

Fig.27. nAg10の経口投与による母体乳腺への傷害性評価. 授乳期マウスにナノ銀粒子 (10 mg/kg)、銀イオン(10 mg/kg)、対照として水を経口投与した。投与12時間後、乳腺を回収し、10%中性緩衝ホルムアルデヒド溶液で固定した後、パラフィンブロックで包埋し、切片を作成した。(a) 作成した切片を、ヘマトキシリン・エオシン染色した。(b) 組織学的解析はApplied Medical Research Laboratory (Osaka, Japan) が行った。乳管細胞の脱落、および腺腔内の石灰化について、0 (正常)、1 (非常に軽度)、2 (軽度)、3 (中程度)、4 (重度) としてスコアを付け、評価した。(c) また、投与12時間後に母乳を回収し、乳清中総蛋白質、血清アルブミン、IgAの濃度は、それぞれ、BCA Protein Assay Kit、Mouse Albumin ELISA KIT、enzyme-linked immunosorbent assay kitを用いて測定した。Data are reported as means ± SEMs (a,b: $n = 3-5$; c: $n = 4-9$).

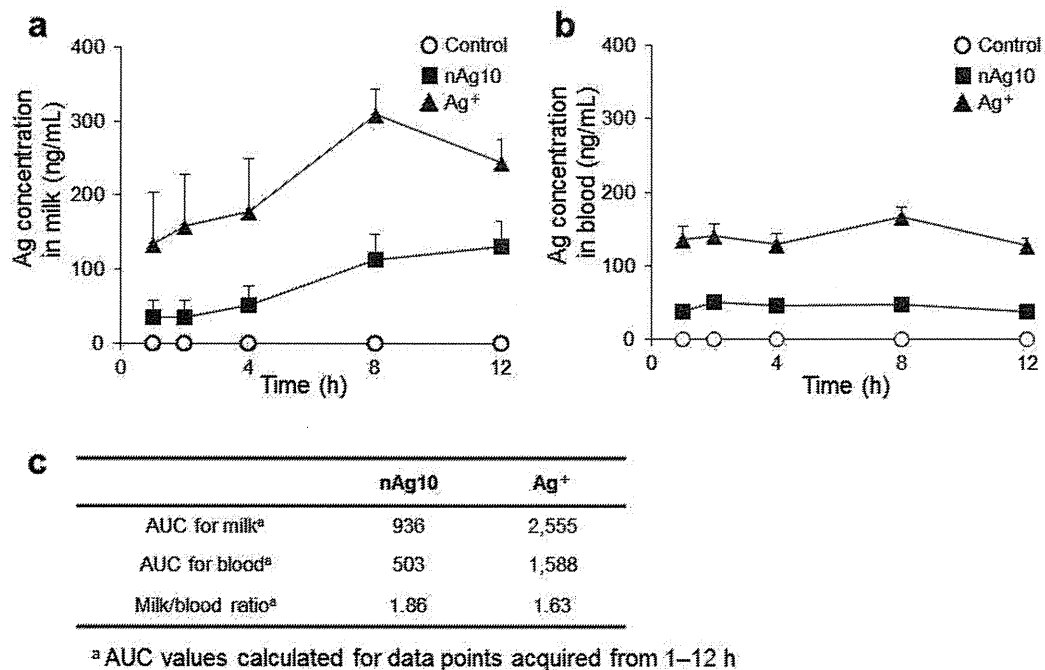
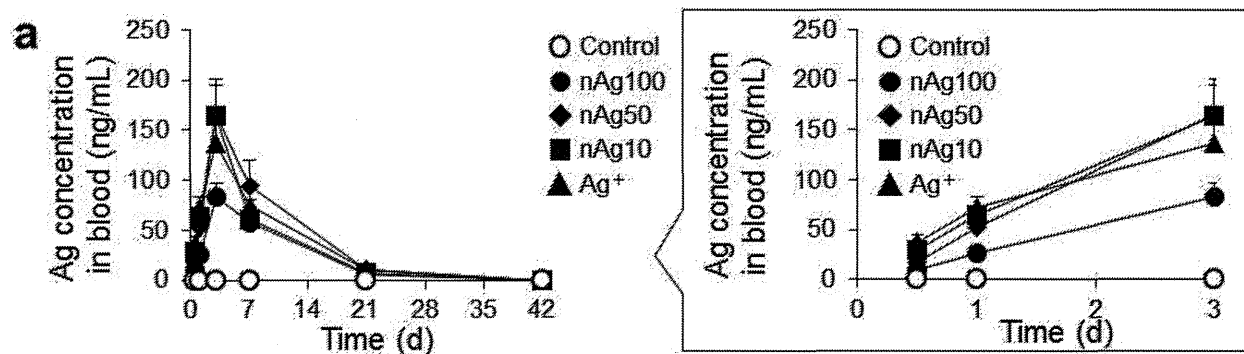


Fig.28. 経口投与後のナノ銀粒子の母乳への移行性評価. 授乳期マウスにナノ銀粒子 (10 mg/kg)、銀イオン(10 mg/kg)、対照として水を経口投与した。(a) 母乳中、(b) 血中における銀量をICP-MSにより測定した。(c) 母乳、血中における曲線下面積 (AUC) は、台形法により算出した。Data are reported as means \pm S.E. ($n = 3-8$ for control group; $n = 8-9$ for others).



b

	nAg100	nAg50	nAg10	Ag ⁺
Elimination rate constant	0.156	0.159	0.167	0.140
Half life (days)	4.45	4.36	4.15	4.97

Fig.29. ナノ銀粒子の母乳から胎仔への移行性評価. 授乳期マウスにナノ銀粒子 (1.5 mg/kg)、銀イオン(1.5 mg/kg)、対照として5%グルコース溶液、マウス血清アルブミンを含むPBS (pH 7.4) を尾静脈内投与した。その後、3週間母乳育児させた。投与0.5、1、3、7、21日後に母体の血液を回収した。(a) 胎仔の血中における銀量をICP-MSにより測定した。(b) 各粒子の血中から消失する割合、および半減期を算出した。Data are reported as means \pm SEMs ($n = 3-5$ for control group; $n = 4-11$ for others).

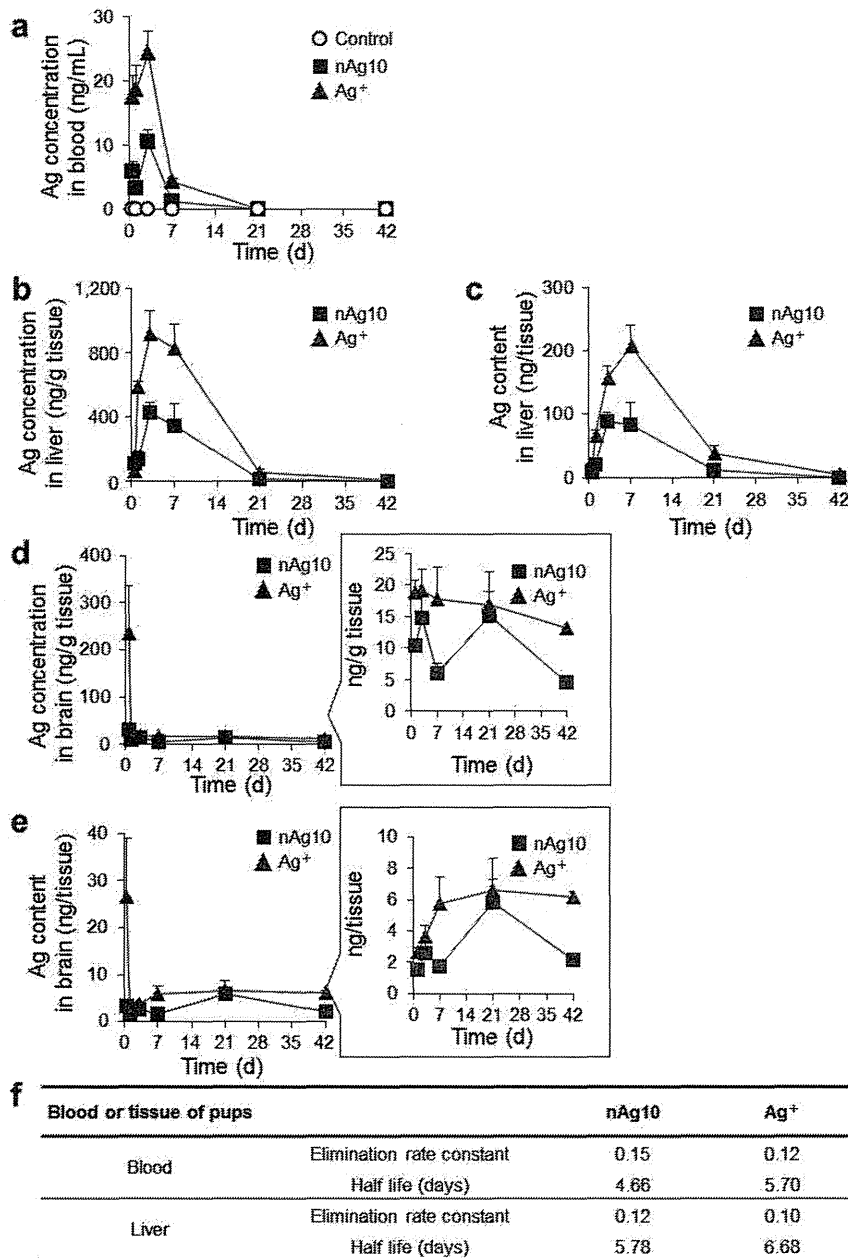


Fig.30. ナノ銀粒子の母乳から胎仔への移行性評価. 授乳期マウスにnAg10(10 mg/kg)、銀イオン(10 mg/kg)、対照として水を経口投与した。その後、3週間母乳育児させた。投与0.5、1、3、7、21日後に母体の血液を、投与0.5、1、3、7、21、42日後に乳幼仔の血液、肝臓、脳を回収した。(a) 胎仔の血中、(b、c) 肝臓、(d、e) 脳における銀量をICP-MSにより経時的に測定した。(f) 各粒子の血中、および肝臓から消失する割合、および半減期を算出した。Data are reported as means \pm SEMs (a: $n = 3-5$ for control group; $n = 4-11$ for others; b-e: $n = 3-5$).

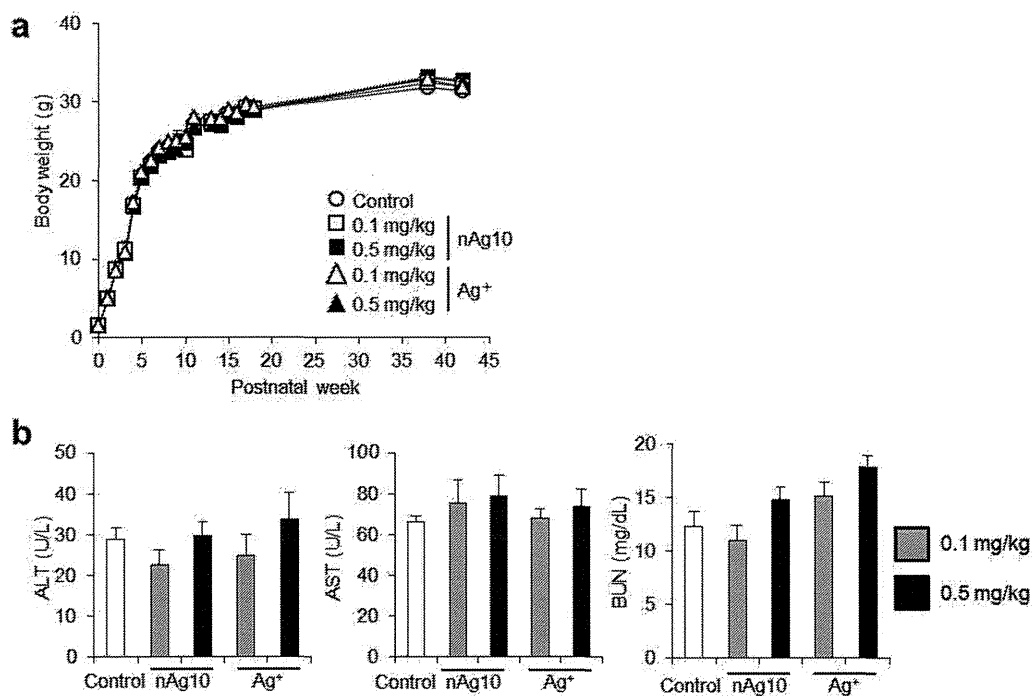


Fig.31. 母体への連日経口投与による母乳を介した乳幼仔への影響評価. 授乳期マウスにnAg10 (0.1、0.5 mg/kg)、AgNO₃ (0.1、0.5 mg/kg Ag⁺)、水を出産日(出産後日数(PND0)から離乳(PND20)まで21日間連日経口投与し、母乳育児させた。(a)胎仔重量を出生後42週間経過的に測定した。(b)PND21に乳幼仔の血液を回収し、生化学検査を実施した。Data are reported as means ± SEMs (a: n = 14-62; b: n = 5-19).

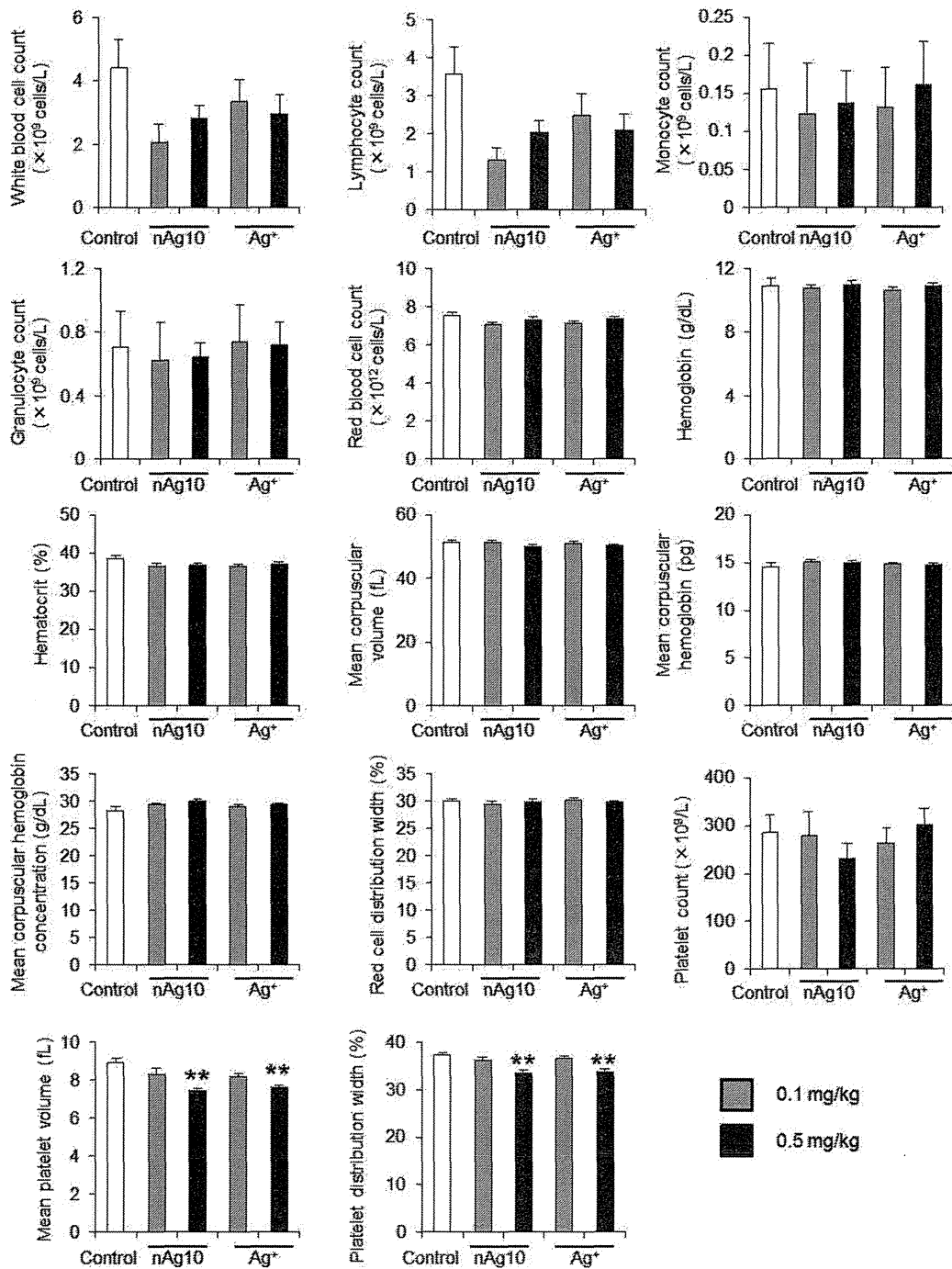


Fig.32. 母体への連日経口投与による母乳を介した乳幼仔への影響評価. 授乳期マウスにnAg10 (0.1、0.5 mg/kg)、AgNO₃ (0.1、0.5 mg/kg Ag⁺)、水を出産日(出産後日数(PND0))から離乳(PND20)まで21日間連日経口投与し、母乳育児させた。PND21に乳幼仔の血液を回収し、血液検査を実施した。Data are reported as means ± SEMs (a: n = 14-62; b: n = 5-19).

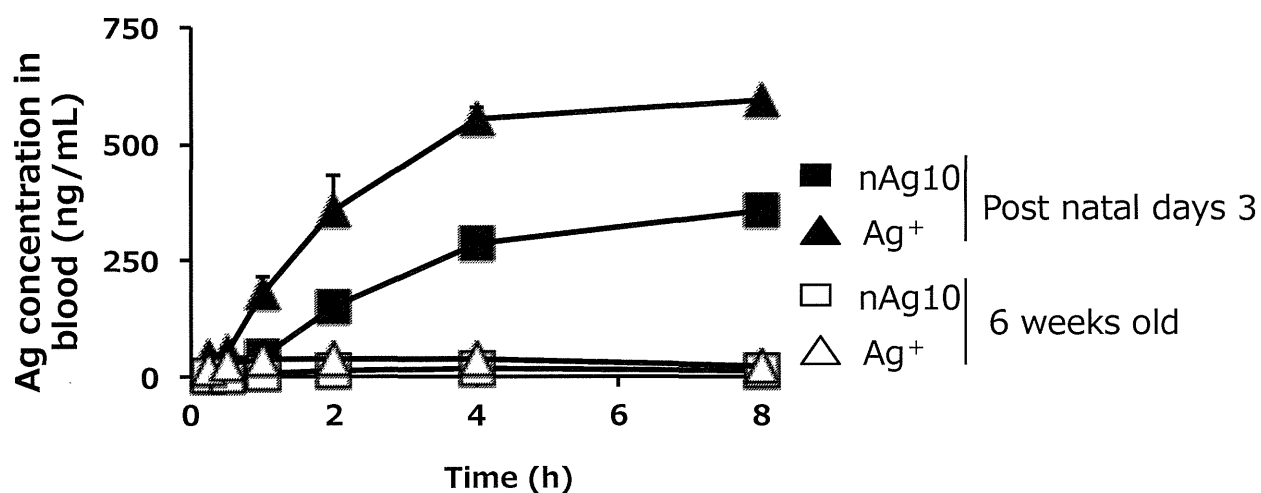


Fig.33. 乳幼児と成体におけるナノ銀の吸収性. 終濃度0.25mg/mLのnAg10及びAg⁺を調整し、2.5 mg/kgで生後3日齢若しくは6週齢のBALB/cマウスに経口投与した。投与後0.025, 0.5, 1, 2, 4, 8時間後に血液を回収し、ICP-MSにより血中Ag濃度を測定した。

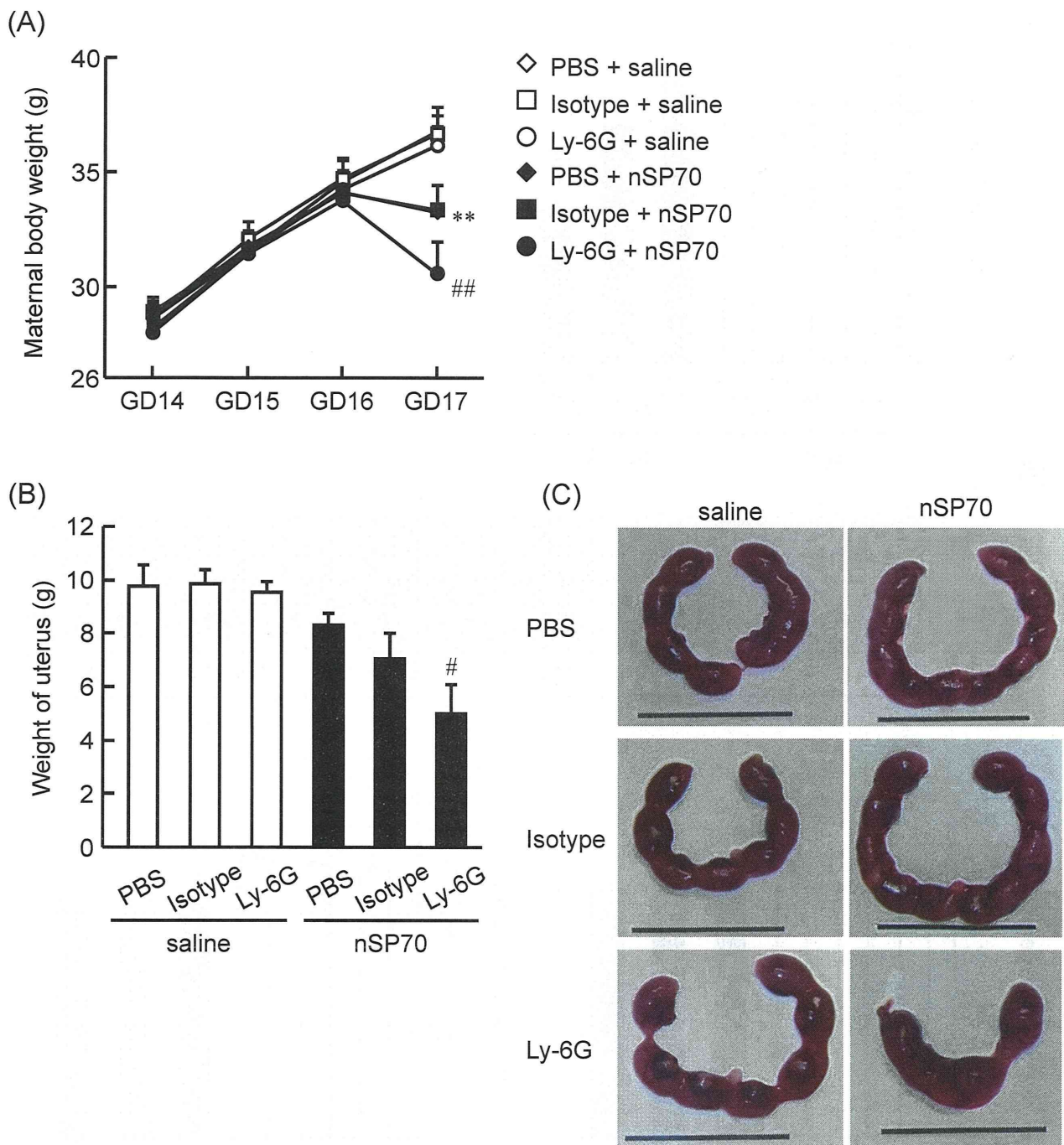


Fig.34. 好中球のdepletionがnSP70投与による母体重量の減少を悪化する

妊娠15日目のBalb/cマウスに抗Ly-6G抗体、またはIsotype抗体を腹腔内投与し(150 μ g/mouse)、投与24時間後、nSP70 (0.8 mg/mouse)、あるいはsalineを尾静脈内より投与した。(A) 母体体重の推移を連日解析すると共に、(B) 妊娠17日目に解剖し、子宮重量を測定後、肉眼的解剖所見を実施した。Data are presented as mean \pm SEM; n = 9-10; **P < 0.01 vs saline-treated group with pretreatment of PBS; ##P < 0.01 vs nSP70-treated group with pretreatment of anti-Ly-6G antibody.

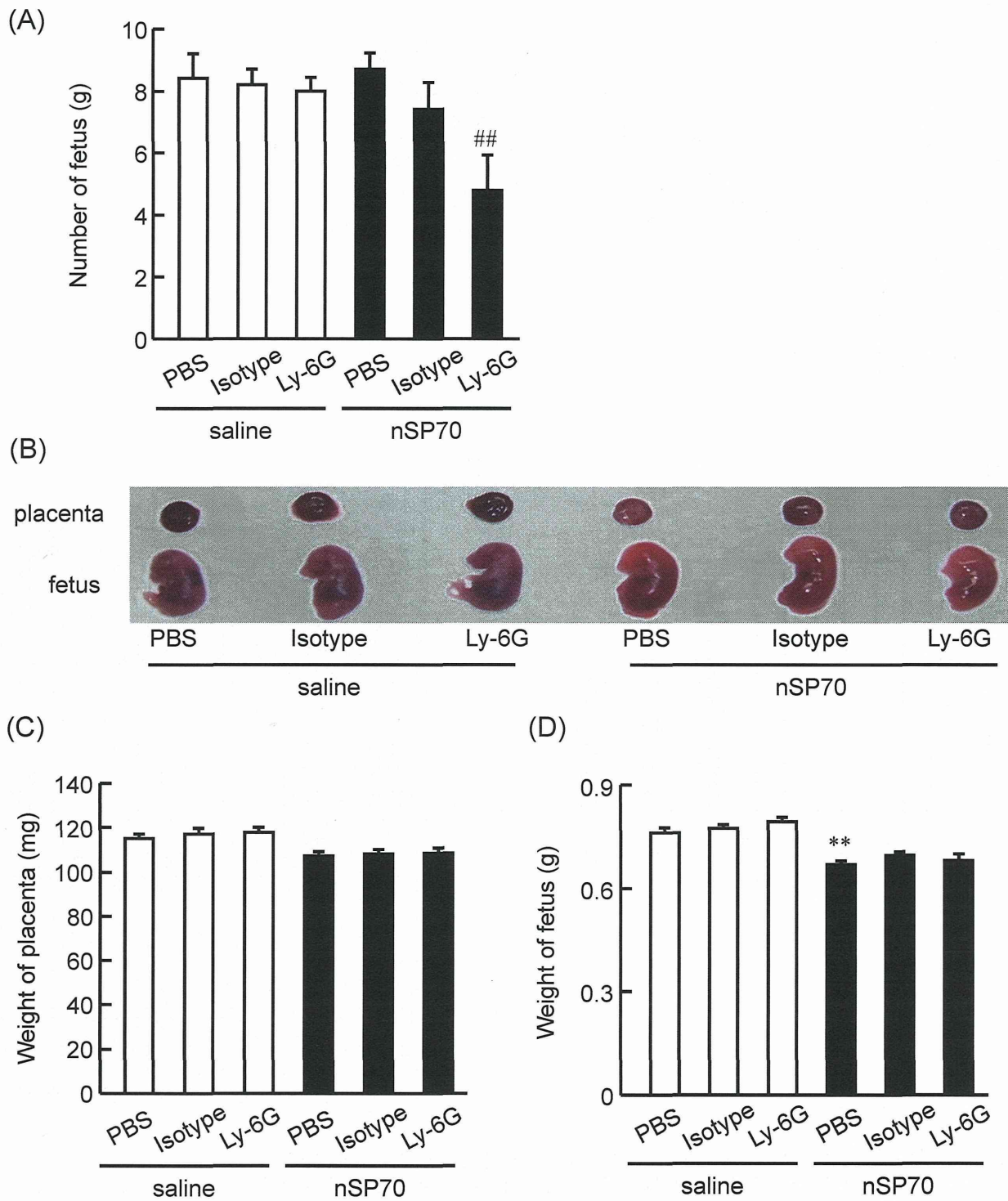


Fig.35. 好中球のdepletionがnSP70投与による妊娠障害を悪化する

妊娠15日目のBalb/cマウスに抗Ly-6G抗体、またはIsotype抗体を腹腔内投与し(150 μ g/mouse)、投与24時間後、nSP70 (0.8 mg/mouse)、あるいはsalineを尾静脈内より投与した。妊娠17日目に解剖し、(A) 胎仔数の測定、ならびに (B) 胎仔の肉眼的解剖所見の実施、(C) 胎盤重量、(D) 胎仔重量を評価した。Data are presented as mean \pm SEM; n = 9-10; **P < 0.01 vs saline-treated group with pretreatment of PBS; ##P < 0.01 vs nSP70-treated group with pretreatment of anti-Ly-6G antibody.

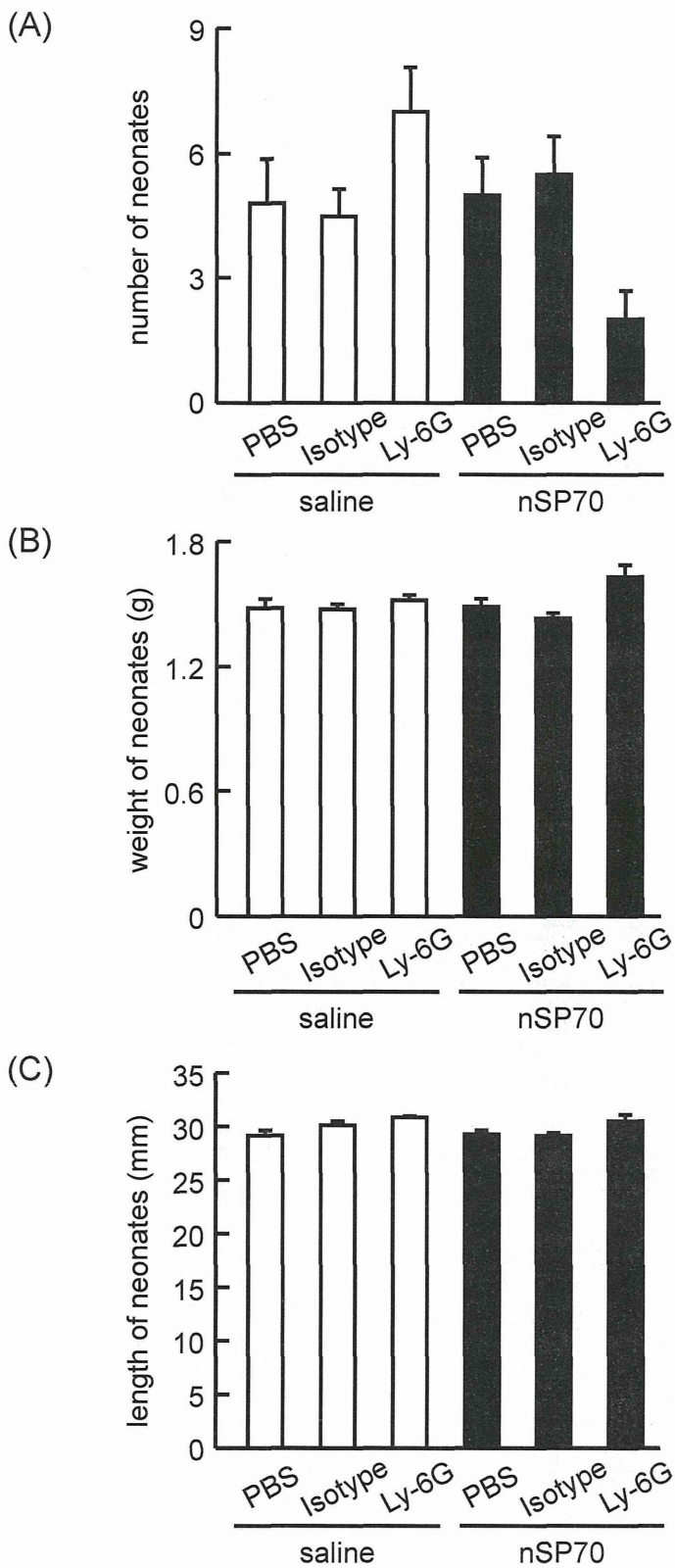


Fig.36. 好中球のdepletionがnSP70投与後の生存出生仔に及ぼす影響

妊娠15日目のBalb/cマウスに抗Ly-6G抗体、またはIsotype抗体を腹腔内投与し(150 μ g/mouse)、投与24時間後、nSP70 (0.8 mg/mouse)、あるいはsalineを尾静脈内より投与した。その後自然分娩させ、(A) 新生仔数の測定、ならびに (B) 新生仔の重量、(C) 新生仔の体長を測定した。Data are presented as mean \pm SEM; n = 5-6.

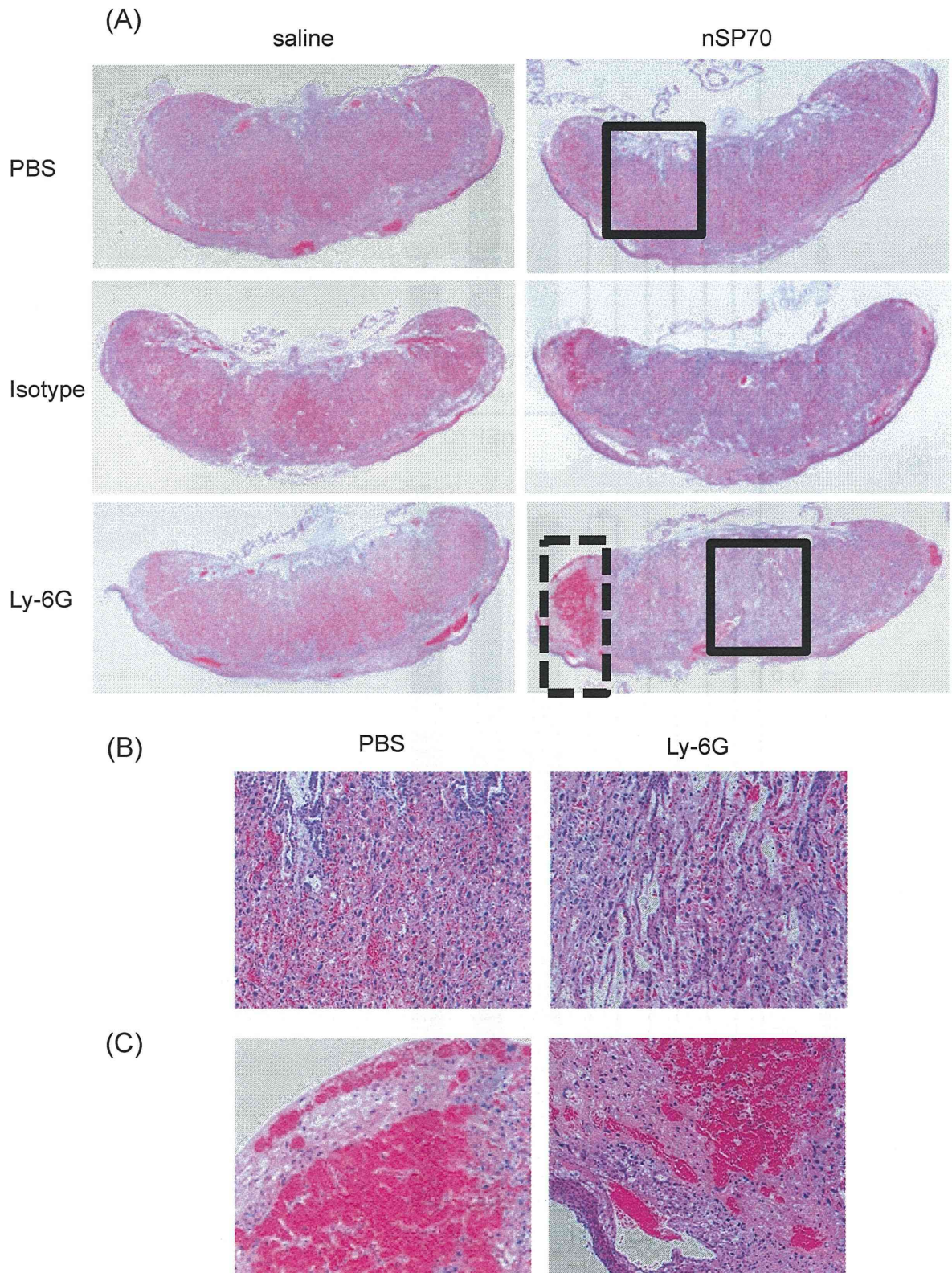


Fig.37. 好中球のdepletionがnSP70投与による胎盤障害を悪化させる

妊娠15日目のBalb/cマウスに抗Ly-6G抗体、またはIsotype抗体を腹腔内投与し(150 μ g/mouse)、投与24時間後、nSP70 (0.8 mg/mouse)、あるいはsalineを尾静脈内より投与した。(A) 妊娠17日目に解剖し、胎盤を回収した後、HE染色により胎盤の機能異常を評価した。(B) 病理画像内の黒枠部分を拡大、(C) 破線部を拡大した写真を示す。

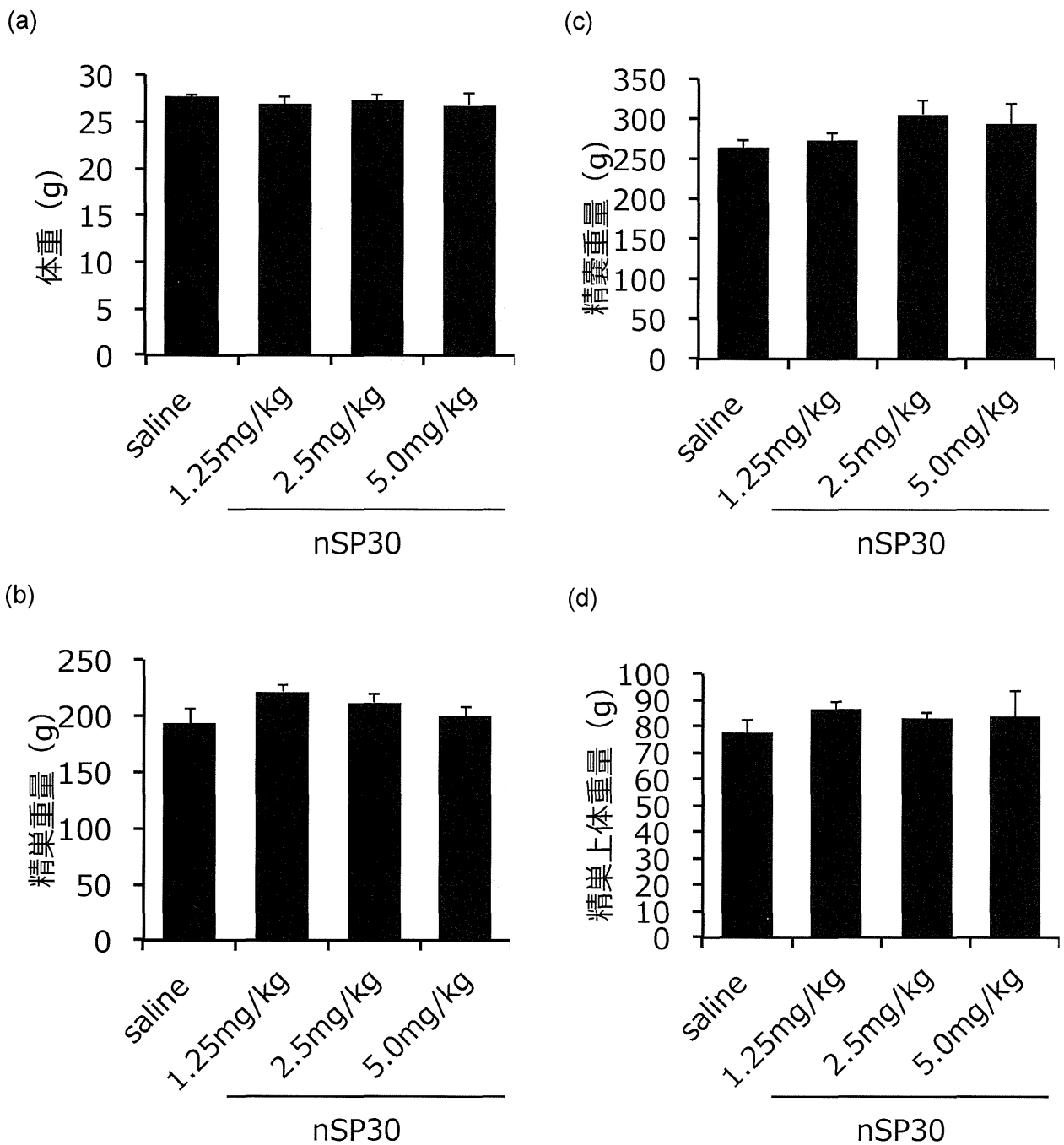


Fig.38. nSP30を曝露した雄マウスの体重、生殖組織重量

10週齢の雄性BALB/cマウスに、nSP30を1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kgで1日おきに4回静脈内投与した。最終投与35日後に解剖し、(A) 体重、(B) 精巣重量、(C) 精巣上体重量、(D) 精囊重量を評価した。Data are presented as mean \pm SEM (n=4-5)

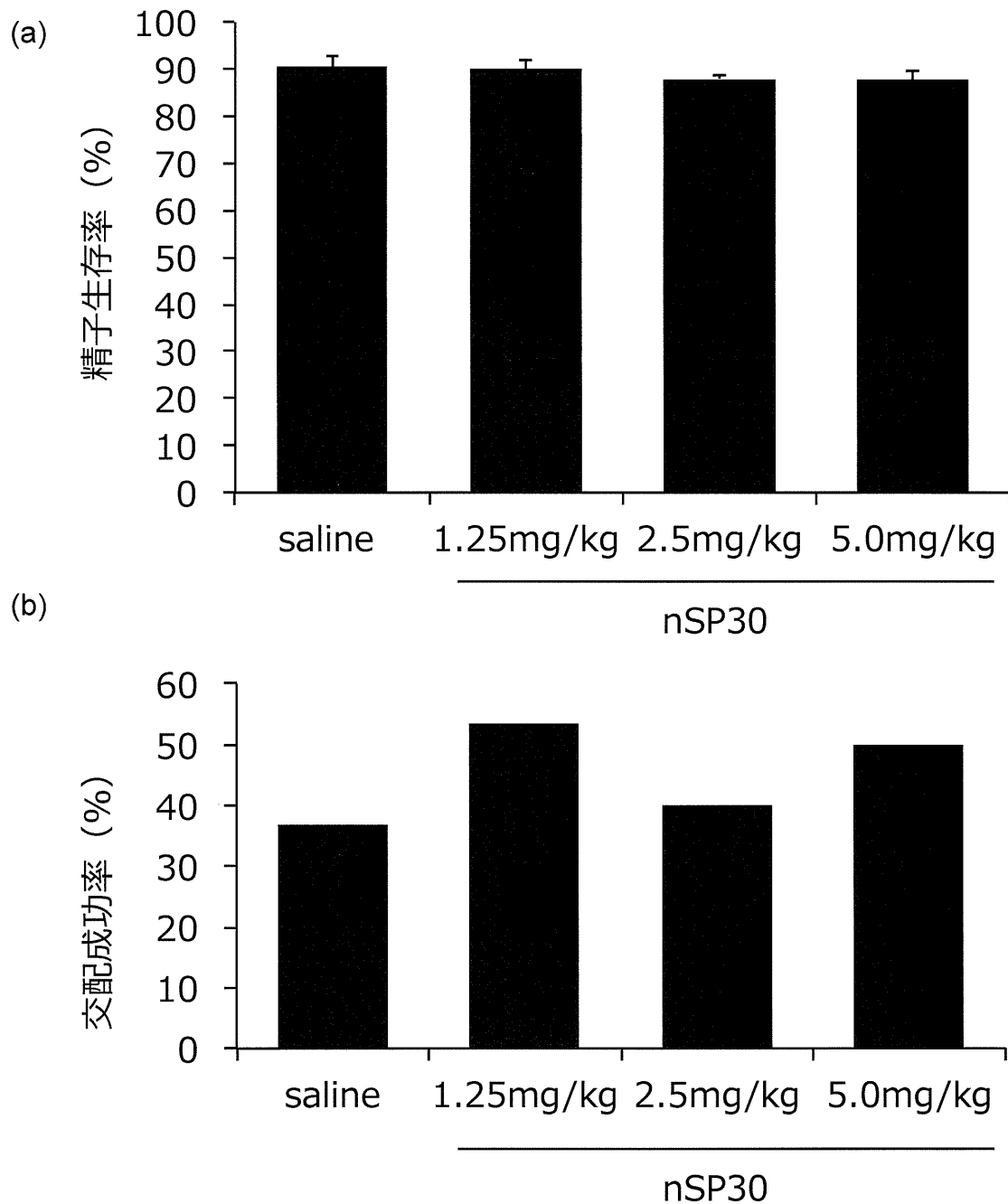


Fig.39. nSP30を曝露した雄マウスの精子生存率、交配成功率
 10週齢の雄性BALB/c マウスに、nSP30を1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kgで1日おきに4回、静脈内投与した。(A) 最終投与35日後に精巢上体中の精子の生存率をflow cytometryにより評価すると共に、(B) 最終投与日から4日間、無処置の雌マウスと同居させた際の交配成功率(妊娠した雌マウスの数/交配させたマウスのペア数)を算出した。Data are presented as mean ± SEM (n=4-5)

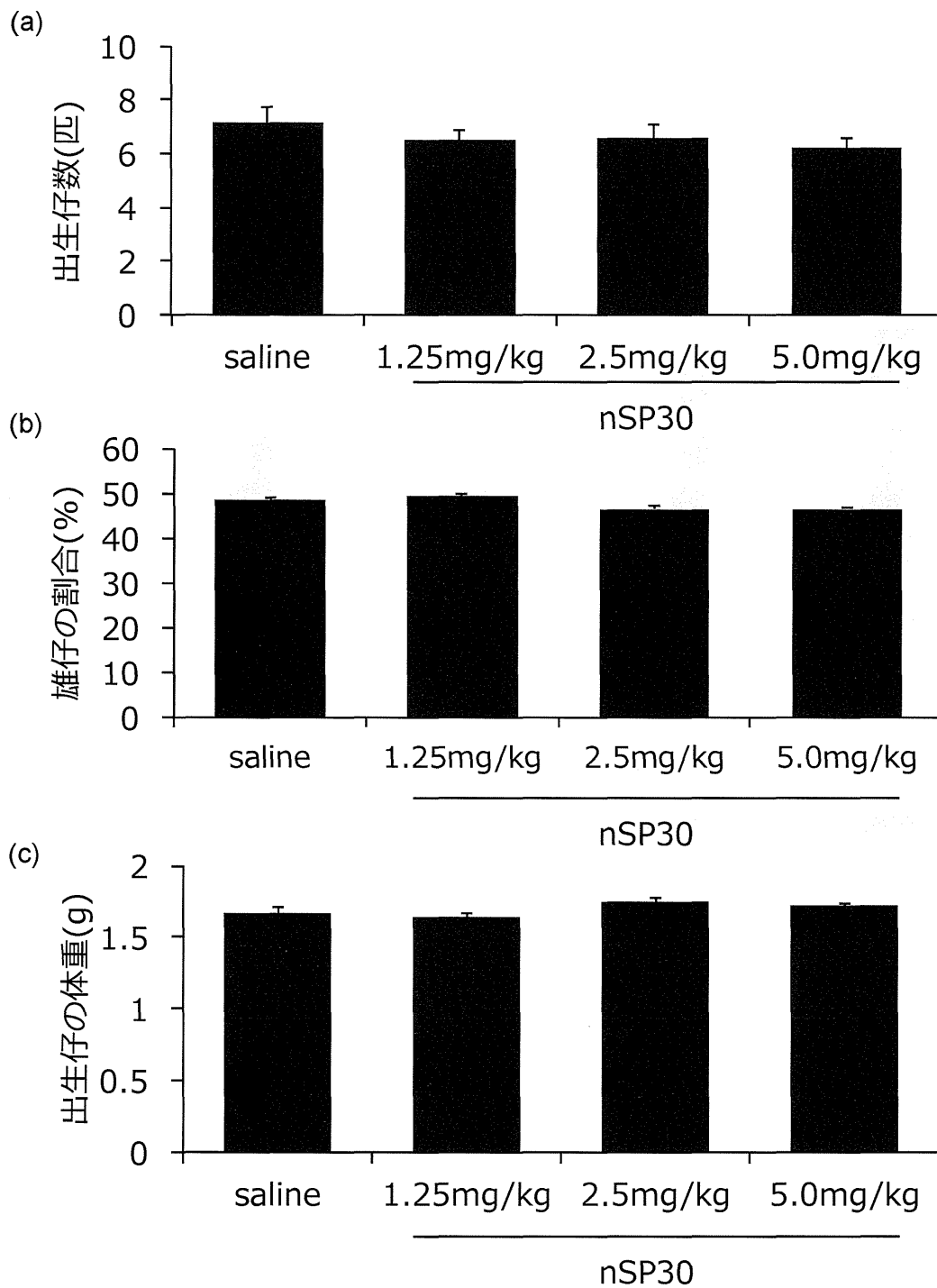


Fig.40. nSP30を曝露した雄親の仔の出生仔数、雌雄比、出生時体重.
 10週齢の雄性BALB/cマウスに、nSP30を1.25mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kgで1日おきに4回、静脈内投与した。最終投与から35日後に、4日間、無処置の雌マウス (BALB/c、9週齢) と同居させ、交配させた。
 (A) 出生仔数、(B) 出生仔の雄仔の割合、(C) 出生仔の出生時体重を評価した。Data are presented as mean \pm SEM (n=63-95)

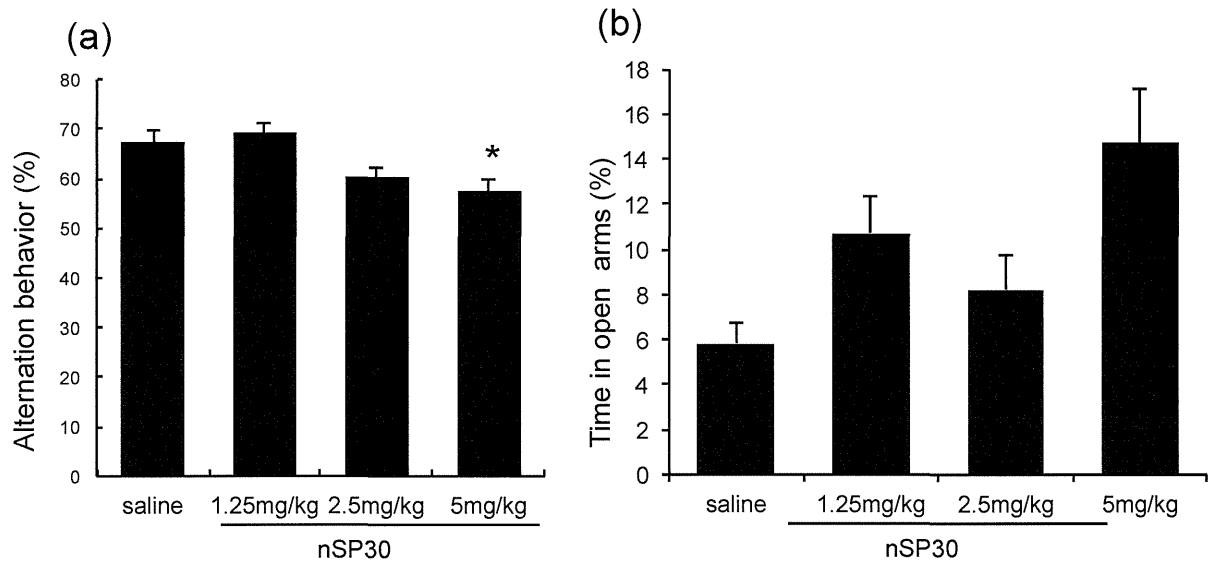


Fig.41. 雄親を介した次世代影響評価. マウスに、nSP30を1日おきに4回、静脈内投与した。投与開始から35日後に、未処置のマウスと4日間交配させた後に、雌マウスに自然分娩させた。産まれてきた仔を9週齢まで飼育し、(a) Y-mazeテスト、および (b) Elevated plus mazeテストを実施した。Data are reported as means \pm SEMs

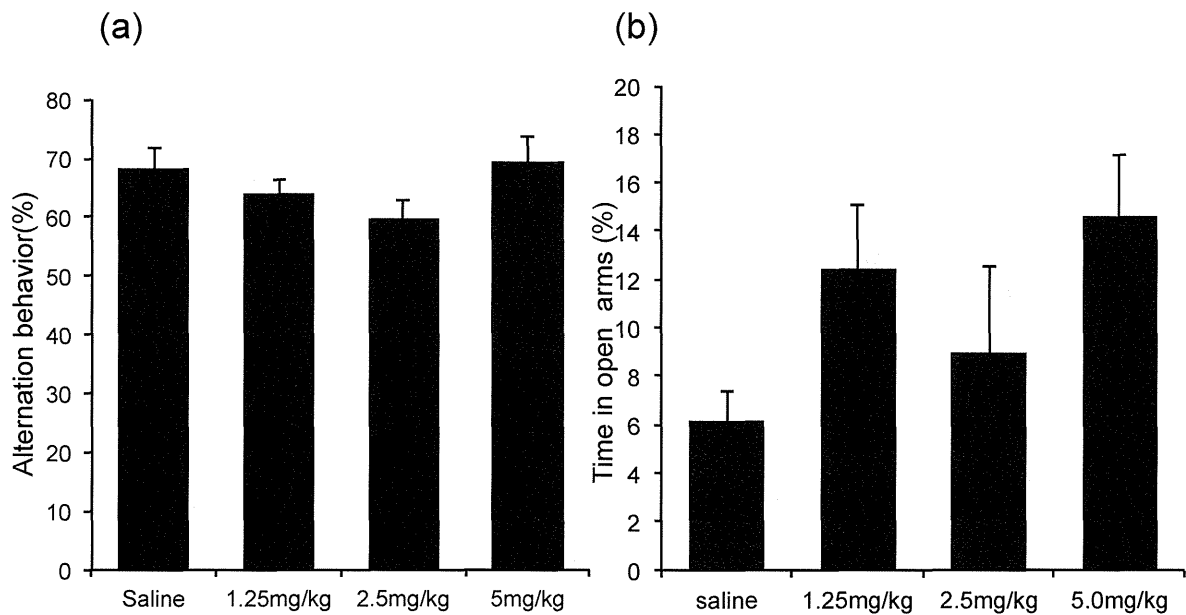


Fig.42. 雄親を介した次世代影響評価（生育環境の違いによる評価）。マウスに、nSP30を1日おきに4回、静脈内投与した。投与開始から35日後に、未処置のマウスと4日間交配させた後に、雌マウスに自然分娩させた。産まれてきた仔を9週齢まで飼育し、(a) Y-mazeテスト、および (b) Elevated plus mazeテストを実施した。Data are reported as means \pm SEMs

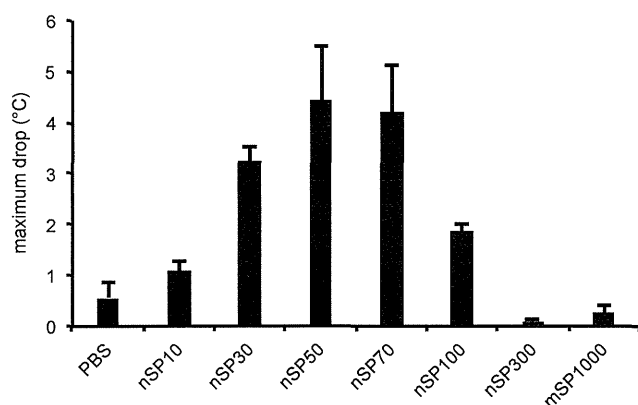


Fig.43. 非晶質シリカ投与時のサイズと最大体温低下値の比較解析. マウスに nSP10、30、50、70、100、300、およびmSP1000 (70 mg/kg)を尾静脈投与し、投与直後から15分毎に直腸体温を測定した。最大体温低下値を示した75分後の結果を示す。Data are reported as means \pm SEMs (n = 5).

survival rate (%)	0 mg/kg	17.5 mg/kg	35 mg/kg	70 mg/kg	140 mg/kg	280 mg/kg
PBS	100					
nSP10		0	0	0		
nSP30		100	0	0		
nSP50		100	66.7	0		
nSP70		100	100	0		
nSP100			100	100	0	
nSP300				100	100	100
mSP1000				100	100	100

Fig.44. 非晶質シリカ投与時のサイズと生存率の比較解析. マウスにnSP10、30、50、70 (17.5、35、70 mg/kg)、100 (35、70、140 mg/kg)、300、およびmSP1000 (70、140、280 mg/kg)を尾静脈投与し、投与24時間後におけるマウス生存率を解析した。(n = 3).

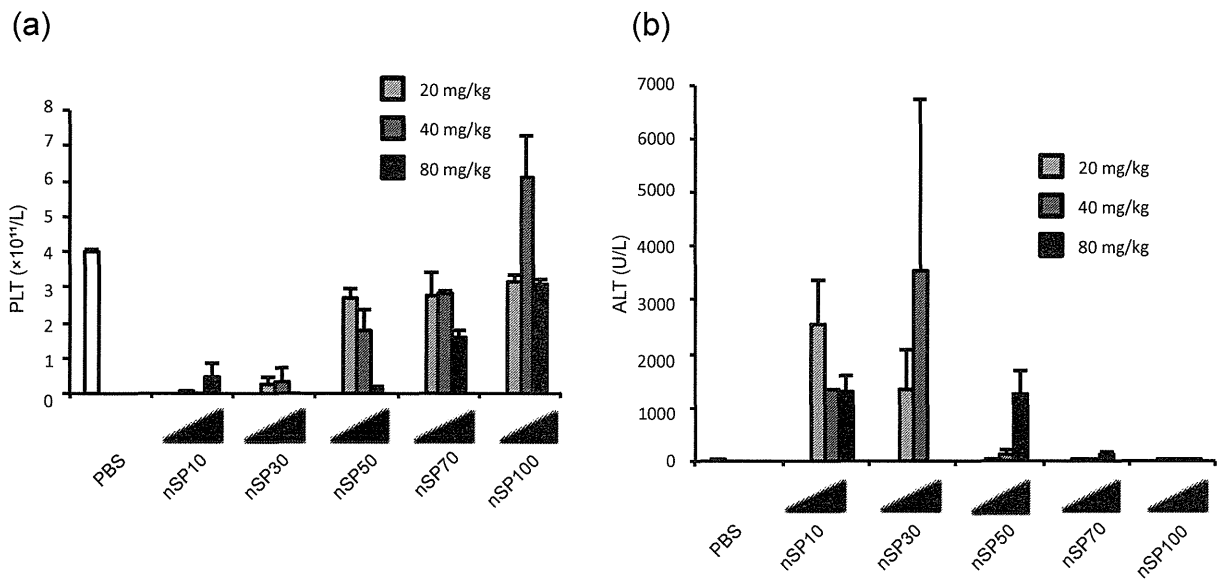


Fig.45. 非晶質ナノシリカ投与時のサイズと血小板数および肝障害誘発との比較解析. マウスにnSP10、30、50、70、100 (20、40、80 mg/kg) を尾静脈投与し、投与4時間後において、血液を回収した。(a) 血液検査により血小板数を、(b) 生化学検査により血中ALT量を測定した。Data are reported as means \pm SEMs ($n = 1-5$).

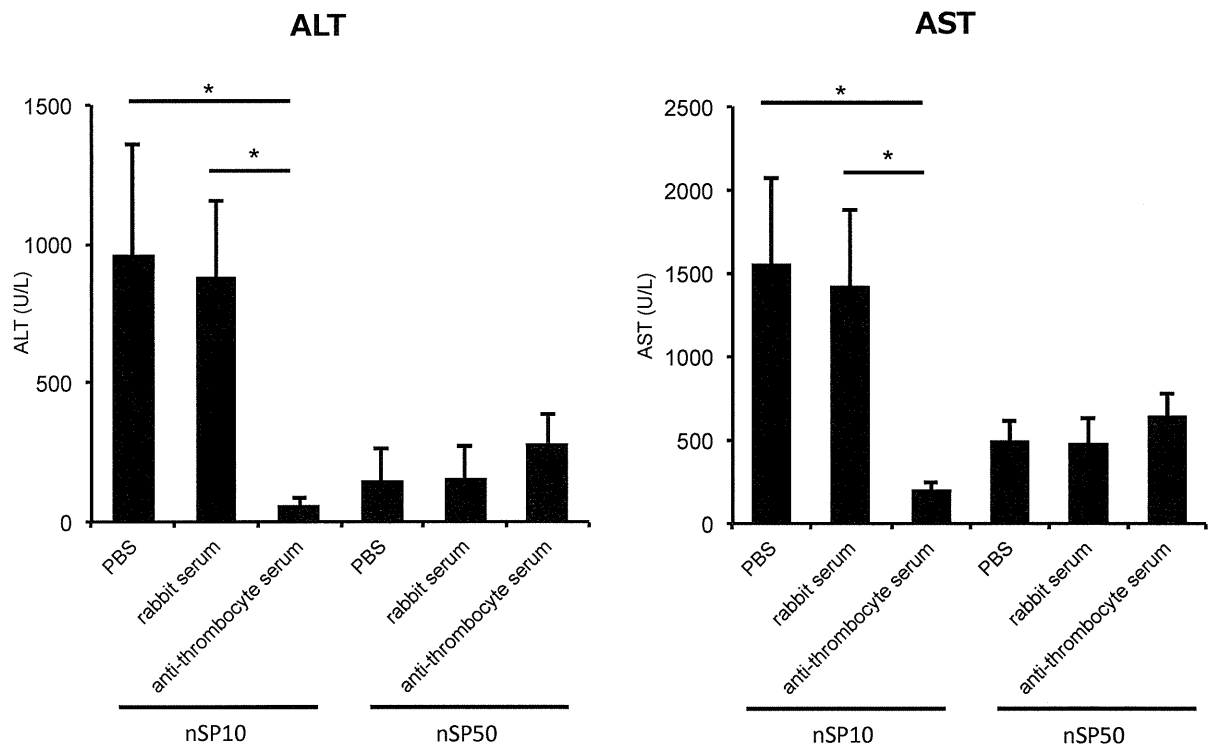


Fig.46. 抗血小板血清による血小板の枯渇がnSP10、nSP50の肝障害に与える影響評価
 C3H/HeN mice (雄性, 10 週齢, n=4) に、PBS、抗血小板血清(50 μ L/mouse)、コントロールであるウサギ血清を前処置した後、24時間後に15 mg/kg nSP10もしくは80 mg/kg nSP50を静脈内投与した。投与4時間後に血漿を回収し、肝障害マーカーであるALT およびASTを測定した。実験結果は、平均値および標準誤差で表記(n=4)。*P < 0.05, **P < 0.01 vs. control group.

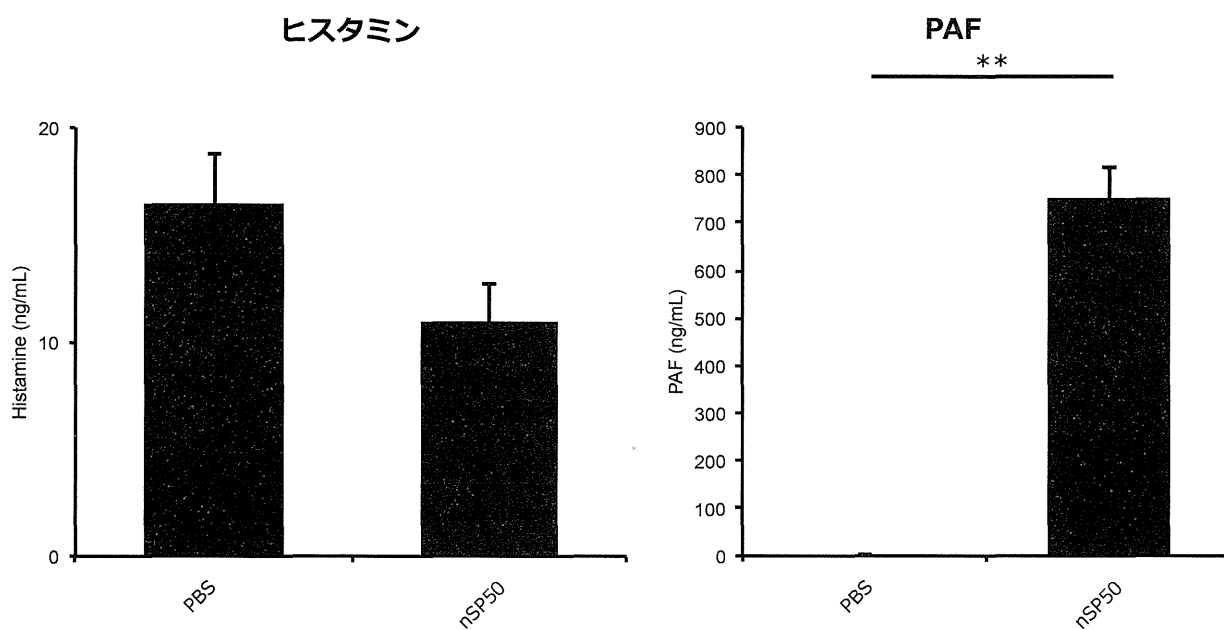


Fig.47. 非晶質ナノシリカ投与による血液中のヒスタミンおよび、PAFの産生量の評価
 C3H/HeN mice (雄性, 10 週齢, n=4) に80 mg/kg nSP50およびコントロールとしてPBSを静脈内投与した。投与20分後に血漿を回収し、血液中のヒスタミンおよびPAFの産生量をELISAにより測定した。実験結果は、平均値および標準誤差で表記(n=4)。*P < 0.05, **P < 0.01 vs. control group.