

分担研究報告書

ナノマテリアルの遺伝毒性及び発がん性に関する研究

分担研究者 市瀬孝道 大分看護科学大学 教授

研究要旨 カオリン、フラーレン、カーボンブラックの肺の発がん性について検討した結果、生存マウスの肺の総腫瘍発生率は対照群が 37.8%、そのうち悪性腫瘍が 21.6%であったのに対し、各粒子投与群の腫瘍発生率はそれらを上まわることはなかった。

各種ナノ素材微小粒子の肺腫瘍発生に関する研究

A. 研究目的

近年、化粧品や医薬品、各種商業用品等に珪素や炭素を含むナノマテリアルが多用されており、珪素素材のカオリンは化粧品のファンデーションに、炭素素材のフラーレンは化粧品を始め様々な用途に、また、無機炭素粒子のカーボンブラックはコピーのトナー等に用いられている。しかし、これらの発がん性については明らかではない。本研究では ICR 系雄マウスを用いて肺に対する発がん性を検討した。

B. 研究方法

カオリン、フラーレン、カーボンブラックを 0.05% Tween 80 含む生理食塩水に懸濁し、0.1mg と 0.3mg を ICR 雄マウスに 1ヶ月間隔で 5回（総投与量としてマウス当り 0.5mg と 1.5mg 量）気管内投与し、15-16ヶ月後の肺の腫瘍発生率を調べた。なお、対照群には 0.05% Tween 80 含む生理食塩水 0.1ml を投与した。

（倫理面への配慮）

ナノ素材微小粒子の取り扱いには十分に注意を払うと共に、粒子の動物への気管内投与時や屠殺時には麻酔剤を使用するなどして苦痛を与えないように配慮した。

C. 研究結果

15-16ヶ月後の生存率は、対照群：66%；カオリン 0.1mg と 0.3mg 群：48% と 42%；フラーレン 0.1mg と 0.3mg 群：74% と 54%；カーボンブラック 0.1mg と 0.3mg 群：62% と 68%であった。肺の総腫瘍発生率は、対照群：37.8%；カオリン 0.1mg と 0.3mg 群：35.7% と 16.7%；フラーレン 0.1mg と 0.3mg 群：23.1% と 20.7%；カーボンブラック 0.1mg と 0.3mg 群：28.1% と 21.1%であった。腫瘍の組織型は腺腫と腺癌であり、腺癌の発生率は対照群：21.6%；カオリン 0.1mg と 0.3mg 群：13.2%

と 14.3%；フラーレン 0.1mg と 0.3mg 群：20.5% と 17.2%；カーボンブラック 0.1mg と 0.3mg 群：21.6% と 18.8%であった。ナノマテリアル投与群の総腫瘍発生率、悪性腫瘍（腺癌）の発生率は対照群と比較すると増加することはなかった。

D. 考察

IARC Monograph Working Group はカーボンブラック (CB) と TiO_2 の発がん性に関して、マウスやハムスターにおいてはネガティブ、ラットにおいてはポジティブであり、ヒトにおいては疫学調査の結果からポジティブである可能性を報告している。ラットでは他に Quarts や amorphous SiO_2 においても発がん性が示唆されている。本試験の ICR マウスの生存率が低く、検査匹数は少なかったものの、CB の発がん性に対しては先行研究と同様にネガティブであった。また、カオリン粒子やフラーレンの発がん性に関してもネガティブであった。このような結果から、マウスはこれらのナノ素材粒子の発がん性に対して感受性が低い動物種と考えられる。今回試験したナノマテリアルのヒトに対する発がん性を明らかにするには、今後、ヒトに近い感受性を示すラットを用いた発がん実験を行う必要があると考えられる。

E. 結論

本試験の ICR マウスの生存率が低く、検査匹数は少なかったものの、CB の発がん性に対しては先行研究と同様にネガティブであった。また、カオリン粒子やフラーレンの発がん性に関してもネガティブであった。DEPをはじめ、CB, TiO_2 , Talc, Quarts や amorphous SiO_2 等の粒子の発がん性についてはラットにおいて指摘されている。

ことから、今後、ラットを用いた発がん実験が望まれる。

H. 研究発表

4. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3.その他

無し

ナノマテリアルの遺伝毒性及び発がん性に関する研究

分担研究報告書

ラットにおけるマグネタイトの急性毒性ならびに慢性毒性に関する研究

分担研究者 中江 大 東京都健康安全研究センター 惨事研究員

研究要旨：本研究は、厚生労働科学研究費補助金「化学物質リスク研究事業（ナノマテリアルの遺伝毒性及び発がん性に関する研究）」の一環として、磁性ナノ粒子マグネタイトの急性毒性及び慢性毒性について検索する目的で、ラットに被験物質を気管内スプレー投与するモデルを用い、単回投与による急性毒性試験を行うと共に、反復投与による慢性毒性試験を実施中である。マグネタイトは、化学的に安定で比較的大きな磁性を有することから、磁気記録媒体、磁性流体あるいは磁性トナーなど、様々な用途に広く利用され、また現在、医療やバイオテクノロジーの分野への応用展開が図られている。しかしながら、マグネタイトの安全性に関する情報は、ほとんどなく、早急に安全性評価を行うことが求められている。本研究における毒性試験は、医薬品毒性試験法ガイドラインに準じて実施し、東京都健康安全研究センターの動物飼育施設内のナノ物質取扱いエリアにおいて、ナノマテリアルの取扱いに関する、同センターの作業規定及び試験管理マニュアルに従って実施した。

急性毒性試験は、雌雄各20匹（各群5匹）のF344/DuCr1Cr1j系ラット（10週齢）に、マグネタイトを0（対照群）・5.0・15.0・45.0 mg/kg体重の用量で、スプレー投与器を用いて気管内に単回投与し、2週間後に血液学的・血清生化学的・病理学的検索を実施した。その結果、血液・血清生化学的検索では、マグネタイト投与による影響を認めなかった。病理学的検索において、肺の重量は、雌雄の投与群で投与用量に相関して増加し、雌雄の15.0及び45.0 mg/kg体重群で有意に増加した。解剖時の肉眼観察では、投与群ラットの肺にマグネタイトの広汎な沈着がみられ、用量相関性に肺の腫大が認められた。また、雌雄の投与群ラットのリンパ節は、灰色～淡黒色を呈し、マグネタイトのリンパ節への移行が示唆された。組織学的には、雌雄の投与群の肺において、肺胞腔内のマグネタイトの沈着と、マグネタイトを貪食した肺胞マクロファージの浸潤、また、II型肺胞上皮の腫大及び炎症細胞の浸潤を観察し、異物曝露に対する非特異的な局所の急性反応と評価できる変化が認められた。肝臓、腎臓及び心臓など他の器官においては、マグネタイトの投与に伴った変化を認めなかった。

慢性毒性試験は、最高用量を5.0 mg/kg体重/投与、公比を5として、0（対照群）・0.2・1.0・5.0 mg/kg体重/投与の4群を設定し、雌雄各60匹（各群15匹）のF344/DuCr1Cr1j系ラット（10週齢）に、マグネタイトをスプレー投与器を用いて4週間毎に1回気管内投与し、52週間（1年間、投与回数13回）後に血液学的・血清生化学的・病理学的・免疫組織学的検索を実施する計画で、現在6ヶ月間を経過して試験継続中である。

A. 研究目的

ナノマテリアルは、特有の物性を示すことから様々な分野で広範な活用が見込まれる画期的な新素材として注目され、積極的な研究開発が進められている。一方で近年、径 100 nm 以下の超微粒子（ナノ粒子）の健康影響が注目されている。しかしながら、ナノマテリアルや、それを含むナノ粒子の生体影響やヒトの生活環境における安全性に関する知見は、未だ十分な質・量を以て得られていない。ナノマテリアルが人々の生活利便性を飛躍的に向上させる可能性を秘めていることを考えれば、それらのヒトの健康に対するリスクを十分に評価し、適切に管理されることは、重

要かつ喫緊の課題である。

磁性ナノ粒子マグネタイト（以下、マグネタイト）は、超微粒子酸化鉄（マグネタイトナノ粒子）を主成分とし、化学的に安定で比較的大きな磁性を有することから、磁気記録媒体、磁性流体あるいは磁性トナーなど様々な用途に広く利用され、さらに、医療やバイオテクノロジーの分野への応用展開が図られている¹⁾。マグネタイトは、現在の日本においても、がんの温熱療法²⁻⁴⁾あるいは抗がん剤のキャリアー⁵⁾に利用されており、今後のさらなる活用が予想される。しかしながら、マグネタイトの安全性については、情報が限られており、早急に評価を行うことが求められている。本研究は、マグネタイトの急性毒性及び慢性毒性について検索する目的で、ラットに被験物質を気

管内スプレー投与するモデルを用い、単回投与による急性毒性試験を行うと共に、反復投与による慢性毒性試験を実施中である。

B. 試験方法

本研究における毒性試験は、可能な限り医薬品毒性試験法ガイドライン^{6, 7)}に準じて行った。気管内投与法に関しては、気道の毒性評価のための暴露技術としての気道内注入⁸⁾を参照した。試験は、当センターの動物飼育施設内のナノ物質取扱いエリアにおいて、ナノマテリアルの取扱いに関する、当センターの作業規定及び試験管理マニュアルに従い、当センター環境保健部生体影響研究科において、多田 幸恵 主任研究員の主導下に科員の協力により実施された。

1. 被験物質

被験物質は、戸田工業株式会社(広島)より供与されたマグネタイトを用いた。被験物質はエネルギー分散型 X 線分光分析装置 (Energy Dispersive X-ray Spectrometer : EDS) で、鉄及び酸素を検出し、それ以外の不純物(元素)を検出しなかった。

なお、ナノ粒子懸濁液による毒性試験では投与試料中のナノ粒子の分散状態が重要であると考え、本研究においては以下の通り被験物質の調製法を検討する予備試験を行った。

予備試験の第1は、媒体について検討する目的で、生理食塩水 (pH 7.0)・0.05% tween 80 添加生理食塩水 (pH 7.3)・0.1 M トリス緩衝液 (pH 8.0)・0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) (pH 8.2)・0.1 M リン酸緩衝液 (pH 8.1) あるいは超純水 (Milli-Q) を媒体候補として選定し、それぞれにマグネタイト粉末を 0.3%の濃度で懸濁させ、超音波ホモジナイザーUH-50(株式会社SMT, 東京)で5分間破碎した後、光学顕微鏡下で懸濁液の状態を観察した。その結果、もっともマグネタイト粒子の凝集が少なく、マグネタイト粒子のブラウン運動が高頻度に観察されたのは、超純水を媒体として懸濁液を作成した場合であった。

予備試験の第2は、試料調製法について検討した。前項予備試験第1の副次的な結果として、マグネタイト粉末を媒体に懸濁させた場合は、もっとも凝集が少なかった超純水を媒体とした懸濁液においてもマグネタイト粒子の凝集塊が認められ、超音波ホモジナイザーの破碎時間を長くしても凝集塊を無くすることができないことが判明していた。そこで、マグネタイトを水分散液(スラリー)の形態で入手し、超純水で0.3%の濃度に希釈した懸濁液を調製して検討したところ、この

場合には、マグネタイト粒子の大きな凝集塊がほとんど見られず、ブラウン運動が高頻度に観察された。

予備試験の第3は、前項予備試験第2の結果を受け、マグネタイト粉末あるいはスラリーから調製した懸濁液をラットに気管内投与した際の生体反応を比較検討する目的で、10週齢の雌雄のF344ラット(各群3匹)に、いずれかのマグネタイト懸濁液 60 mg/mL/kg 体重または媒体(超純水)を単回気管内投与し、その1週間後にラットを解剖して病理学的に検索した。その結果、スラリー由来懸濁液を投与したラットでは、粉末由来懸濁液を投与したラットに比較して、肺胞腔内及び肺胞マクロファージ内のマグネタイト粒子がより微細な状態で観察された。

以上の結果から、本研究の急性及び慢性毒性試験においては、スラリーから調製したマグネタイト懸濁液を用いて実施することに決定した。

2. 動物および飼育条件

動物は、F344/DuCr1Cr1j系ラットの雌雄のSPF動物各20匹を、日本チャールス・リバー株式会社(神奈川)より8週齢で入手し、基礎飼料(CE-2, 日本クレア株式会社, 東京)と細菌ろ過器を経由させた水道水を自由に摂取させる条件下で2週間馴化飼育を行った後、10週齢で試験に供した。各群の動物数として、急性毒性試験は雌雄各5匹、慢性毒性試験は雌雄各15匹とし、いずれも投与開始日の体重をもとに、体重別層化無作為抽出法により群分けを行った。動物は、自動給水装置付きベルト式飼育棚のステンレス製懸垂式ケージに1匹ずつ収容し、バリアーシステム内の飼育室にて、室温 23 ± 2°C・湿度 55 ± 10%・換気回数毎時10回・12時間蛍光灯照明の条件下で飼育した。

3. 急性毒性試験

気管内投与試験では、粘度の高い試料を投与することにより窒息死する危険性がある。このことを念頭に、急性毒性試験においては、最高用量を45.0 mg/kg 体重、公比を3として、45.0・15.0・5.0・0 mg/kg 体重の4群を設定した(以下、それぞれ45 mg群・15 mg群・5 mg群・対照群)。

投与試料は、戸田工業より供与されたマグネタイトスラリー (pH 10.1, Lot:90316) を、高圧滅菌済容器及びピペットチップを用い、高圧滅菌済超純水 (Milli-Q, 18.2 MΩ) で必要濃度に希釈した後、0.2 M HCl (滅菌容器内で滅菌超純水にて調製) にて pH 7.4-7.5 (組織液の pH⁹⁾ に調整して、試験に使用した。なお、調整後に試料を高圧滅菌しなかった理由は、マグネタイトの高温処

理による酸化を避けたためである。

急性毒性試験は、エーテル麻酔下で気管内液体噴霧装置 (IA-1B, Penn-Century, Inc., USA) を用いた気管内スプレー投与方法により、ラットにマグネタイト懸濁液を単回投与し、基礎飼料 CE-2 (日本クレア, 東京) と細菌ろ過器を経由させた水道水を自由に摂取させて 2 週間飼育した後、屠殺解剖した。

4. 慢性毒性試験

慢性毒性試験は、急性試験の結果から最高用量を決定し、対照群を加えた 4 群を設定し、4 週間毎に 1 回、計 13 回、マグネタイトをラットの気管内へスプレー反復投与し、試験開始時から 52 週間後に屠殺解剖する計画で、現在遂行している。

5. 検索項目

検索項目は、以下の通りである。

【一般状態, 体重, 摂餌量】

全動物の一般状態は毎日観察し、慢性毒性試験における体重および摂餌量は第 13 週まで毎週 1 回、それ以降 4 週間に 1 回測定する。

【血液学的・血清生化学的検索】

全動物は、屠殺前日の 16 時より絶食させた後、解剖時にエーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血して、血液学的および血清生化学的検索を行う。

血液学的検索は、抗凝固剤 EDTA-2K を入れた試験管に血液を採取し、多項目自動血球計数装置 (KX-21NV, シスメックス株式会社, 兵庫) にて、赤血球数 (RBC)・白血球数 (WBC)・血色素量 (HGB)・ヘマトクリット値 (HCT)・平均赤血球容積 (MCV)・平均赤血球血色素量 (MCH)・平均赤血球血色素濃度 (MCHC)・血小板数 (PLT) を測定する。

血清生化学的検索は、別の試験管に採取した血液から分取した血清を用い、自動分析装置 (TBA-120FR, 東芝メディカルシステムズ株式会社, 東京) にて、血清総蛋白濃度 (TP)・アルブミン濃度 (ALB)・アルブミン/グロブリン比 (A/G)・血糖 (GLU)・総コレステロール濃度 (T-CHO)・トリグリセリド濃度 (TG)・総ビリルビン濃度 (T-BIL)・尿素窒素濃度 (BUN)・クレアチニン濃度 (CRE)・尿酸濃度 (UA)・アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性 (AST)・アラニンアミノトランスフェラーゼ活性 (ALT) を測定する。

【尿性状検索】

慢性毒性試験においては、解剖直前に尿検査試験紙 (N-マルティスティックス, シーメンスメディカルソリューションズ・ダイアグノスティックス株式会社, 東京) を用いて、ウロビリノーゲン・

ビリルビン・ケトン体・糖・蛋白・pH と、亜硝酸塩のレベルを判定する。

【病理学的検索】

剖検においては、以下に示す組織・器官を採取し、肉眼的な検索を行い、下線を付したものについて重量を測定した後、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定する。急性毒性試験において採取した組織・器官は、脳・胸腔内大動脈・鼻腔・気管・肺・胸腺・心臓・脾臓・肝臓・腎臓・精巣/卵巣・リンパ節 (顎下部・胸腺リンパ節) とその他の肉眼的異常部位であった。慢性毒性試験では、脳・下垂体・脊髄 (頸部)・坐骨神経・眼球・ハーダー腺・ジンバル腺・胸腔内大動脈・甲状腺/上皮小体 (固定後重量測定)・鼻腔・気管・肺・胸腺・心臓・脾臓・顎下腺/舌下腺・耳下腺・外涙腺・舌・食道・前胃/腺胃・十二指腸・小腸 (空腸・回腸)・大腸 (盲腸・結腸・直腸)・肝臓・膵臓・副腎・腎臓・膀胱・精巣・精巣上体・精囊/凝固腺・前立腺・包皮腺・卵巣・輸卵管・子宮・膈・陰核腺・皮膚・乳腺・リンパ節 (顎下部・胸腺リンパ節・腸間膜)・大腿筋・胸骨 (骨髄を含む)・大腿骨 (骨髄を含む)・頭蓋骨 とその他の肉眼的異常部位とする。

組織学的検索は、全動物について、採取した組織・器官の固定標本から組織片を切り出し、定法に従いパラフィン包埋し、薄切後にヘマトキシリン・エオジン染色して、光学顕微鏡下において観察する。

6. 統計学的解析

体重・摂餌量・血液学的および血清生化学的検索結果の統計学的解析に当たっては、各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合に一元配置の分散分析により、不等分散の場合に Kruskal-Wallis の方法により、それぞれ検定を行う。群間に有意差が認められた場合の多重比較は、Dunnett の方法で有意差検定を行った。尿性状および病理組織学的検索結果については、対照群との間で、Fisher の直接確立検定を行う¹⁰⁾。以上の統計処理は、StatLight (Yukms 株式会社, 東京) を用いて行う。

7. 倫理面への配慮

本研究は、当センターの研究調整委員会および動物実験委員会による事前審査を受け、そのモニター下に、実験動物の適切な扱いに関する国内外の法規・規則・ガイドライン等に準拠して行う。

C. 研究結果

C-I. 急性毒性試験

1. 一般状態, 体重

各群の生存匹数, 初期体重及び最終体重は, 表 1 に示した. 投与直後, 雌の 15 及び 45 mg 群にそれぞれ 1 例死亡が認められた. 投与 2 週間後の体重は, 45 mg 群で雌雄ともやや減少する傾向を示したが, 対照群との間に有意な差を認めなかった.

2. 血液学的検索

血液学的検索結果は, 表 2 に示した. なお, 試験匹数が生存匹数を下回る群があるのは, 試料採取の失敗によるものである. 雄においては, 45 mg 群で HGB が有意に増加した. 雌においては, 全ての項目において有意な変化を認めなかった.

3. 血清生化学的検索

血清生化学的検索結果は, 表 3 に示した. 雌においては, 45 mg 群で A/G 比の有意な減少を認めた. それ以外の項目においては, 雌雄の全投与群に有意な変化を認めなかった.

4. 病理学的検索

器官重量は, 最終体重と共に表 4 に示した. 絶対重量については, 雌雄の 15 及び 45 mg 群で肺の重量が, 雄の 5 mg 群で精巣の重量が, それぞれ有意に増加した. 体重 100g あたりの相対重量については, 絶対重量と同様, 雌雄の 15 及び 45 mg 群で肺の重量が, 雄の 5 mg 群で精巣の重量が, それぞれ有意に増加した.

病理肉眼的検索においては, 雌雄の全ての投与群の肺で, 腫大及び浮腫と, 被験物質と思われる黒色物質の沈着が認められた. これらの変化は, 低濃度群に比べ, 高濃度群で, より顕著であった (図 1, 2). また, 投与群の胸腺リンパ節では, 軽度な腫大と灰黒色を呈する変化が, 雄の 5 mg 群に 5 例中 2 例, 雌の 15 及び 45 mg 群と雌の 5 mg 群に 5 例中 4 例, 雌の 15 mg 群に 4 例中 3 例, 雌の 45 mg 群 4 例中全例に, それぞれ認められた.

病理組織学的検索結果は, 表 5 に示した. 雌雄の 45 mg 群では, 気管支上皮の軽度腫大と, 気管支粘膜の杯細胞の増加 (図 3) が有意に増加した. 雄の 45 mg 群では肺の血管周囲に浮腫が, 雌の全投与群では炎症細胞の浸潤が, それぞれ有意に増加した (図 4). 雌雄の全投与群においては, マグネタイトを貪食したマクロファージの浸潤及び II 型肺胞上皮の増生が見られた. 雌雄の 15 及び 45 mg 群では肺胞腔内にマグネタイトの沈着及び肉芽形成が, 雌雄の 45 mg 群では異物巨細胞の浸潤が, それぞれ認められた (図 5).

胸腺リンパ節においては, 雌雄の投与群全例にマグネタイトと思われる褐色粒子の沈着が認め

られた (図 6). 心臓, 肝臓及び腎臓など, 他の器官組織においては, マグネタイト投与に関連した変化が観察されなかった. また, 自然発生病変の発生頻度には, 投与による影響を認めなかった.

C-II. 慢性毒性試験

慢性毒性試験においては, 急性毒性試験の結果を基に, 最高用量を 5.0 mg/kg 体重/回, 公比を 5 として, 5.0・1.0・0.2・0 mg/kg 体重/回の 4 群を設定した. なお, 0 mg/kg 体重/回投与群は, 対照群として設定した.

慢性毒性試験は, 現在, 6 ヶ月間を経過し, 継続中である. 経過中の平均体重及び平均摂餌量の推移は, それぞれ図 7 及び図 8 に示した通り, いずれも有意な変化を認めていない. 一般症状についても, 毛並み, 摂食行動等に異常は認められず, 正常な行動状態を示している.

D. 考察

以上のように, マグネタイトを雌雄のラットに 0・5.0・15.0・45.0 mg/kg 体重の用量で気管内単回投与した急性毒性試験では, 投与後, 雌の 15 及び 45 mg 群にそれぞれ 1 例の死亡が認められた. これら 2 匹のラットは投与直後に死亡しており, 死因は投与時の麻酔の深さにあったものと考えられる.

血液学的検索においては, 雄の 45 mg 群で HGB の有意な増加が認められたが, 正常値の範囲内¹¹⁾に留まる軽微なものであり, 用量相関性が明確でなく, 血液塗抹標本において赤血球形態に異常が認められなかったことから, マグネタイト投与に関係する毒性影響としての生物学的意義を持たないものと判断した.

血清生化学的検索においては, 雌の 45 mg 群で A/G 比の有意な減少が認められたが, 正常値の範囲内¹²⁾に留まる軽微なものであり, 用量相関性が明確でなく, 相応する臓器重量の変動や病理組織学的変化がなかったことから, マグネタイト投与に関係する毒性影響としての生物学的意義を持たないものと判断した.

病理学的検索においては, 雌雄の全用量で肺重量の増加ないし増加傾向が認められた. 組織学的検索では, マグネタイトを貪食した肺胞マクロファージの浸潤や, II 型肺胞上皮の腫大など, 異物曝露に対する非特異的な局所の急性反応と評価できる変化が認められた. この変化の程度及び肺重量は, マグネタイトの用量に相関して, それぞれ増強及び増加した. これらの病理学的変化は, 本実験条件下において, マグネタイトの単回気管

内投与後2週間を経過しても、その一定量が肺に蓄積し、これに対するホストの異物処理反応が継続することに基づいて、肺の異物性炎症が発生し、かつ、遷延したものと考えられた。

マグネタイトの毒性に関しては、Pottらが、11週齢のWistarラットに15 mg/ラットの用量で1週間毎に15回投与し(総投与量225 mg/ラット)、2年6ヵ月齢時において病理学的検索を行い、69%のラットに肺の腫瘍が認められたと報告している¹³⁾。一方、Steinhoffらは、8週齢のSDラットにマグネタイト(平均直径0.5 µm)を10-40 mg/kg体重の用量で2週間毎に約2年間投与し(総投与量1530 mg/kg体重)、2年6ヵ月齢において病理学的検索を行い、発がん性が認められなかったと報告している¹⁴⁾。両者は相反する結果であり、マグネタイト気管内投与による発がん性は未だ明らかにされていない。Zhuらは、サブミクロンサイズ(直径280 nm)とナノサイズ(直径22 nm)の酸化鉄Fe₂O₃を0.8あるいは20 mg/kg体重の用量で雄のSDラットに単回気管内投与し、7日後及び30日後の影響を比較した結果、サブミクロンタイプのものに比べ、ナノサイズの酸化鉄の方が、肺の炎症反応及び血液凝固系に及ぼす影響が顕著であったと報告している¹⁵⁾。前述のPottあるいはSteinhoffらの実験に用いられたマグネタイトはミクロンサイズであり、ナノサイズのマグネタイトの発がん性及び毒性に関しては本研究を端緒として詳細に検索することが必要である。

E. 結論

マグネタイトの単回気管内スプレー投与による急性毒性試験では、全用量の雌雄のラットの肺について、重量の増加ないし増加傾向が認められ、組織学的に、マグネタイトの蓄積と、異物曝露に対する非特異的な局所の急性反応と評価できる変化を観察した。以上の結果から、本条件下におけるマグネタイトの急性毒性試験の無影響量(NOEL)は、雌雄とも5.0 mg/kg体重未満と考えられた。

前項の急性毒性試験に関する結論に基づき、慢性毒性試験は、雌雄とも5.0 mg/kg体重/回を最高用量として、現在実施中である。

F. 参考文献

- 1) Hood E, 2004. Nanotechnology: Looking as we leap. *Environ Health Perspect* **112**, A740-749.
- 2) Kikumori T, Kobayashi T, Sawaki M, Imai T, 2009. Anti-cancer effect of hyperthermia on

breast cancer by magnetite nanoparticle-loaded anti-HER2 immunoliposomes. *Breast Cancer Res Treat* **113**, 435-441.

- 3) Kawai N, Futakuchi M, Yoshida T, Ito A, Sato S, Naiki T, Honda H, Shirai T, Kohri K, 2008. Effect of heat therapy using magnetic nanoparticles conjugated with cationic liposomes on prostate tumor in bone. *Prostate* **15**, 784-792.
- 4) Jin H, Kang KA, 2007. Application of novel metal nanoparticles as optical/thermal agents in optical mammography and hyperthermic treatment for breast cancer. *Adv Exp Med Biol* **599**, 45-52.
- 5) Lin BL, Shen XD, Cui S, 2007. Application of nanosized Fe₃O₄ in anticancer drug carriers with target-orientation and sustained-release properties. *Biomed Mater* **2**, 132-134.
- 6) 単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について,
http://www.pmda.go.jp/ich/s/s4_93_8_10.pdf
- 7) 反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について,
http://www.pmda.go.jp/ich/s/s4a_99_4_5.pdf
- 8) Driscoll KE, Costa DL, Hatch G, Henderson R, Oberdorster G, Salem H, Schlesinger RB, 2000. Intratracheal instillation as an exposure technique for the evaluation of respiratory tract toxicity: uses and limitations. *Toxicol Sci* **55**, 24-35.
- 9) Ringler D, Dabich L, 1979. Hematology and clinical biochemistry. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH (Eds), *The laboratory rat, 1. Biology and diseases*, Academic Press, New York, pp 105-121
- 10) Gad SC, Weil CS, 1994. Statistics for toxicologist. In: Hayes AW (Ed), *Principles and methods of toxicology*, 3rd edn., Raven Press, New York, pp. 221-274.
- 11) Mitruka BM, Rawnsley HM, 1981. Hematological reference values. In: *Clinical Biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans*, Masson Publishing, New York, pp57-130.
- 12) Mitruka BM, Rawnsley HM, 1981. Clinical biochemical reference values. In:

Clinical Biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans, Masson Publishing, New York, pp153-314.

- 13) Pott F, Ziem U, Reiffer FJ, Huth F, Ernst H, Mohr U, 1987. Carcinogenicity studies on fibres, metal compounds, and some other dusts in rats. *Exp Pathol* **32**, 129-152.
- 14) Steinhoff D, Mohr U, Hahnemann S, 1991. Carcinogenesis studies with iron oxides. *Exp Pathol* **43**, 189-194.
- 15) Zhu MT, Feng WY, Wang B, Wang TC, Gu YQ, Wang M, Wang Y, Ouyang H, Zhao YL, Chai ZF, 2008. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats. *Toxicology* **247**, 102-111.

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 中江 大. ナノ物質の健康影響. 第23回公衆衛生情報研究協議会(2010年1月, 埼玉県和光市).
- 中江 大, 多田幸恵, 矢野範男, 高橋 博, 湯澤勝廣, 安藤 弘, 久保喜一, 長澤明道, 大橋則雄, 小縣昭夫. ナノ磁性粒子マグネタイトの経気道スプレー投与によるFischer 344ラット肺への影響. 第26回日本毒性病理学会年次学術集会(2010年2月, 石川県金沢市).

G. 知的所有権の取得状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. マグネタイト気管内スプレー単回投与試験の動物数, 初期体重及び最終体重

	マグネタイト用量 (mg/kg 体重)			
	0 (対照群)	5.0	15.0	45.0
雄				
試験匹数	5	5	5	5
初期体重 (g)	213.6±3.9 ^a	211.7±5.5	214.9±4.6	212.9±4.0
最終匹数	5	5	5	5
最終体重 (g)	239.4±8.6	239.1±7.4	239.1±10.3	229.0±2.8
雌				
試験匹数	5	5	5	5
初期体重 (g)	138.9±7.1	138.0±5.8	138.6±7.7	141.8±9.3
最終匹数	5	5	4	4
最終体重 (g)	151.0±6.7	148.7±6.1	149.3±6.6	145.2±12.4

^a数値は平均値±標準偏差, 対照群との比較で有意差あり (*p<0.05, Dunnet's test).

表2. マグネタイト気管内スプレー単回投与後2週間のF344ラットの血液学的検索結果

	マグネタイト用量 (mg/kg 体重)			
	0 (対照群)	5.0	15.0	45.0
雄				
試験匹数	5	5	4	5
RBC (x 10 ⁴ /mL)	873.2±29.8 ^a	862.4±26.1	886.8±32.0	908.4±33.9
HGB (g/dL)	15.5±0.3	15.3±0.2	15.8±0.3	16.1±0.4*
HCT (%)	45.8±1.4	44.9±1.2	46.7±1.5	47.8±1.7
MCV (fL)	52.4±0.5	52.1±0.3	52.7±0.3	52.6±0.3
MCH (pg)	17.7±0.3	17.8±0.4	17.8±0.3	17.7±0.3
MCHC (g/dL)	33.8±0.5	34.1±0.5	33.8±0.4	33.7±0.6
WBC (x 10 ² /mL)	38.0±4.7	35.6±4.1	37.5±8.7	39.0±7.2
PLT (x 10 ⁴ /mL)	72.2±3.4	67.2±6.8	65.5±4.7	66.7±6.8
雌				
試験匹数	5	5	4	3
RBC (x 10 ⁴ /mL)	830.0±39.7	839.6±25.7	833.8±17.8	841.7±37.0
HGB (g/dL)	15.5±0.6	15.6±0.3	15.9±0.5	16.0±0.3
HCT (%)	44.1±2.0	44.6±1.4	44.2±0.8	44.8±1.5
MCV (fL)	53.1±0.6	53.2±0.3	53.1±0.5	53.3±0.6
MCH (pg)	18.8±0.5	18.6±0.4	19.1±0.7	19.0±0.5
MCHC (g/dL)	35.3±0.7	35.1±0.6	36.0±1.0	35.6±0.5
WBC (x 10 ² /mL)	38.0±8.5	38.8±9.4	45.0±10.4	53.0±15.6
PLT (x 10 ⁴ /mL)	68.9±1.8	65.3±3.4	65.2±1.9	67.2±4.8

^a数値は平均値±標準偏差, 対照群との比較で有意差あり (*p<0.05, Dunnet's test).

表3. マグネタイト気管内スプレー単回投与後2週間のF344ラットの血清生化学的検索結果

	マグネタイト用量 (mg/kg 体重)			
	0 (対照群)	5.0	15.0	45.0
雄				
試験匹数	5	5	5	5
TP (g/dL)	6.25±0.12 ^a	6.31±0.15	6.31±0.07	6.24±0.11
ALB (g/dL)	4.03±0.07	4.07±0.06	4.08±0.05	4.04±0.04
A/G	1.82±0.04	1.82±0.07	1.83±0.03	1.83±0.07
GLU (mg/dL)	158.4±9.3	159.8±9.5	155.4±13.7	151.4±7.4
AST (U/L)	90.8±7.4	92.4±14.1	92.2±8.2	91.8±19.6
ALT (U/L)	41.8±4.5	42.8±2.2	44.2±3.8	42.8±5.2
T-CHO (mg/dL)	57.4±1.3	57.4±1.8	60.6±3.1	58.4±3.8
TG (mg/dL)	100.4±12.3	93.8±19.4	93.4±25.5	102.2±13.9
T-BIL (mg/dL)	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01
BUN (mg/dL)	21.4±3.1	20.7±2.6	20.9±2.7	20.3±2.6
CRE (mg/dL)	0.28±0.03	0.28±0.02	0.28±0.01	0.29±0.03
UA (mg/dL)	1.08±0.22	1.20±0.27	1.42±0.50	1.30±0.42
雌				
試験匹数	5	5	4	4
TP (g/dL)	6.08±0.22	6.08±0.20	5.95±0.19	6.17±0.15
ALB (g/dL)	4.03±0.12	3.95±0.11	3.92±0.09	3.99±0.03
A/G	1.96±0.07	1.86±0.06	1.94±0.07	1.83±0.09*
GLU (mg/dL)	140.0±2.0	144.8±3.6	140.3±4.6	144.3±0.5
AST (U/L)	80.8±7.9	80.6±12.0	86.8±6.7	92.8±22.8
ALT (U/L)	35.0±4.6	39.2±7.5	40.0±8.8	36.3±7.8
T-CHO (mg/dL)	75.4±3.1	71.8±3.1	70.8±3.0	71.0±2.2
TG (mg/dL)	44.4±13.6	37.4±6.1	35.8±2.8	32.0±7.7
T-BIL (mg/dL)	0.01±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01
BUN (mg/dL)	19.0±2.3	19.0±2.2	18.7±2.2	20.2±1.7
CRE (mg/dL)	0.28±0.02	0.28±0.02	0.27±0.01	0.29±0.03
UA (mg/dL)	1.06±0.18	1.04±0.25	1.08±0.15	1.08±0.26

^a数値は平均値±標準偏差, 対照群との比較で有意差あり (*p<0.05, Dunnet's test).

表4. マグネタイト気管内スプレー単回投与後2週間のF344ラットの最終体重及び器官重量

	マグネタイト用量 (mg/kg 体重)			
	0 (対照群)	5.0	15.0	45.0
雄				
試験匹数	5	5	5	5
最終体重(g)	239.4±8.6 ^a	239.1±7.4	239.1±10.3	229.0±2.8
絶対重量(mg)				
脳	1854.4±37.0	1850.7±27.0	1852.9±49.1	1847.0±17.5
心臓	682.4±35.9	704.4±39.6	696.3±41.3	682.9±17.2
肺	722.4±27.4	823.8±58.0	923.4±91.5*	1105.1±94.5*
脾臓	519.1±19.1	502.9±31.2	519.3±25.9	505.8±13.0
肝臓	8019.9±636.6	7730.0±311.8	8079.7±259.2	8028.6±584.7
腎臓	1501.3±60.0	1504.2±58.9	1535.7±78.2	1479.9±79.8
精巣	2734.6±113.1	2930.2±99.8*	2876.4±118.3	2785.3±108.8
相対重量(mg/100g 体重)				
脳	775.2±16.0	774.8±33.1	775.5±20.4	806.5±13.7
心臓	285.0±7.8	294.5±11.2	291.1±8.8	298.1±4.9
肺	301.9±9.5	344.4±19.4	386.4±38.1*	482.5±41.0*
脾臓	217.1±9.8	210.2±8.7	217.3±10.2	220.8±5.2
肝臓	3347.9±183.9	3232.7±70.1	3380.8±62.8	3503.7±219.2
腎臓	627.2±4.6	629.3±23.1	642.4±22.0	645.9±28.1
精巣	1144.0±70.5	1225.8±32.4*	1203.4±27.7	1216.3±53.2
雌				
試験匹数	5	5	4	4
最終体重(g)	151.0±6.7	148.7±6.1	149.3±6.6	145.2±12.4
絶対重量(mg)				
脳	1753.0±64.2	1763.0±31.1	1757.2±24.9	1739.9±35.6
心臓	482.8±33.3	498.0±31.0	493.0±17.9	493.1±30.8
肺	556.7±77.2	642.1±55.5	724.9±88.1*	821.7±68.0*
脾臓	374.3±11.5	374.4±22.6	375.0±26.2	379.6±26.4
肝臓	4756.7±356.7	4607.3±443.5	4514.0±153.0	4647.2±490.4
腎臓	1015.7±76.3	1035.9±54.3	1018.2±35.1	1011.5±79.6
卵巣	54.5±2.7	50.9±7.4	54.1±3.9	51.7±5.7
相対重量(mg/100g 体重)				
脳	1161.3±19.0	1186.6±40.5	1178.8±57.3	1203.4±85.4
心臓	319.8±18.0	334.7±9.8	330.4±6.9	340.2±13.7
肺	368.3±46.6	431.3±23.5	485.6±57.7*	566.7±32.6*
脾臓	248.1±8.1	251.8±11.8	251.0±9.0	261.7±6.6
肝臓	3147.4±117.5	3093.0±191.1	3025.8±105.9	3196.5±88.6
腎臓	672.1±26.3	696.5±20.2	683.1±40.0	696.9±11.9
卵巣	35.8±0.9	34.1±4.0	36.3±2.4	34.9±0.8

^a数値は平均値±標準偏差, 対照群との比較で有意差あり (*p<0.05, Dunnet's test).

表5. マグネタイト気管内スプレー単回投与後2週間のF344ラットの組織学的検索結果

		マグネタイト用量 (mg/kg 体重)			
		0(対照群)	5.0	15.0	45.0
雄					
試験匹数		5	5	5	5
肺					
気管支上皮の腫大	+	0	0	0	5*
気管支粘膜の杯細胞の増加	±	0	0	1	0
	+	0 }0	0 }0	0 }1	5 }5*
血管周囲の浮腫	±	0 ^a	0	0	1
	+	1 }1	1 }1	2 }2	4 }5*
炎症細胞浸潤	+	2	3	5	5
肺胞腔内マグネタイトの沈着	+	0	0	4*	5*
マグネタイトを貪食したマクロファージの浸潤	+	0	5*	5*	5*
異物巨細胞浸潤	+	0	0	0	5*
II型肺胞上皮増生	+	0	1	2	5
	++	0 }0	4 }5*	3 }5*	0 }5*
肉芽	+	0	0	4	0
	++	0 }0	0 }0	1 }5*	5 }5*
胸腺リンパ節					
マグネタイトの沈着	+	0	5*	5*	5*
雌					
試験匹数		5	5	4	4
肺					
気管支上皮の腫大	+	0	0	1	4*
気管支粘膜の杯細胞の増加	±	0	0	0	1
	+	0 }0	0 }0	1 }1	3 }4*
血管周囲の浮腫	+	4	3	4	4
炎症細胞浸潤	+	0	5*	4*	4*
肺胞腔内マグネタイトの沈着	+	0	1	3*	4*
マグネタイトを貪食したマクロファージの浸潤	+	0	5*	4*	4*
異物巨細胞浸潤	+	0	0	1	4*
II型肺胞上皮増生	+	0	5	1	3
	++	0 }0	0 }5*	3 }4*	1 }4*
肉芽	+	0	0	4	0
	++	0 }0	0 }0	0 }4*	4 }4*
胸腺リンパ節					
マグネタイトの沈着	+	0	5*	4*	4*

^a数値は所見を示したラット匹数.

障害の程度; ±極軽度, +軽度, ++中等度.

対照群との比較で有意差あり ($p < 0.05$, Fisher's exact test).

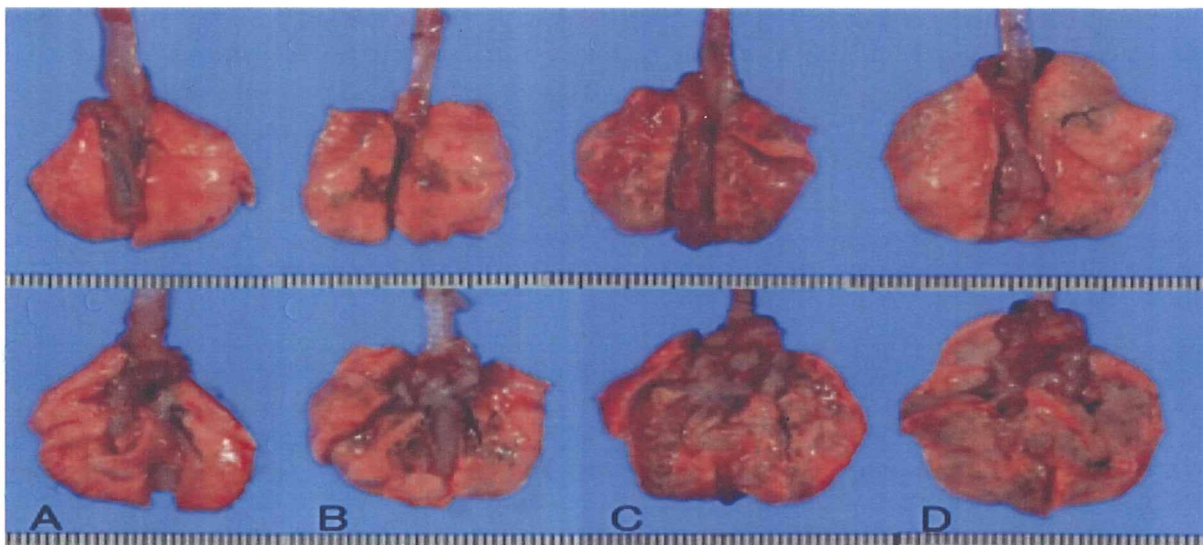


図1. マグネタイトを0(対照群:A), 5.0(B), 15.0(C)及び45.0mg/kg 体重(D)の用量で気管内スプレー単回投与したF344ラットの肺の肉眼像(上段:肺側面, 下段:腹側面)



図2. マグネタイトを0(対照群:A), 5.0(B), 15.0(C)及び45.0mg/kg 体重(D)の用量で気管内スプレー単回投与したF344ラットの肺ホルマリン固定後の切り出し像

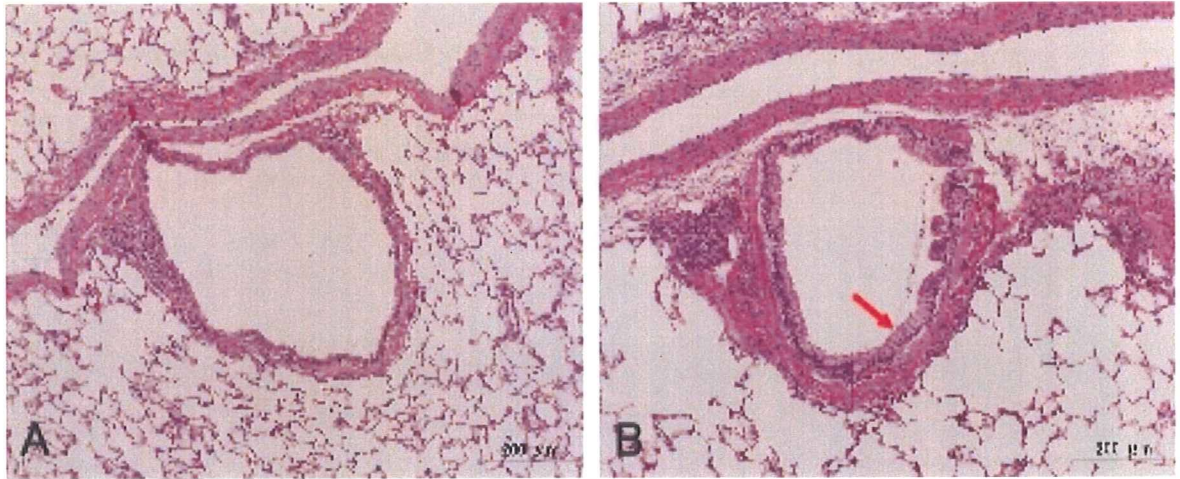


図3. マグネタイトを0(A: 対照群)あるいは45.0 mg/kg 体重(B)の用量で気管内スプレー単回投与したF344 ラットの肺の組織像 (矢印: 杯細胞の増加, HE 染色 x100)

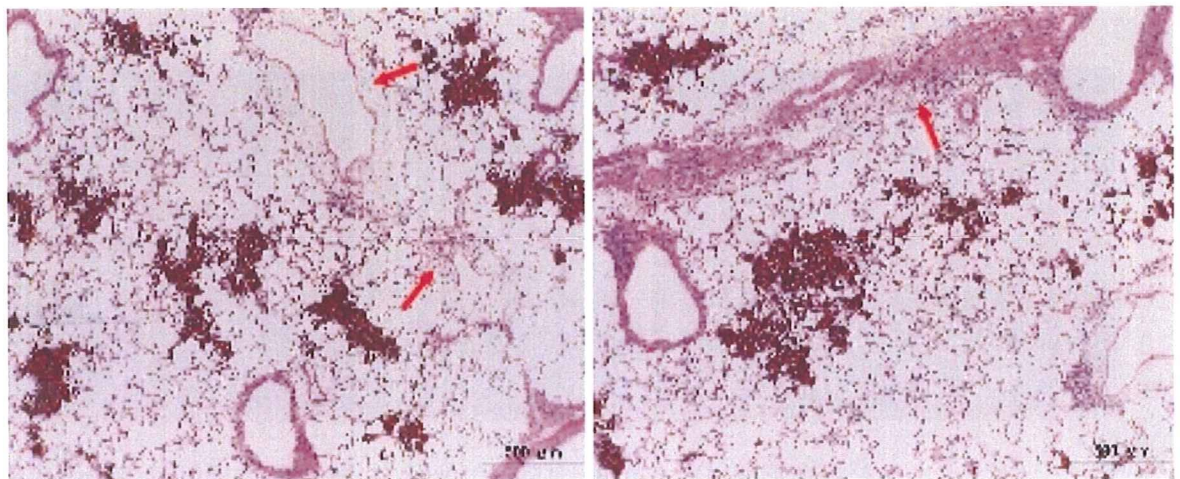


図4. マグネタイトを45.0 mg/kg 体重の用量で気管内スプレー単回投与したF344 ラットの肺の組織像 (矢印: 炎症細胞浸潤及び血管周囲の浮腫, HE 染色 x40)

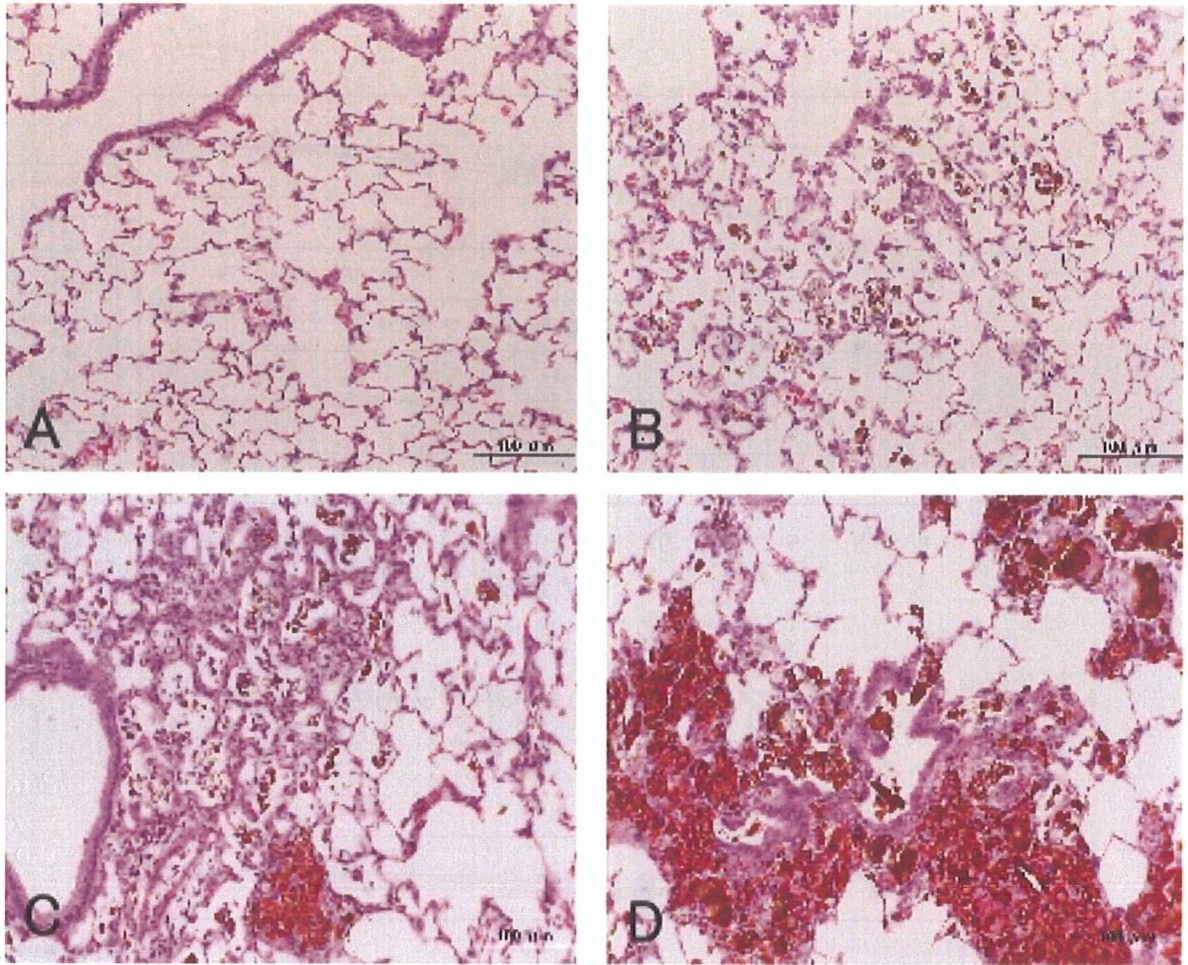


図5. マグネタイトを0(A: 対照群), 5.0(B), 15.0(C)及び45.0mg/kg体重(D)の用量で気管内スプレー単回投与したF344ラットの肺の組織像 (HE染色 x200)

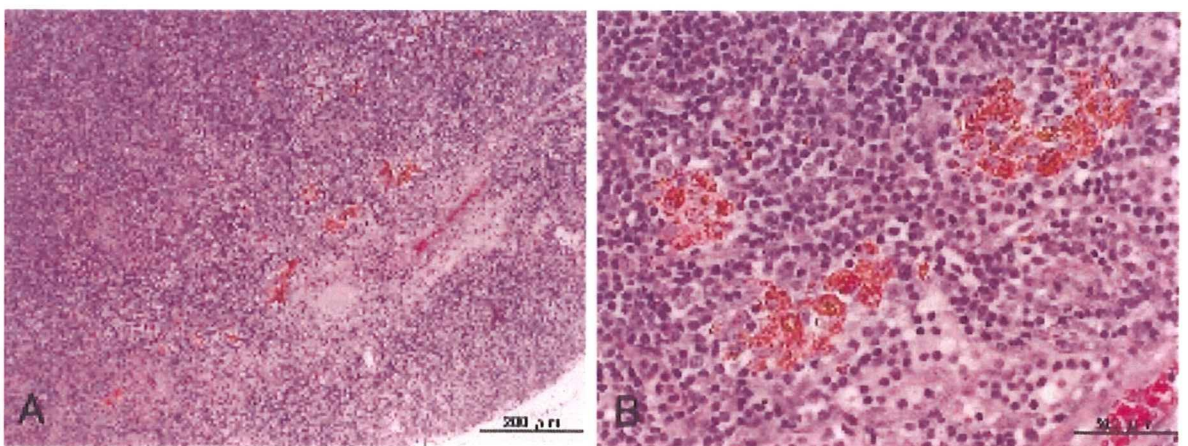


図6. マグネタイトを5.0 mg/kg体重の用量で, 気管内スプレー単回投与した雄のF344ラットの胸腺リンパ節の組織像 (A: HE染色 x100, B: HE染色 x400)

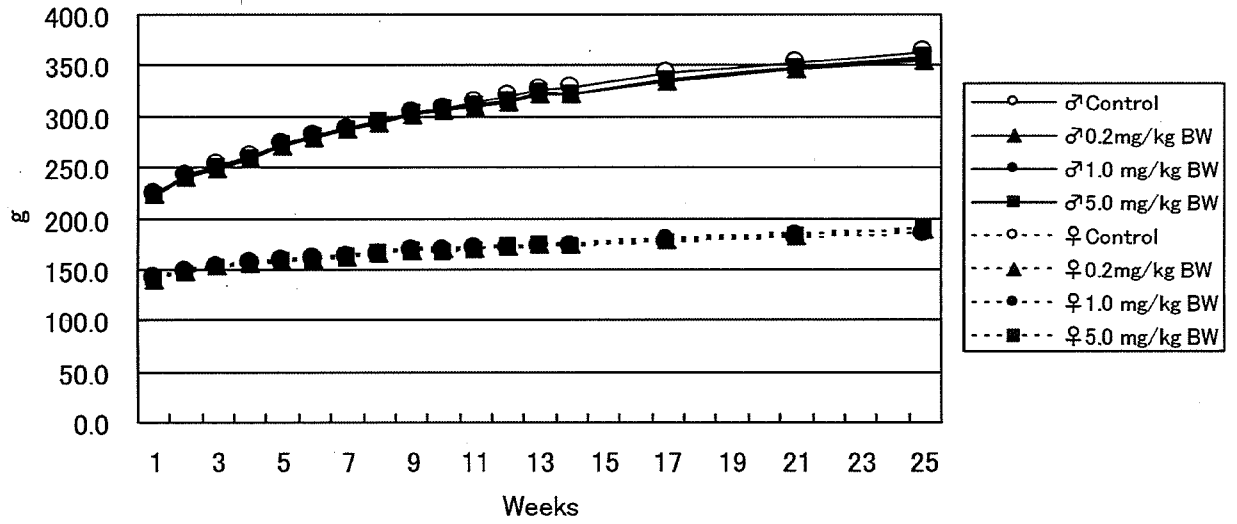


図 7. マグネタイトを気管内スプレー投与した F344 ラットの体重の推移

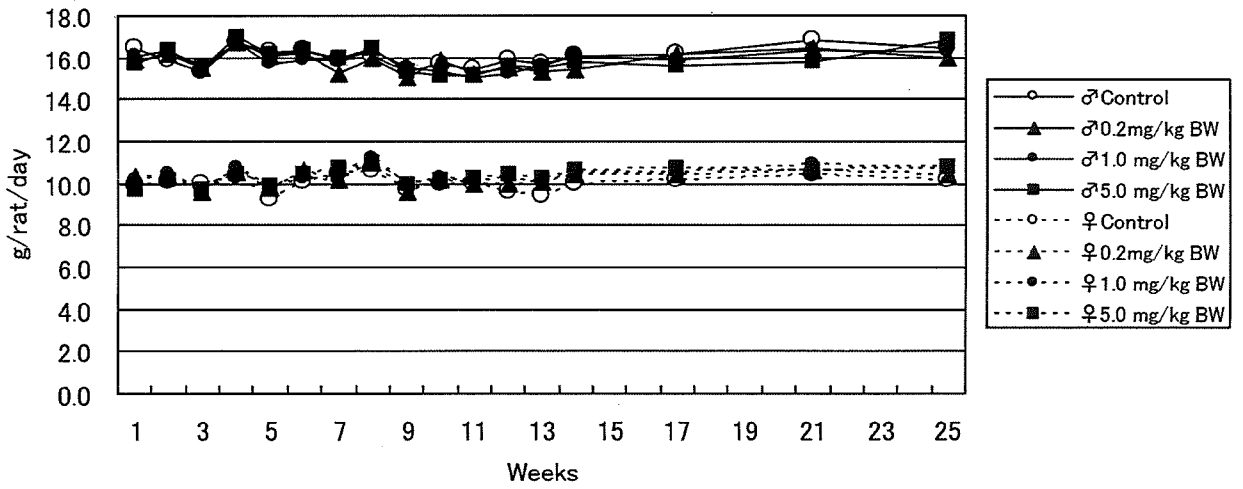


図 8. マグネタイトを気管内スプレー投与した F344 ラットの摂餌量の推移

分担研究報告書

ナノマテリアルの遺伝毒性及び発がん性に関する研究

分担研究者 増田 修一 静岡県立大学 准教授

研究要旨 マウスに各種ナノマテリアルを気管内投与し、Fpg 処理及び未処理コメットアッセイを用いて肺組織細胞における DNA 損傷を検定した。その結果、いずれのナノマテリアルも用量依存的に肺細胞において、有意な酸化的 DNA 損傷性を示した。

A. 研究目的

近年、多種多様なナノマテリアルが製造され、多方面の分野で活用されている。しかし、これらの物質はその微小なサイズから生体内においてさまざまな影響を及ぼすことが危惧されている。そこで、本研究ではこれらナノマテリアルの遺伝毒性を検定するために、マウス気管支内に投与し、肺細胞における DNA 損傷性を検定するため、Fpg 処理及び未処理コメットアッセイを行った。

B. 研究方法

各種ナノマテリアルを Glycerol trioctanoate 中に懸濁し、0.05、0.2 mg/mouse となるように調製した。懸濁液を ICR マウス（10 週齢、♂）、または C57BL/6J マウス（9 週齢、♂）の気管支内に投与し、3 時間後に両肺を摘出して、30 mM EDTA・0.9%KCl 溶液を加えてホモジナイズした。細胞浮遊液を得た後、Fpg 処理及び未処理のコメットアッセイを行った。1 スライドにつき 50 個の細胞の Tail moment を求めた。

（倫理面への配慮）

動物実験を行う際には、静岡県立大学動物センターの規定に基づき行った。

C. 研究結果

カーボンナノチューブ、フラーレン、フェライト、青石綿の各ナノマテリアルを気管内投与した ICR マウス肺組織における DNA の損傷性を Fpg 未処理コメットアッセイを用いて調べたところ、いずれも対照群に比べて、有意な DNA 損傷性が確認できた。

カオリン、フラーレン、青石綿を気管内投与した C57BL/6J マウス肺組織における DNA の損傷性を Fpg 未処理コメットアッセイを用いて調べたところ、カオリン、フラーレン、青石綿はいずれも対照群に比べて、有意な DNA 損傷性が確認できた。また、Fpg 処理コメットアッセイを用いて、各ナノマテリアルの酸化的 DNA 損傷性を調べたところ、いずれのナノマテリアルも対照群に比べて有意な DNA 損傷性がみ

られた。また、Fpg 未処理コメットアッセイにおける DNA 損傷に比べても、有意な増強が確認できた。

D. 考察

本研究において、各種ナノマテリアルの遺伝毒性を、DNA 損傷を検定するコメットアッセイを用いて評価した。その結果、各ナノマテリアルを気管支に投与された ICR マウス肺細胞において、いずれのナノマテリアルを投与された群でも、DNA 損傷性が誘導されることが確認できた。また、各ナノマテリアルを気管支に投与された C57BL/6J マウス肺細胞においては、Fpg 処理コメットアッセイも併用して、酸化的 DNA 損傷性を検定した。その結果、Fpg 処理をすることにより、Fpg 未処理に比べて優位に DNA 損傷性が増強することが明らかになった。

以上のことより、各ナノマテリアルの DNA 損傷性は、生成する活性酸素種により誘導されることが示唆された。今後は エンドヌクレアーゼ等の Fpg 以外の酸化的 DNA 損傷修復酵素を用いたコメットアッセイを行い、また活性酸素種により形成される DNA 付加体の検出を行う必要がある。

E. 結論

本研究では、各種ナノマテリアルの遺伝毒性を DNA 損傷を検定するコメットアッセイを用いて評価した。その結果、いずれのナノマテリアルも DNA 損傷性を誘導し、特に DNA の酸化的修復酵素である Fpg を用いてコメットアッセイを行うことにより、DNA 損傷性は増強した。

これまでに、マウス肺上皮細胞をフラーレンやカーボンナノチューブに曝露させて、FPG 処理コメットアッセイを用いて、各ナノマテリアルの酸化的 DNA 損傷誘導性を検定した報告がある。また、カーボンナノチューブを中皮細胞に曝露させた場合、シグナル伝達や NF- κ B などの転写因子の活性化が起り、ヒドロキシルラジカルの生成がみられた報告も

ある。さらに、アスベスト繊維にはFeが含まれており、フリーラジカルを生成すると報告されている。

したがって、本研究結果及びこれまでの研究報告より、各ナノマテリアルのDNA損傷性は活性酸素種により誘導されることが示唆された。

G. 研究発表

5. 論文発表

1. Koyama, N., Yasui, M., Oda, Y., Suzuki, S., Satoh, T., Suzuki, T., Matsuda, T., Masuda, S., Kinae, N. and Honma, M. Genotoxicity of acrylamide in vitro: Acrylamide is not metabolically activated in standard in vitro systems. Environ. Mol. Mutagen. (in press)
2. Totsuka, Y., Higuchi, T., Imai, T., Nishikawa, A., Nohmi, T., Kato, T., Masuda, S., Kinae, N., Hiyoshi, K., Ogo, S., Kawanishi, M., Yagi, T., Ichinose, T., Fukumori, N., Watanabe, M., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Genotoxicity of nano/microparticles in in vitro micronuclei, in vivo comet and mutation assay systems., Part Fibre Toxicol. 3: 6-23 (2009).

2. 学会発表

1. 増田修一、平野元美、田里李奈、小山直己、関本征史、保坂卓臣、出川雅邦、木苗直秀 糖尿病発症時における変異・発がん物質の遺伝毒性の変動 第63回日本栄養・食糧学会大会 長崎 (2009年5月)
2. 平野元美、飯尾美沙子、小山直己、田里李奈、増田修一、木苗直秀 糖尿病状態及びアルコール摂取時におけるアクリルアミドの遺伝毒性の変動、第19回日本メイラード学会 金沢市 (2009年11月)
3. 小山直己、木村 葵、安井 学、高見成昭、高橋美和、井上 薫、今井俊夫、吉田 緑、渋谷 淳、鈴木拓也、増村健一、堀端克良、増田修一、木苗直秀、松田知成、能美健彦、本間正充 ライフステージ(週齢)を考慮したアクリルアミドの多臓器遺伝毒性評価 日本環境変異原学会 第38回大会、静岡市 (2009年11月)
4. 松本陽子、戸塚ゆ加里、増田修一、加藤竜也、能美健彦、後藤純雄、杉村 隆、若林敬二 ナノ粒子により誘発される in vivo 遺伝毒性 日本環境変異原学会 第38回大

会、静岡市 (2009年11月)

5. 加藤竜也、増田修一、市瀬孝道、長谷井友尋、渡辺徹志、戸塚ゆ加里、若林敬二、木苗直秀 In vivo における3,6-dinitrobenzole]pyrene の遺伝毒性、日本環境変異原学会 第38回大会、静岡市 (2009年11月)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
増田修一	加工食品に含まれる化学物質の安全性	米谷 民雄	食品の安全性と対策	社団法人 日本食品衛生協会	東京	2009	105-113

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nishigaki R, Watanabe T, Kajimoto T, Tada A, Takamura-Enya T, Enomoto S, Nukaya H, Terao Y, Muroyama A, Ozeki M, Nobe M, Hasei T, <u>Totsuka Y</u> , Wakabayasi K.	Isolation and identification of a novel aromatic amine mutagen produced by the maillard reaction.	Chem Res Toxicol	22	1588-1593,	2009
Nishimura K, <u>Totsuka Y</u> , Higuchi T, Kawahara N, Sugimura T, Wakabayasi K.	Analysis of an RNA adduct formed from aminophenylnorharman.	Nucleic Acids Symp Ser (Oxf).	53	211-2	2009.
Ohe T, Suzuki A, Watanabe T, Hsei T, Nukaya H, <u>Totsuka Y</u> , Wakabayasi K.	Induction of SCEs in CHL cells by dichlorobiphenyl derivative water pollutants, 2-phenylbenzotriazole (PBTA) congeners and river water concentrates.	Mutat Res..	678	38-42	2009
Yamamoto M, Nakano T, Matsushima-Hibiya Y, <u>Totsuka Y</u> , Takahashi-Nakaguchi A, Matsumoto Y, Sugimura T, Wakabayashi K.	Molecular cloning of apoptosis-inducing Pierisin-like proteins, from two species of white butterfly, Pieris melete and Aporia crataegi.	Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.	154	326-33	2009
Morimoto Y, Hirohashi M, Kasai T, Oyabu T, Ogami A, Myojo T, Murakami M, Nishi K, Kadoya C, Todoroki M, Yamamoto M, Kawai K, <u>Kasai H</u> , Tanaka I.	Effect of polymerized toner on rat lung in chronic inhalation study.	Inhal Toxicol	21	898-905	2009
<u>Kasai H</u> , Kawai K.	DNA methylation at the C-5 position of cytosine by methyl radicals: a possible role for epigenetic change during carcinogenesis by environmental agents.	Chem Res Toxicol	22	984-9	2009

Tamae K, Kawai K, Yamasaki S, Kawanami K, Ikeda M, Takahashi K, Miyamoto T, Kato N, <u>Kasai H.</u>	Effect of age, smoking and other lifestyle factors on urinary 7-methylguanine and 8-hydroxydeoxyguanosine.	Cancer Sci	100	715-21	2009
Song MF, Li YS, Ootsuyama Y, <u>Kasai H.</u> , Kawai K, Ohta M, Eguchi Y, Yamato H, Matsumoto Y, Yoshida R, Ogawa Y.	Urea, the most abundant component in urine, cross-reacts with a commercial 8-OH-dG ELISA kit and contributes to overestimation of urinary 8-OH-dG.	Free Radic Biol Med	47	41-6	2009
Hirano T, Sakai A, Ootsuyama Y, <u>Kasai H</u>	Chronic alcohol consumption prevents 8-hydroxyguanine accumulation in 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene-treated mouse liver.	Biochem Biophys Res Commun	387(2)	316-20	2009
Kosaka T., Yoshino J., Inui K., Wakabayashi T., Kobayashi T., Watanabe S., Hayashi S., Hirokawa Y., Shiraishi T., Yamamoto T., Tsuji M., Katoh T., <u>Watanabe M.</u>	Involvement of NQO1 and SOD2 polymorphisms in ulcerative colitis.	DNA and Cell Biology	28	625-631	2009
<u>Totsuka Y.</u> , Higuchi T., Imai T., Nishikawa A., Nohmi T., Kato T., <u>Masuda S.</u> , Kinae N., Hiyoshi K., Ogo S., Kawanishi M., Yagi T., <u>Ichinose T.</u> , Fukumori N., <u>Watanabe M.</u> , Sugimura T., Wakabayashi K.	Genotoxicity of nano/microparticles in vitro micronuclei, in vivo comet and mutation assay systems.	Particle and Fibre Toxicology	6	1-11	2009
Osada T., Kakazu N., <u>Watanabe M.</u> , Yamane H., Yagi T.	The chromosomal constitution of postmitotic neurons, assessed by neuronal nuclear transfer into oocytes and in ES cell lines derived from them.	Cytogenet Genome Res.	125	201-212	2009
上 大介, 石井隆雅, 梅澤明弘, <u>渡邊昌俊.</u>	マイクロアレイとNIA array analysisを用いた心筋分化誘導因子の探索.	医学のあゆみ	229	1085-1086	2009
<u>渡邊昌俊</u>	ナノ粒子メディシン はじめに	医学のあゆみ	230	493	2009
上 大介, 梅澤明弘, <u>渡邊昌俊.</u>	磁性ナノ粒子を用いたiPS細胞の誘導.	医学のあゆみ	230	495-499	2009