の患者集団に投与される前に行うことが必要とされた。また、免疫抑制状態にある患者集団に投与される場合は、その時期を早める必要がある。

またガイドライン案の付属文書には、免疫毒性試験に関連する事項として、一般毒性試験における免疫毒性に関する検査項目が記述され、さらに、T細胞依存性抗原に対する特異抗体産生試験、白血球ポピュレーション等の検査、NK細胞活性試験、宿主抵抗性試験、マクロファージや好中球の機能検査、細胞性免疫に関する試験を実施する上での留意点が述べられている。

今回のガイドライン案作成に至る経緯に関して、簡単にふれたい。これまでも、ICH免疫毒性調査の結果等をもとに、全ての新規医薬品の承認申請において、免疫毒性試験を実施する必要はなく、一般毒性試験において免疫毒性学的所見が認められた場合を中心に追加して免疫毒性試験を実施すべきであるという考え方には、EWG内でもコンセンサスが得られていた。しかし、一般毒性試験の結果の如何に関わらず免疫毒性試験を考えるべき条件に関しては、意見の相違があった。例えば、薬理作用として、標的細胞と免疫系細胞に共通な受容体へ作用する薬剤、また、抗炎症剤等のように、一部の免疫系細胞に作用する薬剤に対する考え方をどのようにするかについては、会議前までに結論が得られておらず、今回の会議でも議論の焦点の一つであった。これらの点については、最終的には、これら薬剤の薬理学的特性などの重要性を勘案した上で免疫毒性試験実施の必要性を決定することになった。

またリンパ節の重量については、ばらつきが大きいこともあり測定項目に加えるかどうか議論されたが、最終的に、必ずしも必須ではないオプションとする形となった。

宿主抵抗性試験の意義についても議論があったが一つのエンドポイントとしてとりあげられた。なお、薬剤自身が移植腫瘍の増殖に影響を与える場合などの注意点が盛り込まれた。

ガイドライン最終化に至るまでの今後のスケジュールを以下のように考えている。日本では本ガイドライン案の邦訳が必要とされるが、2004年12月には日米欧の製薬企業に同案を配布し、2005年1月から4月にかけてパブリックコメントを求める。本ガイドライン案は、いずれ、国立医薬品食品衛生研究所等のホームページにも掲載されることになる。2005年5月に開催予定のICH免疫毒性専門家作業部会会議ではパブリックコメントを検討し、ガイドライン案に反映させる作業を行う。そして2005年11月には最終ガイドラインを公表する予定にしている。

なお、今回の会議では、ICH免疫毒性調査報告書についてもICH運営委員会に提出された。現在、S8 EWGで、公表論文の形で公開するための作業を行っている。

都市大気中ナノ粒子の健康影響

山元 昭二 (国立環境研究所環境健康研究領域)

1. はじめに

都市大気中の浮遊粒子状物質 (PM₁₀ やPM_{2.5} と呼ばれる空気力学的粒径が10 μm以下又は2.5 μm以下の微小粒子) の濃度上昇は、呼吸器系疾患や心臓血管系疾患の罹病率や死亡率の増加と関連することが知られている。その大気中濃度は火力発電所や工場等の固定発生源の近くを別とすれば交通量の多い道路沿道で高値を示すため、我国では自動車による大気汚染状況の厳しい地域 (自治体) のトラック、バス、ディーゼル乗用車等を対象に窒素酸化物のみならず粒子状物質についても排出基準が設定され車種規制が行われている。又、ディーゼル自動車などについてエンジン本体の改良や排気後処理装置による自動車構造対策および燃料品質対策等の排出ガス・粒子低減対策も同時に進行している。道路沿道における自動車由来のPM₁₀ やPM_{2.5} の濃度は低減化の方向へ進んでいるとされるが、近年、ナノ粒子と呼ばれる50nm以下の超微小

粒子の健康影響問題がクローズアップされてきた。ディーゼル自動車の排出粒子の粒径分布では、その質量の大部分は粒径が0.1~0.3 μmの範囲 (累積モード) にあるのに対して、個数分布では大部分が5~50nmの範囲 (核モード) にあるとされ、核モード粒子すなわちナノ粒子の質量濃度は全体の1~20%に過ぎないが粒子個数は90%以上を占めるとされている^{1,2)}。実際の大気中ナノ粒子の組成としては微小粒子やディーゼル排気微粒子の主要構成成分である元素状炭素や有機炭素、無機塩類、金属、水等が含まれると推測されている。大きい粒子すなわち累積モードの粒子は前述の規制や対策の実施によって減少していくが、ナノ粒子については現在の対策ではその粒子数の大幅な低減は期待できないと考えられナノ粒子による健康影響の問題は依然として残ったままである。昨今、自動車由来のナノ粒子の問題とは別にナノテクノロジー (超微細技術) の進展に伴いエレクトロニクスや医薬等への応用が期待されるナノ材料による健康影響の可能性も危惧されているが、本稿では都市大気中ナノ粒子の健康影響について特に呼吸器系への影響を中心に話題提供したい。

2. ナノ粒子の生体影響

これまでに報告された二酸化チタン (TiO₂) やカーボン粒子、都市大気中捕集粒子等による実験的研究で、ナノ粒子は累積モードの大きな粒子に比べて肺に炎症を強く惹起することが明らかにされており、その理由として、ナノ粒子は質量当たりの表面積が大きくなるため、細胞表面との反応性が高まり表面付着物質 (活性酸素種、ラジカル、金属等) による毒性が強く発現すると考えられている。又、いくつかの疫学研究は、大気中のナノ粒子がPM₁₀ やPM_{2.5} と同様に、呼吸器系疾患や心臓血管系疾患の罹病率や死亡率の増加と関連することを示している^{3,4)}。Petersら⁵⁾の成人の喘息患者を対象とした大気中微小粒子と呼吸器症状との関連についての調査では、ナノ粒子の方が0.1~0.5 μm粒子やPM₁₀ に比べて呼吸器症状の悪化や最大呼気流量の低下をより強く引き起こす結果が示されている。

一般に、吸入された粒子は鼻腔から肺胞にかけての各部位に慣性、沈降、拡散によって沈着するが、ヒトにおける吸入粒子の沈着モデルでは、肺胞領域での沈着効率は0.1 μm以上の粒子で20%以下、5~10nmの粒子で約20~30%であるのに対して、20nm付近の粒子では50%に達するとされており、それより大きい粒子または小さい粒子に比べて肺胞での沈着効率が高いと予測されている⁶⁾。この20nm付近の粒子サイズは、ディーゼル自動車排出

粒子の核モードの主成分でもある。吸入ナノ粒子の肺での沈着や移行、毒性等に関する初期の実験的研究では、TiO₂や二酸化ケイ素等が用いられているが、Ferinら⁶⁾は、21nmと0.25 μmのTiO₂をラットに吸入暴露または気管内投与して粒子の保持や移行について検討した結果、ナノ粒子は大きな粒子に比べて肺の間質への広がりが大きく肺に長く保持されていたことを報告している。さらに、Oberdörsterら⁷⁾の同様の実験では、TiO₂ナノ粒子の肺の間質へのアクセスの増加と合わせて気管支肺胞洗浄(BAL)液中の急性の炎症性パラメーターが高められ、その増強は肺に保持された粒子の表面積と最もよく関連している結果が示され、ナノ粒子による肺毒性の増強はその広い表面積並びに肺の間質へのアクセスの増加に起因すると考えられた。一方、ラットに炭素同位体(¹³C)ナノ粒子を吸入させてその体内移行を調べた研究⁸⁾では、これらのナノ粒子は吸入後、短時間で肝臓でも検出され、ナノ粒子が肺や消化管を通過し血流に乗って肺以外の臓器にも移行する可能性を示唆した。同様の最新の研究⁹⁾では、このナノ粒子が大脳や小脳、嗅球にも移行することを報告し、特に嗅球のナノ粒子については鼻咽頭領域の嗅粘膜に沈着したナノ粒子が嗅神経を通過して嗅球に移行したのではないかと推察している。

都市大気中微小粒子の模擬粒子として用いられるカーボンブラック(CB)粒子のラットへの気管内投与で、14nmの粒子は0.3 μm付近の大きな粒子に比べて肺の炎症や酸化ストレスが大きかったことが報告されている¹⁰⁾。これ以外にも、CBナノ粒子は大きい粒子に比べて還元型グルタチオン(GSH)がより減少することやフリーラジカルを多く生じること、マクロファージによる食作用の抑制が大きいこと等が*in vivo*や*in vitro*の実験で明らかになっている。CB粒子の吸入暴露実験においてもナノ粒子は大きな粒子に比べて血中の白血球やBAL液中の好中球の増加、ケモカインMIP-2のmRNAの発現増加等の炎症反応を引き起こしている¹¹⁾。Liら¹²⁾は、マウスのマクロファージやヒトの気管支上皮細胞の培養細胞に粒径画分別に採取した大気中微小粒子を添加した系で、100nm以下の粒子は大きい粒子に比べて酸化ストレスの誘導とミトコンドリアの障害を強く引き起こし、それらはナノ粒子の有機炭素や多環芳香族炭化水素の高い含有量と関連したことを報告している。以上のように、ナノ粒子は酸化ストレス及び前炎症性の応答を大きい粒子に比べて強く引き起こすことが明らかにされているが、その酸化ストレス発生のメカニズムは完全に解明されていない。粒子表面は反応性の酸素種のソースでもあり何等かの方法で多数の粒子又は大きな粒子表面積が酸化ストレスの増強と関

連していると考えられている¹³⁾。

3. あとがき

都市大気中のナノ粒子はその毒性・影響・性状・環境動態のいずれも未解明の部分が多く、また、肺のみならず全身への影響を持つ可能性がその体内動態から示唆されている。独立行政法人国立環境研究所では、2003年より自動車排出ガスに起因するナノ粒子の生体影響研究が開始され、その毒性・影響評価のみならずナノ粒子の物理的・化学的性状、ガスからの粒子化プロセス、発生条件、環境中の動態等に関する研究が進行中である。

一方、エレクトロニクスや医薬等への応用が期待される炭素などのナノ材料が脳などに蓄積して健康に悪影響を及ぼす可能性があるとして、2004年から米国環境保護庁のもとで12の機関がナノ材料の環境や健康への影響について共同研究を開始した。また、英国王立協会及び王立工学アカデミーは、2004年7月に「ナノサイエンスとナノテクノロジー：期待と不確実性」と題するナノテクノロジーに関する調査報告書を公開し、その中でナノテクノロジーの健康と環境への影響については、特にナノ粒子やナノチューブの製造過程における吸入や環境汚染が問題になるとして、安全性の事前の検討が必要であると政府に勧告している。今後、自動車由来ナノ粒子の健康影響評価と合わせて、ナノテクノロジーの産業化で最先端を走る日本でも、ナノ材料についての影響評価研究が必要となると考えられる。

文献

- 1) Kittelson, D.B. et al. (2002): Diesel aerosol sampling methodology -CRC E-43: Technical summary and conclusions. Coordinating Research Council, Alpharetta, GA. pp1-23.
- 2) Kittelson, D.B. (1998): Engines and nanoparticles: a review. *J. Aerosol Sci.*, 29:575-588.
- 3) Peters, A. et al. (1997): Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 155:1376-1387.
- 4) Wichmann H.E. et al. (2000): Daily mortality and fine and ultrafine particles in erfurt, germany part I: role of particle number and particle mass. *Res. Rep. Health Eff. Inst.*, 98:5-86.
- 5) ICRP (1994): Human respiratory tract model for radiological protection. *Ann. ICRP*, 24(1-3), ICRP publication 66.
- 6) Ferin, J. et al. (1992): Pulmonary retention of ultrafine

- and fine particles in rats. Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., 6:535-542.
- 7) Oberdörster, G. et al. (1992): Role of the alveolar macrophage in lung injury: studies with ultrafine particles. Environ. Health Perspect., 97:193-199.
- 8) Oberdörster, G. et al. (2002): Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. J. Toxicol. Environ. Health A, 65:1531-1543.
- 9) Oberdörster, G. et al. (2004): Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. Inhal. Toxicol., 16:437-445.
- 10) Li, X.Y., et al. (1999): Short-term inflammatory responses following intratracheal instillation of fine and ultrafine carbon black in rats. Inhal. Toxicol., 11:709-731.
- 11) Gilmour, P.S., et al. (2004): Pulmonary and systemic effects of short-term inhalation exposure to ultrafine carbon black particles. Toxicol. Appl. Pharmacol., 195:35-44.
- 12) Li, N. et al. (2003): Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. Environ. Health Perspect., 111:455-460.
- 13) Donaldson, K. and Stone, V. (2003): Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles. Ann. Ist. Super Sanita, 39:405-410.

「免疫毒性試験プロトコール」第8回

Non-RI Local lymph node assay
(Non-RI LLNA) 法 (BrdU法)

武吉 正博 (財団法人化学物質評価研究機構)

A. 解説

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いるため、短期間に化学物質の感作性を推定できる新しい皮膚感作性試験法である。しかし、³H-thymidine等の放射性化合物 (RI) を使用しなければならず、特殊な実施施設を必要とし、放射能汚染、廃棄物処理の問題など実施上種々の制約を有する。今回、³H-thymidine の代わりにBromodeoxyuridine (BrdU) を用

いることにより放射性化合物を使用しないLLNAの変法 (Non-RI LLNA法) について概説すると共に本法を用いた化学物質の感作性強度推定法について紹介する。BrdUはDNAを構成する塩基のひとつであるthymidineの類似物質であり、³H-thymidineと同様に動物実験或いは*in vitro*実験において細胞増殖に伴ってDNAに取り込ませ、標識することができる。また、DNAに取り込まれたBrdUは酵素免疫測定法 (ELISA法) によって定量することが可能である。Non-RI LLNA法 (BrdU法) はLLNA標準法 (RI法) における³H-thymidine投与をBrdU投与に、液体シンチレーションカウンタによる放射活性測定をELISA法による比色定量に置き換えたものであり、その原理は標準法に極めて近い。本法とLLNA標準法 (RI法) とのConcordance (一致率) は極めて高く、モルモットを用いた皮膚感作性試験成績との相関性も高い³⁾。さらに我々は化学物質のヒトにおける感作性強度を再現性良く推定する方法としてLLNA相対比較法⁴⁾を開発した。本法はヒトにおける感作性強度が既知の化学物質を比較対照物質として用い、比較対照物質と同濃度に調製した被験化学物質の反応との間で相対比較を行うことにより感作性強度を推定するものである。LLNA相対比較法を実施することにより、化学物質の感作性強度を迅速且つ効率的に分類・評価し、ヒトに対する感作性リスクを予想することが可能となる。本法は今後、感作性物質の評価において有用な方法論になるものと思われる。

B. 実験材料及び方法

実施方法の概略を図1に示す。

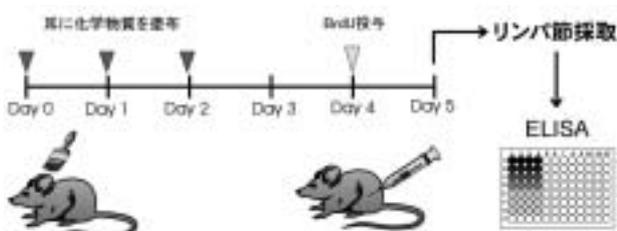


図1 Non-RI LLNAの概略

1. 動物

雌性マウス、8-12週令のCBA/Ca或いはCBA/Jマウスが推奨されている。

日本国内ではCBA/Caは入手が困難であり、我々はCBA/JNを使用している。免疫学実験に汎用されているBALB/cAnN、Closed colonyのCD-1及びCBA/JNを用いて感作性物質として知られている*p*-Benzoquinoneに対する応答性を比較した結果、CBA/JNが最も応答性が高いことが確認されている⁵⁾ (図2)。

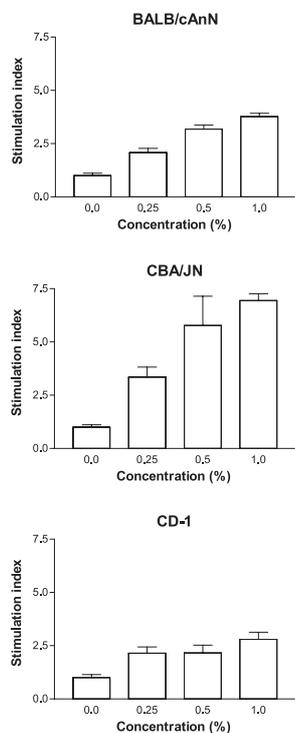


図2 p-Benzoquinone (pBQ) に対するマウスの応答差

2. 化学物質の調製

化学物質の調製にはいくつかの媒体が推奨されている。最も一般的に使われるものはアセトン・オリーブ油混液 (v/v=4:1, AOO) であるが、他にN,N-dimethylformamide (DMF), methyl ethyl ketone (MEK), propylene glycol (PG), dimethylsulfoxide (DMSO) などを使用することができる。化学物質は必ずしも溶解している必要はないが、用量依存性が確認可能な濃度域で複数の用量段階を設けることが望ましい。

3. 対照群

化学物質調製に用いた媒体のみを投与する陰性対照群と試験系の感受性を確認するための陽性対照群を設けることが望ましい。我々の開発したLLNA相対比較法⁴⁾では比較対照物質として2% 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB), 10% isoeugenol, 50% -hexylcinnamic aldehyde (HCA) の3物質を用いることにより、被験物質のヒトにおける感作性強度を推定することが可能である。

4. 感作

毎日ほぼ一定の時刻に、マウスの両耳介にマイクロピペッター等を用いて1耳介当たり25 µlを塗布する。感作は初日をDay 0としてDay 2までの3日間連続塗布する。

5. BrdUの投与

最終感作の2日後 (Day 4) にBrdU生理食塩液溶液 (10mg/ml) を1匹当たり0.5ml腹腔内投与する。

6. リンパ節の採取

BrdU投与の翌日 (Day 5) に動物を安楽死させた後、頸部を切開し耳の直下にある耳介リンパ節を採取する。採取したリンパ節は直ぐに測定しない場合は-20℃以下で保存可能であり、採材日以降に解凍して測定に供することも出来る。

7. BrdU取り込み量の測定

耳介リンパ節を1匹分毎にマイクロチューブ内で少量の生理食塩液と共にすりつぶし、セルストレーナ (FALCON 2350) で濾過した後、最終的に15mlの生理食塩液に分散する。この細胞分散液の0.1mlをマイクロプレートに移しBrdU取り込み量の測定に供する。測定には市販のBrdU測定キット (ベーリンガー・マンハイム社製のCell Proliferation ELISA, BrdU colorimetric kit, Cat. No.1647 229等) を用いる。

8. 判定方法

対照群 (媒体のみ投与) のBrdU取り込み量に対して化学物質を投与した群の取り込み量の比をStimulation index (SI) と呼んでおり、OECD TG429⁶⁾やUS-EPAの皮膚感作性ガイドライン⁷⁾では実験を行ったいずれかの濃度においてSI値は3倍以上を示した場合に感作性陽性と判定することとしている。LLNA相対比較法⁴⁾ではそれぞれ同一濃度に調製した比較対照物質と被験物質との間でSI値を統計的に比較し、表1の基準によって化学物質のヒトにおける感作性強度を推定する。

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., 2004b)

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

C. 相対比較法の実施例

LLNA相対比較法⁴⁾は感作性強度が既知のヒト感作性物質を比較対照物質として用い、被験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% -hexylcinnamaldehyde (HCA、弱感作性物質、Human class 3)の感作性強度の異なる3種類の物質を用いる。表2に示すヒトに対する感作性強度が既知の化学物質^{*)}を図3のスキームに従ってNon-RI LLNAを実施し、感作性強度の推定を行った。

10%調製液によるスクリーニング実験(図4)では

表2 Non-RI LLNA相対比較法による感作性強度推定結果

化学物質	感作性強度分類**	相対比較法による感作性強度分類
dinitrochlorobenzene (DNCB)*	1	1
diphenylcyclopropanone	1	1
p-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)⁹⁾.

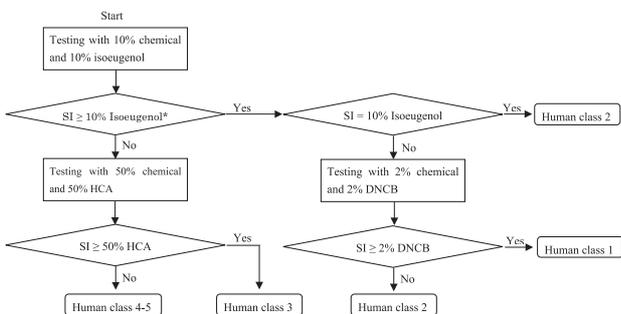


図3 Non-RI LLNA相対比較法による効率的感作性強度推定手順(実施例)

*: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などによって判断する。
 HCA: -hexylcinnamaldehyde, DNCB: 2,4-dinitrochlorobenzene.

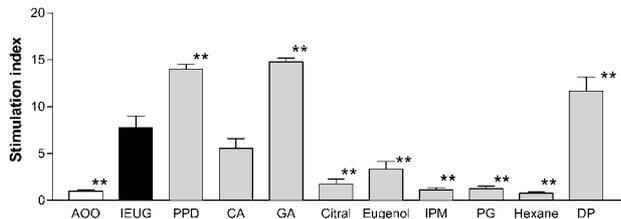


図4 10%調製液によるスクリーニング実験の結果

** : 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); IEUG, isoeugenol; PPD, p-phenylenediamine; CA, cinnamaldehyde; GA, glutaraldehyde; IPM, isopropyl myristate; PG, propyleneglycol; DP, diphenylcyclopropanone.

cinnamic aldehydeのみが比較対照物質との比較において統計的差異を認めなかったことから isoeugenol と同等の human class 2 と判定され、isoeugenol と比較して明らかに強い反応を示した p-phenylenediamine などの3物質は2%調製液による確認実験、isoeugenol と比較して明らかに弱い反応を示した citral などの5物質は50%調製液での確認試験に処された。2%調製液による確認実験の結果(図5)、DNCB と同等の反応を示した diphenylcyclopropanone は Human class 1、DNCB よりも明らかに弱い反応を示した p-phenylenediamine と glutaraldehyde は Human class 2 に分類され、50%調製液による確認実験の結果(図6) HCA と同等或いはそれ以上の反応を示した citral、eugenol、isopropyl myristate は Human class 3、HCA よりも明らかに弱い反応を示した propylene glycol と hexane は Human class 4-5 と判定され、殆どの化合物は報告されている感作性強度に分類された(表2)。

このように LLNA 相対比較法を実施することにより、化学物質をその感作性強度に従って正しく分類すること

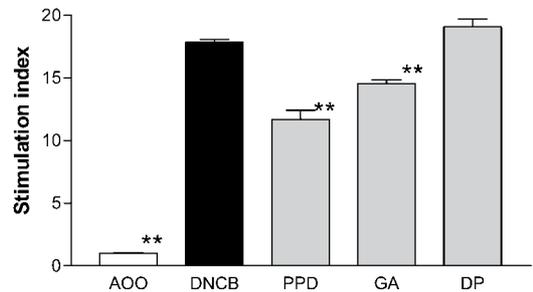


図5 2%調製液による確認実験の結果

** : 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); DNCB: 2,4-dinitrochlorobenzene; PPD, p-phenylenediamine; GA, glutaraldehyde; DP, diphenylcyclopropanone.

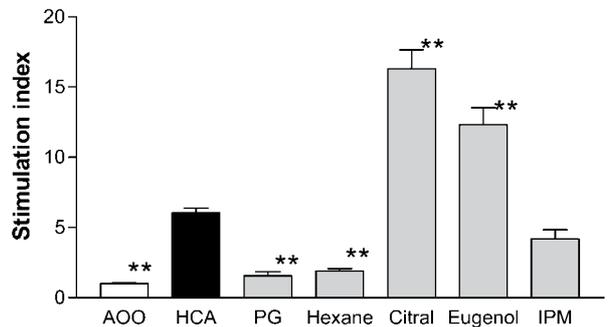


図6 50%調製液による確認実験の結果

** : 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); HCA: -hexylcinnamaldehyde; PG, propyleneglycol; IPM, isopropyl myristate.

が可能である。また、比較対照物質は試験系の内標準として機能するため、再現性にも優れており、本法は化学物質の感作性を迅速且つ効率的に分類、評価する方法として極めて有用な方法である。

D . 参考文献

- 1) Kimber, I., Dearman, R.J., Scholes, E.W., Basketter, D.A. (1994). The local lymph node assay: developments and applications, *Toxicology*, 93, 13-31.
- 2) Takeyoshi M, Yamasaki K, Yakabe Y, Takatsuki M, Kimber I. (2001) Development of non-radio isotopic endpoint of murine local lymph node assay based on 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) incorporation. *Toxicol Lett.* 119(3):203-8.
- 3) Takeyoshi M, Noda S, Yamazaki S, Kakishima H, Yamasaki K, Kimber I. (2004a) Assessment of the skin sensitization potency of eugenol and its dimers using a non-radioisotopic modification of the local lymph node assay. *J Appl Toxicol.* 24(1):77-81.
- 4) Takeyoshi M, Iida K, Shiraishi K, Hoshuyama S. (2004b) Novel approach for classifying dermal sensitizing potency of chemicals with non-radioisotopic modification of local lymph node assay, *J Applied Toxicol.* (*In press*)
- 5) Takeyoshi, M., Noda, S., Yamasaki, K. (2004c) Differences in responsiveness of mouse strain against *p*-benzoquinone by non-radioisotopic murine local lymph node assay. *Exp. Anim.* 53, 171-173
- 6) Organization for Economic Corporation and Development (OECD, 2002). *Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay, TG-429 (Adopted: 24th April 2002)*, Paris
- 7) Environmental Protection Agency (EPA, 2003), *Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.2600 Skin Sensitization*, Washington DC
- 8) Basketter DA, Blaikie L, Dearman RJ, Kimber I, Ryan CA, Gerberick GF, Harvey P, Evans P, White IR, Rycroft RJ. (2000) Use of the local lymph node assay for the estimation of relative contact allergenic potency. *Contact Dermatitis.* 42, 344-348

お知らせ (1)

ImmunoTox Letterのホームページへの移行

日本免疫毒性学会のホームページ (HP) の開設が行われました。場所は <http://immtox.com/> です。それに伴いまして、今後のImmunoTox Letterは原則的にHPからpdfファイルをダウンロードして頂くこととなります。事務局での印刷は、保管のためやHPアクセスできない会員のために少量の部数を印刷する予定です。限られた学会運営費の中で、印刷費および郵送費を軽減して、その予算でHPの充実を図るのが目的です。以前のImmunoTox Letterのバックナンバーもダウンロード出来るように適宜していく予定です。また、今後のご連絡は、e-mailを利用して行う機会が増えます。会員の皆様におかれましては、以上の出版や連絡方法の変更に関するご理解をお願い申し上げます。しかし、種々の理由からImmunoTox Letterの郵送をご希望される方は、事務局までご連絡下さい。

まだまだHPの情報量が少なく物足りなく思われるかもしれませんが、これから皆さんの情報および意見の交換の場として更新をどんどん進めていきたいと思っております。更新し続けることが、HPの命ですので、皆さんからの投稿を大いに期待しております。また、Free Talkへの書き込みもよろしくようお願い申し上げます。ご意見をどんどん集約して、HPを改造していきたいと考えております。また、HP委員会に参加して頂ける会員を募集致しております。是非、若い会員の方も活発にご参加して下さいをお待ちしてお折ります。

日本免疫毒性学会事務局 香山不二雄

お知らせ (2)

低濃度揮発性化学物質の生体影響に関するワークショップ

日時：平成17年1月24日 (月)

場所：独立行政法人国立環境研究所温暖化棟会議室
(茨城県つくば市小野川16-2)

目的：微量な化学物質による汚染が社会的な問題になりつつあり、科学的知見の集積が急がれています。そのような状況の中、低濃度揮発性化学物質の免疫毒性も含めた生体影響に関する新たな知見、問題点、及び今後の展開を探るためにワークショップを企画しました。

プログラム

12:30 - 13:00 集合、受付

13:00 - 13:10 理事長開会挨拶

第1セッション - 揮発性化学物質の現状 - 濃度・測定技術

13:10 - 13:30 大気中の揮発性物質濃度
(武蔵野大学 安藤正典)

13:30 - 13:50 室内における揮発性物質の測定
(国立環境研究所 中島大介)

13:50 - 14:10 新たな測定技術
(産業医科大学 嵐谷奎一)

14:10 - 14:20 討論

特別講演 遺伝要因への影響探索のための新たな試み

14:20 - 15:00 京都大学大学院 白川太郎

第2セッション - ヒトへの影響研究

15:00 - 15:20 過敏症と個人曝露
(東京大学大学院 柳沢幸雄)

15:20 - 15:40 過敏症と臨床(北里大学 坂部 貢)

15:40 - 16:00 過敏症と疫学
(京都大学大学院 内山巖雄)

16:00 - 16:20 討論

16:20 - 16:40 コーヒータイム

第3セッション - 実験動物での影響研究

16:40 - 17:00 揮発性物質と免疫機能
(国立環境研究所 藤巻秀和)

17:00 - 17:20 揮発性物質と嗅覚機能
(東京都神経科学総合研究所 市川眞澄)

17:20 - 17:40 揮発性物質と脳神経
(大阪府立大学大学院 佐々木文彦)

17:40 - 18:00 討論

18:00 - 18:10 閉会挨拶

参加費は無料ですが、参加を希望される方はメールでの事前登録(氏名、所属、電話番号)を下記までお願いいたします。

申し込みおよび問い合わせ先:

山元 (snyamamo@nies.go.jp) or

藤巻 (fujimaki@nies.go.jp)

世話人: 独立行政法人国立環境研究所

(藤巻秀和、後藤純雄)

編集後記

動物の嗅覚システムの解明で、今年のノーベル医学生理学賞がRichard Axel教授と Linda Buck教授に贈られた。最初に日本語で聞いたニュースでは、アクセル教授とバック教授で、車の前方と後方への動きを制御するまさにぴったりのコンビに驚いた。残念ながら、車のアクセルは、Acceleratorの略であり、バックはBackであるが。

日本免疫毒性学会のホームページがやっと本格的に動き出し、会員の皆様により多くの新しい情報が提供できると信じております。それに伴い、編集委員にも新たな会員に加わっていただき個性的なImmunoTox Letterに変身する予定です。来年もよろしくお願ひ申し上げます。

(HF記)



編集・発行: 日本免疫毒性学会

発行日: 平成16年12月

編集発行責任者: 大沢 基保

編集委員会: 香山不二雄、中村 和市、
牧 栄二、藤巻 秀和

原稿送付先: fujimaki@nies.go.jp