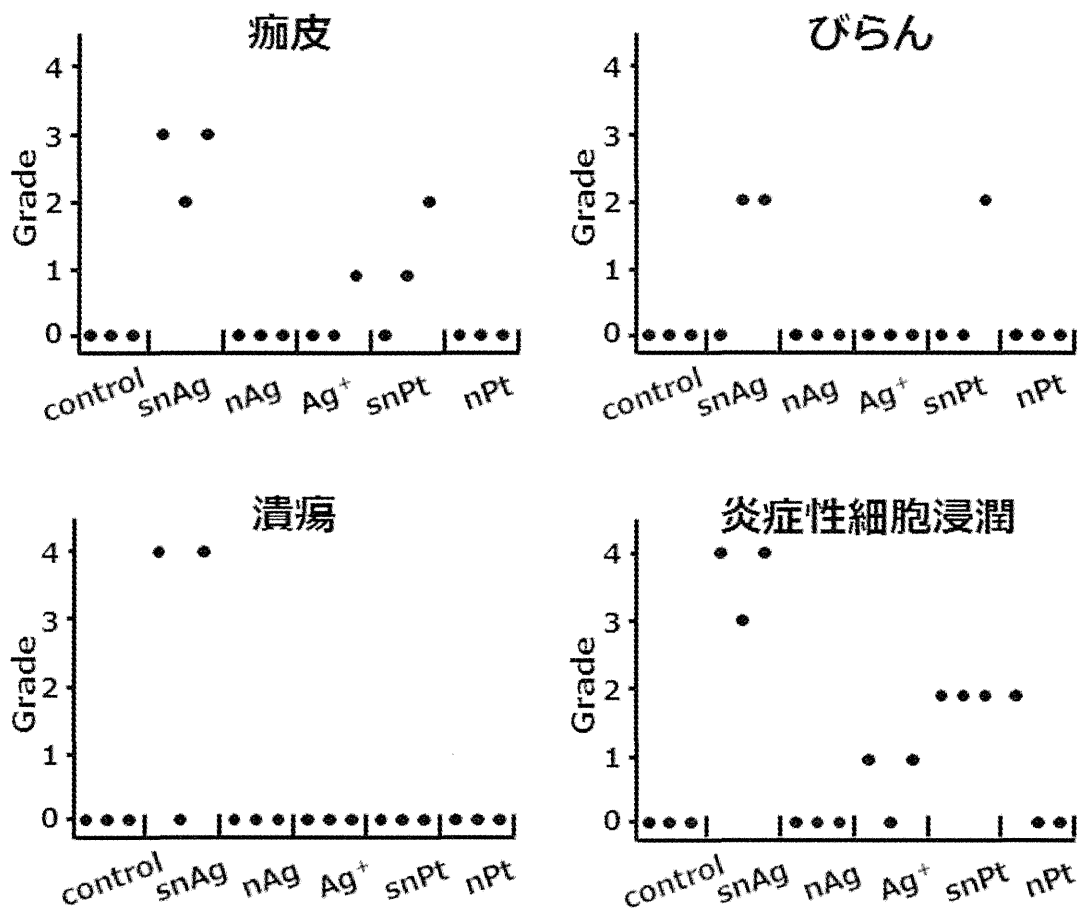


A.



B.

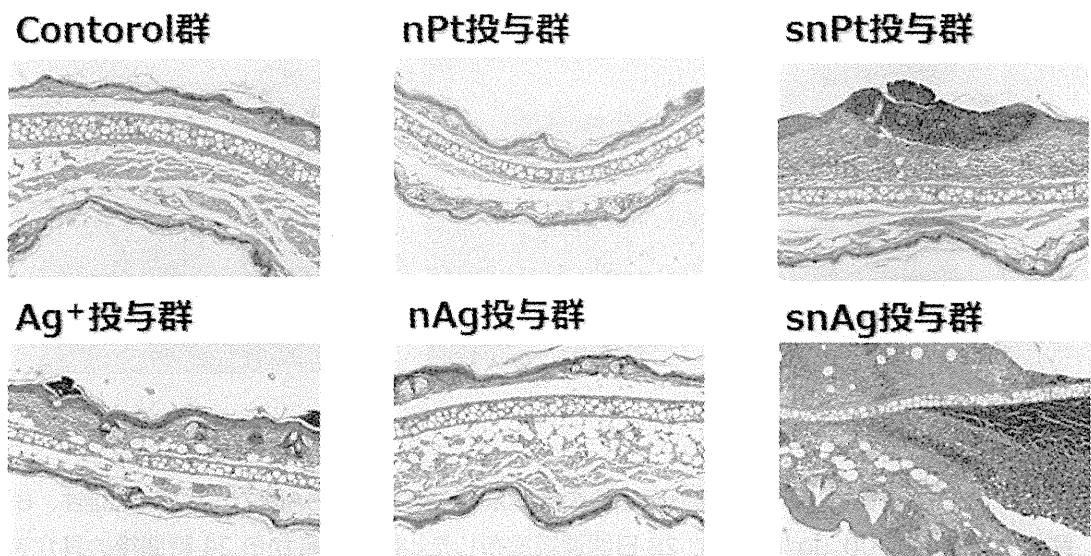
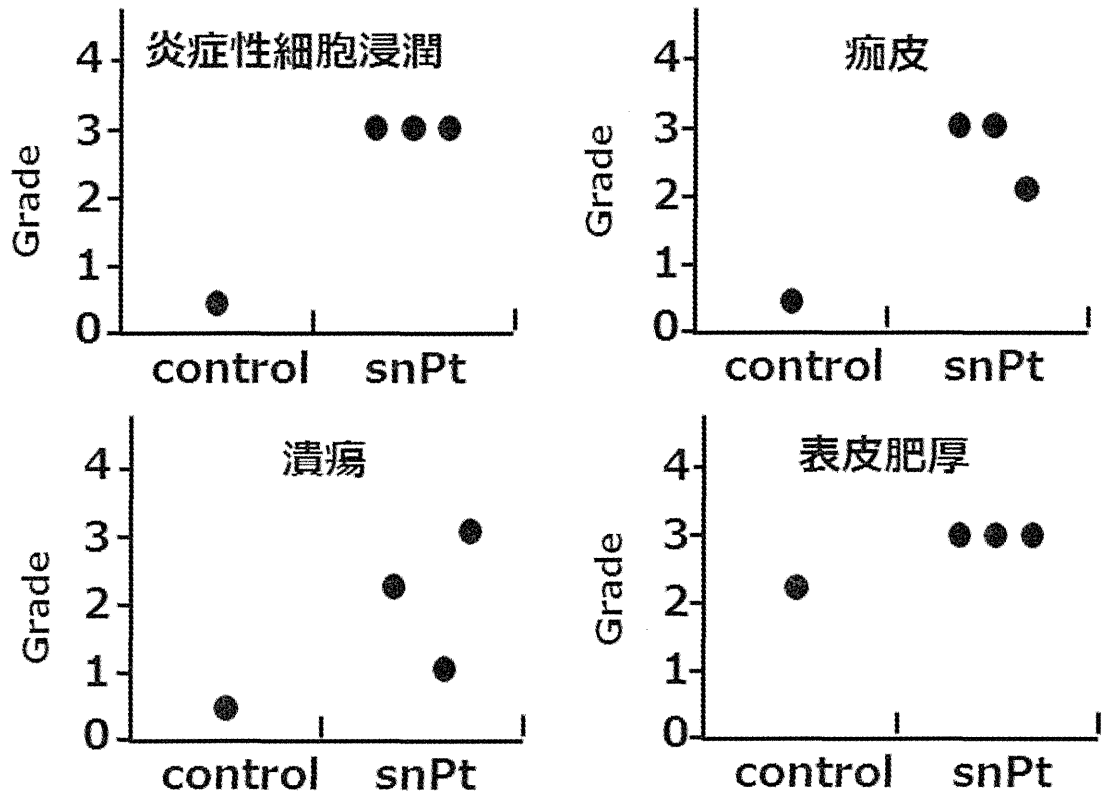


図 71. サブナノ銀の 7 日間経皮曝露後の病理解析(皮膚). BALB/c マウス (雌性、6 週齢) の両耳介に snAg、snPt、および硝酸銀溶液を 100 $\mu\text{g}/\text{body}$ で 7 日間連続塗布した。最終投与から 24 時間後の耳介を回収し、病理解析を実施した。A ; 病理所見スコアグラフ、B ; 組織写真 (n = 3)

A.



B.

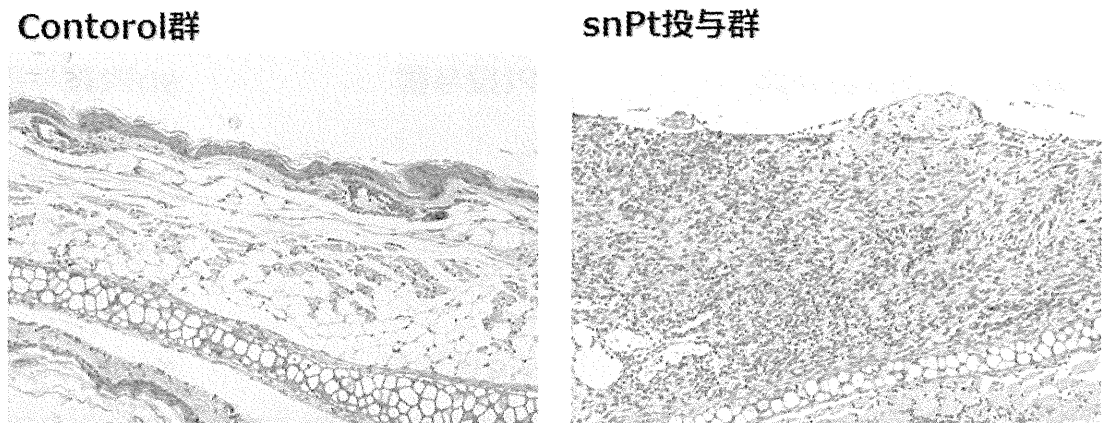
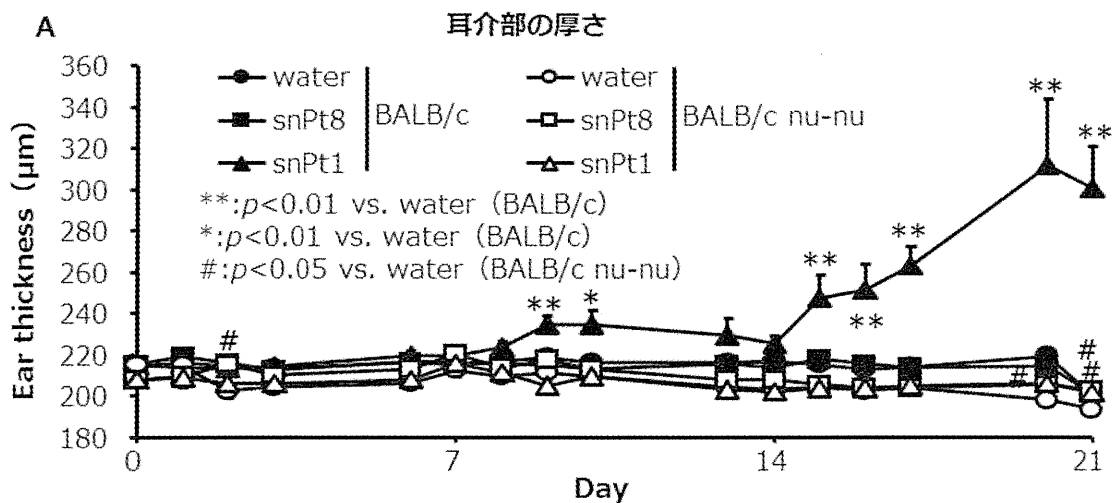


図 72. サブナノ銀の 28 日間経皮曝露後の病理解析(皮膚). BALB/c マウス (雌性、6 週齢) の両耳介に snPt を 100 $\mu\text{g}/\text{body}$ で 28 日間連続塗布した。最終投与から 24 時間後の耳介を回収し、病理解析を実施した。A ; 病理所見スコアグラフ、B ; 組織写真 (n = 3)



B 耳介部の病理学的解析

Findings	BALB/c			BALB/c nu-nu		
	water	snPt8	snPt1	water	snPt8	snPt1
scab	0±0	0±0	3.3±0.5 **	0±0	0±0	0±0
hypertrophy	0.3±0.5	0±0	3±0 **	0.2±0.4	0.8±0.4 *	0.2±0.4
phlogocyte	0±0	0±0	4±0 **	0±0	0±0	0±0
edema	0±0	0±0	0.5±1.2	0±0	0±0	0±0

Grade0: No abnormal changes, Grade1: Very slight, Grade2: Slight, Grade3: Moderate, Grade4: Marked

図 73. サブナノ白金の経皮感作性評価

BALB/c マウス (♀、6 週齢)、および BALB/c nu-nu マウス (♀、6 週齢) の耳介に、snPt8、あるいは snPt1 を週 5 日、3 週間塗布 (0.1 mg/mouse/day) し、経日的に耳介部の厚さを測定した (A)。最終投与 24 時間後に解剖し、耳介部の病理学的解析 (B) を実施した。Data are presented as mean ± SE (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. water group by Dunnett's test)

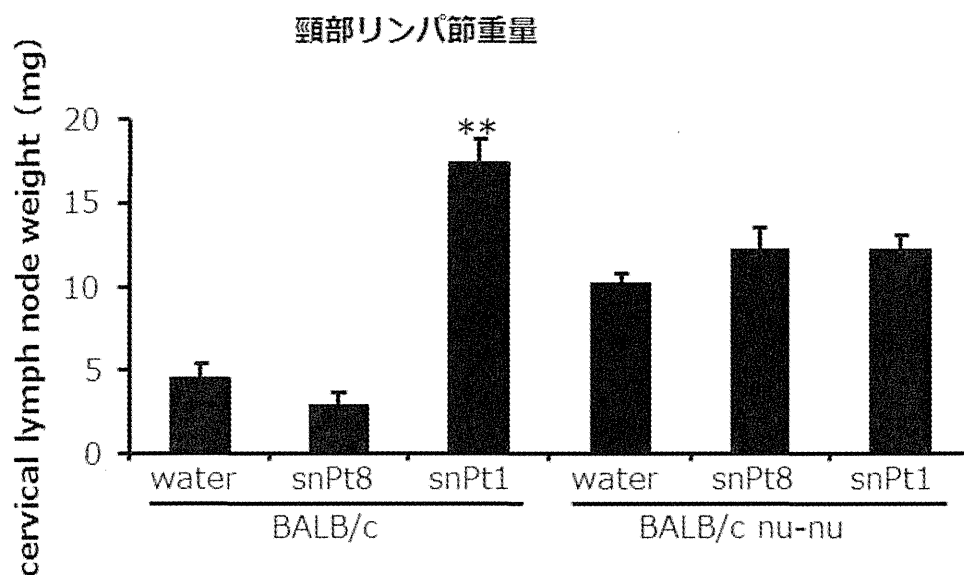


図 74. サブナノ白金の経皮感作性評価

BALB/c マウス (♀、6 週齢)、および BALB/c nu-nu マウス (♀、6 週齢) の耳介に、snPt8、あるいは snPt1 を週 5 日、3 週間塗布 (0.1 mg/mouse/day) し、頸部リンパ節の重量測定を実施した。Data are presented as mean \pm SE (*p < 0.05, **p < 0.01 vs. water group by Dunnett's test)

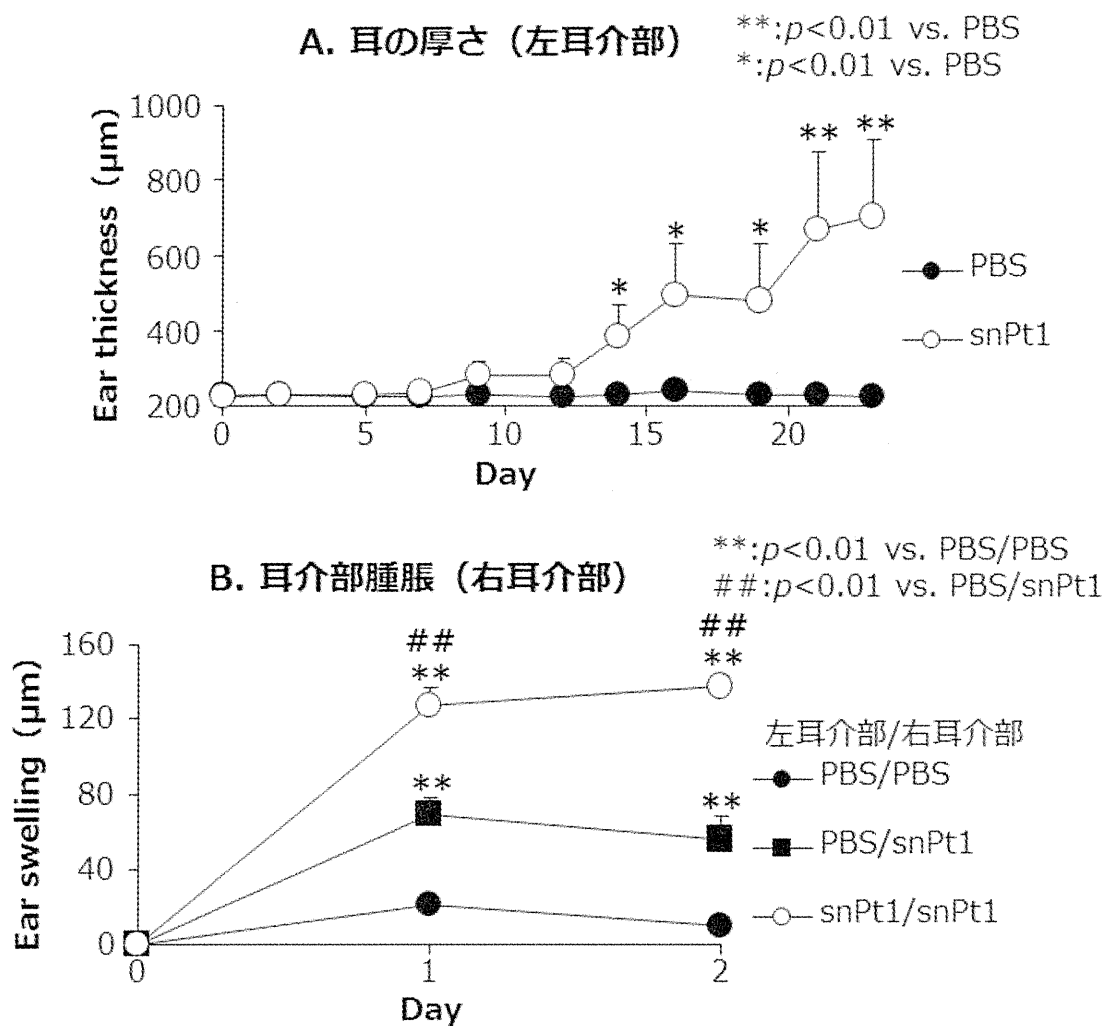


図 75. サブナノ白金の経皮感作性評価

BALB/c マウス (雌性、6 週齢) の左耳介部に、snPt1 を週 5 日、3 週間連続塗布 (45 μ g/mouse/day) し、経日的に左耳介部の厚さを測定した (A)。Data are presented as mean \pm SE (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. PBS group by Dunnett's test)その後、右耳介部に snPt1 を皮内投与 (3.9 μ g/mouse) し、投与後 2 日間の右耳介部の厚さを測定した (B)。Data are presented as mean \pm SE (** $p < 0.01$ vs. PBS/PBS group, ## $p < 0.01$ vs. PBS/snPt1 group by Dunnett's test)

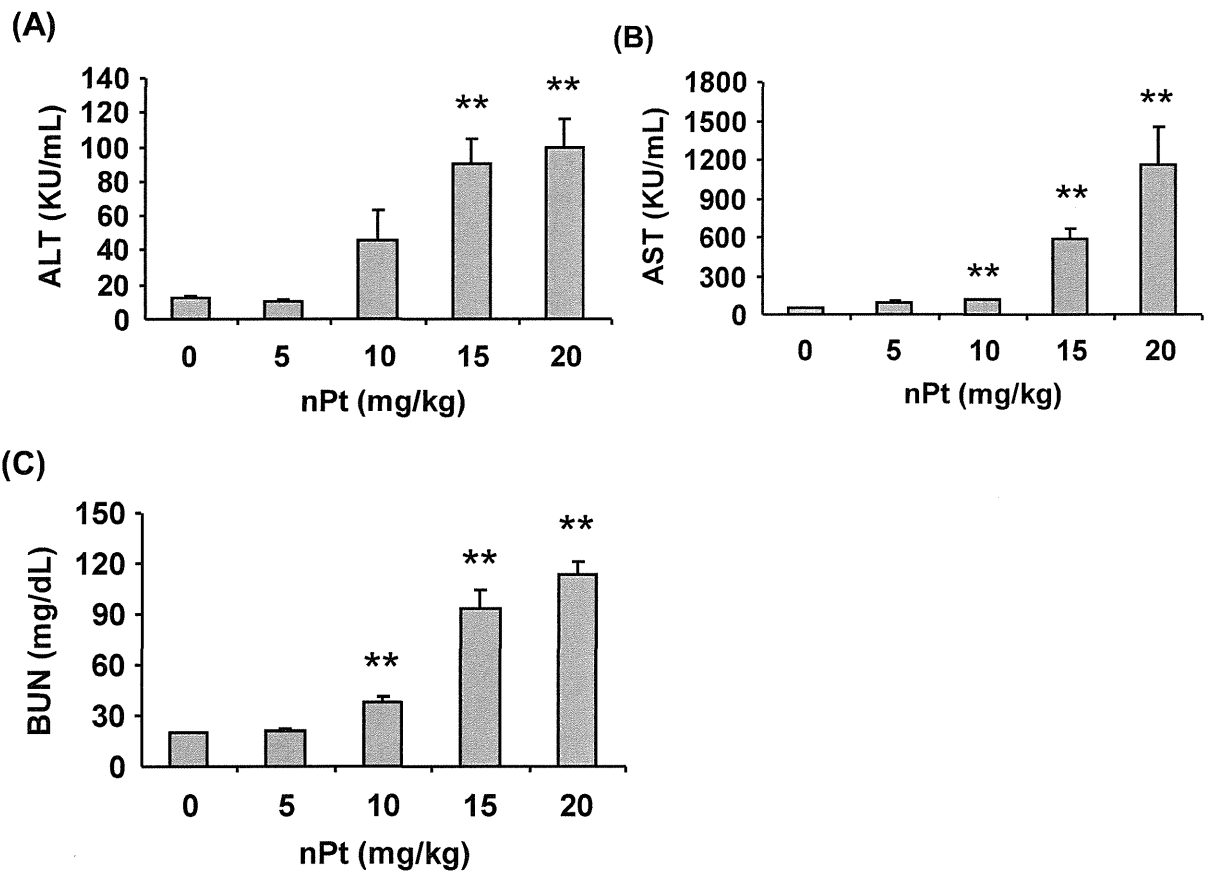


図 76 サブナノ白金を単回投与したマウスにおける急性肝障害および急性腎障害。
 サブナノ白金を 0、5、10、15、20 mg/kg の用量で尾静脈内に投与した。投与 24 時間後に、血清中の (A) ALT、(B) AST、(C) BUN を測定した。** : $p < 0.01$ vs. 0

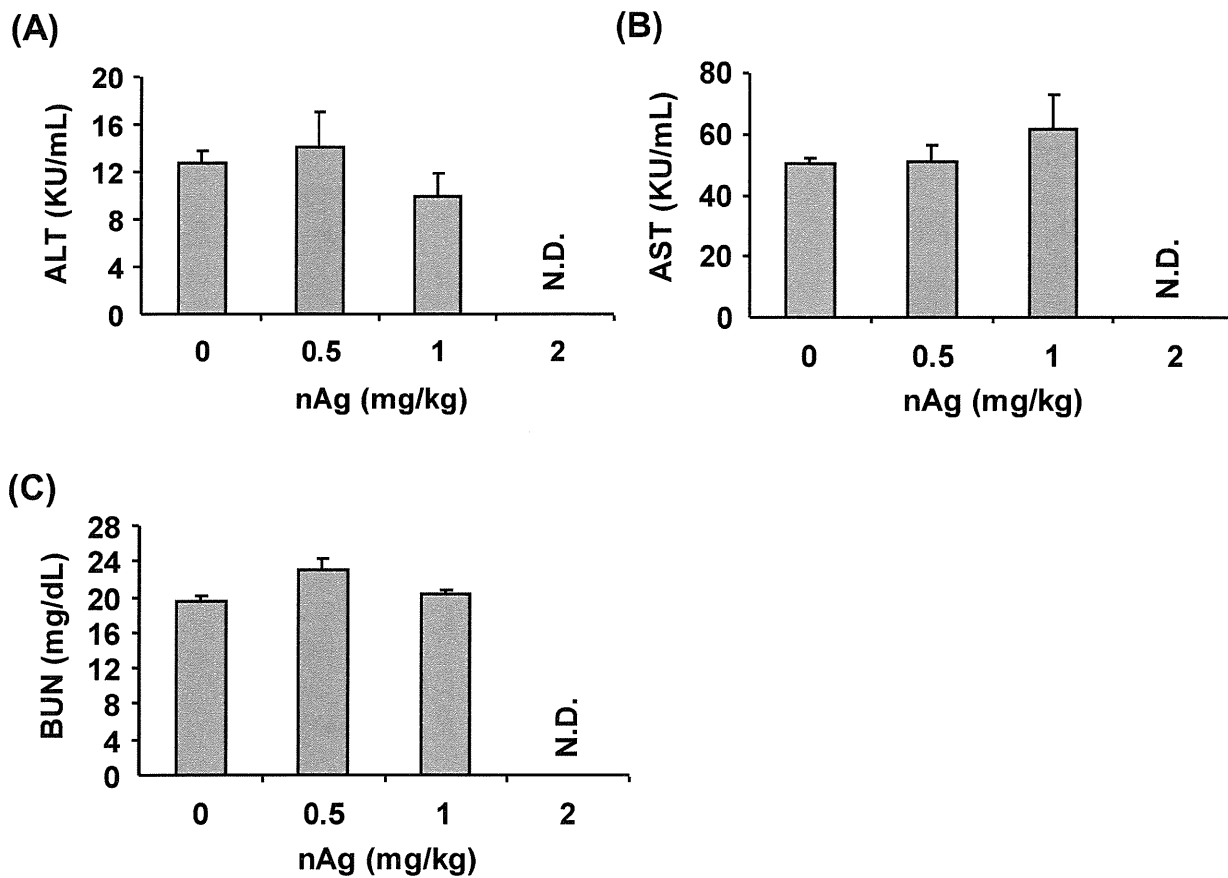


図 77 サブナノ銀を単回投与したマウスにおける急性肝障害および急性腎障害。

サブナノ銀を 0、0.5、1、2 mg/kg の用量で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。

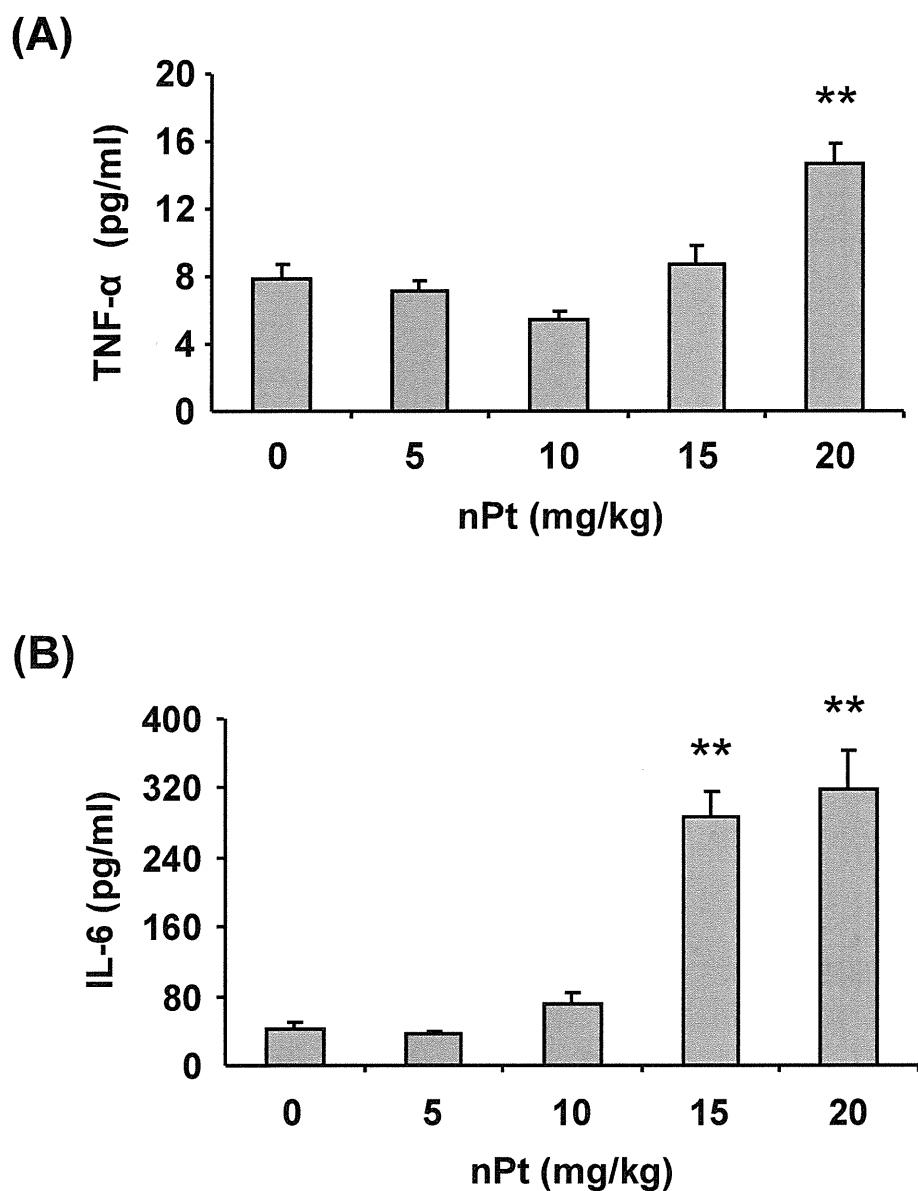


図 78 サブナノ白金を単回投与したマウスにおける炎症性サイトカインの変動。
 サブナノ白金を 0、5、10、15、20 mg/kg の用量で尾静脈内に投与した。投与 24 時間
 後に、血清中の (A) TNF -α、(B) IL-6 を測定した。** : p < 0.01 vs. 0

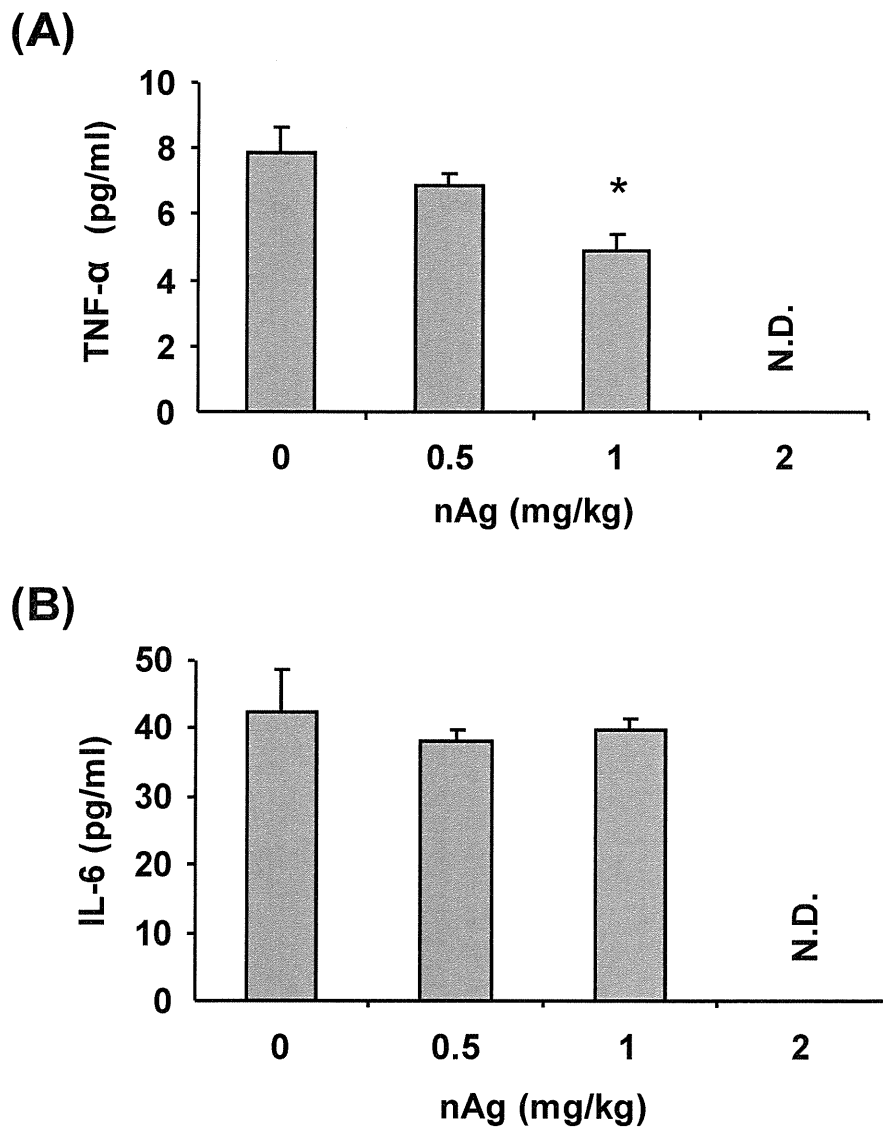


図 79 サブナノ銀を単回投与したマウスにおける炎症性サイトカインの変動。
 サブナノ銀を 0、0.5、1、2 mg/kg の用量で尾静脈内に投与した。投与 24 時間後に、血清中の (A) TNF -α、(B) IL-6 を測定した。* : $p < 0.05$ vs. 0

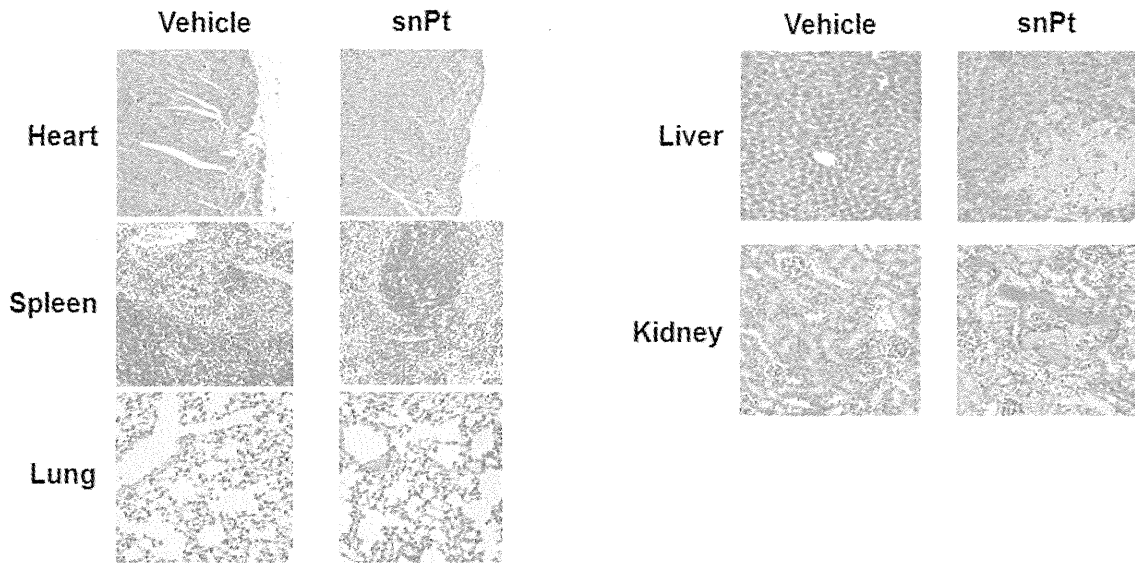


図80

8~9週齢の雄性BALB/cマウスに、snPt 15 mg/kg b.w.の用量で尾静脈内に単回投与した。投与24時間後に心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓を採取し、4%パラホルムアルデヒド (PFA) にて固定した。固定後、HE染色を行うことにより、各種臓器における障害性を評価した。

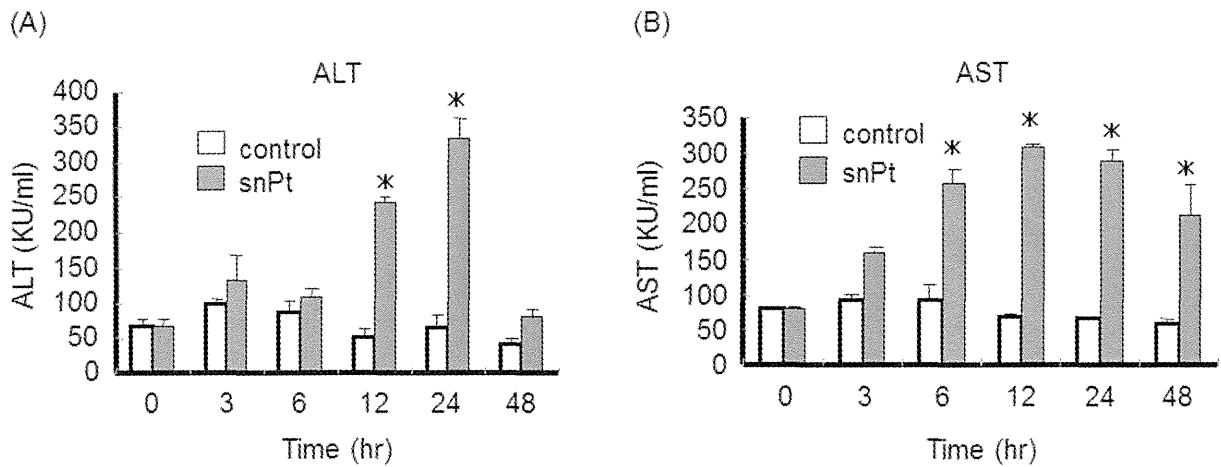
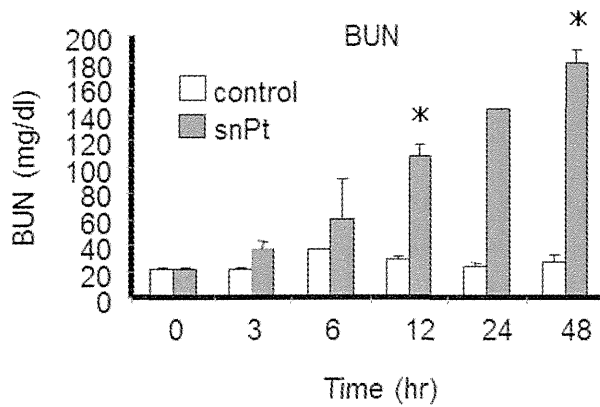


図81

8~9週齢の雄性BALB/cマウスに、snPt 15 mg/kg b.w.の用量で尾静脈内に単回投与した。投与3、6、12、24、48時間後に心採血により血液サンプルを採取し、40分間室温で放置後、4℃、6000 rpm、10 minで遠心分離を行い、上清を血清サンプルとして回収した。その後、snPtの肝臓への影響を評価するため、肝傷害の指標として血清中の (A) ALT及び (B) AST値の測定を行った。* $p < 0.05$ vs time 0

(A)



(B)

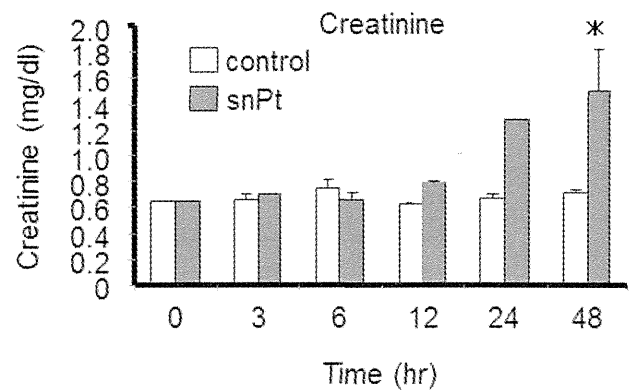
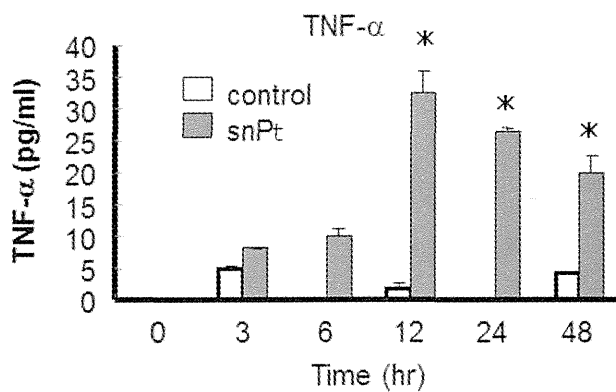


図82

8~9週齢の雄性BALB/cマウスに、snPt 15 mg/kg b.w.の用量で尾静脈内に単回投与した。投与3、6、12、24、48時間後に心採血により血液サンプルを採取し、40分間室温で放置後、4℃、6000 rpm、10 minで遠心分離を行い、上清を血清サンプルとして回収した。その後、snPtの肝臓への影響を評価するため、肝傷害の指標として血清中の(A) BUN及び(B) Creatinine値の測定を行った。* $p < 0.05$ vs time 0

(A)



(B)

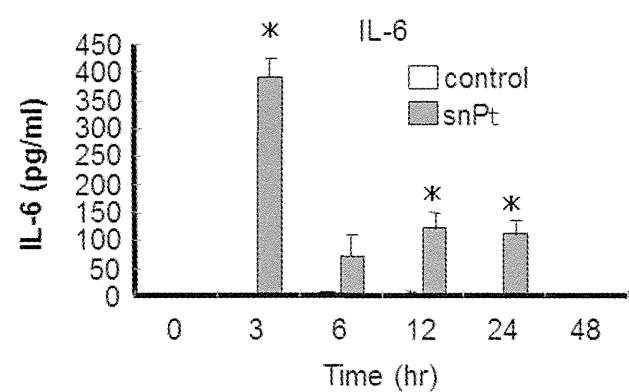
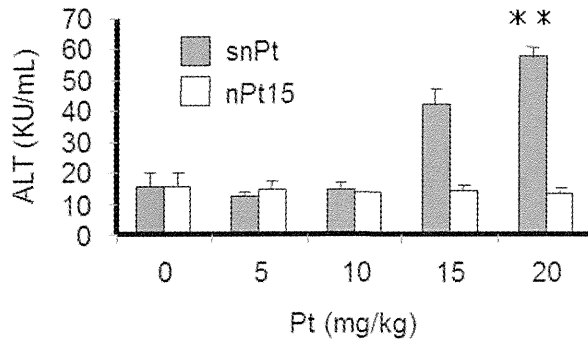


図83

8~9週齢の雄性BALB/cマウスに、snPt 15 mg/kg b.w.の用量で尾静脈内に単回投与した。投与3、6、12、24、48時間後に心採血により血液サンプルを採取し、40分間室温で放置後、4℃、6000 rpm、10 minで遠心分離を行い、上清を血清サンプルとして回収した。その後、snPtの免疫系に与える影響を評価するため、サイトカインとして(A) TNF-α、及び(B) IL-6値の測定を行った。* $p < 0.05$ vs time 0

(A)



(B)

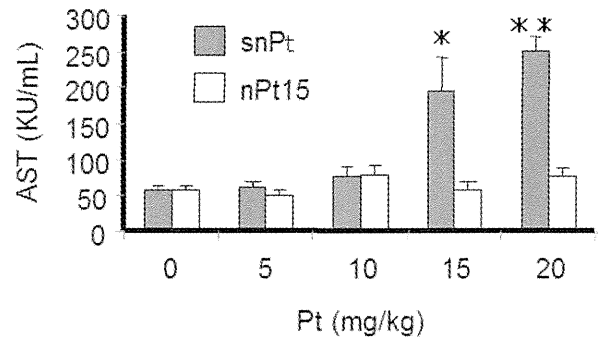


図84

8~9週齢の雄性BALB/cマウスに、snPt (≤ 1 nm) 及び、nPt (15 nm) を5、10、15、20 mg/kg b.w.の用量で尾静脈内に単回投与した。投与24時間後に心採血により血液サンプルを採取し、40分間室温で放置後、4℃、6000 rpm、10 minで遠心分離を行い、上清を血清サンプルとして回収した。その後、Ptの肝臓への影響を評価するため、肝傷害の指標として血清中の(A) ALT及び(B) AST値の測定を行った。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs Pt 0

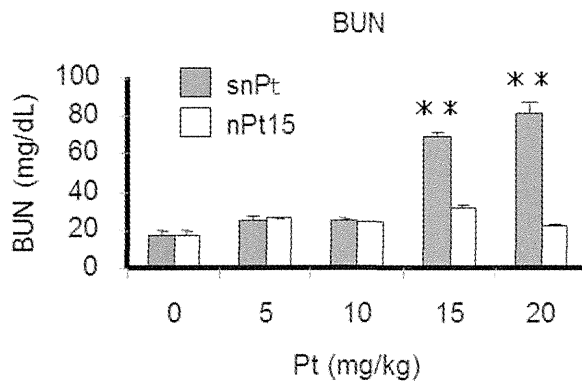


図85

8~9週齢の雄性BALB/cマウスに、snPt (≤ 1 nm) 及び、nPt (15 nm) を5、10、15、20 mg/kg b.w.の用量で尾静脈内に単回投与した。投与24時間後に心採血により血液サンプルを採取し、40分間室温で放置後、4℃、6000 rpm、10 minで遠心分離を行い、上清を血清サンプルとして回収した。その後、Ptの腎臓への影響を評価するため、腎傷害の指標として血清中のBUN値の測定を行った。** $p < 0.01$ vs Pt 0

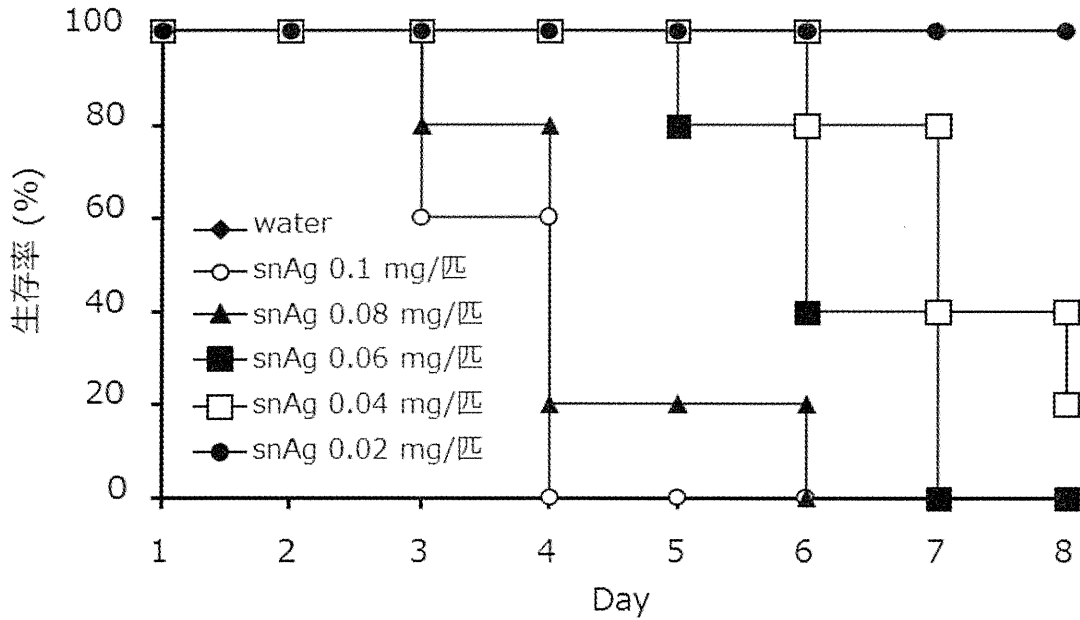


図 86. サブナノ銀 7 日間経鼻曝露時の生存率変化. BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snAg を 0.1 mg/body、0.08 mg/body、0.06 mg/body、0.04 mg/body、0.02 mg/body で 7 日間連続経鼻投与し、経日的に生存率を評価した。(n=5)

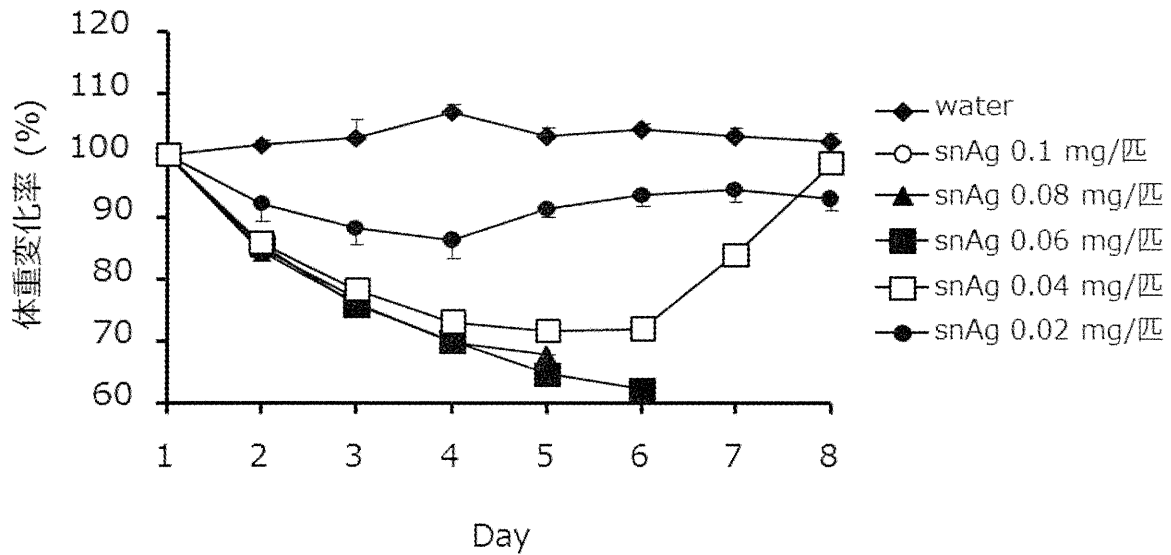


図 87. サブナノ銀 7 日間経鼻曝露時の体重変化. BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snAg を 0.1 mg/body、0.08 mg/body、0.06 mg/body、0.04 mg/body、0.02 mg/body で 7 日間連続経鼻投与し、経日的に体重を測定した。(n=5)

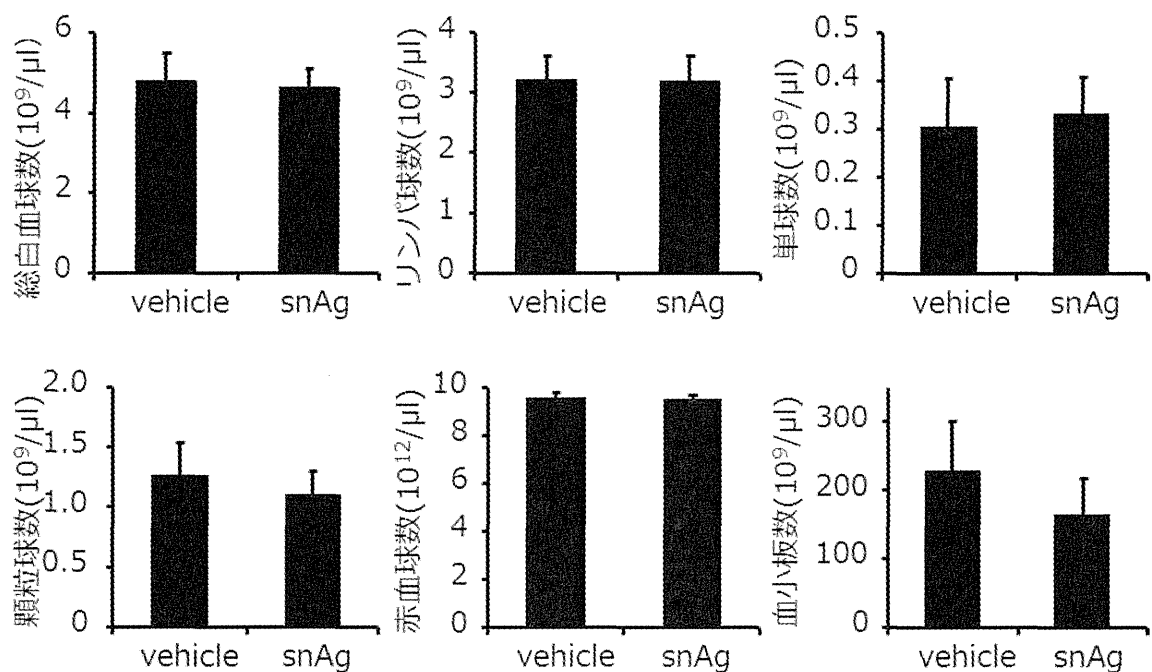


図 88. サブナノ銀(0.02 mg/匹)7 日間経鼻曝露後の血球成分の変化.

BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snAg を 0.1 mg/body、0.08 mg/body、0.06 mg/body、0.04 mg/body、0.02 mg/body で 7 日間連続経鼻投与した。最終投与 24 時間後に、心臓採血により血液を回収し、多項目自動血球計測装置 VetScan HM2 を用いて、総白血球数、リンパ球数、単球数、顆粒球数、赤血球数、血小板数を電気抵抗法により測定した。(n=5)

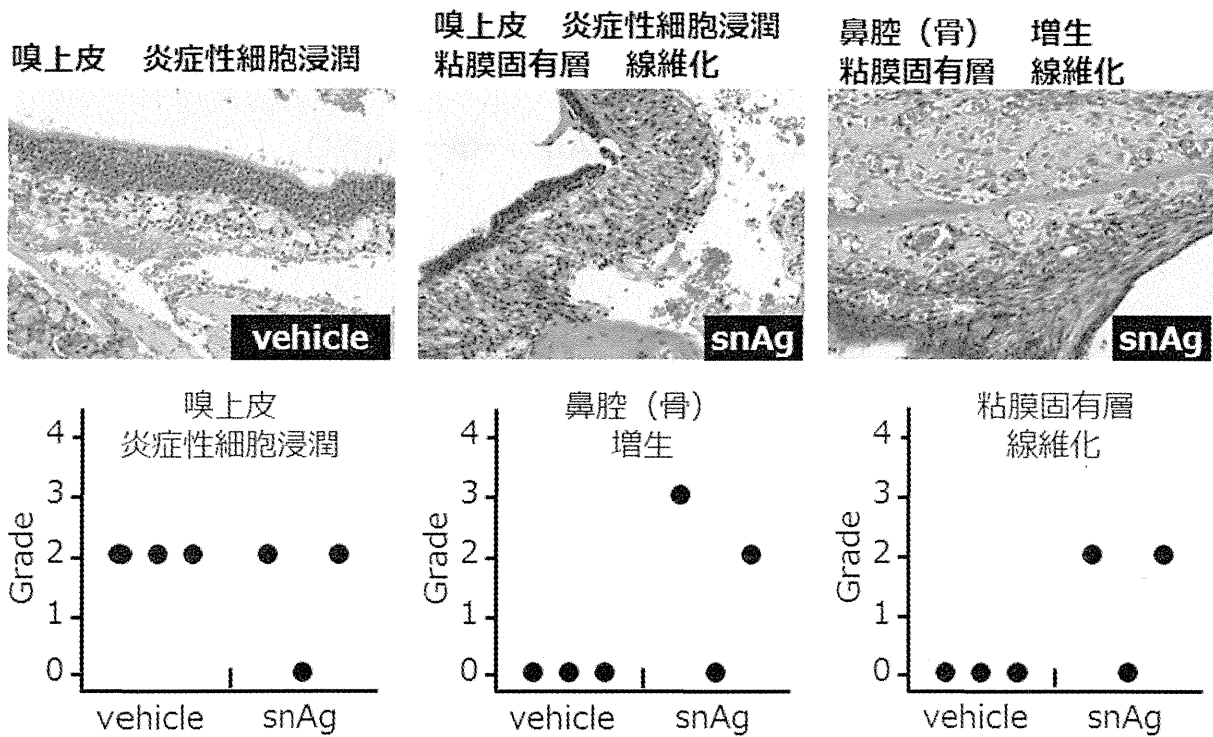


図 89. サブナノ銀(0.02 mg/匹)7日間経鼻曝露後の病理検査(鼻腔).

BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snAg を 0.1 mg/body、0.08 mg/body、0.06 mg/body、0.04 mg/body、0.02 mg/body で 7 日間連続経鼻投与した。最終投与 24 時間後に各組織を回収し、パラフィンブロックを作成し、ヘマトキシリン-エオジン染色 (H.E.染色) を実施した。(n=3)

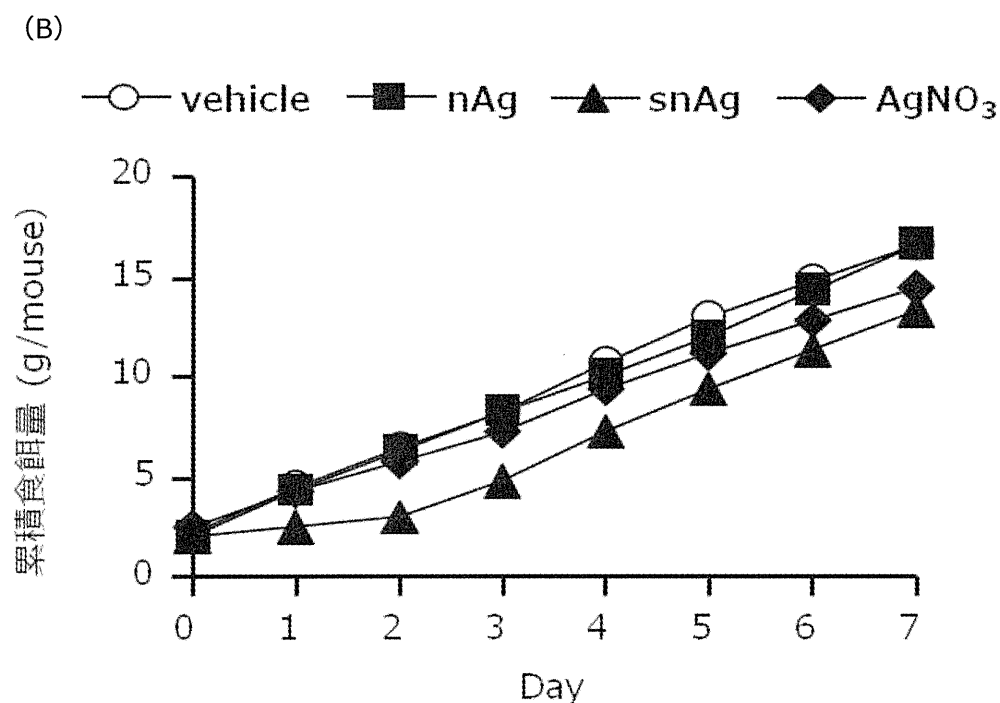
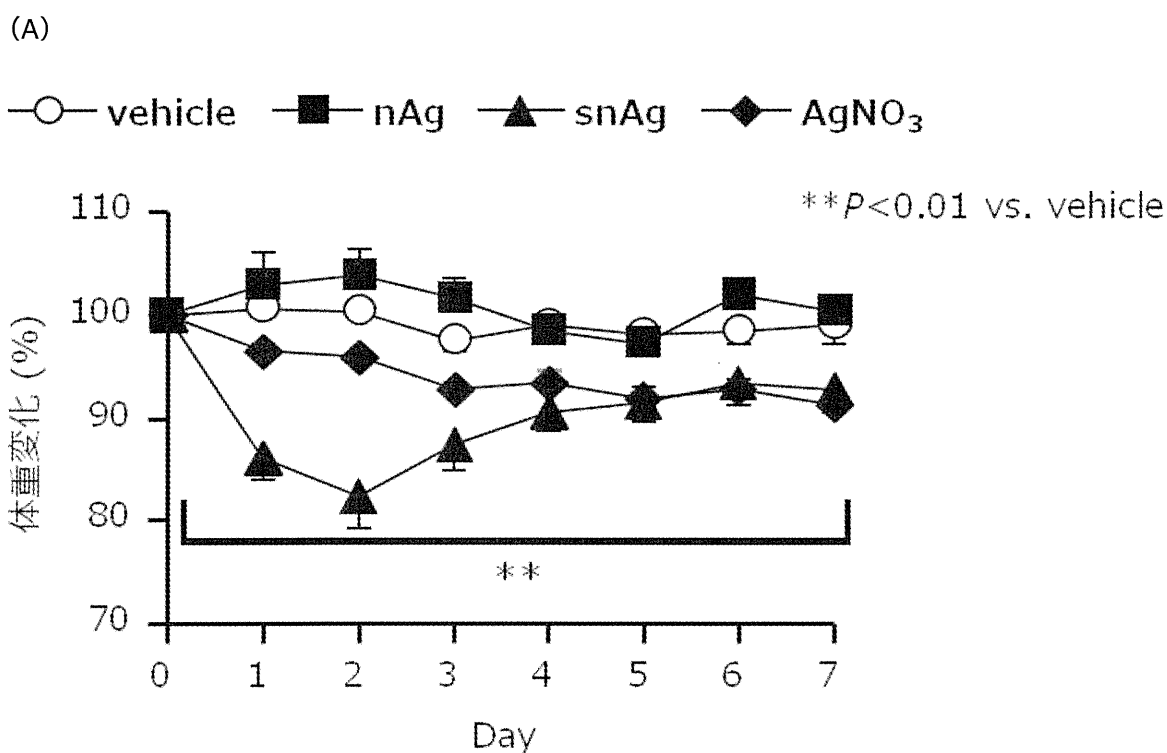


図 90. ナノ・サブナノ銀、銀イオン(1.2 mg Ag/kg)7日間経鼻曝露時の体重・食餌量変化.

BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snAg、nAg、コントロールとして硝酸銀水溶液をそれぞれ 1.2 mg Ag/kg で 7 日間連続経鼻投与した。また、BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snPt、nPt をそれぞれ 0.1 mg Pt/mouse で 7 日間連続経鼻投与した。その際、経日的に体重(A)、食餌量(B)、を測定した。Data are presented as means \pm SE (n = 5; ***p* < 0.01 versus value for vehicle-treated group by Dunnett's test) (n=5)

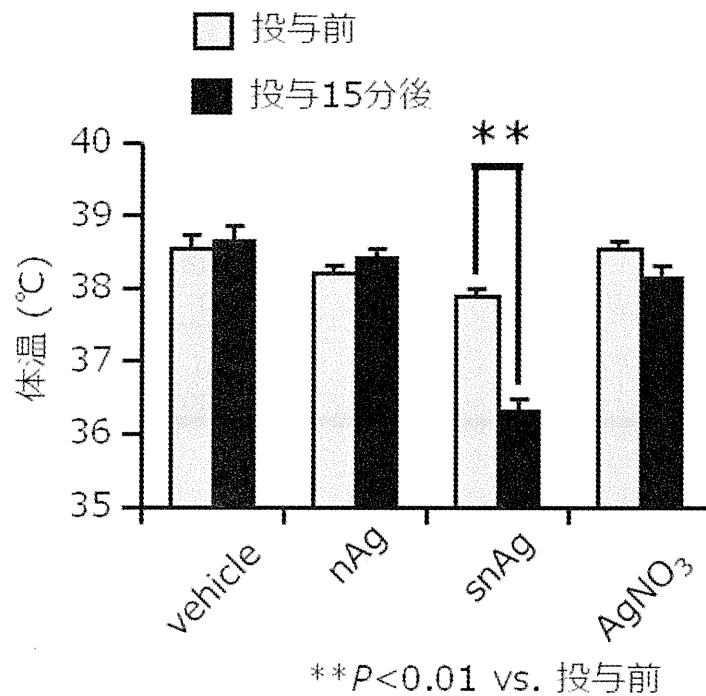


図 91. ナノ・サブナノ銀、銀イオン(1.2 mg Ag/kg)7 日間経鼻曝露時の体温変化(投与 1 日目). BALB/ c マウス (6 週齢、雌性) に、snAg、nAg、コントロールとして硝酸銀水溶液をそれぞれ 1.2 mg Ag/kg で 7 日間連続経鼻投与した。その際、投与 1 日目の投与前および投与 15 分後の体温を測定した。(n=5, **p < 0.01 versus value for vehicle-treated group by Dunnett's test)

(A)

血球検査	総白血球数 ($\times 10^9/L$)	リンパ球数 ($\times 10^9/L$)	単球数 ($\times 10^9/L$)	顆粒球数 ($\times 10^9/L$)	赤血球数 ($\times 10^{12}/L$)	血小板数 ($\times 10^9/L$)
vehicle	3.67 ± 0.38	3.08 ± 0.39	0.18 ± 0.08	0.41 ± 0.10	10.28 ± 0.04	551.6 ± 38.6
nAg	4.59 ± 0.39	3.80 ± 0.31	0.10 ± 0.01	0.68 ± 0.13	10.38 ± 0.33	699.5 ± 58.4
snAg	2.85 ± 0.16	2.13 ± 0.16	0.12 ± 0.04	0.61 ± 0.07	10.57 ± 0.15	729.8 ± 40.0
AgNO ₃	4.46 ± 0.64	3.44 ± 0.51	0.32 ± 0.08	0.70 ± 0.18	10.51 ± 0.25	518.4 ± 96.0

(B)

血液生化学検査	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	CPK (U/L)	ALB (g/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)
vehicle	27.8 ± 1.1	54.4 ± 3.5	17.5 ± 0.8	217.4 ± 46.1	2.0 ± 0.1	149.8 ± 0.5	6.4 ± 0.3
nAg	26.3 ± 1.5	53.5 ± 8.6	15.1 ± 1.2	189.3 ± 59.2	2.2 ± 0.1	148.3 ± 0.8	6.8 ± 0.8
snAg	31.0 ± 5.1	56.7 ± 4.6	14.4 ± 0.6	178.5 ± 31.1	2.2 ± 0.1	148.3 ± 0.5	6.6 ± 0.4
AgNO ₃	26.8 ± 2.7	74.8 ± 11.0	15.1 ± 1.0	323.6 ± 81.9	2.1 ± 0.1	148.8 ± 0.8	5.6 ± 0.1

図 92. ナノ・サブナノ銀、銀イオン(1.2 mg Ag/kg)7 日間経鼻曝露後の血球検査・血液生化学検査。BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snAg、nAg、コントロールとして硝酸銀水溶液をそれぞれ 1.2 mg Ag/kg で 7 日間連続経鼻投与した。最終投与から 24 時間後に血液を回収し、血球検査 (A) と血液生化学検査 (B) を行った。(n=5)

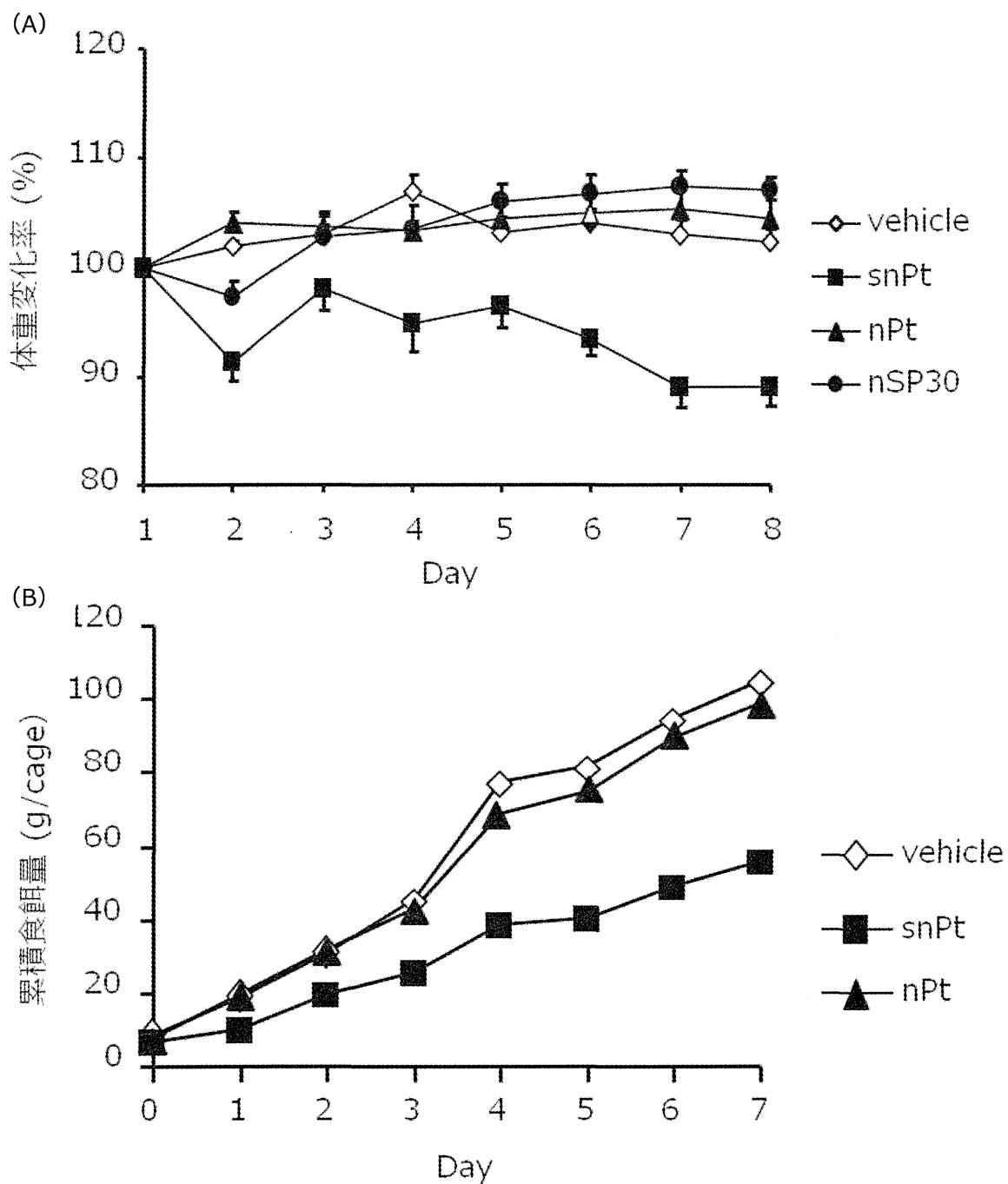


図 93. ナノ・サブナノ白金(0.1 mg /匹)7 日間経鼻曝露時の体重変化と摂餌量変化. BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snPt、nPt をそれぞれ 0.1 mg Pt/mouse で 7 日間連続経鼻投与した。その際、経日的に体重(A)、食餌量(B)、を測定した。(n=5)

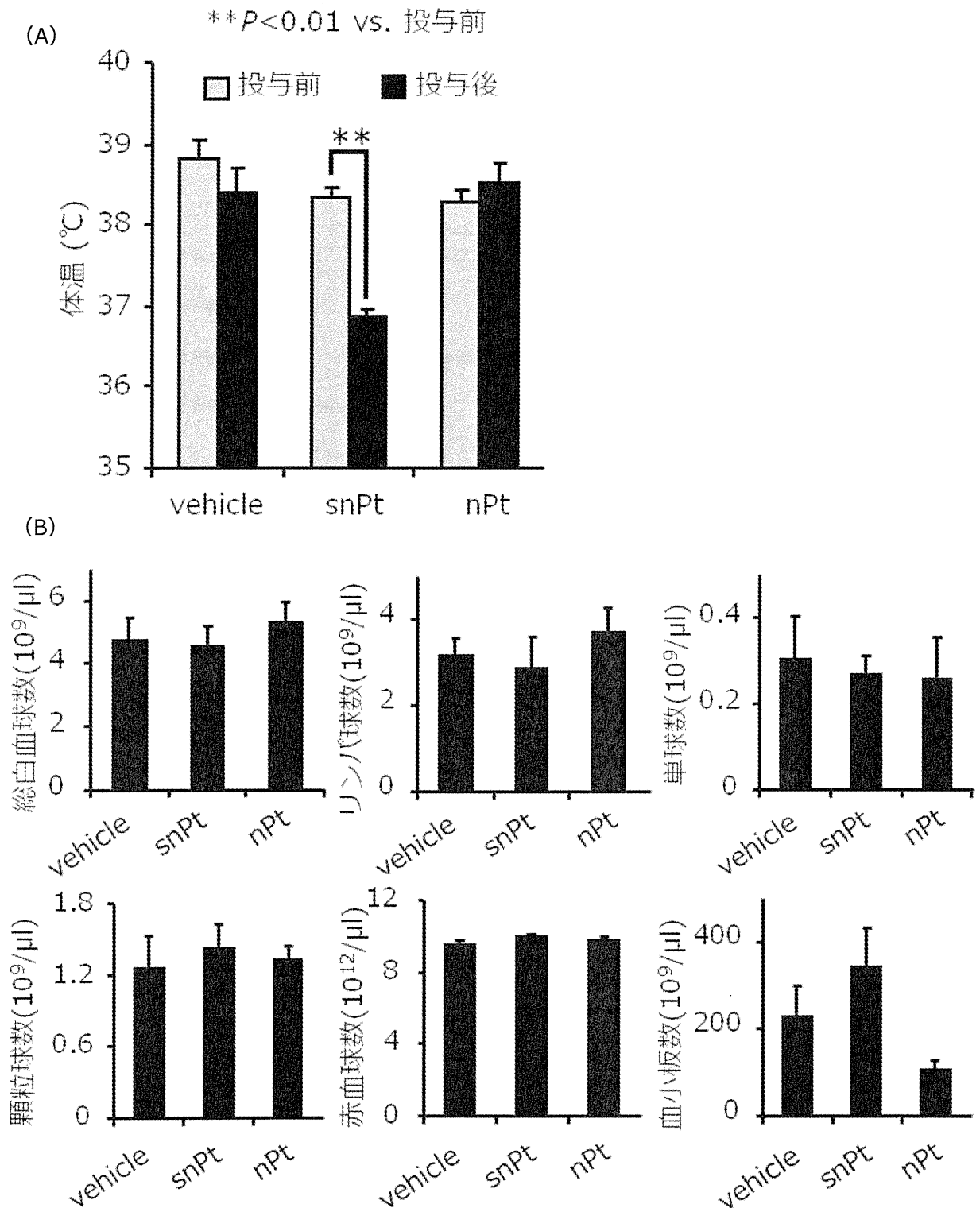


図 94. ナノ・サブナノ白金(0.1 mg / 匹) 7日間経鼻曝露後の体温変化 (投与 6 日後)、血球成分の変化. BALB/c マウス (6 週齢、雌性) に、snPt、nPt をそれぞれ 0.1 mg Pt/mouse で 7 日間連続経鼻投与した。投与 6 日目に、投与前と投与後で体温 (A) を測定した。Data are presented as means \pm S.E. (** $p < 0.01$ versus 投与前 by Dunnett's test) また、最終投与から 24 時間後に血球検査 (B) を行った。(n=5)