

201035006A

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法  
に関する総合研究

(H20-化学-一般-006)

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

福島昭治

平成 23 (2011) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

# ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法 に関する総合研究

(H20-化学-一般-006)

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

福島昭治

平成 23 (2011) 年 3 月

# 厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

## 目 次

### I. 総括研究報告書

ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法に関する総合研究 .....	1
福島昭治	

### II. 分担研究報告書

1. ナノマテリアルの全身吸入暴露法、及び気管内投与法を用いた経気道暴露による健康影響の評価手法の確立	
1) 実験動物への暴露量および暴露形態を把握するためのナノマテリアルの性状、拡散状態及び濃度を把握する方法に関する研究 .....	15
鷹屋光俊	
2) ナノマテリアルの経気道暴露による呼吸器への生体影響の評価手法に関する研究 .....	23
相磯成敏	
3) ナノマテリアルの経気道暴露による肺外影響の評価手法に関する研究 .....	35
甲田茂樹	
4) 超微形態学的手法を用いたナノマテリアルの経気道暴露による中枢神経系への影響の特徴と検出系の確立 .....	41
吉田 緑	
5) ナノマテリアルの吸入暴露実験、及び、肺の c-DNA マイクロアレイによる毒性評価に関する研究 .....	47
小川幸男	
6) ナノマテリアルの経気道暴露による中期発がん試験法の開発に関する研究 .....	57
長野嘉介	

2. *in vitro* 及び *in vivo* 試験系によるスクリーニング法の有効性の評価
  - 1) ナノマテリアルの発がん性スクリーニングのための *in vitro* 系  
での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究 ..... 69  
浅倉真澄
  - 2) ナノマテリアルの経気道暴露による発がん性スクリーニングのための  
*in vivo* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究 ..... 77  
野口 忠
3. ナノマテリアルの吸入暴露情報に関する調査研究 ..... 83  
山本雅也

# I. 総括研究報告書

ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法に関する総合研究（H20-化学-一般-006）

研究代表者 福島昭治

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター 所長

### 研究要旨

ナノマテリアルは極めて微細であり一般生活環境や産業現場の気中に拡散しやすいため、経気道的に容易に体内に侵入する可能性が高く、それによるヒトへの健康影響が懸念される。本研究の目的は、ナノマテリアルの経気道暴露によるヒトへの健康影響の評価に役立つ手法を開発することである。

ナノマテリアルの全身吸入暴露法、及び気管内投与法を用いた経気道暴露による健康影響の評価手法を確立する研究では、ナノマテリアルの生体影響を実験的に評価するために必要な試料のキャラクタリゼーションを各種物理化学的測定で行うことを試みた結果、MWCNTキャラクタリゼーションにより、凝集状態や表面の微細構造の解析のさらなる必要性が示唆された。MWCNTを単回気管内投与したラットの臓器についてMWCNTの遠隔臓器への移行を調べ、肺に沈着したMWCNTは遠隔臓器に徐々に移行するが、MWCNT沈着の様相は肺関連リンパ節と肝臓、腎臓、脳で異なることが示された。ナノマテリアルを取扱う労働現場で、ナノサイズの粒子を経気道的にばく露する可能性を作業環境測定や電顕及び炭素分析を用いて検討した結果、その可能性は少ないと考えた。酸化チタンを単回気管内投与したラットの肺の経時的変化を光顕および電顕観察し、チタンの細胞内局在をエネルギー分散型X線分光器(EDS)を用いて調べた結果、酸化チタンは肺の炎症を引き起こすこと及び肺内のマクロファージに長期間留まることが示された。MWCNTを経気道暴露したラット肺のマイクロアレイ解析の結果、炎症、酸化的ストレス等に関与する遺伝子発現増加を明らかにした。ナノマテリアルの経気道暴露による中期発がん試験を実施し、MWNT-7の経気道投与はDHPN処理による肺の腫瘍発生を修飾する作用がないことがわかった。さらに、MWCNT用吸入暴露装置について、音響式の発生器とディスプレイ曝露チャンバーが完成し、吸入暴露システムを構築した。

*in vitro* 及び*in vivo* 試験系によるスクリーニング法の有効性を評価する研究では、Balb3T3細胞による細胞形質転換試験はがん性スクリーニング法のための*in vitro*系での遺伝毒性試験及び細胞形質転換試験に十分評価に耐える試験系であることが分かった。また、*gpt delta* ラットにMWCNTを気管内投与し、肺での突然変異誘発性を検討した結果、突然変異誘発性は認められないことが分かった。

これらの研究に加えて、炭素系ナノマテリアル（フラーレン及びカーボンナノチューブ）及び金属系ナノマテリアル（酸化チタン）などのナノマテリアルの暴露情報、特に吸入暴露に関する情報を収集・整理した。

## 研究分担者氏名・所属施設名および所属における職名（50音順）

相磯 成敏	中央労働災害防止協会	日本バイオアッセイ研究センター	病理検査部 病理検査室 室長
浅倉 眞澄	中央労働災害防止協会	日本バイオアッセイ研究センター	病理検査部 培養細胞試験室 室長
小川 幸男	国立医薬品食品衛生研究所	安全性生物試験研究センター	毒性部 室長
甲田 茂樹	独立行政法人労働安全衛生総合研究所	研究企画調整部	首席研究員
鷹屋 光俊	独立行政法人労働安全衛生総合研究所	環境計測管理研究グループ	首席研究員
長野 嘉介	中央労働災害防止協会	日本バイオアッセイ研究センター	副所長
野口 忠	中央労働災害防止協会	日本バイオアッセイ研究センター	病理検査部 微生物試験室 室長
吉田 緑	国立医薬品食品衛生研究所	安全性生物試験研究センター	病理部 室長
山本 雅也	国立医薬品食品衛生研究所	安全性生物試験研究センター	毒性部 主任研究官

### A. 研究目的

ナノマテリアルは極めて微細であり一般生活環境や産業現場の気中に拡散しやすいため、経気道的に容易に体内に侵入する可能性が高く、それによるヒトへの健康影響が懸念される。本研究の目的は、ナノマテリアルの経気道暴露によるヒトへの健康影響の評価に役立つ手法を開発することである。

この目的のため、形状がアスベストに類似しており吸入暴露による発がん性が懸念されているMWCNTに焦点をあて、ナノマテリアルの全身吸入暴露法、及び気管内投与法を用いた経気道暴露による健康影響の評価手法の確立のために、1) 実験動物への暴露量および暴露形態を把握するためのナノマテリアルの性状、拡散状態及び濃度を把握する方法に関する研究（鷹屋）、2) ナノマテリアルの経気道暴露による呼吸器への生体影響の評価手法に関する研究（相磯）、3) ナノマテリアルの経気道暴露による肺外影響の評価手法に関する研究（甲田）、4) 超微形態学的手法を用いたナノマテリアルの経気道暴露によ

る中枢神経系への影響の特徴と検出系の確立（吉田）、5) ナノマテリアルの吸入暴露実験及び肺のc-DNAマイクロアレイによる毒性評価に関する研究（小川）、6) ナノマテリアルの経気道暴露による中期発がん試験法の開発に関する研究（長野）を行う。また、*in vitro* 及び*in vivo* 試験系によるスクリーニング法の有効性を評価するために、1) ナノマテリアルの発がん性スクリーニングのための*in vitro* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究（浅倉）、2) ナノマテリアルの経気道暴露による発がん性スクリーニングのための*in vivo* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究（野口）を行う。さらに、産業用ナノマテリアルの暴露情報、特に吸入暴露に関する情報を収集・整理する（山本）。これらの研究成果を基にナノマテリアルの吸入によるヒトへの健康影響の総合的評価手法を確立する。

### B. 研究方法

#### I. ナノマテリアルの全身吸入暴露法、及び気

管内投与法を用いた経気道暴露による健康影響の評価手法の確立

I-1. 実験動物への暴露量および暴露形態を把握するためのナノマテリアルの性状、拡散状態及び濃度を把握する方法に関する研究

鷹屋は、動物実験に用いたものと同じMWCNTを試料として、生体内での試料の挙動を推定するために、ギャンブル氏液と呼ばれる模擬肺胞液に浸漬したMWCNTの変化を、粒径分布、ゼータ電位測定、熱分析測定で評価した。併せてMWCNTの挙動を分子生物学的手法で解析するために耐性細胞の開発も試みた。

I-2. ナノマテリアルの経気道暴露による呼吸器への生体影響の評価手法に関する研究

相磯は、MWCNTを単回気管内投与（平成20年度報告）したラットの臓器を材料として、気管内投与後のMWCNTの遠隔臓器への移行を光学顕微鏡レベルで研究した。単回気管内投与と実験におけるMWCNTの投与量は0、40、160 $\mu$ g/匹、解剖時期は単回気管内投与後1、7、28、91日、検索動物数は8匹（/各用量/各解剖期）、検索対象臓器は肺関連リンパ節、脾臓、肝臓、腎臓、脳とした。遠隔臓器で認めた黒色繊維状物質がMWCNTであることの確認を超微細形態学的に行った。

I-3. ナノマテリアルの経気道暴露による肺外影響の評価手法に関する研究

甲田は、多層カーボンナノチューブを被覆した導電繊維（CNTコーティング糸）が自動織機による機械的なこすれ等によって飛散する可能性について検討し、実際の作業現場でナノサイズのCNTに暴露するか否かを検討した。労働現場における作業環境の測定評価による粒子濃度の時間変化についてOPCやCNC、SMPSを用いて評価した。さらに、個人暴露サンプラーで捕捉した

試料を電子顕微鏡による形態変化と炭素分析によって分析した。

I-4. 超微形態学的手法を用いたナノマテリアルの経気道暴露による中枢神経系への影響の特徴と検出系の確立

吉田は、酸化チタンの気管内投与したラットの肺の経時的变化を光顕および電顕観察し、チタンの細胞内局在をエネルギー分散型X線分光器(EDS)を用いて細胞質内のチタンを検出した。

I-5. ナノマテリアルの吸入暴露実験、及び、肺のc-DNAマイクロアレイによる毒性評価に関する研究

小川は、当研究班の野口班員が日本バイオアッセイにて実施したMWCNTの*gpt*ラット単回経気道暴露実験で得られた肺サンプルを対象に、Percellome手法による定量的なマイクロアレイ解析を行った。また、MWCNT用吸入暴露装置の開発では、MWCNTの拡散法及び吸入チャンバー内へ安定供給する方法を検討するとともに、確立させた発生法を用いて暴露システムを構築し、動物に暴露する。

I-6. ナノマテリアルの経気道暴露による中期発がん試験法の開発に関する研究

長野は、MWCNTについて、肺を標的とした中期発がん試験を実施した。すなわち、起始物質であるDHPNを飲水で2週間経口投与し、2週間の休薬期間後、MWNT-7を2.5 $\mu$ g、10 $\mu$ gまたは40 $\mu$ g/匹の用量で2週間おきに4回気管内投与し、20週間の観察期間をおいた後に解剖した。また、比較のために、無処置群、MWNT-7を40 $\mu$ g/匹投与しただけの群、DHPN処置だけの群、およびDHPN処置後にクリソタイルを40 $\mu$ g/匹の用量で2週間おきに4回気管内投与した群を設けた。

## II. *in vitro* 及び *in vivo* 試験系によるスクリーニング法の有効性の評価

### II-1. ナノマテリアルの発がん性スクリーニングのための *in vitro* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究

浅倉は、試験材料に MWCNT (Lot No.061220、三井物産㈱提供：MWNT-7) を用い、Balb3T3 細胞による、①2 段階細胞形質転換試験、②2 段階細胞形質転換試験での 2 核細胞の生成、③細胞への取り込みの検討を行った。

### II-2. ナノマテリアルの経気道暴露による発がん性スクリーニングのための *in vivo* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究

カーボンナノチューブは、その形状がヒトに悪性中皮腫を発生させるアスベストと類似していることから安全性が危惧されている。また、アスベストにより発生したヒト悪性中皮腫にホモ接合性の欠失が認められる。現在開発されている *in vivo* 遺伝毒性を調べるトランスジェニック動物の中で *gpt delta* 動物は欠失変異を評価できる点からも最も有効な試験系である。

野口は、ナノマテリアルの *in vivo* 突然変異誘発性評価方法を検討する目的で、*gpt delta* ラットに多層カーボンナノチューブ (MWCNT) 及びアスベスト (Chrysotile) を *gpt delta* ラットに気管内投与し、肺の突然変異誘発性を検索した。試験はラットに MWCNT を 1 匹あたり 40、160 $\mu$ g 及び Chrysotile を 1000 $\mu$ g の用量で気管内に 2 週間間隔で 4 回投与し、初回投与後 49 日及び 90 日の肺について *gpt* 突然変異及び Spi-欠失変異誘発性を調べた。

## III. ナノマテリアルの吸入暴露情報に関する調査研究

山本は、現時点では暴露情報は、労働現場に限定されているため、産業用ナノマテリアルの職業

暴露情報に焦点をあてて、その暴露情報及び気管内投与、咽頭吸引、吸入暴露による毒性発現に関する文献情報等の公開情報を収集し、整理した。本年度は、炭素系ナノマテリアル (フラーレン及びカーボンナノチューブ) 及び金属系ナノマテリアル (酸化チタン) などのナノマテリアルについて、Medline を用いて、最新情報の検索を行った。

### (倫理面への配慮)

研究における実験動物の使用は、動物の愛護及び管理に関する法律等及び研究を実施する各機関及び施設で定める規定を遵守した。なお、*in vitro* 系での研究は、使用した細胞はマウス由来の細胞株であり、ヒト由来の細胞は使用していない。

## C. 研究結果

### I. ナノマテリアルの全身吸入暴露法、及び気管内投与法を用いた経気道暴露による健康影響の評価手法の確立

#### I-1. 実験動物への暴露量および暴露形態を把握するためのナノマテリアルの性状、拡散状態及び濃度を把握する方法に関する研究 (鷹屋)

ギャンブル氏液への浸漬により、電子顕微鏡観察下では繊維長、太さの変化が見られなかった。また、ゼータ電位測定ならびに分散媒中の凝集状態についても特に変化は観測されなかった。一方で、MWCNT が熱分解される温度が浸漬期間に応じて低下することを確認した。耐性細胞の作成過程では、高濃度暴露群で生存率が高くなる結果が得られた。

#### I-2. ナノマテリアルの経気道暴露による呼吸器への生体影響の評価手法に関する研究 (相磯)

肺関連リンパ節、脾臓、肝臓、腎臓及び脳への

MWCNTの移行が認められた。

肺関連リンパ節では、マクロファージに貪食されたMWCNTが認められ、肺関連リンパ節に炎症等の組織反応は認められなかった。気管内投与後のMWCNTの肺関連リンパ節への移行は投与用量、時間依存性の増加が認められた。

肝臓、腎臓、脳では、いずれもMWCNT単繊維の状態が存在し、炎症等の組織反応は認められなかった。遠隔臓器内のMWCNT沈着部位は肝臓では類洞に、腎臓では糸球体の毛細血管であった。脳では、脳内各部（嗅脳、大脳皮質、間脳、中脳、橋、延髄）で毛細血管と関係した位置に認められたほか、毛細血管との関係を想定し難い脳実質中に認められた事例もあった。肺関連リンパ節、腎臓及び脳に移行した単繊維状のMWCNTは超微細形態学的にMWCNTであることを確認した。

### I-3. ナノマテリアルの経気道暴露による肺外影響の評価手法に関する研究（甲田）

労働現場における粒子濃度の時間変化では、測定装置では作業に対応する明らかな個数濃度の上昇を検出することができなかった。粉じん濃度を見ると作業場近傍では40~60cpmであった。SMPSを用いて測定した50nm以下の粒子と、表面積の値は午後にピークを示したが、建屋内と屋外とで粒径分布が一致した、この粒子は光化学反応により生成した粒子で、作業由来ではないと考えられる。粒子の重量濃度の測定では、総粉じんとPM4はB点では0.092、0.066 mg/m<sup>3</sup>、C点では0.159、0.093 mg/m<sup>3</sup>であった。自動織機近くで1.5倍程度上昇したが、CNTコーティング系由来であるとは言えなかった。SEM観察では、CNTが単独の粒子として観測されることはなかったが、数μmの大きさの繊維の断片が多数観察され、一部で表面にCNTと思われる数十nmの繊維が存在している粒子もあった。加工糸をTEM観察

した結果、繊維に塗布されたCNTは不規則に絡み合った凝集塊として観察された。また、凝集塊が枝分かれし、繊維の表面上で重なっている像も観察された。また凝集塊の表面には、個々のCNTが外側に向かって飛び出している像等が観察されたが、粒子のSEM観察結果と矛盾しない結果であった。

### I-4. 超微形態学的手法を用いたナノマテリアルの経気道暴露による中枢神経系への影響の特徴と検出系の確立（吉田）

酸化チタンの単回気管内投与後、肺ではマクロファージ浸潤を伴う炎症が観察され、投与後4週にかけて肉芽腫の形成等の炎症は慢性化した。チタンは主にマクロファージに貪食され、貪食したマクロファージの凝集像が4週後では明らかだった。脳やその他の組織に光顕レベルで異常は認められなかった。EDS解析では、投与直後のチタンは主に肺胞内やマクロファージのライゾーム内に分布していた。

### I-5. ナノマテリアルの吸入暴露実験、及び、肺のc-DNAマイクロアレイによる毒性評価に関する研究（小川）

MWCNT経気道暴露ラット肺のマイクロアレイ解析の結果、炎症関連遺伝子としてケモカイン・サイトカインであるCcl2、補体のC1qa、B細胞や単球に発現するFcgr2b遺伝子等の顕著な増加が各検体投与群で認められた。また、酸化的ストレス反応遺伝子としてSOD2及びメタロチオネイン-1aの増加が各検体投与で認められ、メタロチオネイン-3がMWCNTの高用量群で増加した。その他の遺伝子として、組織の線維化/抗線維化に働く酵素のマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-12、MMP-14、カテプシンKが各検体投与群で増加した。実験者への暴露及び環境への漏出を避けるため専用の施設内に音響式ダ

スト発生器とディスポーザブル暴露チャンバー等を設置した。

#### I-6. ナノマテリアルの経気道暴露による中期発がん試験法の開発に関する研究（長野）

動物の死亡はいずれ群にもなかった。体重はDHPNによって一時的に抑制されたが、その後、順調に増加した。解剖の結果、DHPN処置だけの群、DHPN処置後にMWNT-7を2.5 $\mu$ g、10 $\mu$ gまたは40 $\mu$ g/匹の用量で投与した群、DHPN処置後にクリソタイルを40 $\mu$ g/匹の用量で投与した群では全ての動物の肺に結節や白色斑が認められた。結節や白色斑の平均発生個数/匹は、DHPN処置だけの群は32.2 $\pm$ 8.4、DHPN処置後にMWNT-7を2.5 $\mu$ gの用量で投与した群は32.4 $\pm$ 6.8、10 $\mu$ gの用量で投与した群は29.0 $\pm$ 7.3、40 $\mu$ gの用量で投与した群は27.7 $\pm$ 6.9、DHPN処置後にクリソタイルを40 $\mu$ g/匹の用量で投与した群は31.3 $\pm$ 7.5であり、これらの群の間に差がみられなかった。これに対し、無処置群とMWNT-7を40 $\mu$ g/匹投与しただけの群では、いずれの動物も肺に結節や白色斑の発生がなかった。

### II. *in vitro* 及び*in vivo* 試験系によるスクリーニング法の有効性の評価

#### II-1. ナノマテリアルの発がん性スクリーニングのための*in vitro* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究（浅倉）

試験の結果、①MWCNTは細胞形質転換を誘発すること、また、その誘発はイニシエーション処理によりおこるがプロモーション処理では起こらないこと。②MWCNTのイニシエーション処理により2核細胞を誘発すること。③MWCNTは細胞内に取り込まれていて、培養細胞による細胞形質転換試験での評価が妥当であることが分かった。

#### II-2. ナノマテリアルの経気道暴露による発がん性スクリーニングのための*in vivo* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究（野口）

MWCNT 及び Chrysotileの気管内4回投与し、初回投与後49日及び90日の肺重量は有意な増加を示したが、*gpt* 突然変異及び Spi-欠失変異誘発性は認められなかった。

### III. ナノマテリアルの吸入暴露情報に関する調査研究（山本）

暴露情報に関しては、測定法の検討が進み、いくつかの労働現場の測定結果が得られた。毒性影響に関しては、気道内投与や咽頭吸引試験に加え、エアロゾルへの鼻部/全身暴露の結果が公表されてきている。フラーレンに関しては、投与/暴露後、一過性の炎症反応が見られてものの、肺の病理組織への報告はなかった。カーボンナノチューブに関する試験では、投与/暴露後、比較的初期から、肺に肉芽腫性変化や繊維性変化がみられ、また、2つのグループにより吸入暴露によるMWCNTの胸膜への到達が示された。酸化チタンに関しては、多くの試験で、肺の炎症、好中球の浸潤、食食マクロファージの蓄積がみられた。最近の研究では、従来に比べて長期（90日間）のカーボンナノチューブの吸入暴露試験結果や、投与部位（肺）以外での液性因子を介した免疫系や他の臓器への影響や発がん性のメカニズムに関する研究が報告されてきている。

#### D. 考察

#### I. ナノマテリアルの全身吸入暴露法、及び気管内投与法を用いた経気道暴露による健康影響の評価手法の確立

##### I-1. 実験動物への暴露量および暴露形態を把握するためのナノマテリアルの性状、拡散状態及び濃度を把握する方法に関する研究（鷹屋）

ギャンブル氏液の浸漬の結果、繊維長、太さの変化が見られなかったにもかかわらず、熱分解温度が下がったのは表面の微細構造などに欠陥が生じ始めている可能性が高い。耐性細胞で高濃度暴露群で生存率が高くなった結果としては、MWCNTにおいても、凝集状態が生体影響に影響することを示している。

#### I-2. ナノマテリアルの経気道暴露による呼吸器への生体影響の評価手法に関する研究（相磯）

気管内に投与されたMWCNTの肺関連リンパ節に移行には、投与用量-、時間-依存性の増加が示され、遠隔臓器（脾臓、肝臓、腎臓、脳）への移行にも時間-依存性の増加が示されたことから、MWCNTの気管内投与方法で量-反応関係が明確なデータを得ることが可能であることが実証された。これらのことから、気管内投与方法は吸入暴露試験の代替法として有用であると考えられた。

#### I-3. ナノマテリアルの経気道暴露による肺外影響の評価手法に関する研究（甲田）

CNTコーティング糸に注目し、製品化されたナノマテリアルの機械的な摩擦力等の物理的刺激によってCNTが剥離し、労働者へのナノサイズでの経気道的な暴露の可能性を検討してきた。CNT粒子が単体で浮遊していることは確認できなかったが、CNTでコーティングされた繊維の断片が作業環境中に存在していたことは確認できた。個人暴露の観点から推測すると、経気道的に取り込むナノレベルのCNTは多くないことが予想される。

#### I-4. 超微形態学的手法を用いたナノマテリアルの経気道暴露による中枢神経系への影響の特徴と検出系の確立（吉田）

ラットに気管内投与した酸化チタンは投与後

4週まで観察されたことから、酸化チタンが肺胞マクロファージのライソゾーム内に長く留まる可能性が示唆された。

#### I-5. ナノマテリアルの吸入暴露実験、及び、肺のc-DNAマイクロアレイによる毒性評価に関する研究（小川）

MWCNT 単回経気道暴露ラット肺で炎症、酸化的ストレス、線維化等に関与する遺伝子発現の顕著な増加が認められ、炎症、線維化に関しては組織学的所見の変化を反映したものと考えられた。一方、DNA 傷害/修復に関与する遺伝子の明らかな変化は本実験条件下では認められなかった。環境への排出を避けることができるディスポーザブル暴露チャンバーを開発し、設置することができた。

#### I-6. ナノマテリアルの経気道暴露による中期発がん試験法の開発に関する研究（長野）

肺の腫瘍性病変による結節や白色斑の発生が、DHPN処置により全ての動物でみられ、DHPNによるイニシエーション処置が十分であり、本研究で用いた中期発がん試験法は肺の腫瘍発生への修飾作用を検出する方法として適切であると考えられた。また、相磯の研究で線維化が発生することが確認されている用量（40 $\mu$ g/匹）のMWNT-7をDHPN処置後4回気管内投与したが、肺の結節と白色斑の発生個数はDHPN処置だけの群と比較して差が認められないことから、MWNT-7はDHPN処理による肺の腫瘍発生を修飾する作用がないと考察した。

## II. *in vitro* 及び*in vivo* 試験系によるスクリーニング法の有効性の評価

### II-1. ナノマテリアルの発がん性スクリーニングのための*in vitro* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究（浅倉）

2段階細胞形質転換試験の結果から、MWCNTは、イニシエーターとして働いていることがわかった。イニシエーション時期つまり細胞が増殖を繰り返している時期に作用して何らかの障害が起こることが示唆される。また、本試験において2核細胞の誘発が観察されていることから、Balb3T3細胞においても細胞分裂時に何らかの作用をすることが推測された。これが細胞形質転換の引き金になっている可能性が示唆される。染色体の数の異常(倍数体)が原因となり、異数性の誘発やゲノムの不安定性を引き起こしがん化につながるメカニズムの可能性が考えられる。

#### II-2. ナノマテリアルの経気道暴露による発がん性スクリーニングのための*in vivo*系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究(野口)

*gpt delta* ラットにMWCNTを連続的に気管内投与し、肺重量の有意な増加は認めたが*gpt* 突然変異及び Spi-欠失変異誘発性は認められなかった。また、肺発がん性のあるアスベスト(Chrysotile)についても突然変異誘発性は認められなかった。アスベストの*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性を示す多くの報告はあるが、カーボンナノチューブについてはマウスに吸入暴露した肺の*K-ras*遺伝子に遺伝子突然変異を誘発するとの報告のみで、*in vitro* 突然変異試験に関しては突然変異を誘発するとの報告はない。

#### III. ナノマテリアルの吸入暴露情報に関する調査研究(山本)

最近の研究結果は、ナノマテリアルの吸入毒性には、粒子の形状や大きさ、分散状態等が重要な役割を果たしていることを示している。粒子の形状やその存在比率などについてより詳細な暴露調査が必要である。また、投与部位以外での影響、免疫系などへの影響の報告もあり、発生期や神経

への影響などを含めナノマテリアルの毒性の総合的な発現メカニズムを今後解明していくことが重要である。さらに、発がん性など慢性的な影響を検討することも必要である。

#### E. 結論

##### I. ナノマテリアルの全身吸入暴露法、及び気管内投与法を用いた経気道暴露による健康影響の評価手法の確立

###### I-1. 実験動物への暴露量および暴露形態を把握するためのナノマテリアルの性状、拡散状態及び濃度を把握する方法に関する研究(鷹屋)

MWCNTキャラクタリゼーションにより、凝集状態や表面の微細構造の解析のさらなる必要性が示唆された。

###### I-2. ナノマテリアルの経気道暴露による呼吸器への生体影響の評価手法に関する研究(相磯)

MWCNTの気管内投与法で量-反応関係が明確なデータを得ることが可能であることが実証され、気管内投与法は吸入暴露試験の代替法として有用であることが示された。

###### I-3. ナノマテリアルの経気道暴露による肺外影響の評価手法に関する研究(甲田)

ナノマテリアルを取扱う労働現場で、労働者がナノサイズの粒子を大量にあるいは一定量、経気道的に取り込むこと可能性は少ないと考える。

###### I-4. 超微形態学的手法を用いたナノマテリアルの経気道暴露による中枢神経系への影響の特徴と検出系の確立(吉田)

単回気管内投与した酸化チタンは肺のマクロファージ内に長期間留まると考えられた。

### I-5. ナノマテリアルの吸入暴露実験、及び、肺のc-DNAマイクロアレイによる毒性評価に関する研究（小川）

MWCNT単回経気道暴露ラット肺で炎症、酸化的ストレス、線維化に関与する遺伝子の発現が顕著に増加した。音響式の発生器とディスプレイ暴露チャンバーが各3台完成し、吸入暴露装置暴露システムが構築された。

### I-6. ナノマテリアルの経気道暴露による中期発がん試験法の開発に関する研究（長野）

MWNT-7の経気道投与はDHPN処理によるラットの肺の腫瘍発生を修飾する作用がないことがわかった。

## II. *in vitro* 及び*in vivo* 試験系によるスクリーニング法の有効性の評価

### II-1. ナノマテリアルの発がん性スクリーニングのための*in vitro* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究（浅倉）

これまでの研究から、Balb3T3細胞による細胞形質転換試験は、がん性スクリーニング法のための*in vitro* 系での遺伝毒性試験及び細胞形質転換試験として、十分に評価に耐える試験系であると考えられる。ただし、試験を実施する際には、被験物質の適切な調製方法の選択及び細胞への取込みの確認が必要である。

### II-2. ナノマテリアルの経気道暴露による発がん性スクリーニングのための*in vivo* 系での遺伝毒性試験による評価手法に関する研究（野口）

ナノマテリアルの *in vivo* 突然変異原評価方法を検討する目的で、点突然変異及び欠失変異の検出が可能なトランスジェニック動物である *gpt delta* ラットにMWCNTを気管内投与し、肺

での突然変異誘発性を検討したが、その突然変異誘発性を認めることはできなかった。難溶性のナノマテリアルの主要な標的臓器は肺であり、*in vivo* で肺における遺伝毒性を調べることはその毒性を評価する上で重要である。さらに *gpt delta* 動物を用いる *in vivo* 突然変異試験の肺における評価方法の検討及び新に有効な試験系の開発が必要である。

## III. ナノマテリアルの吸入暴露情報に関する調査研究（山本）

ナノマテリアルの吸入毒性には、粒子の形状や大きさ、分散状態等が重要な役割を果たしている。粒子の詳細な測定を含む暴露調査及び毒性メカニズム解明を意図した試験・研究が必要である。

## F. 健康危機情報

該当しない

## G. 研究発表

### 1. 論文・書籍

Abe, M., Suzuki, N., Yoshida, M., Usuda, K., Furukawa, S., Juneja, L.R., Okubo, T., Nakae D.: Possible carcinogenic risks of copper gluconate and their prevention by co-administered green tea catechins evaluated by a rat medium-term multi-organ carcinogenicity bioassay protocol. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, 46: 1760-1770.

○ Aiso, S., Kubota, H., Umeda, Y., Kasai, T., Takaya, M., Yamazaki, K., Nagano, K., Sasaki, T., Koda, S. and Fukushima, S.: Translocation of Intratracheally Instilled Multiwall Carbon Nanotubes to Lung-Associated Lymph Nodes in Rats, *Industrial Health*, 2011, 49: 215-220.

○ Aiso, S., Yamazaki, K., Umeda, Y., Asakura, M., Kasai, T., Takaya, M., Toya, T., Koda, S., Nagano, K., Arito, H. and Fukushima, S.: Pulmonary toxicity of

- intratracheally instilled multiwall carbon nanotubes in male Fischer 344 rats, *Industrial Health*, 2010, 48: 783 – 795.
- Asakura, M., Sasaki, T., Sugiyama, T., Takaya, M., Koda, S., Nagano, K., Arito, H. and Fukushima, S. (2010). Cytotoxicity and mutagenicity of multiwall carbon nanotubes with culture Chinese hamster lung cells in comparison with chrysotile A fibers. *Journal of Occupational Health*, 2010, 52:155-166
- Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Fujimoto, H., Ohnishi, K., Nakashima, K., Shibutani, M., Hirose, M., Nishikawa, A. Possible contribution of rubiadin, a metabolite of madder color, to renal carcinogenesis in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 2009, 47:752-9.
- Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Fujimoto, H., Shibutani, M., Hirose, M., Nishikawa, A. Carcinogenic potential of alizarin and rubiadin, components of madder color, in a rat medium-term multi-organ bioassay. *Cancer Sci.*, 2009, 100:2261-2267.
- Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Shibutani, M., Takagi, H., Hirose, M., Nishikawa, A. Induction of kidney and liver cancers by the natural food additive madder color in a two-year rat carcinogenicity study. *Food Chem. Toxicol.*, 2009, 47: 184-191.
- Ishimaru N, Takagi A, Kohashi M, Yamada A, Arakaki R, Kanno J, Hayashi Y: Neonatal exposure to low-dose 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin causes autoimmunity due to the disruption of T cell tolerance. *J Immunol.* (2009) 15;182(10):6576-86.
- Kanno J, Kitashima S, Aizaki K, Igarashi K, Nakatsu N, Takagi A, Ogawa Y, Kodama Y: A new trial of toxicotranscriptomics by Percellome Project. *Cell Technology*, Japan, 2007 26:71-77
- Kawamoto K, Sato I, Tsuda S, Yoshida M, Yaegashi K, Saito N, Liu W, Jin Y. Ultrasonic-induced tonic convulsion in rats after subchronic exposure to perfluorooctane sulfate (PFOS). *J. Toxicol. Sci.*, 2011, 36: 55-62.
- Kawamoto K, Sato I, Yoshida M, Tsuda S. Air purifiers that diffuse reactive oxygen species potentially cause DNA damage in the lung. *J. Toxicol. Sci.*, 2010, 35: 929-933.
- Kawasaki Y, Hirabayashi Y, Kaneko T, Kanno J, Kodama Y, Matsushima Y, Ogawa Y, Saitoh M, Sekita K, Uchida O, Umemura T, Yoon BI, Inoue T. Benzene-induced hematopoietic neoplasms including myeloid leukemia in Trp53-deficient C57BL/6 and C3H/He mice, *Toxicol. Sci.*, 2009 Aug;110(2):293-306.
- Nagano, K., Gotoh, K., Kasai, T., Aiso, S., Nishizawa, T., Ohnishi, M., Ikawa, N., Eitaki, Y., Yamada, K., Arito, H. and Fukushima, S.: Two- and 13-week inhalation toxicities of indium-tin oxide and indium oxide in rats, *Journal of Occupational Health*, 2011, 53: 51-63.
- Nagano, K., Nishizawa, T., Eitaki, Y., Ohnishi, M., Noguchi, T., Arito, H. and Fukushima, S.: Pulmonary toxicity in mice by 2- and 13-week inhalation exposures to indium-tin oxide and indium oxide aerosols, *Journal of Occupational Health*, 2011: in press.
- Nagano, K., Nishizawa, T., Umeda, Y., Kasai, T., Noguchi, T., Gotoh, K., Ikawa, N., Eitaki, Y., Kawasumi, Y., Yamauchi, T., Arito, H. and Fukushima, S.: Inhalation carcinogenicity and chronic toxicity of indium-tin oxide in rats and mice, *Journal of Occupational Health*, 2011: in press.
- Sanbuisshyo, A., Yoshida, M., Hisada, S., Sagami, F., Kudo, S., Kumazawa, T., Ube, M., Komatsu, S., Ohno, Y. Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity by repeated-dose and fertility studies in female rats. *J. Toxicol. Sci.*, 2009, 34: SP1-22.
- Sato, I., Kawamoto, K., Nishikawa, Y., Tsuda, S., Yoshida, M., Yaegashi, K., Saito, N., Liu, W., Jin, Y. Neurotoxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in rats and mice after single oral exposure.

- J. Toxicol. Sci., 2009, 34: 569-74 .
- Takagi A, Hirose A, Nishimura T, Fukumori N, Ogata A, Ohashi N, Kitajima S, Kanno J.: Induction of mesothelioma in p53+/- mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. J. Toxicol. Sci., 2008 Feb;33(1):105-16.
- Takahashi M, Inoue K, Koyama N, Yoshida M, Irie K, Morikawa T, Shibutani M, Honma M, Nishikawa A. Life stage-related differences in susceptibility to acrylamide-induced neural and testicular toxicity, Arch. Toxicol., 2011. .In press.
- Takahashi, M., Inoue, K., Yoshida, M., Morikawa, T., Shibutani, M., Nihikawa A. Lack of chronic toxicity or carcinogenicity of dietary N-acetylglucosamine in F344 rats. Food Chem. Toxicol., 2009, 47: 462-471.
- Takahashi, M., Shibutani, M., Nakahigashi, J., Sakaguchi, N., Inoue, K., Morikawa, T., Yoshida, M., Nishikawa, A. Limited lactational transfer of acrylamide to rat offspring on maternal oral administration during the gestation and lactation periods. Arch. Toxicol., 2009, 83:785-93.
- Takahashi M, Yoshida M, Inoue K, Morikawa T, Nishikawa A. Age-related susceptibility to induction of osteochondral and vascular lesions by semicarbazide hydrochloride in rats. Toxicol. Pathol., 2010, 38: 598-605.
- Takahashi, M., Yoshida, M., Inoue, K., Morikawa, T., Nishikawa, A. A ninety-day toxicity study of semicarbazide hydrochloride in Wistar Hannover GALAS rats. Food Chem. Toxicol., 2009, 47:2490-8.
- Takaya, M., Serita, F., Yamazaki, K., Aiso, S., Kubota, H., Asakura, M., Ikawa, N., Nagano, K., Arito, H. and Fukushima, S.: Characteristics of Multiwall Carbon Nanotubes for an Intratracheal Instillation Study with Rats, Industrial Health, 2010, 48: 452 - 459.
- Taketa Y, Yoshida M, Inoue K, Takahashi M, Sakamoto Y, Watanabe G, Taya K, Yamate J, Nishikawa A. The newly formed corpora lutea of normal cycling rats exhibit drastic changes in steroidogenic and luteolytic gene expressions. Exp. Toxicol. Pathol., 2011. In press
- Yahia D, El-Nasser MA, Abedel-Latif M, Tsukuba C, Yoshida M, Sato I, Tsuda S. Effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) exposure to pregnant mice on reproduction. J. Toxicol. Sci., 2010, 35: 527-33.
- Yahia, D., Tsukaba, C., Yoshida, M., Sata, I., Tsuda, S.: Neonatal death of mice treated with perflurooctane sulfonate. J. Toxicol. Sci., 2008, 33: 219-226.
- Yoshida, M., Sanbuisso, A., Hisada, S., Takahashi, M., Ohno, Y., Nishikawa, A. Morphological characterization of the ovary under normal cycling in rats and its viewpoints of ovarian toxicity detection. J. Toxicol. Sci., 2009, 34: SP189-97.
- Yoshida, M., Watanabe, G., Suzuki, T., Inoue, K., Takahashi, M., Maekawa, A., Taya, K., Nishikawa, A. Long-term treatment with bromocriptine inhibits endometrial adenocarcinoma development in rats. J. Reprod. Dev., 2009, 55: 105-109 .
- Yoshida, J, Mochizuki, C., Masu, Y., Koda, S. and Kumagai, S. (2008). Use of a closed system device to reduce occupational contamination and exposure to antineoplastic drugs in hospital work environment. Ann. Occup. Hyg., 53, 153-160.
- Umeda, Y., Matsumoto, M., Aiso, S., Nishizawa, T, Nagano, K., Arito, H. and Fukushima S.: Inhalation Carcinogenicity and Toxicity of 1,2-Dichloropropane in Rats. Inhalation Toxicology: 2010,22:1116-1126
- 久保田久代, 鷹屋光俊, 芹田富美雄, 甲田茂樹(2010) プラスティック材料に含まれるナノ添加剤の透過電子顕微鏡観察－粉体塗料を試料とした試料調製－. 労働安全衛生研究 3, p125-128.

甲田茂樹. 知っておきたいこんな用語 (ナノマテリアル, 予防的アプローチ). 安全衛生のひろば. 第5号, p.22-23. 2010年

甲田茂樹. ナノマテリアル取り扱いと労働衛生管理. 巨理文夫監修. ナノ材料のリスク評価と安全性対策—生体・環境への影響, 安全性対策・国内外動向—. フロンティア出版. 東京 2010年 p237-241

甲田茂樹 (2009) ナノマテリアル取り扱いと労働衛生の課題、労働の科学、第64巻第4号 205-207.

○酒井俊男、相磯成敏、F 阪大 H21-114、超高圧電子線トモグラフィーを用いた気管内投与された多層カーボンナノチューブの肺内動態に関する研究：阪大複合機能ナノファウンダリ研究報告書、第2巻 (2009年) p98-99

鷹屋光俊、芹田富美雄、小野真理子、篠原也寸志、齋藤宏之、甲田茂樹(2010) 多層カーボンナノチューブ製造工場における気中粒子及び炭素分析 1—袋詰め作業—。産業衛生学雑誌 52, p182-188.

福島昭治、浅倉眞澄、相磯成敏、長野嘉介：多層カーボンナノチューブの有害性情報、ナノ材料の安全性 (「ナノ材料の安全性」編集委員会編)、pp.69-94、シーエムシー出版、東京(2010)。

## 2 学会発表

○ Kanno, J, Takagi, A, Hirose, A, Nishimura, T, Fukumori, N, Ogata, A, Ohashi, N, and Kitajima, S: Induction of mesothelioma in p53<sup>+/-</sup> mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube, The 5th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX V), 2009.9.12, Taipei,

○ Kanno, J, Takagi, A, Nishimura, T, Hirose, A: Long-term animal testing of nanoparticles for detection of chronic toxicity, 4th International Conference on Nanotechnology - Occupational and Environmental Health(NanOEh2009), 2009.8.28, Helsinki, Finland

○ Kanno, J, Takagi, A, Nishimura, T,

Hirose, A: Mesothelioma induction by micrometer-sized multi-wall carbon nanotube intraperitoneally injected to p53 heterozygous mice. the 49th Annual Meeting of the Society of Toxicology, 2010.3.9, Salt Lake City, USA

Midori Yoshida, Atsushi Sanbuissho, Shigeru Hisada, Michihito Takahashi, Yasuo Ohno, Akiyoshi Nishikawa: Collaborative work to evaluate ovarian toxicity by repeated dose and female fertility studies in rats: Morphological characteristics of normal cycling ovary in rats and their viewpoints for ovarian toxicity detection. 2009, 49th Annual Meeting & ToxExpo

Midori Yoshida, Naoki Koyama, Kaoru Inoue, Miwa Takahashi, Youhei Sakamoto, Yoshikazu Taketa, Yoshiya Shimada, Akiyoshi Nishikawa: Early depletion of ovarian follicles by prepubertal exposure to gamma ray promotes rat uterine cancer development. 2009年、第68日本癌学会学術総会

○ Polouliakh N, Matsuoka Y, Ghosh S, Nock R, Nielsen F, Kitajima S, Takagi A, Aisaki K.I, Kanno J, Kitano H, Signaling network in Mouse Embryonic Stem Cells The 9th International Conference on Systems Biology, Aug. 22-28, 2008, Sweden, poster

○ TAKAGI, A, KITAJIMA, S, NAKATSU, N, IGARASHI, K, AISAKI, K, EMA, M AND KANNO, J: Quantitative microarray analysis by "Percellome" method on murine embryonic stem cells and embryoid bodies, 47th Annual Meeting of Society of Toxicology, 2008. 3. USA

Yoshida, M., Maekawa A. and Nishikawa, A.: Neonatal exposure to DES induces dose-dependent delayed effects at doses showing estrogenic activity in female Donryu rats. 2008, 47th Annual Meeting and ToxExpo. 2008.

Yoshida, M., Tsuzuki, N., Watanabe, E., Ozawa, S., Suzuki, K. and Nishikawa, A.: Dog and mouse studies: Merits in risk assessment of pesticides in Japan. 2008年 第35回日本トキシコロジー学会学術年会.

- 相磯成敏、梅田ゆみ、妹尾英樹、高信健司、長野嘉介、福島昭治：複層カーボンナノチューブの単回気管内投与によるラットの肺毒性、2010年、第26回日本毒性病理学会
- 相磯成敏、梅田ゆみ、山崎一法、大林久雄、長野嘉介、福島昭治：多層カーボンナノチューブを単回気管内投与したラットにみられた肺病変、2009年、第24発癌病理研究会
- 相磯成敏、梅田ゆみ、山崎一法、長野嘉介、戸谷忠雄、久保田久代、鷹屋光俊、甲田茂樹、有藤平八郎、福島昭治：ラットに単回強制気管内投与した多層カーボンナノチューブの気管支周囲リンパ組織と縦隔部リンパ節への移行と病理組織変化、2010年、第83回日本産業衛生学会
- 相磯成敏、梅田ゆみ、山崎一法、長野嘉介、戸谷忠雄、鷹屋光俊、甲田茂樹、有藤平八郎、福島昭治：多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の単回強制気管内投与によるラットの肺及び肺外への影響：I 病理学的検索、2009年、第82回日本産業衛生学会
- 相磯成敏、笠井辰也、西沢共司、加納浩和、山崎一法、梅田ゆみ、妹尾英樹、長野嘉介、福島昭治：発がん標的臓器としての鼻腔の重要性、2011年、文部科学省科学研究費補助金がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ
- 相磯成敏、斎藤美佐江、妹尾英樹、高信健司、梅田ゆみ、戸谷忠雄、長野嘉介、福島昭治：気管内投与した多層カーボンナノチューブの体内動態、2010年、第25発癌病理研究会
- 浅倉真澄、長野嘉介、有藤平八郎、福島昭治：多層カーボンナノチューブの培養細胞を用いる細胞毒性および変異原性-クリソタイトルとの比較-、2009年、第82回日本産業衛生学会
- 浅倉真澄、杉山淑江、長野嘉介、有藤平八郎、福島昭治：アスベストによる細胞形質転換と倍数性誘発、2009年、第38回日本環境変異原学会
- 浅倉真澄、長野嘉介、有藤平八郎、福島昭治：多層カーボンナノチューブの培養細胞を用いる小核試験及び細胞形質転換試験、2010年、第83回日本産業衛生学会
- 浅倉真澄、長野嘉介、有藤平八郎、福島昭治：多層カーボンナノチューブの遺伝毒性試験および細胞形質転換試験、2010年、第39回日本環境変異原学会
- 五十嵐勝秀、小川幸男、笠井辰也、長野嘉介、北嶋 聡、相崎健一、菅野 純：シックハウス指針値レベルの経気道暴露による遺伝子発現変化の Percellome 解析、2008年、第35回日本トキシコロジー学会学術年会
- 小野真理子、鷹屋光俊、甲田茂樹、他：作業環境中のフラーレンの HPLC による定量、第48回労働衛生工学会、2008年11月
- 片桐卓、高信健司、妹尾英樹、梅田ゆみ、相磯成敏、長野嘉介、福島昭治：多層カーボンナノチューブで処理した培養細胞(ChL1U細胞、BALB/c3T3細胞)の走査電子顕微鏡による観察、2010年、第27回日本毒性病理学会
- 菅野 純、相崎健一、北嶋 聡、五十嵐勝秀、種村健太郎、小川幸男、関田清司、肝障害性薬剤による初期遺伝子発現応答の Percellome 解析、2009年3月28日、薬学会第129年会
- 菅野 純、高木篤也、広瀬明彦、小縣昭夫、北嶋聡：多層カーボンナノチューブの p53 ヘテロ欠失マウス腹腔内投与による中皮腫の誘発、2009年5月3日、第98回日本病理学会総会
- 菅野 純、広瀬明彦、高木篤也：ナノマテリアルの毒性試験、毒性評価、2008年3月28日、日本薬学会第128年会
- 久保田久代、芹田富美雄、甲田茂樹、鷹屋光俊 (2010) 粉体塗料に含まれるナノ粒子の走査型及び透過型電子顕微鏡による形態観察、第83回日本産業衛生学会、産業衛生学雑誌 (suppl.) 52, p384.
- 甲田茂樹、鷹屋光俊、他：ナノマテリアル取扱いと職場での労働衛生管理について-企業へのアンケート調査結果から-、第48回労働衛生工学会、2008年11月
- 甲田茂樹、他：アンケート調査から伺えるナノマテリアル取扱い職場における労働衛生

管理の課題について、第 82 回日本産業衛生学会、2009 年 5 月

妹尾英樹、高信健司、梅田ゆみ、片桐卓、相磯成敏、長野嘉介、福島昭治：1-プロモ-3-クロロプロパンの 13 週間吸入曝露によるラットとマウスの鼻腔病変：2011 年、第 27 回日本毒性病理学会

芹田富美雄、甲田茂樹、他：多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の単回強制気管内投与によるラットの肺及び肺外への影響：II. 気管注入時の投与物質及び肺内 MWCNT の SEM 観察、第 82 回日本産業衛生学会、2009 年 5 月

○芹田富美雄、鷹屋光俊、久保田久代、甲田茂樹、相磯成敏、山崎一法、長野嘉介、有藤平八郎、福島昭治：多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の単回強制気管内投与によるラットの肺及び肺外への影響：II 気管注入時の投与物質及び肺内 MWCNT の SEM 観察、2009 年、第 82 回日本産業衛生学会

高木篤也、北嶋聡、五十嵐勝秀、相崎健一、江馬眞、菅野純、Percellome 手法を用いた TCDD 投与マウスの胎児口蓋の遺伝子発現解析、第 37 回日本トキシコロジー学会 学術年会(2010.6.17) (沖縄)、口演

○高木篤也、広瀬明彦、西村哲治、福森信隆、小縣昭夫、大橋則雄、北嶋 聡、菅野 純：p53+/-マウス腹腔内投与による多層型カーボンナノチューブの中皮腫誘発作用について、2008 年、第 35 回日本トキシコロジー学会学術年会

○高信健司、相磯成敏、梅田ゆみ、妹尾英樹、片桐卓、長野嘉介、福島昭治：気管内投与による多層カーボンナノチューブの脳内移行：2011 年、第 27 回日本毒性病理学会

高信健司、妹尾英樹、梅田ゆみ、相磯成敏、長野嘉介、福島昭治：F344 ラットにみられた悪性エナメル上皮腫の一例、2010 年、第 26 回日本毒性病理学会

鷹屋光俊、甲田茂樹、他：ナノ材料取扱職場の環境測定、職場における粒子測定装置の評価と電子顕微鏡観察、第 82 回日本産業衛生学会、2009 年 5 月

鷹屋光俊、甲田茂樹、他：フラーレン取り扱い職場の空気中粒子濃度と空気中粒子形状の電子顕微鏡観察、第 48 回労働衛生工学会、2008 年 11 月

○広瀬明彦、高木篤也、西村哲治、菅野 純：ナノマテリアルの慢性影響研究の重要性、2009 年 7 月 8 日、第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会

○広瀬明彦、高木篤也、西村哲治、津田洋幸、坂本義光、小縣昭夫、中江 大、樋野興夫、菅野 純：ナノマテリアルの慢性影響、2010 年、日本薬学会第 130 年会

山本雅也、化審法ガイドラインの主な変更点とその背景、第 20 回生殖・発生毒性学東京セミナー (2011 年 3 月、東京)

吉田緑、井上薫、高橋美和、西川秋佳ケ正常性周期におけるラット卵巣の形態学的特徴。2009 年、第 25 回日本毒性病理学会

○吉田緑、河部真弓、古川文夫、井上薫、高橋美和、広瀬明彦、西川秋佳：酸化チタン曝露ラットの肺の経時的変化とチタンの局在。2010 年、第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会

吉田緑、武田賢和、島田義也、井上薫、森川朋美、高橋美和、坂本洋平、渡辺元、田谷一善、西川秋佳：未成熟期の放射線照射による小卵胞の経時的変化 2010 年 第 26 回日本毒性病理学会

吉田緑：生殖発生毒性の評価法：現状と問題点 2009 年、第 10 回日本トキシコロジー学会生涯教育講習会

吉田緑：通常の反復投与の動物試験による化学物質の雌性生殖器系への影響評価。2009 年、第 3 回 In vivo 実験医学シンポジウム

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## Ⅱ. 分担研究報告書