

図 48. 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 ($p < 0.05$).

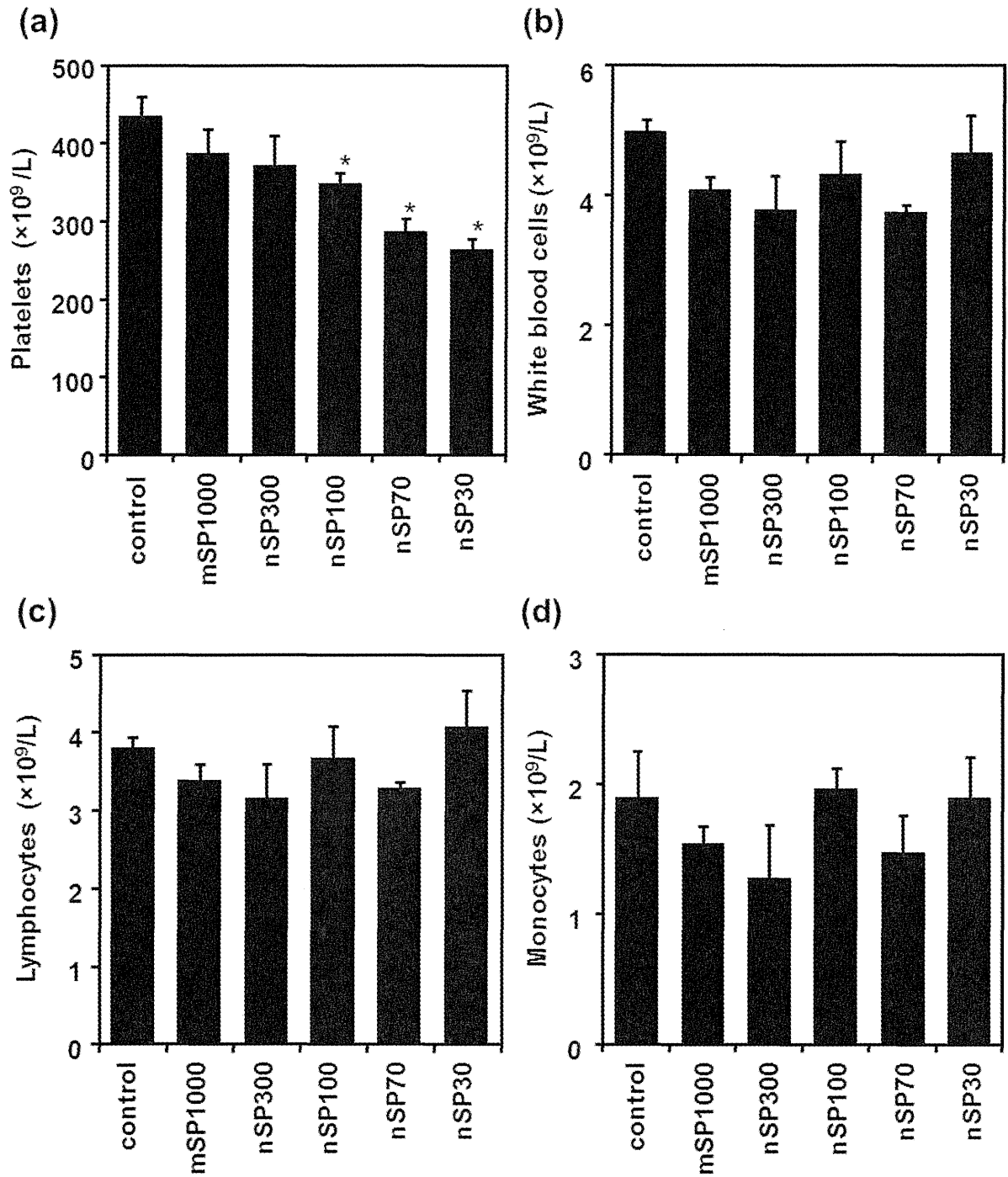


図 49. ナノシリカを 7 日間連続経鼻投与したマウスの血液生化学検査

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 ($p < 0.05$).

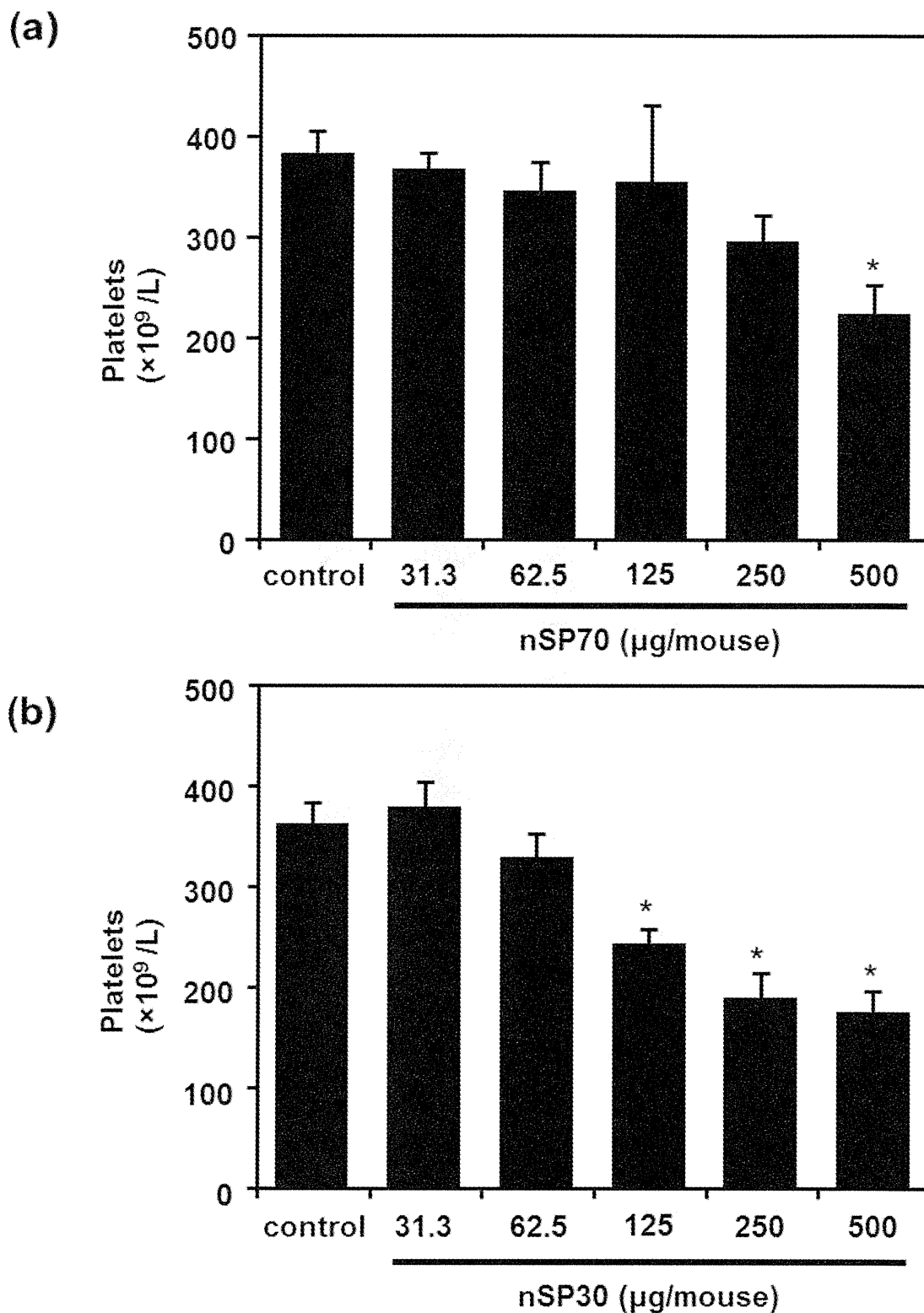


図 50. ナノシリカの経鼻影響の用量依存性 (血小板数の定量)

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 ($p < 0.05$).

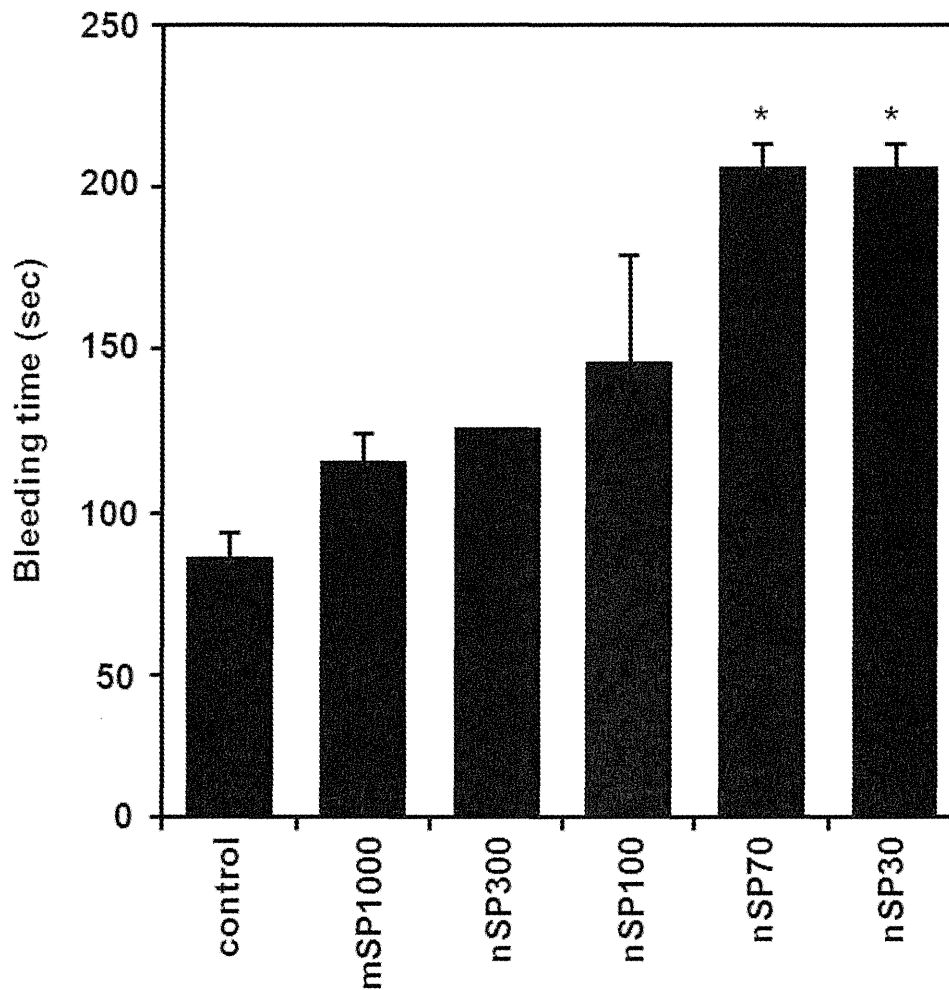


図 51. ナノシリカを 7 日間経鼻投与したマウスの血液凝固時間の測定

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。最終投与から24時間後、Duke法を用いて出血時間を測定した。マウスの耳にメスで2mmの切創をつくり、自然に流出する血液をろ紙で30秒毎に吸い取り、ろ紙に血液がつかなくなるまでの時間を出血時間とした。Results are expressed as mean \pm S.E. (n=4-5). *Represents significant difference from the control by Dunnett ($p < 0.01$).

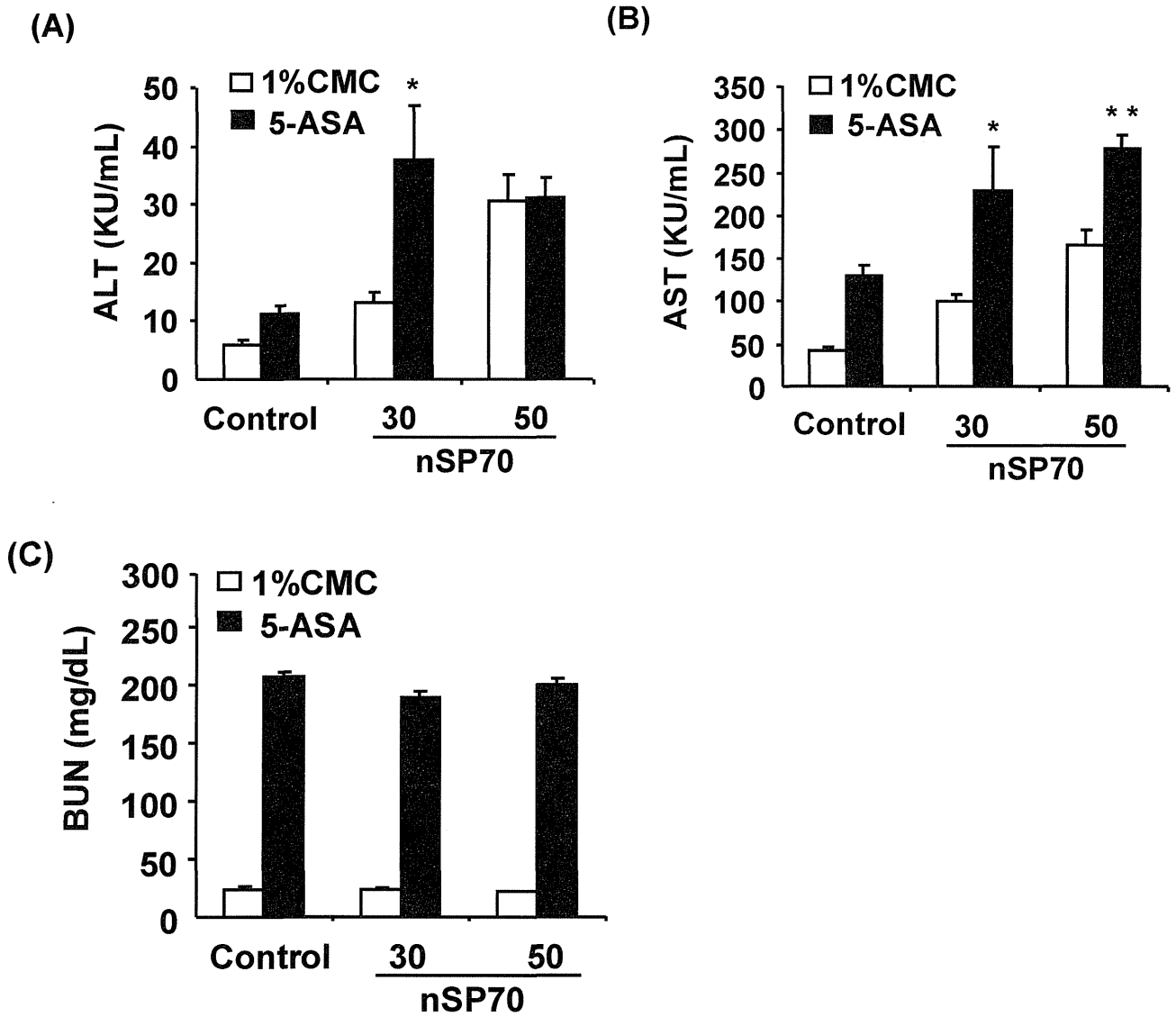


図 52. 5-アミノサリチル酸 (5-ASA) と nSP70 を併用投与したマウスにおける急性肝障害。
 5-アミノサリチル酸は腹腔内に、nSP70 は尾静脈内に投与した。投与 24 時間後に、血清中の (A) ALT、(B) AST、(C) BUN を測定した。* : $p < 0.05$ vs. 1% CMC; ** : $p < 0.01$ vs. 1% CMC

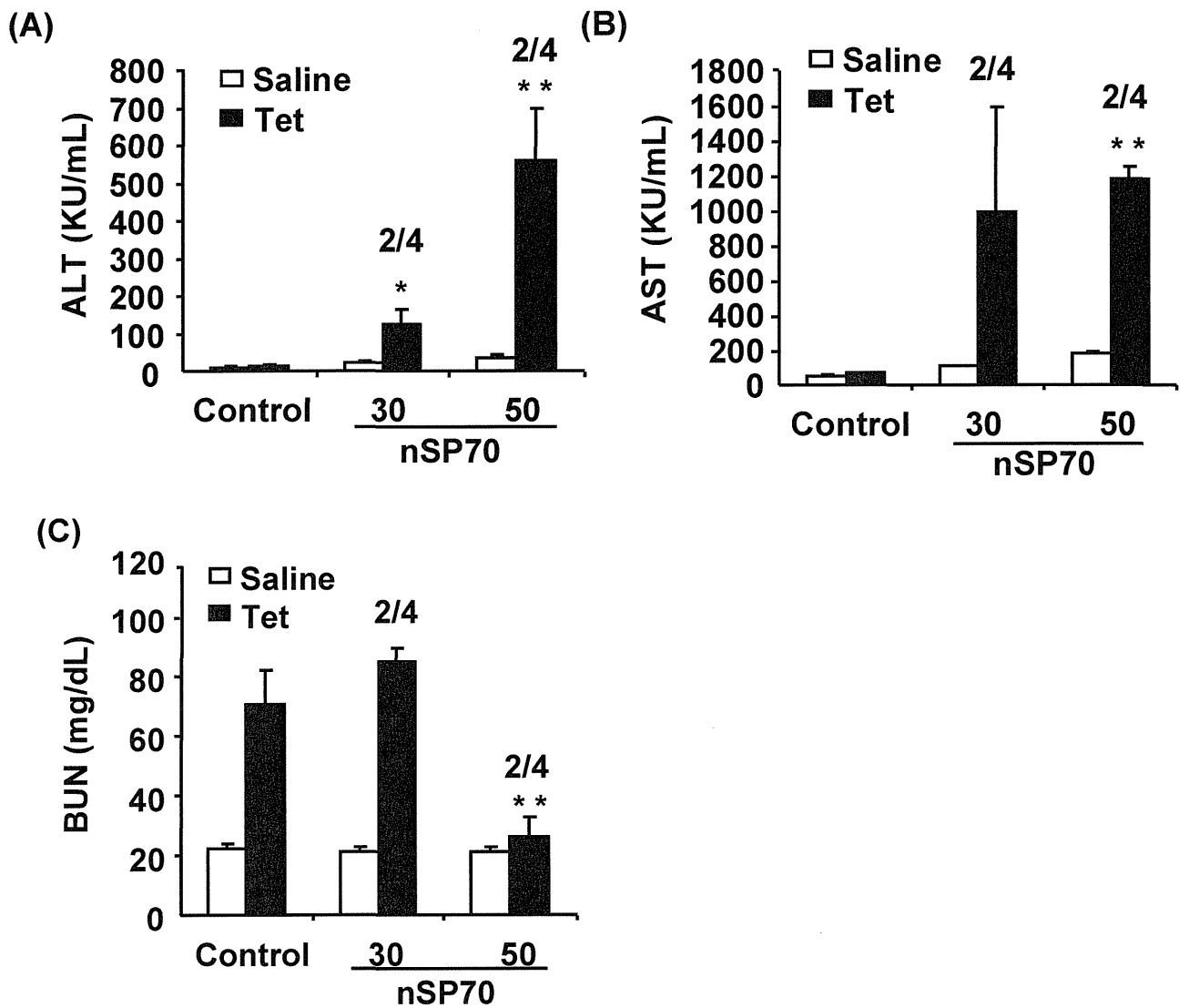


図 53. テトラサイクリン (Tet) と nSP70 を併用投与したマウスにおける急性肝障害。

テトラサイクリンは腹腔内に、nSP70 は尾静脈内に投与した。投与 24 時間後に、血清中の (A) ALT、(B) AST、(C) BUN を測定した。A、B : * : $p < 0.05$ vs. Saline; ** : $p < 0.01$ vs. Saline; C : ** : $p < 0.01$ vs. Control

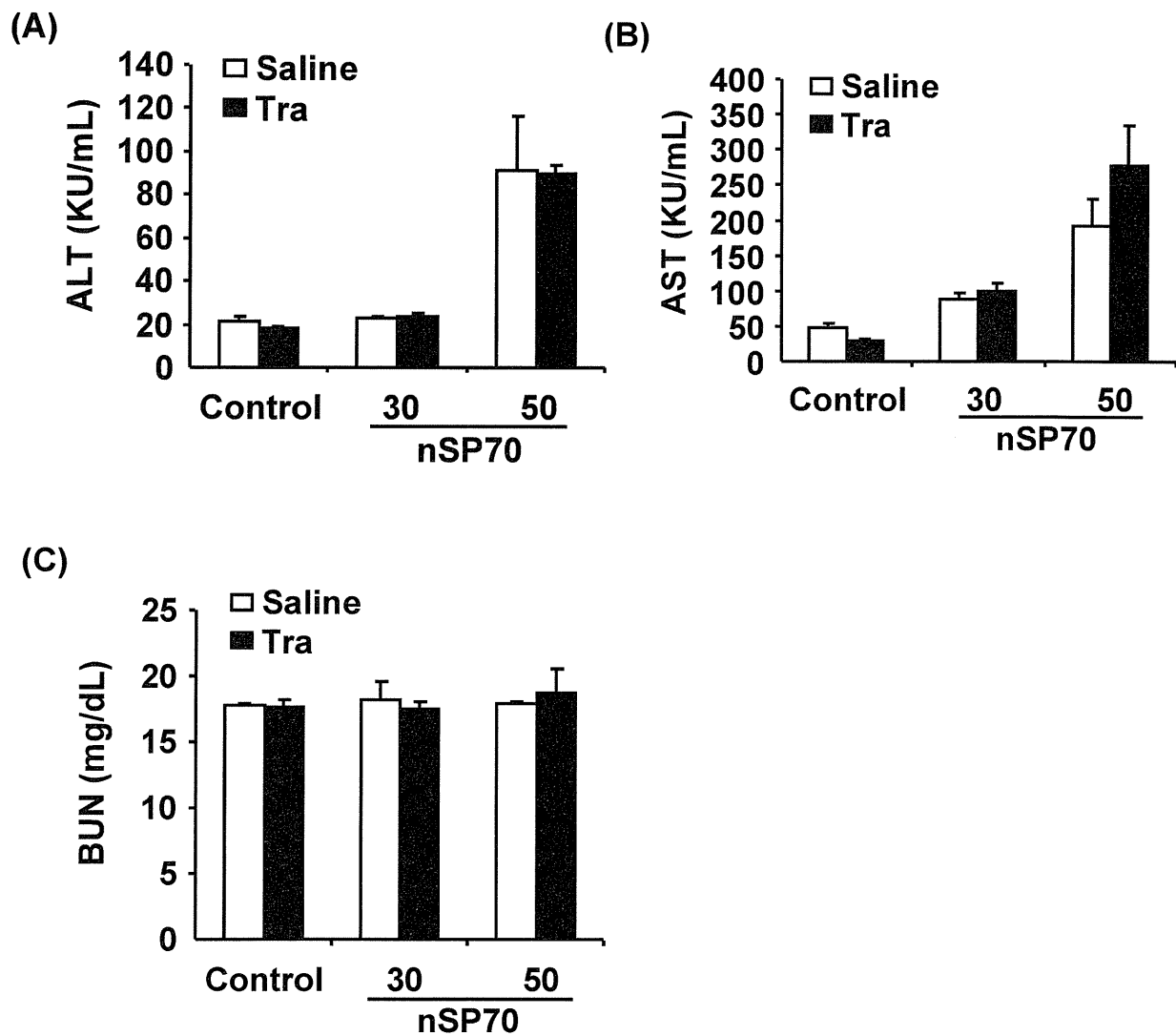


図 54. トラゾドン (Tra) と nSP70 を併用投与したマウスにおける急性肝障害。
 トラゾドンは腹腔内に、nSP70 は尾静脈内に投与した。投与 24 時間後に、血清中の (A) ALT、
 (B) AST、(C) BUN を測定した。

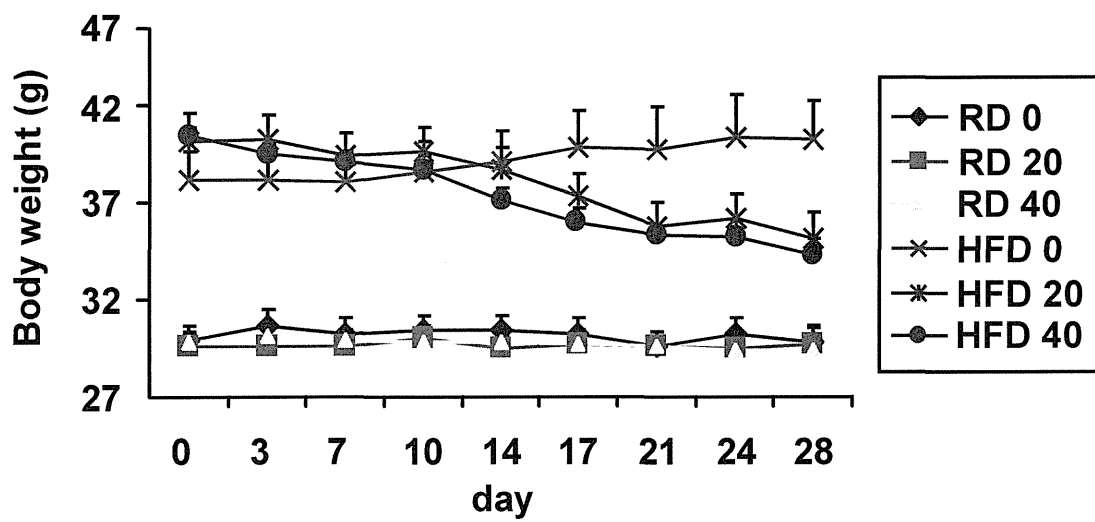


図 55. ナノシリカを頻回投与した脂肪肝モデルマウスの体重変動。

正常マウス (RD)、脂肪肝モデルマウス (HFD) にナノシリカを尾静脈内に週 2 回、4 週連続 (計 8 回) 投与した。投与ごとに体重を測定した。

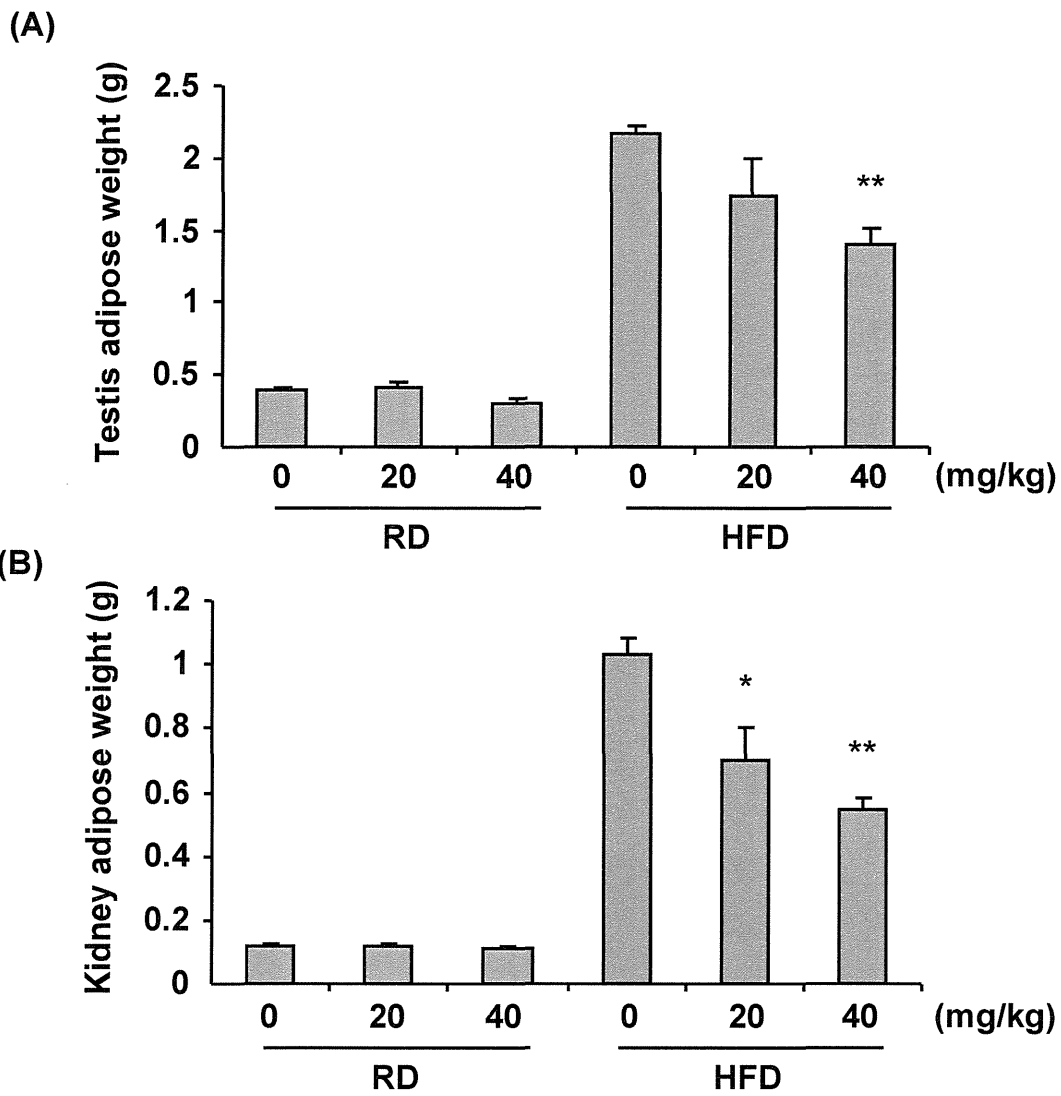


図 56 ナノシリカの頻回投与による脂肪組織の重量変動。

正常マウス (RD)、脂肪肝モデルマウス (HFD) にナノシリカを尾静脈内に週 2 回、4 週連続 (計 8 回) 投与した。最終投与 3 日後、睾丸周囲脂肪重量 (A) 及び腎臓周囲脂肪重量 (B) を測定した。*: $p < 0.05$ vs. HFD; **: $p < 0.01$ vs. HFD

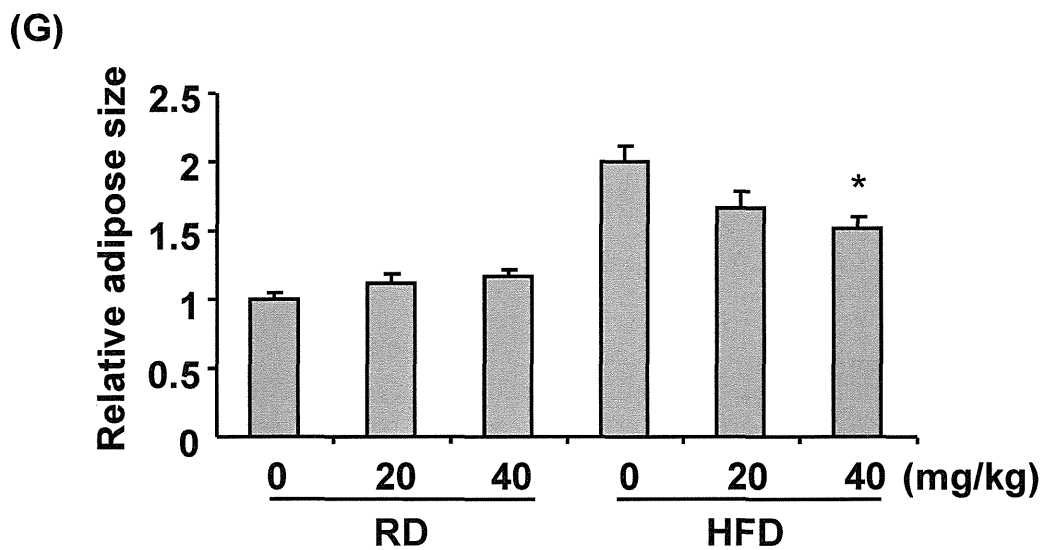
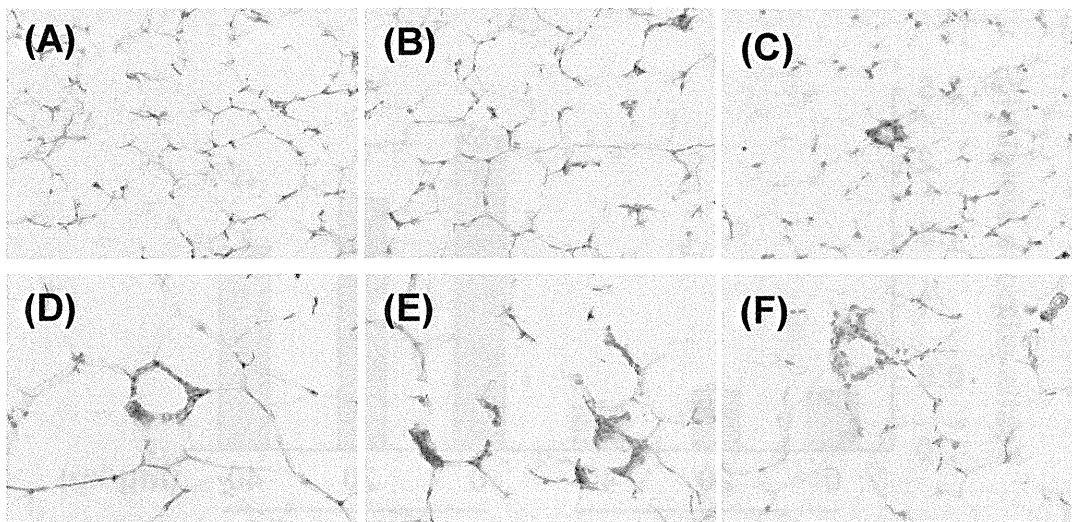


図 57 ナノシリカの頻回投与による脂肪細胞サイズの変動。

正常マウス (RD)、脂肪肝モデルマウス (HFD) にナノシリカを尾静脈内に週 2 回、4 週連続 (計 8 回) 投与した。最終投与 3 日後、睪丸周囲脂肪組織の HE 染色 (A~F) を行い、脂肪細胞のサイズ (G) を計測した。*: $p < 0.05$ vs. HFD 0

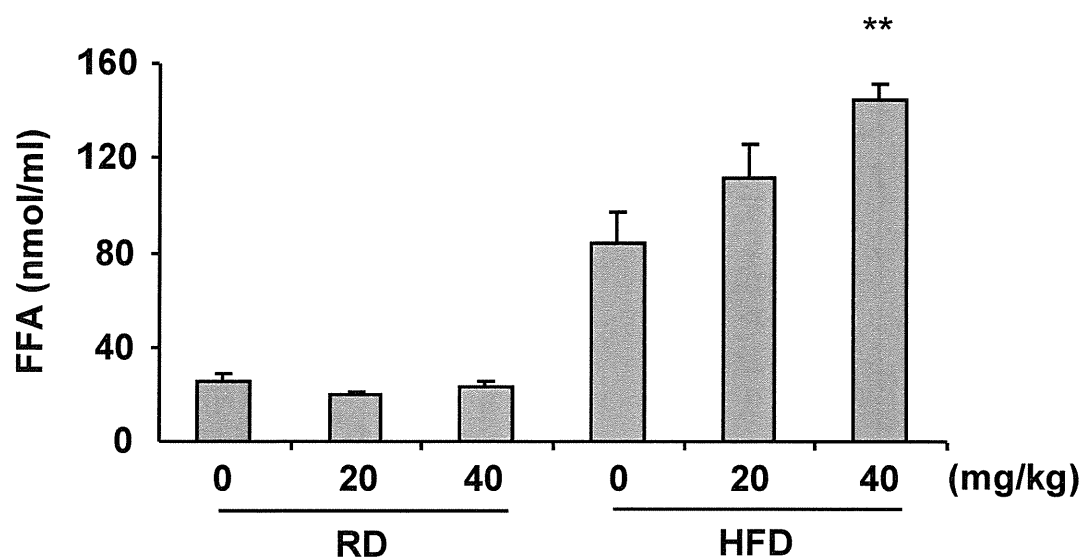


図 58 ナノシリカの頻回投与による血中遊離脂肪酸 (FFA) の変動。

正常マウス (RD)、脂肪肝モデルマウス (HFD) にナノシリカを尾静脈内に週 2 回、4 週連続 (計 8 回) 投与した。最終投与 3 日後、心採血により血清を取り、FFA を測定した。** : $p < 0.01$ vs. HFD 0

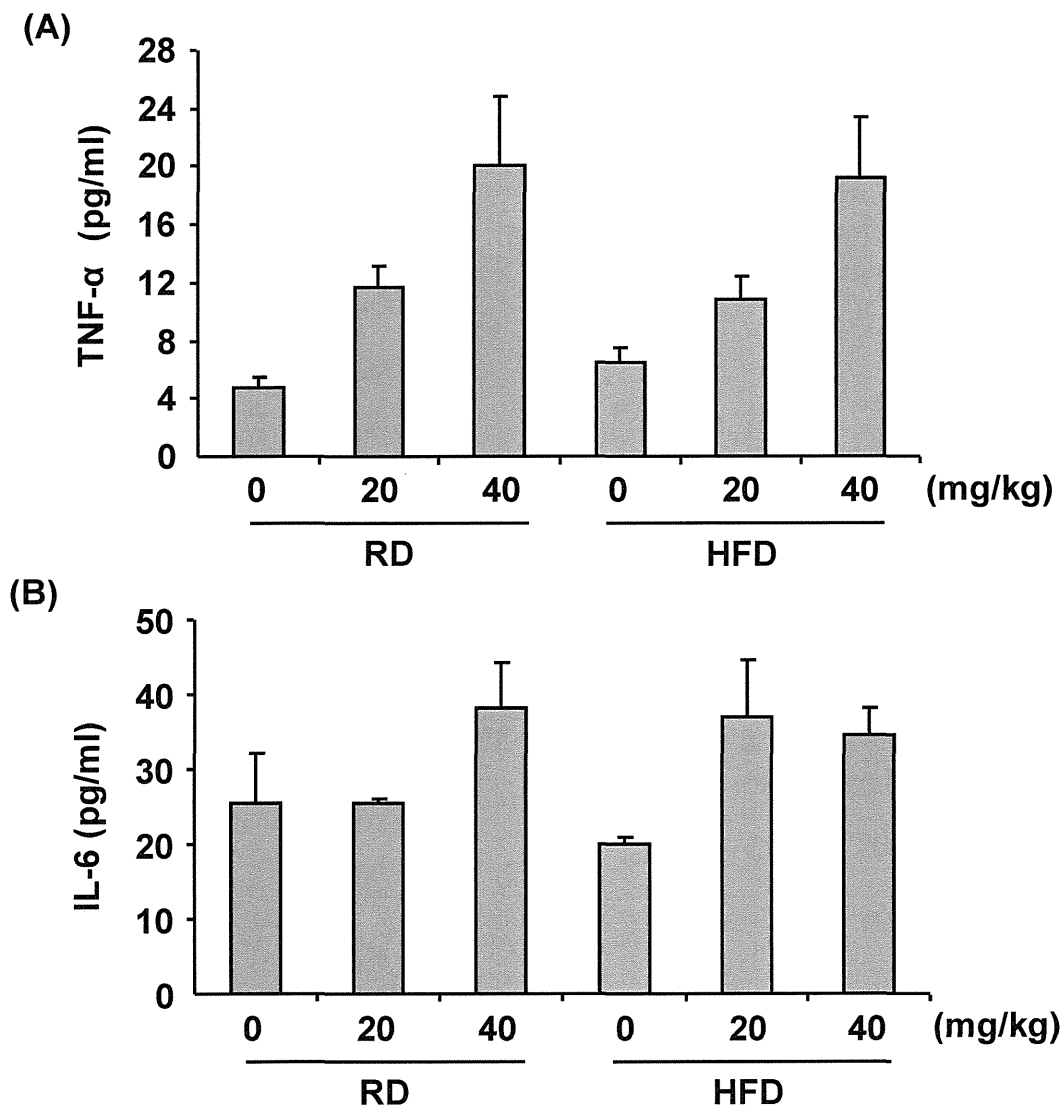


図 59 ナノシリカの頻回投与による血中炎症性サイトカインの変動。

正常マウス (RD)、脂肪肝モデルマウス (HFD) にナノシリカを尾静脈内に週 2 回、4 週連続 (計 8 回) 投与した。最終投与 3 日後、心採血により血清を取り、TNF- α (A) 及び IL-6 (B) を測定した。

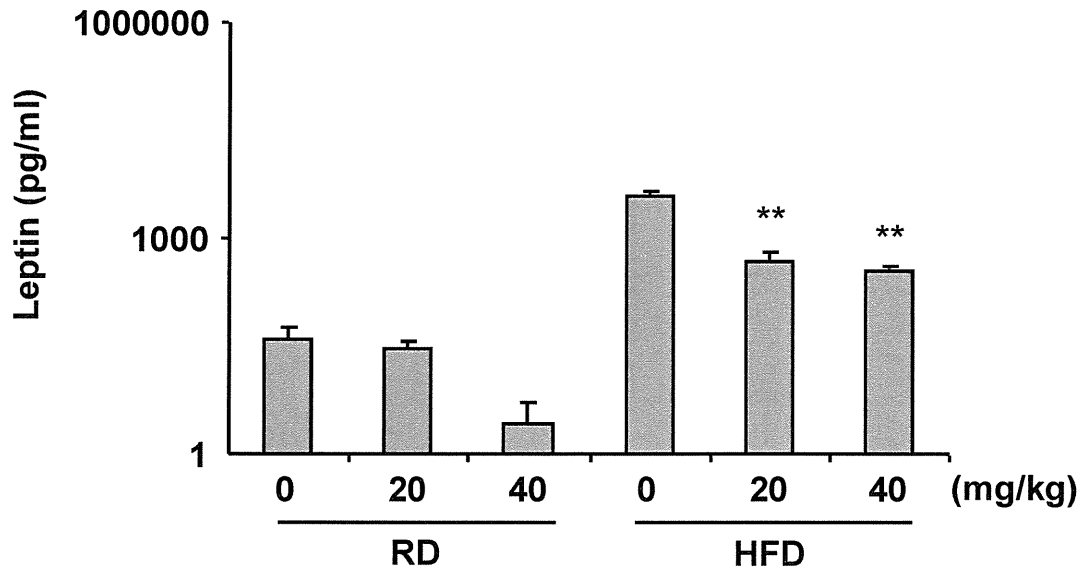


図 60 ナノシリカの頻回投与による血中レプチンの変動。

正常マウス (RD)、脂肪肝モデルマウス (HFD) にナノシリカを尾静脈内に週 2 回、4 週連続 (計 8 回) 投与した。最終投与 3 日後、心採血により血清を取り、レプチンを測定した。** : $p < 0.01$ vs. HFD 0

**p<0.01 vs. Dp

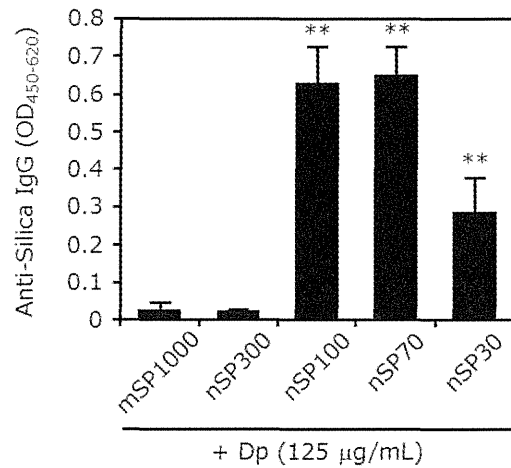


図 61. 抗シリカ抗体の産生. NC/Nga マウス (雄性 8 週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 µg/mL)、または、Dp とシリカの混合溶液 (Dp; 125 µg/mL、シリカ; 12.5 mg/mL) を、10 µL/ear で両耳介に 1 日、または 2 日おきに計 9 回皮内投与した。最終投与の 24 時間後、採血を行い、血漿を用いて各サイズのシリカ特異的 IgG を ELISA 法にて測定した。Data are presented as means ± SE (n = 4-5; *p < 0.05, **p < 0.01 versus value for Dp-treated group by Dunnett's test)

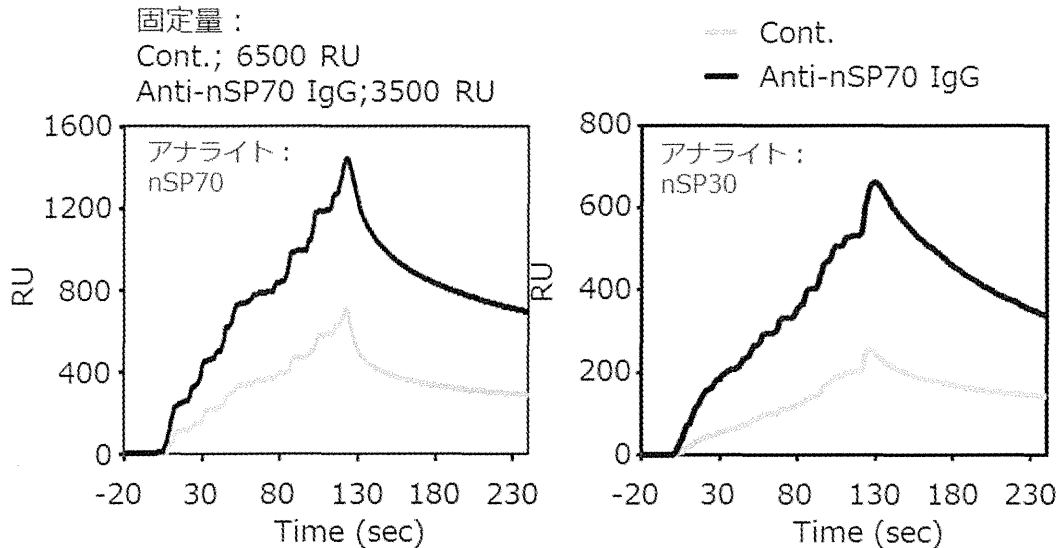


図 62. 抗シリカ抗体の特異性の確認. NC/Nga マウス (雄性 8 週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 µg/mL)、または、Dp とシリカの混合溶液 (Dp; 125 µg/mL、シリカ; 12.5 mg/mL) を、10 µL/ear で両耳介に 1 日、または 2 日おきに計 9 回皮内投与した。最終投与の 24 時間後、採血を行い、血漿中から IgG を精製した。精製した IgG の nSP70 への特異性を BIAcore 3000 (GE Healthcare) を用いて解析した。

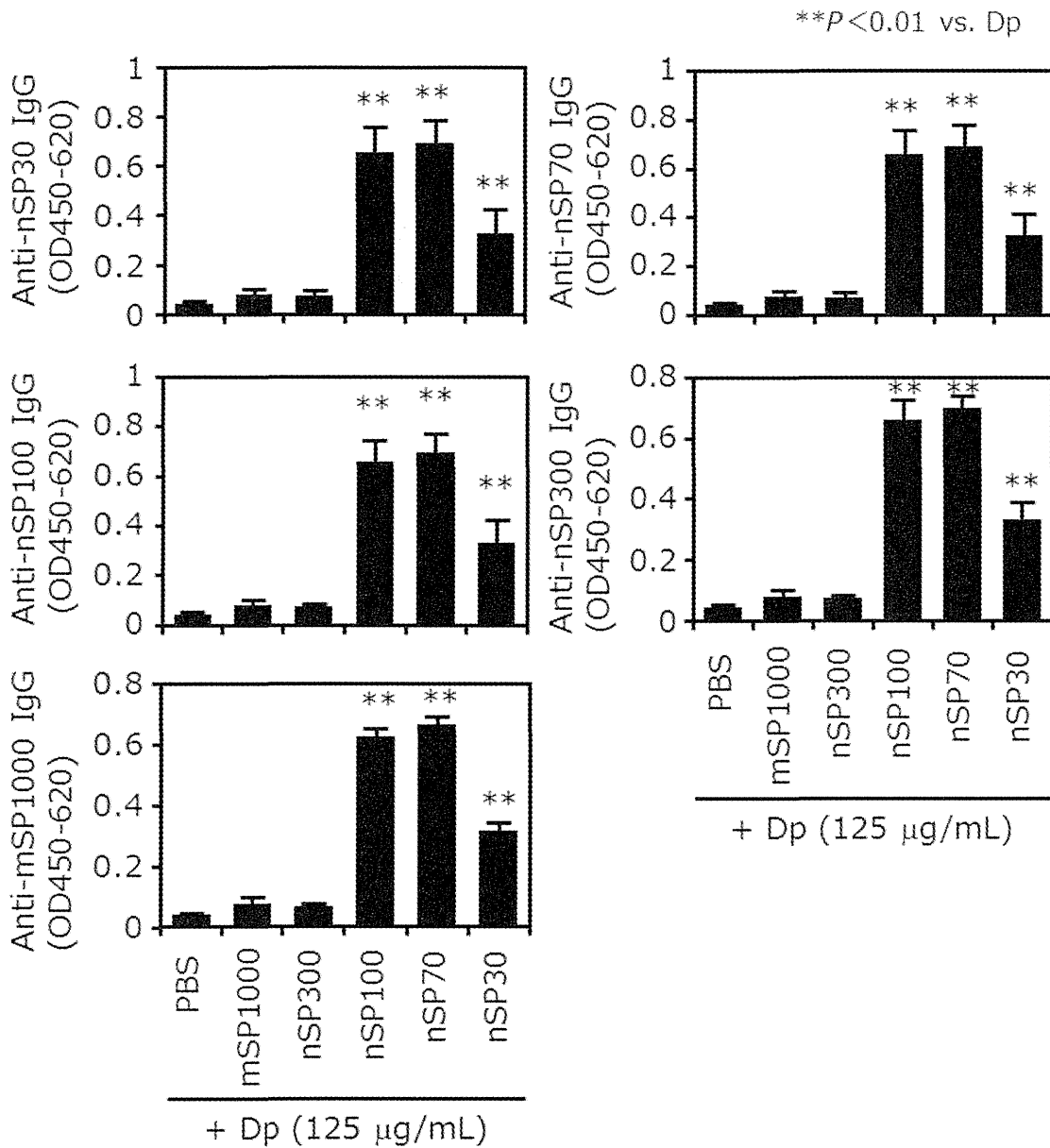


図 63. 抗シリカ抗体の交差反応性. NC/Nga マウス (雄性 8 週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 µg/mL)、または、Dp とシリカの混合溶液 (Dp; 125 µg/mL、シリカ; 12.5 mg/mL) を、10 µL/ear で両耳介に 1 日、または 2 日おきに計 9 回皮内投与した。最終投与の 24 時間後、採血を行い、血漿中のシリカ特異的 IgG のシリカのサイズに対する交差反応性を ELISA にて評価した。Data are presented as means \pm SE ($n = 4-5$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus value for Dp-treated group by Dunnett's test)

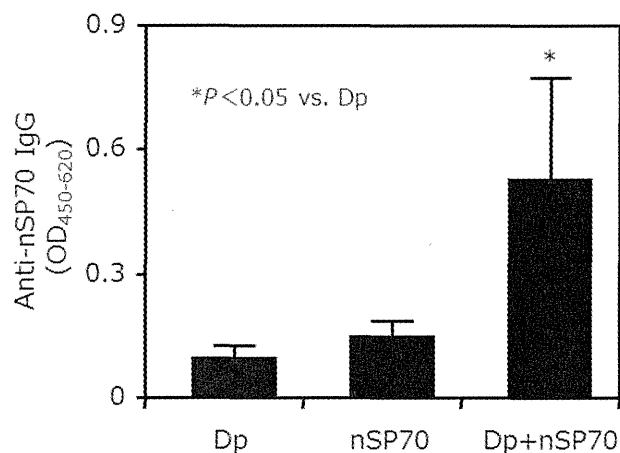


図 64. ナノシリカ単独での抗体誘導能 NC/Nga マウス (雄性 8 週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、nSP70 (12.5 mg/mL)、または、Dp と nSP70 の混合溶液 (Dp; 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、nSP70; 12.5 mg/mL) を、10 $\mu\text{L}/\text{ear}$ で両耳介に 1 日、または 2 日おきに計 9 回皮内投与した。最終投与の 24 時間後、採血を行い、血漿中の nSP70 特異的 IgG を ELISA にて評価した。Data are presented as means \pm SE ($n = 3$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus value for Dp-treated group by Dunnett's test)

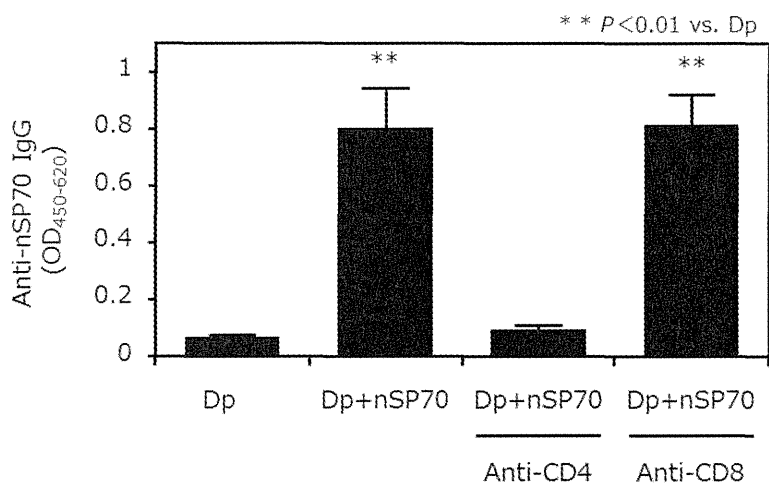


図 65. 抗シリカ抗体誘導における CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞の関与. 未処置の NC/Nga マウス (雌性 6 週齢)、または、GK1.5 抗体 (anti-CD4⁺)、53-6.72 抗体(anti-CD8⁺)にて CD4⁺T 細胞、CD8⁺T 細胞を枯渇させた NC/Nga マウス (雌性 6 週齢) の耳介に、ヤケヒョウダニ抽出抗原 (Dp; 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、または、Dp と nSP70 の混合溶液 (Dp; 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、nSP70; 12.5 mg/mL) を、10 $\mu\text{L}/\text{ear}$ で両耳介に 1 日、または 2 日おきに計 9 回皮内投与した。最終投与の 24 時間後、採血を行い、血漿中の nSP70 特異的 IgG を ELISA にて評価した。なお、抗体投与を行ったマウスについてはシリカ投与後 1 日目と最終日の末梢血、もしくは脾臓中の CD4⁺細胞または CD8⁺細胞が 95% 以上消失していることを FCM 解析により確認している。Data are presented as mean \pm SE of 4-5 animals per group. **Represents significant difference from the Dp alone group by Dunnett's test ($p < 0.01$).

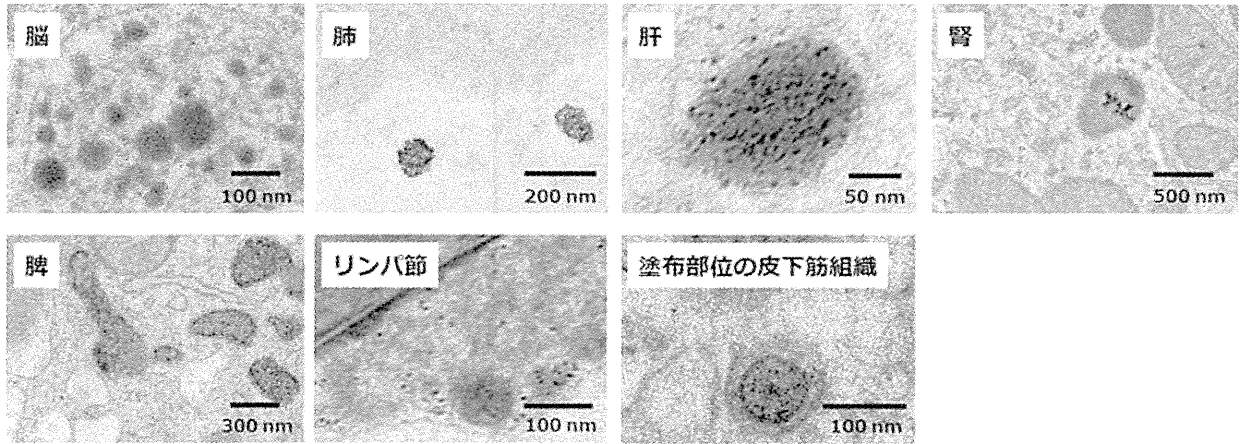


図 66. サブナノ白金の経皮吸収性の評価（電子顕微鏡観察）

蒸留水に懸濁した 1 次粒子径 1 nm の試薬グレードの snPt (5 mg/ml) を、BALB/c マウスの耳介に 50 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}/\text{ear}$ で両耳に 7 日間連続で塗布した。最終投与 24 時間後に各種臓器（耳介、脳、肺、肝臓、腎臓、頸部リンパ節など）を回収した。これらの臓器を用いて TEM によるナノシリカおよび snPt の局在を観察した。

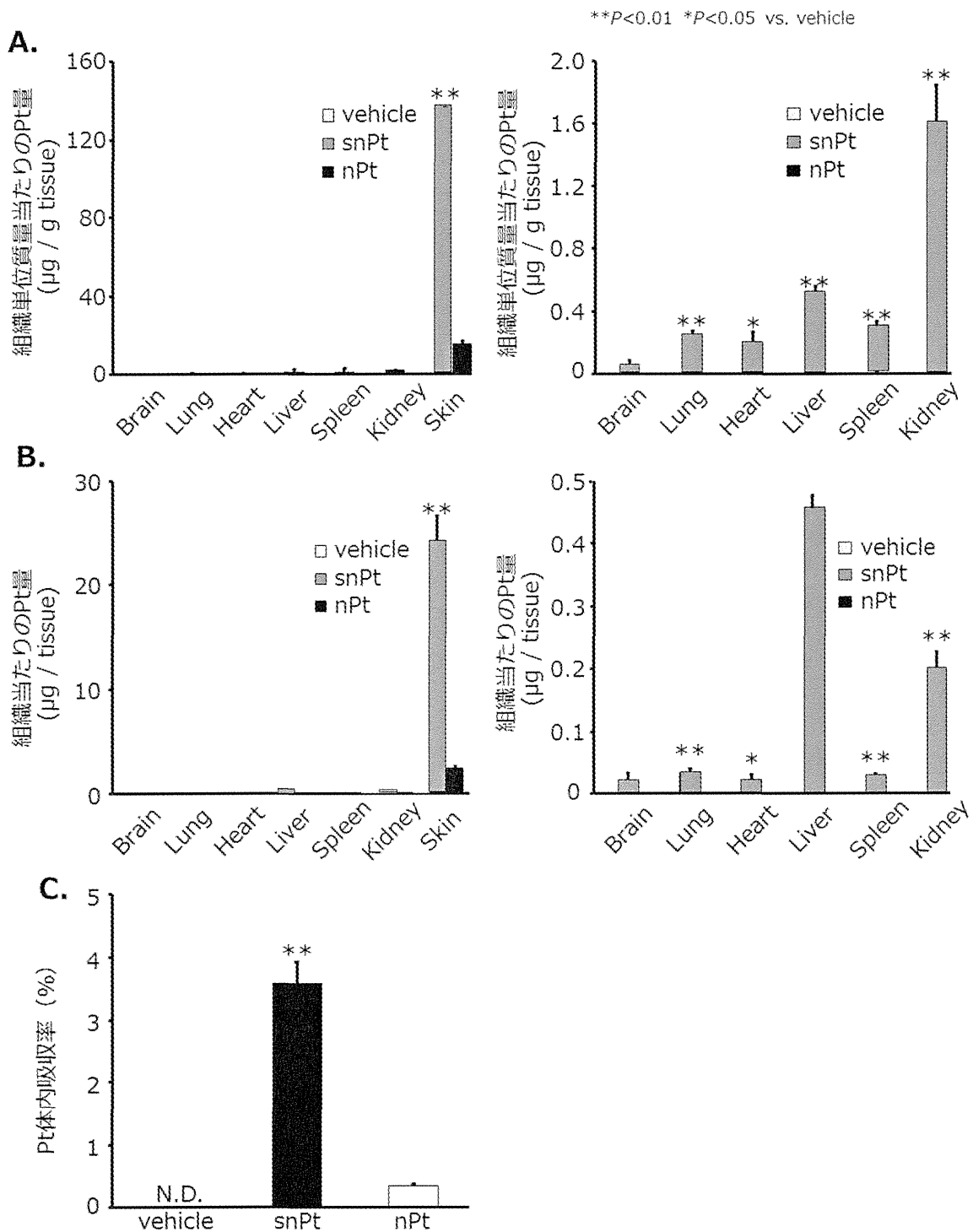


図 67. nPt・snPt の 7 日間経皮曝露後の組織移行量測定(ICP-MS). BALB/c マウス (雌性、6 週齢) の両耳介に nPt、snPt を 50 µg/Pt/ear で 7 日間連続塗布した。最終投与から 24 時間後に、耳介、脳、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓を摘出し、誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)を用いて各サンプルの体内吸収性・組織移行量を評価した。A ; 各組織重量あたり、B ; 各組織あたり、C ; 体内吸収率のグラフ Data are presented as means ± SE (n = 3; *p < 0.05, **p < 0.01 versus value for vehicle-treated group by Dunnett's test)

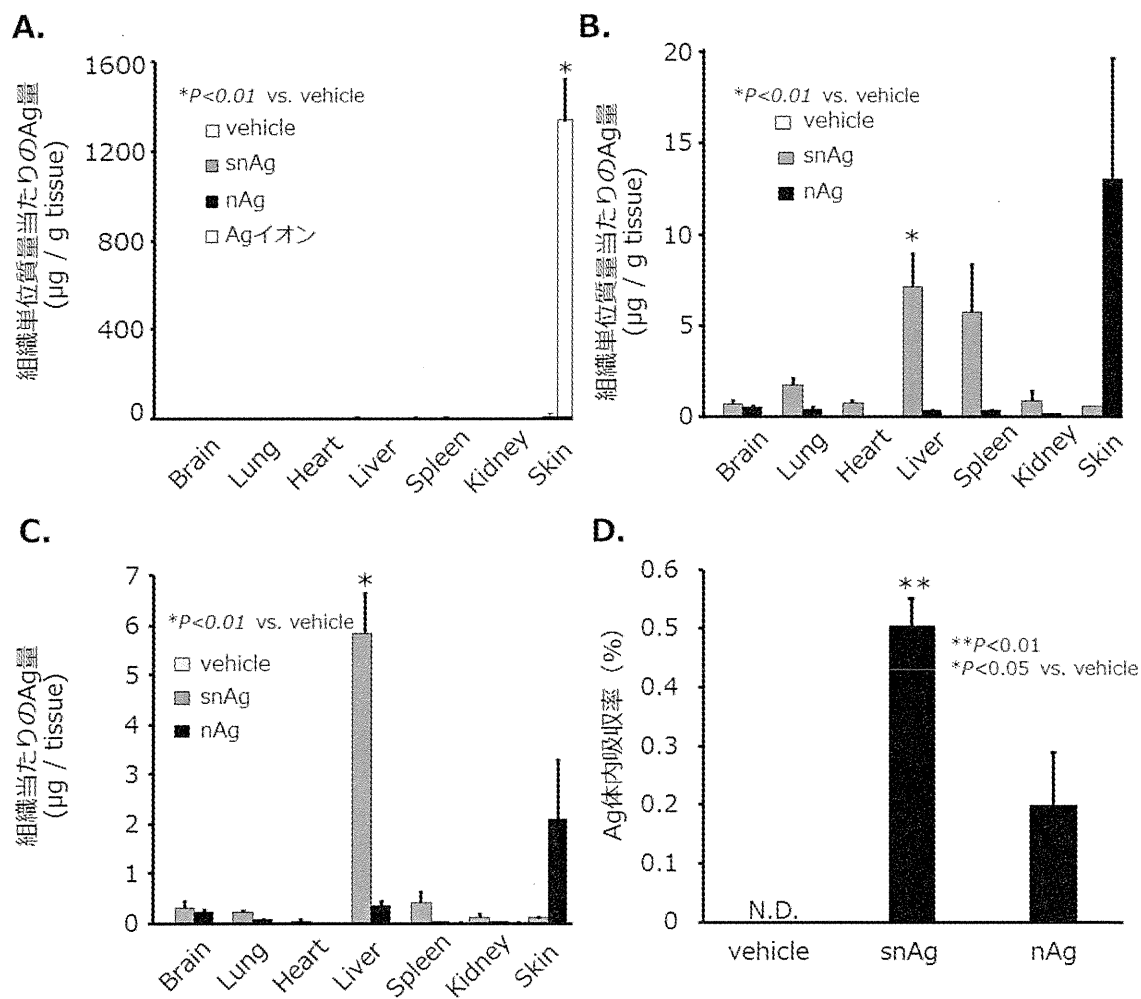


図 68. nAg・snAg の 7 日間経皮曝露後の組織移行量測定(ICP-MS)。 BALB/c マウス (雌性、6 週齢) の両耳介に nAg、snAg、またはコントロールとして硝酸銀溶液を 100 µg/Ag/ear で 7 日間連続塗布した。最終投与から 24 時間後に、耳介、脳、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓を摘出し、誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)を用いて各サンプルの体内吸収性・組織移行量を評価した。A ; 銀イオンを含むグラフ、B ; 銀イオンを除いたグラフ(組織重量あたり)、C ; 銀イオンを除いたグラフ(組織あたり)、D ; 体内吸収率 Data are presented as means ± SE (n = 3; *p <0.05, **p <0.01 versus value for vehicle-treated group by Dunnett's test)

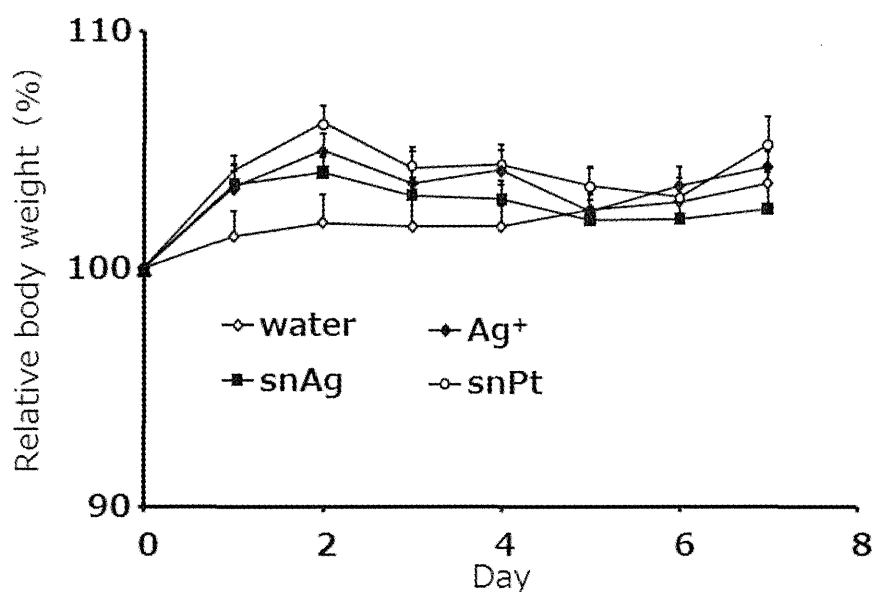


図 69. サブナノ銀・白金の7日間経皮曝露時の体重変化。BALB/c マウス（雌性、6 週齢）の両耳介に snAg、snPt、および硝酸銀溶液を 100 $\mu\text{g}/\text{body}$ で 7 日間連続塗布し、経日的に体重を測定した。Data are presented as means \pm SE (n = 5)

	総白血球数 ($\times 10^9/\text{L}$)	リンパ球数 ($\times 10^9/\text{L}$)	単球数 ($\times 10^9/\text{L}$)	顆粒球数 ($\times 10^9/\text{L}$)	赤血球数 ($\times 10^{12}/\text{L}$)	血小板数 ($\times 10^9/\text{L}$)
water	3.64 ± 0.8	2.93 ± 0.67	0.094 ± 0.03	0.62 ± 0.15	9.06 ± 0.37	328.9 ± 77.1
snAg	5.65 ± 1.2	4.43 ± 0.97	0.306 ± 0.09	0.91 ± 0.31	9.64 ± 0.15	397.9 ± 44.5
snPt	5.9 ± 0.5	4.91 ± 0.41	0.176 ± 0.06	0.81 ± 0.11	10.13 ± 0.07	526.6 ± 23.8

図 70. サブナノ銀・白金の7日間経皮曝露時の血球検査。BALB/c マウス（雌性、6 週齢）の両耳介に snAg、snPt、および硝酸銀溶液を 100 $\mu\text{g}/\text{body}$ で 7 日間連続塗布した。最終投与から 24 時間後の血液を回収し、血球数を測定した。Data are presented as means \pm SE (n = 5)