

厚生労働科学研究費補助金研究報告書
化学物質リスク研究事業

**カーボンナノチューブ等の肺、胸腔及び全身臓器
における有害性並びに発癌リスクの
新規高効率評価手法の開発**

平成 28 年度 ～ 30 年度
総合研究報告書

研究代表者 津田 洋幸

令和元年（2019年）5月

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

カーボンナノチューブ等の肺、胸腔及び全身臓器における有害性
並びに発癌リスクの新規高効率評価手法の開発
(H28-化学-一般-004)

平成 28 年度～30 年度 総合研究報告書

研究代表者 津田 洋幸

令和元年(2019年)5月

目 次

| | |
|--|----|
| ．総合研究報告書 | 1 |
| カーボンナノチューブ等の肺、胸腔及び全身臓器における 有害性並びに発癌リスクの新規高効率評価手法の開発 津田 洋幸、内木 綾、菅野 純、山村 寿男、伴野 勸 | 3 |
| ．研究成果の刊行に関する一覧表 | 16 |
| ．研究成果の刊行物・別冊 | 22 |

平成28-30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)

・総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

研究課題名：カーボンナノチューブ等の肺、胸腔及び全身臓器における有害性並びに発癌リスクの
新規高効率評価手法の開発

研究代表者：津田 洋幸 名古屋市立大学津田特任教授研究室 特任教授

研究要旨

カーボンナノチューブ（CNT）は生体内で分解されないため肺・胸膜等に沈着して異物炎症を誘発する。またCNTは製品によって形状・物性が異なるためにこの製品についての安全性の評価が必要である。このような繊維の有害作用/発がん性評価には長期吸入曝露試験が要求されているが、高額な専用設備と稼働経費が要求されるために現状で全ての上市製品についての実施は不可能である。我々はラットにおいて、気管内投与法にて多層CNTの一つであるMWCNT-Nに肺腫瘍と胸膜悪性中皮腫を発生させることを世界で初めて報告した（次いで、日本バイオアッセイ研究センターにて吸入曝露試験にてMWCNT-7に肺に発がん性のあることが報告された）。本研究では、ラットを用いて開発してきた長期吸入曝露試験に代替し得る短期の経気管肺内噴霧投与（Trans-tracheal Intra-pulmonary Spraying・TIPS）法について、多種のMWCNTの評価における妥当性を明らかにするために、物性の異なる2種のMWCNT（MWCNT-A、-B）、フラーレン（FL）、フラーレンウィスカー（FLW）、既知の発がん物質のMWCNT-N、MWCNT-7を陽性対照として用い、さらに検体凝集体の形成を最小化するためにTaquann分散法を採用した。検体は先ず、MWCNT-A（直径150nm、210-215層、針状凝集体を作る）とMWCNT-B（直径15nm、15-18層、綿菓子状凝集体を作る）を用いた。またMWCNT-7（吸入曝露にて肺腫瘍のみ発生）について超音波分散後にTIPS法投与して発がん臓器（肺と胸膜中皮）について検討した。

①の短期試験において肺と胸膜炎の程度ではMWCNT-Bの方がやや多かった。②の長期試験では肺胞上皮の過形成、腺腫、腺がんの合計発生がMWCNT-Aは14/40（ $p < 0.05$ ）、MWCNT-Bで27/40（ $p < 0.001$ ）、crosicolite（7/20）（ $p < 0.05$ ）であった。悪性中皮腫はなかった。すなわち、肺炎の程度は層数と相関はなく、むしろ肺胞腫瘍発生と相関した。以上から、②の2週TIPS投与-2年無処置観察モデルは、2年吸入曝露法に比べ圧倒的に低コストであり、MWCNTの有害・発がんリスク評価の加速化が可能となる。発がん性において、MWCNT-7、MWCNT-Nに新たにMWCNT-AとMWCNT-B加えることになった（論文投稿中）。Taquann分散法をしないでMWCNT-7のTIPS投与では、ほとんどの（95%）ラットに104週以前に悪性中皮腫が発生して斃死した。また、FL、FLW、MWCNT-N、-7では肺では白色結節性病変が観察され、発生頻度はそれぞれ無処置群（1/20）、対照群（0/17）、FL0.25群（1/19）、FL0.5群（1/19）、FLW0.25群（3/20匹）、FLW0.5群（1/18匹）、MWCNT-7 0.25群（3/20）、MWCNT-7 0.5群（8/20）、MWCNT-N 0.25群（2/20）、MWCNT-N 0.5群（7/20）でありMWCNT-7、Nの高用量群で対照群と比較して有意な発生頻度の増加を認めた。MWCNT-A、-Bによる炎症にはMの浸出とインフラマソーム形成を伴うパイロトーシス壊死であることが示唆された。発がん機序として、肺組織中で増加したラジカルはアルデヒド基やケトン基を持つことから、DNAに容易に付加反応するために、突然変異を誘導し、発がんにつながることを示唆されてきた。発生した4-HNEに代表される種々のReactive Carbonyl species（RCs）ラジカルは直接的なDNA傷害の他に、がん細胞が増殖しやすい環境作りにも関与している

可能性が示された。

以上から、①のラットへ短期 TIPS 投与における肺、気管、胸腔、胸腔洗浄液等の炎症/毒性の増殖病変の把握が可能である。②の2週 TIPS 投与-2年無処置観察モデルは、吸入曝露法に比べ急性毒性、亜急性毒性および慢性毒性(発がん性)評価においての圧倒的に低コストであり、リスク評価の加速化に充分貢献できる。さらに MWCNT-7 は気管内投与で悪性中皮腫を発生させることを明らかにした。発がん機序として、MWCNT の長期残存による M の浸出による炎症性サイトカイン産生と炎症の場における種々の RCs 発生による DNA 傷害が関与する可能性が示された

研究分担者

菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所
客員研究員・日本バイオアッセイ研
究センター 所長

内木 綾 名古屋市立大学大学院医学研究科
実験病態病理学分野 講師

山村 寿男 名古屋市立大学大学院薬学研究科
細胞分子薬効解析学分野 教授

伴野 勸 愛知医科大学・医学部感染・免疫学
講座・助教

毒性部 室長

神藤 秀基 名古屋市立大学薬学部薬学研究科
細胞分子薬効解析学分野博士前期
課程

鈴木 良明 名古屋市立大学大学院薬学研究科
細胞分子薬効解析学分野 講師

今泉 祐治 名古屋市立大学大学院薬学研究科
特任教授

研究協力者

徐 結苟 名古屋市立大学特任教授・安徽省医
科大学免疫学教室教授

David B. Alexander 名古屋市立大学特任教授

沼野 琢旬 名古屋市立大学津田特任教授研究
室研究員

飯郷 正明 名古屋市立大学大学院医学研究科
研究員

William T. Alexander 名古屋市立大学津田特任教
授研究室 研究員

Mohamed Ahmed Mahmoud Abdelgied 名古屋
市立大学大学院医学研究科院生

Ahmed Maher Mahmoud Elgazzar 名古屋市立大
学大学院医学研究科研究員

Dina Mohammed Saleh 名古屋市立大学大学院
医学研究科博士課程

大西 誠 日本バイオアッセイ研究セン
ター試験管理部分析技術専門
役

高橋 祐次 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター

A. 研究目的

カーボンナノチューブ(CNT)は難分解性で肺・胸膜等で異物炎症を誘発する。またCNTは製品によって形状・物性が異なるため個々の製品についての安全性評価が必要である。このような繊維の有害作用/発がん性評価には長期吸入曝露試験が用いられてきているが、高額な専用設備と稼働費が必要であるために試験の実施は極めて限られている。我々は、ラットにおいて簡便な気管内投与法を用いて多層CNT(MWCNT)MWCNT-Nは肺と胸膜中皮に発がん性のあることを世界で初めて報告し、次いで日本バイオアッセイ研究センターによって吸入曝露試験にてMWCNT-7にも肺に発がん性のあることが明らかにされた。本研究では、ラットを用いて短期(2週間)経気管肺内噴霧投与(Trans-tracheal Intra-pulmonary Spraying・TIPS)法を開発して吸入曝露試験に代替し得る低コスト、簡便な急性・亜慢性・慢性毒性、発がん性の評価法を開発を実施した。この目的で、MWCNT-A(針状、直径150nm、210-215層)とMWCNT-B(綿菓子状、直径15nm、15-18層)、FL分子(FL)FLウィスカー(FLW)①気管・肺・胸膜中皮への急性障害作用と②持続する慢性炎症と発がん性について、陽性コントロールとしてMWCNT-7(40層)、MWCNT-N(40-60

層)を用いて明らかにすることを目的とした(津田・内木)。さらに、これらの物質の投与における分散性の改良(菅野)、肺障害と発がん機序について肺内の炎症反応に関与する肺胞マクロファージ(AM)に着目し、MWCNTが肺で炎症反応を誘導する機構の解明を目(山村)、並びに酸化ストレスによって生成・増加する活性カルボニル化合物(Reactive Carbonyl species: RCs)やそのDNA付加体の網羅的解析を行った。また、MWCNTs肺内投与によって増加したRCsの生理活性を調べることを目的に炎症性サイトカイン産生能についても調べた(伴野)。

B. 研究方法

1) ラットを用いて短期の経気管肺内噴霧投与(Trans-tracheal Intra-pulmonary Spraying・TIPS)法を用いてMWCNTの急性・亜慢性・慢性毒性、発がん性の評価法の開発を行った。この目的で、12週齢F344雄性ラットを用いて①気管・肺・胸膜中皮への障害作用と②発がん性について、Taquann法による分散処理を行ったMWCNT-AとMWCNT-Bをそれぞれ0.5及び1.0mg/ラットに投与した。またまたMWCNT-7について超音波分散(Taquann分散法を用いない)後にTIPS法にて投与して、発がん臓器(肺と胸膜中皮)について検討した(津田)。

12週齢雄性F344ラットに、FW、FLW、MWCNT-7、MWCNT-Nをそれぞれ31.25、62.5µg/0.5ml/ラットの用量で(合計投与量0.25および0.5mg/ラット)気管内投与した。対照群として、無処置および媒体投与(対照)群を設ける。①3週間目と②104週間目にイソフルラン深麻酔下に大動脈より採血屠殺(3週目は無処置群、対照群およびFL、FLW、MWCNT-7、MWCNT-Nの高用量群から各群5匹、104週目は各群20匹)した。検体はすべてTaquann法による分散処理を行った。短期剖検における肺・胸膜の病理組織学的変化、酸化ストレスおよび網羅的な遺伝子発現変化を解析した。最終的な2年間試験では、肺、胸膜の発がん性について検証するとともに、全身臓器の毒性変化を検討した(内木)。

上記の②長期試験においてはMWCNTの肺内残量の定量には大西法を用いた(菅野)

2) 気道クリアランス測定: 蛍光シリカビーズをPBS(-)溶液に懸濁し、ラット気管内に噴霧した

後に気管と肺を摘出した。摘出した器官の洗浄液から蛍光ビーズを回収し、蛍光強度を測定した。2) AMの単離法: 雄性ラットから気管および肺を摘出した。気管からカニューレを挿入してPBS(-)を注入し、回収して肺胞洗浄液を得た。肺胞洗浄液を遠心した後、上清を除いてAMを得た。3) 細胞障害アッセイ: 細胞生存率の測定には、MTT法を用いた。乳酸脱水素酵素(LDH)アッセイには、Cytotoxic LDH Assay Kit-WSTを用いた。4) アポトーシスアッセイ: Caspase-Glo 3/7 AssayとAnnexin V:FITC Assay Kitを用いた。5) インフラマソームアッセイ: IL-1βの測定には、Rat IL-1β/IL-1F2 Quantikine ELISA Kit、IL-1αの測定にはRat IL-1α/IL-1F1 Quantikine ELISA Kitを用いた。5) インフラマソームアッセイ: IL-1βの測定には、Rat IL-1β/IL-1F2 Quantikine ELISA Kit、IL-1αの測定にはRat IL-1α/IL-1F1 Quantikine ELISA Kitを用いた(山村)。

3) 10週齢の雄性F344ラットに、形状(壁層数)の異なる3種のMWCNT(MWCNT-L、MWCNT-S、MWCNT-7)を2日に1回、14日間(計8回)TIPS投与した。14日後、解剖し、肺組織を採取した。採取した肺組織のうち20mgを取り、RCsを含む脂溶性画分およびDNAを抽出した。脂溶性画分はRCsと特異的に反応するdansyl hydrazine(DH)で誘導体化した。次に抽出したDNAを酵素的にヌクレオシドに加水分解した。得られたRCs-DH誘導体、DNA加水分解物をUHPLC/Triple TOF/MSにて解析した。また、MWCNTs肺内投与で増加が確認されたReactive Carbonyl species(RCs)をマウスマクロファージ様細胞であるRAW264.7に肺組織で確認された濃度で曝露し、IL-6、IL-12p40、TNF-α、COX-2、iNOSなど炎症関連遺伝子群のmRNA発現量をReal Time qPCRで調べた。また、cis-4-decenalに関しては、NF-κB luciferase assayを行った(伴野)。

倫理面への配慮

本研究における倫理面への配慮については、「動物の保護及び管理に関する法律(昭和48年10月1日、法律第105)」並びに「実験動物の飼育及び保管等に関する基準(昭和53年3月27日、総理府告示第6号)」を遵守するとともに、名古屋市立大

学及び各施設の動物実験倫理委員会またはそれに相当する組織の審査を経た上で研究を実施した。

C. 研究結果

1) MWCNT-A と MWCNT-B では、① 3 週の短期試験において肺炎症の程度と誘導されたサイトカイン種数は MWCNT-B の方がやや多かった。② 104 週の長期試験では MWCNT-A と MWCNT-B では肺胞上皮における肺胞上皮過形成、腺腫、腺がんの合計発生が MWCNT-A は 14/40 ($p < 0.05$)、MWCNT-B で 27/40 ($p < 0.001$)、CRO (7/20) ($p < 0.05$) であった。悪性中皮腫はなかった(論文投稿中)、MECNT-7 の TIPS 投与ではほとんど(95%)のラットに 104 週以前に悪性中皮腫の発生にて斃死した(津田)。

FLW、MWCNT-7、MWCNT-N において、① 投与終了 3 週目の剖検時、肺好中球浸潤の誘導、有意な肺重量および肺胞マクロファージの増加を認めたが、肺の ROS 蓄積量は、FLW (38.4 ± 3.1 O.D.), MWCNT-7 (74.2 ± 0.4 O.D., $P < 0.001$)、MWCNT-N (60.7 ± 3.8 O.D., $P < 0.001$) 群で、MWCNT 群において、対照群 (25.2 ± 2.1 O.D.) と比較して有意に上昇した。対照群、FL、MWCNT-7 および N 群の肺組織から抽出した RNA によりマイクロアレイおよび qRT-PCR を行った結果、前年度に MWCNT-7、N 群で対象群と比較して、有意に発現上昇することを報告した *Ccl2* を含め、*Ccl9*, *Cstk*, *Serpin2*, *ApoE* や *Igf1* が MWCNT-7、N 群のみで有意な発現上昇を示す遺伝子として同定された。② 104 週の剖検時では、体重、臓器重量(肺、肝、腎、脾、脳)については、MWCNT-NO.25 群の全体肺重量、相対肺重量 (1.74 ± 0.39 g, $P < 0.05$ 、 $0.40 \pm 0.08\%$, $P < 0.05$) が、対照群 (1.35 ± 0.38 g, $0.31 \pm 0.08\%$) と比較して有意に高値であった。その他には有意な変化は認めなかった。剖検時の肉眼所見では、胸郭の胸膜に明らかな腫瘍性変化は見られなかった。一方、肺では白色結節性病変が観察され、発生頻度はそれぞれ無処置群 (1/20)、対照群 (0/17)、FL0.25 群 (1/19)、FL0.5 群 (1/19)、FLW0.25 群 (3/20 匹)、FLW0.5 群 (1/18 匹)、MWCNT-70.25 群 (3/20)、MWCNT-70.5 群 (8/20)、MWCNT-NO.25 群 (2/20)、MWCNT-NO.5 群 (7/20) であり MWCNT-7、N の高用量群で対照群と比較し

て有意な発生頻度の上昇を認めた(論文執筆中)(内木)。

MWCNT を事例対象とし、Benzo[ghi]perylene をマーカーとして定量する方法(大西法)の DWCNT への適用条件を構築し、TIPS 投与された肺検体の測定を実施した。肺負荷量測定の結果、DWCNT 群のラット肺当りの肺負荷量は、低用量の投与 2 週間後では $64.4 \square \text{g/g}$ 、6 週間後では $65.4 \square \text{g/g}$ 、中用量の投与 2 週間後では $137.0 \square \text{g/g}$ 、6 週間後では $108.6 \square \text{g/g}$ 、高用量の投与 2 週間後では $248.8 \square \text{g/g}$ 、6 週間後では $173.1 \square \text{g/g}$ であった。MWCNT 群のラット肺当りの肺負荷量は、投与 2 週間後では $284.8 \square \text{g/g}$ 、6 週間後では $398.5 \square \text{g/g}$ であった。マーカー法はカーボンナノチューブの表面に存在するグラフェン構造面に対して選択性のある結合を示す低分子吸着マーカーを用いた MWCNT の極微量定量法であるが、カーボンナノチューブ一般に適用できる可能性が見いだされ、ほぼ実用に供することが可能と考える(菅野)。

2) MWCNT-A と MWCNT-B について TIPDS 投与後の気道クリアランスについて蛍光ビーズを用いて気道クリアランスを測定した。投与直後に気管内に取り込まれたビーズの蛍光強度は同程度だった。2 h 後には、蛍光ビーズの 80%以上が排泄され、MWCNT 群の気管クリアランスも溶媒群と同程度だった。一方、投与直後に肺内に取り込まれたビーズの蛍光強度は MWCNT 群で約 50%低下していた。さらに、MWCNT 曝露による細胞障害：MTT アッセイと LDH アッセイの結果、MWCNT 曝露により AM に細胞障害が生じることが明らかとなった。また、MWCNT-L の方が MWCNT-S よりも早期に AM への細胞障害が現れた。AM におけるアポトーシス解析では Caspase-3/7 測定と Annexin V/PI 染色の結果、MWCNT 曝露による AM の細胞死機構は、アポトーシスではないことが推測された。AM におけるインフラマソーム解析：パイロトーシスに關与するインフラマソームが制御する IL-1 β 分泌を ELISA 法で測定した結果、MWCNT 曝露による AM の細胞死機構は、インフラマソーム形成を伴うパイロトーシスであることが示唆された(山村)。

3) MWCNT-A と MWCNT-B TIPS 投与による肺組織中 RCs および DNA 付加体の網羅的解析において、その DNA 付加体の網羅的解析を行った。その結果、MWCNTs 投与群と対照群を比較すると MWCNT-A では

75 peaks、MWCNT-Bでは129 peaks、MWCNT-7では69 peaksが高値を示していた。対照群と比較して高値を示したRCsには細胞傷害性が報告されている formaldehyde や glyoxal、4-hydroxy-nonenal (4-HNE)、4-hydroxy-hexenal (4-HHE) が含まれていた。さらに肺組織中のDNA付加体量を測定すると、HNE-dGやHNE-dC付加体が対照群ではほとんどの個体で検出限界に近いピーク強度であったが、MWCNTs曝露群では高値を示し、特にMWCNT-L、MWCNT-7で対照群と比較して約100倍のピーク強度を示した。その他にもMWCNTs曝露群において対照群ではみられない未知のDNA付加体が検出された。さらに、RCsによる炎症性サイトカイン産生において、マウスマクロファージ様細胞RAW264.7に4-HHEを曝露した結果、炎症関連遺伝子である対照群と比較してIL-6は4.7倍、iNOSは13.8倍、IL-12p40は36.9倍に増加していた。*cis*-4-decenalに関しては、IL-6やTNF- α 、COX-2、iNOSの発現の増加は確認できなかったが、IL-12p40やIL-12p35、IL-23p19の発現はそれぞれ曝露濃度依存的に増加していた。また、これまでにCOX-2の発現増加などが報告されている4-HNEでは、IL-6が2.7倍、iNOSが1.4倍、COX-2が2.4倍の発現増加が確認されたが、IL-12p40に関しては、発現増加は認められなかった(伴野)。

D. 考察

1) MWCNT-Bについて、3週の短期試験において肺炎症の程度と誘導されたサイトカイン種数はMWCNT-Bの方がやや多かったことと、肺胞上皮過形成、腺腫、腺がんの合計発生がMWCNT-Bに多かったことと相関する。このことは、肺胞における炎症の程度は形状が「壁が薄く綿菓子状で柔らか(そうである)」ことと想定した発がん標的とは一致しなかった。今後、さらに多種のMWCNTとくに壁の薄いMWCNTについて検証を進める必要がある。

2) MWCNT-A、MWCNT-Bのいずれにも悪性中皮腫は発生しなかったことについての理由は明らかにできなかった。今後の研究に委ねたい。

3) MWCNT-7では95%の動物に悪性中皮腫の発生を見た。この結果は、同じMWCNT-7について日本バイオアッセイ研究センターで実施された吸入

曝露の結果(肺腫瘍のみ)とは全く異なる。TIPS法では悪性中皮腫が早期より発生し死亡してしまったために、肺腫瘍の発生時期まで生存しなかったことがその一因と考えられる。またCROはこれらのMWCNTと比べて、肺と胸膜中皮に対する発がん性はMWCNTより遥かに弱い。このことは他の実験でも明らかになりつつある。

4) MWCNTの検出法として、本研究で開発したマーカー法はカーボンナノチューブの表面に存在するグラフェン構造面に対して選択性のある結合を示す低分子吸着マーカーを用いたMWCNTの極微量定量法であるが、カーボンナノチューブ一般に適用できる可能性が見いだされた。MWCNTは難分解性で組織障害は継続するのでその残量の定量は障害の程度と比例する可能性がある。今後各種のMWCNTでの検証によってさらに明らかになる。

5) MWCNT吸入曝露群の気管クリアランスはあまり変化しなかったため、気管クリアランスが主に咳嗽により行われ、上皮細胞による排泄輸送は補助的であると考えられる。また、MWCNTの曝露によるAMの細胞死機構はアポトーシスではなく、インフラマソーム形成を伴うパイロトーシスであることが示唆された。さらに、MWCNT-Lの方が、MWCNT-Sよりも人体への毒性が高いことが分かった。他の形状を有するMWCNTの細胞障害についても解析することで、細胞障害が最も抑えられ、安全性が高い形状を解明できると考えられる。

6) MWCNTs肺内投与ラットの肺組織において、MWCNTsを貪食して活性化した肺胞マクロファージが活性酸素を過剰に産生することで脂質過酸化分解物であるRCs量が増加したと考えられた。また、RCsは化学構造にアルデヒド基やケトン基などDNAのアミノ基に容易に付加反応することが知られている。その特徴からDNA付加体量が増加したと考えられた。4-HHEや*cis*-4-decenalの曝露によってmRNA発現が増加していたIL-12p40はタンパク質としてはIL-12p35やIL-23p19とヘテロダイマーを形成し、IL-12やIL-23として働くことが知られている。特にIL-23は、発がんの促進および増殖を促す環境づくりに関与することが分かっている。これらのことから、MWCNTsの曝露によって生じるRCsはDNA傷害のみならず、発がんや進行に関与することが示唆された。

7) TIPS投与では一定量の検体を抹消肺胞腔ま

で確実に送達できる。実際に、気管内投与の優位性について、吸入曝露法と較べて、a) 投与用量が明確なので、リスク評価に適している。b) 発がん性の検出感度が高い。c) 格段に安価、という利点が明記されている (Mohr Ulrich, Heinrich Ernst, Markus Roller, Friedrich Pott, Exp Toxicol Pathol, 2006)。また実際の曝露経路を考えるとラット・マウスではMWCNT等の固形物は複雑な構造の鼻腔を通過するときにトラップされるので、必ずしも人に近似するルートではない。ヒトはげっ歯類と異なって口から直接肺に吸気が入る場合が多々あるので(タバコ等)、気管内投与が人工的であるとは言い切れない。その意味で、TIPS投与にはリスク評価を行う上で妥当性がある。

8) MWCNTに対するMの動態に注目した解析では、肺胞上皮細胞と胸膜中皮の増殖の機序の解明手段として有効であり、早期病変の検出につながると考える。WHO/IARC発がん性モノグラフでは、発がん機序が動物とヒトで共通して作動するという知見によって、62物質のうち5物質はG2A(おそらくヒト発がん物質)からG1(ヒト発がん物質)への再評価になった。こうした意味でも本法によるM活性の解析を重視した発がん機序解析手法は有用である。

E. 結論

提案の主題である①のラットへ短期TIPS投与における肺、気管、胸腔、胸腔洗浄液等の炎症/毒性の増殖病変の把握が可能である。②の2週TIPS投与後2年無処置観察モデルは、吸入曝露法に比べ急性毒性、亜急性毒性および慢性毒性(発がん性)評価においての圧倒的に低コストであり、リスク評価の加速化に充分貢献できるとなる。事実、発がん性において、新たにMWCNT-AとMWCNT-BおよびMWCNT-7の胸膜中皮に対する発がん性を加えることになった。FLおよびFLWの肺・胸膜毒性について検討した。短期剖検では、FLWは、陽性対照であるカーボンナノチューブと一部異なる肺、胸膜毒性を示し、最終剖検の肉眼所見では明らかな腫瘍性病変の増加を認めなかったことから、FLは、肺癌や中皮腫のリスク増加に関与しない可能

性が示唆された。また、MWCNTでは短期試験の結果からも長期発がん性を予測できる可能性が示唆され、気管内投与による短期肺・胸膜発がん検出系に応用できることが期待された。カーボンナノチューブの表面に存在するグラフェン構造面に対して選択性のある結合を示す低分子吸着マーカーを用いたMWCNTの極微量定量法であるが、カーボンナノチューブ一般に適用できる可能性が見いだされた(菅野)。本研究により、MWCNT曝露におけるAMの細胞死機構は、アポトーシスではなくパイロトーシスであることが示唆された。肺内に吸入されたMWCNTは、AMに貪食され、AMにパイロトーシスを誘導する。パイロトーシスを起こしたAMからは、IL-1 β などが放出され、さらなる炎症反応を引き起こす。したがって、肺において慢性的な炎症が起き、活性酸素種によるDNA障害や中皮細胞の増殖亢進を引き起こすことで、中皮腫が発生することが考えられる。MWCNTs曝露によって生成・増加した4-HNEはこれまでがん抑制遺伝子p53のcodon 249のdG残基に優先的に付加することで突然変異を誘導することが知られている。MWCNT曝露による発がん機構として、4-HNEに代表される種々のRCsによるDNA傷害や炎症性サイトカイン産生亢進によって発がんを誘導する可能性が示唆された(伴野)。以上から、①のラットへ短期TIPS投与における肺、気管、胸腔、胸腔洗浄液等の炎症/毒性の増殖病変の把握が可能である。②の2週TIPS投与→2年無処置観察モデルは、吸入曝露法に比べ急性毒性、亜急性毒性および慢性毒性(発がん性)評価においての圧倒的に低コストであり、リスク評価の加速化に充分貢献できる。発がん機序として、MWCNTの長期残存による慢性異物炎症によって4-HNEに代表される種々のReactive carbonyl species(RCs)によるDNA傷害や炎症性サイトカイン産生亢進によって発がんを誘導する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

現状として人に対するMWCNTの曝露は観察されていない。

G 研究発表

1. 論文発表

- 1) Liao D., Wang Q., Alexander D., Abdelgied M., Elgazzar AM., Futakuchi M., Suzui M., Kannno J., Hirose A., Xu J., Tsuda H. Persistent Pleural Lesions and Inflammation by Pulmonary Exposure of Multiwalled Carbon Nanotubes, *Chem. Res. Toxicol.*, 15;31(10):1025-1031. 2018.
- 2) Elgazzar AM., Abdelgied M., Alexander D., Alexaander W., Numano T., Iigo M., Naiki A., Takahashi S., Takase H., Hirose A., Kanno J., Elokke OM., Nasem AM., Tsuda H. Comparative pulmonary toxicity of a DWCNT and MWCNT-7 in rats, *Arch. Toxicol.*, 93: 43-59, 2019
- 3) Abdelgied M., Elgazzar AM., Alexander D., Alexaander W., Numano T., Iigo M., Naiki-Ito A., Takase H., Abdou KB., Hirose A., Taquahashi Y., Kanno J., Tsuda H. Potassium octatitanate fibers induce persistent lung and pleural injury and are possibly carcinogenic in male Fischer 344 rats, *Cancer Sci.*, 109(7):2164-2177. 2018
- 4) Abdelgied M., Elgazzar AM., Alexander D., Alexander W., Numano T., Iigo M., Naiki-Ito A., Takase H., Abdou KB., Hirose A., Taquahashi Y., Kanno J., Abdelhamid M., Tsuda H., Takahashi S. Pulmonary and pleural toxicity of potassium octatitanate fibers, rutile titanium dioxide nanoparticles, and MWCNT-7 in male Fischer 344 rats, *Arch. Toxicol.*, 93(4): 909-920, 2019
- 5) Magaki M, Ishii H, Yamasaki A, Kitai Y, Kametani S, Nakai R, Alexander DB, Tsuda H, Ohnishi T A high-fat diet increases the incidence of mammary cancer in c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats, *J Toxicol Pathol* 2017; 30: 145–152
- 6) Alexander D., Iigo M., Abdelgied M., Ozeki K., Tanida S., Joh T., Takahashi S., Tsuda H. Bovine lactoferrin and Crohn's disease: a case study, *Biochemistry and Cell Biology*, 95(1): 133-141, 2017.
- 7) 津田洋幸 カーボンナノチューブの肺と胸膜中皮に対する毒性と発がん性の簡易評価法, *医学のあゆみ*, vol.259 No. 3, 223-227, 2016
- 8) Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Numano T, Abd Elgied M, Takahashi S, Ohnishi M, Omori T, Tsuruoka S, Hirose A, Kanno J, Sakamoto Y, Alexander DB, Xu J, Tsuda H. Multiwalled carbon nanotubes intratracheally instilled into the rat lung induce development of pleural malignant mesothelioma and lung tumors. *Cancer Sci*, 107(7):359-367, 2016.
- 9) Suzuki S, Toyoda T, Kato H, Naiki-Ito A., Yamashita Y, Akagi J, Cho Y.M, Ogawa K, Takahashi S. Dimethylarsinic acid may promote prostate carcinogenesis in rats. *J Toxicol Pathol*, 32:73-77, 2019.
- 10) Etani T, Naiki T, Naiki-Ito A, Suzuki T, Iida K, Nozaki S, Kato H, Nagayasu Y, Suzuki S, Kawai N, Yasui T, Takahashi S. NCL1, A Highly Selective Lysine-Specific Demethylase 1 Inhibitor, Suppresses Castration-Resistant Prostate Cancer Growth via Regulation of Apoptosis and Autophagy. *J Clin Med*. 8, pii: E442, 2019
- 11) Mapoung S, Suzuki S, Fuji S, Naiki-Ito A, Kato H, Yodkeeree S, Ovatlarnporn C, Takahashi S, Limtrakul Dejkriengkraikul P.

- Cyclohexanone curcumin analogs inhibit progression of castration-resistant prostate cancer in vitro and in vivo. *Cancer Sci.* 110:596-607, 2019
- 12) Suzuki S, Kato H, Fuji S, Naiki T, Naiki-Ito A, Yamashita Y, Takahashi S. Early detection of prostate carcinogens by immunohistochemistry of HMGB2. *J Toxicol Sci.* 43:359-367, 2018.
 - 13) Naiki T, Naiki-Ito A (Corresponding Author), Iida K, Etani T, Kato H, Suzuki S, Yamashita Y, Kawai N, Yasui T, Takahashi S. GPX2 promotes development of bladder cancer with squamous cell differentiation through the control of apoptosis. *Oncotarget.* 9:15847-15859, 2018.
 - 14) Ito Y, Naiki-Ito A (Cofirst Author), Kato H, Suzuki S, Kuno T, Ishiguro Y, Takahashi S, Uemura H. Chemopreventive effects of angiotensin II receptor type 2 agonist on prostate carcinogenesis by the down-regulation of the androgen receptor. *Oncotarget.* 9:13859-13869, 2018.
 - 15) Suzuki S, Cohen SM, Arnold LL, Kato H, Fuji S, Pennington KL, Nagayasu Y, Naiki-Ito A, Yamashita Y, Takahashi S. Orally administered nicotine effects on rat urinary bladder proliferation and carcinogenesis. *Toxicology.* 398-399:31-40. 2018
 - 16) Kato A, Naiki-Ito A (Cofirst Author), Naitoh I, Hayashi K, Nakazawa T, Shimizu S, Nishi Y, Okumura F, Tadahisa I, Takada H, Kondo H, Yoshida M, Takahashi S, Joh T. The absence of class III β -tubulin is predictive of a favorable response to nab-paclitaxel and gemcitabine in patients with unresectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 74:92-98. 2018
 - 17) Fuji S, Suzuki S, Naiki-Ito A, Kato H, Hayakawa M, Yamashita Y, Kuno T, Takahashi S. The NADPH Oxidase Inhibitor Apocynin Suppresses Preneoplastic Liver Foci of Rats. *Toxicol Pathol.* 45:544-550, 2017.
 - 18) Suzuki S, Mori Y, Nagano A, Naiki-Ito A, Kato H, Nagayasu Y, Kobayashi M, Kuno T, Takahashi S. Pioglitazone, a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Agonist, Suppresses Rat Prostate Carcinogenesis. *Int J Mol Sci.* 17:pii: E2071, 2016
 - 19) Kuno T, Nagano A, Mori Y, Kato H, Nagayasu Y, Naiki-Ito A, Suzuki S, Mori H, Takahashi S. Preventive effects of fermented brown rice and rice bran against prostate carcinogenesis in TRAP rats. *Nutrients.* 8:421, 2016.
 - 20) Sato S, Katsushima K, Shinjo K, Hatanaka A, Ohka F, Suzuki S, Naiki-Ito A, Soga N, Takahashi S, Kondo Y. Histone deacetylase inhibition in prostate cancer triggers miR-320-mediated suppression of the androgen receptor. *Cancer Res.* 76:4192-4204, 2016
 - 21) Naiki-Ito A, Kato H, Sato S, Suzuki S, Yamashita Y, Kuno T, Takahashi S. Dysfunction of gap-junctional intercellular communication promotes hepatocarcinogenesis. *現代医学*, 64:103-108, 2016
 - 22) Otsuka K, Yamada K, Taquahashi Y, Arakaki R, Ushio A, Saito M, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Kanno J, Ishimaru N. Long-term polarization of alveolar macrophages to a profibrotic phenotype after inhalation exposure to multi-wall carbon nanotubes. *PLoS One.* 2018 Oct 29;13(10):e0205702.
 - 23) Take M, Takeuchi T, Hirai S, Takanobu K, Matsumoto M, Fukushima S, Kanno J.,

Distribution of 1,2-dichloropropane in blood and other tissues of rats after oral administration. J Toxicol Sci. 2017;42(2):121-128

- 24) 菅野 純、ナノマテリアル毒性のとらえ方とその難しさ、医学のあゆみ、259 巻 3 号、217-222、2016
- 25) 高橋祐次、高分散型小型全身曝露吸入システムによるマウス吸入毒性-ヒトの現実的な曝露シナリオに基づいたナノマテリアルの吸入毒性評価の迅速化と効率化に向けて-、医学のあゆみ、259 巻 3 号、234-240、2016

2. 学会発表

- 1) 津田洋幸, 徐結苟, Alexander WT., Alexander DB., Abdelgied M., Elgazzar A., 沼野琢旬, 広瀬昭彦, 菅野純 ナノマテリアルの気管支内投与による毒性と発がん性の簡易検出システムの開発 第 4 5 回日本毒性学会学術年会 大阪 2018 年 7 月
- 2) 津田洋幸, 徐結苟, Alexander WT., Alexander DB., Abdelgied M., Elgazzar A., 沼野琢旬, 広瀬昭彦, 菅野純 ナノマテリアル特にカーボンナノチューブによる肺・胸膜中皮障害と発がん性の経気管肺内噴霧投与 (TIPS) 試験法の開発 第 4 5 回日本毒性学会学術年会 大阪 2018 年 7 月
- 3) Abdelgied M., Elgazzar AM., Alexander D., Alexander W., Numano T., Iigo M., Naiki-Ito A., Abdelhamed M., Takase H., Hirose A., Taquahashi Y., Kanno J., Takahashi S., Tsuda H. Potassium octatitanate fibers are possibly carcinogenic in male Fisher 344 rats. 54th congress of the European societies of toxicology (EUROTOX2018) Brussels, Belgium, Sept. 2018
- 4) 津田洋幸、徐結苟、William Alexander, David Alexander, Mohamed Abdelgied, Ahmed Elgazzar, 沼野琢旬、酒々井真澄、二口充、深町勝美、広瀬昭彦、菅野純 気管内噴霧投与法による各種のMWCNTの毒性と発がん性試験結果の比較, 第 44 回日本毒性学会学術年会、7 月 10-12 日、横浜
- 5) Mohamed Abdelgied, Ahmed Elgazzar, David Alexander, William Alexander, Takamasa Numano, Satoru Takahashi, Hirotsugu Takase, Akihiro Hirose, Yuhji Taquahashi, Jun Kanno, Hiroyuki Tsuda Potassium octatitanate($K_2O \cdot 8TiO_2$) fiber is a potent inducer of lung and pleural injury – A comparative study to titanium dioxide nano particles. 第 44 回日本毒性学会学術年会、7 月 10-12 日、横浜
- 6) Ahmed M. El-Gazzar¹, Mohamed Abdelgied, David B. Alexander, William T. Alexander, Takamasa Numano, Masaaki Iigo, Aya Naiki, Hirotsugu Takase, Akihiko Hirose, Yuhji Taquahashi, Jun Kannno, Satoru Takahashi, Ashraf Mohamed Nazem, Osama Saeid Elokke and Hiroyuki Tsuda Comparative Pulmonary toxicity of DWCNT and MWCNT-7 in Rats 第 34 回日本毒性病理学会総会、1 月 25-26 日、沖縄
- 7) Mohamed Abdelgied, Ahmed M. El-Gazzar, David B. Alexander, William T. Alexander, Takamasa Numano, Masaaki Iigo, Aya Naiki, Hirotsugu Takase, Khaled Abbas Abdou, Akihiko Hirose, Yuhji Taquahashi, Jun Kannno, Satoru Takahashi and Hiroyuki Tsuda Potassium octatitanate fiber ($K_2O \cdot 8TiO_2$) fiber is a potent inducer of lung and pleural injury in male Fischer 344 rats: A comparative study of titanium dioxide nano particles 第 34 回日本毒性病理学会総会、1 月 25-26 日、沖縄
- 8) 津田洋幸、徐結苟、William Alexander, David Alexander, Mohamed AbdelGied, 沼

- 野琢旬、酒々井真澄、二口充、深町勝美、広瀬昭彦、菅野純 機序に基づくナノマテリアルの発がん性評価法の開発, 第 43 回日本毒性学会学術年会、6 月 29 日、名古屋
- 9) Tsuda H, Xu J, Alexander DB, Alexander WT, Mohamed Abd El-gied, Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Numano T, Takahashi S, Ohnishi M, Hirose A, Kanno J, Development of a series of assay model of toxicity and carcinogenicity of carbon nanotubes. 2016 Korean Association for Laboratory Animal Science, 慶州, Korea, Aug. 24-26, 2016
 - 10) Tsuda H, Alexander DB, Alexander WT, AbdElgied M, ELGazzar A, Xu J, Numano T, Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Hirose A, Kanno J, Development of a Mechanism Based Short-term Assay Protocol to Test Carcinogenicity of Multiple Wall Carbon Nanotubes (MWNCTs) in the Rat. XIV International Congress of Toxicology, Merida, Mexico, Oct. 2-6, 2016.
 - 11) Aya Naiki-Ito. The roles of gap junctional intercellular communication in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and hepatocarcinogenesis -Establishment a model of NASH-, (英国病理学会招待講演) Maastricht Pathology 2018、オランダ、マーストリヒト (2018 年 6 月).
 - 12) 内木綾、内木拓、加藤寛之、鈴木周五、高橋智. 前立腺発がんおよび去勢抵抗性細胞増殖に対する luteolin の抑制効果、第 35 回発癌病理研究会、御殿場 (2018 年 8 月)
 - 13) Aya Naiki-Ito, Hiroyuki Kato, Shugo Suzuki, Yoriko Yamashita, Satoru Takahashi. Connexin 32 prevents the development of insulin resistance and hepatocarcinogenesis in non-alcoholic steatohepatitis, 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
 - 14) 内木綾、内木拓、加藤寛之、飯田啓太郎、鈴木周五、安井孝周、高橋智. 去勢抵抗性前立腺癌に対する luteolin の治療効果と androgen receptor splice variant の役割、第 33 回前立腺シンポジウム、品川 (2018 年 8 月)
 - 15) 内木綾、加藤寛之、鈴木周五、高橋智. Luteolin の去勢抵抗性前立腺癌に対する抑制効果と androgen receptor splice variant の役割、第 35 回日本毒性病理学会、江戸川 (2019 年 1 月)
 - 16) 内木綾、加藤寛之、鈴木周五、山下依子、高橋智. Angiotensin II receptor type 2 アゴニストによるラット前立腺発がん化学予防効果、第 106 回日本病理学会総会、新宿 (2017 年 4 月)
 - 17) 内木綾. The Role of Gap Junctional Intercellular Communication in Hepatotoxicity and Hepatocarcinogenesis (学術奨励賞受賞講演) 第 106 回日本病理学会総会、新宿 (2017 年 4 月)
 - 18) Aya Naiki-Ito, Hiroyuki Kato, Shugo Suzuki, Yoriko Yamashita, Satoru Takahashi. Establishment a model of non-alcoholic steatohepatitis-related hepatocarcinogenesis, 第 76 回日本癌学会学術総会、横浜 (2017 年 9 月)
 - 19) 内木綾、加藤寛之、鈴木周五、高橋智. Connexin 32 ドミナントネガティブトランスジェニックラットを用いたメタボリックシンドローム随伴 NASH モデルの樹立、第 34 回日本毒性病理学会、沖縄 (2018 年 1 月)
 - 20) 内木綾、加藤寛之、佐藤慎哉、鈴木周五、山下依子、久野壽也、高橋智. 去勢抵抗性前立腺癌に対する luteolin の治療効果、第 105 回日本病理学会総会、仙台 (2016 年 5 月)
 - 21) Aya Naiki-Ito, Taku Naiki, Hiroyuki Kato, Shugo Suzuki, Yoriko Yamashita, Toshiya Kuno, Satoru Takahashi. Chemotherapeutic effect of luteolin on

- castration-resistant prostate cancer, 第 75 回日本癌学会学術総会、横浜 (2016 年 10 月)
- 22) 内木綾、加藤寛之、久野壽也、高橋智. ラット前立腺発がんに対する angiotensin II receptor type 2 アゴニストの化学予防効果、第 33 回日本毒性病理学会、大阪 (2017 年 1 月)
- 23) 菅野 純、ナノマテリアルの吸入曝露による発がん性研究第45回日本毒性学会学術年会、シンポジウム、2018.7.18 (大阪)
- 24) 高橋祐次、相磯 成敏、大西 誠、石丸 直澄、菅野 純、マクロファージの機能に着目したナノマテリアルのマウス吸入ばく露による慢性影響評価、第45回日本毒性学会学術年会、シンポジウム、2018.7.18(大阪)
- 25) Jun Kanno, Chuen-Jinn Tsai, Plenary Session 4: Improvement of Inhalation Toxicity Testing for Nanomaterials and Compliance Monitoring for Ambient PM., Plenary Lectures, Xth International Aerosol Conference (IAC 2018) ,Invited, 2019.9.6,St. Louis.
- 26) Yuhji Taquahashi, Satoshi Yokota, Koichi Morita, Masaki Tsuji, Yoko Hirabayashi, Akihiko Hirose and Jun Kanno, Development of Whole Body Inhalation System for Well-Dispersed Nanomaterials Toxicity Testing -Taquann Direct-Injection Whole Body Inhalation System-, Poster, 58th Annual Meeting of the Society of Toxicology, 2019.3.12., Baltimore
- 27) 大西誠、三角恭兵、笠井辰也、山本正弘、鈴木正明、佐々木俊明、浅倉眞澄、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)
- 28) 大西誠、三角恭兵、笠井辰也、山本正弘、鈴木正明、佐々木俊明、浅倉眞澄、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)
- 29) Yuhji Taquahashi, Koichi Morita, Masaki Tsuji, Yoko Hirabayashi, Akihiko Hirose and Jun Kanno, A short-term whole-body inhalation study of potassium titanate whisker in mice with an improved dispersion and inhalation system, The 57th Society of Toxicology, Henry B. Gonzalez Convention Center, San Antonio, Texas, USA, 12 March, 2018., Poster
- 30) 高橋祐次、小川幸男、高木篤也、辻 昌貴、森田 紘一、今井田 克己、菅野純, MWCNT のマウス全身曝露吸入における原末と高分散処理検体 (Taquann 法) の肺沈着量の比較、第 34 回日本毒性学会、名古屋、(2016.7.1)、一般演題 (口演)
- 31) 相磯成敏、梅田ゆみ、笠井辰也、妹尾英樹、高信健司、斎藤美佐江、福島昭治、菅野純、MWNT-7 吸入曝露で誘発されたラット肺病変の経時的解析、第 31 回発癌病理研究会(2016.8.23)、長野、口演
- 32) Jun Kanno, Nanomaterials safety: Predicting their long-term effects by in vivo studies., The 14th International Nanotech Symposium & Nano-Convergence Expo (NANO KOREA 2016) (2016.7.14), Korea, 基調講演
- 33) Yuhji Kanno J, Taquahashi Y, Introduction to Nanomaterials safety: Predicting the chronic effects. XIV International Congress of Toxicology (ICT2016) Merida-Mexico, (2016.10.3), Symposium
- 34) Taquahashi1, Atsuya Takagi, Yukio Ogawa, Koichi Morita, Masaki Tsuji, Katsumi Imaida, Jun Kanno, Level of dispersion of MWCNT aerosol

affects the lung burden and lung lesion in whole body inhalation study, XIV International Congress of Toxicology Merida-Mexico, (2016.10.5), Oral

- 35) Jun Kanno, Yuhji Taquahashi¹, Atsuya Takagi¹, Masaki Tsuji¹, Koichi Morita¹, Yukio Ogawa, Shigetoshi Aiso, Yumi Umeda, Tatsuya Kasai, Hideki Senoh, Kenji Takanobu, Misae Saito, Shoji Fukushima, Nanomaterials safety: Predicting their long-term effects by in vivo studies., Inhalation Toxicity Test Advisory Council, Korea Occupational Safety and Health Agency (KOSHA). Seoul, Korea, Invited
- 36) Sayuri Noda, Yoshiaki Suzuki, Hisao Yamamura, Yuji Imaizumi. LRRC26 is functional as an Auxiliary subunit of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BK) channel and regulates BK channel activity in bronchial smooth muscle cells. Experimental Biology 2018, Apr. 22, 2018 (San Diego, USA).
- 37) 澤井優輝、鈴木良明、今泉祐治、山村寿男。マクロファージにおいてカベオリン 1 は ATP シグナルを制御する。第 64 回日本薬学会東海支部大会、2018 年 6 月 30 日(名古屋)。
- 38) Sayuri Noda, Yoshiaki Suzuki, Hisao Yamamura, Yuji Imaizumi. Essential roles of the auxiliary γ -subunit of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel in bronchial smooth muscle cells. The 49th NIPS International Symposium Ion channels: looking back, seeing ahead. Dec. 5-8, 2018 (Okazaki).
- 39) Yuuki Sawai, Yoshiaki Suzuki, Yuji Imaizumi, Hisao Yamamura. Caveolin-1

regulates ATP signaling in macrophages. Nagoya Immunology Network in NCU the first international symposium. Mar. 11, 2019 (Nagoya).

- 40) 鈴木良明、野田さゆり、山村寿男、今泉祐治。大コンダクタンス Ca²⁺活性化 K⁺チャネル新規修飾サブユニットによる気管支平滑筋機能の制御。第 59 回日本平滑筋学会総会、2017 年 8 月 25 日、福岡。
- 41) 野田さゆり、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治。気管支平滑筋における γ サブユニットによる BK_{Ca} チャネル活性制御機構の解明。次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017、2017 年 8 月 26 日、京都。
- 42) 前田和輝、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治。マウス骨髄マクロファージ機能に対する Kir2.1 の役割。第 132 回日本薬理学会近畿部会、2017 年 11 月 24 日、大阪。
- 43) 野田さゆり、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治。マウス気管支平滑筋における Ca²⁺活性化 K⁺チャネル修飾サブユニット γ 1 の生理機能解明。生体機能と創薬シンポジウム 2016、2016 年 8 月 25-26 日、仙台。
- 44) 山越大槻、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治。2 ポアドメイン K⁺チャネルによるマウス腹腔マクロファージの膜電位形成。第 38 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2016 年 11 月 17 日、名古屋。
- 45) 野田さゆり、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治。気管支平滑筋細胞における BK_{Ca} チャネル γ 1 サブユニットの生理機能解明。第 90 回日本薬理学会年会、2017 年 3 月 15 日、長崎。
- 46) 山越大槻、鈴木良明、山村寿男、今泉祐治。2 ポアドメイン K⁺チャネルによるマウス腹腔マクロファージの膜電位形成。第 90 回日本薬理学会年会、2017 年 3 月 17 日、長崎

H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

- 1) 菅野純、高橋祐次、「高分散性ナノマテリアルの調製方法」、特願 2012-158343、登録番号：第 6051427 号 (2016.12.9)
- 2) 今泉祐治、山村寿男、鈴木良明、川崎桂輔、成田寛。イオンチャンネルに作用する化合物のスクリーニング用材料及びその利用。特願 2016-214685、2016 年 11 月 1 日。

2. 実用新案登録

ISO TC 229/SC /WG 3

Nanotechnologies- Aerosol generation for NOAA (nano-objects and their aggregates and agglomerates) air exposure studies. 6.5 Liquid Phase Filtration/Dispersion - Critical Point Drying (Tertiary Butyl Alcohol Sublimation) and Direct Injection System for whole body inhalation studies

3. その他

なし

・ 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|------|---------|-----------|-----|------|-----|-----|-----|
| | | | | | | | |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|--|---------------------|------------|-----------|------|
| Liao D., Wang Q., Alexander D., Abdelgied M., Elgazzar AM., Futakuchi M., Suzui, M., Kanno J., Hirose A., Xu J., Tsuda H. | Persistent Pleural Lesions and Inflammation by Pulmonary Exposure of Multiwalled Carbon Nanotubes | Chem. Res. Toxicol. | 31 (10) | 1025-1031 | 2018 |
| Elgazzar AM., Abdelgied M., Alexander D., Alexaander W., Numano T., Iigo M., Naiki A., Takahashi S., Takase H., Hirose A., Kanno J., Eloklem OM., Nasem AM., Tsuda H. | Comparative pulmonary toxicity of a DWCNT and MWCNT-7 in rats | Arch. Toxicol | 93 | 43-59 | 2019 |
| Abdelgied M., Elgazzar AM., Alexander D., Alexaander W., Numano T., Iigo M., Naiki-Ito A., Takase H., Abdou KB., Hirose A., Taquahashi Y., Kanno J., Tsuda H. | Potassium octatitanate fibers induce persistent lung and pleural injury and are possibly carcinogenic in male Fischer 344 rats | Cancer Sci. | 109 (7) | 2164-2177 | 2018 |
| Abdelgied M., Elgazzar AM., Alexander D., Alexander W., Numano T., Iigo M., Naiki-Ito A., Takase H., Abdou KB., Hirose A., Taquahashi Y., Kanno J., Abdelhamid M., Tsuda H., Takahashi S. | Pulmonary and pleural toxicity of potassium octatitanate fibers, rutile titanium dioxide nanoparticles, and MWCNT-7 in male Fischer 344 rats | Arch. Toxicol. | 93 | 909-920 | 2019 |
| Magaki M, Ishii H, Yamasaki A, Kitai Y, Kametani S, Nakai R, Alexander DB, Tsuda H, Ohnishi T | A high-fat diet increases the incidence of mammary cancer in c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats | J Toxicol Pathol | 30 | 145-152 | 2017 |

| | | | | | |
|--|---|-------------------------------|------------|-----------|------|
| Alexander D., Iigo M., Abdelgied M., Ozeki K., Tanida S., Joh T., Takahashi S., Tsuda H. | Bovine lactoferrin and Crohn's disease: a case study | Biochemistry and Cell Biology | 95(1) | 133-141 | 2017 |
| 津田洋幸 | カーボンナノチューブの肺と胸膜中皮に対する毒性と発がん性の簡易評価法 | 医学のあゆみ | 259 (3) | 223-227 | 2016 |
| Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Numano T, Abdelgied M, Takahashi S, Ohnishi M, Omori T, Tsuruoka S, Hirose A, Kanno J, Sakamoto Y, Alexander DB, Xu J, Tsuda H. | Multiwalled carbon nanotubes intratracheally instilled into the rat lung induce development of pleural malignant mesothelioma and lung tumors | Cancer Sci | 107 (7) | 359-367 | 2016 |
| Suzuki S, Toyoda T, Kato H, Naiki-Ito A., Yamashita Y, Akagi J, Cho Y.M, Ogawa K, Takahashi S. | Dimethylarsinic acid may promote prostate carcinogenesis in rats. | J Toxicol Pathol | 32 | 73-77 | 2019 |
| Etani T, Naiki T, Naiki-Ito A, Suzuki T, Iida K, Nozakami S, Kato H, Nagayasu Y, Suzuki S, Kawai N, Yasui T, Takahashi S. | NCL1, A Highly Selective Lysine-Specific Demethylase 1 Inhibitor, Suppresses Castration-Resistant Prostate Cancer Growth via Regulation of Apoptosis and Autophagy. | J Clin Med. | 8 | pii: E442 | 2019 |
| Mapoung S, Suzuki S, Fuji S, Naiki-Ito A, Kato H, Yodkeeree S, Ovatlarnporn C, Takahashi S, Limtrakul Dejkriengkraikul P. | Cyclohexanone curcumin analogs inhibit progression of castration-resistant prostate cancer in vitro and in vivo. | Cancer Sci. | 110 | 596-607 | 2019 |
| Suzuki S, Kato H, Fuji S, Naiki T, Naiki-Ito A, Yamashita Y, Takahashi S. | Early detection of prostate carcinogens by immunohistochemistry of HMGB2. | J Toxicol Sci. | 43 | 359-367 | 2018 |

| | | | | | |
|---|---|-----------------|---------|-------------|------|
| Naiki T, Naiki-Ito A (Corresponding Author), Iida K, Etani T, Kato H, Suzuki S, Yamashita Y, Kawai N, Yasui T, Takahashi S. | GPX2 promotes development of bladder cancer with squamous cell differentiation through the control of apoptosis. | Oncotarget | 9 | 15847-15859 | 2018 |
| Ito Y, Naiki-Ito A (Cofirst Author), Kato H, Suzuki S, Kuno T, Ishiguro Y, Takahashi S, Uemura H. | Chemopreventive effects of an angiotensin II receptor type 2 antagonist on prostate carcinogenesis by the down-regulation of the androgen receptor. | Oncotarget | 9 | 13859-13869 | 2018 |
| Suzuki S, Cohen SM, Arnold LL, Kato H, Fuji S, Pennington KL, Nagasuyasu Y, Naiki-Ito A, Yamashita Y, Takahashi S. | Orally administered nicotine effects on rat urinary bladder proliferation and carcinogenesis. | Toxicology | 398-399 | 31-40 | 2018 |
| Kato A, Naiki-Ito A (Cofirst Author), Naitoh I, Hayashi K, Nakazawa T, Shimizu S, Nishiyama Y, Okumura F, Takada H, Kondo H, Yoshida M, Takahashi S, Joh T. | The absence of class III β -tubulin is predictive of a favorable response to nab-paclitaxel and gemcitabine in patients with unresectable pancreatic ductal adenocarcinoma. | Hum Pathol. | 74 | 92-98 | 2018 |
| Fuji S, Suzuki S, Naiki-Ito A, Kato H, Hayakawa M, Yamashita Y, Kuno T, Takahashi S. | The NADPH Oxidase Inhibitor Apocynin Suppresses Preneoplastic Liver Foci of Rats. | Toxicol Pathol. | 45 | 544-550 | 2017 |
| Suzuki S, Mori Y, Nagano A, Naiki-Ito A, Kato H, Nagayasu Y, Kobayashi M, Kuno T, Takahashi S. | Pioglitazone, a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Agonist, Suppresses Rat Prostate Carcinogenesis. | Int J Mol Sci. | 17 | pii: E2071 | 2016 |
| Kuno T, Nagano A, Mori Y, Kato H, Nagayasu Y, Naiki-Ito A, Suzuki S, Mori H, Takahashi S. | Preventive effects of fermented brown rice and rice bran against prostate carcinogenesis in TRAP rats | Nutrients | 8 | 421 | 2016 |

| | | | | | |
|---|---|----------------|------------|-----------|------|
| Sato S, Katsushima K, Shinjo K, Hatanaka A, Ohkaf F, Suzuki S, Naiki-Ito A, Soga N, Takahashi S, Kondo Y. | Histone deacetylase inhibition in prostate cancer triggers miR-320-mediated suppression of the androgen receptor. | Cancer Res. | 76 | 4192-4204 | 2016 |
| Naiki-Ito A, Kato H, Sato S, Suzuki S, Yamashita Y, Kuno T, Takahashi S. | Dysfunction of gap-junctional intercellular communication promotes hepatocarcinogenesis. | 現代医学 | 64 | 103-108 | 2016 |
| Otsuka K, Yamada K, Taquahashi Y, Arakaki R, Ushio A, Saito M, Yamada A, Tsunemitsu T, Kudo Y, Kanno J, Ishimaru N. | Long-term polarization of alveolar macrophages to a profibrotic phenotype after inhalation exposure to multi-wall carbon nanotubes. | PLoS One. | 13 (10) | e0205702 | 2018 |
| Take M, Takeuchi T, Hirai S, Takano K, Matsumoto M, Fukushima S, Kanno J. | Distribution of 1,2-dichloropropane in blood and other tissues of rats after oral administration. | J Toxicol Sci. | 42(2) | 121-128 | 2017 |
| 菅野 純 | ナノマテリアル毒性のとらえ方とその難しさ | 医学のあゆみ | 259 (3) | 217-222 | 2016 |
| 高橋祐次 | 高分散型小型全身曝露吸入システムによるマウス吸入毒性-ヒトの現実的な曝露シナリオに基づいたナノマテリアルの吸入毒性評価の迅速化と効率化に向けて- | 医学のあゆみ | 259 (3) | 234-240 | 2016 |

・ 研究成果の刊行物・別冊