

- 康央, 角田慎一: ヒトの健康確保を目指したカーボンナノチューブの生体影響評価., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
21. 山下浩平, 吉岡靖雄, 伊藤徳夫, 堤 康央: 安全性確保を目指したナノマテリアルの生殖発生影響評価., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 22. 吉田徳幸, 吉川友章, 鍋師裕美, 堤 康央: 非晶質ナノシリカの経口曝露における安全性評価., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 23. 吉川友章, 吉田徳幸, 栃木彩恵子, 市橋宏一, 平井敏郎, 宇治美由紀, 赤瀬貴憲, 鍋師裕美, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎一, 吉岡靖雄, 伊藤徳夫, 堤 康央: 安全な非晶質ナノシリカの創製に向けた基礎情報の集積., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 24. 平井敏郎, 吉川友章, 吉田徳幸, 栃木彩恵子, 宇治美由紀, 市橋宏一, 赤瀬貴憲, 鍋師裕美, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎一, 吉岡靖雄, 伊藤徳夫, 堤 康央: 非晶質ナノシリカの皮内曝露とアトピー性皮膚炎の発症・悪化との関連追求., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 25. 宇治美由紀, 吉川友章, 吉田徳幸, 栃木彩恵子, 平井敏郎, 市橋宏一, 赤瀬貴憲, 鍋師裕美, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎一, 吉岡靖雄, 伊藤徳夫, 堤 康央: 非晶質ナノシリカの消化管吸収性と生体影響との基礎的解析., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 26. 市橋宏一, 吉川友章, 吉田徳幸, 栃木彩恵子, 平井敏郎, 宇治美由紀, 赤瀬貴憲, 鍋師裕美, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎一, 吉岡靖雄, 伊藤徳夫, 堤 康央: 非晶質ナノシリカを経鼻接種した際の生体影響の評価., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 27. 吉岡靖雄, 東阪和馬, 山下浩平, 森下裕貴, 藤村真穂, 潘 慧燕, 小椋健正, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 鍋師裕美, 吉川友章, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性評価に資するバイオマーカーの探索., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 28. 森下裕貴, 吉岡靖雄, 山下浩平, 東阪和馬, 藤村真穂, 潘 慧燕, 小椋健正, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 鍋師裕美, 吉川友章, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルの次世代影響評価に向けた非晶質ナノシリカの精巢機能障害性評価., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 29. 潘 慧燕, 吉岡靖雄, 山下浩平, 東阪和馬, 藤村真穂, 森下裕貴, 小椋健正, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 青島央江, 高島重和, 鍋師裕美, 吉川友章, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: 経口ナノ医薬の開発を目指した C60 フラーレンの安全性評価., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 30. 小椋健正, 吉岡靖雄, 山下浩平, 東阪和馬, 森下裕貴, 藤村真穂, 潘 慧燕, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 田代克久, 川端健二, 水口裕之, 鍋師裕美, 吉川友章, 伊藤徳夫, 角田慎一, 堤 康央: ES 細胞を用いたナノマテリアルの in vitro 発生毒性評価に関する基礎的検討., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 31. 内海雄太, 小野寺章, 陶山裕平, 吉岡靖雄, 吉川友章, 真弓忠範, 堤 康央, 河合裕一: ナノシリカはマウス精子頭部に結合し特有の毒性を発現させる., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.
 32. 陶山裕平, 小野寺章, 内海雄太, 吉岡靖雄, 吉川友章, 真弓忠範, 堤 康央, 河合裕一: ナノシリカの電荷制御によるマウス精子へのナノ毒性軽減., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡), 2011 年 3 月.

2011年3月.

33. 李 相儒, 渡利彰浩, 近藤昌夫, 堤 康央, 八木清仁 : 脂肪肝マウスに対するナノシリカの影響., 日本薬学会 第 131 年会, 静岡 (静岡) , 2011年3月.

【国際学会発表 : 合計 13 件】

1. Yoshioka Y., Morishige T., Inakura H., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S. : Silica particle, major component of Asian dust, induces IL-1 β production through NALP3 activation mediated by cathepsin B ., The Asia/Pasific Chapter of Enviromental Toxicology and Chemistry 2010 Conferece (SETAC)., Cuangzhou (China), 4-7 June, 2010.
2. Higashisaka K., Yoshioka Y., Yamashita K., Morishita Y., Yoshida T., Fujimura M., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Yoshikawa T., Tsutsumi Y. : Development of biomarkers for the safety scientific assessment of nanosilica, major component of Asian dust., The Asia/Pasific Chapter of Enviromental Toxicology and Chemistry 2010 Conferece (SETAC)., Cuangzhou (China), 4-7 June, 2010.
3. Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Morishita Y., Yoshida T., Fujimura M., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Yoshikawa T., Tsutsumi Y. : The safety scientific assessment of reproductive and developmental toxicity of nanosilica, major component of Asian dust, The Asia/Pasific Chapter of Enviromental Toxicology and Chemistry 2010 Conferece (SETAC)., Cuangzhou (China), 4-7 June, 2010.
4. Morishita Y., Yoshioka Y., Yamashita K., Higashisaka K., Yoshida T., Fujimura M., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Yoshikawa T., Tsutsumi Y. : Distribution analysis of nanosilica, major component of Asian dust, to the testis for the safety scientific assessment, The Asia/Pasific Chapter of Enviromental Toxicology and Chemistry 2010 Conferece (SETAC)., Cuangzhou (China), 4-7 June, 2010.
5. Yoshioka Y., Morishige T., Tsunoda S., Mukai Y., Okada N., Tsutsumi Y., Nakagawa N. : Safety assessment of nanomaterials: inflammatory responses of nanosilica with different sizes and surface properties., The XII International Congress of Toxicology., Barcelona (Spain), 19-23 July, 2010.
6. Yoshikawa T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Itoh N., Tsunoda S-I., Tsutsumi Y. : Safety evaluation of amorphous nanosilica when given as a single intravenous dose to mice., The XII International Congress of Toxicology., Barcelona (Spain), 19-23 July, 2010.
7. Hirai T., Yoshikawa T., Nabeshi H., Tochigi S., Akase T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Amorphous nanosilicas induce size-dependent effect on antigen-presentation in murine dendritic cell line., 14th International Congress of Immunology., Kobe (Japan), 22-27 Aug, 2010
8. Yoshikawa T., Nabeshi H., Itoh N., Yoshioka Y., Tsutsumi Y.: Amorphous nanosilica induces class I-restricted

- processing and presentation of exogenous antigens in murine dendritic cells., The 4th World Congress on Controversies in Urology (CURy2011), Paris (France). 27-30 January, 2011.
9. Yoshida T., Yoshikawa Y., Tochigi S., Hirai T., Uji M., Nabeshi H., Itoh N., Yoshioka Y., Tsutsumi Y. : Effect of oral exposure of amorphous nanosilica on antigen-specific immune responses in the presence of chicken egg ovalbumin., SOT 2011, Washington, DC (USA). 6-10 March, 2011.
 10. Hirai T., Yoshikawa Y., Yoshida Y., Nabeshi H., Tochigi S., Uji M., Imazawa T., Itoh N., Yoshioka Y., Tsutsumi Y. : Size-dependent immune-modulating effect of amorphous nanosilica., SOT 2011, Washington, DC (USA). 6-10 March, 2011.
 11. Yoshioka Y., Higashisaka K., Yamashita K., Fujimura M., Morishita Y., Huiyan P., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Tsutsumi Y. : Acute phase proteins as biomarkers for predicting the exposure and safety of nanomaterials., SOT 2011, Washington, DC (USA). 6-10 March, 2011.
 12. Morishita Y., Yoshioka Y., Yamashita K., Higashisaka K., Fujimura M., Ogura T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Nabeshi H., Itoh N., Yoshikawa T., Tsutsumi Y. : Distribution in the testis and reproductive effects of nanosilica., SOT 2011, Washington, DC (USA). 6-10 March, 2011.
 13. Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Fujimura M., Morishita Y., Huiyan P., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Tsutsumi Y. : Biodistribution and reproductive toxicity of nanosilica for ensuring the safety of nanomaterials., SOT 2011, Washington, DC (USA). 6-10 March, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

①特許取得

該当無し

②実用新案登録

該当無し

その他

1. 2010年11月8日付けの日本経済新聞11面に、ナノマテリアルの安全性評価研究の成果が掲載された。
2. ナノトキシコプロテオームに関する論文 (Biomaterials., 32(1):3-9, 2011.) が、Leading Opinion Paper にセレクトされる。
3. 2011年2月25日付けの日刊工業新聞3面にナノマテリアルの安全性評価研究の成果が掲載された。

研究協力者

大阪大学薬学研究科毒性学分野 (職員4名・大学院生/学生14名) : 伊藤徳夫、吉川友章、橋野修代、鍋師裕美、赤瀬貴憲、山下琢矢、山下浩平、吉田徳幸、金崎聡一郎、平井敏郎、古屋剛、森下裕貴、潘慧燕、宇治美由紀、小椋健正、前田祐香、市橋宏一、三浦直樹

大阪大学臨床医工学融合研究教育センター (職員1名) : 吉岡靖雄

独立行政法人医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクト (職員8名) : 角田慎一、鎌田春彦、今澤孝喜、阿部康弘、長野一也、森功美子、井上雅己、趨秀麗

尚、当該申請研究は、日本化粧品工業連合会・日本化粧品学会、ナノマテリアル製造メーカー (パナソニックエレクトロニクス株式会社、日本PIIロジック株式会社、日産化学工業株式会社)、ナノマテリアルを活用した化粧品メーカー (ヒタチ C60 バイオサイエンス株式会社) やその販売会社 (三菱商事) のサポートを受けて実施するものである。

研究協力機関

(ナノマテリアルの細胞内・体内微量同定・定量新技術)

SPRING8 (財団法人高輝度光科学研究センター ; JASRI)

- ・走査型X線分光顕微鏡によるナノマテリアルの蛍光X線イメージング (細胞内・組織内局在解析)、
- ・蛍光X線分析によるナノマテリアルの微量元素分析 (細胞内・組織内ナノマテリアル同定)

株式会社日立ハイテクノロジーズ/日東分析センター

- ・エネルギー分散型X線検出器付き透過型電子顕微鏡 (ナノマテリアルの細胞局在解析)

財団法人日本食品分析センター

- ・誘導結合高周波プラズマ発光分光および質量分析法 (ICP-AES、ICP-MS ; 組織移行量の定量)

独立行政法人医薬基盤研究所

- ・エネルギー分散型X線検出器付き走査型電子顕微鏡 ; SEM-EDX (ナノマテリアルの表面性状解析、電顕病理)

株式会社イワテク

- ・曝露実態解析用標識ナノマテリアルの作製

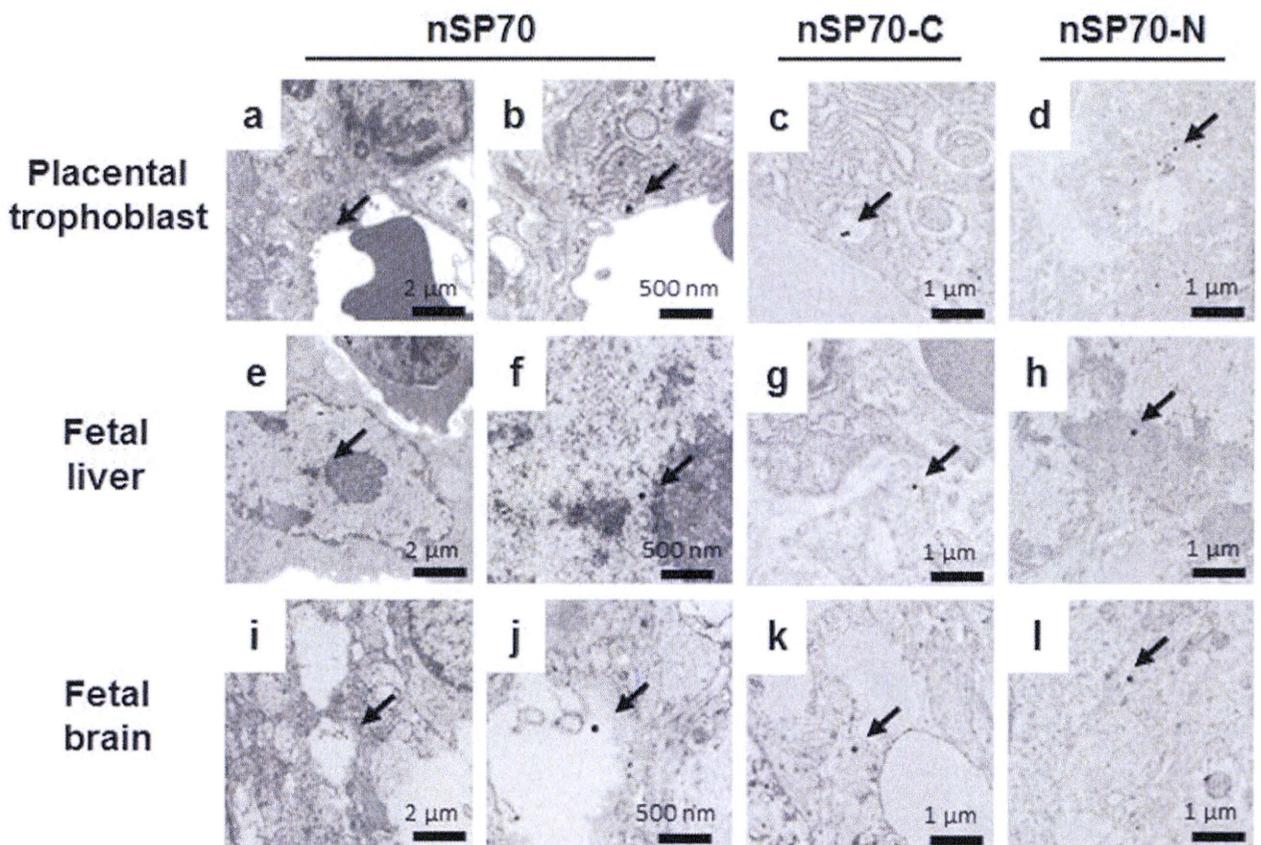


図1. 非晶質シリカの体内動態評価。妊娠16日目のBALB/cマウスにnSP70 (a,b,e,f,i,j)、nSP70-C (c,g,k) およびnSP70-N (d,h,l) を、0.8 mg/匹で尾静脈内より2日間連続で投与した。最終投与から24時間後に胎盤 (a-d)、胎児肝臓 (e-h)、胎児脳 (i-l) を回収した。これら組織から超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡により各種ナノマテリアルの局在を解析した。

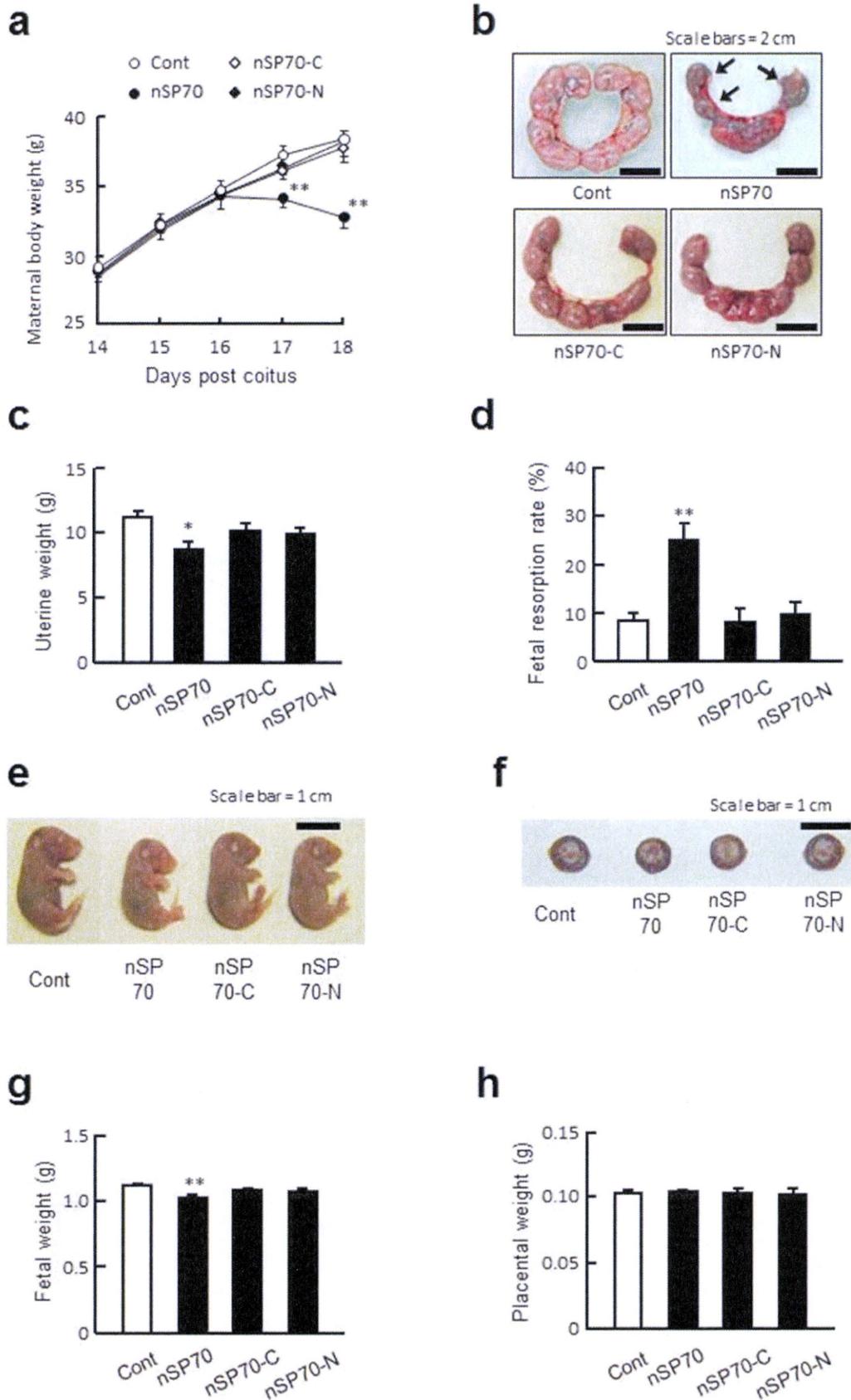


図2. 表面修飾による胎児毒性の回避。妊娠16日目のBALB/cマウスにnSP70、nSP70-C、nSP70-Nを0.8 mg/匹で尾静脈内より2日間連続で投与した。母体体重は妊娠14日目より経日的に測定した (a)。最終投与から24時間後に子宮 (b)・胎児 (e)・胎盤 (f) を回収し、子宮重量 (c)、胎児吸収率 (d)、胎児重量 (g)、胎盤重量 (h) を測定した。 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ versus value for control by ANOVA

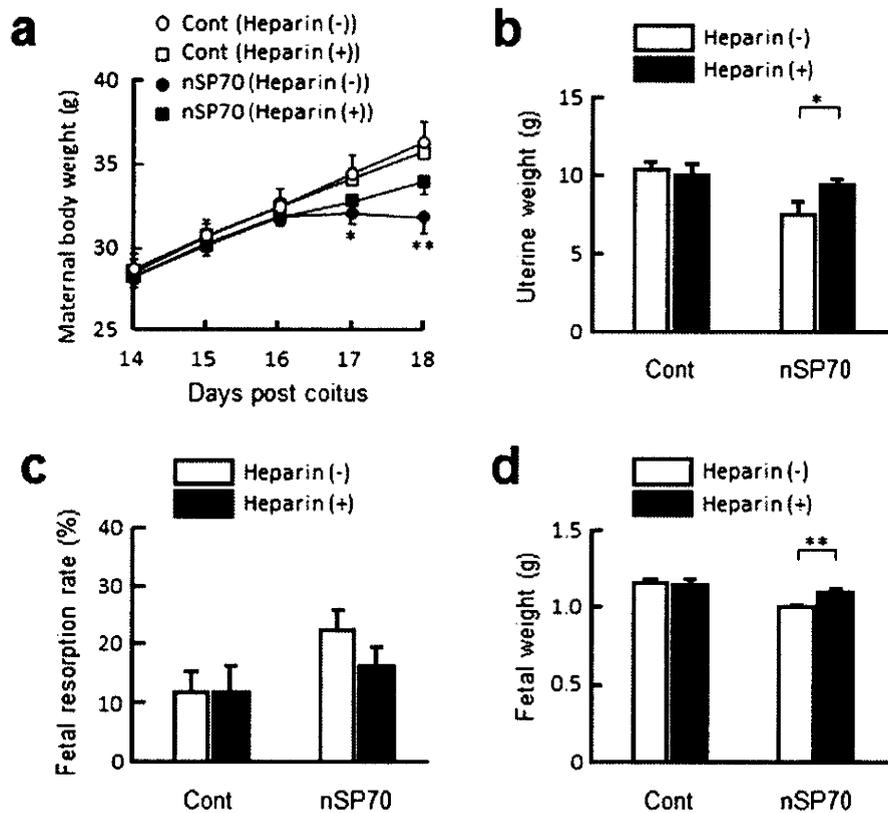


図3. ヘパリン投与による胎仔毒性への影響評価。妊娠16日目のBALB/cマウスにnSP70を0.8 mg/匹で尾静脈内より2日間連続で投与した。また、nSP70投与前後3時間にヘパリンを10 IU/匹で腹腔内投与した。母体体重は経日的に測定した (a)。最終投与から24時間後に子宮を回収し、子宮重量 (b)、胎仔吸収率 (c)、胎仔重量 (d) を測定した。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ by Student's *t*-tests (b,d) and ANOVA (a)

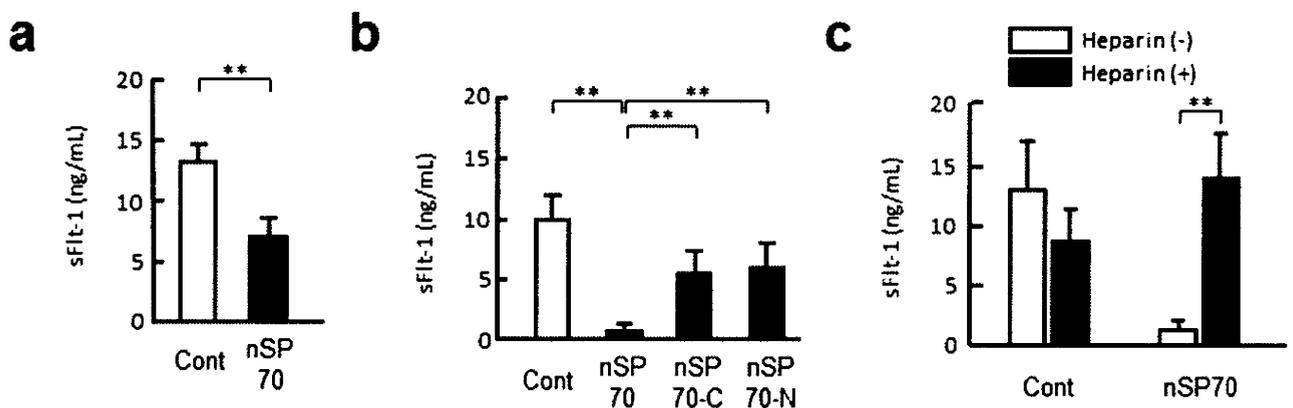


図4. ナノマテリアル投与による血漿中sFlt-1量の変化。妊娠16日目のBALB/cマウスにnSP70、nSP70-C、nSP70-Nを0.8 mg/匹で尾静脈内より2日間連続で投与した。また、nSP70投与前後3時間にヘパリンを10 IU/匹で腹腔内投与した。最終投与から24時間後に心臓より血液を回収し、sFlt-1濃度をELISAにより測定した。** $P < 0.01$ by Student's *t*-tests (a,c) and ANOVA (b)

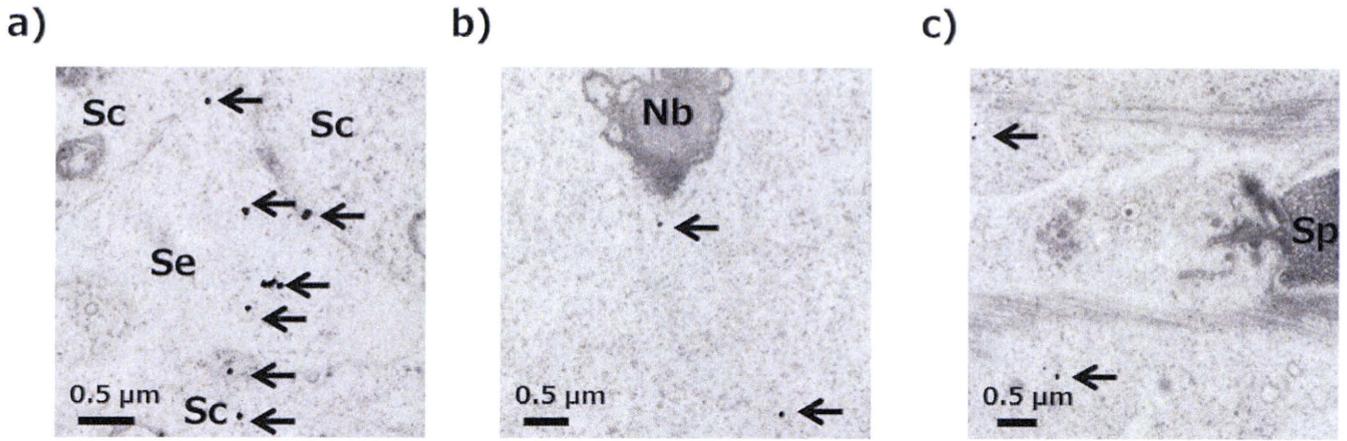


図5. 透過型電子顕微鏡観察による非晶質ナノシリカの精巣移行性の検討

0.8 mgのnSP300、nSP70もしくは生理食塩水を2日連続でマウスに尾静脈内投与し、最終投与24時間後の精巣を透過型電子顕微鏡により観察した。(a) nSP70が精母細胞やセルトリ細胞内に認められた。(b) nSP70が精母細胞の核内に認められた。(c) nSP70が精子近傍に認められた。nSP300投与群や生理食塩水投与群の精巣ではこれらの粒子は観察されなかった。Sc：精母細胞、Se：セルトリ細胞、Nb：核小体、Sp：精子。黒矢印はnSP70を示す。

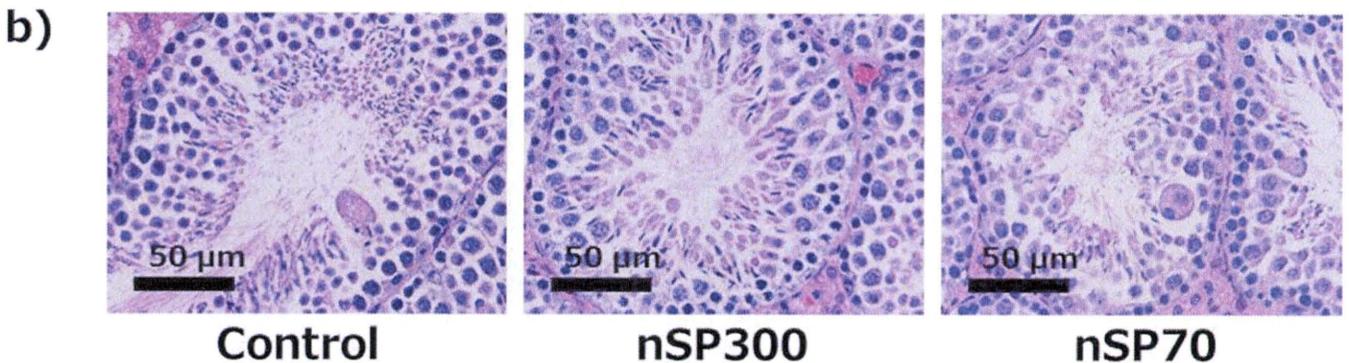
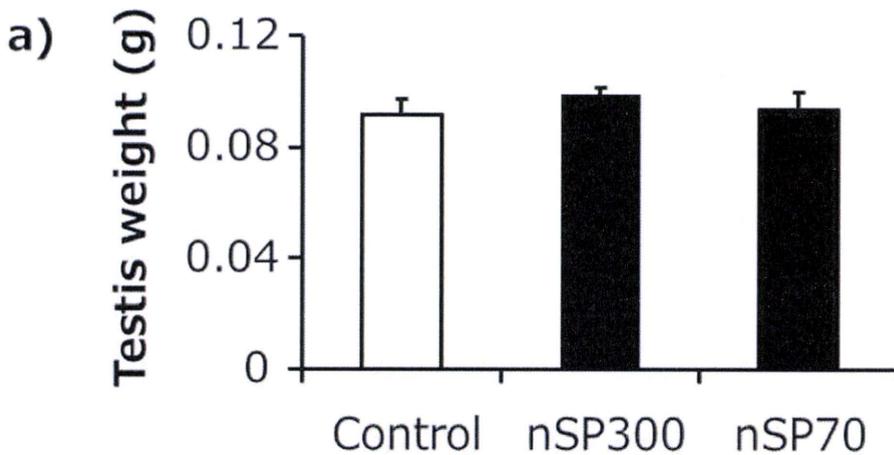


図6. 非晶質ナノシリカの精巣傷害性の検討

0.8 mgのnSP300、nSP70もしくは生理食塩水を2日連続でマウスに尾静脈内投与し、最終投与24時間後の精巣の重量を測定すると共に、病理組織学的に解析した。(a) 対照群と比較して、非晶質ナノシリカ投与群の精巣重量に差は認められなかった。(b) 対照群と比較して、非晶質ナノシリカ投与群の精巣の組織所見に差は認められなかった。

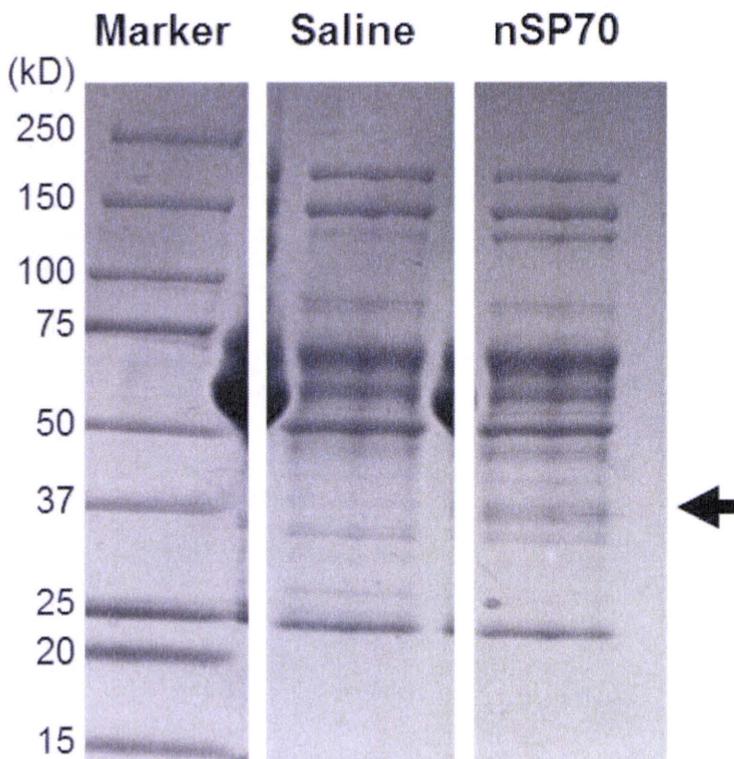


図7. プロテオミクスによる発現変動蛋白質の解析
BALB/ c マウスに、nSP70を0.8 mg/mouseで尾静脈より単回投与し、24時間後に血液、及び血漿を回収した後、SDS-PAGEにより発現変動蛋白質を評価した。矢印で示した部位のバンドを切り出し、LC/TOF/MSにより対応する蛋白質を同定した。

表1. LC/TOF/MSにより同定された安全性評価マーカーの候補蛋白質

Band after treatment with saline	Band after treatment with nSP70
Alpha-2-macroglobulin	Alpha-2-macroglobulin
Complement C3	Haptoglobin
H-2 class I histocompatibility antigen, Q10 alpha chain	Complement C3
Serotransferrin	H-2 class I histocompatibility antigen, Q10 alpha chain
Hemoglobin submit beta-1	Hemoglobin submit beta-2
Hemoglobin submit beta-2	Alpha-1-acid glycoprotein 1

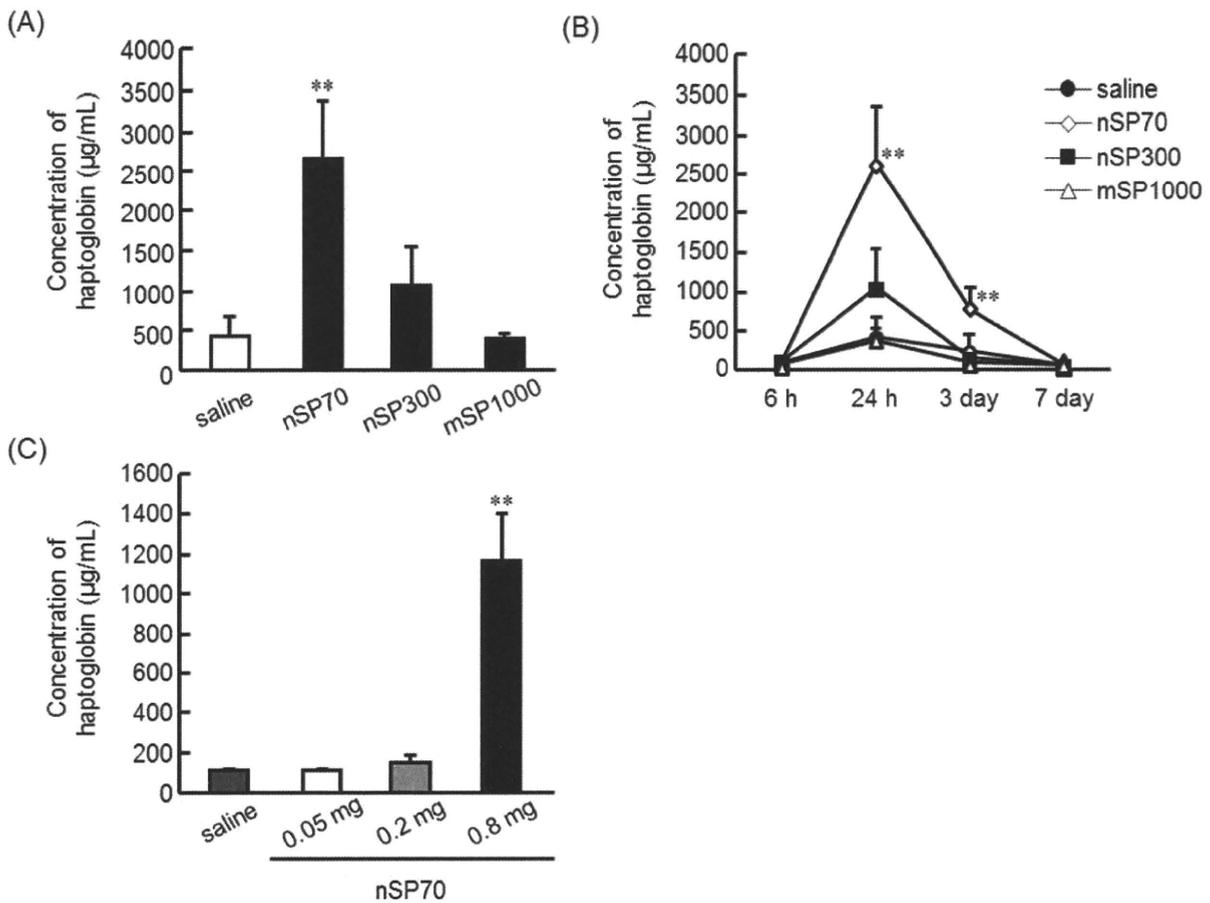


図8. 非晶質シリカ曝露後の血中haptoglobin量の測定

(A) 非晶質シリカ曝露後の血中haptoglobin量の定量解析。BALB/cマウスにnSP70、nSP300、mSP1000をそれぞれ0.8 mg/mouseで尾静脈投与し、投与後24時間における血中haptoglobin量をELISAにより測定した。

(B) 非晶質シリカ曝露後の血中haptoglobin量の経時的解析。BALB/cマウスにnSP70、nSP300、mSP1000をそれぞれ0.8 mg/mouseで尾静脈投与し、投与後6時間、24時間、3日、7日における血中haptoglobin量をELISAにより測定した。

(C) 血中haptoglobin量の非晶質ナノシリカ投与量依存性。BALB/cマウスにnSP70を各投与量（0.05 mg/mouse、0.2 mg/mouse、0.8 mg/mouse）で尾静脈投与し、投与後24時間における血中haptoglobin量をELISAにより測定した。

Data are presented as mean \pm SD (n = 5-6; ** $P < 0.01$ versus value for saline-treated group by ANOVA).

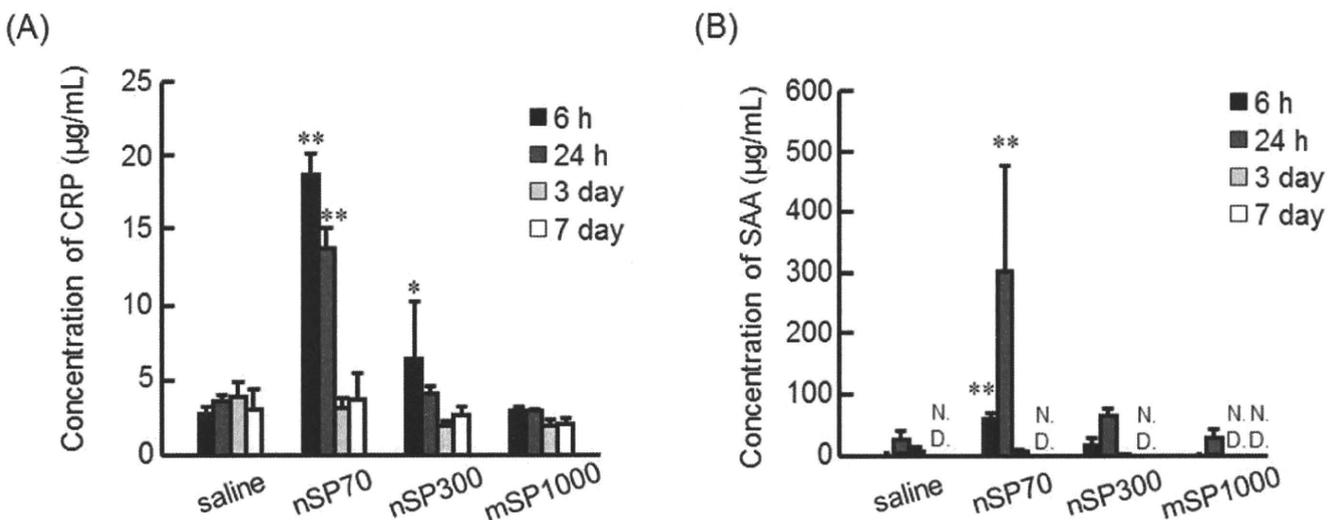


図9. 血中急性期蛋白質の発現変動解析

BALB/cマウスにnSP70、nSP300、mSP1000をそれぞれ0.8 mg/mouseで投与し、投与後6時間、24時間、3日、7日における血中CRP (A)、SAA (B)量をELISAにより測定した。Data are presented as mean \pm SD (n = 5-6; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ versus value for saline-treated group by ANOVA; N.D., not detected).

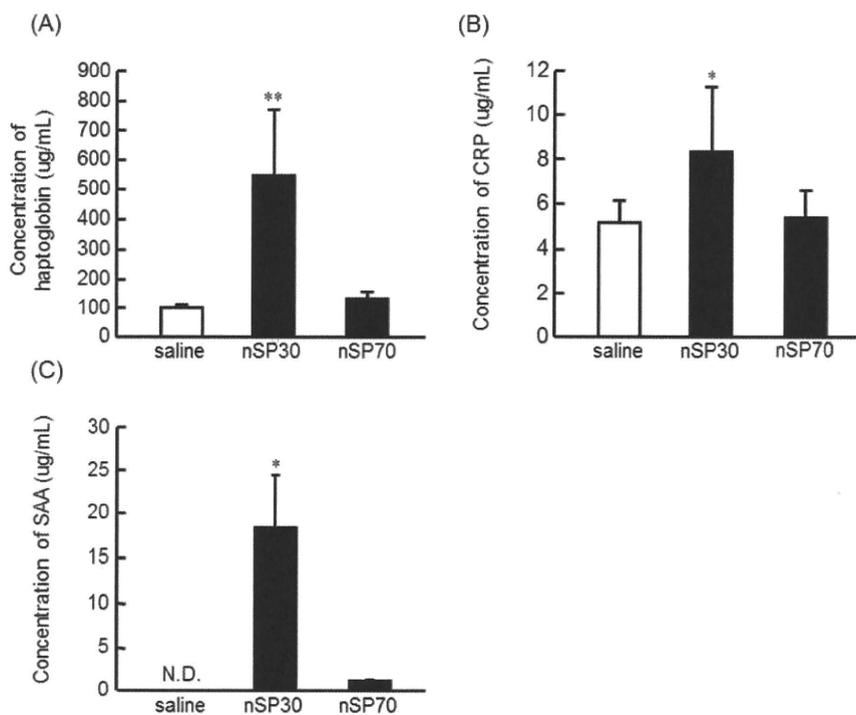


図10. 様々な経路からの非晶質シリカ曝露による血中急性期蛋白質の発現変動解析

BALB/c マウスにnSP30、nSP70をそれぞれ0.5 mg/mouseで経鼻投与し、投与後24時間における血中haptoglobin (A)、CRP (B)、SAA (C) 量をELISAにより測定した。Data are presented as mean \pm SD (n = 5-6; * P < 0.05, ** P < 0.01 versus value for saline-treated group by ANOVA; N.D., not detected).

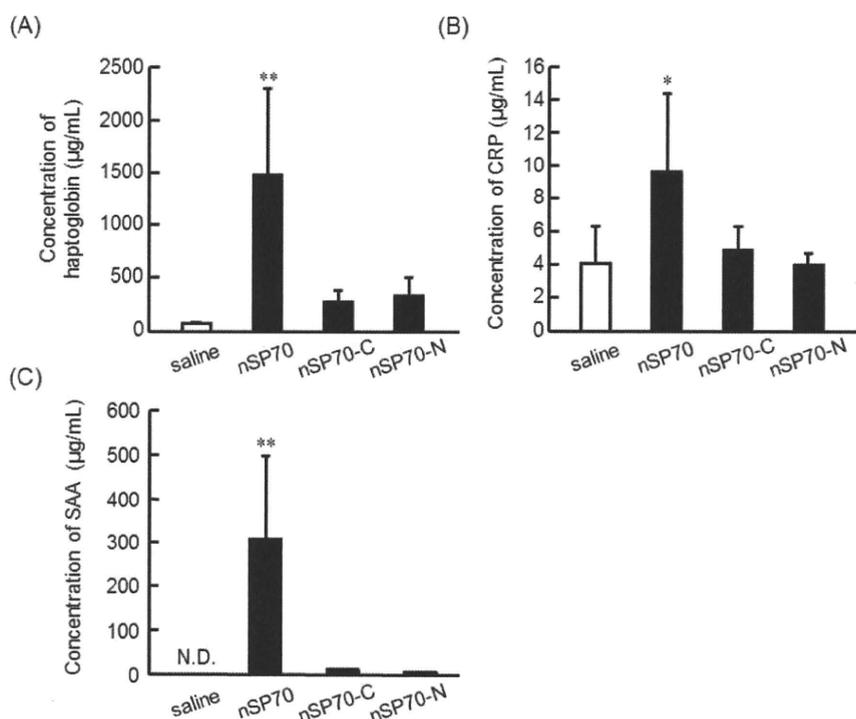


図11. 表面修飾を施した非晶質シリカ曝露による血中急性期蛋白質の発現変動解析

BALB/c マウスにnSP70、nSP70-C、nSP70-Nをそれぞれ0.8 mg/mouseで尾静脈投与し、投与後24時間における血中haptoglobin (A)、CRP (B)、SAA (C) 量をELISAにより測定した。Data are presented as mean \pm SD (n = 5-6; * P < 0.05, ** P < 0.01 versus value for saline-treated group by ANOVA; N.D., not detected).

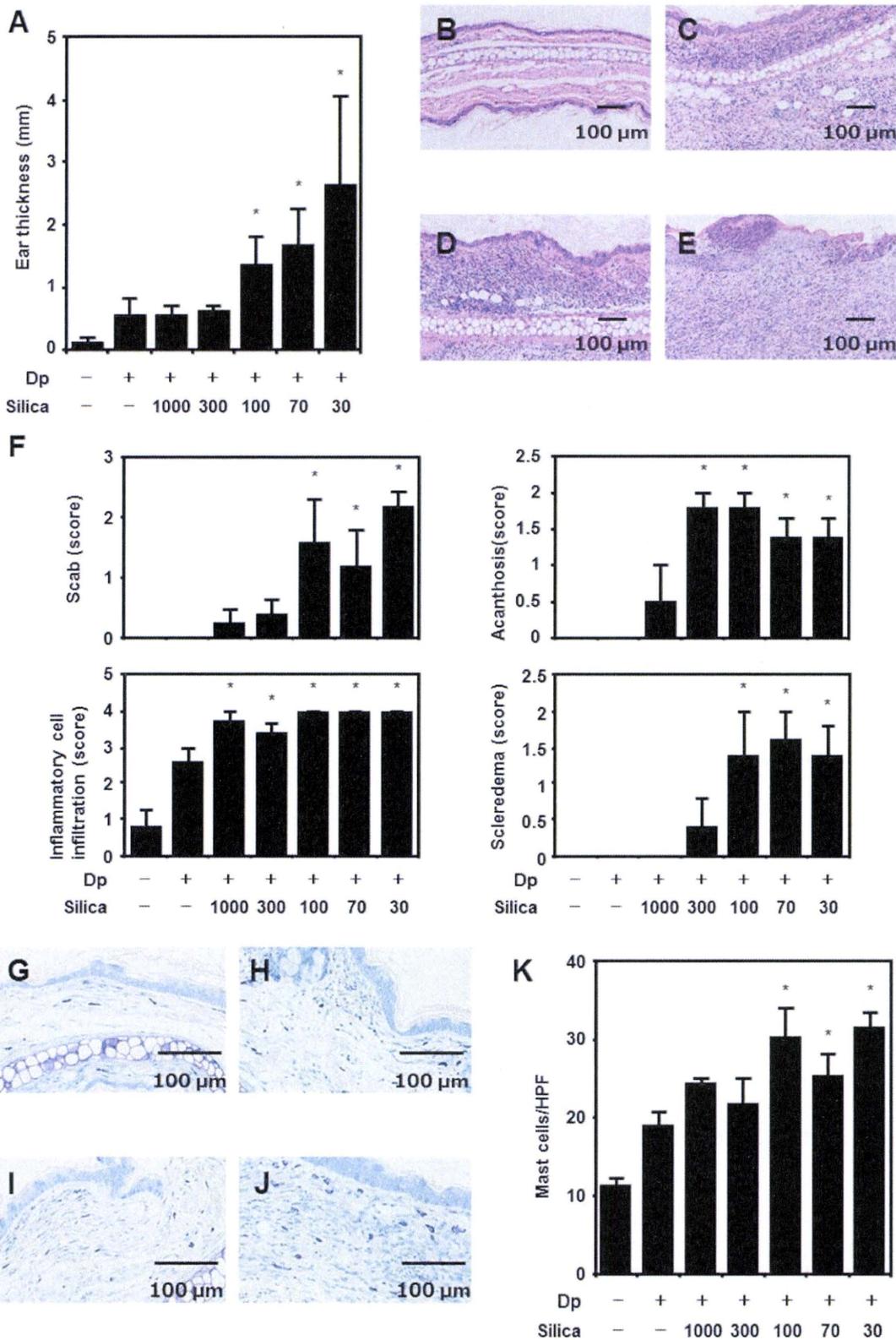


図12. ナノシリカの皮内投与がアトピー様病態の発症・悪化に及ぼす影響-1 (病理組織学的解析)

NC/Nga slcマウス (雄性 8週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 μ g/ml)、シリカ (12.5 mg/ml)、Dpとシリカの混合溶液 (Dp; 125 μ g/ml、シリカ; 12.5 mg/ml) を20 μ l/earで両耳介に皮内投与した。経日的に耳介の肥厚を測定 (A) すると共に、最終投与の24時間後に耳介を回収した。回収した耳介からパラフィン切片を作製し、病理組織学的解析 (B~F)、トルイジンブルー染色 (G~K) に供した。アトピー病態において観察される代表的症状である痂皮、表皮肥厚、炎症性細胞の浸潤、浮腫については、その重症度を0から4の5段階でスコア化した。Data are presented as mean \pm SE (n = 4-5; *P < 0.05 versus value for Dp-treated group by Williams' test.

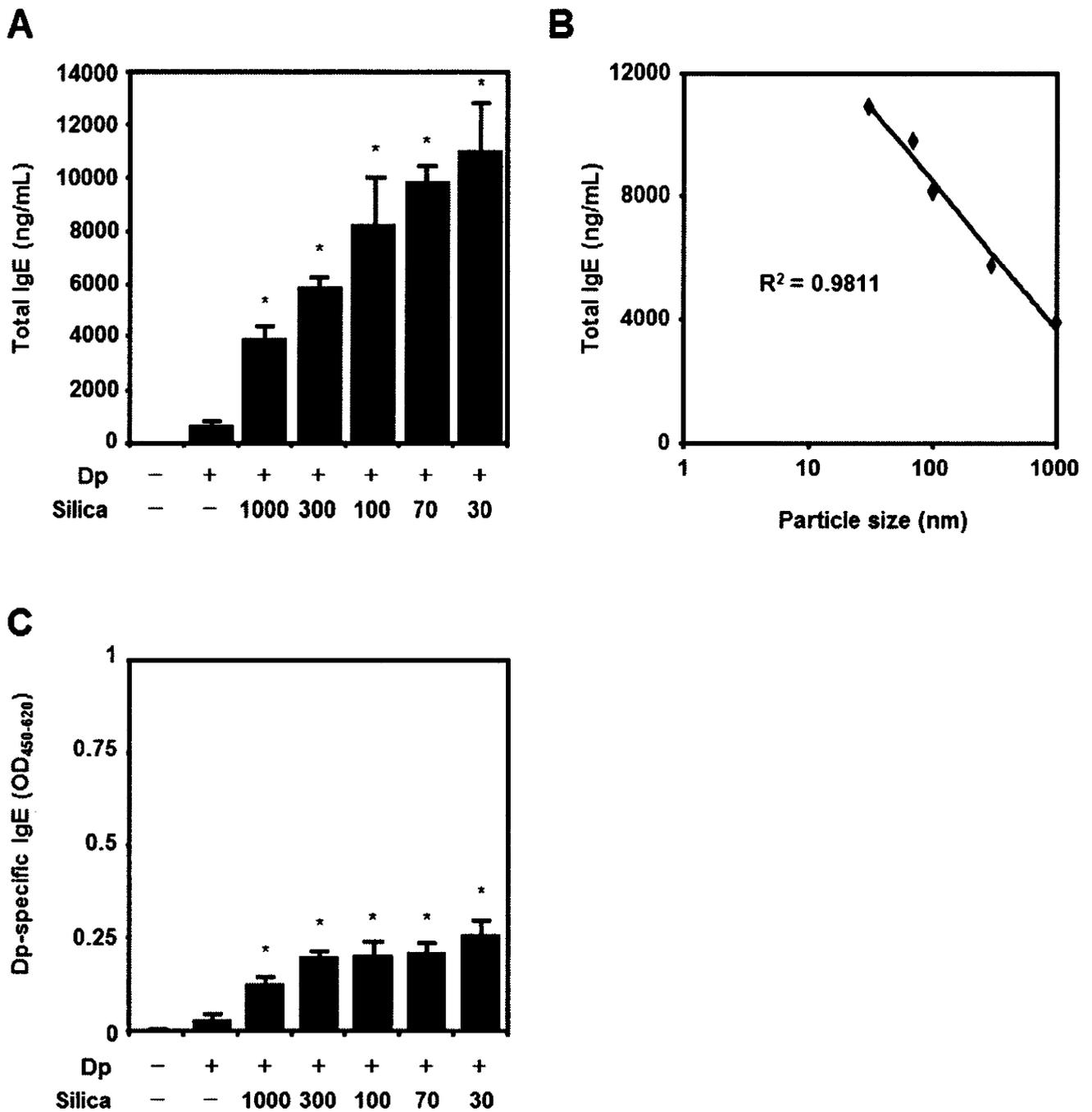
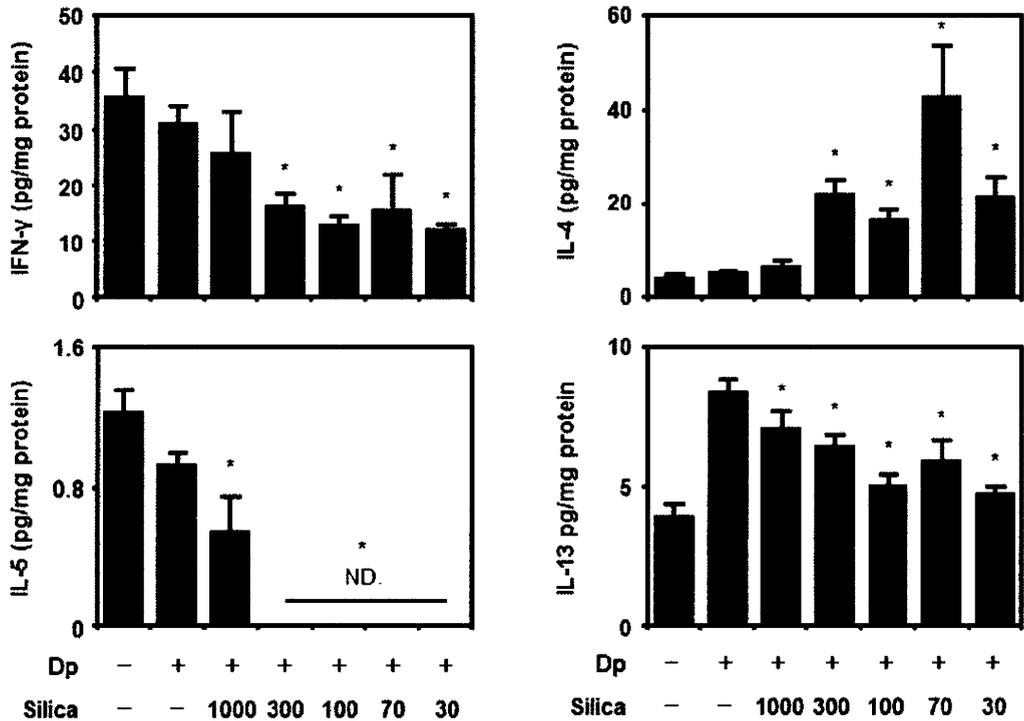


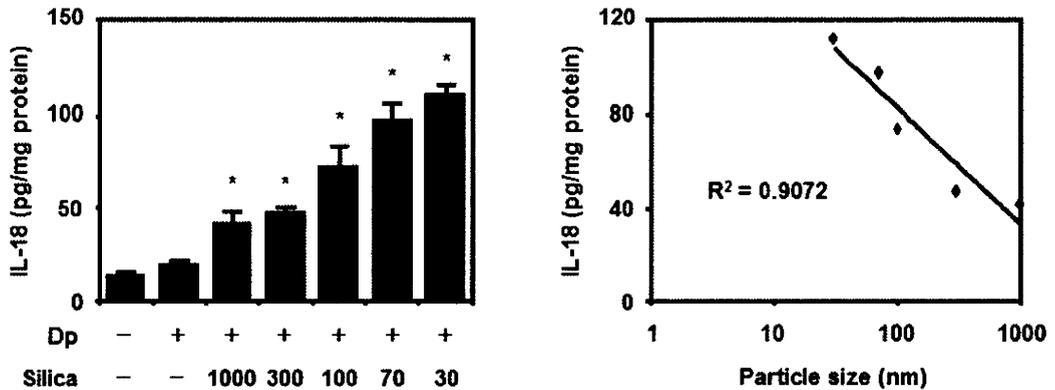
図13. ナノシリカの皮内投与がアトピー様病態の発症・悪化に及ぼす影響-2 (IgE産生量の評価)

NC/Nga slcマウス (雄性 8週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 μ g/ml)、シリカ (12.5 mg/ml)、Dpとシリカの混合溶液 (Dp; 125 μ g/ml、シリカ; 12.5 mg/ml) を20 μ l/earで両耳介に皮内投与した。最終投与24時間後に血清を回収し、血中の総IgE (A、B)、Dp特異的IgE (C) の量をELISAにて定量した。Data are presented as mean \pm SE (n = 4-5; *P < 0.05 versus value for Dp-treated group by Williams' test..

A



B



C

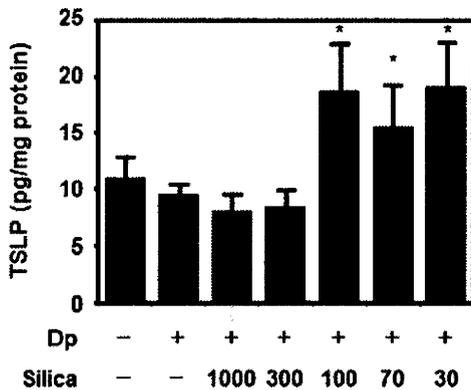


図14. ナノシリカの皮内投与がアトピー様病態の発症・悪化に及ぼす影響-3 (投与局所における免疫応答特性の評価)

NC/Nga slcマウス (雄性 8週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 μ g/ml)、シリカ (12.5 mg/ml)、Dpとシリカの混合溶液 (Dp; 125 μ g/ml、シリカ; 12.5 mg/ml) を20 μ l/earで両耳介に皮内投与した。最終投与24時間後に回収した耳介ホモジネートを用いて、IFN- γ 、Th2 IL-4、IL-5、IL-13産生量 (A)、IL-18 (B)、TSLP (C) をELISAにて定量した。Data are presented as mean \pm SE (n = 4-5; *P < 0.05 versus value for Dp-treated group by Williams' test.

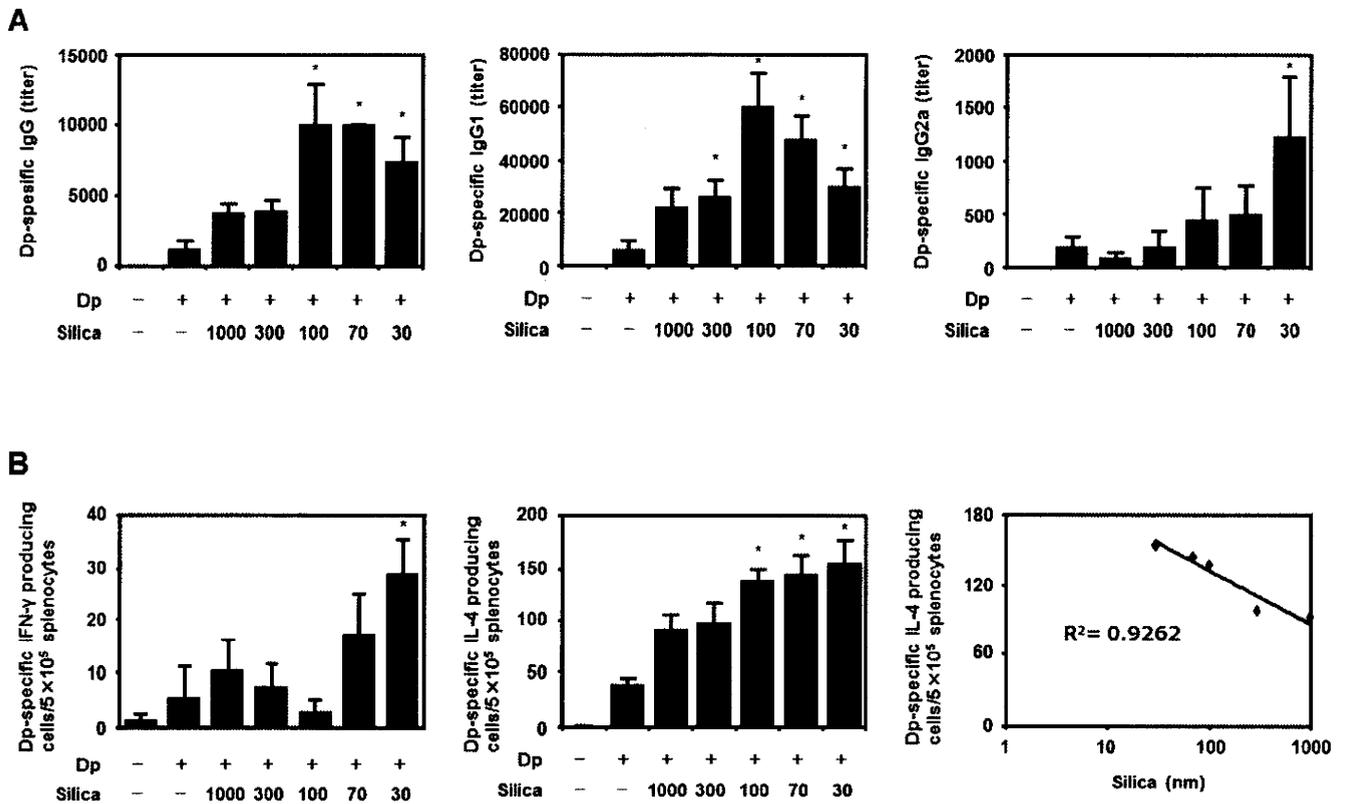


図15. ナノシリカの皮内投与がアトピー様病態の発症・悪化に及ぼす影響-4 (抗原特異的免疫応答特性の評価)

NC/Nga slcマウス (雄性 8週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、シリカ (12.5 mg/ml)、Dpとシリカの混合溶液 (Dp; 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、シリカ; 12.5 mg/ml) を20 $\mu\text{l}/\text{ear}$ で両耳介に皮内投与した。最終投与24時間後に回収した血液を用いて、Dp特異的抗体産生 (A; IgG、IgG1、IgG2a) をELISAにて定量した。また、同時に回収した脾臓中のDp特異的IFN- γ 産生細胞、あるいはIL-4産生細胞をELISPOTにて定量した (B)。Data are presented as mean \pm SE (n = 4-5; *P < 0.05 versus value for Dp-treated group by Williams' test.

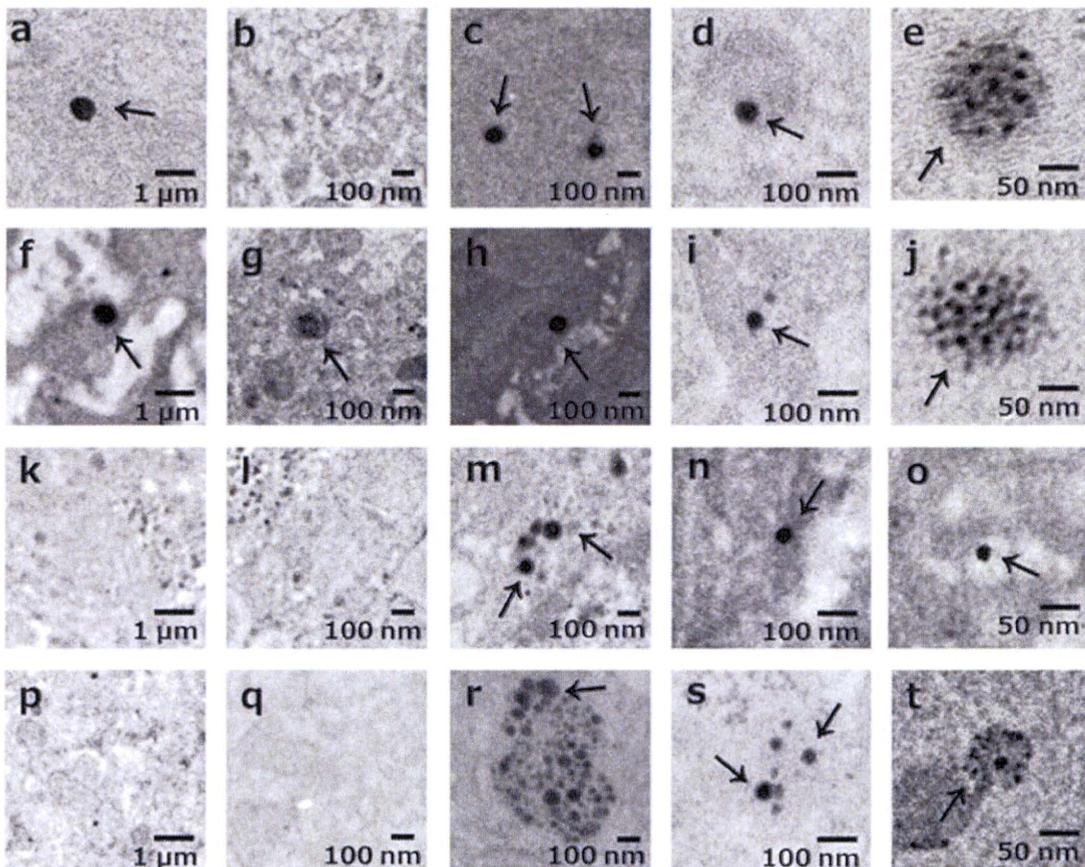


図16. 非晶質ナノシリカの経鼻吸収性の評価

BALB/cマウスに超純水で各濃度に調整したmSP1000 (a, f, k, p)、nSP300 (b, g, l, q)、nSP100 (c, h, m, r)、nSP70 (d, i, n, s)、nSP30 (e, j, o, t) を20 $\mu\text{l}/\text{mouse}$ (片鼻10 μl) で7日間連続経鼻投与した。最終投与24時間後に、鼻腔 (a-e)、肺 (f-j)、肝臓 (k-o)、脳 (p-t) を回収した。

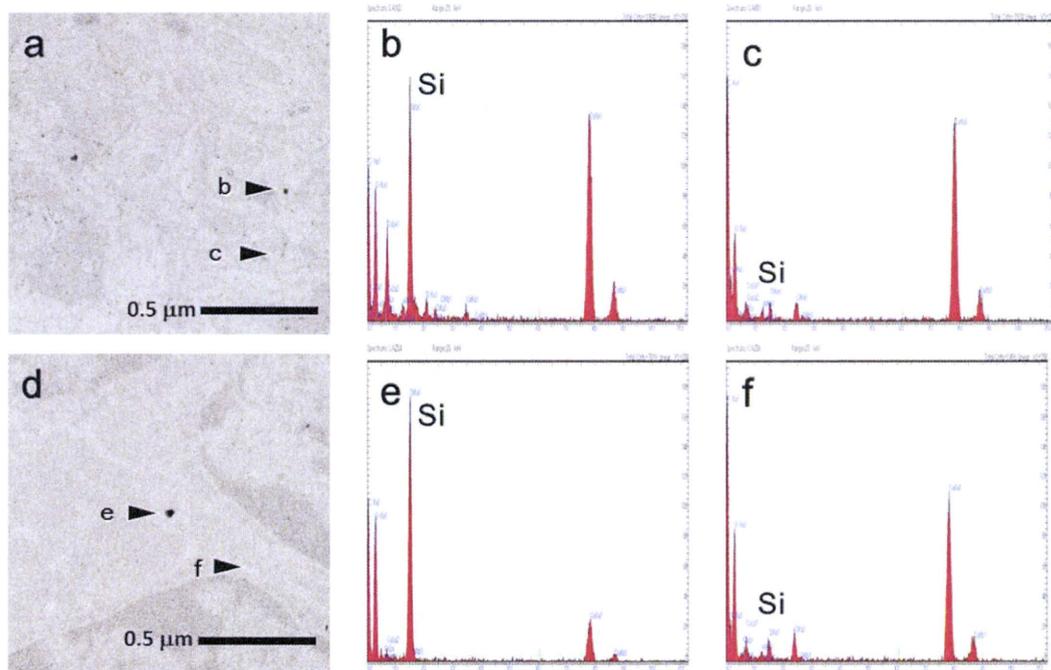


図17. 鼻腔組織のTEM-EDX解析

BALB/cマウスに超純水で各濃度に調整したnSP70 を20 $\mu\text{l}/\text{mouse}$ (片鼻10 μl) で28日間連続経鼻投与した。最終投与24時間後に、脳 (a) および鼻腔 (d) を回収し、b、c、e、fのポイントをEDX解析した。

表2. ナノシリカを7日間連続経鼻投与したマウスの病理組織学的解析

Findings	control	mSP1000	nSP300	nSP100	nSP70	nSP30
Nasal cavity						
eosinophilic change	0	0	0	0	1	1
Brain						
microglial aggregation	0	0.33±0.58	0.33±0.58	0.33±0.58	2	1.67±0.58
Liver						
cell aggregation	0	0	0.33±0.58	0	1.67±0.58	1.67±0.58
rarefaction	3	3	3	3	3	3

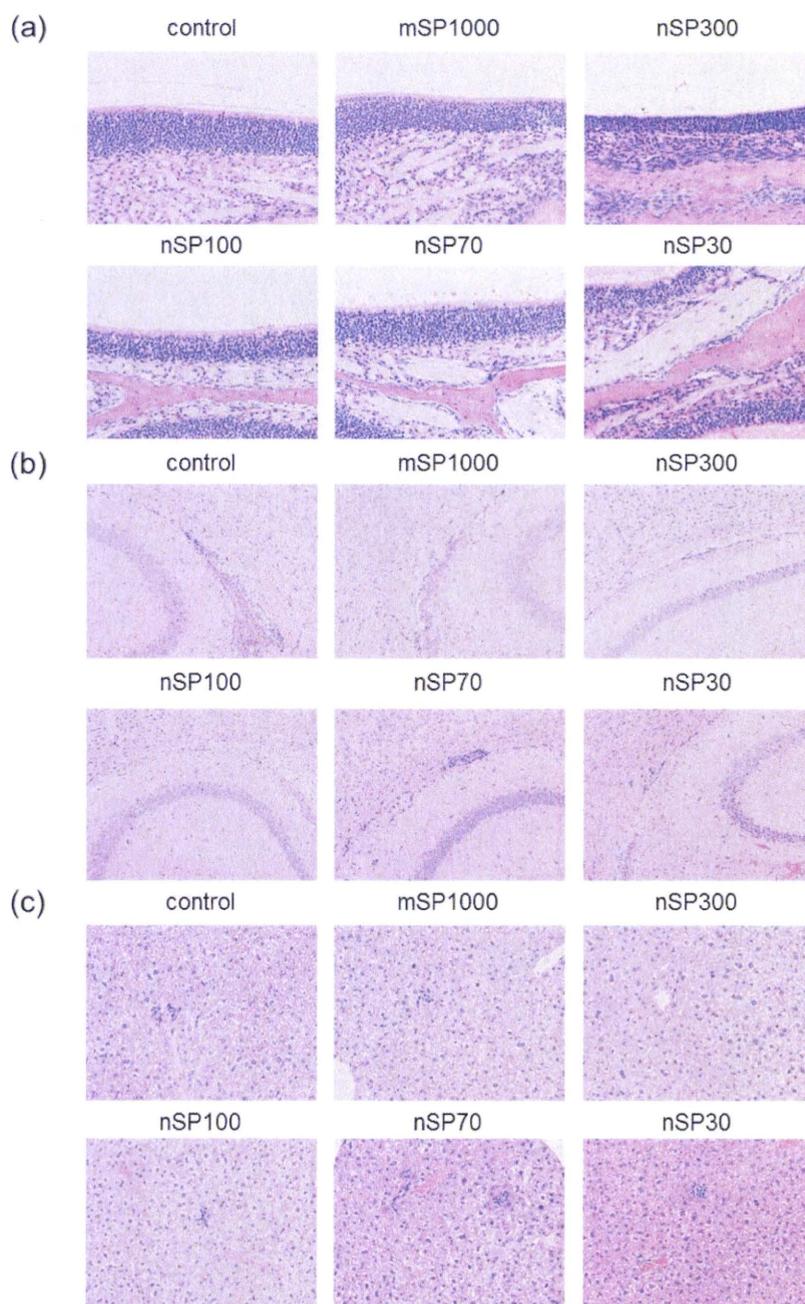


図18. ナノシリカを7日間経鼻投与したマウスの鼻腔組織、脳、肝臓の病理解析

各シリカ(mSP1000、nSP300、nSP100、nSP70、nSP30)を20 μ l/mouse (片鼻10 μ l) ずつ、あるいは蒸留水を7日間連続経鼻投与したマウスから鼻腔 (a)、脳 (b)、肝臓 (c) を回収し、HE染色した後に各組織を病理組織的に評価した。所見をスコア化し、表2にまとめた。

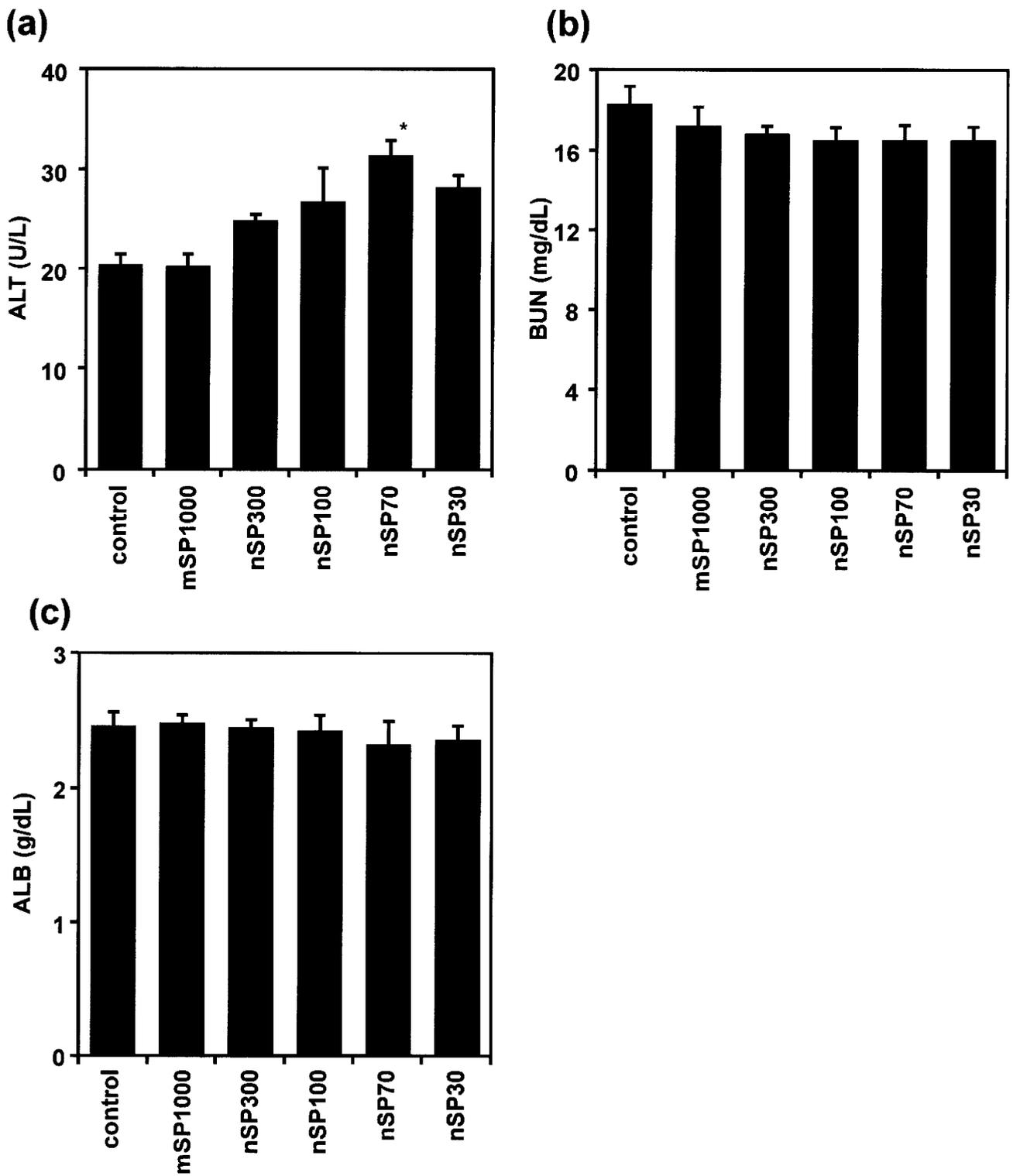


図19. ナノシリカを7日間連続経鼻投与したマウスの血液生化学検査

各シリカ(mSP1000、nSP300、nSP100、nSP70、nSP30)あるいは蒸留水を7日間連続経鼻投与したマウスから血漿を回収し、血液生化学検査を実施した (ALT (a) , BUN (b) , ALB (c)) . Results are expressed as mean \pm S.E. ($n=4-5$). *Represents significant difference from the control by Dunnett ($p < 0.05$).

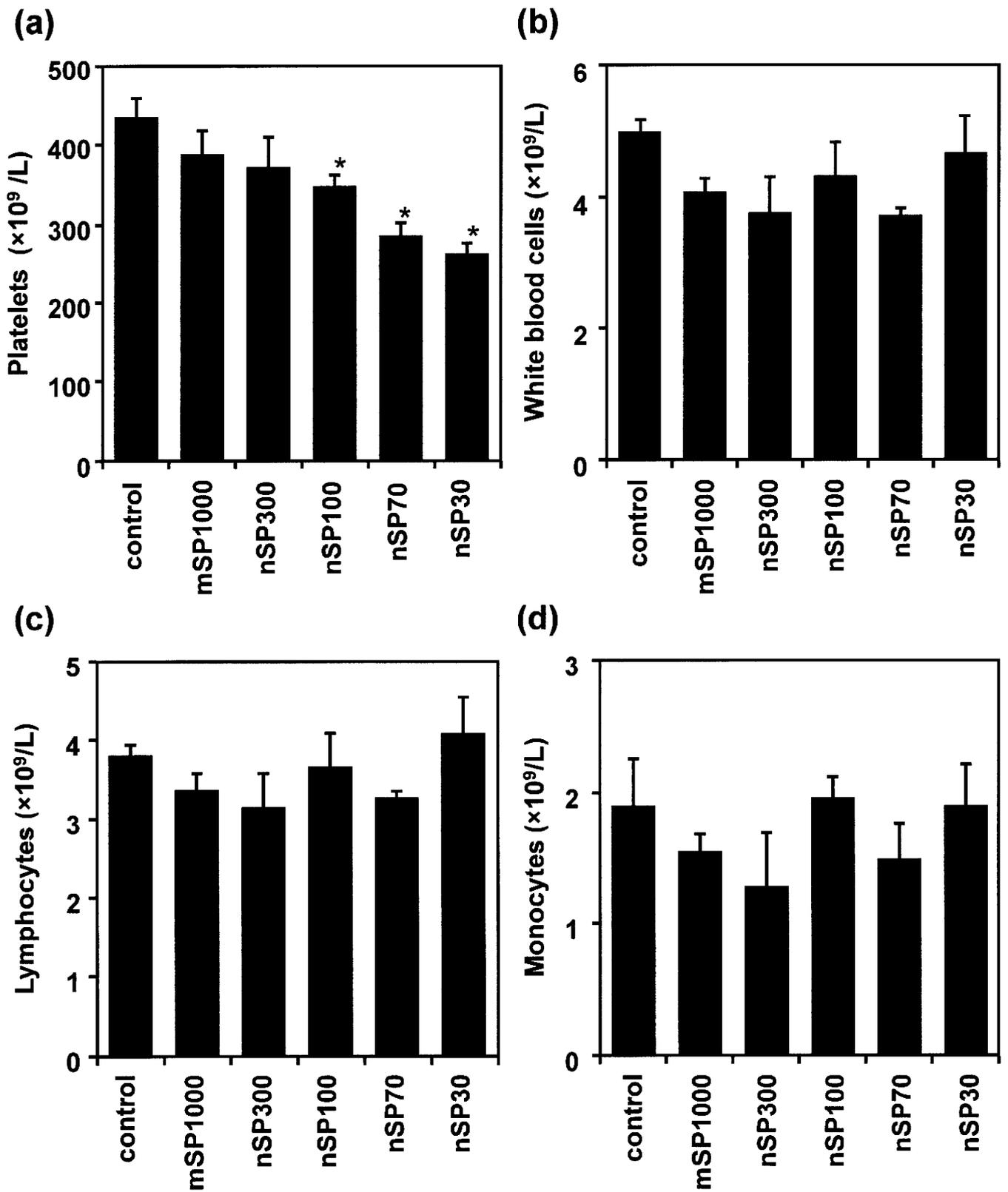


図20. ナノシリカを7日間連続経鼻投与したマウスの血液生化学検査

各シリカ(mSP1000、nSP300、nSP100、nSP70、nSP30)あるいは蒸留水を7日間連続経鼻投与したマウスから血漿を回収し、血液生化学検査を実施した (platelets (a)、white blood cells (b)、lymphocytes (c)、monocytes (d))。Results are expressed as mean \pm S.E. (n=5). *Represents significant difference from the control by Williams ($p < 0.05$).

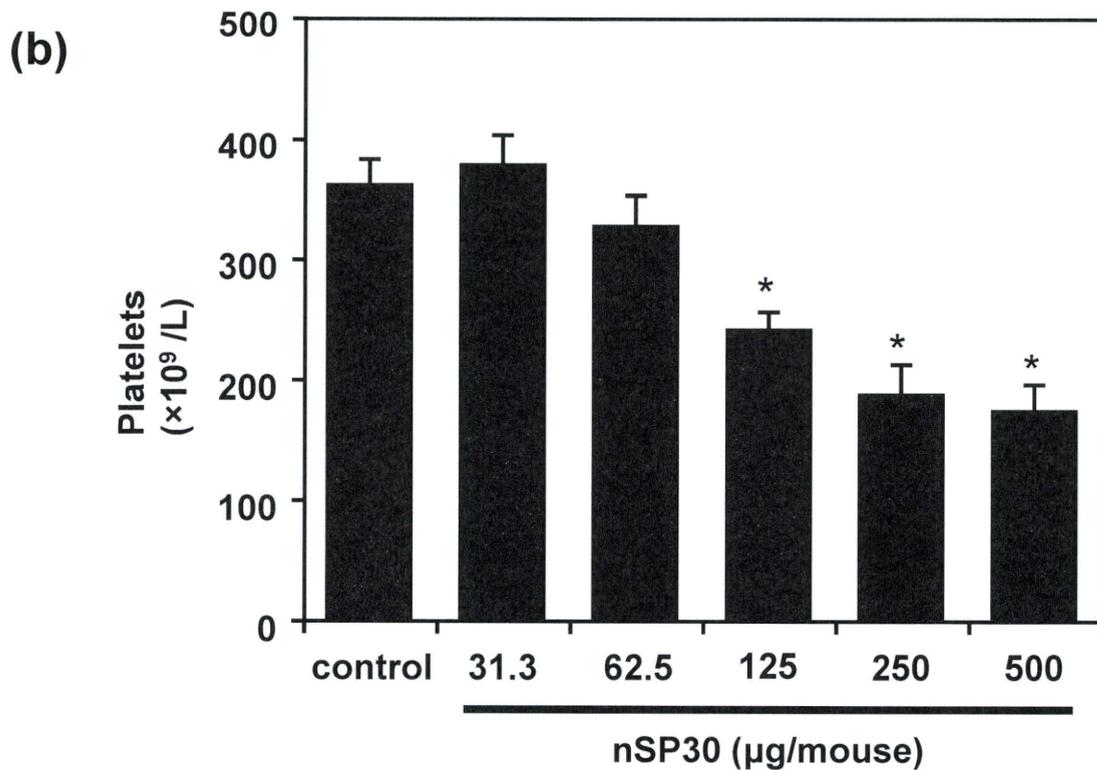
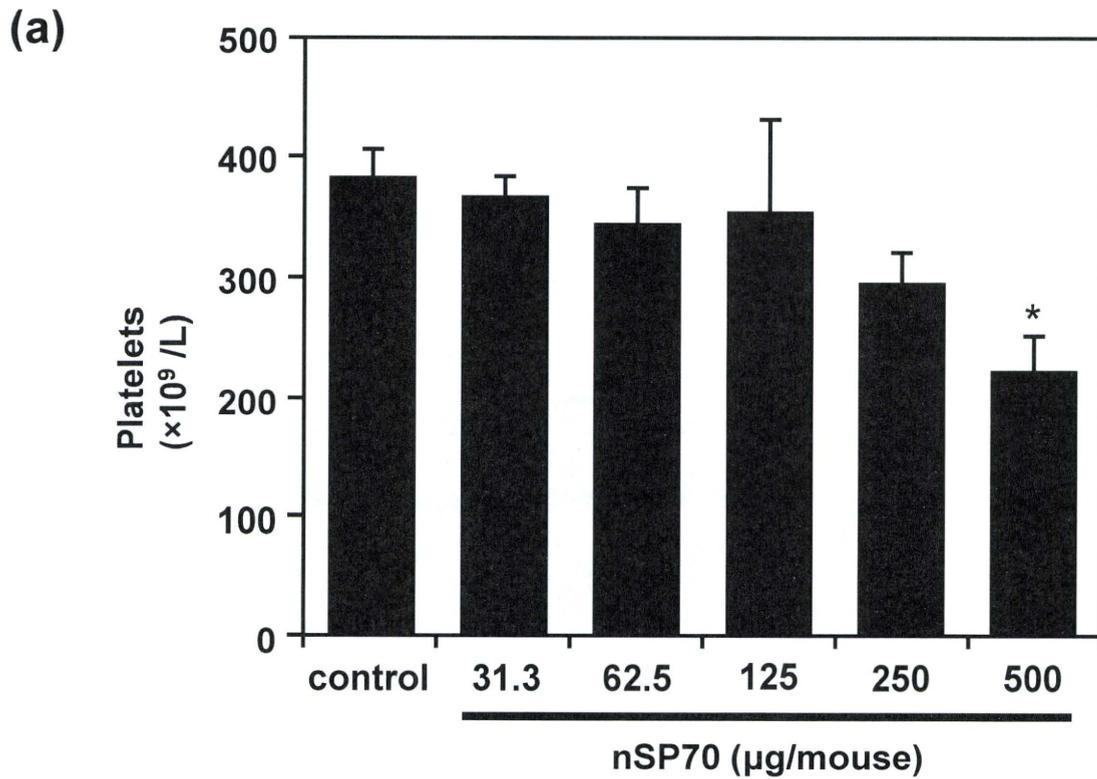


図21. ナノシリカの経鼻影響の用量依存性 (血小板数の定量)

種々の濃度のnSP70 (a) あるいはnSP30 (b) を7日間連続経鼻投与したマウスから血漿を回収し、血小板数を定量した。Results are expressed as mean ± S.E. (n=5). *Represents significant difference from the control by Williams ($p < 0.05$).