

平成 30 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)
分担研究報告書

研究課題名: ナノマテリアルの吸入曝露によるヒト健康影響の評価手法に関する研究
-生体内マクロファージの機能に着目した有害性カテゴリー評価基盤の構築-

分担研究課題: ナノマテリアルの組織負荷量の測定

研究分担者 大西 誠 労働者健康安全機構・日本バイオアッセイ研究センター

研究要旨

ナノマテリアルの曝露による肺内のナノマテリアルの負荷量の測定は、ナノマテリアルが肺内の沈着量を正確に把握する上で重要である。本研究では、Taquann 法にて分散処理を施した多層カーボンナノチューブ(T-CNT7)及び酸化チタン(T-TiO₂)を用い、全身吸入装置により一定期間曝露直後、1、4 および 8 週後における肺内の T-CNT7 または T-TiO₂ の負荷量を測定することで、ナノマテリアルの曝露による生体影響評価を検討した。その結果、曝露直後、1、4 および 8 週後における肺当りの T-CNT7 の負荷量は、3 mg/m³ 曝露において 29.04 ± 6.16 μg/g、21.33 ± 2.01 μg/g、13.68 ± 1.62 μg/g 及び 8 週目では 9.15 ± 2.17 μg/g であり、曝露直後に比較して 8 週後の負荷量は約 1/3 の減衰傾向であった。また、Taquann 法にて分散処理を施した T-TiO₂ の全身吸入曝露により、肺内の T-TiO₂ を原子吸光を用いて測定した結果、曝露直後、1、4 および 8 週後における肺当りの TiO₂ の負荷量は、30 mg/m³ 曝露において 150.11 ± 9.05 μg/g、112.47 ± 13.94 μg/g、63.05 ± 7.21 μg/g 及び 8 週目では 25.85 ± 11.36 μg/g であり、曝露直後に比較して 8 週後の負荷量は約 1/6 の減衰傾向であり、T-CNT に比較して T-TiO₂ の肺負荷量の減衰傾向は大きかった。

A. 研究目的

本研究事業は、工業的ナノマテリアル(NM)の非意図的曝露経路であり有害性発現が最も懸念される吸入曝露において、曝露したナノマテリアルの肺内における負荷量である沈着量を把握することにより、ナノマテリアルの生体影響を評価することである。

平成30年度の分担研究では分散処理を施した多層カーボンナノチューブ(T-CNT7)または酸化チタン(T-TiO₂)を用い、全身吸入装置により一定期間曝露後、1、2、4および8週後における肺組織における肺内のT-CNT7の負荷量を

測定することで、ナノマテリアルの曝露による生体影響評価を検討した。

B. 研究方法

B-1: 試験材料

B-1-1: 多層カーボンナノチューブ(T-CNT7)

試薬名: T-CNT7

前処理: Taquann 処理 (53μm メッシュ使用)

保管条件: 室温

B-1-2: 酸化チタン(T-TiO₂)

試薬名: T-TiO₂

前処理: Taquann 処理

保管条件： 室温

B-2：装置、器具及び試薬

B-2-1:T-CNT7

B-2-1-1：高速液体クロマトグラフ(HPLC)

メーカー：ウォータース

形式：Acquity UPLC

B-2-1-2：電子天秤

メーカー：(株)日本シイベルワグナー

形式：AE163

B-2-1-3：振とう機

メーカー：サーマル化学産業株式会社

形式：TS-100

B-2-1-4：遠心分離機

メーカー：ベックマンコールター株式会社

形式：Microfuge® 22R Centrifuge

B-2-1-5：超音波分散機

メーカー：タイテック株式会社

形式：VP-30S

B-2-2: T-TiO₂

B-2-2-1：原子吸光光度計

メーカー：日立製作所

形式：Z-5010

B-3：試薬

B-3-1：T-CNT7

B-3-1-1：アセトニトリル

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：HPLC 用

B-3-1-2：メタノール

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：HPLC 用

B-3-1-3：Benzo[ghi]perylene(BgP)

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：試薬特級

B-3-1-4：TWEEN 80

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

B-3-1-5：水酸化カリウム

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：試薬特級

B-3-1-6：ドデシル硫酸ナトリウム

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：試薬特級

B-3-1-7：EDTA 2 Na

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：試薬特級

B-3-1-8：アスコルビン酸ナトリウム

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：試薬特級

B-3-1：T-TiO₂

B-3-1-1：濃硫酸

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

形式：特級

B-3-1-2：硝酸

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

B-3-1-3：超純水

メーカー：富士フイルム和光純薬株式会社

B-4：測定条件

B-4-1：T-CNT7

HPLC：ウォータース Acquity UPLC

カラム：Acquity BEH C18 (ウォータース)

カラム粒径、長さ × 内径：1.7 μm、100 mm × 2.1 mmφ

カラム温度： 40

検出器：蛍光検出器 (励起波長： 294 nm、蛍光波長： 410 nm)

試料注入量： 5 μL

移動相組成： アセトニトリル：メタノール：蒸留水 =75：20：5

移動相流量： 0.5 mL/min

B-4-2：T-TiO₂

測定機器：日立製作所 Z-5010 原子吸光光度計

原子化法：グラファイトアトマイザー

使用ガス：アルゴン

吸収波長：チタン；364.3nm

原子化温度：2700

試料注入法：オートサンプラー

試料注入量：10 μL

B-5：溶液調製

B-5-1：T-CNT7

B-5-1-1：組織溶解液の調製

あらかじめ 80 ℃ に加温した超純水 140mL に 10g の KOH を加えた。その溶液に 1%SDS 水溶液 20mL 及び 1%EDTA2Na20mL をそれぞれ加えた。その後、アスコルビン酸 4g 添加し、超純水で 200mL にメスアップし、80 ℃ で加温することにより溶解状態とし、組織溶解液を調製した。

B-5-1-1：T-CNT7 原液の調製

分析を実施する前日に、T-CNT7 約 5 mg を 10 mL 容のフタ無しガラス試験管に精密に秤量し、0.1% Tween 水溶液 (Tw-sol) を 2 mL 加えてタッチミキサーで分散させ、100 mL 容のフタ・メモリ付の PP チューブへ移し、この操作を 4 回繰り返し、最後に Tw-sol で 100 mL にメスアップした。その溶液を超音波分散機により 1 分間、超音波分散した。(以下用いる周波数と強度は 20 kHz、300 W で共通)(T-CNT7 原液：50 µg/mL) なお、分析を実施する当日に、この溶液は超音波分散機により 1 分間、超音波分散を行って下記の分析に用いた。

B-5-1-2：検量線溶液 C5 の調製

B-5-1 項で調製した T-CNT7 原液 0.2 mL を 15 mL 容のフタ・メモリ付の PP チューブに採取し、Tw-sol により 10 mL にメスアップし、1 分間超音波分散した。(検量線溶液 C5：1 µg/mL)

B-5-1-3：検量線溶液 (C1～C5) の調製

B-5-2 項で調製した検量線溶液 C5 を採取し、2mL 容の遠心分離用チューブに入れ、さらに Tw-sol をそれぞれの量を添加して検量線溶液 (C1～C5) を作成した(表 1)。

B-5-1-4：マーカー溶液の調製

200mL 容のメスフラスコに Benzo[ghi]perylene(BgP)マーカー約 1mg を秤量し、アセトニトリルを加え十分に溶解し、アセトニトリルでメスアップして BgP のマーカー原液(5.0 µg/mL)とした(冷暗所に保存)。その溶液 0.8 mL にアセトニトリル 2 mL 加え混合攪拌した溶液 2.5 mL を Tw-sol 50 mL に加え混合攪拌し、マーカー

溶液とした。

B-5-2：T-TiO₂

B-5-2-1：チタン検量線溶液(C1～C7)の調製

1000µg/mL のチタン標準溶液 0.1mL に 3 %硫酸水 0.9mL を加え 10 倍希釈し、さらに、その溶液 0.1mL に 3 %硫酸水を 0.9 mL 加えチタン標準液の 100 倍希釈液とした。チタン標準液の 100 倍希釈液 0.4mL に 3 %硫酸水で 9.6 mL を加え 25 倍希釈した(検量線 C7：0.4 µg/mL)。その溶液 1 mL に 3 %硫酸水 1mL を加え 2 倍希釈した(検量線 C5：0.2 µg/mL)。その溶液 1 mL に 3 %硫酸水 1mL を加え 2 倍希釈した(検量線 C3：0.1 µg/mL)。その溶液 1 mL に 3 %硫酸水 1mL を加え 2 倍希釈した(検量線 C2：0.05 µg/mL)。その溶液 1 mL に 3 %硫酸水 1mL を加え 2 倍希釈した(検量線 C1：0.025 µg/mL)。さらに、チタン標準液の 100 倍希釈液 0.3 mL に 3 %硫酸水で 9.7 mL を加え 33.3 倍希釈した(検量線 C6：0.3 µg/mL)。その溶液 1 mL に 3 %硫酸水 1mL を加え 2 倍希釈した(検量線 C4：0.15µg/mL)。

B-6：測定試料

B-6-1：T-CNT7

B-6-1-1：測定試料

図 1 に本研究の実験デザインを示した。Taquann 処理された T-CNT7 を吸入曝露したマウスの構成を対照群 (0 mg/m³) と投与群 (3 mg/m³) とし、各 3 検体の曝露直後、1、4、8 週目 (合計 24 検体) とした。曝露は 1 日に 2 時間 (10:00～12:00) 週に 1 日の曝露を 5 週間繰り返し、各群 2 時間 × 5 回の計 10 時間の吸入曝露を行った。5 回(計 10 時間)の曝露を終了した日を day 0 (0W) とし、0W の午後 2:00～6:00 に初回の解剖、その後、1 週、4 週、8 週に各群 3 匹ずつをイソフルランによる吸入麻酔下で、T-CNT7 のサンプリング材料への汚染を防ぐため局所の被毛を除去して開胸し、腋窩動脈の切断により放血して安楽死させてから肺及び縦隔を摘出した。その肺は、10%ホルムアルデヒド・リン酸緩衝液で浸漬したサンプルを日本バイオアッ

セイ研究センター（JBRC）に持ち帰り、組織負荷量の測定のために保管した。

B-6-2：T-TiO₂

B-6-2-1：測定試料

図 1 に本研究の実験デザインを示した。Taquann 処理された酸化チタンを吸入曝露したマウスの構成を対照群（0 mg/m³）と投与群（30 mg/m³）とし、各 3 検体の曝露直後、1、4、8 週目（合計 24 検体）とした。曝露は 1 日に 2 時間（10:00～12:00）週に 1 日の曝露を 5 週間繰り返し、各群 2 時間 × 5 回の計 10 時間の吸入曝露を行った。5 回（計 10 時間）の曝露を終了した日を day 0（0W）とし、0W の午後 2:00～6:00 に初回の解剖、その後、1 週、4 週、8 週に各群 3 匹ずつをイソフルランによる吸入麻酔下で、酸化チタンのサンプリング材料への汚染を防ぐため局所の被毛を除去して開胸し、腋窩動脈の切断により放血して安楽死させてから肺及び縦隔を摘出した。その肺及び縦隔は、冷凍保存したサンプルを日本バイオアッセイ研究センター（JBRC）に持ち帰り、組織負荷量の測定のために保管した。

B-7：試料の調製

B-7-1：T-CNT7

10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に 1 か月以上浸透した試料の肺及び縦隔を 2 mL の組織溶解液（B-5-1-1）で 60 °C で 24 時間かけて溶解した。なお、気相部分は窒素ガスで置換した。溶解した組織溶液は 60 秒間超音波分散した。その溶液中の T-CNT7 の量が検量線の範囲に入るように Tw-sol で希釈し、60 秒間超音波分散した。

B-8：試料の前処理と HPLC による測定

B-8-1：T-CNT7

図 2 に T-CNT7 の前処理について示した。B-5-1-3 及び B-7 項で調製した各溶液 1 mL は 12000 rpm で 10 分間遠心分離する。その上澄み液を除去し、TW-mixture を 1 mL 加え、12000 rpm で 10 分間遠心分離した。その上澄み液を除去し、それぞれに濃塩酸 0.2mL を加えタッチミ

キサーで 10 秒間攪拌し、12000 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄み液を除去し濃硫酸 0.2mL を加え、残渣を分解し、タッチミキサーで 10 秒間攪拌した。その後、12.4 項で調製したマーカール溶液 1 mL をそれぞれに添加し、10 秒間超音波分散し、振とう機で 15 分間攪拌させた後、0.4 μm のフィルター（ワットマン：GE Healthcare UK Ltd）でろ過したフィルター上の T-CNT7 をポンチ（8 mm）でくり抜き、PP 試験管に入れ、アセトニトリル 1 mL を加え、タッチミキサーで 10 秒間攪拌・抽出し、その溶液を HPLC で測定した。

B-8-2：T-TiO₂

100mL 容のガラス容器で冷凍保存した試料の肺及び縦隔は、蒸留水、濃硫酸、硝酸を 3：3：1 の比率で加え攪拌し、270 °C に加熱したホットプレート上で 90 分間加熱した。加熱終了後、室温になるまで放置し、3 %硫酸水を加えメスアップし、希釈原液とした。その後、その希釈原液に 3 %硫酸水で希釈し、原子吸光度計により測定した。

B-9：肺内及び縦隔の T-CNT7 の沈着量の計算方

B-9-1：T-CNT7

T-CNT7 の検量線で設定された濃度と面積値から、最小自乗法により検量線の傾きと切片より直線回帰式を求めた。肺及び縦隔の HPLC で測定した面積値を直線回帰式に代入し、T-CNT7 の測定値を求め、希釈倍率を乗じることにより、T-CNT7 の肺個体当りの沈着量（単位：μg）と、それらの 3 匹当りの平均値及び標準偏差を求めた。また、各肺及び縦隔の重量で除することにより g 当りの値（単位：μg/g）とそれらの平均値及び標準偏差を求めた。

B-9-2：T-TiO₂

チタンの検量線で設定された濃度と面積値から、最小自乗法により検量線の傾きと切片より直線回帰式を求めた。肺及び縦隔の原子吸光で測定した吸光度値を直線回帰式に代入し、チタンの測定値を求めた。酸化チタン中のチタンの含有率は 60%であることから、原子吸光で測定したチタン量から換算して酸化チタン量として計算した。こ

の値に希釈倍率を乗じることにより、酸化チタンの個体当りの沈着量（単位： μg ）と、それらの3匹当りの平均値及び標準偏差を求めた。また、各肺及び縦隔の重量で除することにより肺及び縦隔のg当りの値（単位： $\mu\text{g/g}$ ）とそれらの平均値及び標準偏差を求めた。

C. 研究結果及び考察

C-1: T-CNT7の検量線

Taquann処理されたT-CNT7の濃度とマーカの面積値は、相関係数0.9938であり、T-CNT7を測定するために、良好な直線性を示した。これらのことから、T-CNT7は0.2～1.0 $\mu\text{g/mL}$ の範囲内で、正確な定量が可能であることが示された。

C-2: T-TiO₂の検量線

Taquann処理されたT-TiO₂の濃度と吸光度は、相関係数0.9978であり、T-TiO₂を測定するために、良好な直線性を示した。これらのことから、T-TiO₂は0.025～0.4 $\mu\text{g/mL}$ の範囲内で、正確な定量が可能であることが示された。

C-3: マウス肺内のT-CNT7の肺及び縦隔の負荷量

表2及び図3に、Taquann処理されたT-CNT7を吸入曝露したマウス肺内のT-CNT7の肺及び縦隔の負荷量の結果を示した。その結果、3 mg/m^3 曝露のマウスの肺当りの肺負荷量は、曝露直後では $29.04 \pm 6.16 \mu\text{g/g}$ 、1週目では $21.33 \pm 2.01 \mu\text{g/g}$ 、4週目では $13.68 \pm 1.62 \mu\text{g/g}$ 、8週目では $9.15 \pm 2.17 \mu\text{g/g}$ で減衰傾向が認められ、曝露直後に比較して8週後の負荷量は約1/3の減衰傾向であった。なお、3 mg/m^3 曝露のマウスの縦隔及び0 mg/m^3 曝露のマウスの肺及び縦隔の組織負荷量は認められなかった。以上のことから、Taquann法にて分散処理を施したT-CNT7を全身吸入装置により曝露後、1、4および8週後における肺内のT-CNT7の負荷量の時間に伴う曝露後の推移は、本測定法による沈着量は減衰の傾向を示した。

C-4: マウス肺内のT-TiO₂の肺及び縦隔の負荷量

表3及び図4に、Taquann処理されたT-TiO₂を吸入曝露したマウス肺内のT-TiO₂の肺及び縦隔の負荷量の結果を示した。その結果、30 mg/m^3 曝露のマウスの肺当りの肺負荷量は、曝露直後では $150.11 \pm 9.05 \mu\text{g/g}$ 、1週目では $112.47 \pm 13.94 \mu\text{g/g}$ 、4週目では $63.05 \pm 7.21 \mu\text{g/g}$ 、8週目では $25.85 \pm 11.36 \mu\text{g/g}$ であり、曝露直後に比較して8週後の負荷量は約1/6の減衰傾向が認められた。なお、30 mg/m^3 曝露のマウスの縦隔及び0 mg/m^3 曝露のマウスの肺及び縦隔の組織負荷量は認められなかった。以上のことから、Taquann法にて分散処理を施したT-CNT7を全身吸入装置により曝露後、1、4および8週後における肺内のT-CNT7の負荷量の時間に伴う曝露後の推移は、本測定法による沈着量は減衰の傾向を示した。

D. 結論

Taquann法にて分散処理を施したT-CNT7の全身吸入曝露により、肺内のT-CNT7をBgPマーカーを用いて測定した結果、曝露直後、1、4および8週後における肺当りのT-CNT7の負荷量は、3 mg/m^3 曝露において $29.04 \pm 6.16 \mu\text{g/g}$ 、 $21.33 \pm 2.01 \mu\text{g/g}$ 、 $13.68 \pm 1.62 \mu\text{g/g}$ 及び8週目では $9.15 \pm 2.17 \mu\text{g/g}$ であり、曝露直後に比較して8週後の負荷量は約1/3の減衰傾向であった。また、Taquann法にて分散処理を施したT-TiO₂の全身吸入曝露により、肺内のT-TiO₂を原子吸光法を用いて測定した結果、曝露直後、1、4および8週後における肺当りのT-TiO₂の負荷量は、30 mg/m^3 曝露において $150.11 \pm 9.05 \mu\text{g/g}$ 、 $112.47 \pm 13.94 \mu\text{g/g}$ 、 $63.05 \pm 7.21 \mu\text{g/g}$ 及び8週目では $25.85 \pm 11.36 \mu\text{g/g}$ であり、曝露直後に比較して8週後の負荷量は約1/6の減衰傾向であり、T-CNTに比較してT-TiO₂の減少傾向は大きかった。なお、T-CNT7及びT-TiO₂の縦隔における負荷量は認められなかった。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Fukushima S, Kasai T, Umeda Y, Ohnishi M, Sasaki T, Matsumoto M. Carcinogenicity of multi-walled carbon nanotubes: challenging issue on hazard assessment. Journal of Occupational Health, 60:10-30, 2018

Ohnishi M, Suzuki M, Yamamoto M, Kasai T, Kano H, Senoh H, Higashikubo I, Araki A, Fukushima S. Improved method for measurement of multi-walled carbon nanotubes in rat lung. J. Occup. Med. Toxicol. 11:44 2016.

Kasai T, Umeda Y, Ohnishi M, Mine T, Kondo H, Takeuchi T, Matsumoto M, Fukushima S. Particle and Fibre Toxicology 13:53 2016.

2. 学会発表

大西 誠、笠井辰也、東久保一朗、荒木明宏、福島昭治
新開発の粉塵発生装置(N-SHOT Cyclone)による多
種類の多層カーボンナノチューブのエアロゾルの
観察及びマーカー法による微量定量の検討
第 89 回日本産業衛生学会学術年会(2016.5.27)

大西 誠、笠井辰也、山本正弘、鈴木正明、平井繁
行、福島昭治
N-SHOT Cyclone によるナノ酸化チタンの浮遊係
数の提案

第 43 回日本毒性学会学術年会(2016.7.1)

大西 誠、三角恭兵、笠井辰也、山本正弘、鈴木正
明、佐々木俊明、浅倉真澄、平井繁行、福島昭治、
菅野純

N-SHOT Cyclone による多層カーボンナノチュー
ブの浮遊係数の比較

第 44 回日本毒性学会学術年会(2017.7)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特許出願；独立行政法人労働者健康安全機構、大
西 誠、笠井辰也、鈴木正明: 粒子状物質の浮遊特
性測定方法及び浮遊特性測定装置 特許第
6362669 号 特許登録日：平成 30 年 7 月 6 日

2. 実用新案登録

3. その他

なし

表 1 検量線溶液の調製

試料名	C5採取量 (mL)	Tw-sol添加量 (mL)	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
溶液C1	0.1	0.9	0.2
溶液C2	0.2	0.8	0.4
溶液C3	0.4	0.6	0.8
溶液C4	0.6	0.4	1.2
溶液C5	0.8	0.2	1.6

図 1 実験デザイン

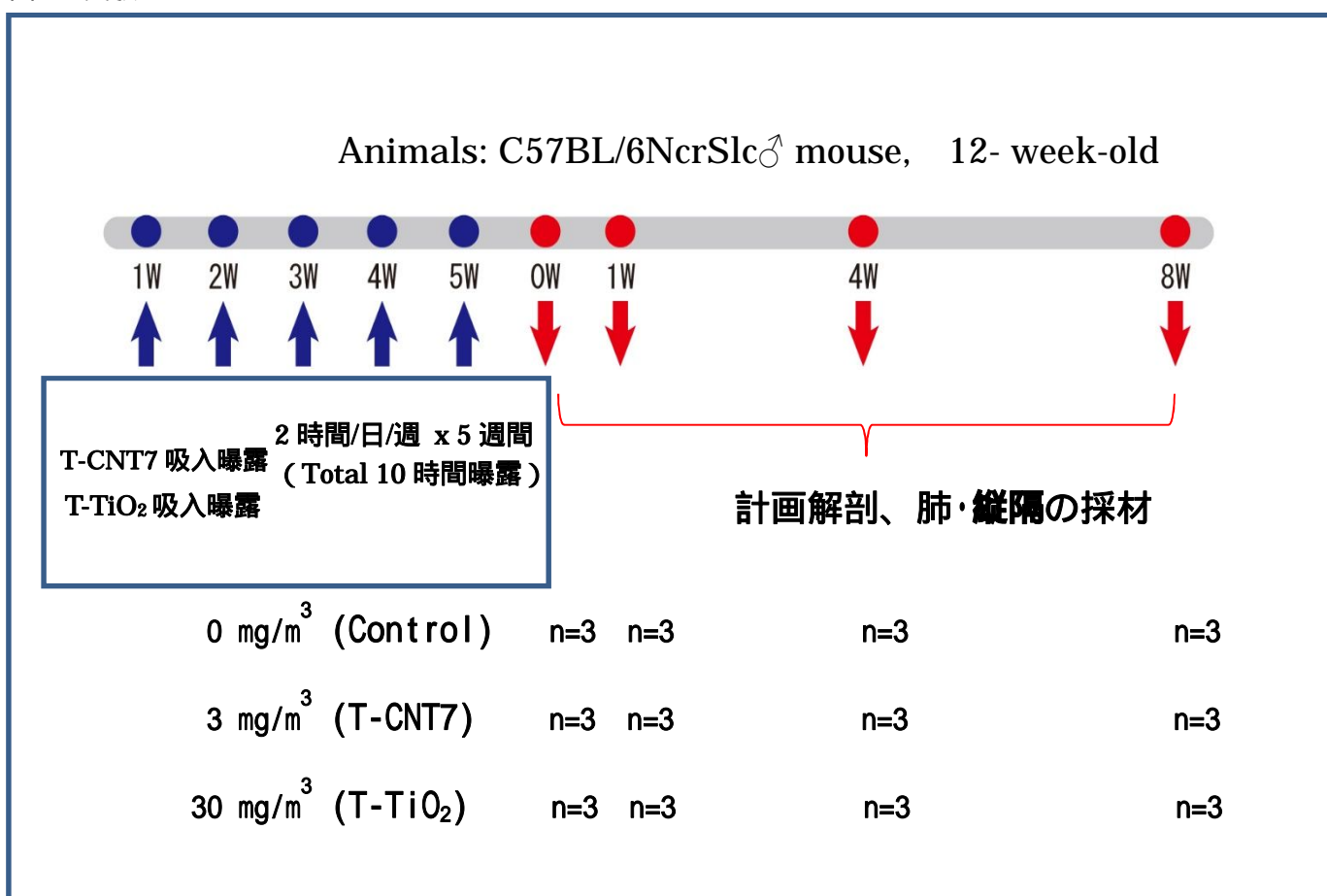


図 2 T-CNT7 の前処理

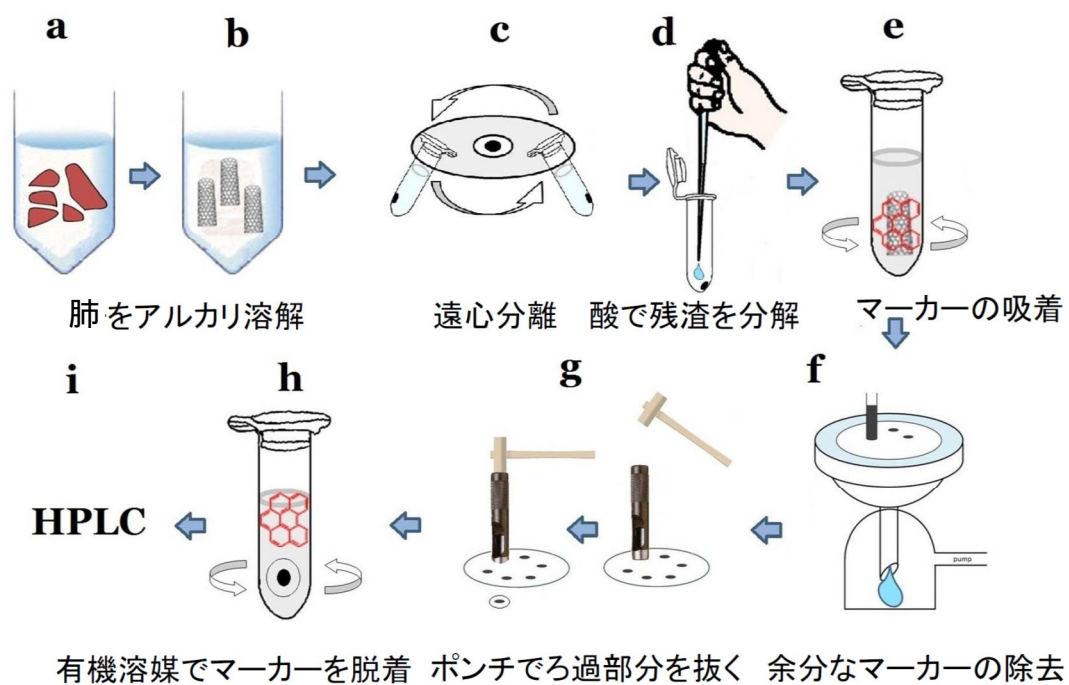


表 2 T-CNT7 の沈着量の分析結果

曝露濃度と曝露後期間	T-CNT7 絶対量(μg)	SD(μg)	T-CNT7 組織当り(μg/g)	SD(μg/g)
肺 0 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 0 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 0 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 0 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 3 mg/m ³ -0 週	3.98	0.67	29.04	6.16
肺 3 mg/m ³ -1 週	3.04	0.25	21.33	2.01
肺 3 mg/m ³ -4 週	2.12	0.18	13.68	1.62
肺 3 mg/m ³ -8 週	1.38	0.36	9.15	2.17
縦隔 0 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 3 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 3 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 3 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 3 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00

図 3 肺内 T-CNT7 の沈着量の分析結果

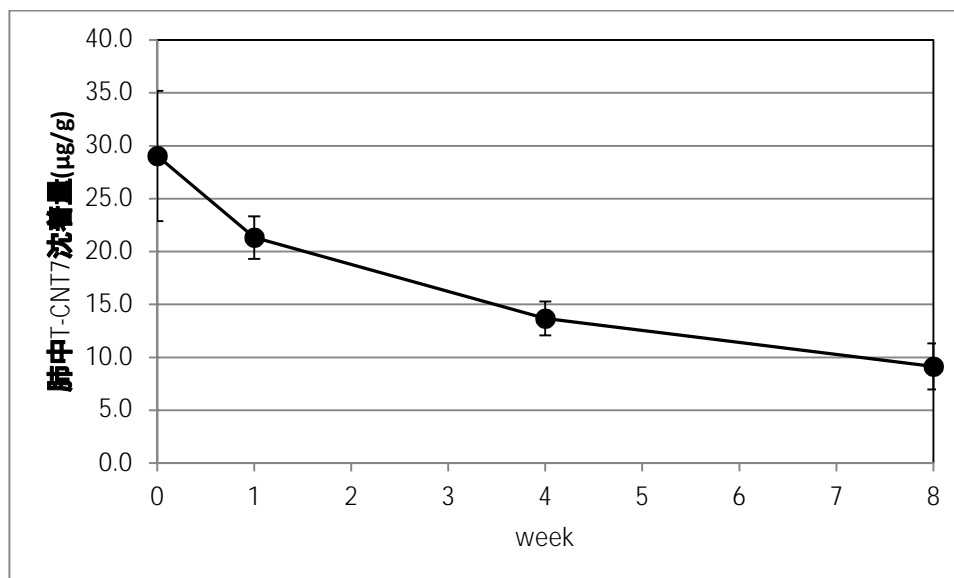


表 3 T-TiO₂の沈着量の分析結果

曝露濃度と曝露後期間	T-TiO ₂ 絶対量(μg)	SD(μg)	T-TiO ₂ 組織当り(μg/g)	SD(μg/g)
肺 0 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 0 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 0 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 0 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00
肺 30 mg/m ³ -0 週	18.61	1.58	150.11	9.05
肺 30 mg/m ³ -1 週	14.11	1.62	112.47	13.94
肺 30 mg/m ³ -4 週	8.13	0.89	63.05	7.21
肺 30 mg/m ³ -8 週	3.48	1.82	25.85	11.36
縦隔 0 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 30 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 30 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 30 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 30 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00

図 4 肺内 T-TiO₂の沈着量の分析結果

