

研究課題名：ナノマテリアルの物理化学的性状を考慮した肺、胸腔及び全身臓器における有害性の評価ならびに新規 *in vitro* 予測手法の開発に関する研究（20KD1003）

分担研究課題名：経気管肺内噴霧投与（TIPS）法によるカーボンナノチューブ有害性の解析

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

研究要旨

15層以上の多層壁カーボンナノチューブ（MWVNT）およびチタン酸カリウム線維には肺または胸膜中皮に発がん性のあることを明らかにしてきた。それらは肺内では異物として体内に残留するが代謝分解はされない。一方、ニトロサミン類のような化学発癌物質は生体内で代謝活性化されて最終的にDNA障害をもたらす。MWCNTの発がんリスク評価をについて両者の発がんにおける遺伝子発現差異を明らかにする。方法はF344雄ラットに剛質線維型（Rigid fibrous）のMWCNT-N（肺・胸膜中皮に発癌性あり）ともつれ線維型（Tangled）のMWCNT-B（肺発癌性あり）を1回/週にて総投与量1.5mg/ラットを投与し、肺発がん機序についての比較対照として既知の発癌物質 N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine（DHPN）を4000mg/kg およびタバコ煙発癌物質 4-(methyl-nitrosamin)-1-(3-pyridyl)-1-butanone（NNK）を200mg/kg となるように1回/週にて4週間（計4回）投与した。これらの処置による肺発がんについてRNAマイクロアレイ発現解析、病理所見に関連する遺伝子変化、とくに腫瘍病変における標的シグネチャーを詳細に解析する。結果は国際的に通用するAdverse Outcome Pathway(AOP)を構築し、OECDナノマテリアル作業グループ（WPMN）に提案できる評価法の開発に資するデータの提示をめざす。投与終了後無処置にて17ヶ月経過中で、DHPN投与群の肺胞上皮がんの発生が得られ、現在腫瘍におけるマイクロアレイ解析およびDNAシグネチャー解析を実施中である。

A. 研究目的

2層以上の多層壁カーボンナノチューブ（MWVNT）は、肺または胸膜中皮に発がん性のあることを明らかにしてきた。それらは肺内では異物として体内に残留するが代謝分解はされない。一方、ニトロサミン類のような化学発癌物質は生体内で代謝活性化されて最終的にDNA障害をもたらす。MWCNTの発がんリスク評価をについて両者の発がんにおける遺伝子発現差異を明らかにして、MWCNTの発がんの分子機序を明らかにする。

B. 研究方法

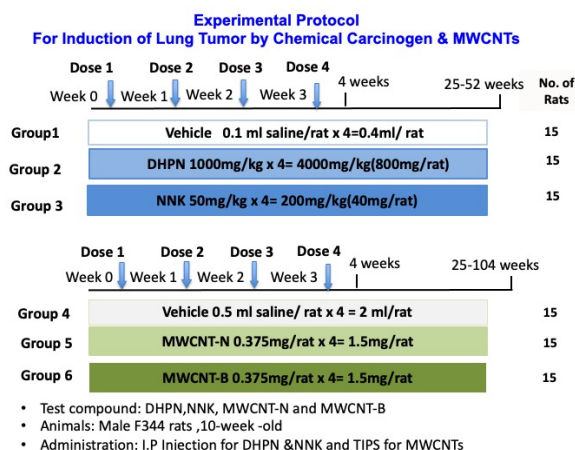
F344雄ラットに剛質線維（Rigid fiber）型のMWCNT-N（肺と胸膜中皮に発癌性あり）と綿菓子線維（Tangled fiber）型のMWCNT-B（肺に発癌性あり）を1回/週にて総投与量1.5mg/ラットを投与し、肺発がん機序についての比較対照として既知の発癌物質 N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine（DHPN）を4000mg/kg およびタバコ煙発癌物質 4-

(methyl-nitrosamin)-1-(3-pyridyl)-1-butanone（NNK）を200mg/kg となるように1回/週にて4週間（計4回）投与した。これらの処置による肺発がんについてRNAマイクロアレイ発現解析、病理所見に関連する遺伝子変化、とくに腫瘍病変における標的シグネチャーを詳細に解析する。結果は国際的に通用するAdverse Outcome Pathway(AOP)を構築し、OECDナノマテリアル作業グループ（WPMN）に提案できる評価法開発に資するデータの提示をめざす。

（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、当該法令の規程に基づく各施設の動物実験倫理委員会の審査を経た上で研究を実施する。ヒト組織から得た材料を用いる研究は行わない。

実験デザイン図



C. 研究結果

現在 52 週を経過した状態で DHPN 群において衰弱屠殺ラットより肺腫瘍が得られていてシグネチャーを詳細に解析中にある。ほかの発癌物質投与群については解析に適する肺腫瘍はまだ得られていない。来年度中に腫瘍発生が得られる予定である。また、非腫瘍部について病理組織学的ならびに増殖並びに発がん関連遺伝子等についてマイクロアレイ解析を進めつつある。

D. 考察

まだ結果が得られていない。

E. 結論

まだ結果が得られていない。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Wang Qiqi, Wang Qiong, Zhao Z, Fan J, Qin L, Alexander DB, **Tsuda H**, Zhao D and Xu J. Surfactant Proteins A/D-CD14 on Alveolar Macrophages Is a Common Pathway Associated With Phagocytosis of Nanomaterials and Cytokine Production. *Frontiers in Immunology*. 12: 1-13, 2021.
2. Tanaka H, Gunasekaran S, Saleh D, Alexander TW, Alexander DB, Ohara H, **Tsuda H**. Effects of oral bovine lactoferrin on a mouse model of inflammation associated colon cancer. *Biochem Cell Biol*. 99: 159-165, 2021.

2. 学会発表

1. Dina Mourad Saleh, Shengyong Luo, David B.

Alexander, Ahmed M. EL-Gazzar, Mohammed Abdelgaied, Omnia Hosny Mohammed, William T. Alexander, Sivagami Gunasekaran, Takamasa Numano, Hiroshi Takase, Makoto Ohnishi, Satoru Takahashi, **Hiroyuki Tsuda**. Comparative toxicity and carcinogenicity pulmonary study of double walled carbon nanotubes (DWCNT) with multi walled carbon nanotubes-7 (MWCNTS-7) in rat model, 第48回 日本毒性学会学術年会 (2021年7月、神戸)

2. Dina Mourad Saleh, Omnia Hosny Mohamed Ahmed, David B. Alexander, William T. Alexander, Sivagami Gunasekaran, Takamasa Numano, Hiroshi Takase, Makoto Ohnishi, Satoru Takahashi, Masako Yudasaka, Ryota Yuge, **Hiroyuki Tsuda**. Short term pulmonary toxicity study of carbon nano-horns (CNH) and carbon nano-brushes (CNB) using intra tracheal method, 第38回 日本毒性病理学会、(2022年1月、神戸/ハイブリッド開催)
3. Dina Mourad Saleh, Omnia Hosny Mohamed Ahmed, David B. Alexander, William T. Alexander, Hiroshi Takase, Makoto Ohnishi, Susumu Tomono, Jun Kanno, Akihiko Hirose, Satoru Takahashi, **Hiroyuki Tsuda**. Two-Year study for the Assessment of the carcinogenic and toxic effect of double walled carbon nanotubes in the rat lung after intratracheal instillation, Society of Toxicology, (2022年3月, San Diego)

G. 知的財産所有権の出願・登録状況

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。