別添３

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

総括研究報告書

毒物又は劇物の指定等に係る急性吸入毒性試験の代替法の精緻化及び標準化のための研究

研究代表者　高須伸二　国立医薬品食品衛生研究所　室長

研究要旨

毒物及び劇物（毒劇物）は、原則、動物を用いた急性毒性試験における LD_{50}・LC_{50} 値から判定されており、投与方法には経口、経皮及び吸入が想定されている。ヒトへの吸入暴露が想定される化合物については、吸入試験による評価が必要であるが、全身暴露法は大規模な暴露装置が必要となるため、実施可能な施設がわずかである。また、頭部/鼻部暴露法は、長期間の拘束ストレスが結果に影響しうる。そうした困難さから、毒劇物判定並びに化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）分類に使用可能な吸入毒性情報は限定的である。また、近年は 3R に配慮した *in vitro* 評価法も希求されている。本研究では、吸入暴露が想定される物質の毒劇物判定における *in vivo* 試験代替法として、経気管肺内噴霧投与法（Intra-tracheal intrapulmonary spraying ; TIPS 法）の検証、及び、*in vitro* 試験代替法として、ヒト肺癌細胞株（A549）の細胞毒性を指標とした評価法を検討・精緻化し、毒劇物の指定に資する手法の確立を図ることを目的としている。

TIPS 法の検証に関して、令和 7 年度に実施したラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験では、2-イソブトキシエタノールにおいて血液系への影響、メチルヒドラジン及びマロノニトリルにおいて神経系への影響が認められ、TIPS 法では呼吸器以外の臓器に対する影響も検出可能であることが確認された。特に、神経系への影響が認められた 5 物質はいずれも TIPS 法における LD_{50} が NRU assay から算出した LD_{50} よりも低値であり、*in vivo* 試験における死亡率に関与している可能性が示唆された。本年度に急性気管内投与毒性試験を実施したテトラヒドロフラン、メチルエチルケトンを含む毒劇物区分外（GHS 区分 4）に分類される 5 物質は、いずれも TIPS 法による有害性区分が既報の急性吸入毒性試験による区分と概ね一致したことから、毒劇物判定における本法の有用性が示唆された。また、難水溶性物質の新規投与媒体として人工肺サーファクタントの適用可能性を検討した結果、本投与条件下において人工肺サーファクタント様液は一般状態、体重および肺に顕著な影響を示さず、生理食塩水と同程度の肺内分布を示す可能性が示唆された。

A549 細胞毒性を指標とした *in vitro* 試験法に関して、本年度は、先行研究において小川班により構築された A549-NRU assay を用い、新たに 13 物質の細胞毒性評価を実施した。すべての被験物質において、A549 細胞に対する用量依存的な細胞毒性が認められ、再現性の高い安定した *in vitro* LC_{50}（A549-NRU）値が得られた。これまでに検討した 48 物質に本年度の 13 物質を加えた計 61 物質を対象として、*in vitro* LC_{50} 値とラット 4 時間吸入暴露試験由来の *in vivo* LC_{50} 値との相関解析を行った。その結果、水溶性化合物及びアルデヒド・ケトン官能基を有する化学物質において、両者の間に有意な正の相関が認められた。また、concordance 評価では、13 被験物質のうち 10 物質（77%）、計 61 物質では 45 物質（74%）が、*in vitro* LC_{50} 値と *in vivo* LC_{50} 値の差が ±1 log10 単位以内となる許容範囲内に収まった。さらに、A549-NRU assay から得られた LC_{50} 値に基づいて TIPS 用 LD_{50} 推定値を算出し、実施中の TIPS 試験における初期投与量設定に活用した。以上の結果から、A549-NRU assay は、急性吸入毒性評価における *in vitro* 予測評価系として有用であり、毒劇物指定に資する *in vitro* 試験代替法となり得ることが示された。また、本 assay により得られる LC_{50} 値は、TIPS 試験における初期投与量設定に科学的根拠を与える情報としても有用であると考えられた。今後は、適用可能な化学物質の範囲をより明確にするとともに、実施中の TIPS 試験との比較検証を通じて、本手法の妥当性及び実用性をさらに検討する必要がある。

毒物/劇物判定と暴露経路に関する情報収集では、急性吸入毒性評価のための *in vivo* 試験代替法としての TIPS 法、及び *in vitro* 試験代替法としての A549 細胞の細胞毒性を指標とした評価法の意義を解析するため、評価値に及ぼす暴露経路並びに投与方法の影響を検討することを目的とした。これまでに検討してきた 49 の被験物質について、ラットにおける経口による急性毒性の LD_{50} を公表情報から確認し、吸入による急性毒性の LC_{50} と比較し、GHS 区分及び毒劇物判定を検討した。経口および吸入による急性毒性のデータが揃っている 45 化合物のうち、約 80%は経口暴露よりも吸入暴露において急性毒性が高度であった。特に、規制対象外

から劇物または毒物に分類が変わる化合物が約 50%を占めていた。更に劇物から毒物に分類が変わる化合物も認められた。このことから、吸入による毒性が懸念される化合物については、経口暴露の急性毒性データから毒劇物の判断をすることは適切ではなく、毒物又は劇物の指定においては、吸入による毒性評価を実施するか、あるいは、化合物の特徴に即した適切な換算方法を考慮する必要性があると考えられた。

研究分担者 :小川久美子（星薬科大学 薬学部 毒性学研究室 教授）
研究分担者 : 魏 民（大阪公立大学大学院医学研究科 環境リスク評価学 准教授）
研究分担者 : 赤根弘敏（国立医薬品食品衛生研究所 病理部 主任研究官）
研究協力者 : 津田洋幸（名古屋市立大学大学院医学研究科 特任教授）
研究協力者 : 藤岡正喜（大阪公立大学大学院医学研究科 分子病理学 特任講師）

A．研究目的

毒物及び劇物（毒劇物）は、原則、動物を用いた急性毒性試験における LD_{50}・LC_{50} 値から判定されており、投与方法には経口、経皮及び吸入が想定されている。ヒトへの吸入暴露が想定される化合物については、吸入試験による評価が必要であるが、全身暴露法は大規模な暴露装置が必要となるため、実施可能な施設がわずかである。また、頭部/鼻部暴露法は、長期間の拘束ストレスが結果に影響しうる。そうした困難さから、毒劇物判定並びに化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）分類に使用可能な吸入毒性情報は限定的である。また、近年は 3R に配慮した *in vitro* 評価法も希求されている。

津田研究協力者等は、これまでにラットを用いた被験物質の経気管肺内噴霧投与法（Intra-tracheal intrapulmonary spraying；TIPS 法）による汎用性の高い吸入暴露評価法を開発し、多種の多層カーボンナノチューブ（MWCNT-7 等）の肺又は胸膜中皮に対する発がん性を報告してきた[1,2]。また、A549 ヒト肺癌細胞株を用いた Neutral Red の取込を指標とした細胞毒性評価（A549-NRU assay）が、*in vivo* 吸入毒性と相関することを報告してきた[3]。我々の先行科研費研究では、A549-NRU assay の LD_{50} 予測値とラット 4 時間吸入暴露の LD_{50} 値がある程度一致すること、TIPS 法では全身吸入暴露法と比較して毒性が同等、あるいは細胞傷害性や刺激性が強い物質は強く表れる傾向があること、さらに、TIPS 法の LD_{50} は A549-NRU assay の LD_{50} 予測値より高値となる傾向がみられたものの、両者の間に強い正の相関性あることが示された。また、肝毒性や神経毒性を示す物質は A549-NRU assay よりも TIPS 法の LD_{50} が低値となることも示された。

本研究では、急性吸入毒性評価のための *in vivo* 試験代替法としての TIPS 法、及び *in vitro* 試験代替法としての A549 細胞の細胞毒性を指標とした評価法を検討・精緻化するとともに、急性毒性の評価値に及ぼす暴露経路の影響を検討し、毒劇物指定に資する手法の確立を図ることを目的とする。

B．研究方法

<u>B-1-1) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における LD_{50} の判定</u>

新規被験物質としてテトラヒドロフラン（CAS RN: 109-99-9）、メチルエチルケトン（CAS RN: 78-93-3）、ビス(2-クロロエチル)エーテル（CAS RN: 111-44-4）について TIPS 法による急性毒性試験を実施した。またプロピレンオキシド（CAS RN: 75-56-9）、プロピオンアルデヒド（CAS RN: 123-38-6）、エチレンジアミン（CAS RN: 107-15-3）について実施中である。LD_{50} 値の判定及び LD_{50} に基づいた GHS 分類を行い、既報の吸入による急性毒性の有害性区分と比較する。

投与は 8 週齢の SD ラットにイソフルラン吸入麻酔下（導入 4%）で、ラット用金属製気管内噴霧スプレー（針長 80 mm、内径 0.8 mm、外径 1.0 mm）（夏目製作所）及び喉頭鏡（夏目製作所）を用いて 1 日 4 回（1 時間間隔）投与した。投与容量は 2.0 mL/kg とした。投与量は、過去に報告された全身吸入暴露法の LC_{50} 値を既報のラット呼吸量[4]を用いて換算した暴露量及び本年度実施された A549-NRU assay で得られた結果を考慮して設定した。

<u>B-1-2) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における呼吸器の毒性評価並びに全身諸臓器の毒性評価による吸入毒性機序解析</u>

先行研究として令和 6 年度に実施した 3 試験（2-イソブトキシエタノール、メチルヒドラジン及びメタクリロニトリル）について、気管、気管支、肺、肝臓、脾臓の病理組織学的検査を実施した。さらに 2-イソブトキシエタノールについては腎臓、メチルヒドラジン及びメタクリロニトリルについては脳の病理組織学的検査を実施した。

<u>B-1-3) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における難水溶性物質投与のための新規投与媒体の検討</u>

難水溶性物質の投与を想定し、人工肺サーファクタントを新規投与媒体として用いる可能性を検討した。

人工肺サーファクタントは、既報[5)]を参考に調製した。

人工肺サーファクタントをラット気管内に投与した際の肺への影響を検討する目的で、8 週齢雄 SD ラット（各群 3 匹）にイソフルラン吸入麻酔下で生理食塩水に溶解した肺サーファクタント様液（30 mg/mL）を 2.0 mL/kg の容量で 1 時間間隔にて計 4 回、気管肺内噴霧投与した。対照群には生理食塩水を投与した。最終投与の 1 時間後及び 12-14 日後に剖検し、肺を摘出して病理組織学的検査に供した。

人工肺サーファクタントの肺内分散性を検討する目的で、8 週齢雄 SD ラット（各群 5 匹）にイソフルラン吸入麻酔下で肺サーファクタント様液（6 または 30 mg/mL）を 2.0 mL/kg の容量で気管肺内噴霧投与した。肺内分布の可視化のために、投与液にはズダンブラックを 0.2 mg/kg の投与量となるよう添加した。対照群には生理食塩水にズダンブラックを同様の量を添加して、同様の方法で投与した。投与 1 時間後に剖検し、肺を摘出後、肉眼写真を撮影し、得られた画像について画像解析によりズダンブラックの分布状況を定量的に評価した。

さらに、人工肺サーファクタント様液の検討結果を踏まえ、本年度に実施したラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験の新規被験物質のうち、ビス(2-クロロエチル)エーテル（CAS RN: 111-44-4）については、肺サーファクタント様液（30 mg/mL）を投与媒体とした検討も実施した。

B-2) *in vitro* 試験のデータ収集

1．A549-NRU assay

A549-NRU assay を用いて、13 物質の細胞毒性評価を実施した。Day 0 に、6-well プレートに A549 細胞を 2×10^5 cells/well で播種した。Day 1 に、被験物質を RPMI 培地中で、15 mL チューブを用いて調製し、vortex により約 5 秒間混和した。事前に用意した A549 細胞から培地を除去し、PBS で 1 回洗浄した後、調製した被験物質含有培地を添加し、37℃、5% CO_2条件下で 15 分間インキュベーションした。

細胞毒性評価は、Neutral Red uptake 法により実施した。Neutral Red 含有 RPMI 培地を調製し、顕微鏡観察後、被験物質含有培地を除去して PBS で 2 回洗浄した。その後、Neutral Red 含有 RPMI 培地を添加し、37℃、5% CO_2条件下で 3 時間インキュベーションした。培地を除去した後、PBS で 2 回洗浄し、酢酸–エタノール溶液（50%エタノール、49% Milli-Q 水、1%氷酢酸）を各 well に 1 mL 添加して振盪した。溶出液を 96-well プレートに 180 µL ずつ分注し、吸光度計を用いて 540 nm における吸光度を測定した。

2．*in vitro* LC_{50} の算出

Neutral Red assay により得られた吸光度データを GraphPad Prism（GraphPad Software）を用いて解析し、LC_{50} を算出した。各被験物質について、投与濃度を対数変換した値を用い、非線形回帰解析（log[agonist] vs. normalized response-variable slope）により近似曲線を作成し、LC_{50}（A549-NRU）を求めた。

3．*in vitro* LC_{50}（A549-NRU）と *in vivo* LC_{50}（ラット 4 時間吸入暴露試験）との相関解析

A549-NRU assay で得られた *in vitro* LC_{50}（A549-NRU）と、既報のラット 4 時間吸入暴露試験における *in vivo* LC_{50} 値との相関解析を行った。被験物質は、水溶性及び官能基の種類に基づいて分類し、各群で解析を実施した。相関解析には Pearson の相関分析を適用し、得られた結果を散布図として示した。

動物を用いた吸入暴露試験における LC_{50} 値は、PubChem、製品評価技術基盤機構（NITE）、Haz-Map 及び National Institute for Occupational Safety and Health（NIOSH）を情報源として収集した。なお、ラット 4 時間吸入暴露試験における LC_{50} 値が範囲濃度として報告されている場合には、相関解析にはその下限値を採用した。

4．A549-NRU assay とラット 4 時間吸入毒性試験における LC_{50} 値の concordance 評価

各化学物質について、*in vitro* LC_{50} 値と、ppm から mg/mL に換算した *in vivo* LC_{50} 相当値を比較し、その差を log10 フォールド変化として算出した。この値が±1 log10 単位の範囲内に収まる場合を「許容範囲内」と定義した。

B-3) 毒物/劇物判定と暴露経路に関する情報収集

これまでに *in vitro* A549-NRU assay 及び経気管肺内噴霧投与法を用いて検討してきた 49 の被験物質について、海外評価書及び厚生労働省の「職場のあんぜんサイト」GHS 対応モデルラベル・モデル SDS 情報、https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen_pg/GHS_MSD_FND.aspx などの公開情報を検索して、ラットにおける経口による急性毒性の LD_{50} を確認し、吸入による急性毒性の LC_{50} と比較して、GHS 区分及び毒劇物判定を検討した。

（倫理面の配慮）

動物を用いた実験は国立医薬品食品衛生研究所実験動物倫理委員会の承認を得た上で、関係法令を遵守して実施した。動物の飼育・処置に当たっては、動物愛護の精神に則るとともに倫理規定に十分配慮し、気管内投与は麻酔下で実施し、解剖時には麻酔下での安楽死を施すなど、苦痛軽減に努めることとした。また、投与動物に異常な姿勢や行動、呼吸異常等の強い苦痛の兆候がみられた場合は速やかに安楽死させた。

C．研究結果

<u>C-1-1) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における LD_{50} の判定及び *in vitro* Neutral red assay における LC_{50} の比較</u>

令和 7 年度までに TIPS 法による急性気管内投与毒性試験により判定した 27 物質の LD_{50}（TIPS）に基づく GHS 区分を急性吸入毒性に基づく区分と比較した結果、21 物質については有害性の区分が概ね一致した。*o*-クロロフェノール、ヘキサヒドロ-1H-アゼピン、アクリル酸、2-ジメチルアミノエタノール及び *N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミンの 5 物質では、LD_{50}（TIPS）に基づく GHS 区分が既報の GHS 区分よりも強い有害性区分に分類され、*in vitro* Neutral red assay で低値を示す物質であり、既報の皮膚刺激性に基づく GHS 区分において強い有害性区分（GHS 区分 1）に分類されるものと一致した。また 1 物質（ビス(2-クロロエチル)エーテル）では、LD_{50}（TIPS）に基づく GHS 区分が既報の GHS 区分よりも強い有害性区分に分類された。

<u>C-1-2) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における呼吸器及び全身諸臓器の毒性評価による吸入毒性機序解析</u>

[一般状態]

先行研究において TIPS 法による急性毒性試験を実施した 3 物質について、2-イソブトキシエタノール 400 mg/kg 群で呼吸不整及び赤色尿、800 mg/kg 群で呼吸困難がみられた。メチルヒドラジン 30 mg/kg 群で呼吸不整及び強直性痙攣、マロノニトリル 30 及び 60 mg/kg 群で呼吸不整、振戦、間代性痙攣及び腹臥位/横臥位が観察された。

新規被験物質として TIPS 法による急性毒性試験を実施した 3 物質について、テトラヒドロフラン 300、600 及び 1200 mg/kg 群で呼吸不整、メチルエチルケトン 300 及び 600 mg/kg 群で呼吸不整、1200 mg/kg 群で呼吸困難がみられた。ビス(2-クロロエチル)エーテル投与において、生理食塩液を媒体とした 80 及び 120 mg/kg 群で呼吸不整及び自発運動低下、120 mg/kg 群で傾眠、また人工肺サーファクタント様液を媒体とした 120 及び 240 mg/kg 群で呼吸不整、120 mg/kg 群で自発運動低下及び傾眠、240 mg/kg 群で呼吸困難が観察された。

[病理組織学的検査]

病理組織学的検査において、以下の所見が認められた。

1. 呼吸器系：気管、気管支、細気管支及び肺胞上皮の壊死、肺の急性炎症、うっ血、水腫、出血が 2-イソブトキシエタノール、メチルヒドラジン及びメタクリロニトリルに共通して観察された。
2. 脾臓：赤色尿が認められた 2-イソブトキシエタノール 400 mg/kg 群でうっ血がみられた。

その他、肝臓、腎臓及び脳において、被験物質投与による影響は認められなかった。

<u>C-1-3) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における難水溶性物質投与のための新規投与媒体の検討</u>

人工肺サーファクタント様液投与群では、最終投与 1 時間後及び 12～14 日後のいずれの点においても、体重及び肺重量に人工肺サーファクタント様液投与に関連した変化は認められなかった。肺の病理組織学的検査においても、投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

また、画像解析によるズダンブラックの肺内分布の評価を行った結果、いずれの肺サーファクタント様液投与群においても、対照群と比較してズダンブラック陽性面積に有意な差は認められなかった。

<u>C-2) *in vitro* 試験のデータ収集</u>

1．A549-NRU assay

13 被験物質すべてにおいて、A549 細胞に対する細胞毒性が用量依存的に認められた。いずれの被験物質においても、再現性の高い安定した *in vitro* LC_{50}（A549-NRU）値が得られた。

2．*in vitro* LC_{50}（A549-NRU）と *in vivo* LC_{50}（ラット 4 時間吸入暴露試験）との相関解析

これまでに検討した 48 物質に新たに 13 被験物質を加え、計 61 物質を対象として、LC_{50}（A549-NRU）値と化学物質の水溶性及び官能基特性との関係を解析した。その結果、先行する 48 物質の解析結果と同様に、水溶性化合物及びアルデヒド・ケトン官能基を有する化学物質において、LC_{50}（A549-NRU）値とラット 4 時間吸入暴露試験由来の *in vivo* LC_{50} 値との間に有意な正の相関が認められた。相関係数は、それぞれ 0.36 及び 0.90 であった。

3．A549-NRU assay とラット 4 時間吸入毒性試験における LC_{50} 値の concordance 評価

in vitro LC_{50}（A549-NRU）値とラット 4 時間吸入毒性試験由来の *in vivo* LC_{50} 値について、log10 変換値の差が±1 log10 単位以内に収まる場合を「許容範囲内」と定義した。13 被験物質のうち 10 物質（77%）がこの基準を満たした。さらに、これまでに検討した 48 物質を加えた計 61 物質を対象とした解析では、61 物質中 45 物質（74%）が許容範囲内に収まった。

4. A549-NRU assay 由来の LC_{50} 値に基づく TIPS 用 LD_{50} 推定値

共同研究者である小川及び高須の研究グループにより確立された算出式に基づき、A549-NRU assay から得られた *in vitro* LC_{50} 値を用いて TIPS 用 LD_{50} 推定値を算出した。本研究で新たに得られた 13 物質の LC_{50}（A549-NRU）値及び TIPS 用 LD_{50} 推定値は、実施中の TIPS 試験における初期投与量設定に用いられている。

C-3) 毒物/劇物判定と暴露経路に関する情報収集

49 化合物のうち、経口および吸入による急性毒性のデータが揃っている物質は 45 化合物であった。得られた LD_{50} 及び LC_{50} から求めた GHS 区分を比較したところ、経口による急性毒性区分が吸入による急性毒性区分を上まわるもの（経口区分 4, 吸入区分 3 あるいは 2 など）が 38 化合物（84.4%）、経口による急性毒性区分と吸入による急性毒性区分が同等のものが 6 化合物（13.3%）であった。また、経口による急性毒性区分が吸入による急性毒性区分を下まわるもの（経口区分 2, 吸入区分 3）は 1 化合物（2.2%）であった。

さらに、経口暴露と吸入暴露で毒物劇物分類が変わらないものは 14 化合物（31.1%）であり、経口暴露では規制対象外で吸入暴露では劇物に分類されるものは 20 化合物（44.4%）、経口暴露では劇物で吸入暴露では毒物に分類されるものは 4 化合物（8.9%）、経口暴露では規制対象外で吸入暴露では毒物に分類されるものは 6 化合物（13.3%）であった。また、経口暴露では毒物に分類され吸入暴露では劇物に分類されるものは 1 化合物（2.2%）認められた。

D．考察

D-1-1) TIPS 法における LD_{50} と全身吸入暴露試験法における LD_{50} 及び *in vitro* Neutral red assay における LC_{50} の比較

本年度 TIPS 法による LD_{50} が得られた 3 物質を加えた計 27 物質について、毒劇物判定における本法の有用性を検討する目的で、LD_{50}（TIPS）に基づいた GHS 分類を行い、既報の吸入による急性毒性の有害性区分と比較した。その結果、21 物質は TIPS 法による有害性区分が既報の区分と概ね一致した。27 物質のうち毒劇物区分外（GHS 区分 4）の 5 物質はいずれも有害性区分が概ね一致したことから、毒劇物判定における本法の有用性が示唆された。フェノール類、カルボキシル基及びアミノ基を有する 5 物質（o-クロロフェノール、ヘキサヒドロ-1H-アゼピン、アクリル酸、2-ジメチルアミノエタノール、N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン）では TIPS 法でより強い有害性区分に分類され、麹らが実施した *in vitro* Neutral red assay で強い細胞毒性を示し、組織学的検索で気管及び肺に重度な呼吸上皮壊死が観察された。さらに、既報の皮膚刺激性の GHS 分類においても強い有害性区分（GHS 区分 1）に分類されていた。以上より、TIPS 法の結果に基づいて GHS 分類した場合、細胞傷害性や刺激性が強い物質は、吸入試験に比較して強い有害性区分に分類される可能性があると考えられた。

一方、*in vitro* Neutral red assay における細胞毒性がより軽度であり、既報において皮膚刺激性に関して GHS 区分 2 以上に分類された物質は、概ね既報と同程度の有害性区分に分類された。さらに TIPS 法では呼吸器以外の臓器に対する影響も検出可能であり、呼吸器系の軽度な傷害に加えて神経系への影響がみられた物質で LD_{50}（TIPS）が LD_{50}（NRU assay）よりも低値を示した。

現在さらに GHS 区分 4（毒劇物区分外）に分類される 3 物質について、TIPS 法による急性毒性試験を実施中である。

D-1-2) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における呼吸器及び全身諸臓器の毒性評価による吸入毒性機序解析

令和 7 年度までに TIPS 法による急性気管内投与毒性試験及び病理組織学的検査を実施した物質は計 24 物質となった。いずれの被験物質も投与日から投与後 3 日の死亡例において気管から肺胞上皮にかけて壊死が観察され、肺の急性炎症、うっ血、水腫、出血がみられた。24 物質のうち *in vitro* Neutral red assay において細胞毒性が強い上位 6 物質（クロロアセトン、o-クロロフェノール、ヘキサヒドロ-1H-アゼピン、アクリル酸、2-ジメチルアミノエタノール及びテトラメチルエチレンジアミン）は気管から肺に特に重度の壊死が認められ、細胞毒性の強さとの関連性が示唆された。

令和 7 年度に病理組織学的検査を実施した 3 物質は、一般状態観察における呼吸器系に関する所見及び病理組織学的検査で認められた気管及び肺における所見は軽度な傾向がみられた。また呼吸器系以外の影響として以下の所見が認められた。

①血液系への影響を示唆する所見として、2-イソブトキシエタノールで赤色尿、脾臓のうっ血が認められた。
②神経系への影響を示唆する所見として、メチルヒドラジンで強直性痙攣、マロノニトリルで振戦及び間代性痙攣が認められた。なお、病理組織学的検査において、脳を含め呼吸器系以外の臓器に被験物質投与による影響は認められなかった。

令和 7 年度までに全身諸臓器の毒性評価を実施した被験物質のうち神経系への影響を示唆する所見が認められた 5 物質（メチルヒドラジン、マロノニトリル、メタクリロニトリル、酢酸アリル、アリルアルコール）では、いずれも LD_{50}（TIPS）が LD_{50}（NRU assay）よりも低値であり、投与部位局所における細胞毒性に加え

て神経系への影響が *in vivo* 試験における死亡率に関与している可能性が示唆された。一方、血液系への影響を示唆する所見がみられた 3 物質（2-イソブトキシエタノール、アニリン、ブトキシエタノール）では、LD_{50}（TIPS）が LD_{50}（NRU assay）よりも高値であったことから急性気管内投与における血液系への影響の死亡率への関与は比較的軽度である可能性が示唆された。

D-1-3) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における難水溶性物質投与のための新規投与媒体の検討

昨年度までの検討において、人工肺サーファクタントが難水溶性物質であるキシレンの溶解性を改善することを確認している。今年度は、人工肺サーファクタントを本法における難水溶性物質の新規投与媒体として適用する可能性について検討した。

TIPS 法による急性気管内投与毒性試験と同様の条件で人工肺サーファクタント様液をラットに投与した結果、一般状態、体重、肺重量ならびに肺の病理組織学的検査において、人工肺サーファクタント様液投与に関連した変化は認められなかった。さらに、ズダンブラックを指標とした肺内分布の画像解析においても、人工肺サーファクタント様液投与群と生理食塩水群との間に有意な差は認められず、本試験条件下では生理食塩水と同程度の肺内分布を示す可能性が示された。

以上より、人工肺サーファクタント様液は、TIPS 法による急性気管内投与毒性試験における難水溶性物質投与の媒体として適用できる可能性が示された。そこで、ビス(2-クロロエチル)エーテルを被験物質として、人工肺サーファクタント様液を媒体とした急性気管内投与毒性試験を実施した。その結果、生理食塩水への溶解限界を上回る濃度で被験物質を調製・投与でき、本剤の LD_{50} を判定することができた。今後、本剤の病理組織学的検査を実施するとともに、人工肺サーファクタント様液を媒体とした試験事例を蓄積して、投与媒体としての適用性をさらに検証する。

D-2) *in vitro* 試験のデータ収集

本研究では、先行研究において小川班により構築された A549-NRU assay を用い、新たに 13 物質について *in vitro* LC_{50}（A549-NRU）値を算出した。その結果、これまでに検討した 48 物質を含む解析と同様に、水溶性物質及びアルデヒド・ケトン官能基を有する化学物質において、*in vitro* LC_{50} 値とラット 4 時間吸入暴露試験由来の *in vivo* LC_{50} 値との間に正の相関が認められた。このことから、類似した物理化学的特性や官能基を有する化学物質では、共通した毒性発現特性を示す可能性が示唆された。

また、concordance 評価では、7 割以上の物質において、A549-NRU assay から得られた *in vitro* LC_{50} 値とラット 4 時間吸入暴露試験由来の *in vivo* LC_{50} 値との差が ±1 log10 単位以内の範囲に収まった。この結果は、A549-NRU assay により得られる細胞毒性情報が、急性吸入毒性評価における *in vitro* 予測評価系として有用であることを支持するものである。したがって、本 assay は、急性吸入毒性評価における *in vitro* 試験代替法として、毒劇物指定に資する評価手法となり得ると考えられる。

さらに、A549-NRU assay 由来の LC_{50} 値に基づいて算出した TIPS 用 LD_{50} 推定値は、実施中の TIPS 試験における初期投与量設定に活用されている。これにより、TIPS 試験の投与量設定をより合理的かつ効率的に行うことが可能となり、*in vivo* 試験の効率化及び使用動物数の削減にも寄与することが期待される。すなわち、A549-NRU assay は、急性吸入毒性評価における *in vitro* 予測評価系として有用であるとともに、TIPS 試験の初期投与量設定に科学的根拠を与える評価手法としても有用であると考えられる。

一方で、本 assay の適用性は、化学物質の水溶性や官能基特性に依存する可能性があり、すべての化学物質に一律に適用できるとは限らない。特に、肝毒性や神経毒性など、肺局所の細胞毒性以外の機序により急性毒性を示す物質については、A549-NRU assay のみでは毒性を十分に反映できない可能性がある。今後は、適用可能な化学物質の範囲をより明確にするとともに、より広範な化学物質を対象とした追加検証を通じて、本手法の妥当性及び実用性をさらに検討する必要がある。

D-3) *in vitro* 試験のデータ収集

検討した 45 化合物のうち、約 80%は経口暴露よりも吸入暴露において急性毒性が高度であった。特に、規制対象外から劇物または毒物に分類が変わる化合物が約 50%を占めていた。更に劇物から毒物に分類が変わる化合物も認められた。このことから、吸入による毒性が懸念される化合物については、経口暴露の急性毒性データから毒物劇物の判断をすることは適切ではないと考えられた。

Ｅ．結論

E-1) ラットを用いた TIPS 法による急性気管内投与毒性試験

2-イソブトキシエタノールにおいて血液系への影響、メチルヒドラジン及びマロノニトリルにおいて神経系への影響が認められ、TIPS 法では呼吸器以外の臓器に対する影響も検出可能であった。特にメチルヒドラジン及びマロノニトリルを含め神経系への影響が認められた 5 物質はいずれも LD_{50}（TIPS）が LD_{50}（NRU assay）よりも低値であり、*in vivo* 試験における死亡率に関与している可能性が示唆された。また本年度に TIPS 法に

よる急性気管内投与毒性試験を実施したテトラヒドロフラン、メチルエチルケトンを含む毒劇物区分外（GHS 区分 4）に分類される 5 物質は、いずれも有害性区分が既報の区分と概ね一致し、毒劇物判定における本法の有用性が示唆された。

E-2) *in vitro* 試験のデータ収集

本研究により、A549-NRU assay は、急性吸入毒性評価における *in vitro* 予測評価系として有用であり、毒劇物指定に資する *in vitro* 試験代替法となり得ることが示された。また、本 assay から得られた LC$_{50}$ 値に基づいて TIPS 試験における初期投与量を設定することは、投与量設定に科学的根拠を与えるとともに、*in vivo* 試験の効率化、使用動物数の削減及び評価精度の向上に資すると考えられる。さらに、本研究で得られた知見は、実施中の TIPS 試験への適用を通じて検証が進められており、急性吸入毒性評価における *in vitro* 試験代替法としての妥当性及び実用性の検証、並びに手法のさらなる精緻化に寄与する基盤的知見を提供するものと考えられる。

E-3) *in vitro* 試験のデータ収集

今回検討した 45 化合物の結果からは、吸入による急性毒性は、経口による急性毒性よりも高度になる場合が多いため、吸入による暴露シナリオが想定される化合物については、経口による毒性評価をそのまま外挿することは不適切であると考えられた。該当する化合物の毒物又は劇物の指定においては、吸入による毒性評価を実施するか、あるいは、化合物の特徴に即した適切な換算方法を考慮する必要性があると考えられた。

F．研究発表

１．論文発表

1. Akane, H., Toyoda, T., Matsushita, K., Uneyama, M., Morikawa, T., Kosaka, T., Tajima, H., Aoyama, H., Ogawa, K. Comparisons of the sensitivity of histopathological and immunohistochemical analyses with blood hormone Levels for early detection of antithyroid effects in rats treated with promoters of thyroid hormone metabolism. Toxicol Pathol. 2025; 53: 251-266.
2. Matsushita, K., Tsuji, G., Akane, H., Ishii, Y., Takasu, S., Ogawa, K., Ito, T., Yokoo, H., Sennari G., Iwatsuki, M., Hirose, T., Hanaki, H., Demizu, Y., Hirabayashi, Y., Saito, Y., Honma, M., Toyoda, T. A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats. J Toxicol Pathol. 2025; 38: 223-236.
3. Yoshida A., Hashimoto, Y., Akane, H., Matsuyama, S., Toyoda, T., Ogawa, K., Saito, Y., Kikura-Hanajiri, R., Arakawa, N. Analysis of stratifin expression and proteome variation in a rat model of acute lung injury. J Proteome Res. 2025; 24: 1941-1955.
4. Matsushita, K., Akane, H., Akagi, J., Morikawa, M., Mizuta, Y., Ogawa, K., Toyoda, T. Possible involvement of tubular interleukin-34 in macrophage recruitment during colistin-induced nephrotoxicity in rats. J Toxicol Sci. 2026; 51: 163-172.
5. Vachiraarunwong A, Fujioka M, Alexander DB, Suzuki S, Guo R, Qiu G, Kawamura Y, Shibano K, Noura I, Praseatsook K, Akane H, Takasu S, Tsuda H, Ogawa K, Wanibuchi H, Gi M. Developing a novel in vitro toxicity assay for predicting inhalation toxicity in rats. Toxicol Lett. 2026; 415: 111803.
6. Maeda-Tateishi, T., Nagata, Y., Imanishi, Y., Hirakawa, T., Tan, SS., Emoto, M., Gi, M. Evaluation of tumor clonality with chemical carcinogenesis in a mouse model of visualized X chromosome inactivation. J Toxicol Pathol. 2025; 39(1):31-38.
7. Saleh DM, Ahmed OHM, Alexander DB, Alexander WT, Ogawa K, Gi M, Naiki-Ito A, Abdallah S, Tsuda H. Use of the TIPS Technique as a Possible Method of Acute Inhalation Toxicity Assessment. J Appl Toxicol. 2026; 46(4): 1232-1245.
8. Ahmed OHM, Saleh DM, Alexander WT, Takase H, Taquahashi Y, Hojo M, Maeno A, Fukamachi K, Gi M, Hirose A, Tsuruoka S, Takahashi S, Tsuda H, Naiki-Ito A. Comparative Carcinogenicity of Double-Walled Carbon Nanotubes of Different Lengths Administered by Intratracheal Installation into Rat Lungs. Nanomaterials (Basel). 2025; 15(18): 41067725.
9. Gi M, Suzuki S, Saleh DM, Ahmed OHM, Alexander WT, Fujioka M, Vachiraarunwong A, Guo R, Qiu G, Noura I, Kakehashi A, Xie XL, Tsuruoka S, Hirose A, Naiki-Ito A, Tsuda H, Wanibuchi H. Comparative Gene Expression Analysis of Malignant Mesothelioma and Lung Adenocarcinomas Induced by Multi-Walled Carbon Nanotube-7 and Double-Walled Carbon Nanotubes in Rats: Distinct Molecular Signatures and Canonical Pathways. Nanomaterials (Basel). 2025; 15(23): 41369478.
10. Guo R, Gi M, Kiyono T, Vachiraarunwong A, Suzuki S, Fujioka M, Qiu G, Praseatsook K, Kawamura Y, Kakehashi A, Noura I, Xie X, Wanibuchi H. Construction of a Novel 3D Urinary Bladder Mucosa Model and Its Application in Toxicity Assessment of Arsenicals. Toxics. 2025; 13(10): 41150527.
11. Turner MC, Godderis L, Guenel P, Hopf N, Quintanilla-Vega B, Soares-Lima SC, Chaiklieng S, Da Silva J, Fustinoni S, Gi M, Heck JE, Huaux F, Johanson G, Kirkeleit J, Kirsanov K, Richiardi L, Teixeira JP, Terron A, Topinka J, White MC, Benbrahim-Tallaa L, Facchin C, Kunzmann A, Madia F, Pasqual E, Wedekind R, Deng X, Suonio E, Viegas S, Barry A, Dolatkhah R, Dongoran RA, Gonzalez-Gil EM, Onyije FM, Mattock H, de Conti A, Schubauer-Berigan MK. Carcinogenicity of automotive gasoline and some oxygenated gasoline

additives. Lancet Oncol. 2025; 26 (5): 548-549.

12. Suzuki S, Gi M, Yanagiba Y, Yoneda N, Uehara S, Yokota Y, Noura I, Fujioka M, Vachiraarunwong A, Kakehashi A, Koda S, Suemizu H, Wanibuchi H. Metabolism and effects of acetoaceto-o-toluidine in the urinary bladder of humanized-liver mice. J Toxicol Pathol. 2025; 38(1): 59-67.
13. Praseatsook K, Vachiraarunwong A, Taya S, Setthaya P, Sato K, Wanibuchi H, Wongpoomchai R, Dejkriengkraikul P, Gi M, Yodkeree S. Anticancer and Antioxidant Effects of Bioactive Peptides from Black Soldier Fly Larvae (Hermetia illucens). Nutrients. 2025; 17(4): 40004973.
14. Praseatsook K, Vachiraarunwong A, Sato K, Dissook S, Wanibuchi H, Taya S, Wongpoomchai R, Dejkriengkraikul P, Gi M, Yodkeree S. Chemopreventive Effects of Bioactive Peptides Derived from Black Soldier Fly Larvae Protein Hydrolysates in a Rat Model of Early-Stage Colorectal Carcinogenesis. Int J Mol Sci. 2025; 26(13).
15. Noura I, Suzuki S, Gi M, Fujioka M, Matsue T, Kakehashi A, Wanibuchi H. Comparative analysis of the toxic effects on the mouse lung of 4 weeks exposure to the heated tobacco product Ploom TECH+ and 3R4F reference cigarettes. J Toxicol Pathol. 2025; 38(2): 147-154: 40649735.
16. Nakano M, Gi M, Toyooka T, Suzuki S, Wanibuchi H, Takebayashi T. Occupational health topics series on the effects of chemicals: epidemiological and toxicological risk assessments of ortho-toluidine for bladder cancer. J Occup Health. 2025; 67(1): 39930727.
17. Kakehashi A, Suzuki S, Nishidoi Y, Hagihara A, Ikenaga H, Shiota M, Qiu G, Noura I, Kuwae Y, Vachiraarunwong A, Fujioka M, Gi M, Kawada N, Wanibuchi H. The Impact of Peroxiredoxin 3 on Molecular Testing, Diagnosis, and Prognosis in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Cancers (Basel). 2025; 17(13): 40647510.
18. Fujioka M, Suzuki S, Gi M, Noura I, Vachiraarunwong A, Kakehashi A, Wanibuchi H. Nicotine promotes the development of invasive bladder carcinoma in rats. J Toxicol Pathol. 2025; 38(2): 161-165.

２．学会発表

1. 赤根弘敏，高須伸二，畝山瑞穂，森川朋美，小坂忠司，青山博昭，小川久美子，豊田武士．免疫組織化学的解析を用いたヨウ素取込み及び脱ヨウ素酵素阻害剤のラットにおける抗甲状腺作用の評価:（日本毒性病理学会第 42 回総会及び学術集会、令和 8 年 1 月、愛知）
2. 赤根弘敏，松下幸平、畝山瑞穂、森川朋美、高須伸二、小川久美子、豊田武士．病理組織学的及び免疫組織化学的解析を用いた VA-K-14 のラットにおける抗甲状腺作用機序の評価：日本癌学会第 84 回学術総会（令和 7 年 9 月、石川）
3. 赤根弘敏，畝山瑞穂，森川朋美，小坂忠司，青山博昭，小川久美子，豊田武士．ラット 28 日間反復投与毒性試験における病理組織学的及び免疫組織化学的解析による TSH 産生阻害剤の検出および機序推定：（日本毒性学会第 52 回学術年会、令和 7 年 7 月、沖縄）
4. 豊田武士，赤根弘敏，石井雄二，小川久美子．ラット反復経口投与毒性試験における抗甲状腺物質の検出および機序推定：（日本毒性学会第 52 回学術年会、令和 7 年 7 月、沖縄）
5. 畝山瑞穂，赤根弘敏，森川朋美，豊田武士．Crl:CD(SD)ラットにおける Perfluorobutanesulfonic acid の生体影響解析：（日本毒性学会第 52 回学術年会、令和 7 年 7 月、沖縄）
6. 松下幸平, 辻厳一郎, 赤根弘敏, 石井雄二, 高須伸二, 小川久美子, 伊藤貴仁, 横尾英知, 出水庸介, 平林容子, 斎藤嘉朗, 本間正充, 豊田武士. プベルル酸のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験：（日本毒性学会第 52 回学術年会、令和 7 年 7 月、沖縄）
7. 赤木純一, 水田保子, 畝山瑞穂, 赤根弘敏, 松下幸平, 豊田武士, 小川久美子. 異なる結晶子径の二酸化チタン粒子の 90 日間反復経口投与によるラット小腸パイエル板における免疫毒性影響の検討：（日本毒性学会第 52 回学術年会、令和 7 年 7 月、沖縄）
8. 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、Arpamas Vachiraarunwong、梯アンナ、鰐渕英機．芳香族アミンによる職業性膀胱がん:（第 114 回日本病理学会総会、令和 7 年 4 月、宮城）
9. Arpamas Vachiraarunwong、魏民、藤岡正喜、鈴木周五、邱桂鈺、郭潤傑、野浦郁恵、梯アンナ、Kwanchanok Praseatsook、鰐渕英機．ラットの急性吸入毒性を予測する新規 *in vitro* 毒性試験系の開発：（第 52 回日本毒性学会学術年会、令和 7 年 7 月、沖縄）
10. 梯アンナ、ワチラアルンウオン　アルパマス、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機、鈴木周五. MAFLD/MASH 肝発がんマーカーや分子機序への最近の洞察:（第 38 回発癌病理研究会、令和 7 年 8 月、千葉）
11. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、梯アンナ、鰐渕英機. 有機ヒ素化合物ジメチルアルシン酸のマウス経胎盤ばく露による肝発がん機序の検討：(2025 年度文部科学省学術変革領域研究【先端モデル動物支援プラットフォーム】若手支援技術講習会、令和 7 年 9 月、長野)

12. 梯アンナ、西土井悠作、邱桂鈺、ワチラアルンウオン　アルパマス、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機、鈴木周五．ヒト浸潤性膵管癌における新規早期診断マーカーとしての PRDX3 の検討及び発がん機序解明：（がん予防学術大会 2025、令和 7 年 9 月、名古屋）
13. Arpamas Vachiraarunwong, Kwanchanok Praseatsook, Rawiwan Wongpoomchai, Shugo Suzuki, Anna Kakehashi, Masaki Fujioka, Hideki Wanibuchi, Supachai Yodkeree, Min Gi. Chemopreventive Potential of Bioactive Peptides Derived from Black Soldier Fly Larvae：（がん予防学術大会 2025、令和 7 年 9 月、名古屋）
14. 郭潤傑、Arpamas Vachiraarunwong、鈴木周五、藤岡正喜、Guiyu Qiu、河村百合菜、梯アンナ、鰐渕英機、魏民．DMH 投与ラットにおける大腸発がん初期の遺伝子発現変動：（第 84 回日本癌学会学術総会、令和 7 年 9 月、石川）
15. 邱桂鈺、魏民、鈴木周五、藤岡正喜、Arpamas Vachiraarunwong、Runjie Guo、野浦郁恵、河村百合菜、鰐渕英機．カーボンナノチューブ誘発ラット肺発がんにおける物性の違いを踏まえた遺伝子発現変化の比較：（第 84 回日本癌学会学術総会、令和 7 年 9 月、石川）
16. Arpamas Vachiraarunwong, Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Ikue Noura, Kawamura Yurina, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi, Min Gi. Structure-Dependent Hepatotoxicity and Carcinogenic Potential of PFASs in Immortalized Human Liver Cells：（第 84 回日本癌学会学術総会、令和 7 年 9 月、石川）
17. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、Vachiraarunwong Arpamas、郭潤傑、河村百合菜、大石裕司、梯アンナ、鰐渕英機．ジメチルアルシン酸(DMA)の経胎盤ばく露による F1 マウスにおける発がん性の検討：（第 84 回日本癌学会学術総会、令和 7 年 9 月、石川）
18. 梯アンナ、西土井悠作、野浦郁恵、邱桂鈺、ワチラアルンウオン　アルパマス、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機、鈴木周五．ヒト浸潤性膵管癌における新規診断及び予後マーカーとして Peroxiredoxin 3 の解析：（第 84 回日本癌学会学術総会、令和 7 年 9 月、石川）
19. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、ワシラアルンウオン　アルパマス、邱桂鈺、郭潤傑、鰐渕英機．有機ヒ素化合物ジフェニルアルシン酸の経胎盤ばく露による F1 マウス肝発がん機序における DNA メチル化異常の関与：（メタルバイオサイエンス研究会 2025、令和 7 年 9 月、東京）
20. 邱桂鈺、魏民、鈴木周五、藤岡正喜、梯アンナ、ワシラアルンウオン　アルパマス、野浦郁恵、郭潤傑、鰐渕英機．有機ヒ素化合物ジフェニルアルシン酸の発達期ばく露によるラット海馬に及ぼす影響：（メタルバイオサイエンス研究会 2025、令和 7 年 9 月、東京）
21. Arpamas Vachiraarunwong, Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Ikue Noura, Kawamura Yurina, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi, Min Gi. Comparative hepatotoxicity of carboxylate and sulfonate per- and polyfluoroalkyl substances in immortalized human hepatocytes：（第 52 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、令和 7 年 10 月、大阪）
22. 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機．動物モデルを用いた職業性膀胱がんの研究について：（第 52 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、令和 7 年 10 月、大阪）
23. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、Vachiraarunwong Arpamas、野浦郁恵、邱桂鈺、河村百合菜、大石裕司、山口貴嗣、鰐渕英機．有機ヒ素化合物ジメチルアルシン酸の経胎盤ばく露による次世代雄性マウスにおける肝発がん機序の検討：（第 30 回ヒ素シンポジウム、令和 7 年 12 月、大阪）
24. Arpamas Vachiraarunwong, Masaki Fujioka, Shugo Suzuki, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Yurina Kawamura, Ikue Noura, Anna Kakehashi, Min Gi, Hideki Wanibuchi. Comparative evaluation of responses to inorganic arsenicals and their metabolites in of Toxicology 2026 Annual Meeting and ToxExpo, San Diego, U.S.A. (Mar. 22-25, 2026)
25. Min Gi, Arpamas Vachiraarunwong, Masaki Fujioka, Yurina Kawamura, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi, Shugo Suzuki. A novel in vitro toxicology assay for predicting inhalation toxicity in rats. Society of Toxicology 2026 Annual Meeting and ToxExpo, San Diego, U.S.A. (Mar. 22-25, 2026)
26. Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Guiyu Qiu, Arpamas Vachiraarunwong, Anna Kakehashi, and Min Gi. Evaluation of the Hepatoxic Effects of Various PFAS in a Short-Term Rat Study. Society of Toxicology 2026 Annual Meeting and ToxExpo, San Diego, U.S.A. (Mar. 22-25, 2026)

G. 知的所有権の取得状況

１．特許取得

該当なし

２．実用新案登録

該当なし

３．その他

該当なし

参考文献

1) Numano T, Higuchi H, Alexander DB, Alexander WT, Abdelgied M, El-Gazzar AM, Saleh D, Takase H, Hirose A, Naiki-Ito A, Suzuki S, Takahashi S, Tsuda H. MWCNT-7 administered to the lung by intratracheal instillation induces development of pleural mesothelioma in F344 rats. Cancer Sci. 2019; 110(8):2485-2492.
2) Saleh DM, Alexander WT, Numano T, Ahmed OHM, Gunasekaran S, Alexander DB, Abdelgied M, El-Gazzar AM, Takase H, Xu J, Naiki-Ito A, Takahashi S, Hirose A, Ohnishi M, Kanno J, Tsuda H. Comparative carcinogenicity study of a thick, straight-type and a thin, tangled-type multi-walled carbon nanotube administered by intra-tracheal instillation in the rat. Part Fibre Toxicol. 2020; 17(1):48.
3) Vachiraarunwong A, Fujioka M, Alexander DB, Suzuki S, Guo R, Qiu G, Kawamura Y, Shibano K, Noura I, Praseatsook K, Akane H, Takasu S, Tsuda H, Ogawa K, Wanibuchi H, Gi M. Developing a novel in vitro toxicity assay for predicting inhalation toxicity in rats. Toxicol Lett. 2026: 415:111803.
4) Bide RW, Armour SJ, Yee E. Allometric respiration/body mass data for animals to be used for estimates of inhalation toxicity to young adult humans. J Appl Toxicol. 2000: 20(4):273-90. 2000.
5) Nakahara H. Study of novel artificial lung surfactants incorporating partially fluorinated amphiphiles. Yakugaku Zasshi. 2012; 132(7):817-22.