

令和元年度 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-

分担研究課題名: ナノマテリアルの組織負荷量の測定

研究分担者 大西 誠 独立行政法人労働者健康安全機構
日本バイオアッセイ研究センター
試験管理部技術専門役

研究要旨

本分担研究は、肺胞マクロファージの貪食・蓄積様式が異なると予想されたモデルナノマテリアルをマウスに吸入曝露して曝露後の休薬期間における肺内沈着量の推移を調べることで、肺負荷量とクリアランスにモデルナノマテリアルによる違いを調べることを目的とした。年次計画の最終年度にあたる令和元年度は「モデルナノマテリアル」にマクロファージの胞体内で毛玉状に凝集して蓄積されると想定された多層カーボンナノチューブの MWCNT-N を高分散化処理した T-CNTN を検体とした吸入曝露実験を研究班で実施した(分担 高橋)。吸入曝露は 0.0、0.6、1.3、mg/m³ 曝露群の 3 群構成で、マウスに週 1 回、午前中に 2 時間の曝露を 5 週間繰り返す間歇曝露とした。曝露終了日、1、4 および 8 週間における肺の検体沈着量を測定して、休薬期間における肺負荷量の経時的な推移を調べた。その結果、0.6mg/m³ 群 1.3mg/m³ 群とも休薬後 8 週後の肺負荷量は曝露直後の約 1/3 に減衰し、半減期は約 3.5 週間であり、マクロファージによる肺からのクリアランスの阻害を起こさない負荷状態であったことが示された。

また、令和元年度は平成 30 年度に実施した TiO₂ (T-TiO₂) と MWNT-7 (T-CNT7) の測定結果と併せて、3 つのタイプのモデルナノマテリアルによる肺負荷量の推移について比較解析を行った。その結果、実施した吸入曝露条件下で、肺での検体負荷量の推移は、いずれのモデルナノマテリアルも半減期が約 3.5 週間であり、各吸入曝露実験はマクロファージによる肺からのクリアランスが阻害が起きない曝露条件で実施されたことが示された。また 3 つのタイプのモデルナノマテリアル全体としてみると、曝露終了後 8W の休薬後には曝露終了時の負荷量のおおよそ 30% ~ 15% の検体が肺内に残存していることが示された。残存率は MWNT-7 が最も多く、肺からクリアランスされにくい状態で肺内に存在していることが示唆された。TiO₂ は MWCNT (MWNT-7、MWCNT-N) と比べてクリアランスされ易いが、曝露終了時の負荷量の約 1/6 が肺内に残存していることが示された。

A. 研究目的

ヒトにおける主要な曝露経路となる吸入曝露で、高効率な有害性評価手法の基盤となる情報の整備を目的とした吸入曝露実験を、研究班として平成 29 年度から令和元年度の三ヵ年の研究期間で実施した。本分担研究は、その中で肺負荷量の解析を担当、令和元年度は多層カーボンナノチューブのひとつ MWCNT-N を検体として吸入曝露実験を実施、検体の肺内沈着量を経時的に調べ、平成 30 年度に実施した TiO₂(T-TiO₂)と MWNT-7(T-CNT7)の解析結果と併せて、3 つのタイプのモデルナノマテリアルによる呼吸器への影響について肺負荷量の観点から比較解析をおこなうことを目的とした。また、吸入曝露によって肺に入ったナノマテリアルのクリアランスを考える時、その移行先と想定される縦隔での検体の沈着量を調べることで、縦隔への移行状況を把握することも目的に加えた。

B. 研究方法

令和元年度は MWCNT-N を検体とした吸入曝露実験(分担 高橋)の肺を材料として MWCNT-N (T-CNTN)の肺内沈着量を測定、肺負荷量のデータを収集した(図 1 A)。また、併せて採取した縦隔を材料として縦隔での沈着量を測定した。

解析に用いた検体は吸入曝露実験(分担 高橋)で採取したものをホルマリン固定して解析に供試するまで室温で保存した。

準備

)組織溶解液の調製

80 ℃に加熱した超純水 140mL に 10g の KOH を加え、その溶液に 1%SDS 水溶液を 20mL と 1%EDTA2Na 20mL を加えた。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 ℃で加熱することにより溶解状態として組織溶解液を調製した。

)MWCNT-N の原液を調整

MWCNT-N 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 回繰り返す、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)(MWCNT-N 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。

) 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-1: 検量線

MWCNT 検量線溶液(C1~C5)の調製

肺と縦隔組織中の MWCNT の沈着量を測定する前日に、検量線を得る為に必要な MWCNT の 5 段階希釈液の検量線溶液(C1~C5)を以下、 の手順で調整した(表 1、図 3)。

検量線溶液 C5 の調製

準備-)で調製した MWCNT 原液 0.4 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 C5:2 µg/mL)

検量線溶液 (C1~C4)の調製

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 C1~C4 を作成した。C1~C5 を検量線溶液とした。

B-2: 肺および縦隔の検体沈着量の測定

以下 ~ の手順で測定した。

肺と縦隔のサンプルの採取と溶液調整

図 1-A に国立医薬品食品衛生研究所毒性部・高橋室長の分担研究で実施した吸入曝露実験のデザインを示した。吸入曝露実験は Taquann 処理によって原体 (MWCNT-N) を分散した T-CNTN を検体とし、群構成を対照群 (0 mg/m^3) と 0.6 、 1.3 mg/m^3 の 3 群構成とした。曝露は 1 日に 2 時間 ($10:00 \sim 12:00$)、週に 1 日の曝露を 5 週間繰り返す計 10 時間 ($2 \text{ 時間} \times 5 \text{ 回}$) の吸入曝露を行った。5 回の曝露を終了した日 (day 0) の午後 $2:00 \sim 6:00$ 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腋窩動脈の切断により放血して安楽死させてから肺と縦隔を摘出した。肺と縦隔は、10%ホルムアルデヒド・リン酸緩衝液で浸漬して所属施設 (日本バイオアッセイ研究センター) に持ち帰り、測定まで室温で保管した。

なお、解剖時の採材では MWCNT-N 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から開胸するなど、検体のコンタミンに細心の注意を払った。

10% 中性リン酸緩衝ホルマリン液に 1 か月以上浸透して十分固定した肺と縦隔は 2 mL の組織溶解液 (準備-) で 24 時間 60 に保って溶解した。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 MWCNT-N 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。

HPLC (high performance liquid chromatography) による MWCNT-N (T-CNTN) の測定

図 2 に肺および縦隔組織中の T-CNTN 測定手順の前処理を示した。

準備-) で調製した各溶液 1 mL を 12000 rpm で 10 分間遠心分離、その上澄み液を除去した沈渣に TW-mixture 1 mL を添加して 12000 rpm で 10 分間遠心分離した。その上澄み液を除去した沈渣に濃硫酸 0.2 mL を加えタッチミキサーで 10 秒間攪拌し、12000 rpm で 10 分間遠心分離した。上澄み液を除去した沈

渣に濃硫酸 0.2 mL を加えて沈渣に含まれる T-CNTN 以外の肺組織を分解し、タッチミキサーで 10 秒間攪拌した。その後、準備-) で調製したマーカー溶液 1 mL を添加し、10 秒間超音波分散し、振とう機で 15 分間攪拌させた後、 $0.4 \mu\text{m}$ 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 MWCNT をポンチ ($8 \text{ mm}\phi$) 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、その溶液中の T-CNTN を HPLC で測定した。

HPLC の測定条件を次に示した。

HPLC: ウォーターズ Acquity UPLC

カラム: Acquity BEH C18 (ウォーターズ)

カラム粒径、長さ \times 内径: $1.7 \mu\text{m}$ 、 $100 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}\phi$

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: $5 \mu\text{L}$

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

肺内及び縦隔の T-CNTN の沈着量の計算

T-CNTN 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-CNTN の測定値を求め、希釈倍率を乗じることにより、T-CNTN の肺個体当りの沈着量 (単位: μg) と、3 匹当りの平均値及び標準偏差を求めた。また、肺または縦隔の重量で除することにより g 当りの沈着量 (単位: $\mu\text{g/g}$) と平均値及び標準偏差を求めた。

(附) 使用機器と試薬

・高速液体クロマトグラフ (HPLC)

メーカー: ウォーターズ

形式: Acquity UPLC

- ・電子天秤
メーカー：(株)メトラー・トレード
形式：AE163
- ・振とう機
メーカー：サーマル化学産業株式会社
形式：TS-100
- ・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
- ・超音波分散機
メーカー：タイテック株式会社
形式：VP-30S
- ・アセトニトリル
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
試薬グレード：HPLC 用
- ・メタノール
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
試薬グレード：HPLC 用
- ・Benzo[ghi]perylene(BgP)
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
試薬グレード：試薬特級
- ・TWEEN 80
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
- ・水酸化カリウム
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
試薬グレード：試薬特級
- ・ドデシル硫酸ナトリウム
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
試薬グレード：試薬特級
- ・EDTA 2Na
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
試薬グレード：試薬特級
- ・アスコルビン酸ナトリウム
メーカー：富士フィルム和光純薬株式会社
試薬グレード：試薬特級

C. 研究結果及び考察

C-1: 検量線

Taquann 処理された T-CNTN の検量線を図 3 に示した。T-CNTN の濃度とマーカの面積値は、相関

係数 0.9965 であり、T-CNTN 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-CNTN は 0.4 ~ 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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: 肺および縦隔の負荷量

表 2 と図 4 に Taquann 処理された T-CNTN を吸入曝露したマウス肺と縦隔の T-CNTN の負荷量を示した。1.3 mg/m^3 曝露のマウスの肺 1g 当りの肺負荷量は、曝露直後では 14.38 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、1 週目では 10.96 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、4 週目では 5.73 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、8 週目では 3.77 $\mu\text{g}/\text{g}$ で曝露直後から曝露後 8 週に向かう減衰傾向が認められ、8 週後の負荷量は曝露直後の約 1/3 の減衰が示された(表 3)。半減期は曝露終了後約 3.5 週であった(図 4)。

0.6 mg/m^3 曝露群のマウスの肺 1g 当りの肺負荷量は、曝露直後では 8.84 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、1 週目では 5.51 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、4 週目では 2.69 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、8 週目では 2.41 $\mu\text{g}/\text{g}$ で曝露直後から曝露後 8 週に向かう減衰傾向が認められ、8 週後の負荷量は曝露直後の約 1/3 の減衰が示された(表 3)。半減期は曝露終了後約 3.5 週であった(図 4)。

なお、1.3 mg/m^3 と 0.6 mg/m^3 曝露群の縦隔と対照群(キャリアーエア吸入)の肺と縦隔に T-CNTN は検出されなかった。

令和元年度物質の MWCNT-N(T-CNTN)と平成 30 年度物質の TiO_2 (T-TiO₂)と MWNT-7(T-CNT7)の解析結果と併せて、3 つのタイプのモデルナノマテリアルによる呼吸器への生体影響について肺負荷量の観点から比較解析結果を以下に示した。

研究班で実施した吸入曝露の条件下での検体の肺負荷量は、いずれのモデルナノマテリアルも半減期が約 3.5 週間であり、各吸入曝露実験はマクロファージによる肺からのクリアランスの阻害を起こさない負荷状態であったことが示された(図 4)。また、曝露終了後 8W の休薬期間を置いた時点での曝露終了直後(0W)に対する検体の残存率は MWNT-7: 32%; MWCNT-N: 27%; TiO_2 : 17% で、曝露終了時の負荷量のおおよそ 30% ~ 15% の検体が肺内に残存していることが示された(表 3)。残存率は MWNT-7 が

最も多く、肺からクリアランスされにくい状態で肺内に存在していることが示唆された。TiO₂は残存率でみるとMWCNT(MWNT-7、MWCNT-N)と比べてクリアランスされ易く、暴露終了時の負荷量の1/6程度が肺内に残存していた。一方、肺1g当たりの検体沈着量はTiO₂(30 mg^β)、MWNT-7(3 mg^β)、MWCNT-N(1.3 mg^β)の各群でそれぞれ25.85、9.15、3.77 μgで、暴露濃度がMWNT-7(3 mg^β)群より10倍高いTiO₂(30 mg^β)群の沈着量が最も多く、MWNT-7群の2.8倍であった。

各モデルナノ材料とも対照群の肺と縦隔、曝露群の縦隔に検体の沈着は検出されなかった。

D. 結論

TiO₂、MWNT-7、MWCNT-Nをマウスに計10時間の間歇吸入曝露をおこない、曝露後8週までの休薬期間に定期的に肺と縦隔を採材して検体の肺負荷量の推移を比較解析した。

その結果、いずれの吸入曝露実験もマクロファージによる肺からのクリアランスの阻害が起きない曝露が実施されたことが示された。

また3つのタイプのモデルナノ材料全体としてみると、曝露終了後8Wの休薬後には曝露終了時の負荷量のおおよそ30%～15%の検体が肺内に残存していることが示された。残存率はMWNT-7が最も多く、肺からクリアランスされにくい状態で肺内に存在していることが示唆された。TiO₂はMWCNT(MWNT-7、MWCNT-N)と比べてクリアランスされ易いが、暴露終了時の負荷量の約1/6が肺内に残存していることが示された。暴露濃度がMWNT-7(3 mg^β)群より10倍高いTiO₂(30 mg^β)群の沈着量が最も多く、MWNT-7群の2.8倍であった。いずれの検体でも縦隔における沈着は検出できなかった。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

なし

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

大西誠、後藤裕子、笠井辰也、山本正弘、鈴木正明、武田知起、東久保一郎、菅野純：フィルター捕集したカーボンブラックのHPLCを用いた微量定量法の開発、第92回日本産業衛生学会、2019年5月(名古屋)

加納浩和、笠井辰也、齋藤新、平井繁行、鈴木正明、梅田ゆみ、妹尾英樹、大西誠、竹内哲也、三角恭兵、福島昭治、菅野純：メタクリル酸ブチルのラット及びマウスへの吸入ばく露による発がん性及び慢性毒性、第92回日本産業衛生学会2019年5月(名古屋)

大西誠、東久保一郎、後藤裕子、川本俊弘、菅野純：HPLCを用いたカーボンブラック粉塵の微量定量法の開発、第59回日本労働衛生工学会、2019年11月(福島県郡山市)

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

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

なし

3. その他

なし

表 1 検量線溶液を調製するための溶液調製量

令和元年度物質：T-CNTN			
試料名	C5採取量 (mL)	Tw-sol添加量 (mL)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
溶液C1	0.1	0.9	0.4
溶液C2	0.2	0.8	0.8
溶液C3	0.4	0.6	1.2
溶液C4	0.6	0.4	1.6
溶液C5	0.8	0.2	2.0

表 2 肺内沈着量の分析結果

A 令和元年度物質：T-CNTN

曝露濃度 曝露後期間	MWCNT-N 肺当たり量(μg)		MWCNT-N 1g 当たり重量($\mu\text{g/g}$)	
		SD		SD
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 0.6 mg/m^3 -0 週	1.36	0.36	8.84	2.23
肺 0.6 mg/m^3 -1 週	0.88	0.38	5.51	2.19
肺 0.6 mg/m^3 -4 週	0.44	0.15	2.69	0.94
肺 0.6 mg/m^3 -8 週	0.37	0.15	2.41	0.89
肺 1.3 mg/m^3 -0 週	2.29	0.50	14.38	3.36
肺 1.3 mg/m^3 -1 週	1.82	0.15	10.96	1.27
肺 1.3 mg/m^3 -4 週	0.87	0.35	5.73	2.27
肺 1.3 mg/m^3 -8 週	0.64	0.18	3.77	1.01

曝露濃度 曝露後期間	MWCNT-N 縦隔当たり量(μg)		MWCNT-N 1g 当たり重量($\mu\text{g/g}$)	
		SD		SD
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 0.6 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0.6 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0.6 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 0.6 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 1.3 mg/m ³ -0 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 1.3 mg/m ³ -1 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 1.3 mg/m ³ -4 週	0.00	0.00	0.00	0.00
縦隔 1.3 mg/m ³ -8 週	0.00	0.00	0.00	0.00

B 平成30年度物質：T-TiO₂

曝露濃度 曝露後期間	T-TiO ₂		T-TiO ₂	
	肺当たり量(μg)	SD	1g 当たり重量(μg/g)	SD
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

曝露濃度 曝露後期間	T-TiO ₂		T-TiO ₂	
	縦隔当たり量(μg)	SD	1g 当たり重量(μg/g)	SD
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

C 平成30年度物質：T-CNT7 (#53)

曝露濃度 曝露後期間	T-CNT7		T-CNT7	
	肺当たり量(μg)	SD	1g 当たり重量(μg/g)	SD
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

)

曝露濃度 曝露後期間	T-CNT7		T-CNT7	
	縦隔当たり量(μg)	SD	1g 当たり重量(μg/g)	SD
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

表 3 曝露終了後 8 週における肺内の検体沈着量

検体名 (曝露量)	肺内沈着量 ($\mu\text{g}/\text{肺 } 1\text{g}$)		8W 残存率 ($8\text{W}/0\text{W}\times 100$)	実施年度
	0W	8W		
T-TiO ₂ ($30\text{mg}/\text{m}^3$ 、2 時間 x10 回)	150.11	25.85	32%	平成 30
T-CNT7 ($3\text{mg}/\text{m}^3$ 、2 時間 x10 回)	29.04	9.15	17%	平成 30
T-CNTN ($0.6\text{mg}/\text{m}^3$ 、2 時間 x10 回)	8.84	2.41	27%	令和 1
T-CNTN ($1.3\text{mg}/\text{m}^3$ 、2 時間 x10 回)	14.38	3.77	27%	令和 1

T-CNT7(平成 29 年度実施)は 0W の値が異常と判断、データ不採用

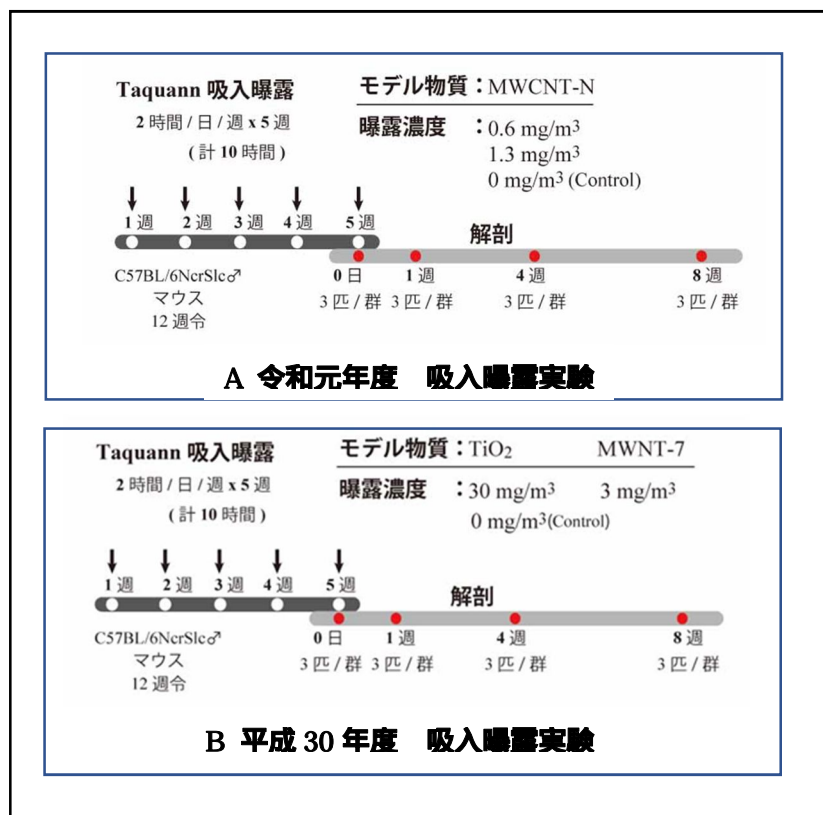


図1 実験デザイン

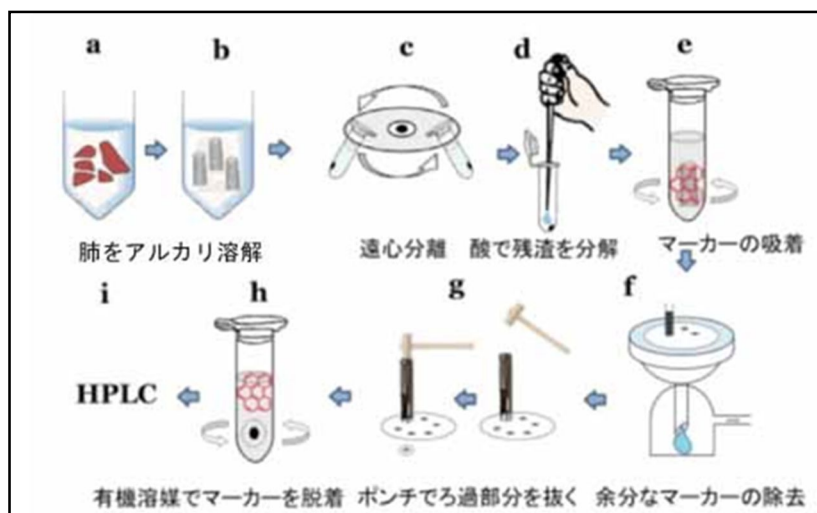


図2 組織中のMWCNT測定手順(前処理)

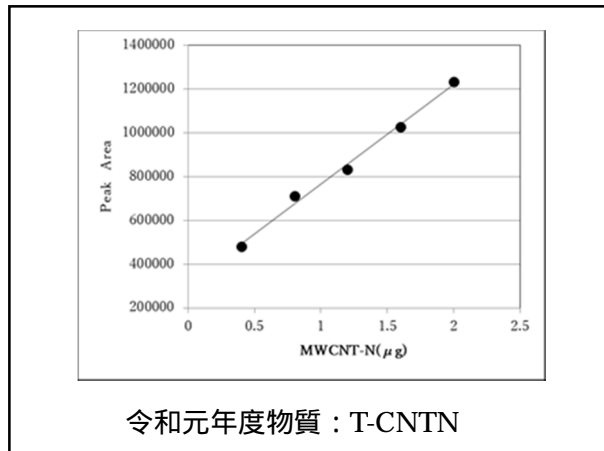


図 3 検量線

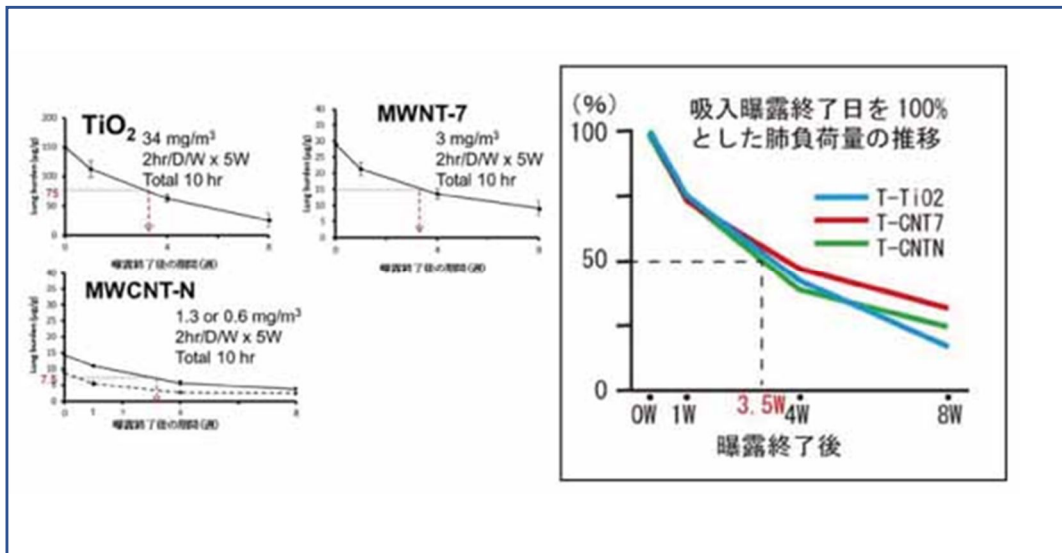


図 4 平成 30～令和元年度物質
TiO₂ (T-TiO₂)、MWNT-7 (T-CNT7#53)、MWCNT-N (T-CNTN)
の肺負荷量の経時的推移