

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分 担 研 究 報 告 書（令和2年度）

ナノ酸化チタン及びナノ銀の経口反復投与毒性と体内動態解析

研究代表者： 小川 久美子（国立医薬品食品衛生研究所 病理部 部長）

研究協力者：赤木 純一(国立医薬品食品衛生研究所 病理部 主任研究官)

研究要旨

0.2% DSP に懸濁した結晶子径 6 nm のアナターゼ型ナノサイズ二酸化チタン（50 パーセントイル二次粒子径約 200 nm）を F344/DuCrj ラットに 10、100、1000 mg/kg bw/day の用量で 28 日間反復経口投与したところ、全ての群で死亡はみられず、体重、一般状態、血液学的検査、および臓器重量に毒性学的に有意な変化は見られなかった。血液生化学的検査では、雌の 1000 mg/kg bw/day 群でトリグリセリドの有意な増加が見られた。引き続き、肝臓中のチタン濃度定量および病理組織学的検査を実施してナノサイズ二酸化チタンの 28 日間反復経口投与による亜急性毒性を検討する。

キーワード：ナノサイズ二酸化チタン、亜急性毒性

A. 研究目的

二酸化チタン (TiO₂) は産業界で最も多く製造されているナノ材料の一つである。TiO₂は不溶性かつ不活性であるため、一般には人体に影響の少ない化合物とされている。経口摂取による TiO₂の安全性について、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) による安全性評価では TiO₂ は毒性の低い A (1) に分類され、毒性学的に摂取量を制限する必要がないとされており、日本および各国において食品添加物として認可されている (蒲生昌志 編(2011)ナノ材料リスク評価書 -二酸化チタン(TiO₂)-, 最終報告版: 2011.7.22)。動物実験では食品添加物として用いられている TiO₂ (AEROXIDER TiO₂ P25, KRISS CRM 301-03-001、一次粒子径 14-21nm、平均二次粒子径 142.9 ± 43.97 nm、アナターゼ 80%ルチル 20%、純度 99.9%) の 90 日間混餌投与における無毒性量 (NOAEL) は最高投与量である 1000 mg/kg であり (Heo, M.B. et al. *Particle Fibre Toxicol.* (2020) 17, 34)、発生毒性試験において異なる粒子径を持つ顔料グレードまたは超微粒子/

ナノスケール TiO₂ (投与液中の 50 パーセントイル粒子径 (D₅₀) = 42~213 nm) の NOAEL は、いずれも最高投与量である 1000 mg/kg/日である (Warheit, D.B. et al., *Regul. Toxicol. Pharmacol.* (2015) 73, 887-896)。一方で、食品グレードの TiO₂ (E171) を 100 日間投与した場合には、ヘルパー T 細胞の増殖が抑制されるとともに大腸の微小炎症が促進され、前腫瘍性病変 (異常陰窩巢) が発生するとともに、化学的に誘発された発がんモデルで異常陰窩巢の成長の促進が見られたとの報告がある (Bettini, S. et al., *Sci. Rep.* (2017) 7, 40373)。また TiO₂ ナノ粒子のラットへの経口投与では肝、腎、心、雄性生殖器の障害、酸化ストレスの誘発、炎症性サイトカインの増加、免疫系のバランス異常などの毒性が報告されている (Shakeel, M. et al., *Biol. Trace. Elem. Res.* (2016) 172, 1-36)。これまでに一次粒子径 10 nm 以下の TiO₂ を用いた亜慢性毒性試験の報告はないことから、本実験では一次粒子径 6 nm のアナターゼ型 TiO₂ (D₅₀ = 約 200 nm) をラットに 28 日間反復経口投与し、生体への影響を明らか

にすることで、ヒトに対する健康影響リスク評価に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

1. 被験物質および投与量

結晶子径 6 nm の 100%アナターゼ型ナノサイズ二酸化チタン（テイカ株式会社 AMT-100、純度 93%）を被験物質として使用した。食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針に基づき高用量を 1000 mg/kg bw/day とし、毒性情報がないこと、および粒子径 10 nm のナノサイズ銀投与により肝臓のうっ血、単細胞壊死を伴い個体が瀕死や死亡に至る高度の毒性が見られた（Cho et al, J. Toxicol. Pathol. 2018 31, 73–80）ことから用量範囲を広く取るために中用量、低用量をそれぞれ 100 および 10 mg/kg bw/day と設定した。

被験物質は固体であるため、ラットへの強制経口投与試験を実施するため、懸濁液の調製方法を検討した。投与量を 10 ml/kg bw としたときの高用量の投与液濃度である 100 mg/ml で AMT-100 を超純水に懸濁すると速やかに沈降分離が見られ、超音波照射（Bioruptor II-Type 12, ON 30 sec/OFF 30 sec × 60 cycles, High power）後も、非照射サンプルとほぼ同様に沈降分離した。分散剤として 0.2% リン酸水素二ナトリウム（DSP）を用いると、肉眼上、均一な乳状の懸濁液が得られ、静置 30 分以内に分離は見られなかった（Figure 1）。この懸濁液中における個数分布に基づく 50 パーセントイル二次粒子径（液中粒子径）は約 200 nm であった（Figure 2）。DSP は食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）に基づく食品添加物として食品への使用が認められており、0.2% DSP を 10 ml/kg bw 投与したときのリン摂取量は 4.36 mg/kg bw であり最大耐容摂取量 70 mg/kg bw（リンとして）（TRS 683-JECFA 26/25, 1982）を十分下回ることから DSP による毒性影響はないと考えられた。以上より、0.2% DSP を分散剤として用いた 100 mg/ml AMT-100 を投与液として使用することとした。

2. 動物および飼育条件

5 週齢の F344/DuCrj ラット雌雄各 20 匹を日本チャールス・リバーより購入し、基礎飼料（CRF-1；オリエンタル酵母工業）および水道水にて 1 週間馴化飼育後、6 週齢で実験に供した。動物は温度 23±1°C、湿度 50±5%、換気回数 20 回/時、12 時間の明暗サイクルに制御されたバリアーシステムの飼育室で飼育した。床敷としてソフトチップ（三協ラボサービス）を敷いたポリカーボネート製箱型ケージに 5 匹ずつ収容し、ケージおよび床敷を週 2 回の頻度で交換した。動物実験は国立医薬品食品衛生研究所動物実験委員会の審査・承認を経て、同所の定める「動物実験の適正な実施に関する規定」を遵守して行った。動物は投与開始日の体重に基づいて、雌雄とも各群の平均体重の標準偏差が最小になるように 1 群 5 匹からなる 4 群に分け、試験期間中は基礎飼料および水道水を自由摂取させた。

3. 強制経口投与

ポリテトラフルオロエチレン製フレキシブルチューブ（長さ：85mm、外径：1.46mm、頭部：2.4mm、フチガミ器械）を用いて TiO₂ 懸濁液を毎日 1 回 28 日間強制経口投与した。実験期間中、一般状態および死亡動物の有無を毎日観察し、体重および摂餌量を週 1 回測定した。動物は投与期間終了後に一晩絶食させ、イソフルラン吸入麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血を行った後、放血により安楽死させた。

4. 血液学および血液生化学的検査

採取した血液の一部を抗凝固剤（EDTA-2K）入りの試験管（ベノジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社）に移し、血液学的検査として赤血球数（RBC）、ヘモグロビン量（HGB）、ヘマトクリット値（HCT）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、血小板数（PLT）および白血球数（WBC）、網状赤血球数（RET）、白血球分画（好中球；NEUT、好酸球；EO、好塩基球；BASO、単球；MONO、リンパ球；LYMPH）を自動血球計算装置 IDEXX

プロサイト Dx (アイデックスラボラトリーズ株式会社) を用いて測定した。

血清生化学的検査では、総タンパク (TP)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、アルブミン (ALB)、総ビリルビン (T-BIL)、グルコース (GLU)、トリグリセリド (TG)、総コレステロール (T-CHO)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CRE)、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)、アラニントランスアミナーゼ (ALT)、アルカリフォスファターゼ (ALP) および γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ -GT) の各項目を測定した。

5. 剖検および臓器重量

採血後に動物を放血死させ、剖検を実施するとともに、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、卵巣あるいは精巣を摘出し、重量を測定した。また、上記の組織に加え胸骨、気管、大動脈、甲状腺、舌、食道、胃、小腸 (十二指腸、空腸、回腸)、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、膵臓、膀胱、精囊、前立腺、精巣上体、子宮、膣、下垂体、大腿筋、坐骨神経、三叉神経、脊髄を摘出し、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。

6. 統計学的処理

試験期間中の体重、摂餌量、血液学的・血清生化学的検査結果及び器官重量については各群の分散を Bartlett の方法で検定し、多重比較を Dunnett 等の方法により対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行い、 $P < 0.05$ の場合を統計学的に有意と判定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は「国立医薬品食品衛生研究所動物実験に関する指針」に従い、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。動物愛護の精神に則って動物飼育を行い、動物の処置は倫理規定に十分配慮して熟練者が実施し、実験終了時、

動物はすべてイソフルランの深吸入麻酔下で大動脈からの脱血により安楽死させ、動物に与える苦痛を最小限に留めた。

C. 研究結果

1. 生存率、体重、摂餌量

試験期間中、雌雄すべての群において死亡はみられなかった。一部の動物で軟便および活動性の低下が一過性に観察されたが、群間に有意な差は見られなかった (Table 1)。雌雄ともに投与に伴う体重の変化は見られず、摂餌量も同程度であった (Figure 3)。

2. 血液学的および血液生化学的検査

血液学的検査結果を Table 2 に示した。雄の 10 mg/kg bw/day 群で WBC の有意な低下が見られたが、軽微な変化であり、用量相関性がないことから偶発的な変動と考えられた。雌の 1000 mg/kg bw/day 群で MCH の有意な低下が見られたが、軽微な変化であり、RBC、HGB、MCV および MCHC には変動が見られなかったことから毒性学的な意義は乏しいと考えられた。

血液生化学的検査では、雌の 1000 mg/kg bw/day 群で TG の有意な増加が見られた (Table 3)。また雄の 100 および 1000 mg/kg bw/day 群で CRE の有意な低下が見られたが、腎毒性を示唆する変動とは逆の変化であるため毒性学的な意義は乏しいと考えられた。

3. 臓器重量

剖検日体重及び臓器重量を Table 5 (雄) 及び 6 (雌) に示した。雄の 10 mg/kg bw/day 群で脾臓の相対重量の有意な増加が見られたが、軽微な変化であり、用量相関性がないことから偶発的な変動と考えられた。その他の臓器には相対重量、絶対重量とも有意な差は見られなかった。

D. 考察

0.2% DSP に懸濁した結晶子径 6 nm のアナターゼ型ナノサイズ TiO₂ (50 パーセントイル二次粒子

径約 200 nm) を F344/DuCrj ラットに 10、100、1000 mg/kg bw/day の用量で 28 日間反復経口投与したところ、全ての群で死亡はみられず、体重および一般状態に変化は見られなかった。血液生化学的検査では、雌の 1000 mg/kg bw/day 群で TG の有意な増加が見られた。

E. 結論

引き続き、血液生化学検査、肝臓中のチタン濃度定量、および病理組織学的検査を実施しナノサイズ TiO₂ の 28 日間反復経口投与による亜急性毒性を検討する。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

Table 1. General conditions of F344/DuCrj rats treated with titanium dioxide for 4 weeks

Dose (mg/kg bw/day)		0	10	100	1000
Findings	Day				
<i>Male</i>					
No. of animals		5	5	5	5
Loose stools	9	-	-	1	-
	18	1	1	-	-
	23	-	-	1	-
Low activity	16	-	-	-	1
<i>Female</i>					
No. of animals		5	5	5	5
Loose stools	9	-	-	-	1
Low activity	14	-	1	-	-

Table 2. Haemaology of F344/DuCrj rats treated with titanium dioxide for 4 weeks

Dose (mg/kg bw/day)	0	10	100	1000
<i>Male</i>				
No. of animals	5	5	5	5
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	8.90 \pm 0.53	8.91 \pm 0.25	8.90 \pm 0.42	9.03 \pm 0.21
HGB (g/dL)	15.5 \pm 0.8	15.4 \pm 0.4	15.5 \pm 0.6	15.5 \pm 0.2
HCT (%)	45.2 \pm 3.0	45.1 \pm 1.6	45.3 \pm 2.0	45.7 \pm 0.7
MCV (fL)	50.7 \pm 0.7	50.5 \pm 0.4	50.9 \pm 0.6	50.6 \pm 0.4
MCH (pg)	17.5 \pm 0.2	17.2 \pm 0.2	17.4 \pm 0.2	17.2 \pm 0.1
MCHC (g/dL)	34.4 \pm 0.5	34.1 \pm 0.4	34.2 \pm 0.3	34.0 \pm 0.1
RET (%)	3.16 \pm 0.35	3.03 \pm 0.20	2.97 \pm 0.18	3.01 \pm 0.20
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	512 \pm 289	751 \pm 60	730 \pm 76	774 \pm 22
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	6.75 \pm 1.10	4.73 \pm 0.83 *	5.89 \pm 1.21	5.10 \pm 0.74
Differential Cell count				
NEUT (%)	19.7 \pm 5.18	23.7 \pm 4.05	28.6 \pm 7.14	26.5 \pm 2.03
LYMPH (%)	75.8 \pm 5.50	72.9 \pm 4.13	66.8 \pm 6.95	69.8 \pm 2.49
MONO (%)	2.78 \pm 0.99	2.56 \pm 0.46	3.30 \pm 1.80	2.72 \pm 0.49
EO (%)	1.52 \pm 0.99	0.72 \pm 0.15	0.98 \pm 0.45	0.76 \pm 0.20
BASO (%)	0.20 \pm 0.06	0.12 \pm 0.10	0.24 \pm 0.10	0.26 \pm 0.12
<i>Female</i>				
No. of animals	5	5	5	5
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	9.06 \pm 0.22	9.05 \pm 0.25	9.23 \pm 0.31	9.17 \pm 0.10
HGB (g/dL)	16.1 \pm 0.3	16.1 \pm 0.5	16.3 \pm 0.5	16.1 \pm 0.2
HCT (%)	46.8 \pm 1.0	46.4 \pm 1.6	47.4 \pm 1.7	46.8 \pm 0.6
MCV (fL)	51.6 \pm 0.6	51.2 \pm 0.4	51.3 \pm 0.4	51.1 \pm 0.5
MCH (pg)	17.8 \pm 0.1	17.8 \pm 0.1	17.7 \pm 0.2	17.5 \pm 0.1 **
MCHC (g/dL)	34.4 \pm 0.3	34.8 \pm 0.3	34.4 \pm 0.1	34.3 \pm 0.3
RET (%)	2.52 \pm 0.16	2.62 \pm 0.24	2.58 \pm 0.27	2.53 \pm 0.40
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	707 \pm 43	670 \pm 184	598 \pm 237	740 \pm 98
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	4.35 \pm 1.26	4.04 \pm 1.07	4.18 \pm 1.11	4.90 \pm 1.97
Differential Cell count				
NEUT (%)	17.6 \pm 2.76	17.7 \pm 4.36	16.9 \pm 4.83	18.1 \pm 5.89
LYMPH (%)	77.4 \pm 2.79	74.4 \pm 10.86	78.1 \pm 4.14	77.2 \pm 6.29
MONO (%)	3.24 \pm 0.48	3.26 \pm 0.80	3.24 \pm 0.48	2.80 \pm 0.53
EO (%)	1.52 \pm 0.45	4.34 \pm 5.78	1.56 \pm 1.03	1.64 \pm 0.44
BASO (%)	0.18 \pm 0.10	0.36 \pm 0.32	0.20 \pm 0.11	0.30 \pm 0.11

Values are mean \pm S.D. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with 0 mg/kg bw/day group.

Table 3. Serum biochemistry of F344/DuCrj rats treated with titanium dioxide for 4 weeks

Dose (mg/kg bw/day)	0	10	100	1000
<i>Male</i>				
No. of animals	5	5	5	5
TP (g/dL)	6.02 ± 0.17	6.10 ± 0.11	6.18 ± 0.15	6.02 ± 0.07
ALB (g/dL)	4.26 ± 0.16	4.34 ± 0.05	4.40 ± 0.09	4.26 ± 0.10
A/G	2.42 ± 0.10	2.48 ± 0.17	2.48 ± 0.17	2.44 ± 0.19
BUN (mg/dL)	21.82 ± 2.74	20.68 ± 0.72	20.56 ± 1.09	20.16 ± 1.59
CRE (mg/dL)	0.348 ± 0.047	0.296 ± 0.022	0.282 ± 0.017 *	0.280 ± 0.020 *
Na (mEq/L)	142.6 ± 0.8	143.4 ± 1.0	143.8 ± 0.7	142.6 ± 1.0
K (mEq/L)	5.06 ± 1.41	4.30 ± 0.38	4.02 ± 0.19	4.28 ± 0.10
Cl (mEq/L)	100.8 ± 2.0	101.6 ± 0.5	101.2 ± 1.2	101.2 ± 0.4
Ca (mg/dL)	10.56 ± 0.72	10.54 ± 0.28	10.44 ± 0.26	10.24 ± 0.27
IP (mg/dL)	8.24 ± 1.43	7.26 ± 1.07	6.92 ± 0.54	7.18 ± 0.24
AST (IU/L)	100.8 ± 25.2	108.6 ± 46.3	88.0 ± 9.5	80.4 ± 2.9
ALT (IU/L)	41.6 ± 1.6	43.2 ± 2.1	42.2 ± 2.5	39.8 ± 3.8
ALP (IU/L)	809.8 ± 42.3	790.4 ± 51.2	815.6 ± 32.2	796.6 ± 12.0
r-GT (IU/L)	<3	<3	<3	<3
T-CHO (mg/dL)	58.2 ± 3.7	55.2 ± 6.5	56.0 ± 4.1	56.4 ± 4.2
TG (mg/dL)	61.6 ± 13.4	47.8 ± 6.6	54.0 ± 9.7	54.4 ± 4.5
T-BIL (mg/dL)	0.048 ± 0.007	0.048 ± 0.004	0.056 ± 0.008	0.050 ± 0.011
GLU (mg/dL)	157.0 ± 38.9	139.2 ± 15.7	136.0 ± 10.9	145.2 ± 11.4
<i>Female</i>				
No. of animals	5	5	5	5
TP (g/dL)	5.80 ± 0.21	5.86 ± 0.12	5.96 ± 0.33	5.94 ± 0.15
ALB (g/dL)	4.24 ± 0.14	4.30 ± 0.11	4.36 ± 0.23	4.34 ± 0.05
A/G	2.74 ± 0.10	2.80 ± 0.11	2.76 ± 0.17	2.72 ± 0.26
BUN (mg/dL)	20.82 ± 1.19	19.52 ± 1.75	21.04 ± 1.44	21.08 ± 1.24
CRE (mg/dL)	0.324 ± 0.019	0.312 ± 0.021	0.338 ± 0.050	0.318 ± 0.017
Na (mEq/L)	143.4 ± 1.0	143.4 ± 0.5	143.2 ± 0.7	143.0 ± 0.6
K (mEq/L)	3.90 ± 0.11	3.92 ± 0.07	3.96 ± 0.29	3.92 ± 0.12
Cl (mEq/L)	103.8 ± 0.7	103.2 ± 1.2	103.6 ± 1.0	103.6 ± 0.5
Ca (mg/dL)	9.80 ± 0.46	9.90 ± 0.30	10.14 ± 0.08	10.10 ± 0.17
IP (mg/dL)	6.44 ± 0.22	6.80 ± 0.50	6.58 ± 0.61	6.82 ± 0.39
AST (IU/L)	106.0 ± 28.8	88.0 ± 12.5	87.8 ± 9.2	77.0 ± 4.6
ALT (IU/L)	35.4 ± 2.2	32.6 ± 2.3	33.0 ± 2.8	34.6 ± 3.6
ALP (IU/L)	567.6 ± 25.0	589.0 ± 56.6	585.2 ± 24.1	592.2 ± 33.5
r-GT (IU/L)	<3	<3	<3	<3
T-CHO (mg/dL)	74.0 ± 6.5	78.6 ± 8.0	75.8 ± 8.7	78.8 ± 3.2
TG (mg/dL)	21.4 ± 8.3	24.8 ± 7.7	21.2 ± 7.8	42.8 ± 10.2 **
T-BIL (mg/dL)	0.054 ± 0.010	0.056 ± 0.008	0.046 ± 0.015	0.056 ± 0.016
GLU (mg/dL)	92.8 ± 9.1	89.2 ± 4.3	92.4 ± 15.6	102.6 ± 5.1

Values are mean ± S.D. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with 0 mg/kg bw/day group.

Table 4. Organ weights of F344/DuCrj rats treated with titanium dioxide for 4 weeks

Dose (mg/kg bw/day)	0	10	100	1000
<i>Male</i>				
No. of animals	5	5	5	5
Body weight (g)	209.5 ± 6.1	207.6 ± 8.5	207.8 ± 14.6	209.2 ± 9.7
Absolute (g)				
Brain	1.801 ± 0.063	1.839 ± 0.044	1.831 ± 0.024	1.816 ± 0.024
Thymus	0.279 ± 0.025	0.282 ± 0.019	0.291 ± 0.016	0.276 ± 0.035
Lungs	0.739 ± 0.052	0.772 ± 0.054	0.756 ± 0.055	0.783 ± 0.044
Heart	0.717 ± 0.059	0.719 ± 0.047	0.715 ± 0.058	0.702 ± 0.047
Spleen	0.480 ± 0.024	0.498 ± 0.017	0.476 ± 0.033	0.481 ± 0.026
Liver	6.007 ± 0.984	5.573 ± 0.269	5.500 ± 0.515	5.518 ± 0.435
Adrenals	0.034 ± 0.003	0.035 ± 0.002	0.036 ± 0.005	0.038 ± 0.003
Kidneys	1.417 ± 0.098	1.439 ± 0.085	1.377 ± 0.088	1.369 ± 0.090
Testes	2.652 ± 0.097	2.754 ± 0.032	2.700 ± 0.208	2.620 ± 0.264
Relative (%)				
Brain	0.860 ± 0.019	0.887 ± 0.021	0.885 ± 0.061	0.870 ± 0.046
Thymus	0.133 ± 0.011	0.136 ± 0.008	0.141 ± 0.008	0.132 ± 0.015
Lungs	0.352 ± 0.020	0.372 ± 0.014	0.364 ± 0.007	0.374 ± 0.012
Heart	0.342 ± 0.020	0.346 ± 0.014	0.344 ± 0.016	0.335 ± 0.009
Spleen	0.229 ± 0.006	0.240 ± 0.005 **	0.229 ± 0.004	0.230 ± 0.002
Liver	2.858 ± 0.383	2.685 ± 0.061	2.642 ± 0.082	2.634 ± 0.087
Adrenals	0.016 ± 0.002	0.017 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.018 ± 0.001
Kidneys	0.676 ± 0.029	0.693 ± 0.021	0.663 ± 0.014	0.654 ± 0.019
Testes	1.267 ± 0.051	1.329 ± 0.053	1.299 ± 0.039	1.257 ± 0.149
<i>Female</i>				
No. of animals	5	5	5	5
Body weight (g)	134.0 ± 5.5	131.8 ± 2.8	133.4 ± 3.8	131.0 ± 4.4
Absolute (g)				
Brain	1.693 ± 0.046	1.678 ± 0.057	1.680 ± 0.042	1.699 ± 0.031
Thymus	0.228 ± 0.014	0.233 ± 0.009	0.225 ± 0.017	0.214 ± 0.012
Lungs	0.625 ± 0.032	0.611 ± 0.054	0.586 ± 0.025	0.566 ± 0.023
Heart	0.504 ± 0.007	0.507 ± 0.034	0.492 ± 0.023	0.497 ± 0.010
Spleen	0.347 ± 0.016	0.342 ± 0.008	0.356 ± 0.017	0.344 ± 0.021
Liver	3.421 ± 0.094	3.446 ± 0.111	3.326 ± 0.134	3.267 ± 0.150
Adrenals	0.041 ± 0.004	0.043 ± 0.004	0.040 ± 0.003	0.040 ± 0.002
Kidneys	0.928 ± 0.067	0.929 ± 0.046	0.949 ± 0.030	0.956 ± 0.033
Ovaries	0.053 ± 0.004	0.055 ± 0.008	0.055 ± 0.016	0.048 ± 0.010
Relative (%)				
Brain	1.266 ± 0.076	1.273 ± 0.026	1.259 ± 0.018	1.298 ± 0.052
Thymus	0.171 ± 0.011	0.177 ± 0.004	0.168 ± 0.014	0.164 ± 0.011
Lungs	0.466 ± 0.015	0.463 ± 0.036	0.439 ± 0.016	0.433 ± 0.019
Heart	0.377 ± 0.014	0.384 ± 0.019	0.369 ± 0.023	0.380 ± 0.013
Spleen	0.259 ± 0.003	0.260 ± 0.006	0.267 ± 0.008	0.263 ± 0.017
Liver	2.556 ± 0.095	2.614 ± 0.052	2.493 ± 0.100	2.494 ± 0.102
Adrenals	0.031 ± 0.003	0.033 ± 0.003	0.030 ± 0.001	0.031 ± 0.001
Kidneys	0.692 ± 0.023	0.704 ± 0.022	0.711 ± 0.024	0.730 ± 0.028
Ovaries	0.040 ± 0.002	0.042 ± 0.006	0.041 ± 0.011	0.037 ± 0.007

Values are mean ± S.D. ** $P < 0.01$ compared with 0 mg/kg bw/day group.

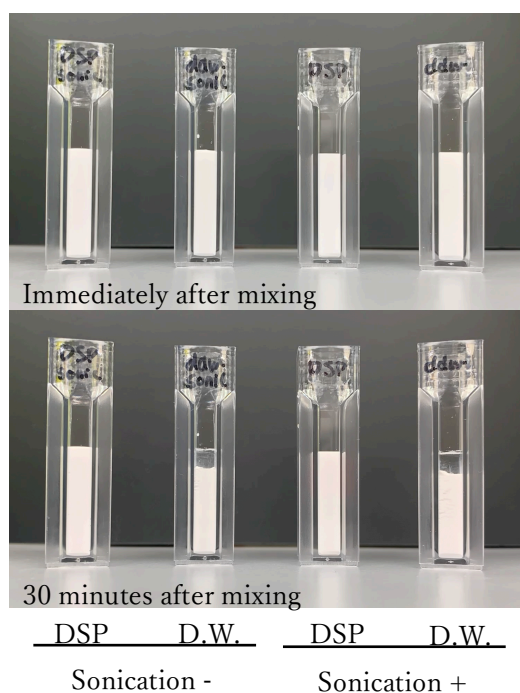


Figure 1. Comparison of solvents for TiO₂
 TiO₂ : AMT-100 (primary diameter 6 nm)
 Concentration : 100 mg/ mL
 Solvent : 0.2% Na₂HPO₄ (DSP) or distilled water (D.W.)

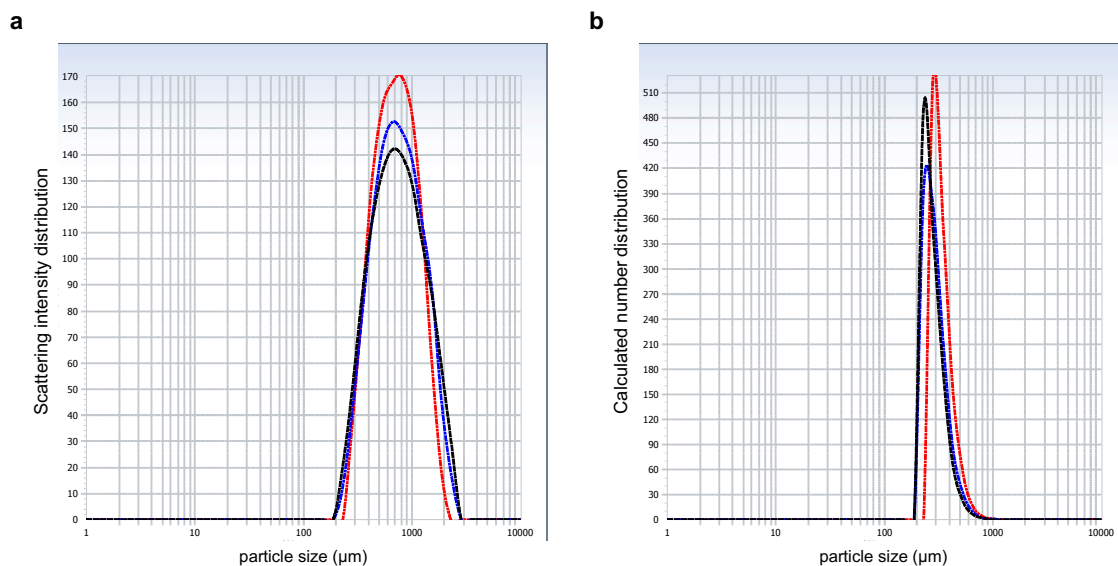


Figure 2. Scattering intensity distribution (a) and calculated number distribution (b) of titanium dioxide suspended in 0.2% disodium phosphate measured by dynamic light scattering.

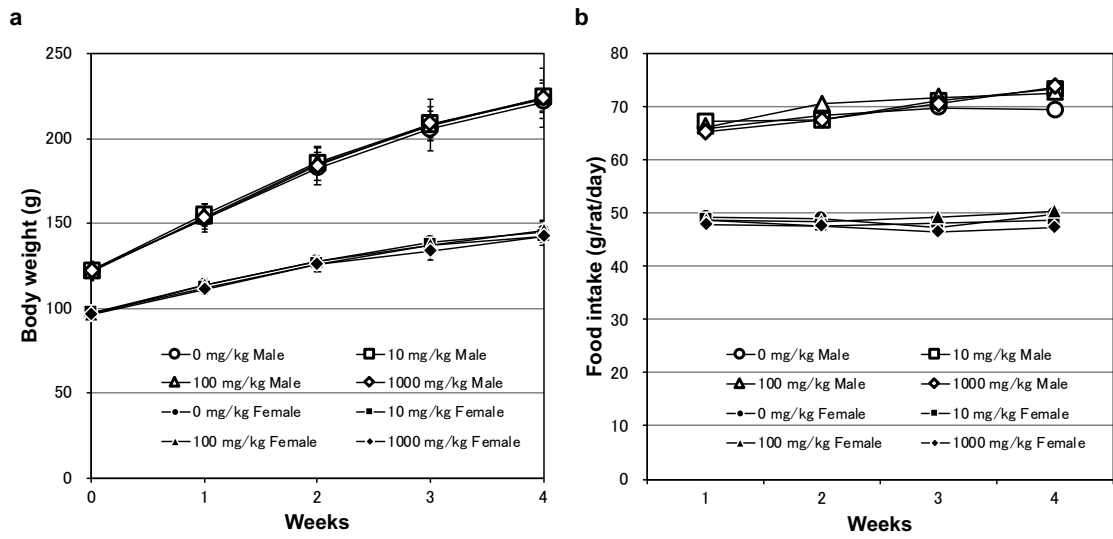


Figure 3. Body weight (a) and daily food intake (b) of male and female F344/DuCrj rats orally administered titanium dioxide for 4 weeks.