

令和4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：ナノマテリアル吸入曝露影響評価のための効率的慢性試験法の開発に関する研究

分担研究課題名：ナノマテリアルの短期気管内投与評価手法に関する研究

研究分担者：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：David B. Alexander 名古屋市立大学大学院医学研究科・客員教授

William T. Alexander 名古屋市立大学大学院医学研究科・研究員

Omnia Hosny Mohamed Ahmed 名古屋市立大学・大学院医学研究科大学院生

研究要旨

MWCNT-7は、日本バイオアッセイ研究センターで実施された吸入曝露試験（Kaeai et al., Particle and Fibre Toxicol, 2016）において肺に発がん性を示すことが分かったが、当研究室が開発した経気管肺内噴霧投与（TIPS法）では胸腔に悪性中皮腫を発生させた（Numano et al., Cancer Sci, 2019）。このように、同一のMWCNTが投与方法によって発がん標的臓器が異なってしまう機序は明らかではなく、リスク評価において問題となっている。上記の2試験におけるMWCNT-7の肺内蓄積量は、吸入曝露試験では2年後に1.0~2.0mg/gラットに達し、気管内投与（TIPS）法では、投与終了の12週に1.5mg/ラットとなり2年後までに約半量が残存する。よって、投与したMWCNTの肺蓄積量は吸入曝露においてTIPSより少ない事になる。本研究では、MWCNT-7をTIPS法にて投与して、低用量域における発がん頻度と発がん標的組織（肺・胸膜中皮）を明らかにする事を目的とした。

F344雄ラットを用いて、MWCNT-7を0.5%PF68溶液にて分散させてTIPS法において1日1回・4日間（合計4回）に、0.00008mgから既知の0.5mg/ラットの群構成にて投与した。現在、肺と胸膜中皮の炎症程度と腫瘍発生について解析する実験を実施中である。

A. 研究目的

MWCNT-7は日本バイオアッセイ研究センターで実施された吸入曝露試験では肺に発がん性を示し（Kasai et al., Particle and Fibre Toxicol, 2016）、当該研究室が開発した経気管肺内噴霧投与（TIPS法）では胸腔に悪性中皮腫を発生させる（Numano et al., Cancer Sci, 2019）。同じ物質で投与方法の差異によって異なる組織形態の腫瘍が発生する機

序は明らかではない。吸入曝露試験におけるMWCNT-7の肺内蓄積量2年後には約1.0~2.0mg/gラット、TIPSでは、12週後には約半量となる。よって、吸入曝露では初期には肺内蓄積量はTIPS法より圧倒的に少ない事になる。吸入曝露試験には高額な経費が要求されるために、用量を変えた試験を実施することは全く困難（恐らくあり得ない）であり、行政（リスク評価）において大きな問題となって

いる。

本研究では、MWCNT-7 を TIPS 法にて投与して、吸入暴露法を考慮した低用量域における発がん標的組織（肺・胸膜中皮）を明らかにして、用量と発がん標的組織（肺、胸膜中皮）の関係を明らかにする事を目的とした。

B. 研究方法

F344 雄ラットを用いて、MWCNT-7 を実験開始の 1～4 日間に 1 日 1 回/・TIPS 法にて 0.00008mg から既知の 0.5mg/ラットの群構成にて投与終了後 52 週（5 匹）、75 週（5 匹）、104 週（15 匹）後に屠殺し、肺と胸膜中皮の炎症程度と腫瘍発生について解析する。

G 1 : 無処置

G 2 : 溶媒（生食 0.5mL+0.5%PF68） X 4

G 3 : 0.0008 mg/rat MWCNT-7
(0.0002mg/0.5mLx 4)

G 4 : 0.004 mg/rat MWCNT-7
(0.001mg/0.5mLx 4)

G 5 : 0.02 mg/rat MWCNT-7
(0.005mg/0.5mLx4)

G 6 : 0.1 mg/rat MWCNT-7
(0.025mg/0.5mLx 4)

G 7 : 0.5 mg/rat MWCNT-7
(0.125mg/0.5mLx 4)

各群構成は 25 匹として、投与終了後 52 週（5 匹）、75 週（5 匹）、104 週（15 匹）後に屠殺し、肺と胸膜中皮の炎症程度と腫瘍発生について解析する。屠殺時には胸郭洗浄液、血液、胸郭、肺、肝、腎、脾、骨髄等を採取して炎症の程度、前がん病変を含む腫瘍病の発生について詳しく解析する。

C. 結果

現在 6 ヶ月を経過中である。斃死ラットはない。今年中に 1 年の経過が得られ、前がん病変（過形成、腺腫とそれらに伴い遺

伝子変化）についてのデータが得られる。

D. 考察

慢性観察終了時には、TIPS 法により MWCNT-7 の低用量域における発がんの用量依存性と発がん標的組織（肺、胸膜中皮）の標的性を明らかにすることが可能になると考えられる。

E. 結論

MWCNT-7 は吸入曝露試験において肺に発がん性を経気管肺内噴霧投与（TIPS 法）では胸腔に悪性中皮腫を発生させるが、同一の MWCNT が投与方法によって発がん標的臓器が異なる機序は明らかではない。本研究では、MWCNT-7 を TIPS 法にて投与して、低用量域における発がん頻度と発がん標的組織（肺・胸膜中皮）を明らかにする事を目的とした。

F344 雄ラットを用いて、MWCNT-7 を TIPS 法において 00008mg/ラットから 0.5mg/ラットの群構成にて投与した実験を実施中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Aoyama Y., Naiki-Ito A., Xiaochen K., Komura M., Kato H., Nagayasu Y., Inaguma S., Tsuda H., Tomita M., Matsuo Y., Takiguchi S., Takahashi S. Lactoferrin Prevents Hepatic Injury and Fibrosis via the Inhibition of NF- κ B Signaling in a Rat Non-Alcoholic Steatohepatitis Model *Nutrients* 14, 42 (2022)

<https://doi.org/10.3390/nu14010042>

Saleh D., Luo S., Ahmed HM Omnia, Alexander DB., Alexander TW., Gunasekaran S., El-gazzar AM., Abdelgied M., Numano T., Takase H., Ohnishi M., Tomono S., Randa Hussein

Abd el Hady, Fukamachi K., Kanno J., Hirose A., Jiegou Xu, Suzuki S., Naiki-ito A., Takashi S., Tsuda H.
Assessment of the toxicity and carcinogenicity of double-walled carbon nanotubes in the rat lung after intratracheal instillation: a two-year study. Particle and Fibre Toxicology, 19:30(2022)
<https://doi.org/10.1186/s12989-022-00469-8>

2. 学会発表

Saleh D., Alexander TW., Alexander DB., Abdelgied M., El-gazzar AM., Ahmed HM Omnia, Gunasekaran S., Takase H., Naiki-ito A., Suzuki S., Gi M., Taquahashi, Y., Hirose A., Kanno J., Tsuruoka S., Tsuda H. The toxic and carcinogenic potential of three different sizes of double-walled carbon nanotubes in the rat lung after intratracheal instillation. ICT 2022 THE XVITH INTERNATIONAL CONGRESS OF TOXICOLOGY、オランダ
2022.9.18-22

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。