

令和2年度 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）  
分担研究報告書

研究課題名：ナノマテリアル曝露による慢性影響の効率的評価手法開発に関する研究

分担研究課題名：ナノマテリアルの気管内投与暴露評価手法の開発に関する研究

研究分担者：津田 洋幸 名古屋市立大学津田特任教授研究室・特任教授

研究協力者：David B. Alexander 名古屋市立大学特任教授

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

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

Sivagami Gunasekaran 名古屋市立大学大学院医学研究科研究生

Omnia Hosni Mohamed Ahmed 名古屋市立大学津田特任教授研究室研究員

### 研究要旨

目的：長さの異なる2層カーボンナノチューブ（DWCNT）について、慢性毒性・発がん性の差異の程度と有無について、当該研究室が開発した繊維および粒子状物質の経気管肺内噴霧投与（TIPS法）による実験を実施した。

方法：F344雄ラットを用いて長さが1.5、7.0および15 $\mu$ mのDWCNTをラット1匹当たり0.125、0.25gおよび0.5mg/ラット、投与本数は $22 \times 10^{12}$ 本/ラットとなるように重さを調整して投与した。陽性対照としてMWCNT-7を0.5mg/ラット、無処置と分散剤PF68含有生理食塩水のみを投与した群とした。投与終了後4および104週後に屠殺した。

結果：肺腫瘍（adenoma+carcinoma）の発生頻度において各長さ群の合計において、無処置群および分散剤群と比べて有意の増加（ $P < 0.05$ ）が見られた（10/30）。MWCNT-7ではハウ選手が1例発生した。悪性中皮腫（malignant mesothelioma）は15 $\mu$ m群に2/10例hA生物学的には有意と考えられた。MWCNT-7では11/13であり、胸膜中皮に対して強い発がん性を示すことが確認された。

結論：1.5、7.0および15 $\mu$ m投与群のDWCNTの肺発がん性は1.5~15 $\mu$ mの範囲で発がん性があると考えられる。15 $\mu$ m群では悪性中皮腫が2例見られ、生物学的に有意と考える。またMWCNT-7の胸膜中皮における強い発がん性が再確認された。

### A. 研究目的

異なる長さの2層カーボンナノチューブ（DWCNT）について、慢性毒性・発がん性における障害性と発がん性の有無とその程度についてMWCNT-7との比較において、当該研究室が開発してきた繊維および粒子状物質の経気管肺内噴霧投与（TIPS法）による実験を実施した。

### B. 研究方法

方法 F344雄ラットを用いて長さが1.5、7.0および15 $\mu$ mのDWCNTをラット1匹当たり0.125、0.25gおよび0.5mg/ラット、投与本数は $22 \times 10^{12}$ 本/ラットとなるように投与重量を調整して投与した。MWCNT-Nは0.5mg/ラットとした

### C. 結果：

腫瘍 (adenoma+carcinoma) と悪性中皮腫の発生頻度において、

- 1) 長さの異なる DWCNT について、各長さ群と対照及び長さの相互間の発生頻度には有意差はみられなかった。
- 2) 3つの長さ群の合計 (20/30) において、対照との有意差が見られた。
- 3) 15  $\mu\text{m}$  群の2例の悪性中皮腫の発生は生物学的に有意と考えられる。
- 4) 発がんに関与する初期変化 (2週屠殺群) について解析中にある。

### D. 考察

長さの異なる DWCNT について、今までの報告で 0.7  $\mu\text{m}$  の MWCNT の腹腔内投与では発がん性はみられなかった (Muller, 2009)。しかし我々の TIPS 投与において長さが 1.5、7.0、15  $\mu\text{m}$  の DWCNT は肺発がん性を及ぼすことが明らかとした。また 15  $\mu\text{m}$  群の2例の悪性中皮腫の発生は、MWCNT-7 の様なある程度以上の (1.5~15  $\mu\text{m}$ ) MWCNT に対して実際の暴露を考慮したリスク評価データとして有用と考える。

### E. 結論。

DWCNT の 1.5、7.0 および 15  $\mu\text{m}$  長さの TIPS 投与において、それぞれの長さ群には肺発がん性に有意差は見られなかったがそれらの合計において発がん性のあることは示された。MWCNT-7 の胸膜中皮における強い発がん性が再確認された。

### F. 研究発表

1. 論文発表
  - 1) W Wang Q., Zhao Z., Alexander DB, Zhao D., Jiegou Xu, Tsuda H. Pleural translocation and lesions by pulmonary exposed multi-walled carbon nanotubes, *J. Toxic. Pathol.*, 33(3):145-151, 2020
  - 2) Saleh D., Alexander TW., Numano T., Ahmed M.H.O., Gunasekaran S., Alexander DB., Abdelgied M., El-gazzar AM., Takase H., Jiegou Xu., Naiki-ito A., Takashi S., Hirose A., Ohnishi M., Kanno J.,

Tsuda H. Comparative carcinogenicity study of a thick, straight-type and a thin, tangled-type multi-walled by carbon nanotube administered by intra-tracheal instillation in the rat. *Particle and Fibre Toxicology*, 17:48, 2020, <https://doi.org/10.1186/s12989-020-00382-y>

- 3) Sudo H., Tsuji AB., Sugyo A., Kurosawa G., Kurosawa Y., Alexander DB., Tsuda H., Saga T., Higashi T. Radiolabeled Human Monoclonal Antibody 067-213 has the Potential for Noninvasive Quantification of CD73 Expression. *Int. J. Mol. Sci.* 21(7); 2304 2020, <https://doi.org/10.3390/ijms21072304>

### 2. 学会発表

- 1) Saleh D., Alexander TW., T Numano T., Ahmed M.H.O., Gunasekaran S., Alexander DB., Abdelgied M., El-gazzar AM., Takase H., Naiki-ito A., Takashi S., Hirose A., Ohnishi M., Kanno J., Tsuda H. Thin-Tangled Multi Walled Carbon Nano Tubes are carcinogenic to the rat lung after administration by intra-tracheal instillation. Virtual 2021 SOT Annual Meeting & ToxExpo, March, 2021

### H. 知的財産所有権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他