

- 姚 醒蕾, 堤 康央, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作 : 各種酸化チタンの起炎性評価及びそのメカニズム解析., 日本薬学会 第 129 年回, 京都 (京都), 2009 年 3 月.
19. 仲里泰太郎, 吉川友章, 鍋師裕美, 松山恵吾, 有森亮裕, 磯部将彰, 阿部康弘, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : 非結晶性ナノシリカの物性と有害性発現との連関評価., 日本薬学会 第 129 年回, 京都 (京都), 2009 年 3 月.
20. 長谷崎拓也, 田中一成, 磯田勝広, 近藤昌夫, 角田慎一, 堤 康央, 八木清仁 : 球状ナノシリカ粒子の肝傷害性に対する表面荷電の影響., 日本薬学会 第 129 年回, 京都 (京都), 2009 年 3 月.
21. 長谷崎拓也, 田中一成, 磯田勝広, 近藤昌夫, 角田慎一, 堤 康央, 八木清仁 : 球状シリカ粒子の肝傷害性に及ぼす粒子径の影響., 日本薬学会 第 129 年回, 京都 (京都), 2009 年 3 月.
22. 西森 光, 磯田勝広, 近藤昌夫, 角田慎一, 堤 康央, 八木清仁 : ナノシリカ粒子と化学物質の併用によるナノマテリアルの安全性評価., 日本薬学会 第 129 年回, 京都 (京都), 2009 年 3 月.
23. 鍋師裕美, 吉川友章, 仲里泰太郎, 松山恵吾, 吉岡靖雄, 阿部康弘, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : 食品添加物としてのナノシリカの物性と生体影響の連関解析., 日本食品衛生学会第 97 回学術講演会, 中央区 (東京), 2009 年 5 月.
24. 松山恵吾, 吉川友章, 鍋師裕美, 仲里泰太郎, 吉岡靖雄, 阿部康弘, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : 化粧品素材としての非結晶性ナノシリカの皮膚細胞に対する遺伝毒性評価と安全確保に向けて., 第 34 回日本化粧品学会, 港区 (東京), 2009 年 6 月.
25. 山下浩平, 吉岡靖雄, 東阪和馬, 萱室裕之, 吉田徳幸, 阿部康弘, 吉川友章, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : 非結晶性ナノシリカの生殖発生毒性に関する検討., 日本先天異常学会第 49 回学術集会, 鹿児島 (鹿児島), 2009 年 6 月.
26. 鍋師裕美, 吉川友章, 仲里泰太郎, 松山恵吾, 今澤孝喜, 吉岡靖雄, 阿部康弘, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : ナノシリカの in vitro 安全性評価における血清蛋白質の作用の解析., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
27. 松山恵吾, 吉川友章, 鍋師裕美, 仲里泰太郎, 吉岡靖雄, 今澤孝喜, 阿部康弘, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : 非結晶性ナノシリカの皮膚細胞に対する遺伝毒性作用., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
28. 仲里泰太郎, 吉川友章, 鍋師裕美, 松山恵吾, 吉岡靖雄, 今澤孝喜, 阿部康弘, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : 非結晶性ナノシリカの表面物性と有害性発現との連関評価., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
29. 山下浩平, 吉岡靖雄, 東阪和馬, 萱室裕之, 吉田徳幸, 阿部康弘, 吉川友章, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : 非結晶性ナノシリカの生殖発生毒性に関する検討., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
30. 東阪和馬, 吉岡靖雄, 山下浩平, 萱室裕之, 吉田徳幸, 阿部康弘, 吉川友章, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央 : カーボンナノチューブの発癌リスクに関する基礎的検討., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
31. 吉岡靖雄, 森重智弘, 田辺 綾, 堤 康央, 河合裕一, 眞弓忠範, 向 洋平, 岡田直貴,

- 中川晋作: 非結晶性シリカの粒子特性と起炎性の連関評価., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
32. 稲倉 裕, 吉岡靖雄, 森重智弘, 田辺 綾, 堤 康央, 河合裕一, 眞弓忠範, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 各種酸化チタンの起炎性評価とそのメカニズム解析., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
33. 森重智弘, 吉岡靖雄, 田辺 綾, 堤 康央, 室井正志, 棚元憲一, 河合裕一, 眞弓忠範, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 非結晶性ナノシリカの自然免疫抑制作用に関する検討., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
34. 今澤孝喜, 有森亮裕, 磯部将彰, 鍋師裕美, 物部容子, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルのマウスにおける細胞内局在性に関する研究., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡 (岩手), 2009 年 7 月.
35. 角田慎一, 吉川友章, 鍋師裕美, 赤瀬貴憲, 長野一也, 阿部康弘, 吉岡靖雄, 今澤孝喜, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作, 堤 康央: ナノマテリアルの安全確保に向けて-1 ナノマテリアルの経皮吸収性・体内動態と急性毒性・肝毒性., 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会, 函館 (北海道), 2009 年 10 月.
36. 吉川友章, 鍋師裕美, 平井敏郎, 長野一也, 阿部康弘, 吉岡靖雄, 角田慎一, 近藤昌夫, 八木清仁, 堤 康央: ナノマテリアルの安全確保に向けて-2 ナノマテリアルの相互作用解析と急性毒性・肝毒性機構の追求., 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会, 函館 (北海道), 2009 年 10 月.
37. 阿部康弘, 吉川友章, 鍋師裕美, 松山恵吾, 近藤小百合, 長野一也, 吉岡靖雄, 今澤孝喜, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルの安全確保に向けて-3 ナノマテリアルの細胞内動態と遺伝毒性., 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会, 函館 (北海道), 2009 年 10 月.
38. 吉岡靖雄, 森重智弘, 吉田徳幸, 稲倉 裕, 藤村真穂, 鍋師裕美, 阿部康弘, 長野一也, 吉川友章, 今澤孝喜, 角田慎一, 向 洋平, 岡田直貴, 堤 康央, 中川晋作: ナノマテリアルの安全確保に向けて-4 ナノマテリアルの動態特性と免疫毒性., 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会, 函館 (北海道), 2009 年 10 月.
39. 長野一也, 吉岡靖雄, 山下浩平, 東阪和馬, 森下裕貴, 鍋師裕美, 阿部康弘, 吉川友章, 角田慎一, 齊藤 滋, 河合裕一, 眞弓忠範, 堤 康央: ナノマテリアルの安全確保に向けて-5 ナノマテリアルの動態特性と生殖発生毒性., 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会, 函館 (北海道), 2009 年 10 月.
40. 鍋師裕美, 吉川友章, 仲里泰太郎, 栃木彩恵子, 長野一也, 阿部康弘, 吉岡靖雄, 今澤孝喜, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルの安全確保に向けて-6 表面修飾ナノシリカの安全性評価と安全なナノマテリアルの開発支援., 第 98 回日本食品衛生学会学術講演会, 函館 (北海道), 2009 年 10 月.
41. 吉川友章, 鍋師裕美, 仲里泰太郎, 松山恵吾, 栃木彩恵子, 近藤小百合, 平井敏郎, 伊藤徳夫, 堤 康央: 薬学領域におけるナノマテリアルの安全性確保研究 ~ナノマテリアルの体内相互作用解析と安全性との連関追求~, 第 59 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 東大阪 (大阪), 2009 年 10 月.
42. 山下浩平, 吉岡靖雄, 東阪和馬, 森下裕貴, 吉田徳幸, 藤村真穂, 鍋師裕美, 長野一也, 阿部康弘, 吉川友章, 鎌田春彦, 伊藤徳夫, 眞弓忠範, 角田慎一, 堤 康央: 安全確保に向けた非晶質ナノシリカの生殖発生毒性に関する検討., ファーマバイオフォーラム 2009, 名古屋 (愛知), 2009 年 11 月.
43. 鍋師裕美, 吉川友章, 松山恵吾, 仲里泰太郎, 栃木彩恵子, 近藤小百合, 平井敏郎, 赤瀬貴

憲, 長野一也, 阿部康弘, 吉岡靖雄, 鎌田春彦, 今澤孝喜, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルの物性-動態-安全性の連関追求と健康確保に向けて., 大阪大学大学院 G P 健康環境リスクマネージメント専門家育成シンポジウム, 大阪(大阪), 2010年3月.

44. 李 相儒, 渡利彰浩, 近藤昌夫, 堤 康央, 八木清仁: ナノシリカ粒子と薬物との併用によるナノマテリアルの安全性評価., 日本薬学会 第 130 年会, 岡山(岡山), 2010年3月
45. 平井敏郎, 吉川友章, 鍋師裕美, 仲里泰太郎, 松山恵吾, 栃木彩恵子, 近藤小百合, 赤瀬貴憲, 長野一也, 阿部康弘, 吉岡靖雄, 鎌田春彦, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: 樹状細胞を標的としたナノシリカの経皮安全性評価., 日本薬学会 第 130 年会, 岡山(岡山), 2010年3月.
46. 栃木彩恵子, 吉川友章, 鍋師裕美, 仲里泰太郎, 松山恵吾, 平井敏郎, 近藤小百合, 赤瀬貴憲, 長野一也, 阿部康弘, 吉岡靖雄, 鎌田春彦, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: 血液凝固系に着目した非晶質ナノシリカの安全性評価., 日本薬学会 第 130 年会, 岡山(岡山), 2010年3月.
47. 吉川友章, 吉岡靖雄, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 今澤孝喜, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: ナノ含有食品の安全性確保および安全なナノ含有食品の開発に向けて-1: ナノマテリアルの粒子サイズと血液凝固系への影響., 日本食品衛生学会第 99 回学術講演会, 東京(東京), 2010年5月.
48. 吉岡靖雄, 吉川友章, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: ナノ含有食品の安全性確保および安全なナノ含有食品の開発に向けて-2: ナノマテリアルの表面電荷と免疫系への影響., 日本食品衛生学会第 99 回学術講演会, 東京(東京),

2010年5月.

国際学会発表

1. Tsunoda S., Nabeshi H., Yoshikawa T., Kamada H., Imazawa T., Tsutsumi Y.: Analysis of size-dependent biological behavior of silica nanoparticles by imaging and toxicoproteomics., 5th SETAC World Congress, Sydney (Australia), 3-7 August, 2008.
2. Yoshikawa T., Nabeshi H., Sugita T., Nagano K., Mukai Y., Yoshioka Y., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y.: Proteomics and imaging analysis for size-dependent biological behavior of silica-nanoparticles., HUPO 7th Annual World Congress Amsterdam 2008, Amsterdam (The Netherlands), 16 - 20 August, 2008.
3. Nabeshi H., Yoshikawa T., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y.: Imaging and proteomics analysis for studying size-dependent biological behavior of nanosilicas., Nanotoxicology - 2nd International Conference., Zurich (Switzerland), 7-10 September, 2008.
4. Yoshioka Y., Eto Y., Tanebe A., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S.: Effect of nanomaterials on the induction of autophagy., Nanotoxicology - 2nd International Conference., Zurich (Switzerland), 7-10 September, 2008
5. Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Arimori A., Isobe M., Imazawa T., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y.: Evaluation of size-dependent biological behavior of nano-silicas., Society of Toxicology 48th

- Annual Meeting & ToxExpo, Baltimore (U.S.A.), 15-19 March, 2009.
6. Yoshikawa T., Nabeshi H., Nakazato Y., Matsuyama K., Arimori A., Isobe M., Imazawa T., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y.: Influence of physicochemical properties of nano-silica particles on in vivo toxicity., Society of Toxicology 48th Annual Meeting & ToxExpo, Baltimore (U.S.A.), 15-19 March, 2009.
 7. Yoshioka Y., Tanabe A., Mukai Y., Okada N., Tsutsumi Y., Nakagawa S.: Nanosilicas with various surface potential induce the different profile of cytokine production on macrophage., Society of Toxicology 48th Annual Meeting & ToxExpo, Baltimore (U.S.A.), 15-19 March, 2009.
 8. Yoshikawa T., Nabeshi H., Matsuyama K., Nakazato Y., Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y., Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : In vitro nanotoxicological study of silica nanoparticles using dermal cell lines., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
 9. Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y., Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Evaluation of size-dependent acute toxicity and toxicokinetics of amorphous nanosilicas., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
 10. Matsuyama K., Yoshikawa T., Nabeshi H., Nakazato Y., Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y., Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Evaluation of size-dependent intracellular distribution and genotoxicity of amorphous nanosilicas in human keratinocytes., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
 11. Nakazato Y., Yoshikawa T., Nabeshi H., Matsuyama K., Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y., Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Differential acute toxicity and toxicokinetics of amorphous nanosilicas: The role of surface physicochemical properties., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
 12. Yoshioka Y., Morishige T., Tanabe A., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S. : Nanosilicas with different sizes and surface charges induce different profiles of cytokine production on macrophages., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
 13. Yagi K., Nishimori H., Kondoh M., Isoda K., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Hepatotoxicity of silica nanoparticles in mice., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
 14. Yamashita K., Yoshioka Y., Kayamuro H., Yoshida T., Higashisaka K., Abe Y., Yoshikawa T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Cancer hazard of carbon nanotubes: size/shape-dependent

- induction of DNA damage and inflammation., 2009 Annual Meeting of the Society for Leukocyte Biology, International Cytokine Society, & International Society for Interferon and Cytokine Research (Tri-Society), Lisbon (Portugal), 18-21 October, 2009.
15. Yoshioka Y., Morishige T., Inakura H, Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S. : Inflammatory responses of titanium dioxide with different size and properties., 49th Annual Meeting & ToxExpo (SOT2010), Salt Lake City, (USA), 7-10 March, 2010.

シンポジウム等

1. 堤 康央 : ナノマテリアルの経皮毒性に関するトキシコキネティクスおよびトキシコプロテオミクス等の融合による有害評価表・リスク予測法の開発., 第一回ナノマテリアルの安全性研究セミナー, 大阪, 2008年1月.
2. 堤 康央 : ナノマテリアルの医薬品への展開とリスク Overview.. 日本薬学会 第128年会, 横浜, 2008年3月.
3. 堤 康央 : 医薬品・化粧品中のナノマテリアルの安全性., 2008年度第四回大阪大学薬学部卒後研修会, 大阪, 2008年9月.
4. 堤 康央 : ナノマテリアルの社会受容の促進を目指した安全性研究., 第2回ナノシンポジウム「ナノ粒子テクノロジーの国際動向ーレギュレーションと安全性ー」, 東京, 2008年11月.
5. 堤 康央 : ナノマテリアルと流産., 第2回不育治療に関する再評価と新たなる治療法の開発に関する研究会., 東京, 2009年6月.
6. 角田慎一 : ナノシリカの物性とトキシコキネティクス., 第二回ナノマテリアルの安全性研究セミナー, 大阪, 2009年6月.
7. 吉岡靖雄 : ナノマテリアルの免疫攪乱作用に関する検討., 第二回ナノマテリアルの安全性研究セミナー, 大阪, 2009年6月.
8. 吉川友章 : ナノマテリアルと生体高分子との相互作用 NanoTox 評価における重要性~, 第二回ナノマテリアルの安全性研究セミナー, 大阪, 2009年6月.
9. 堤 康央 : ナノマテリアルの安全性確保を目指して., 第36回日本トキシコロジー学会学術年会, 岩手(盛岡), 2009年7月.
10. 堤 康央 : ナノマテリアルの安全確保に向けて., 日本化粧品工業連合会講演会, 東京, 2009年7月. 堤 康央 : ナノマテリアルの安全確保に向けて., 厚労省化学物質リスク研究事業意見交換会, 東京, 2009年8月.
11. 堤 康央 : ナノマテリアルの安全確保に向けた NanoTox 研究の最前線 (Overview) ., 日本薬学会第130年会, 岡山, 2010年3月.
12. 角田慎一 : ナノマテリアルの経皮吸収性・体内動態と急性毒性・肝毒性., 日本薬学会第130年会, 岡山, 2010年3月.
13. 吉川友章 : ナノマテリアルの相互作用解析と急性毒性・肝毒性機構の追求., 日本薬学会第130年会, 岡山, 2010年3月.
14. 阿部康弘 : ナノマテリアルの細胞内動態と遺伝毒性., 日本薬学会第130年会, 岡山, 2010年3月.
15. 吉岡靖雄 : ナノマテリアルの動態特性と免疫毒性., 日本薬学会第130年会, 岡山, 2010年3月.
16. 長野一也 : ナノマテリアルの動態特性と生殖発生毒性., 日本薬学会第130年会, 岡山, 2010年3月.
17. 吉岡靖雄 : ナノマテリアルの安全確保に向けた NanoTox 研究の最前線 (総括) ., 日本薬学会第130年会, 岡山, 2010年3月.
18. 吉岡靖雄, 堤 康央 : ナノマテリアルの安全性確保を目指して., 第80回日本衛生学会学術総会, 仙台, 2010年5月.

19. 堤 康央：安全なナノマテリアルの開発支援に向けた NanoTox 研究への取組., 平成 22 年度日本環境変異原学会公開シンポジウム., 東京, 2010 年 5 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

①特許取得

なし

②実用新案登録

③その他

なし

山下琢矢、赤瀬貴憲、東阪和馬、橋野のぶよ、物部容子、向洋平、森重智弘、渡辺光、松尾一彦、吉川舞、川合泰明、小島拓記、久保 貴、瀬戸正志、津森優希、齋場 雄貴、横田やよい、川端洋輝、姚 醒蕾、成松翔伍、稲倉裕、近藤昌夫、磯田勝広、角谷秀樹、吉田猛史、高橋梓、松久幸司、河原倫之、佐伯理恵、斎藤郁美子、松下恭平、山本芙美、鈴木英彦、李相儒

I. 研究協力者

平成 19 年度

吉川 友章、鍋師 裕美、杉田 敏樹、向 洋平、岡田 直貴、亀井 数正、吉川 舞、小島 拓記、磯田勝広、西森光、衛藤祐介

平成 20 年度

鎌田春彦、吉川友章、阿部康弘、山根美紀、鍋師裕美、伊藤徳夫、今井 直、野村鉄也、長野一也、萱室裕之、小野寺章、岡村賢孝、仲里泰太郎、松山恵吾、山下浩平、吉田徳幸、荻田郁弥、東阪和馬、栃木彩恵子、渡邊貴信、藤村真穂、有田修平、山下琢矢、赤瀬貴憲、東阪和馬、中西亮介、磯部将彰、有森亮裕、橋野のぶよ、物部容子、向洋平、岡田直貴、森重智弘、渡辺光、松尾一彦、田辺綾、石井裕美子、吉川舞、川合泰明、小島拓記、久保貴、瀬戸正志、津森優希、齋場 雄貴、免山智行、横田やよい、川端洋輝、姚 醒蕾、成松翔伍、稲倉裕、近藤昌夫、磯田勝広、長谷崎拓也、田中一成、角谷秀樹、吉田猛史、高橋梓、松久幸司、河原倫之、佐伯理恵、斎藤郁美子、松下恭平、山本芙美、鈴木英彦、李相儒

平成 21 年度

鎌田春彦、吉川友章、阿部康弘、山根美紀、鍋師裕美、伊藤徳夫、今井 直、野村鉄也、長野一也、萱室裕之、小野寺章、岡村賢孝、仲里泰太郎、松山恵吾、山下浩平、吉田徳幸、荻田郁弥、東阪和馬、栃木彩恵子、渡邊貴信、藤村真穂、有田修平、

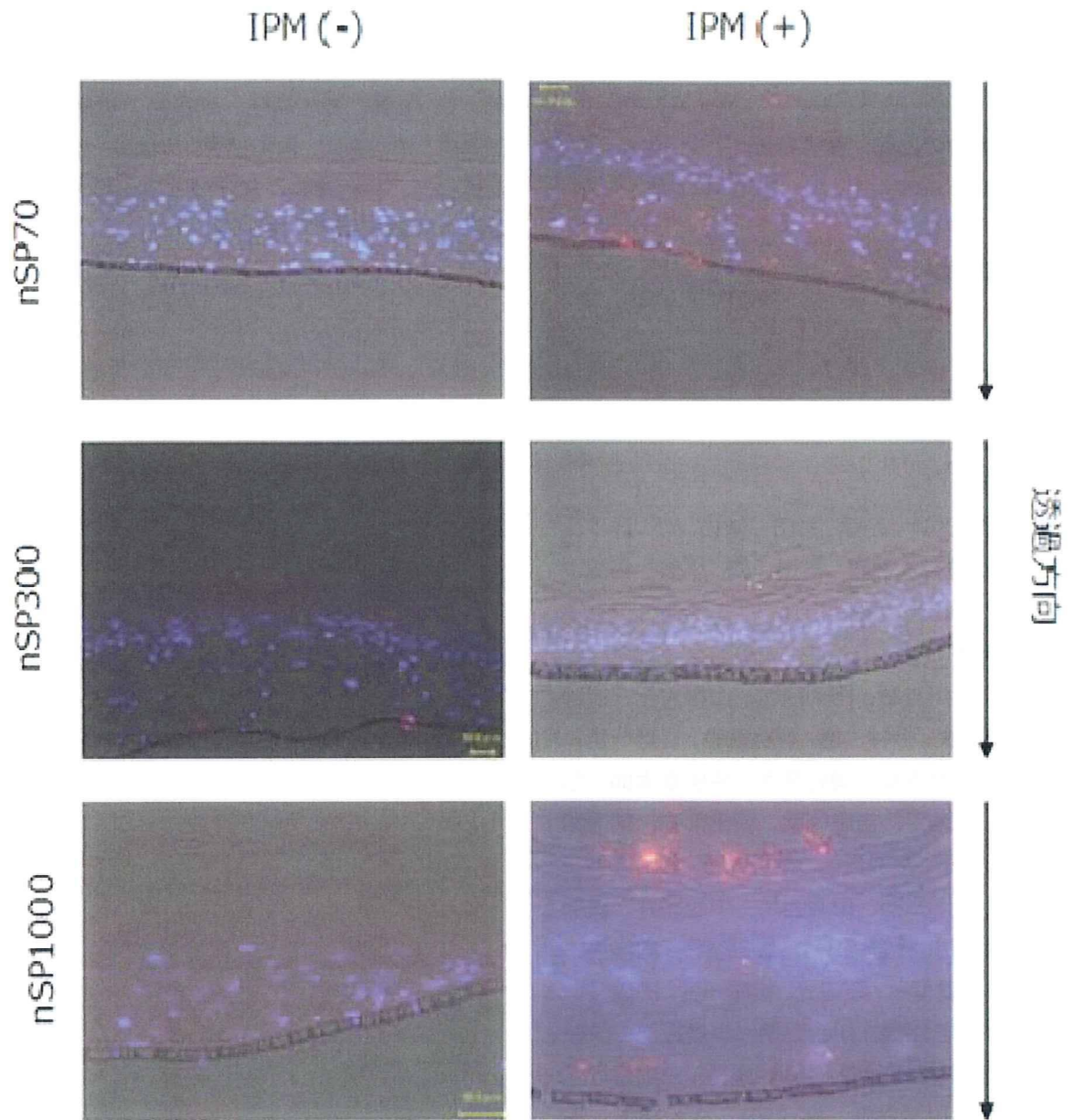


図 1. ヒト三次元培養皮膚を用いたナノシリカの皮膚透過実験。

nSP70, nSP300, nSP1000 をそのまま、あるいは、終濃度 5%の化粧/医薬品用エステル油剤（ミリスチン酸イソプロピル：IPM）を含む溶液で懸濁し、25 mg/ml に調整した溶液をヒト三次元培養皮膚上へと添加した。9 時間後、ヒト三次元培養皮膚の凍結切片を作製し、nSP の有する赤色蛍光を指標にその皮膚内局在を評価した。赤：nSP、青：核（DAPI）。

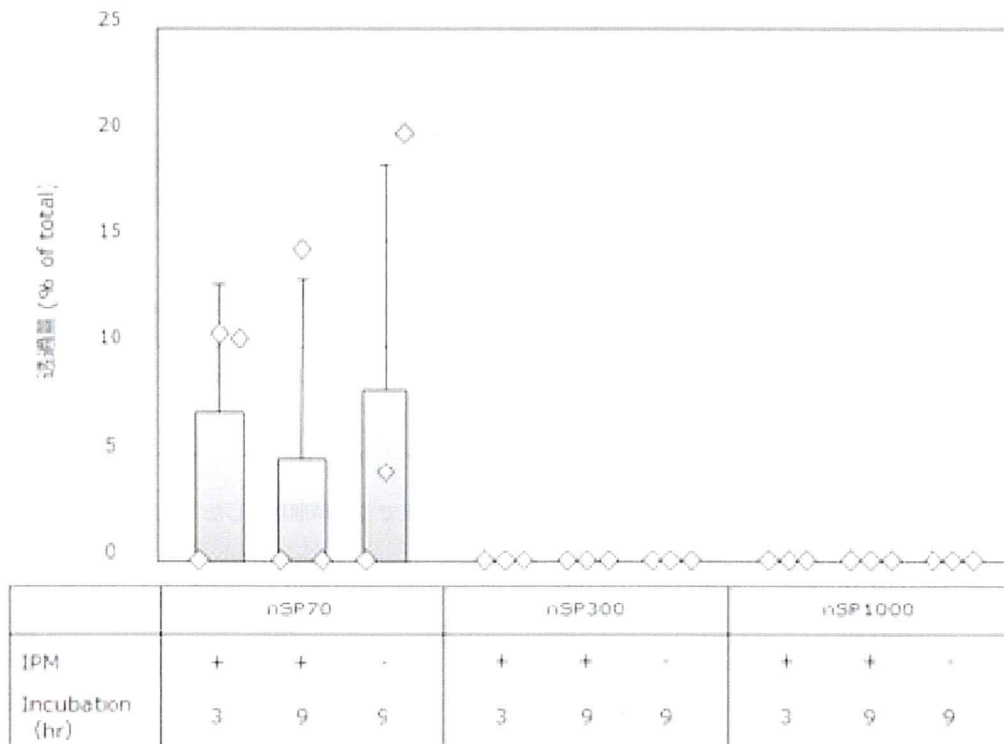
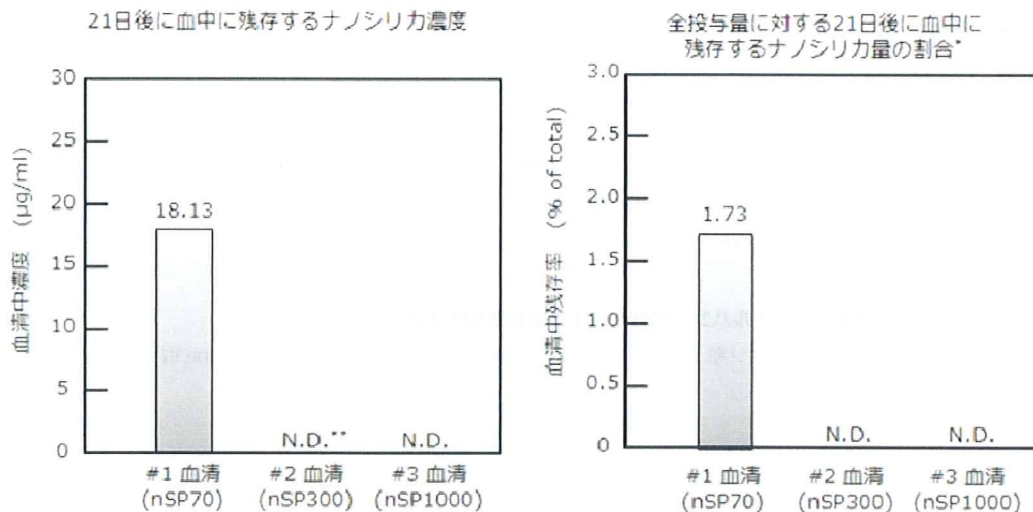


図 2. ナノシリカのヒト三次元培養皮膚透過量の定量.

nSP70, nSP300, nSP1000 をそのまま、あるいは、終濃度 5% の IPM を含む溶液で懸濁し、25 mg/ml に調整した溶液をヒト三次元培養皮膚上へと添加した。9 時間後、チャンバー下部溶液中の蛍光強度を測定することで、各種 nSP のヒト三次元培養皮膚透過性を評価した。



* ブタの全血清量は1.0Lと概算した, ** N.D.: Not Detectable

図 3. ブタ皮膚に塗布した nSP の血中移行量の定量.

nSP70, nSP300, nSP1000 を終濃度 5% の IPM を含む溶液で懸濁し、25 mg/ml に調整した溶液を、系統間三元交雑豚の耳の内側に 1 日間隔 21 日間連続塗布した。その後、ブタより血清を回収し、血清中の蛍光強度を指標に nSP の血中移行量を定量した。

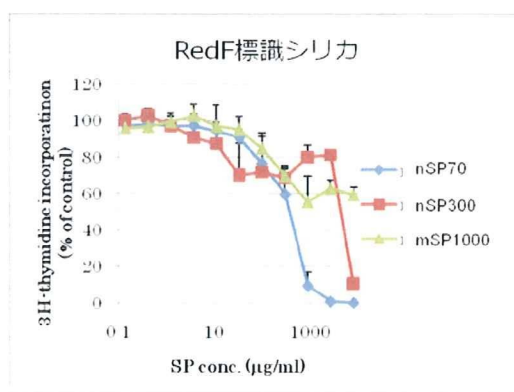
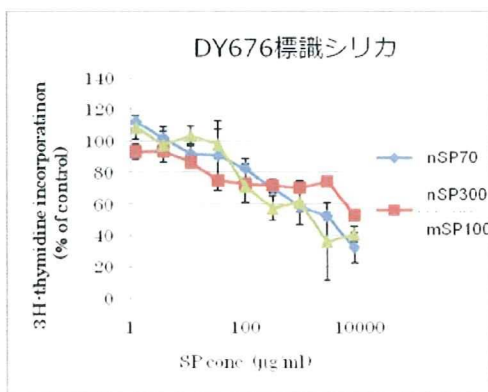


図4 シリカナノ粒子の角化細胞に対する細胞傷害性評価

各種粒径の red-F 標識シリカあるいは DY676 標識シリカ存在下で 24 時間培養した HaCaT 細胞の ³H-thymidine 取り込みを測定した。

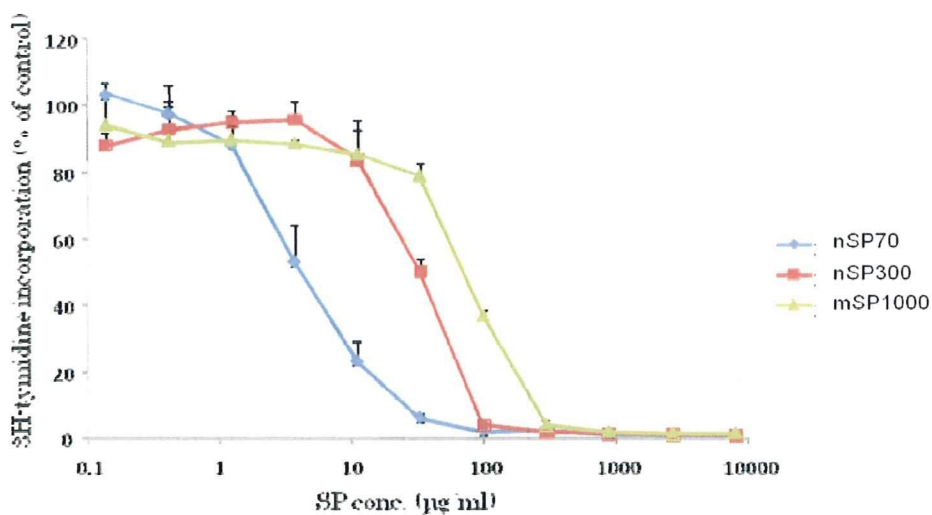


図5 シリカナノ粒子のランゲルハンス細胞に対する細胞傷害性評価

各種粒径の red-F 標識シリカナノ粒子存在下で 24 時間培養した XS52 細胞の ³H-thymidine 取り込みを測定した。

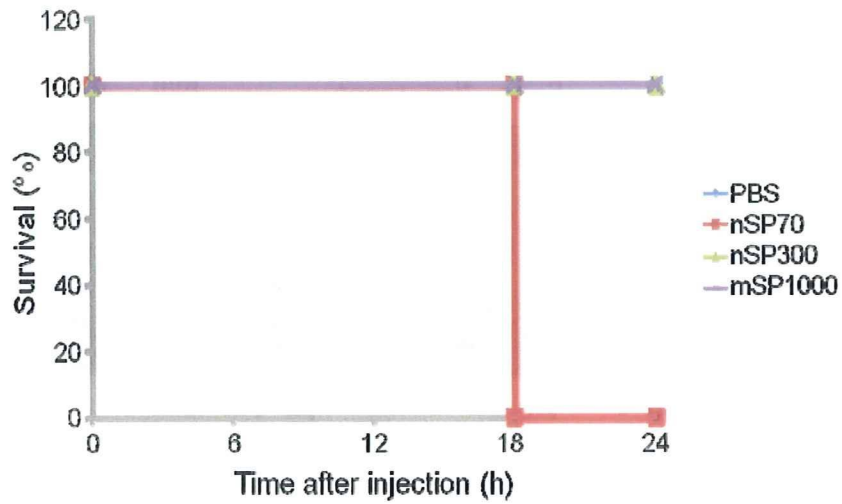


図 6 in vivo におけるシリカナノ粒子の急性毒性

各粒子径の red-F 標識シリカナノ粒子を 2.0mg/mouse で尾静脈投与後、各観察時間における生存率を示した。観察時間は投与後 0,6,18,24 hr。

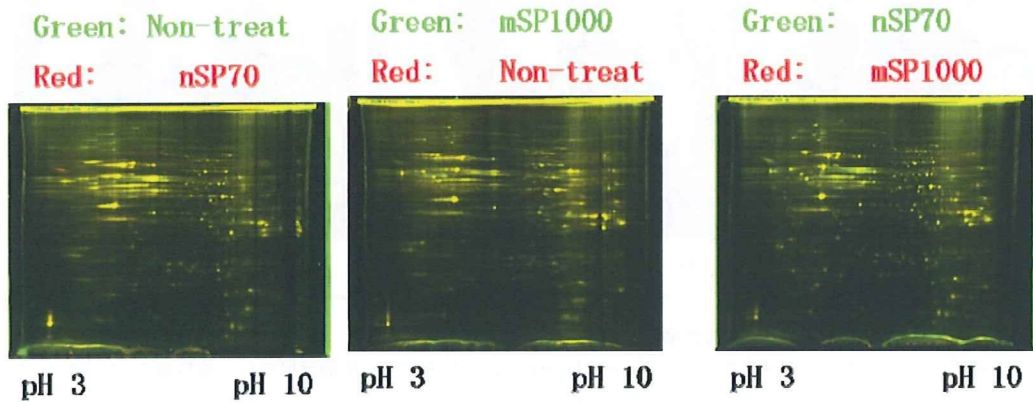


図 7. 2D-DIGE によるシリカナノ粒子のトキシコプロテオーム解析

HaCaT 細胞を 70nm 又は 1000nm の未標識シリカナノ粒子 100 μ g/ml 存在下で 24hr 培養後、細胞溶解液(whole cell lysate)を作製した。シリカナノ粒子未処理および、シリカナノ粒子処理細胞溶解液 50 μ g をそれぞれ cy3 および cy5 で標識し、それらを混合して 2 次元電気泳動を行った。

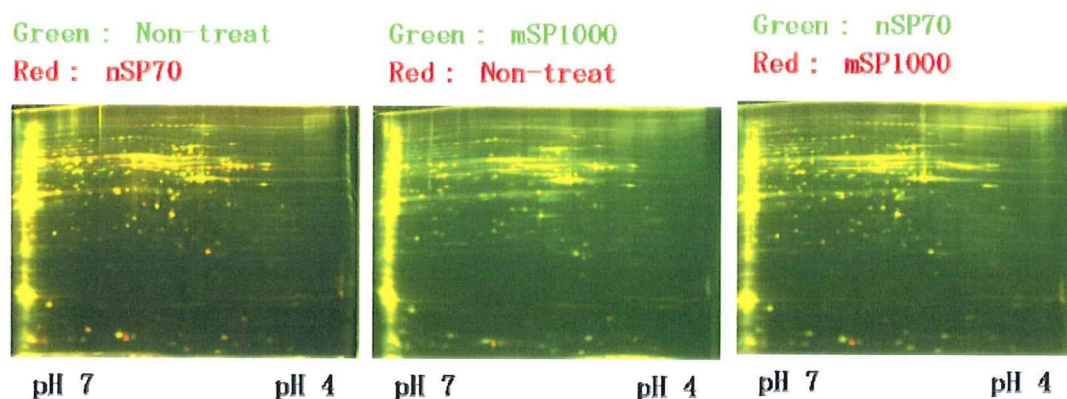


図8. オルガネラ（核）レベルでのシリカナノ粒子のトキシコプロテオーム

HaCaT 細胞を 70nm 又は 1000nm の red-F 標識シリカナノ粒子 100 μ g/ml 存在下で 24hr 培養後、その細胞溶解液から核を分画しサンプルとした。シリカナノ粒子未処理およびシリカナノ粒子処理細胞の核画分サンプル 50 μ g をそれぞれ cy3 および cy5 で標識し、それらを混合して 2 次元電気泳動を行った。

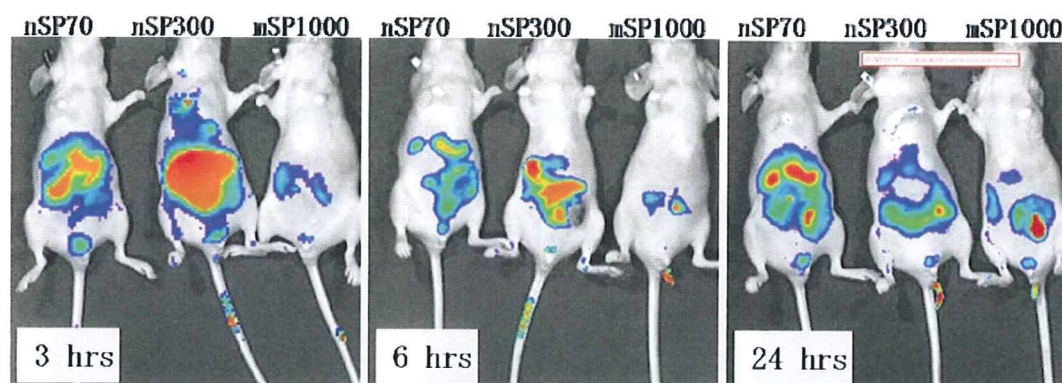


図9. In vivo imaging によるナノマテリアルの挙動解析

各粒子径の DY676 ラベルシリカナノ粒子を約 7×10^{10} particle/mouse となるように尾静脈投与し、投与後 3, 6, 24 hr の粒子の挙動を in vivo imager (Xenogen IVIS 200 imaging system)にて撮影した。

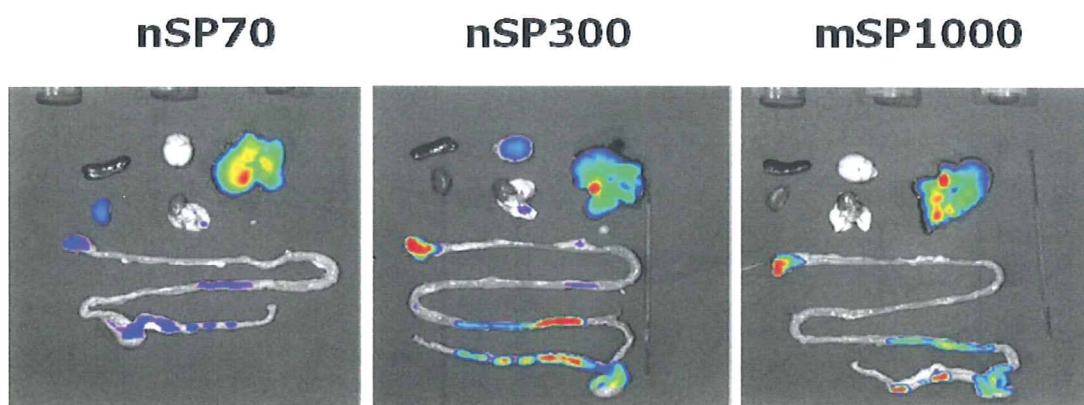


図 10. ex vivo imaging 解析 (24hr)

各粒子径の DY676 ラベルシリカナノ粒子を約 7×10^{10} particle/mouse となるように尾静脈投与し、投与後 24hr の粒子の各組織への集積を ex vivo にて撮影した。

	カタログ値	Z-average D. (nm)	Peak Top D. (nm)	Zeta Potential (mV)
sicastar® non-labeled	70nm	77.7	85.3	-55.2
	300nm	322	336	-62.1
	1000nm	1140	896	-67.0
sicastar®-redF	70nm	82.8	88.4	-55.8
	300nm	354	371	-60.3
	1000nm	1400	800	-72.2
	70nm	66.1	74	-51.6
	300nm	350	367	-61.7
	1000nm	1290	1320	-81.1
sicastar®-F (DY-676)	70nm	101	113	-29.1
	300nm	317	349	-41.5
	1000nm	1270	875	-37.8

図 11. ZetaSizer によるシリカナノ粒子の粒径と表面電荷測定

各粒子径のシリカナノ粒子を蒸留水にて 100 倍に希釈し、粒子径を動的光散乱法にて、表面電荷(ゼータ電位)をレーザードップラ-電気泳動法にて測定した。

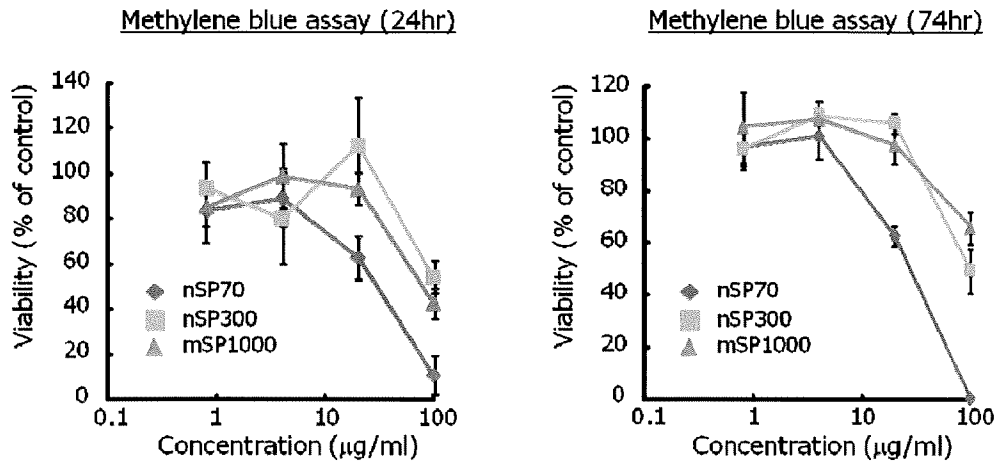


図12. 粒子径の異なるシリカ粒子のRAW264.7細胞に対する細胞傷害性評価. RAW264.7細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000を作用させた。24、74時間後にメチレンブルーアッセイにより細胞生存率を評価した。

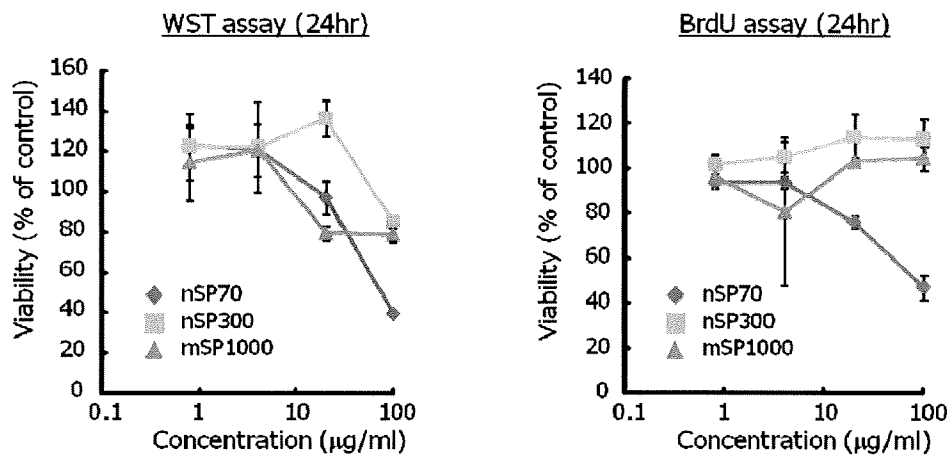


図13. 粒子径の異なるシリカ粒子のRAW264.7細胞に対する細胞傷害性評価. RAW264.7細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000を作用させた。24時間後にWSTアッセイおよびBrdUアッセイにより細胞生存率を評価した。

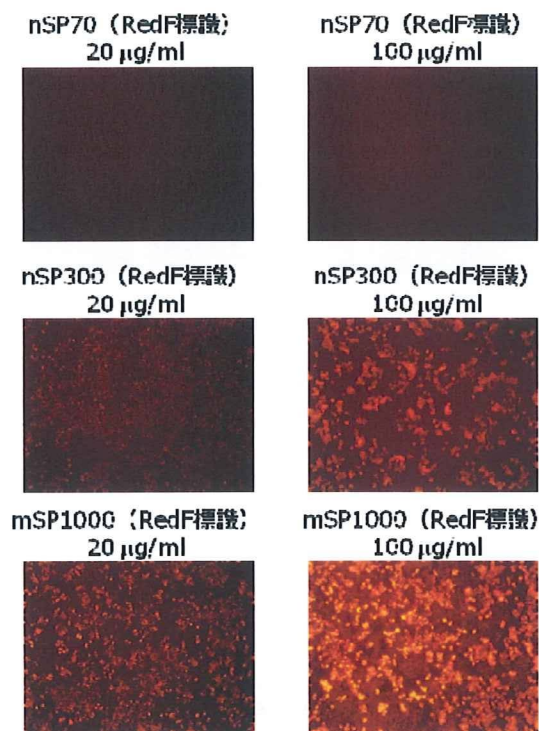
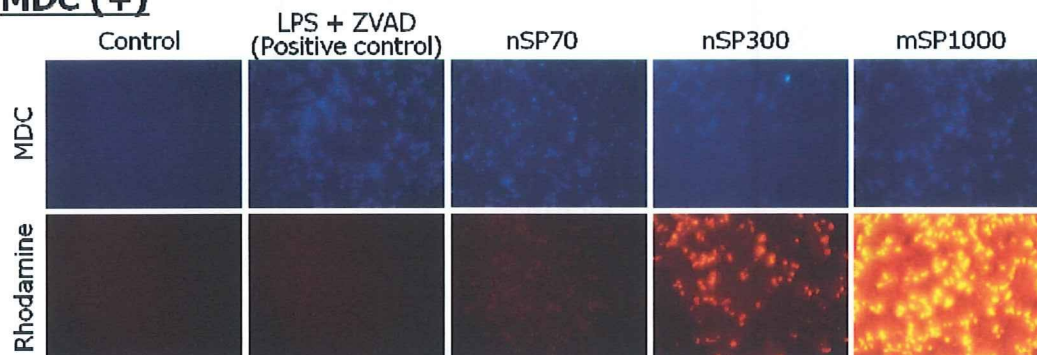


図14. 粒子径の異なるシリカ粒子の細胞内移行評価. RAW264.7細胞に対して種々の濃度のnSP70 (RedF標識)、nSP300 (RedF標識)、mSP1000 (RedF標識)を作用させた。24時間後に蛍光顕微鏡を用いて、細胞を観察した。

MDC (+)



MDC (-)

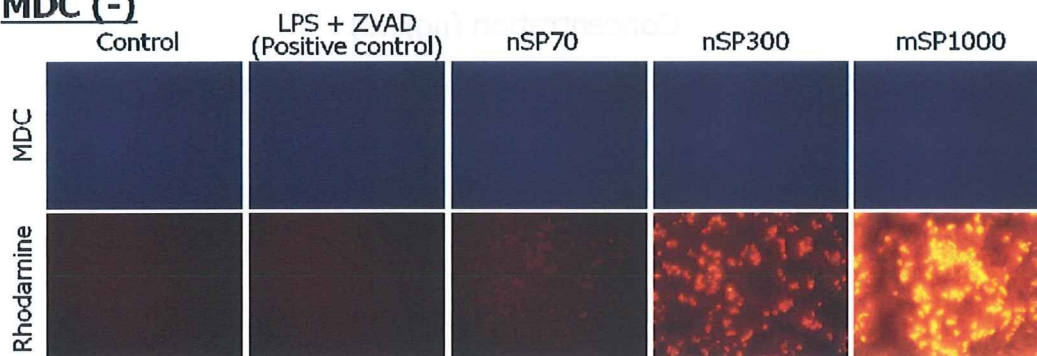


図15. MDC染色. RAW264.7細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000もしくは陽性コントロールとしてLPSとZVADを作用させた。8時間後にMDCで染色し、蛍光顕微鏡により観察した。

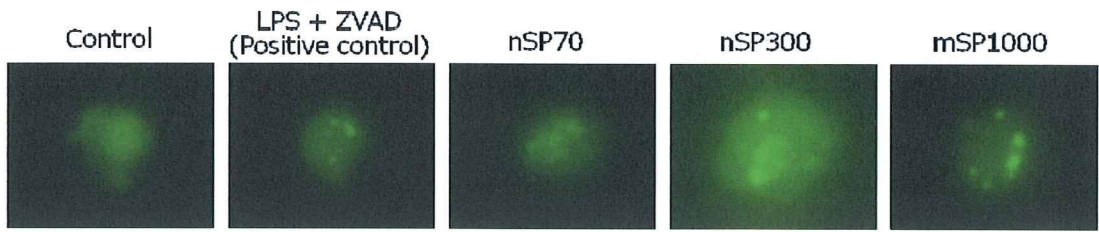


図16. SPのオートファジー誘導能評価. GFP融合LC3を発現するRAW264.7細胞に対して、nSP70、nSP300、mSP1000もしくは陽性コントロールとしてLPSとZVADを作用させた。12時間後に蛍光顕微鏡により観察した。

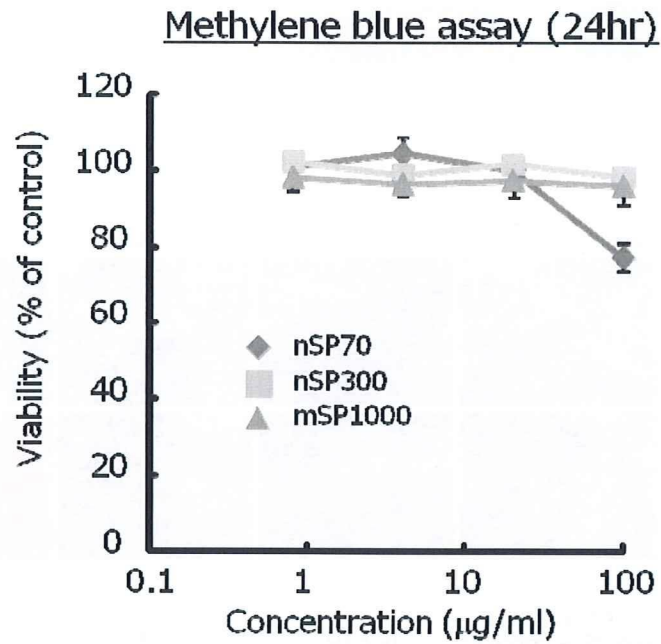


図17. 粒子径の異なるシリカ粒子のDC2.4細胞に対する細胞傷害性評価. DC2.4細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000を作用させた。24時間後にメチレンブルーアッセイにより細胞生存率を評価した。

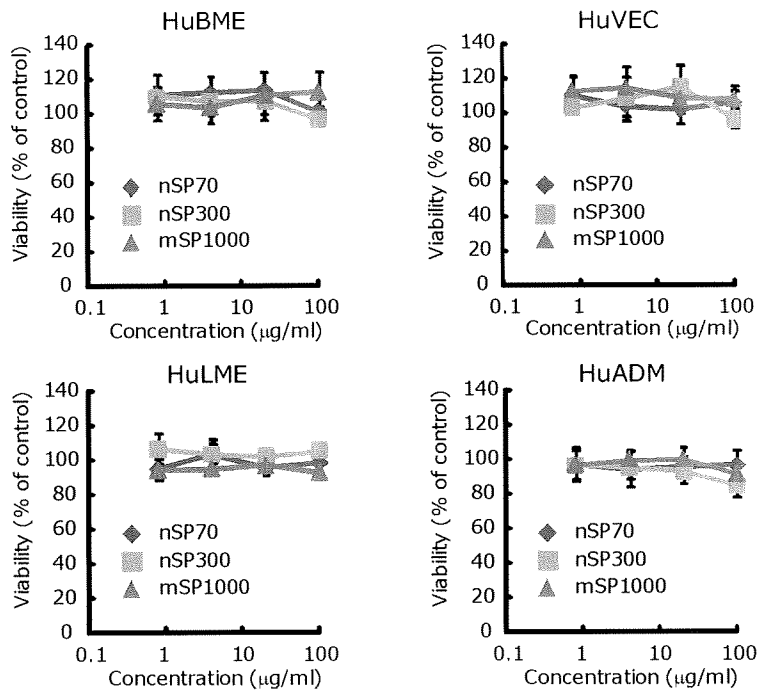


図18. 粒子径の異なるシリカ粒子の血管内皮細胞に対する細胞傷害性評価。4種類の血管内皮細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000を作用させた。24時間後にメチレンブルーアッセイにより細胞生存率を評価した。

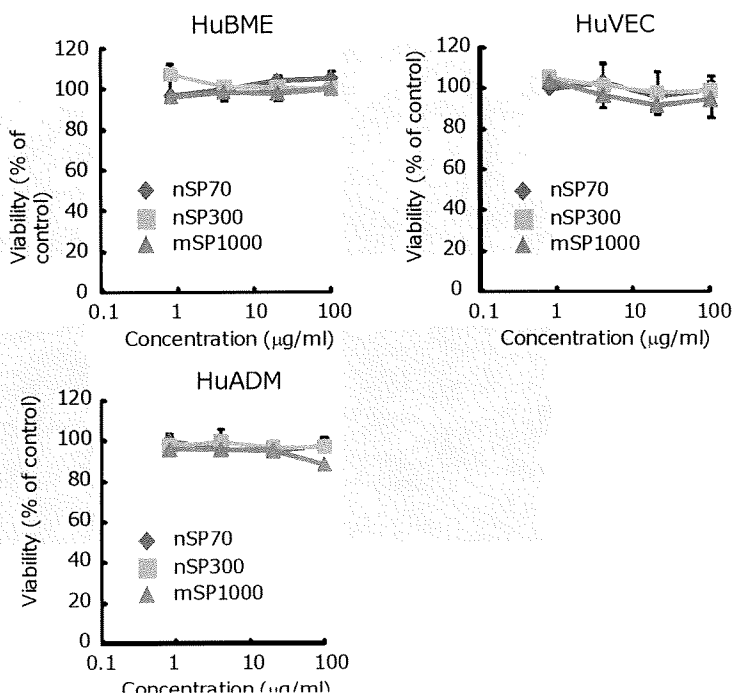


図19. 粒子径の異なるシリカ粒子の血管内皮細胞に対する細胞傷害性評価。3種類の血管内皮細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000を作用させた。72時間後にメチレンブルーアッセイにより細胞生存率を評価した。

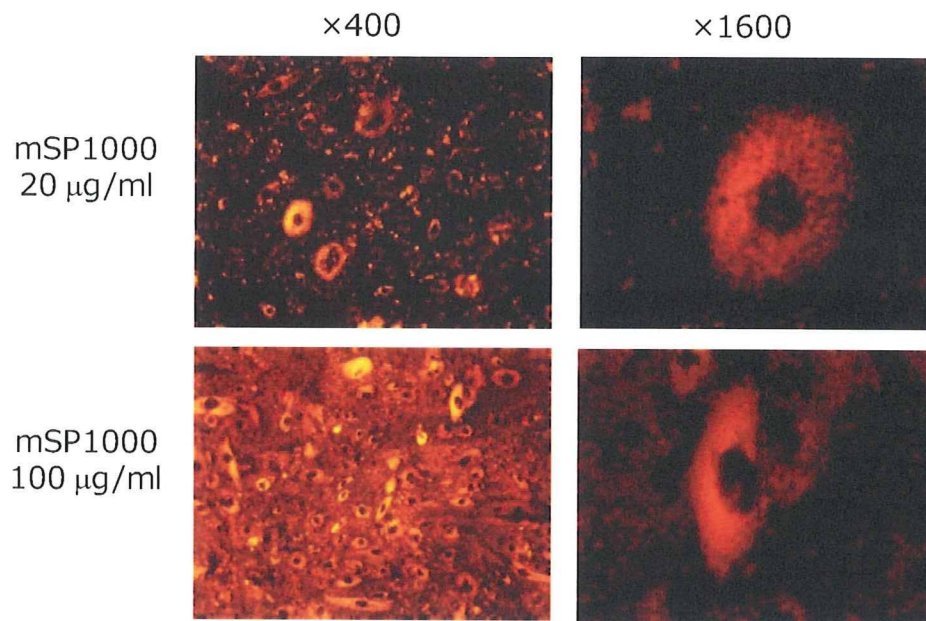


図20. mSP1000の細胞内移行評価.
HuBME細胞に対して種々の濃度のmSP1000 (RedF標識) を作用させた。24時間後に蛍光顕微鏡を用いて、細胞を観察した。

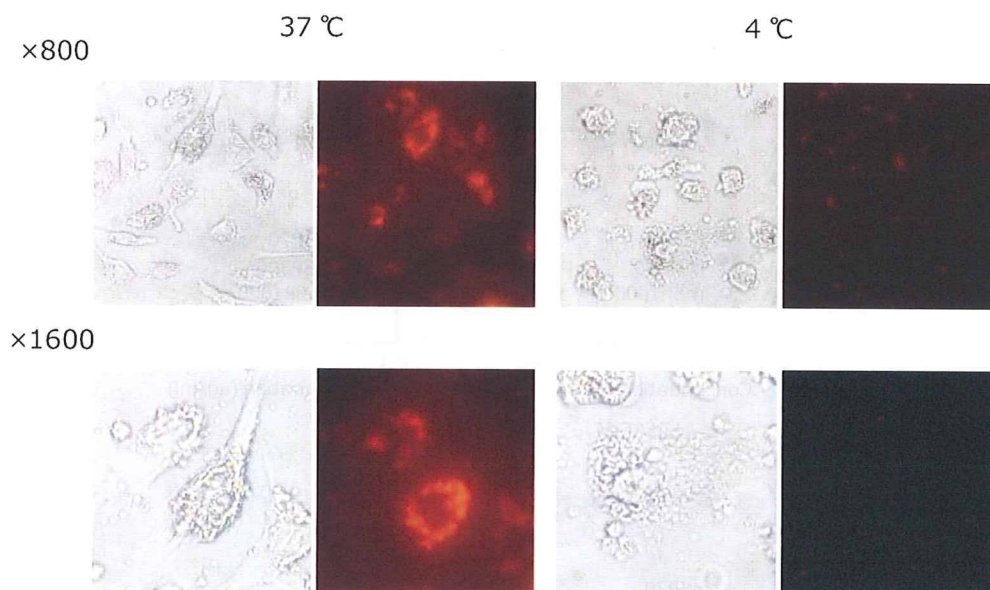


図21. mSP1000の細胞内移行評価.
HuBME細胞に対して、37度もしくは4度においてmSP1000 (RedF標識) を作用させた。8時間後に蛍光顕微鏡を用いて、細胞を観察した。

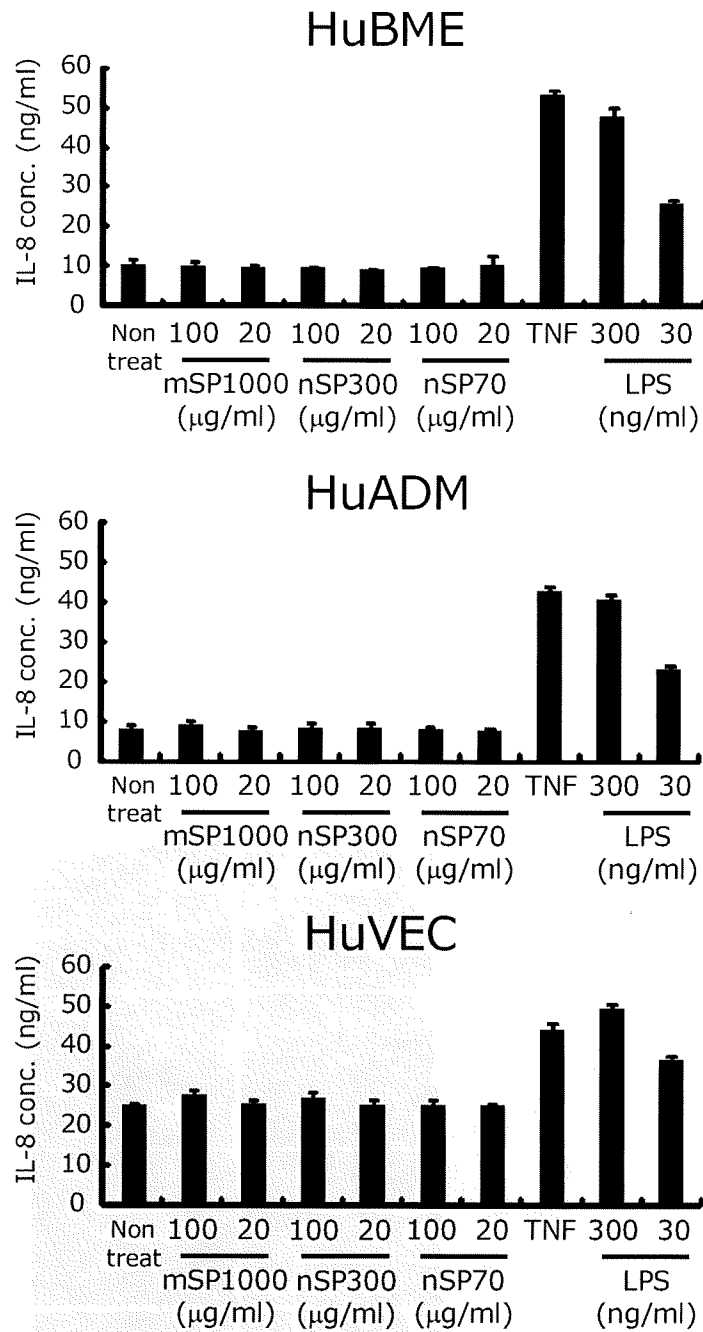


図22. 表面電荷の異なるシリカ粒子の血管内皮細胞に対するサイトカイン産生誘導能評価。
 3種類の血管内皮細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000を作用させた。24時間後に回収した培養上清中のIL-8の量をELISAを用いて測定した。

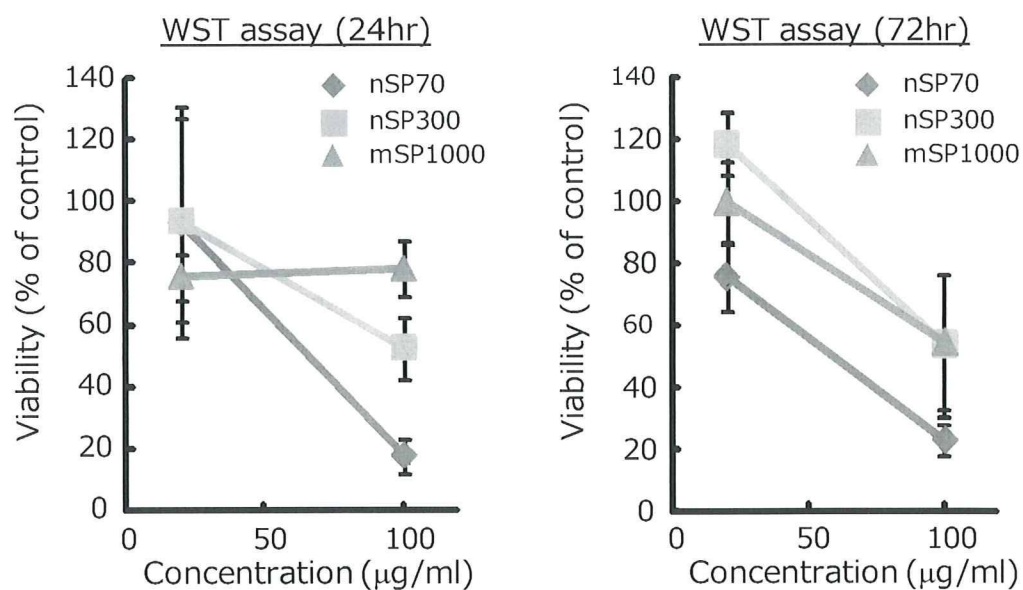


図23. 粒子径の異なるシリカ粒子の神経幹細胞に対する細胞傷害性評価。
 神経幹細胞に対して種々の濃度のnSP70、nSP300、mSP1000を作用させた。24、72時間後にWSTアッセイにより細胞生存率を評価した。

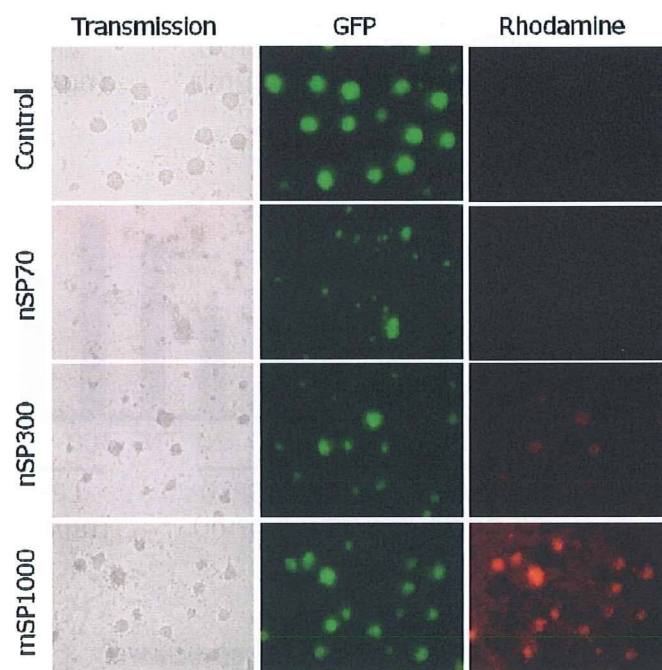


図24. SPの細胞内移行評価。
 神経幹細胞に対して、100µg/mlのnSP70 (RedF標識)、nSP300 (RedF標識)、mSP1000 (RedF標識)を作用させた。24時間後に蛍光顕微鏡を用いて、細胞を観察した。

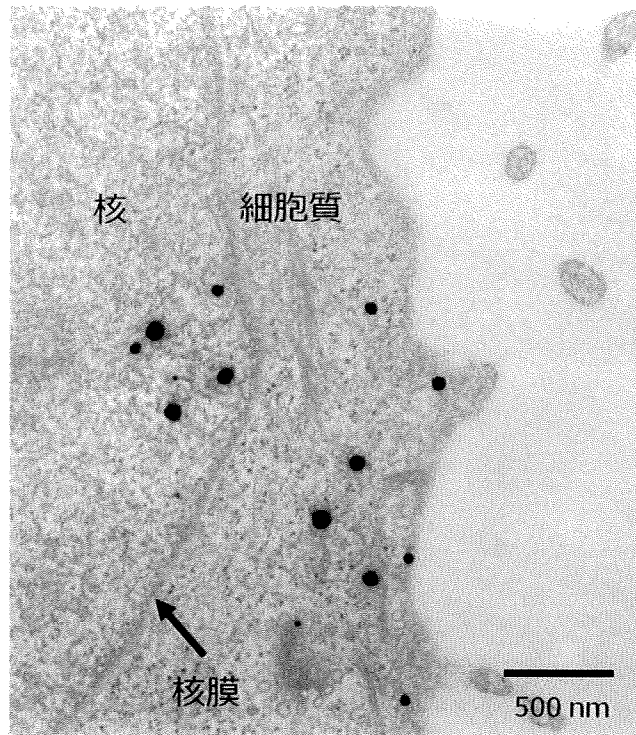


図 25-1. 培養細胞に nSP70 を 30 mg/ml 処置
細胞質および核内にナノシリカ（黒いドット）が侵入している

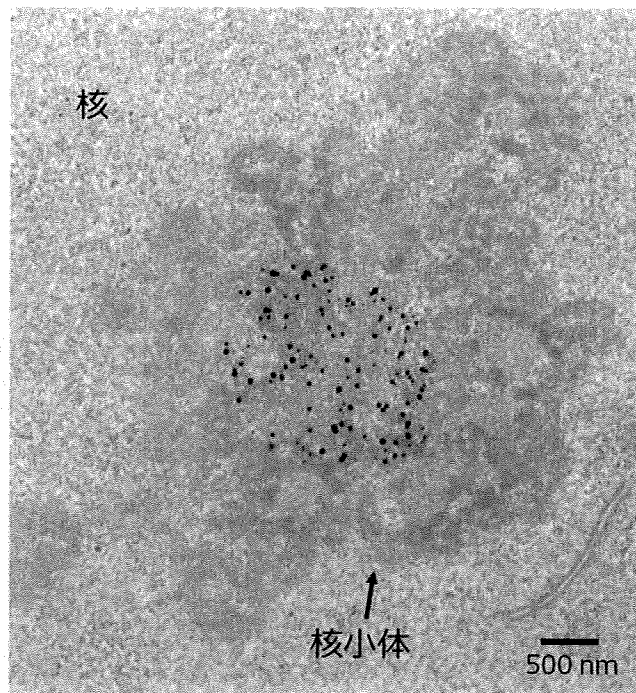


図 25-2 培養細胞に nSP70 を 100 mg/ml 処置
核小体内にナノシリカが侵入している