

201133008A

厚生労働科学研究費補助金研究報告書

化学物質リスク研究事業

ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合的開発および体内動態を含む基礎的有害性情報の集積に関する研究

平成 23 年度

総括・分担研究報告書

研究代表者 広瀬 明彦

国立医薬品食品衛生研究所

平成 24 年 (2012 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

ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合的開発および体内動態を含む基礎的有害性情報
の集積に関する研究

(H21・化学・一般・008)

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 広瀬 明彦

平成24年（2012年）3月

目 次

| | |
|--|----|
| I. 総括研究報告書 | 1 |
| ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合的開発および体内動態を含む 基礎的有害性情報の集積に関する研究 広瀬 明彦 | 2 |
| II. 研究分担報告書 | 21 |
| 1. ナノマテリアルの慢性暴露による有害性評価指標の開発に関する研究 菅野 純 | 22 |
| 2. ナノマテリアルの発がん性評価手法の開発に関する研究 津田 洋幸 | 27 |
| 3. ナノマテリアルの生体内動態解析法と短期的スクリーニング評価手法の 開発に関する研究 西村 哲治 | 34 |
| 4. ナノ粒子の繊維状形態に関わる生体反応マーカーの開発研究 樋野 興夫 | 44 |
| 5. ナノマテリアルの遺伝毒性影響評価系における基礎的研究 本間 正充 | 47 |
| 6. ナノマテリアルの神経細胞機能・分化に与える影響に関する基礎的研究 佐藤 薫 | 57 |
| 7. ナノマテリアルによる細胞内酸化ストレス評価法の開発に関する研究 奥 直人 | 64 |
| 8. ナノマテリアルの血管系へ及ぼす影響に関する基礎的研究 最上 知子 | 71 |
| 9. 炭素系ナノマテリアルの生体影響試験における物性測定に関する研究 宮澤 薫一 | 75 |
| 10. ナノマテリアルの基礎的有害性情報の集積に関する研究 広瀬 明彦 | 81 |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 89 |
| IV. 研究成果の刊行物・別冊 | 93 |

平成 2 3 年度厚生労働科学研究費補助金
(化学物質リスク研究事業)

I. 総括研究報告書

研究課題名: ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合的開発および体内動態を含む
基礎的有害性情報の集積に関する研究

研究代表者: 広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室長

研究要旨

産業用ナノマテリアルの物理化学的特性を考慮した有害性評価手法の開発が国内外で急務となっていることを受け、本研究では慢性影響を標的とした評価法開発研究と、基礎的な有害性情報収集の実施を行うことを目的としている。

平成 23年度は、慢性影響評価研究として、前年度引き続き繊維状粒子による中皮腫誘発の用量と形状依存性に関する研究とメソセリンの発現解析、気管内投与発がんプロモーション作用に関する研究を行った。基礎的有害性情報の収集としては、C60 の水酸化体の分析手法の開発に加えて、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)による発生毒性と、in vivo 遺伝毒性の検討を行うと共に、in vitro 細胞系に及ぼす影響やメカニズムに関する検討を行った。

慢性影響研究としては、中皮腫誘発能の繊維長依存性を検討するために、長さの異なる焼結型のカーボンナノウイスカ(FNW)を作成し、腹腔内投与後 1 年間経過観察実験を終了した。長尺および短尺両群の生存率に対照群と有意な差は認められなかった。また、中皮腫誘発性とメソセリン発現量解析では、MWCNT 腹腔内投与による血清 N-ERC/メソセリン濃度は中皮過形成の発生と進展に伴い増加することが確認できた。さらに、様々なメーカーの MWCNT による中皮腫誘発性は繊維サイズの違いにより差異のあることが示唆された。一方、C60 の腹腔内投与による病理学的腎障害については、C60 単独で腎毒性は発揮しないが、他の原因による腎障害性を高度に増強する可能性が示された。ナノサイズ酸化亜鉛(nZnO)では発がんプロモーション作用は見られなかったが、nZnO 投与のみで可逆的な肺胞壁の巣状線維化と終末細気管支上皮の過形成性増殖が有意に増加した。in vitro の試験では nZnO はケモカインを分泌し、肺胞壁線維芽細胞の増殖を促進することが示唆された。アナターゼ二酸化チタン(anTiO₂)はマクロファージ誘導能、8OHdG、Mip1a の産生能、肺癌細胞増殖能においてルチル型 TiO₂ (rTiO₂)より弱いことが分かった。基礎的有害性情報の収集に関しては、妊娠 9 日のマウスへの腹腔内投与および気管内投与によって催奇形を示すことを明らかにしたが、妊娠マウス及びラットへの単回静脈内投与において外表奇形は認められなかった。MWCNT に対する in vivo 遺伝毒性試験では gpt-delta トランスジェニックラットの肺由来 DNA と赤血球中の Pig-a 遺伝子において遺伝毒性は認められなかった。CNT 超音波上清処置によるミクログリア毒性にメーカー間の差があることがわかったが、溶出金属だけではなく μm サイズの CNT 細粒が細胞内に取り込まれることによって、生じていることが示唆された。さらに、高濃度の CNT 暴露による細胞膜障害は、脂質二分子膜の直接的傷害である可能性が示されるとともに、細胞内での炎症反応には NLRP3 分子を含むインフラマソームが関与することが示唆された。

以上の結果、慢性研究では中皮腫誘発性として MWCNT 繊維サイズの違いが影響することを示したが繊維長依存性を直接に説明することはできなかった。またナノサイズ酸化亜鉛の気管内投与による肺の障害性は可逆性であった。しかし、メソセリンやケモカインなどのバイオマーカーが指標となることが示された。また、今年度新たに MWCNT が催奇形性を持つ可能性を示唆した。in vitro 研究では MWCNT のマクロファージ等の細胞内での異物処理機構が炎症反応のメカニズムに重要であることを示唆した。

研究分担者

| | | |
|-------|---|--|
| 菅野 純 | 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 部長 | 名古屋市立大学大学院医学研 究科 分子毒性学分野 研究 員・非常勤講師 |
| 津田 洋幸 | 名古屋市立大学大学 津田特 任教授研究室 特任教授 | 小縣 昭夫 東京都健康安全研究センター 環境保健部 部長 |
| 西村 哲治 | 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 部長 | 坂本 義光 東京都健康安全研究センター 環境保健部 主任 |
| 本間 正充 | 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長 | 前野 智和 東京都健康安全研究センター 環境保健部 主任 |
| 樋野 興夫 | 順天堂大学 医学部 病理・腫瘍 学 教授 | 藤谷 知子 東京都健康安全研究センター 環境保健部 主任 |
| 佐藤 薫 | 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第一室長 | 中江 大 東京都健康安全研究センター 医薬品 部長 |
| 奥 直人 | 静岡県立大学薬学部 医薬生命 科学教室 教授 | 杉本 直樹 国立医薬品食品衛生研究所 生 活衛生化学部 室長 |
| 最上 知子 | 国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部 室長 | 久保田領志 国立医薬品食品衛生研究所 生 活衛生化学部 研究官 |
| 宮澤 薫一 | 独立行政法人物質・材料研究機構 先端材料プロセスユニット フラーレン工学グループ グ ループリーダー | 小林 憲弘 国立医薬品食品衛生研究所 生 活衛生化学部 研究員 清水久美子 国立医薬品食品衛生研究所 生 活衛生化学部 非常勤職員 |

研究協力者

| | | |
|--------------------|---------------------------------|---|
| 高木 篤也 | 国立医薬品食品衛生研究所毒 性部 室長 | 堀端 克良 国立医薬品食品衛生研究所 変 異遺伝部 清水 広介 静岡県立大学薬学部 医薬生命 科学教室 助教 |
| 高橋 祐次 | 国立医薬品食品衛生研究所毒性 部 主任研究官 | 奥平桂一郎 国立医薬品食品衛生研究所 機 能生化学部 主任研究官 |
| 酒々井 眞澄 | 名古屋市立大学大学院医学研 究科 分子毒性学分野 教授 | 加藤 良栄 独立行政法人物質・材料研究機 構 先端材料プロセスユニット フラーレン工学グループ 研究業務員 |
| 二口 充 | 名古屋市立大学大学院医学研 究科 分子毒性学分野 准教授 | 平田 睦子 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究員 |
| 深町 勝巳 | 名古屋市立大学大学院医学研 究科 分子毒性学分野 助教 | 小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究員 |
| 徐 結荷 | 名古屋市立大学大学院医学研 究科 分子毒性学分野 研究員 | 松本 真理子 国立医薬品食品衛生研究所 |
| David B. Alexander | | |

総合評価研究室 研究員
加藤 日奈 国立医薬品食品衛生研究所
総合評価研究室 研究員

A. 研究目的

産業用ナノマテリアルはナノテクノロジーの中心的な新規物質として、近年急速にその種類や生産量が増加しつつあるが、産業用途として期待されている物理化学特性は、同一化学組成を持つ大きな構造体とは異なる生理活性やヒト健康影響に対する懸念をもたらす可能性も含んでいる。このような懸念に対して、これまでの通常の毒性試験で検出できるエンドポイントで対応できるかどうかについては今後の検証が必要である共に、少なくとも、ナノマテリアルの物理化学的特性を考慮した有害性評価手法の開発が急務となっている。本問題に関しては、国内外共にナノマテリアルの健康影響問題に注目が高まり、2006年からOECDにおいて産業用ナノマテリアルの安全性に関する国際協力を目的とした特別の作業グループが設置され、国際的な共同作業として、試験法の検討や代表的なナノマテリアルにおける初期評価情報の収集作業(スポンサーシッププログラム)が進められている。

我々は、既に本問題に対処するための *in vitro* と *in vivo* の両方を含めた総合的な評価法に関する研究を進めてきており、懸念される体内吸収性や蓄積性に基づく影響を評価するための、カーボンナノチューブ(CNT)やフラーレン(C60)、酸化チタン(TiO₂)等の体内動態解析法や毒性試験への適用を目的とした分散法を検討してきた。さらに、慢性影響としては、多層 CNT(MWCNT)が繊維状粒子の吸入影響として懸念される中皮腫形成のポテンシャルを持つことと、体内で再分散したナノマ

テリアルが再分布して影響を引き起こす可能性を示唆する知見を得ている。一方、国内外では短期的な影響の報告例は増えてきているが、慢性的影響や生殖発生毒性等を検討した報告はまだ少ない。

B. 研究方法

平成 23年度は、慢性影響評価研究として、前年度引き続き繊維状粒子による中皮腫誘発の用量と形状依存性に関する研究とメソセリンの発現解析、酸化亜鉛等の気管内投与発がんプロモーション作用に関する研究を行った。基礎的有害性情報の収集としては、C60の水酸化体の分析手法の開発に加えて、MWCNTによる発生毒性と、*in vivo* 遺伝毒性の検討を行うと共に、*in vitro* 細胞系に及ぼす影響やメカニズムに関する検討を行った。使用したCNTは、MWCNTとしては、MWNT-7(MWCNT(M)、長さ1-9 μ m 74.3%、>10 μ m 25%、径50-80nm 97.2%)、N社(MWCNT(N)、長さ1-9 μ m 79.1%、>10 μ m 21%、径50-80nm 94.8%)、W社(2種;MWCNT(WL)、長さ0.5-10 μ m、径85-200nm)及びMWCNT(WS)(長さ0.5-2 μ m、径40-70nm)及びT社(CNT(T)、長さ10-100 μ m、径20-100nm)を、SWCNTとしてはN社のSWCNT(N)を用いた。

慢性影響評価のための検討:

① MWCNT(M)による中皮腫誘発能に関して、繊維長の長短による中皮腫誘発性を検証するために、長尺(FNW-L)及び短尺(FNA-S)及びの焼結型FNWを用いた腹腔内投による与慢性試験を行った(菅野)。また、上記試験に必要なFNWの生体中で安定性の増強を目指してのC60分子をレーザーで重合させる研究の基礎実験として、ラマン装置によるレ

レーザー照射量と FNW の重合化度との相関を検討した(宮澤)。さらに、MWCNT 投与による中皮腫誘発性における用量相関性と投与部位による影響の観察、中皮腫誘発性における物理化学的性状の検討を行った(西村、樋野)。

長期間の体内滞留性に関する影響に関しては、C60 による腎障害誘発性を明らかにするため、単回腹腔内投与した C57BL/6Cr マウスの 1 年間慢性毒性試験結果の解析を行った(菅野)。

発がんプロモーション作用に関しては、酸化亜鉛に関して、発がん二段階法を応用した肺発がんプロモーション作用中期検索法と短期間投与による毒性機序の検討を行った。また、アナターゼ型二酸化チタン(anTiO_2 , $d=35$ nm)については、マクロファージ誘導能、8OHdG、MIP1 α の産生能と肺癌細胞株の細胞増殖促進作用を検索した(津田)。

基礎的有害性情報の収集:

MWCNT の発生毒性を検証する目的で、雌マウスの妊娠 9 日に、2%CMC に懸濁した MWCNT 溶液を、腹腔内に 0、2、3、4、5mg/kg の割合で、また、気管内に 0、3、4、5mg/kg の割合で、1群 10~15 匹に投与し、体重測定、一般症状の観察を行い、妊娠 18 日に帝王切開により胎児を摘出、雌雄の判別、体重測定後、外表異常、骨格異常の有無を調べた。さらに、妊娠 7、8、9、および 10 日のラットあるいはマウスに、0.5(ラット)あるいは 0.3(マウス)mg/kg bw の用量で血清に懸濁した MWCNT を静脈内投与し、妊娠 20 日のラットおよび妊娠 17 日のマウスを帝王切開して病理組織学的に MWCNT の組織への沈着を確認すると共に、胎仔への影響について検討した(西村、広瀬)。

体内動態解析手法に関しては、水酸化フラーレンの分析法の開発として、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いた電子イオン化法(ESI)のネガティブイオンモードでの定性定量を行った(西村)。

遺伝毒性試験については、gpt-delta トランスジェニックラットを用いた in vivo 遺伝毒性試験を行った。MWCNT を 1 mg/kg、0.5 mg/kg および 0.25 mg/kg の用量で単回気管内投与し、投与後 28 日後解析を行った。末梢血については Pig-a 遺伝子 in vivo 突然変異試験法により、肺については gpt 遺伝子突然変異試験法により in vivo 遺伝毒性を評価した(本間)。

MWCNT による標的組織細胞の障害性に関する検討として、様々なメーカーの MWCNT の超音波処理上清のミクログリア細胞毒性について金属溶出量と CNT サイズとの関連について検討した(佐藤)。また、CNT の細胞毒性メカニズムの解析として、生体膜への直接作用を検証するためにカルセイン封入りリポソームを CNT と混合した際のカルセインのリポソームからの放出を測定した(奥)。さらに炎症性サイトカイン産生を促進する機序解析として、NLRP3 と IL-1 β 産生の関連性について検討を行った(最上)。

(倫理面への配慮)

実験動物を用いる実験では、「動物の愛護及び管理に関する法律」等の精神に則り、該当研究所でそれぞれ定められている実験動物取り扱いに関する倫理規定等の規則に準拠した対応がとられている。

C. 研究結果

慢性影響評価のための検討:

FNW の 1 年間の発癌性試験を終了し、

FNW-L及び、FNW-S群とも対照群と比較して、体重及び生存率に有意な差は認められなかった。陽性対照のMWCNT(MWCNT-7)群では投与後200日までに殆どの動物が中皮腫と思われる腫瘍を誘発した。なお、対照群を含むFNW-L及び、FNW-S群に腹腔内腫瘍が少数例認められており、今後、病理組織学的検査を行う必要がある。一方、この試験に用いFNWよりさらに生体内でのより安定性の高いFNWを目指してレーザーによる重合条件を検討したところ、レーザー光の照射時間を220秒としたときの出力密度の違いによるFNWラマンスペクトルの変化から、出力密度が増加するにつれて、Ag(2)ピークが1468 cm⁻¹、1466 cm⁻¹、1460 cm⁻¹のように低波数側にシフトすることが示され、レーザー光エネルギーが増加するにつれて、FNWの重合が進行することが示唆された。結果として、波長532 nmの緑色レーザー光を用いて大気中で照射した場合は、1520 J/mm²以上の線量が、FNWの完全な重合化に必要であることが明らかになった。

MWCNTのラット腹膜中皮腫誘発性と血清N-ERC/メソチリン濃度の変動解析では、中皮腫の発現は、MWCNT-陰嚢群では0.3mg群から、MWCNT-腹腔群では0.1mg群から認められ、用量に伴って増加した。中皮腫の進展の程度は、腹腔群が陰嚢群に比べて強く現れた。N-ERC/メソチリン濃度は、MWCNT-陰嚢腔及び腹腔群ともに0.1mg群から用量に比例して増加し、腹腔群では陰嚢群に比べ高値を示した。MWCNT両群における血清ERC/メソチリン濃度は中皮過形成の発生に伴って増加し、中皮腫の発生と進展に伴いさらに増加した。MWCNTの中皮腫誘発性における物理化学的性状に依存した影響の解析では、

MWCNT(WL)では26週目より43週までに全例、MWCNT(M)では投与後32-50週の死亡例(4/12)と瀕死例(7/12)及びMWCNT(N)では投与後39-53週の死亡例(5/10)と瀕死例(2/10)を解剖した。MWCNT(WS)及びMWCNT(T)では、全例が55週まで生存した。投与後55週目に、各群の生存例(MWCNT(M)1/12、MWCNT(N)3/10、MWCNT(WS)及びMWCNT(T)全例)を屠殺、解剖した。MWCNT(M)、MWCNT(N)及びMWCNT(WL)では、死亡例及び瀕死例を含む全例で、中皮腫に特徴的な腹腔内腫瘍結節形成と出血性腹水貯留を認めた。MWCNT(WS)及びMWCNT(T)では、全例で腫瘍結節及び出血性腹水を認めなかった

経気管肺内噴霧法による発がんリスク解析では、①発がん二段階法を応用した肺発がんプロモーション作用中期検索法を用いた肺発がん性の評価、②被検物質の短期投与(500ppm, 14日間に計8回)による肺毒性と肺発がんプロモーション機序の検索、③一次培養肺胞マクロファージを用いた毒性とプロモーション作用の*in vitro*解析、④上記の試験にて肺胞上皮細胞等の明確な毒性や増殖病変を見る場合にはその可逆性を観察する試験、をセットとする研究を実施し、肺毒性と発がんリスク評価を短期間で可能とする方法を開発してきた。その結果、ナノサイズ酸化亜鉛(nZnO, d=25nm)は、①の16週の試験において、発がんプロモーション作用は見られなかったが、nZnOの投与のみで肺胞壁の巣状線維化と終末細気管支上皮の過形成性増殖(Terminal bronchial epithelium hyperplasia, TBEH)が有意に増加することが判明したが、いずれも可逆性病変であった。②の14日間に8回投

与(250, 500ppm, 0.1% Tween 生食懸濁、0.5mlを1回/2週)する短期投与試験では間質性肺炎とCXCL5, CXCL11 およびCCL7などのケモカインの発現が増加した。③の*in vitro*の試験ではnZnOに曝露した初代培養肺泡マクロファージの培養上清は、肺線維芽細胞の増殖を促進した。④この病変はいままでに報告されていないので回復試験を実施したところ投与終了後12週で消失し、可逆性病変であることが判明した。また、アナターゼ型二酸化チタニウム(anTiO₂, d=35 nm)については、②の試験法において、マクロファージ誘導能、8OHdG、MIP1 α の産生能を検索し、③において肺癌細胞株の細胞増殖促進作用を検索した。これらの作用は、anTiO₂ではルチル型TiO₂(mTiO₂)より弱いことが分かった。

長期間の体内滞留性に関する影響に関して、雄C57BL/6マウスに、溶媒に含まれるMCを除いたフラーレン腹腔内投与後1年間観察実験の結果、肉眼的及び病理組織学的に腎障害は認められなかった。

基礎的有害性情報の収集:

マウスを用いたMWCNTの催奇形性試験において、MWCNTを腹腔内投与した全ての群において、四肢減形成、口蓋裂の外表奇形及び、脊椎・肋骨の癒合などの骨格奇形が用量相関的に発現した。また、MWCNTを気管内投与した場合には4-5mg/kgの投与群で、腹腔内投与と同様の四肢減形成、脊椎・肋骨の癒合などの奇形が見られた。しかし、3mg/kg投与群では奇形児の発現はなく、この量を気管内投与における最大無作用量とした。

静脈内投与による催奇性の検討では、母動物の病理組織学的検査において、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、および脳において

MWCNTの沈着が確認され、その沈着量は心臓>肺>>肝臓>腎臓>脾臓の順であった。肺においては炎症関連所見(好中球浸潤および肉芽腫)がみられた。しかし、胎仔の検査では、外表観察の結果、いずれの胎仔においても奇形はみられなかった。

体内動態解析手法に関しては、C60の代謝物として生体内に存在する可能性がある水酸化フラーレンC60(OH)₂を対象に、LC-MS/MSを用いた分析法の開発を試みた。フラーレンC₆₀、フラーレンC₇₀及び水酸化フラーレンC₆₀(OH)₂の分離は、分離カラムとしてDevelosil RPFULLERENE(C30系カラム)、Sunfire C18(C18系カラム)、Sunfire C8(C8系カラム)及びDiscovery HS F5(F5C6系カラム)を、移動相はトルエン、メタノール及びアセトニトリルを用いて検討した。その結果、プローブにESIを使用し、分離カラムDiscovery HS F5を用いて、移動相をトルエン20%及びメタノール80%のアイソクラティック法の条件で分離定量する方法が、最も良いと結論できた。水酸化フラーレンC₆₀(OH)₂の検液中の定量下限値は1 μ g/Lであった。

遺伝毒性に関する検討では、Pig-a遺伝子突然変異試験法において、陽性対照群であるENUを投与した群では、非常に強いPig-a変異頻度の上昇が見られた。一方、MWCNTを投与した群すべてにおいて、溶媒対照群とのPig-a変異頻度の差は認められなかった。また、ENU腹腔内投与とMWCNT気管内投与を同時に施した群では、ENU単独投与と同程度のPig-a変異頻度の上昇が見られた。また、gpt遺伝子突然変異試験法では、陽性対照であるENUを投与した群では、統計学的な有意差は認められなかったが、gpt変異頻度の上昇傾

向が見られた。一方で、MWCNTを投与した群において、溶媒対照群との gpt 変異頻度の差は認められなかった。

CNT の超音波処理上清によるミクログリア細胞毒性を検討において、前年度は Mn, Fe がミクログリア細胞毒性に関与している可能性が示唆されていたが、溶出量の測定値の変動性も大きいことが明らかになり、さらにメーカーによって溶出金属の種類と量が大きく異なることも示された。また金属溶出量や種類とミクログリア細胞毒性が必ずしも相関していないことも明らかとなった。位相差顕微鏡像では、ミクログリアが CNT を取り込もうとしている様子が観察された。以上の結果は、金属による作用以外に、CNT 自体も直接的にミクログリアの細胞毒性に関与している可能性を示唆した。また、CNT の直接的な作用に CNT の形状が関与しているかどうかを確認するため、CNT 超音波処理上清を 0.22 μm フィルターで処理したところ、ミクログリア細胞毒性は消失した。

細胞障害性のメカニズム解析として、MWCNT の生体膜への直接障害性を調べるために、卵黄ホスファチジルコリンで構成されたカルセイン封入リポソームを調製し、MWCNT と混合した際のカルセインのリポソームからの放出を測定した。その結果、MWCNT の暴露時間が長くなるとともにリポソームからのカルセインの放出が確認でき、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ での暴露では、対照として用いたフラーレン C60 と比較して有意な放出が確認された。このことは高濃度の MWCNT 暴露により、細胞膜が障害され、細胞障害性を引き起こす可能性が示唆された。

また、MWCNT 炎症反応メカニズムの解析検討として、多層 CNT (MWCNT) がマクロファ

ージにおいて炎症性サイトカイン IL-1 β 産生を促進する機序を解析した。MWCNT を暴露すると caspase-1 が切断活性化されて活性型 IL-1 β の産生が増加した。高濃度 K⁺による抑制から、MWCNT によるシグナルの受容には NLR pyrin domain containing 3 (NLRP3)を含むインフラマソームの関与が示唆された。そこで NLRP3 を siRNA でノックダウンしたところ、MWCNT による IL-1 β 産生は強く抑制された。

D. 考察

慢性影響評価研究として、繊維状粒子による中皮腫誘発において形状依存性を明らかにするための FNW を使った実験を行った。FNW は形状がカーボンナノチューブに似ている、100%炭素であり遷移金属を含まない、及び、今回長短の二種類の FNW が用意されたことから、長さの違いのみによる中皮腫誘発能の比較が可能となり、アスベスト様繊維状炭素化合物の発がんメカニズムの解釈を容易にすることが期待された。1 年間の実験を終了し、FNW は長短共に中皮腫誘発能は低い結果を得た。最終結論は病理組織学的検査を待つて判断する予定である。

前年度に作成し、上記の試験で用いた FNW は、生体内で難分解性とするために、FNW の高温熱処理により非晶質カーボンナノファイバーを合成することを試みたが、焼成による FNW の凝着が発生したため、熱処理による難分解性の付与は困難であることが分かった。そこで、今年度は、レーザー照射によって、C60 分子どうしを共有結合による機械的強度の高い FNW の合成研究を進め、重合条件の

探索研究を進めた結果、完全重合化に必要な線量を得ることができ、慢性影響に必要な難分解性の繊維状粒子の生成条件を見つけることができたと思われる。

MWCNT 投与における血清 N-ERC/メソテリン濃度は、中皮過形成の発生に伴って増加し、中皮腫の発生と進展に伴いさらに増加した。よって、血清 N-ERC/メソテリンは、中皮腫の発性経過や発生メカニズムの解析指標として利用できることが示された。また、MWCNT 繊維サイズの違いは、中皮腫誘発性に差異が認められたことから、中皮腫誘発性の重要な因子のひとつと考えられた。

経気管肺内噴霧法による発がんリスク解析では、nZnO は気管内噴霧投与によって、肺がん促進作用はみられず、間質性肺炎と TBEH が発生することが明らかとなった。nZnO に吸入による発がん性の報告動物、ヒトともに報告は見られ無いことからこの発がん二段階試験法の妥当性が示された。TBEH の発生は塩化亜鉛でも発生し、亜鉛自体の週末細気管支への特異的毒作用に起因すると考えられた。本法によって発がんには直接関与しない間質性肺炎と肺線維症のリスク評価も可能であることが実証された。気管内に噴霧された nZnO は、肺胞上皮細胞内には全く観察されなかった。nZnO は細胞質内で分解されて亜鉛イオンとして流出した可能性がある。肺胞巣状線維化は、マクロファージから CXCL5 などケモカインを分泌し、線維芽細胞の増殖を促進することが示された。TBEH と同様にこの巣状線維化も可逆性であった。今後、亜鉛の投与と TBEH、巣状線維化発生の機序については毒性学上解明されることが望まれる。

また、光触媒活性がルチル型二酸化チタニウム (rnTiO₂) よりも強いアナターゼ型二酸化チタニウム (anTiO₂) は生物毒性がルチル型より顕著である可能性が危惧されているが、Mip1 α 発現、8-OHdG 値もルチル型より低かった。ヒト肺線維芽細胞 (CCD3)、ヒト肺がん細胞 (A549) に対する細胞増殖活性においてもルチル型より低値であった。これらの結果より、少なくとも強い光の当たらない条件下では生物・細胞毒性はアナターゼ型より弱いものと考えられた。

今年度の基礎的有害性情報の収集の中で、新たに判明した腹腔内投与及び気管内投与による催奇形性が、中皮腫と同様のアスベスト様の物性や形状に依存しているかどうかについては不明である。そもそも、アスベストばく露による催奇形性を調べた研究報告もなく、アスベストそのものに催奇形性があるのかどうかについても情報が無い。SWCNT、MWCNT の 28 日間反復投与毒性の結果では、経口投与可能な最高投与量においても特段の毒性影響は観察されておらず、経口投与による一般毒性は比較的低いと考えられる。しかし、近年 SWCNT および酸化/水酸化した MWCNT を妊娠マウスへ静脈内や経口投与することにより、胚致死や催奇形性を示唆する報告も。他方、ナノ粒子の腹腔内や静脈投与だけでなく吸入ばく露や皮下投与によっても胎盤を通過して胎児に移行することが近年報告されている。今回観察された催奇形性が MWCNT の胎児移行によるものであるとすれば、中皮腫を起こした形状のものよりは小さく、体内吸収されやすい、より微少の粒子によるものであることが想定されが、ばく露局所での生

体反応により誘発されたタンパクや低分子などの生体反応産物による 2 次的な影響である可能性も否定できない。実際に、妊娠ラットおよび妊娠マウスへの MWCNT 静脈内投与による催奇形性実験では胎仔の外表観察の結果では、いずれの胎仔においても奇形は認められず、暴露した後に血流に乗った MWCNT が生殖・発生毒性を引き起こす可能性は低いと考えられた。本格的なメカニズム解明のための研究が今後必要になると考えられた。

体内動態解析手法の開発に関しては、 C_{60} の代謝物として生体内に存在する可能性がある水酸化フラレン $C_{60}(OH)_2$ の検液中の定量下限値は $1 \mu\text{g/L}$ 、 C_{60} についても $0.1 \mu\text{g/L}$ と、今後の生体内挙動の解析に役立つと、高感度測定方法を確立した。

MWCNT の *in vivo* 遺伝毒性に関しては Kato らが行った *gpt-delta* トランスジェニックマウスの報告があり、MWCNT 単回投与や 2 回投与では肺での遺伝毒性は認められないが、4 回の連続投与で有意に遺伝毒性を認める結果が報告された。これらの報告では肺における酸化的 DNA 損傷や過酸化脂質に由来する DNA 付加体の上昇も報告されており酸化的な事象により遺伝毒性を示すのではないかと考えられる。しかしながら、今年度行った MWCNT の *in vivo* 遺伝毒性試験では遺伝毒性は認められなかった。この理由として、今年度の試験では致死量に近い量を投与しているため、投与量の問題というよりも、投与回数に由来するのではないかと考えられる。すなわち、単回投与よりも、複数回投与することでより過剰な炎症反応が慢性的に生じ、それに伴って遺伝毒性が検出されているのではないかと

という可能性が指摘できる。

CNT の超音波処理上清によるミクログリア細胞毒性については、金属が CNT に不均一に含有されている可能性がある。一方、金属以外に CNT 自体がミクログリア細胞毒性を持つ可能性も示唆された。CNT 超音波処理上清を $0.22 \mu\text{m}$ フィルターで濾過すると細胞毒性は消失し、CNT 自体のミクログリア毒性は $0.22 \mu\text{m}$ 以上の大きさに凝集したものに由来することを示している。さらに、この凝集体をミクログリアが取り込み、死に至る、という新しいパスウェイを示唆した。

このような細胞障害性のメカニズム解析として、MWCNT の生体膜への直接障害性を調べたところ、高濃度 CNT は直接物理的に細胞膜を障害し、細胞毒性を引き起こす可能性が示された。CNT の浮遊微粒子に細胞毒性が見られること、フラレンではリポソーム膜透過性変化を示さないことから、針状の CNT 形状の重要性が同時に示唆された。CNT 低濃度暴露時にマクロファージ細胞で見られる変化に関しても、細胞膜あるいはエンドサイトシス後のオルガネラ膜への CNT の直接的作用が酸化ストレス等の引き金になっている可能性も考えられる。さらに本研究で明らかとした CNT によるリポソーム膜透過性変化は、定量的かつ簡便に測定できるため、CNT の生物活性評価法として有用である可能性が示された。

また、MWCNT 炎症反応メカニズムの解析検討として NLRP3 を含むインフラマソームが MWCNT により活性化されて IL-1 β 産生を促進する機序を明らかにした。最近、NLRP3 は内外の危険因子を認識して炎症を誘導し、様々な病態進展に関与することが明らかにされ

ている。MWCNT は分解されず組織に滞り、IL-1 β 産生による炎症が長期に持続する可能性がある。炎症反応が遷延化した「慢性炎症」は動脈硬化やガンなど多様な疾患の要因として脚光を浴びており、MWCNT のこれら病態との関わりが注目される。

E. 結論

慢性影響評価研究として、前年度引き続き繊維状粒子による中皮腫誘発の用量と形状依存性に関する研究とメソセリンの発現解析、気管内投与発がんプロモーション作用に関する研究を行った。基礎的有害性情報の収集としては、C60 の水酸化体の分析手法の開発に加えて、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)による発生毒性と、in vivo 遺伝毒性の検討を行うと共に、in vitro 細胞系に及ぼす影響やメカニズムに関する検討を行った。

その結果、慢性研究では中皮腫誘発性として MWCNT 繊維サイズの違いが影響することを示したが繊維長依存性を直接に説明することはできなかった。またナノサイズ酸化亜鉛の気管内投与による肺の障害性は可逆性であった。しかし、メソセリンやケモカインなどのバイオマーカーが指標となることが示された。また、今年度新たに MWCNT が催奇形性を持つ可能性を示唆した。in vitro 研究では MWCNT のマクロファージ等の細胞内での異物処理機構が炎症反応のメカニズムに重要であることを示唆した。

F. 健康危機情報

多層型カーボンナノチューブの腹腔内投与により実験動物に中皮腫を引き起こすことを示した(平成 20 年 2 月に報告)ものと同じ多層型カーボンナノチューブが、妊娠マウスへの腹腔

内投与のみならず気管内投与(3、4、5mg/kg 投与)によって催奇形(4 mg/kg 以上)を示すことが確認されたため、厚生労働省健康危機管理調整官宛に健康危険情報通報(グレード B: 情報提供、経過注視)を行った。(平成 23 年 12 月 19 日)

G. 研究発表

1. 論文発表

- Xu, J., Sagawa, Y., Futakuchi, M., Fukamachi, K., Alexander, D. B., Furukawa, F., Ikarashi, Y., Uchino, T., Nishimura, T., Morita, A., Suzui, M., Tsuda, H. Lack of promoting effect of titanium dioxide particles on ultraviolet B-initiated skin carcinogenesis in rats. *Food Chem Toxicol*, 49, 1298-1302, 2011
- Sagawa, Y., Futakuchi, M., Xu, J., Fukamachi, K., Sakai, Y., Ikarashi, Y., Nishimura, T., Suzui, M., Tsuda, H., Morita, A. Lack of promoting effect of titanium dioxide particles on chemically-induced skin carcinogenesis in rats and mice. *J Toxicol Sci*, 37, 317-327, 2012
- Zhang D., Kobayashi T., Kojima T., Kanenishi K., Hagiwara Y., Abe M., Okura H., Hamano Y., Sun G., Maeda M., Jishage K., Noda T. and Hino O.; Deficiency of the *Erc/mesothelin* gene ameliorates renal carcinogenesis in *Tsc2* knockout mice. *Cancer Science*

- 102: 720-727, 2011.
- Imashimizu K., Shiomi K., Maeda M., Aoki N., Igarashi K., Suzuki F., Koizumi M., Suzuki K. and Hino O.: Feasibility of large-scale screening using N-ERC/mesothelin levels in the blood for the early diagnosis of malignant mesothelioma. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2: 409-411, 2011
- Shiomi K., Shiomi S., Ishinaga Y., Sakuraba M., Hagiwara Y., Miyashita K., Maeda M., Suzuki K., Takahashi K. and Hino O.: Impact of renal failure on the tumor markers of mesothelioma, N-ERC/mesothelin and Osteopontin. *Anticancer Research*, 31: 1427-1430, 2011
- Kanamori-Katayama M., Kaiho A., Ishizu Y., Okamura-Oho Y., Hino O., Abe M., Kishimoto T., Sekihara H., Nakamura Y., Suzuki H., Forrest A. R. R., Hayashizaki Y.: LRR4 and UPK3B are markers of primary mesothelial cells. *PLoS One*, 6: e25391-25399, 2011
- Zhang, X.*, Horibata, K*, Saijo, M.*, Ishigami, C., Ukai, A., Kanno, SI., Tahara, H., Neilan, E.G., Honma, M, Nohmi, T., Yasui, A. and Tanaka, K. Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and destabilize ERCC6 in transcription-coupled DNA repair. *Nature Genetics*, *in press* (*these authors contributed equally to this work.)
- Kimoto, T., Chikura, S., Suzuki, K., Kobayashi, X., Itano, Y., Horibata, K., Honma, M., Dobrovolsky, V.N., Heflich, R.H., Miura, D. and Kasahara, Y. Further Development of the Rat Pig-a Mutation Assay: Measuring Rat Pig-a Mutant Bone Marrow Erythrocytes and a High Throughput Assay for Mutant Peripheral Blood Reticulocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2011, 52:774-783
- Sato, K., Kuriwaki J., Takahashi, K., Saito Y., Oka J., Otani Y., Sha Y., Nakazawa K., Sekino Y., Ohwada T. (2012) Discovery of a tamoxifen-related compound that suppresses glial L-glutamate transport activity without Interaction with estrogen receptors. *ACS Chem Neurosci* 3, 105-113 (C.A.)
- Takahashi, K., Ishii-Nozawa, R., Takeuchi, K., Nakazawa, K., Sato, K. (2010). Two NSAIDs, niflumic acid and diclofenac, inhibit the human glutamate transporter EAAT1 through different mechanisms. *J Pharmacol Sci* 112, 113-117. (C.A.)
- 佐藤 薫 (2011) グリア型グルタミン酸トランスポーター、*日薬理誌* 138:127
- Ryoei Kato and Kun'ichi Miyazawa, "aman laser polymerization of C₆₀ nanowhiskers", *Journal of*

- Nanotechnology, 2012(2012)101243.
- Fujitani T, Ohyama K, Hirose A, Nishimura T, Nakae D*, Ogata A: Teratogenicity of multi-wall carbon nanotube (MWCNT) in ICR mice, J. Toxicol. Sci. 37, 81-89 (2012).
- Yamaguchi A, Fujitani T, Ohyama K, Nakae D, Hirose A, Nishimura T, Ogata A. , Effects of sustained stimulation with multi-wall carbon nanotubes on immune and inflammatory responses in mice. J. Toxicol. Sci. 37, 177-189 (2012).
- Kubota, R., Tahara, M., Shimizu, K., Sugimoto, N., Hirose, A., Nishimura, T.: Time-dependent variation in the biodistribution of C60 in rats determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry., Toxicol. Lett., 206, 172-177(2011).
- Horibata, K., Ukai, A., Koyama, N., Takagi, A., Kanno, J., Kimoto, T., Miura, D., Hirose, A., and Honma, M. : Fullerene (C60) is negative in the in vitro pig-A gene mutation assay. Genes and Environment 33, 27-31 (2011).
- 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研究の重要性 薬学雑誌, 131 (2), 195-201 (2011) .
2. 学会発表
- 毒性試験と評価に関する新たな課題へのアプローチ—厚生労働科学ナノマテリアル研究の展開 化学物質の安全管理に関するシンポジウム(2012. 2. 17) (東京)
- 菅野 純, 高木篤也, 西村哲治, 広瀬明彦, Carcinogenicity and Chronic Toxicity of Nanomaterials、第70回日本癌学会学術総会、2011. 10. 4, 名古屋、口演
- Jun Kanno, Atsuya Takagi, Tetsuji Nishimura, Akihiko Hirose, Nanomaterial Toxicology - Importance of Chronic Toxicity Assessment, Attendance at 5th International Conference on Nanotechnology - Occupational and Environmental Health, (2011. 8. 10) (Boston, USA), Oral
- Xu J, Futakuchi M, Alexander DB, Fukamachi K, Sakai Y, Suzui M, et al. Intra-pulmonary sprayed carbon nanotubes reach the pleural cavity and induce proliferation of visceral mesothelial cells. 70th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association; Nagoya, 2011
- 二口充, 徐結苟, 深町勝巳, 酒々井眞澄, 津田洋幸. ナノサイズ酸化亜鉛の気管内噴霧による間質性肺炎の発生. 第38回日本トキシコロジー学会; 横浜, 2011
- 深町勝巳, 二口充, 酒々井眞澄, 徐結苟, 津田洋幸. 単層および多層カーボンナノチューブのマクロファージを介した肺がん細胞増殖促進作用. 第38回日本トキ

- シコロジ学会; 横浜, 2011
- Kubota, R., Tahara, M., Shimizu, K., Kobayashi, N., Sugimoto, N., Hirose, A., Nishimura, T. (2011) Time-dependent biodistribution of C60 in rat after tail-vein administration, 47th Congress of the European Societies of Toxicology, Paris, France, August, abstracts. 2342.
- 坂本義光、大山謙一、広瀬明彦、西村哲治、中江大、小縣昭夫: 2種の多層カーボンナノチューブ (MWCNT) のラット腹腔内投与による中皮腫の誘発、第38回日本トキシコロジ学会、2011年、7月、横浜.
- 山口敦美、藤谷智子、大山謙一、広瀬明彦、西村哲治、小縣昭夫、中江大: 多層カーボンナノチューブの投与による炎症・免疫系への影響(II)、第38回日本トキシコロジ学会、学術年会、2011年、7月、横浜.
- Sakamoto, Y., Ogata, A., Nishimura, T., Hirose, A., Nakae, D. (2011) Influence of the product level physico-chemical property on the carcinogenicity of multi-wall carbon nanotube in rats. 第70回日本癌学会、2011年、10月、名古屋.
- 坂本義光、大山謙一、広瀬明彦、西村哲治、中江大、小縣昭夫: ラットにおける多層カーボンナノチューブの発がん性に対して製品レベルの物理化学的性質が及ぼす影響、第28回日本毒性病理学会、2012年、2月、東京.
- Horibata, K., Ukai, A., Kimoto, T., Suzuki, T., Kamoshita, N., Masumura, K., Nohmi, T. and Masamitsu Honma, M. Evaluation of in vivo genotoxicity induced by N-ethyl-N-nitrosourea, benzo[a]pyrene and 4-nitroquinoline-1-oxide by *Pig-a* and *gpt* assays. Society of Toxicology 51st Annual Meeting, March 2012, San Francisco
- Horibata, K., Ukai, A., Masumura, K., Nohmi, T. and Honma, M. In Vitro Genotoxicity Tests Using Primary Hepatocytes. Environmental Mutagen Society 42nd Annual Meeting, October 2011, Montreal
- Kimoto, T., Horibata, K., Muto, S., Sanada, H., Hashimoto, K., Itoh, S., Uno, Y. and Honma, M. A Japanese Collaborative Study on Rat *Pig-a* Assay; Report on a Transferability of the Assay Method and Interlaboratory Difference. Environmental Mutagen Society 42nd Annual Meeting, October 2011, Montreal
- Kimoto, T., Chikura, S., Suzuki, K., Kobayashi, X., Itano, Y., Horibata, K., Honma, M., Dobrovolsky, V.N., Heflich, R.H., Miura, D. and Kasahara, Y. Further Development of the Rat *Pig-a* Mutation assay: Measuring Rat *Pig-a* Mutant Bone Marrow Erythrocytes and a High Throughput Assay for Mutant Peripheral Blood Reticulocytes.

- Environmental Mutagen Society 42nd Annual Meeting, October 2011, Montreal
- Zhang, X., Horibata, K, Saijo, M., Ishigami, C., Ukai, A., Kanno, SI., Neilan, E.G., Tahara, H., Honma, M., Nohmi, T., Yasui, A. and Tanaka, K. Molecular cloning of the gene for UV-Sensitive Syndrome with deficiencies in Transcription-coupled DNA repair. Conference: Response to DNA damage: from molecular mechanism to human disease, April 2011, Egmond aan Zee, Netherlands
- 大波冴子, 曹永晩, 豊田武士, 堀端克良, 本間正充, 能美健彦, 西川秋佳, 小川久美子. glycidol と 3-MCPD 及びこれらのエステル化合物におけるラット 28 日間反復投与試験の影響について. 第 28 回日本毒性病理学会総会, 2012 年 2 月
- Zhang, X., Horibata, K, Saijo, M., Ishigami, C., Ukai, A., Kanno, SI., Neilan, E.G., Tahara, H., Honma, M., Nohmi, T., Yasui, A. and Tanaka, K. Molecular cloning of the gene for UV-sensitive syndrome with deficiencies in transcription-coupled DNA repair. 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011 年 12 月
- Saijo, M., Zhang, X., Horibata, K., Ishigami, C., Ukai, A., Kanno, SI., Tahara, H., Neilan, E.G., Honma, M., Nohmi, T., Yasui, A. and Tanaka, K. UVSSA and USP7 cooperate to stabilize CSB in transcription-coupled DNA repair. 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011 年 12 月
- 堀端克良, 鶴飼明子, 木本崇文, 鈴木哲矢, 鴨下渚, 能美健彦, 本間正充. *Pig-a* アッセイとトランスジェニック突然変異試験の組合せに関する研究. 日本環境変異原学会第 40 回大会, 2011 年 11 月
- 木本崇文, 堀端克良, 武藤重治, 真田尚和, 橋本和之, 伊東悟, 宇野芳文, 本間正充. ラット末梢血を用いる *Pig-a* アッセイ共同研究: 測定技術の共有化と施設間差に関する研究報告. 日本環境変異原学会第 40 回大会, 2011 年 11 月
- 堀端克良, 増村健一, 能美健彦, 本間正充. In vitro genotoxicity assay using primary hepatocytes derived from *gpt* delta transgenic mouse. 第 70 回日本癌学会学術総会, 2011 年 10 月
- 大波冴子, 曹永晩, 豊田武士, 堀端克良, 本間正充, 能美健彦, 西川秋佳, 小川久美子. Evaluation of in vivo genotoxicity of glycidol and 3-MCPD and associated esters, using *Pig-A* and micronucleus assays. 第 70 回日本癌学会学術総会, 2011 年 10 月
- 木本崇文, 千蔵さつき, 鈴木久美子, 小林小梅, 板野泰弘, Vasily N. Dobrovolsky, Robert H. Heflich, 堀端克良, 本間正充, 三浦大志郎, 笠原義典. 新規 in vivo 遺伝子突然変異評価系 (*Pig-a* アッセイ) の検討: 骨髄エリスロイド及び末梢血網状赤血球を用いる *Pig-a* アッセイの開発.

- 第38回日本トキシコロジー学会学術年回、
2011年7月
- 佐藤 薫、重本一最上 由香里、大野泰雄、
関野祐子、ミクログリアは生後初期脳室
下帯の神経新生、オリゴデンドロサイト
新生を誘導する Neuro2010 (2010. 9)
(神戸市)
- 高橋華奈子、中澤憲一、石井一野澤 玲子、
竹内 幸一、関野祐子、佐藤 薫、ナイ
フルミック酸によるヒトグルタミン酸ト
ランスポーター EAAT1 substrate-gated
conductance の調節 Neuro2010 (2010.
9) (神戸市)
- 佐藤 薫、重本一最上 由香里、大野泰雄、
関野祐子、生後初期脳におけるミクログ
リアの役割 内藤コンファランス (2010.
10, 神奈川県湘南市)
- 高橋華奈子、中澤憲一、石井一野澤 玲子、
竹内 幸一、関野祐子、佐藤 薫、ナイ
フルミック酸によるヒトグルタミン酸ト
ランスポーター EAAT1 コンダクタンス
の調節 内藤コンファランス (2010. 10)
(神奈川県湘南市)
- 佐藤 薫、高橋華奈子、中澤憲一、石井一
野澤 玲子、竹内 幸一、関野祐子、ナイ
フルミック酸によるヒトグルタミン酸
トランスポーター EAAT1 の基質依存的
な調節 第84回 日本薬理学会年会
(2011. 3) (横浜市)
- 高木 淳平、佐藤 薫、鈴木 岳之、パロ
キセチンはリポポリサッカライドによっ
て引き起こされるグルタミン酸トラン
スポーター活性の低下を抑制する 第84
- 回 日本薬理学会年会 (2011. 3) (横浜
市)
- 佐藤 薫、James E Goldman、関野 祐子、
生後初期脳のリスクアセスメントシステ
ムの構築、日本薬学会第132回年会 (2011.
3, 静岡市)
- 藤森康希、高木淳平、佐藤薫、鈴木岳之
炎症時のグリア間コミュニケーションが
グルタミン酸トランスポーター機能変化
をもたらす 次世代を担う創薬・医療薬
理シンポジウム 2011 (2011. 8) (東京)
- 佐藤 薫、高木淳平、藤森康希、鈴木岳之、
関野祐子、パロキセチンは新規メカニズ
ムにより炎症下のグルタミン酸取り込み
機能低下を抑制する 第34回 日本神
経科学大会 (2011. 9) (横浜)
- 鈴木岳之、高木淳平、藤森康希、佐藤 薫、
炎症時グリア間コミュニケーションによ
りアストロサイトグルタミン酸トラン
スポーター機能低下が引き起こされる 第
34回 日本神経科学大会 (2011. 9) (横
浜)
- 最上(重本) 由香里、関野祐子、大野泰雄、
佐藤 薫 生後ラットの脳・SVZ 周辺にお
いて活性化ミクログリアは神経およびグ
リア細胞の新生・分化を制御している
第34回 日本神経科学大会 (2011. 9) (横
浜)
- 片山(小口) 敦子、門間彰彦、大友ゆき、守
口 徹、関野祐子、佐藤 薫、胎生期お
よび新生期バルプロ酸暴露によるラット
扁桃体遺伝子発現変動の網羅的解析 第
34回 日本神経科学大会 (2011. 9) (横

- 浜)
高橋由香里、永瀬将志、落合敏平、安井 豊、
中尾彩乃、渡部文子、高木 聡、佐藤 優、
奥津 浩也、守口 徹、佐藤 薫、加藤
総夫 胎生～新生期における化学暴露が
扁桃神経興奮性に及ぼす影響の多面的
評価法 第34回 日本神経科学大会
(2011.9) (横浜)
- 中 誠則、真嶋悠幾、井手総一郎、佐藤 薫、
南 雅文 新生期バルプロ酸暴露が成獣
ラット情動行動に与える影響 第21回
日本臨床精神神経薬理学会・第41回日本
神経精神薬理学会 合同年会(2011.9) (東
京)
- 真嶋悠幾、中 誠則、井手総一郎、佐藤 薫、
南 雅文 新生期バルプロ酸暴露が成獣
ラット情動行動に与える影響 第62回
日本薬理学会北部会 (2011.9) (仙台)
- 佐藤 薫 iPS 細胞由来ニューロンの薬
理学的プロファイリング 平成23年度
厚生労働省科学研究費補助金医療品・医
療機器等レギュラトリーサイエンス総合
研究事業シンポジウム「ヒト iPS 細胞を
用いた安全性薬理試験へのロードマッ
プ」 (2012.2) (東京)
- 佐藤 薫、最上由香里、関野祐子 創薬標
的としてのミクログリアの新しい可能性
日本薬学会第132回年会シンポジウム
「次世代創薬に向けた新たなストラテジ
ー」 (2012.3) (札幌)
- 高橋華奈子、最上(重本)由香里、岡田洋平
大津香苗、福角勇人、正札智子、金村米
博、岡野栄之、関野祐子、佐藤 薫 ヒト
iPS 由来神経細胞標本の薬効・毒性評価
への応用可能性—最適 iPS 株探索と標準
プロトコルの作成 日本薬学会第132回
年会 (2012.3) (札幌)
- 最上(重本)由香里、藤森 康希、五十嵐 良
明、広瀬 明彦、関野 祐子、佐藤 薫
カーボンナノチューブが神経幹細胞に
与える影響 日本薬学会第132回年会
(2012.3) (札幌)
- 片山敦子、門馬彰彦、大友ゆき、今井美鈴、
秋友孝文、守口 徹、関野祐子、佐藤 薫
胎生～新生期の化学物質暴露が情緒社会
性におよぼす影響を予測するマーカー機
能タンパク質遺伝子群の探索 日本薬学
会第132回年会 (2012.3) (札幌)
- 藤森康希、高木淳平、佐藤 薫、鈴木岳志
炎症条件下グルタミン酸トランスポー
ター機能低下に対する抗うつ薬の作用 第
85回日本薬理学会年会 (2012.3) (京都)
- 佐藤 薫、栗脇淳一、高橋華奈子、斉藤善
郎、岡淳一郎、尾谷優子、沙宇、中澤憲
一、関野祐子、大和田智彦 エストロゲ
ン受容体を介さずグリア型グルタミン酸
トランスポーターを抑制するタモキシフ
ェン関連化合物の発見 第85回日本薬
理学会年会 (2012.3) (京都)
- Sato, K., Shigemoto-Mogami, Y., Ohno, Y.,
Sekino, Y. Microglia instruct
neurogenesis and oligodendrogenesis
in the early postnatal SVZ (ミクログ
リアは生後初期脳室下帯の神経新生、オ
リゴデンドロサイト新生を促進する)