

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
ナノマテリアルの短期吸入曝露等による免疫毒性に関する *in vitro/in vivo* 評価手法
開発のための研究

令和4年度 分担研究報告書

ナノマテリアルの免疫制御システムへの影響評価研究

研究分担者	石丸 直澄	徳島大学大学院医歯薬学研究部 教授
研究協力者	常松 貴明	徳島大学大学院医歯薬学研究部
	牛尾 綾	徳島大学大学院医歯薬学研究部
	木野 倫子	徳島大学大学院医歯薬学研究部
	大塚 邦紘	徳島大学病院
	菅 野 純	国立医薬品食品衛生研究所
	高橋 祐次	国立医薬品食品衛生研究所
	横田 理	国立医薬品食品衛生研究所
	辻 昌貴	国立医薬品食品衛生研究所
	森田 紘一	国立医薬品食品衛生研究所
	菅 康佑	国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

ナノマテリアル（NM）はその組成や形状によってマクロファージなどの食食細胞の反応性は大きく異なっている。令和4年度の本分担研究では、マウスへのナノシリカ（NM201）の吸入曝露による肺の免疫システムに関して、気管支肺胞洗浄液（BALF）細胞を中心に細胞表面分子、サイトカイン、ケモカインおよび炎症関連分子の遺伝子およびタンパク発現を免疫学的手法にて検討を加えた。NM201の全身吸入曝露後4週間での肺胞マクロファージのM2タイプへの分化亢進が認められた。また、NM201の吸入曝露によってBALF細胞のCD54及びCD163の発現には影響はなかったが、曝露後4週でのMMP12の発現の亢進が確認された。一方で、曝露マウスの脾細胞での単球・マクロファージの細胞数が減少していたこと、脾臓でのマクロファージにおけるCD54ならびにCD163発現に変化が見られたことから、NM201曝露による肺胞マクロファージの増加は脾臓を含めたリンパ組織から遊走した可能性が考えられた。以上のことから、ナノマテリアルの形状及び性状によって、曝露による肺胞マクロファージの分化パターンが異なり、NM201の場合はM2タイプへの分化が進み、経時的にその分化傾向は無くなっていくものと考えられた。

A. 研究目的

R 4 年度の本研究では、ナノシリカ (NM201) の全身吸入暴露による肺胞マクロファージを中心とした肺免疫システムへの影響に関して、免疫学的手法を用いて検討を加えた。また、ナノシリカを含めたナノマテリアルに対する骨髄由来マクロファージを用いて、*in vitro* での実験系を確立することで、ナノシリカとマクロファージの詳細な反応性を検討した。ナノマテリアルの形状あるいは性状による免疫系の変化を詳しく検討することで、ナノマテリアルの毒性の評価系の確立を目指した。

B. 研究方法

Taquann 処理を施した NM201 を 0、15、30 mg/m³ の濃度で 1 日 6 時間 5 日間の暴露を全身暴露装置を用いて実施した。本実験では雄 C57BL/6NCrSlc マウスを用いた (8 週齢、各群 N=5)。BALF 細胞、肺組織、頸部リンパ節、脾臓のサンプリングを行なった。

BALF 細胞、頸部リンパ節細胞、脾細胞を用いて、各種表面抗原に対する抗体を用いてフローサイトメータによる解析を行なった。用いた抗体は以下である。FITC、PE、PE-Cy7、APC または APC-Cy7 標識 CD4、CD8、CD11b、CD11c、F4/80、CD192、CD206、CD54、CD163 抗体 (BioLegend、Tombo) を用いた。

BALF 細胞および肺組織より mRNA を抽出し、cDNA 合成後定量 RT-PCR により遺伝子発現を評価した。以下に定量 RT-PCR で用いたプライマー配列を示す。MMP12; forward (f) 5'-TGGTATTCAAGGAGATGCACATTT-3', reverse (r) 5'-GGTTTGTGCCTTGAAAACCTTTTAGT-3', F4/80; (f) 5'-CTTTGGCTATGGGCTTCCAGTC-3', (r) 5'-GCAAGGAGGACAGAGTTTATCGTG-3', (r) 5'-CCAGGTAGCTATGGTACTCCAGAA-3', Tim4; (f) 5'-GCTGCTTCCAACAACAGTCA-3', (r) 5'-GTGATTGGATGCAGGCAGAG-3', β-actin; (f)

5'-GTGGGCCGCTCTAGGCACCA-3', (r) 5'-CGGTTGGCCTTAGGGTTCAGGGGG-3'。

マウス骨髄由来マクロファージの作成に関しては、雄マウス (C57BL/6、7 週齢) の大腿骨より骨髄細胞を採取し、リコンビナント M-CFS (100 ng/mL) 添加培地にて 7 日間培養することで成熟マクロファージに分化させた。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた動物実験に関しては、実験動物に関する取り扱いについて使用する動物の苦痛の軽減や安楽死の方法などを中心として国立医薬品食品衛生研究所および徳島大学実験動物委員会において定められている倫理面に配慮した実験動物運営規定に基づき、厳格な審査を経た上で実施されている。また、ナノマテリアルの暴露・漏洩を防止する対策については万全を期して実施している。

C. 研究結果

図 1 に示すスケジュールにて 1 日 6 時間で 3 群にそれぞれの濃度で NM201 を暴露後、4 週ならびに 8 週で解析を実施した。

BALF 細胞中の肺胞マクロファージの解析に関しては図 2 (上段) のような gating strategy にて実施した。BALF 細胞の細胞数、BALF 細胞中の CD45.2 陽性リンパ球分画の細胞数、BALF 細胞中の肺胞マクロファージの割合ならびにその細胞数に関してそれぞれの群、暴露後 4 週、8 週での変化を検討したが、それぞれの群間で有意な差は確認されなかった (図 2 下段)。

NM201 暴露後 4 週での肺胞マクロファージの M1 及び M2 への分化パターンを細胞表面抗原 (CD192: M1/ CD206: M2) を用いてフローサイトメータにて検討したところ、NM201 暴露にて M1 への分化、M2 への分

化ともに認められたが、特に、M2 タイプへの分化が対象群に比較して有意に亢進していた（図 3）。暴露後 8 週では対象群と暴露群（高濃度、低濃度）に分化パターンの差は認められなかった（図 3）。

NM201 吸入暴露による脾臓でのマクロファージの動態を検討すると、暴露後 4 週及び 8 週にて対象群に比較してマクロファージの割合は有意に減少していた（図 4）。マクロファージの細胞数に大きな変化はなかった（図 4）。頸部リンパ節での暴露によるマクロファージの割合、細胞数に変化は見られなかった（図 4）。

脾臓ならびに頸部リンパ節でのマクロファージ分化について検討を加えたところ、脾臓において NM201 暴露によって M1 ならびに M2 への分化が抑制されていることが判明した（図 5）。頸部リンパ節では暴露による M1/M2 分化に影響は認められなかった（図 5）。

続いて BALF 中の肺胞マクロファージにおける CD54 および CD163 の発現に関して、検討したところ、暴露による影響は確認できなかった（図 6）。加えて、脾臓および頸部リンパ節での CD54 ならびに CD163 の発現を検討したところ、NM201 暴露 4 週での CD54 ならびに CD163 の発現が対象群に比較して有意に低下していることが判明した（図 7）。暴露 8 週では影響は確認できなかった（図 7）。頸部リンパ節では、暴露 4 週での低濃度群で CD54 の発現低下、8 週での高濃度群で CD163⁺マクロファージの割合が減少していた（図 7）。

NM201 吸入暴露後 4 週および 8 週での脾臓、頸部リンパ節細胞における T 細胞分画についてフローサイトメータにて検討したところ、暴露後 8 週で対象群に比較して CD8 陽性 T 細胞数が有意に増加していたが、その他の検討項目での変化は認められな

かった（図 8）。さらに CD4 ならびに CD8 陽性 T 細胞における活性化を CD44^{high}CD62L⁺ 分画を指標に検討したところ、脾臓、頸部リンパ節ともに NM201 吸入暴露により変化は観察されなかった（図 9）。

NM201 の吸入暴露による BALF 細胞ならびに肺組織における CD54、MMP12、TIM4、F4/80 mRNA 発現を定量 RT-PCR にて検討すると、BALF 細胞では CD54 mRNA 発現の暴露による変化はなく、MMP12 mRNA 発現は暴露後 4 週で対象群に比較して有意に上昇していたが、8 週では変化はなかった（図 10 上段）。TIM4 mRNA に関しては暴露後 4 週で発現上昇傾向にあるが対象群に比較して有意な差は認められなかった（図 10 上段）。肺組織では、暴露後 8 週での MMP12 mRNA 発現が上昇傾向にあるが有意な差ではなかった（図 10 下段）。CD54 ならびに F4/80 (Adgre1) mRNA 発現に関しては暴露による変化は観察されなかった（図 10 下段）。

In vitro にてマクロファージにおけるナノ材料の影響を検討するために、マウス骨髄誘導性マクロファージを作成し、ナノシリカ（NM204）の添加培養による影響を検討したところ、カーボンナノチューブ（CNT）の添加で低下した生細胞の割合および細胞数は、NM204 添加では変化が認められなかった（図 11）。さらに、NM204 添加による MMP12 および CD54(ICAM-1)mRNA 発現を定量 RT-PCR にて検討したところ対象群に比較して変化は認められなかった（図 11）。

D. 考察

本年度は本研究分担の 3 年目の研究であり、R2 (2020)年度では針状酸化チタン (TiDW)、R3 (2021)年度でのナノシリカ (NM204)に続いてのナノシリカ (NM201)

の吸入暴露による肺免疫への影響評価を検討した。

NM201 の吸入暴露実験において、BALF 細胞数、肺胞マクロファージの割合および細胞数に関して、暴露による有意な変化は観察されなかった。また、肺胞マクロファージの M1/M2 への分化に関しては、NM201 暴露による M1/M2 の偏りはなく両者への分化が促進していた。特に、暴露後 4 週において対象群で M2 タイプにシフトしていたマクロファージが暴露によってさらに M2 タイプに分化が促進していた。8 週後での暴露による変化は認められなかったことから、暴露後初期段階での変化が大きいものと推測される。

NM201 吸入暴露による脾臓、頸部リンパ節を含む全身リンパ組織への影響に関しては、脾臓において暴露によってマクロファージの割合が減少していたことから、脾臓から肺組織に動員された可能性が考えられた。このことは以前に実施したカーボンナノチューブの吸入暴露実験においても同様の所見があったことから、ナノマテリアルの吸入暴露による脾臓と肺との臓器間のクロストークが存在することが示唆された。

NM201 吸入暴露による肺胞マクロファージの活性化を CD54 および CD163 (スカベンジャー受容体) の発現を指標に検討すると、暴露による影響は確認できなかった。暴露 4 週以前に活性化した可能性が考えられるとともに、カーボンナノチューブなどのナノマテリアルとの形状や性質の違いがあるものと推測する。

ナノマテリアルの吸入暴露の指標としてこれまでに MMP12 や CD54 などの分子が挙げられてきた。NM201 の暴露後 4 週において BALF 細胞における MMP12 mRNA 発現が上昇していたものの、8 週では上昇は確認できなかった。CD54 の発現に関しては、

NM201 の吸入暴露で変化は見られなかった。また、カーボンナノチューブの受容体の可能性が指摘されている Tim4 mRNA 発現は暴露 4 週で上昇傾向にあった。暴露後さらに初期段階でこれらの分子の動態に影響が観察される可能性が考えられる。

マウス骨髄由来マクロファージを用いた *in vitro* の実験はマクロファージとナノマテリアルとの直接的な関係を明らかにできる有用な実験系である。本年度の研究ではナノシリカ (NM204) に対する反応性を確認したところ、カーボンナノチューブで見られた細胞死や MMP12 の発現上昇は確認できなかったことから、ナノマテリアルの大きさ、形状、性質によってマクロファージの活性化、増殖、食食機能などが大きく変化することが考えられた。なお、*in vivo* での実験で用いられた NM201 に関して、今後 *in vitro* で検討を加える予定である。

E. 結論

NM201 の吸入暴露後 4 週での肺胞マクロファージの M2 タイプへの分化亢進が認められ、脾臓からの単球・マクロファージの遊走の可能性が示された。また、NM201 の吸入暴露によって、BALF 細胞での CD54 および CD163 の発現に変動は認められなかった。さらに、吸入暴露後 4 週での BALF 細胞の MMP12 の発現亢進が確認された。したがって、ナノマテリアルの形状および性状によって、肺胞マクロファージの分化パターンが異なっている可能性が考えられた。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Narwidina A, Miyazaki A, Iwata K, Kurogoushi R, Sugimoto A, Kudo Y, Kawarabayashi K, Yamakawa Y, Akazawa Y, Kitamura T, Nakagawa H, Yamaguchi-Ueda

- K, Hasegawa T, Yoshizaki K, Fukumoto S, Yamamoto A, Ishimaru N, Iwasaki T, Iwamoto T. Iroquois homeobox 3 regulates odontoblast proliferation and differentiation mediated by Wnt5a expression *Biochem Biophys Res Commun.* 650:47-54, 2023
2. Shao W, Tsunematsu T, Umeda M, Tawara H, Fujiwara N, Mouri Y, Arakaki R, Ishimaru N, Kudo Y Cancer cell-derived novel periostin isoform promotes invasion in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Med.* 00:1-16, 2023
 3. Sato M, Arakaki R, Tawara H, Nagao R, Tanaka H, Tamura K, Kawahito Y, Ostuka K, Ushio A, Tsunematsu T, Ishimaru N. Disturbed natural killer cell homeostasis in the salivary gland enhances autoimmune pathology via IFN- γ in a mouse model of primary Sjogren's syndrome. *Front Med.* 9:1036787, 2022
 4. Nagatomo R, Kaneko H, Kamatsuki S, Ichimura-Shimaizu M, Ishimaru N, Tsuneyama K, Inoue K. Short-chain fatty acid profiling in biological samples from a mouse model of Sjögren's syndrome based on derivatized LC-MS/MS assay. *J Chromat B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 1210, 123432, 2022
 5. Tsunematsu T, Arakaki R, Sato M, Saito M, Otsuka K, Furukawa Y, Taquahashi Y, Kanno J, Ishimaru N. Exposure to Multi-Wall Carbon Nanotubes Promotes Fibrous Proliferation by Production of Matrix Metalloproteinase-12 via NF- κ B Activation in Chronic Peritonitis. *Am J Pathol.* 192:1559-1572, 2022
 6. Otsuka K, Sato M, Tsunematsu T, Ishimaru N. Virus Infections Play Crucial Roles in the Pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Viruses.* 14:1474, 2022
 7. Horii Y, Iniwa T, Onitsuka M, Tsukimoto J, Tanaka Y, Ike H, Fukushi Y, Ando H, Takeuchi Y, Nishioka SI, Tsuji D, Ikuo M, Yamazaki N, Takiguchi Y, Ishimaru N, Ito K. Reversal neuroinflammation in novel GS model mice by single i.c.v. administration of CHO-derived rhCTSA precursor protein. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 25:297-310, 2022
 8. Maruhashi T, Sugiura D, Okazaki IM, Shimizu K, Maeda TK, Ikubo J, Yoshikawa H, Maenaka K, Ishimaru N, Kosako H, Takemoto T, Okazaki T. Binding of LAG-3 to stable peptide-MHC class II limits T cell function and suppresses autoimmunity and anti-cancer immunity. *Immunity.* 55:912-24, 2022
 9. 大塚邦紘、常松貴明、石丸直澄 シェーグレン症候群の病理診断 診断病理39(4) 255-261,2022
 10. 大塚邦紘、常松貴明、牛尾綾、佐藤真美、石丸直澄 カラー図説：シェーグレン症候群の病理 日本臨床 80(10),1538-1543,2022
- F.2 学会発表
1. Naozumi Ishimaru, Kazuki Fukuda, Takaaki Tsunematsu, Rieko Arakaki, Mami Sato, Kunihiro Otsuka: Exposure to carbon nanotubes sustains chronic inflammation by macrophage activation via MMP-12. 第111回日本病理学会総会（2022.4.14-16、神戸市）
 2. 佐藤真美、新垣理恵子、常松貴明、工藤保誠、石丸直澄 シェーグレン症候群疾患モデルにおける肺病変発症への CCL6 の役割 第111回日本病理学会総会（2022年4月14日、神戸市）

3. 大塚邦紘、九十九伸一、近藤博之、新垣理恵子、佐藤真美、福田一稀、俵宏彰、常松貴明、石丸直澄、安友康二 シングルセル RNA-seq で紐解くシェーグレン症候群モデルに特徴的に出現する T 細胞集団の解析 第 111 回日本病理学会総会 (2022 年 4 月 15 日、神戸市)
4. 常松貴明、新垣理恵子、工藤保誠、石丸直澄 口腔扁平上皮癌における Borealin の高発現がもたらす Survivin 安定化機構の解明 第 111 回日本病理学会総会 (2022 年 4 月 16 日、神戸市)
5. 田村海、新垣理恵子、石丸直澄 シェーグレン症候群モデルマウス鼻腔組織の病態解析 第 111 回日本病理学会総会 (2022 年 4 月 16 日、神戸市)
6. 佐藤真美、牛尾綾、福田一稀、俵宏彰、大塚邦紘、常松貴明、新垣理恵子、石丸直澄 Extraglandular lesions in Sjogren's syndrome model mice 第 20 回四国免疫フォーラム (2022 年 6 月 11 日、オンライン 香川大学)
7. 常松貴明、石丸直澄 頭頸部扁平上皮癌における染色体パッセンジャー複合体構成因子 Borealin の新たな機能 第 39 回分子病理研究会 内灘かほくシンポジウム (2022 年 7 月 8~9 日、石川県河北郡)
8. 佐藤真美、牛尾綾、大塚邦紘、常松貴明、石丸直澄 シェーグレン症候群モデルマウス肺病変におけるケモカインの機能分析 第 64 回歯科基礎医学会学術大会 (2022 年 9 月 17~18 日、徳島市)
9. 大塚邦紘、九十九伸一、近藤博之、佐藤真美、俵宏彰、常松貴明、石丸直澄、安友康二 シングルセル RNA-seq で紐解くシェーグレン症候群モデルに特徴的に出現する T 細胞集団の解析 第 64 回歯科基礎医学会学術大会 (2022 年 9 月 17~18 日、徳島市)
10. 田村海、川人祐樹、佐藤真美、大塚邦紘、常松貴明、石丸直澄 シェーグレン症候群モデルマウスにおける鼻腔組織の病態解析 第 64 回歯科基礎医学会学術大会 (2022 年 9 月 17~18 日、徳島市)
11. 川人祐樹、田村海、佐藤真美、大塚邦紘、常松貴明、石丸直澄 シェーグレン症候群モデルマウスである NFS/sld マウスの変異遺伝子 *Mucin19* の発現解析と病態との関連性 第 64 回歯科基礎医学会学術大会 (2022 年 9 月 17~18 日、徳島市)
12. 石丸直澄 唾液腺免疫難病研究の最前線 第 33 回日本臨床口腔病理学会学術大会 シンポジウム (2022 年 9 月 23 日、札幌市)
13. 大塚邦紘、近藤博之、九十九伸一、新垣理恵子、佐藤真美、常松貴明、石丸直澄、安友康二 シングルセル RNA-seq とマルチプレックス Spatial 解析を基盤としたシェーグレン症候群の標的臓器微小環境変化の解明 第 33 回日本臨床口腔病理学会学術大会 (2022 年 9 月 23 日、札幌市)
14. 三好 瑞希, 月本 準, 堀井 雄登, 竹内 美絵, 加守 虹穂, 福池 凜, 木野 倫子, 石丸 直澄, 伊藤 孝司 先天代謝異常症ガラクトシアリドーシスに対するより効果的な遺伝子治療薬開発 (第 95 回日本生化学会大会, 2022 年 11 月千葉)
15. Takaaki Tsunematsu and Naozumi Ishimaru Cell Cycle machinery unravels the molecular mechanism of Cancer cell cannibalism (第 45 回日本分子生物学学会年会, 2022 年 12 月千葉)
16. 俵 宏彰, 常松 貴明, 永尾 瑠佳, 佐藤 真美, 大塚 邦紘, 石丸 直澄: がんにおける染色体パッセンジャー複合体構成因子 Borealin の高発現がもたらす新たな機能 (第 45 回日本分子生物学学会年会, 2022 年 12 月千葉)

17. 三好 瑞希, 月本 準, 堀井 雄登, 竹内 美絵, 加守 虹穂, 福池 凜, 木野 倫子, 石丸 直澄, 伊藤 孝司 : 効率的治療を目的としたリソソーム性ノイラミニダーゼ 1欠損症に対する AAV5 遺伝子治療 (第 45 回日本分子生物学会年会, 2022 年 12 月千葉)
 18. 福池 凜, 月本 準, 堀井 雄登, 竹内 美絵, 加守 虹穂, 三好 瑞希, 木野 倫子, 石丸 直澄, 伊藤 孝司 : AAVPHP.eB ベクターの脳室内単回投与による NEU1 欠損症に対する遺伝子治療 (第 45 回日本分子生物学会年会, 2022 年 12 月千葉)
 19. Takaaki Tsunematsu, Rieko Arakaki, Mami Sato, Kunihiro Otsuka and Naozumi Ishimaru: Exposure to Multi-Wall Carbon Nanotubes Promotes Fibrous Proliferation by Production of Matrix Metalloproteinase-12 via NF- κ B Activation in Chronic Peritonitis (第 51 回日本免疫学会学術集会 2022 年 12 月 7-9 日 熊本市)
 20. KAWAHITO Yuki, Kai Tamura, Mami Satoh, Kunihiro Otsuka, Takaaki Tsunematsu and Naozumi Ishimaru : Role of Mucin 19 in Pathogenesis of a Mouse Model for Sjögren's Syndrome (第 51 回日本免疫学会学術集会 2022 年 12 月 7-9 日 熊本市)
 21. Kai Tamura, KAWAHITO Yuki, Mami Satoh, Kunihiro Otsuka, Takaaki Tsunematsu and Naozumi Ishimaru : Pathological analysis of nasal tissue in a murine model of Sjögren's syndrome (第 51 回日本免疫学会学術集会 2022 年 12 月 7-9 日 熊本市)
 22. Kunihiro Otsuka, Shin-ichi Tsukumo, Rieko Arakaki, Mami Satoh, Hideo Yagita, Naozumi Ishimaru and Koji Yasutomo : CD153+ CD4+ T cells exacerbate the autoimmune pathology via the interaction with CD30+ cells in salivary glands in Sjögren's syndrome (第 51 回日本免疫学会学術集会 2022 年 12 月 7-9 日 熊本市)
 23. Mami Satoh, Aya Ushio, Kunihiro Otsuka, Takaaki Tsunematsu and Naozumi Ishimaru : Th2 response enhances the differentiation into follicular B cells to progress the pulmonary autoimmune lesions in a mouse model of Sjögren's syndrome (第 51 回日本免疫学会学術集会 2022 年 12 月 7-9 日 熊本市)
 24. 俵 宏彰, 常松 貴明, 永尾 瑠佳, 福田 一稀, 佐藤 真美, 大塚 邦紘, 牛尾 綾, 石丸 直澄 頭頸部扁平上皮癌における染色体パッセンジャー複合体構成因子 Borealin の高発現がもたらす新たな役割 (第 58 回日本口腔組織培養学会学術大会・総会, 2022 年 12 月 鹿児島)
 25. 常松 貴明, 俵 宏彰, 石丸 直澄 : HPV 陽性癌における新規脱ユビキチン化酵素複合体の分子機構の解明 (第 58 回日本口腔組織培養学会学術大会・総会 2022 年 12 月 鹿児島)
- G. 知的財産権の出願・登録状況
無し (予定を含む。)
1. 特許取得
無し
 2. 実用新案登録
無し
 3. その他
無し

図 1

Experimental schedule

R2 (2020) : 針状酸化チタン (TiDW)
 R3 (2021) : ナノシリカ (NM204)
 R4 (2022) : ナノシリカ (NM201)

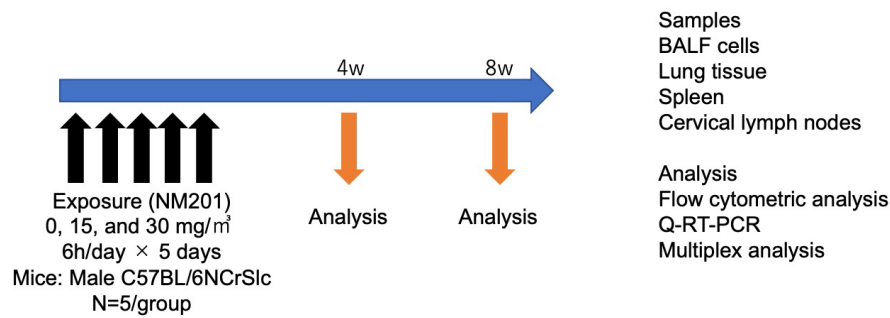
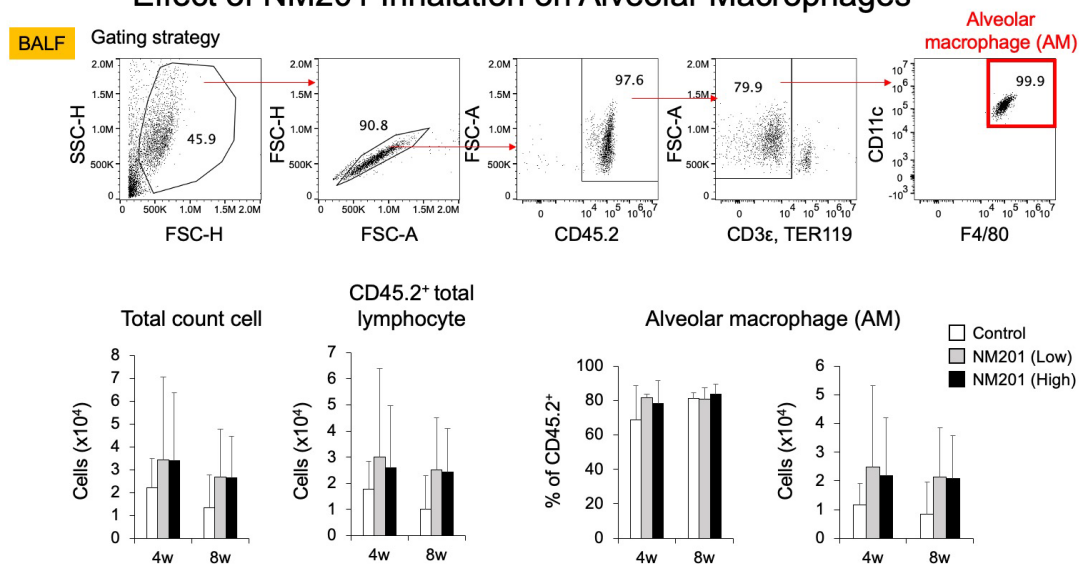


図 2

Effect of NM201 Inhalation on Alveolar Macrophages



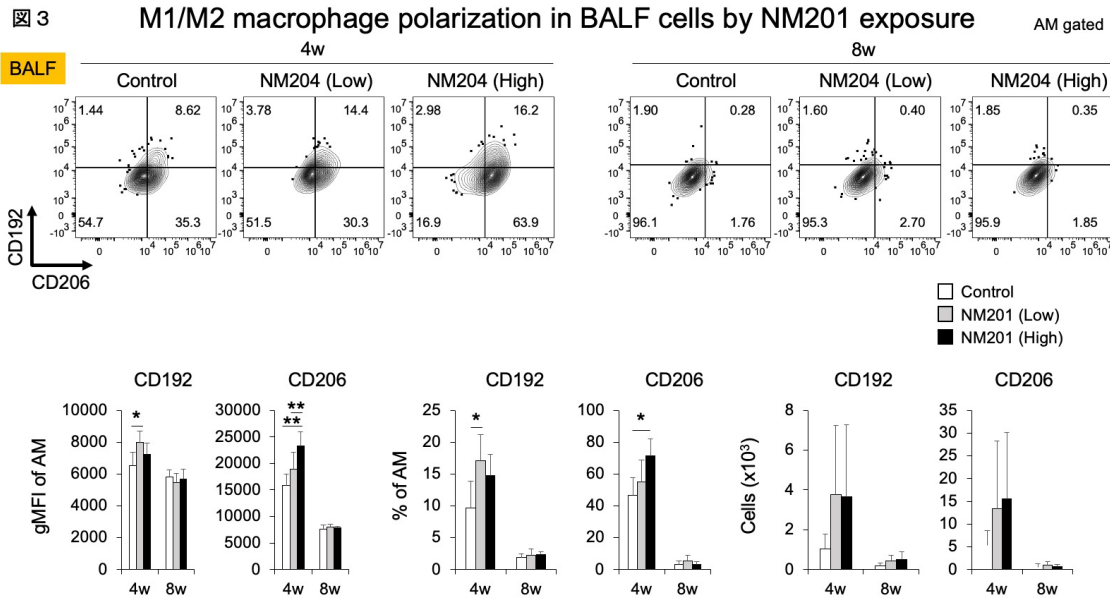


図 4 Effect of NM201 Inhalation on Macrophages in spleen and cervical lymph nodes

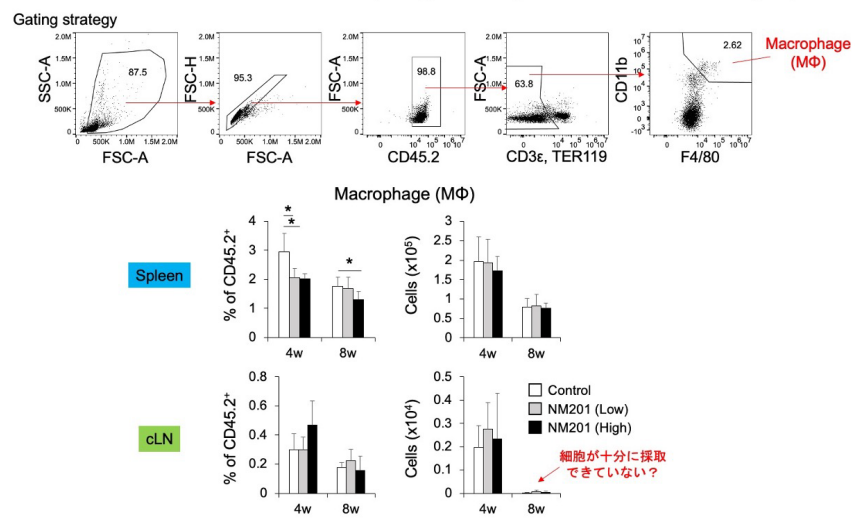


图 5

M1/M2 macrophage polarization in spleen and lymph node cells by NM201 exposure

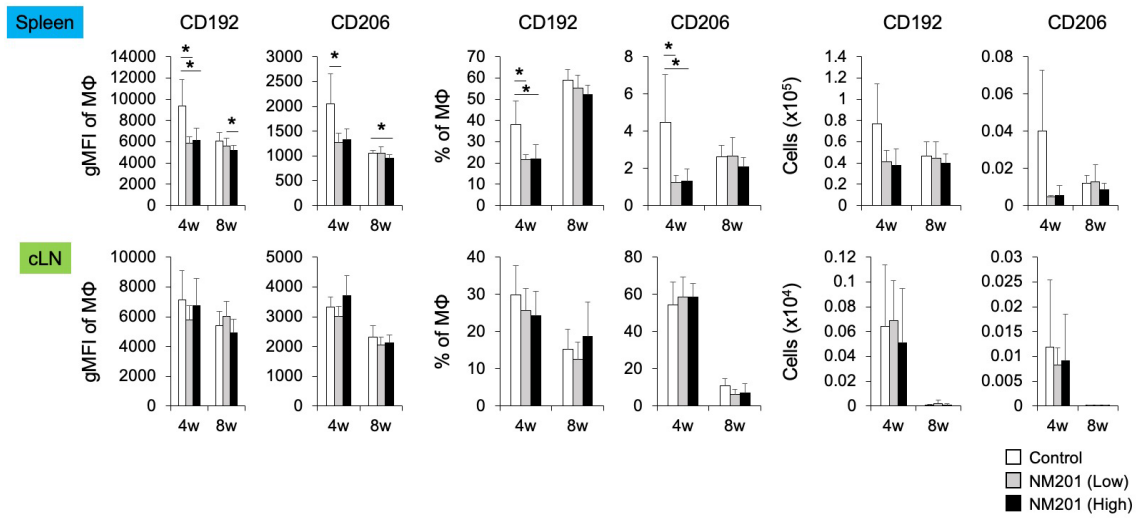


图 6

Effect of NM201 exposure on CD54 and CD163 expressions of AMs

AM gated

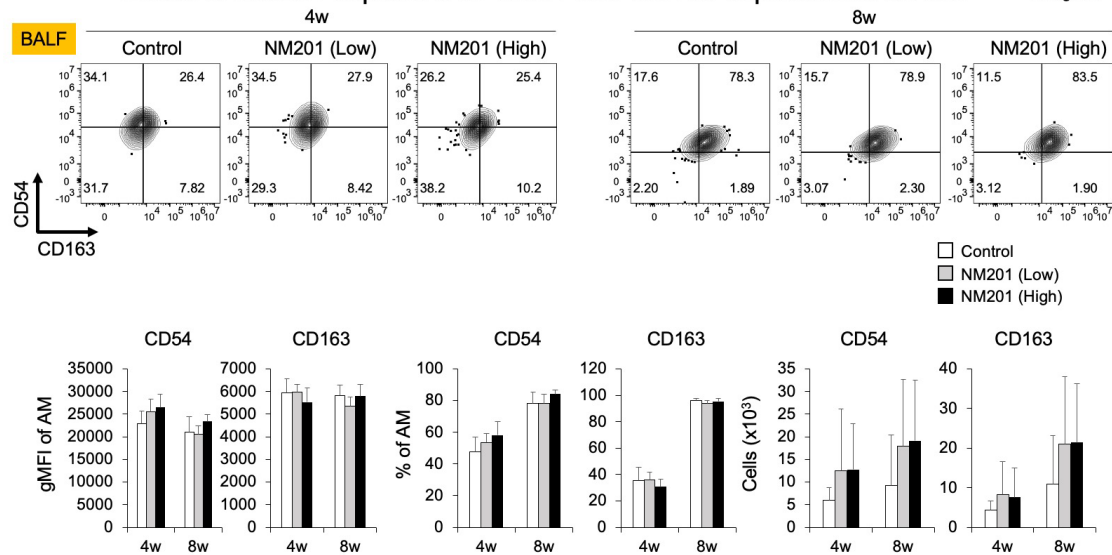


图 7

Effect of NM204 exposure on CD54 and CD163 expressions of macrophages in spleen and cLNs

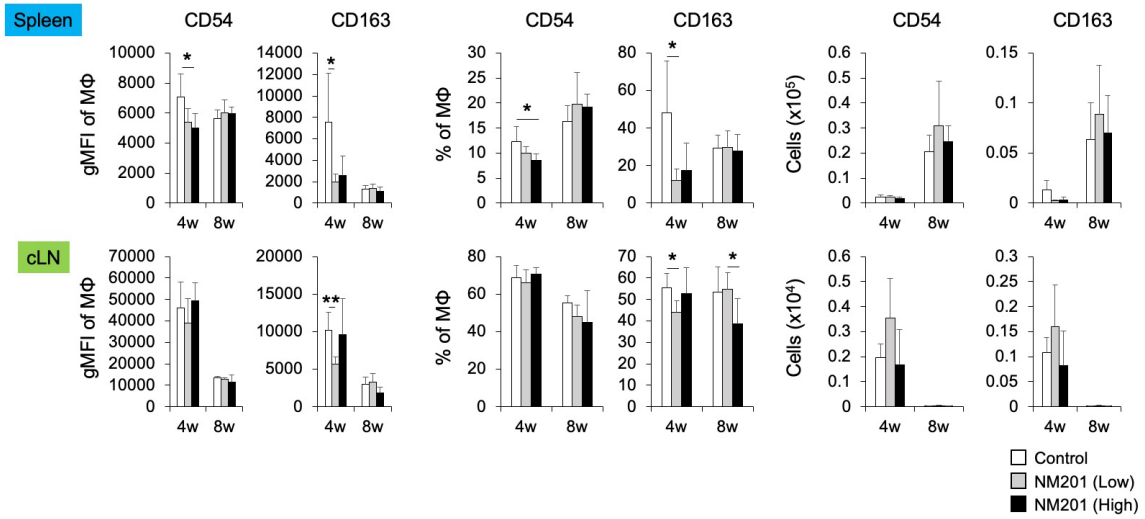


图 8

Effect of NM201 exposure on T cell subsets in spleen and cLNs

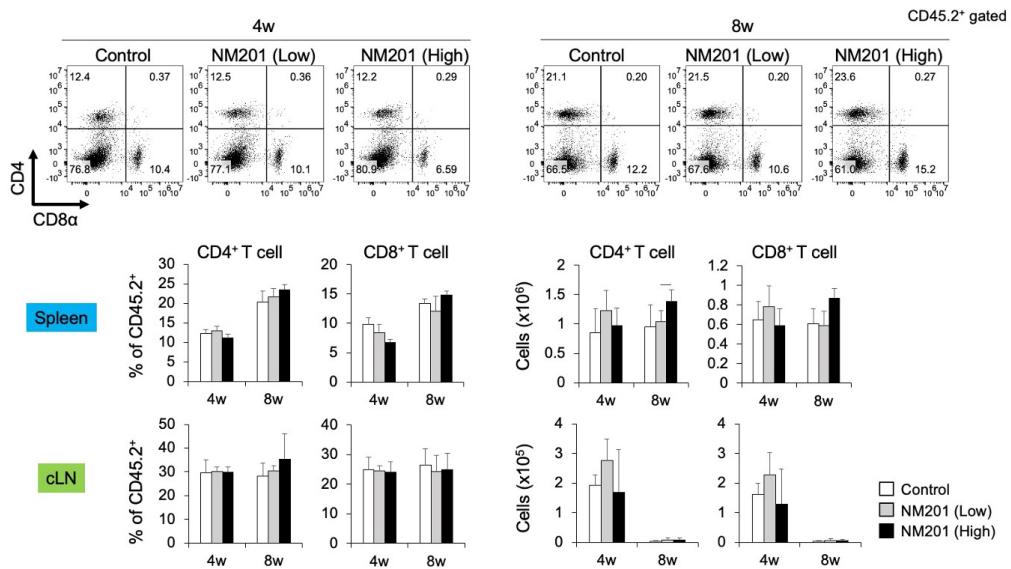


图 9

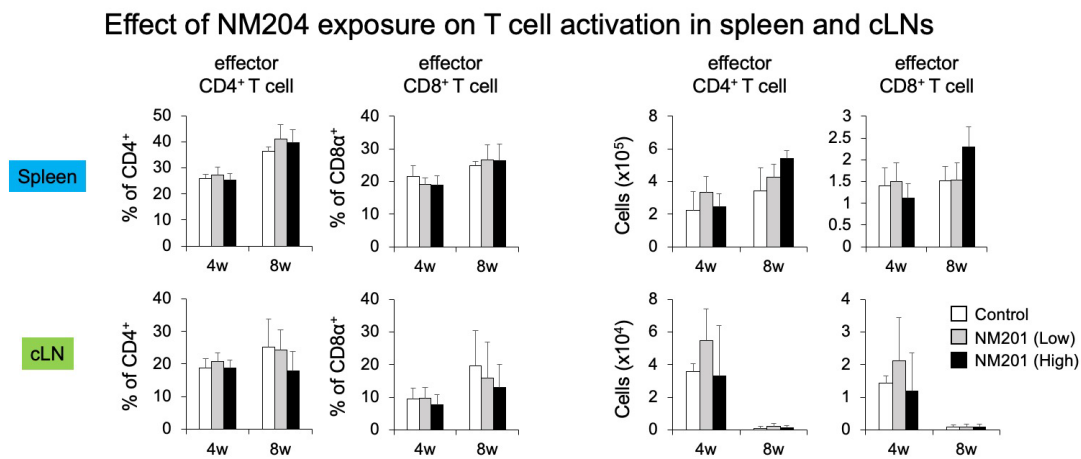


图 10

mRNA expression of potent markers of BALF cells and lung tissues from NM201-exposure mice (q-RT-PCR)

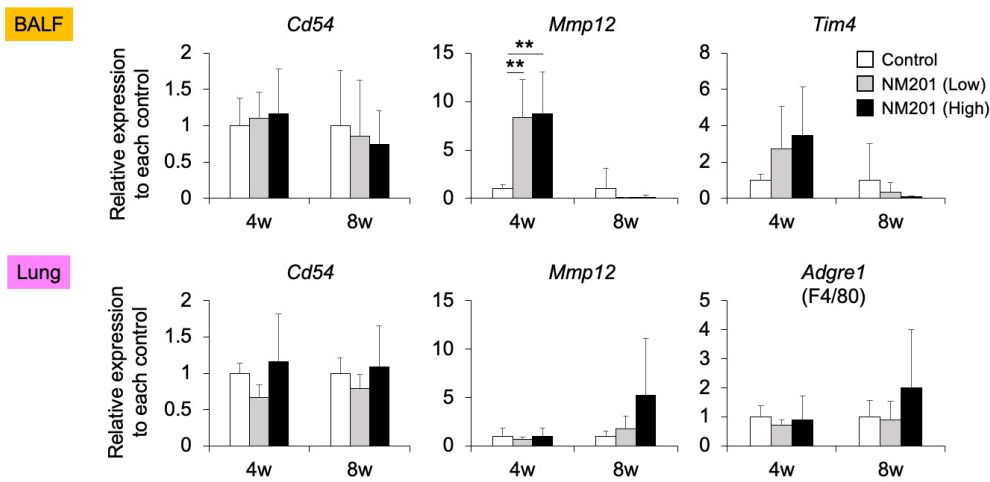


图 1 1

Effect of nanomaterials on bone marrow-derived macrophages

