

## 経口曝露後のナノリスク解析に資する ナノマテリアルの内分泌代謝への影響解析

研究代表者 東阪和馬 大阪大学高等共創研究院 准教授

### 研究要旨

ナノマテリアル（粒子径100 nm以下の人工微粒子）含有製品は、ナノ技術の進歩と共に増加している。そのため、ナノマテリアルの摂取量は、今後増加することが予想され、我々は、その意図的・非意図的な曝露をもはや避けられない。このように、食品用途に使用されるナノマテリアルの曝露機会が増す中で、昨今の疫学研究により、PM2.5をはじめとする環境中の外因性微粒子への曝露と、糖代謝などの内分泌代謝機能への悪影響との連関が現象論として示唆されているものの、外因性微粒子がどのような機序で内分泌代謝機能に影響をおよぼすかは明らかとされていない。内分泌代謝機能の異常は、肥満や糖尿病といった生活習慣病の発症・悪化につながり得ること、また、近年における生活習慣病の増加は、様々な環境因子の変化に起因するところが大きいことを踏まえると、ナノマテリアルに関しても、リスク解析に必要不可欠な動態解析の推進、および、物性を加味した安全性の理解が重要な課題である。そこで本研究では、食品用途に使用される種々物性のナノマテリアルについて、その経口曝露後の動態情報を考慮しつつ、内分泌代謝機能に対するハザード解析と、そのハザード発現メカニズムの解明を試み、ナノマテリアルの物性-動態-ハザードの連関解明を図ることで、ナノマテリアルのリスク解析に資する安全性情報の集積を目指す。

雌性6週齢のICRマウスに粒子径30 nmの非晶質ナノシリカ（nSP30）、あるいは、粒子径100 nmの非晶質ナノシリカ（nSP100）を連日経口投与した際には、対照群であるPBS投与群と比較し、投与開始から1週間での体重の推移、マウス1匹あたりの平均1日摂餌量、最終投与後の臓器（肝臓、腎臓、脾臓）重量に有意な変化は認められなかった。また、曝露局所である小腸と大腸、ならびに、インスリン分泌に働く膵臓での病理解析を実施したが、いずれにおいて特筆すべき組織学的変化は認められなかった。次に、各非晶質ナノシリカを投与したマウスに対し、経口ブドウ糖負荷試験を実施したところ、nSP100投与群では対照群と比較して有意な変動は認められなかったものの、nSP30投与群において、ブドウ糖負荷試験後の血糖値の低下傾向、また、血中インスリン濃度の減少傾向を示す可能性が示された。一方で、nSP30の投与量依存性は示さなかったことを踏まえると、耐糖能への影響は認められないことが示唆された。さらに、非晶質ナノシリカの経口曝露によるインスリン抵抗性への影響を評価するため、インスリン負荷試験を実施したところ、血糖の絶対値の推移、ならびに、インスリン負荷前の血糖を100%として算出した相対的な変化に有意な差はなく、インスリン感受性の差は認められなかった。従って、本投与条件下においては、nSP30ならびにnSP100が内分泌代謝機能に影響をおよぼさないことが示唆された。

今後は、粒径や表面電荷など、異なる物性を有する非晶質シリカによる影響や、長期間曝露時における影響を追究していくことで、リスク評価につながるハザードを呈する物性の同定と、ヒト健康に影響を及ぼし得る閾値の算出という基本的な考え方の提案を通じて、ヒト健康環境の確保と安全かつ有用に使用可能なナノマテリアルの開発指針の策定に貢献していく。

### A. 研究目的

ナノマテリアル（粒子径 100 nm 以下の人工微粒子）含有製品は、ナノ技術の進歩と共に増加している。そのため、ナノマテリアルの摂取量は、

今後増加することが予想され、我々は、ナノマテリアルの意図的・非意図的な曝露をもはや避けられない。このように、食品用途に使用されるナノマテリアルの曝露機会が増す中で、昨今の疫学研究により、PM2.5をはじめとする環境中の外因性

微粒子への曝露と、糖代謝などの内分泌代謝機能への悪影響との連関が現象論として示唆されているものの、外因性微粒子がどのような機序で内分泌代謝機能に影響をおよぼすかは明らかとされていない。内分泌代謝機能の異常は、肥満や糖尿病といった生活習慣病の発症・悪化につながり得ること、また、近年における生活習慣病の増加は、衛生環境など、様々な環境因子の変化に起因するところが多いことを踏まえると、ナノマテリアルに関しても、リスク解析に必要不可欠な動態解析の推進、および、物性を加味した安全性の理解が重要な課題である。即ち、ナノマテリアルのリスク解析に資する物性-動態-ハザードの連関解析が、本課題の克服に叶うのみならず、国民の健康確保など、食品科学の観点からも、社会的ニーズや産業界の要請に応えるものである。

そこで本研究では、食品用途に使用される種々物性のナノマテリアルについて、その経口曝露後の動態情報を考慮しつつ、内分泌代謝機能に対するハザード解析と、そのハザード発現メカニズムの解明を試み、ナノマテリアルの物性-動態-ハザードの連関解明を図ることで、ナノマテリアルのリスク解析に資する安全性情報の集積を目指す。

## B. 研究方法

### 非晶質ナノシリカ

粒子径 30 nm の非晶質ナノシリカ (nSP30)、粒子径 100 nm の非晶質ナノシリカ (nSP100) は、micromod Partikeltechnologie より購入した。使用直前に ULTRA SONIC CLEANER SINGLE FREQUENCY で 400 W で 20 分間超音波処理し、1 分間ボルテックスミキサーで攪拌した後、必要な濃度の粒子分散液を調製した。

### 実験動物

ICR マウス (6 週齢、雌性) は、清水実験材料より購入した。本研究における動物実験の飼育および実験は大阪大学薬学研究科の実験動物施設において実施し、大阪大学動物実験規定に準じた。

### 非晶質ナノシリカの投与

ICR マウスに対し、nSP30、nSP100 (2.5 mg/100  $\mu$ L/mouse/day) を、7 日間連続経口投与した。対照群には PBS 溶液を投与した。これらマウスにおける 7 日間の体重及び食餌量の推移を測定した。最終投与の 24 時間後に血液、臓器 (肝

臓、腎臓、脾臓) を採取した。血液は、4℃、3000g で 15 分遠心処理することで、血漿を回収した。

### 病理解析

雌性 ICR マウスに、nSP30、nSP100 を 2.5 mg/mouse/day で 7 日間連日経口投与した。対照群には PBS 溶液を投与した。最終投与の 24 時間後に小腸、大腸、脾臓を採取し、病理解析に供した。切片の作成およびヘマトキシリン&エオジン染色、所見の作成をアプライドメディカルリサーチに依頼した。

### 経口ブドウ糖負荷試験

各非晶質ナノシリカを連日経口投与したマウスに対し、16 時間の絶食後、ブドウ糖水溶液 (扶桑薬品工業株式会社) を強制経口投与した。また、nSP30 の投与量依存性を評価する目的で、雌性 ICR マウスに、nSP30 を 0.1、0.5、2.5 mg/mouse/day で 7 日間連日経口投与した。最終投与後に、16 時間の絶食下においてブドウ糖水溶液 (扶桑薬品工業株式会社) を強制経口投与した。投与前 (0 分)、投与後 15 分、45 分、120 分に採血し、ラボアッセイグルコース (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation) を用いて、それぞれの時間における血糖値を測定した。血液は、4℃、3000g で 15 分遠心処理することで、血漿を回収した。また、各測定値について、縦軸を測定した血糖値 (mg/dl)、横軸を測定した時間 (min) としてグラフにプロットして直線でつなぎ、0 mM 縦軸の底として台形の面積の算出法を用いて 0 分~120 分までの各曲線下面積の総和を Area Under the Curve (AUC ; mg/dL · min) として算出し、各群の比較を行った。

### 血中インスリン濃度の定量

各非晶質ナノシリカを連日経口投与したマウスに対し、16 時間の絶食後、ブドウ糖水溶液 (扶桑薬品工業株式会社) を強制経口投与した。投与前 (0 分) および投与後 15 分の血漿中におけるインスリン濃度を超高感度マウスインスリン測定キット (モリナガ) により定量した。

### インスリン抵抗性試験

雌性 ICR マウスに、nSP30、nSP100 を 2.5 mg/mouse/day で 7 日間連日経口投与した。最終投与後に、2 時間の絶食下においてインスリンを腹腔内投与し、投与前 (0 分)、投与後 15 分、

30 分、60 分、90 分に採血後、ラボアッセイグルコース（FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation）を用いて、それぞれの時間における血糖値を測定した。血液は、4℃、3000g で 15 分遠心処理することで、血漿を回収した。

#### （倫理面への配慮）

本研究は動物実験を避け得ないが、動物愛護の精神を遵守しつつ行うものである。また実験動物の取り扱い、および動物実験の手順等を含めた動物実験に関しては、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針（文科省の指針）」に準拠し、大阪大学および大阪大学薬学研究科等の各所属機関の動物実験規程に則り行う。さらに本研究における実験動物の取り扱いおよび動物実験の手順は、所属機関の動物実験委員会等による倫理審査の承認を受けている。

本研究では、ナノマテリアルを活用したが、その安全性は未知であることを鑑み、平成 20 年 2 月に厚生労働省労働基準局より通達された「ナノマテリアル製造・取扱い作業現場における当面のばく露防止のための予防的対応について」（基発第 0207004 号）【その後、2009 年 3 月に厚生労働省労働基準局からの改訂版「ナノマテリアルに対するばく露防止等のための予防的対応について」（基発第 0331013 号）が通達】、2009 年 3 月に環境省から公表された工業用ナノ材料に関する環境影響防止ガイドラインに則って、研究を推進した。

### C. 研究結果（次項 D にまとめて記載する）

#### D. 考察

#### マウスへの非晶質ナノシリカ曝露が内分泌代謝に与える影響評価

食品分野における利用が多い非晶質ナノシリカをモデルナノマテリアルとして供し、非晶質ナノシリカが内分泌代謝機能に及ぼす影響を評価した。まず、nSP30、および、nSP100 を 7 日間連続経口投与し、一般毒性学的観点から観察したところ、各非晶質ナノシリカ投与群において、PBS 投与群と比較し、投与開始から 1 週間での体重の推移（図 1A）、マウス 1 匹あたりの平均 1 日摂餌量（図 1B）、最終投与 24 時間後の臓器（肝臓、腎臓、脾臓）重量（図 1C）のいずれについても有意な変化は認められなかった。

次に、各非晶質ナノシリカを投与したマウスに対し、経口ブドウ糖負荷試験を実施したところ、nSP100 投与群では対照群と比較して有意な変動は認められなかったものの、nSP30 投与群において、摂取 15 分後の血糖値が減少することが明らかとなった（図 2A）。また、各測定値をグラフにプロットして直線でつなぎ、各曲線下面積の総和を AUC として算出し、各群を比較したところ、nSP30 投与群において、対照群と比較して、有意な変動は認められなかったものの小さくなる傾向にあることが示された（図 2B）。この時、ブドウ糖負荷時の血中インスリン濃度を比較したところ、nSP30、あるいは、nSP100 投与群において、対照群と比較して、有意な変動は認められなかったものの低い傾向を示した（図 2C）。一方で、nSP30 投与による耐糖能への影響について、nSP30 の投与量依存性について評価したところ、nSP30 投与群における血糖値の時間推移（図 3A）や、試験中の血糖における Area Under the Curve に有意な差は認められなかった（図 3B）。従って、nSP30 投与による耐糖能への影響は認められないことが示唆された。

また、非晶質ナノシリカの経口曝露によるインスリン抵抗性への影響を評価するため、nSP30、および、nSP100 を 7 日間連日経口投与し（2.5 mg/mouse）、最終投与後にインスリン負荷試験を実施した。その結果、いずれの非晶質ナノシリカを投与した際にも、対照群と比較して、血糖の絶対値の推移（図 4A）、ならびに、インスリン負荷前の血糖を 100% として算出した相対的な変化に有意な差はなく（図 4B）、インスリン感受性の差は認められなかった。さらに、一般毒性学的観点から、曝露局所である小腸と大腸、ならびに、インスリン分泌に働く膵臓での病理解析を実施したところ、nSP30、あるいは、nSP100 投与により、小腸、大腸、膵臓において特筆すべき組織学的変化は認められなかった（data not shown）。以上の結果から、本投与条件下において、非晶質ナノシリカが内分泌代謝機能に影響をおよぼさないことが示された。

今後は、粒径や表面電荷など、異なる物性を有する非晶質シリカによる影響や、長期間曝露時における影響を追究していくことで、リスク評価につながるハザードを呈する物性の同定と、ヒト健康に影響を及ぼし得る閾値の算出という基本的な考え方の提案を通じて、ヒト健康環境の確保と安全かつ有用に使用可能なナノマテリアルの開

発指針の策定に貢献していく。

## E. 結論

国民の「食の安全・安心」に対する希求の高まりも相俟って、健康立国・技術立国である我が国から発信される食品関連製品については、高度に安全性が保障されたものでなければならない。食品用途へのナノマテリアルの利用の歴史は浅いものの、近年急速に研究開発が進展しており、食品用途に使用されるナノマテリアルの摂取量は今後増加の一途を辿ることは容易に予想できる。しかし、食品用途に使用されるナノマテリアルについて、現状では、品質を評価・管理し、安全に製造・使用していくための規制は整備されていない。従って、安全かつ有用なナノマテリアルの開発支援に向けては、科学的根拠に基づいたリスク評価・管理が必要不可欠である。この点で、本研究の成果は、今後のリスク解析の是非を議論するうえで重要な知見となり得る、ハザード情報の集積、およびその理解に直結することから、ナノマテリアルのリスク管理に係る新たな政策形成に資する知見の提供に大きく貢献し得る。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Eto S., Koshida A., Tsujino H., Nagano K., Higashisaka K., Tsutsumi Y. : Silica particles with human protein corona shows sensitization potential in the human cell line activation test., BPB Reports, 5(1): 1-4, 2022.
2. Eto S., Higashisaka K., Koshida A., Sato K., Ogura M., Sakurai M., Tsujino H., Nagano K., Tsutsumi Y. : Amorphous silica nanoparticles exacerbate hepatic damage through the activation of acquired cell-mediated immunity., Nano Express, 3(1): 015002, 2022.
3. Yamaguchi S., Isaka R., Sakahashi Y., Tsujino H., Haga Y., Higashisaka K., Tsutsumi Y. : Silver nanoparticles suppress retinoic acid-induced neuronal differentiation in human-derived neuroblastoma SH-SY5Y cells., ACS Appl. Nano Mater., 5: 19025-34, 2022.
4. Sakahashi Y., Yamamoto R., Kitahara G., Izutani R., Tsujino H., Haga Y., Higashisaka K., Tsutsumi Y. : Amorphous silica nanoparticles decrease human chorionic gonadotropin  $\beta$  expression during syncytialization of BeWo cell., BPB Reports, 5(6): 154-8, 2022.
5. Sakahashi Y., Higashisaka K., Isaka R., Izutani R., Seo J., Furuta A., Yamaki-Ushijima A., Tsujino H., Haga Y., Nakashima A., Tsutsumi Y. : Silver nanoparticles suppressed forskolin-induced syncytialization in BeWo cells., Nanotoxicology, 16(9-10): 883-94, 2022.
6. Martin, Watanabe R., Hashimoto K., Higashisaka K., Haga Y., Tsutsumi Y., Mizuguchi K. : Evidence-based prediction of cellular toxicity for amorphous silica nanoparticles., ACS Nano, 17(11): 9987-99, 2023.

### 【総説・その他】

1. Higashisaka K. : Health effects and safety assurance of nanoparticles in vulnerable generations., Biol. Pharm. Bull, 45(7): 806-12, 2022.
2. 東阪和馬, 芳賀優弥, 辻野博文, 堤 康央 : 微粒子曝露と脆弱な世代への健康影響～胎盤毒性/動態解析を例に～., BIO Clinica., 37 (1), 59-63, 2022.
3. 東阪和馬, 山下琢矢 : 化学物質のヒト健康影響評価とリスク解析の今後～若手研究者目線で～. Yakugaku Zasshi. 143(2): 119-20, 2023.
4. 東阪和馬 : ヒトの健康へのリスク解析に資するナノマテリアルの神経細胞分化におよぼす影響とその機序解明. Yakugaku Zasshi. 143(2): 133-8, 2023.
5. 東阪和馬, 芳賀優弥, 堤 康央 : 香粧品ナノマテリアルの安全性評価—獲得免疫系を介したハザード解析とその機序解明. Fragrance Journal. 51(7): 25-9, 2023.

### 2. 学会発表

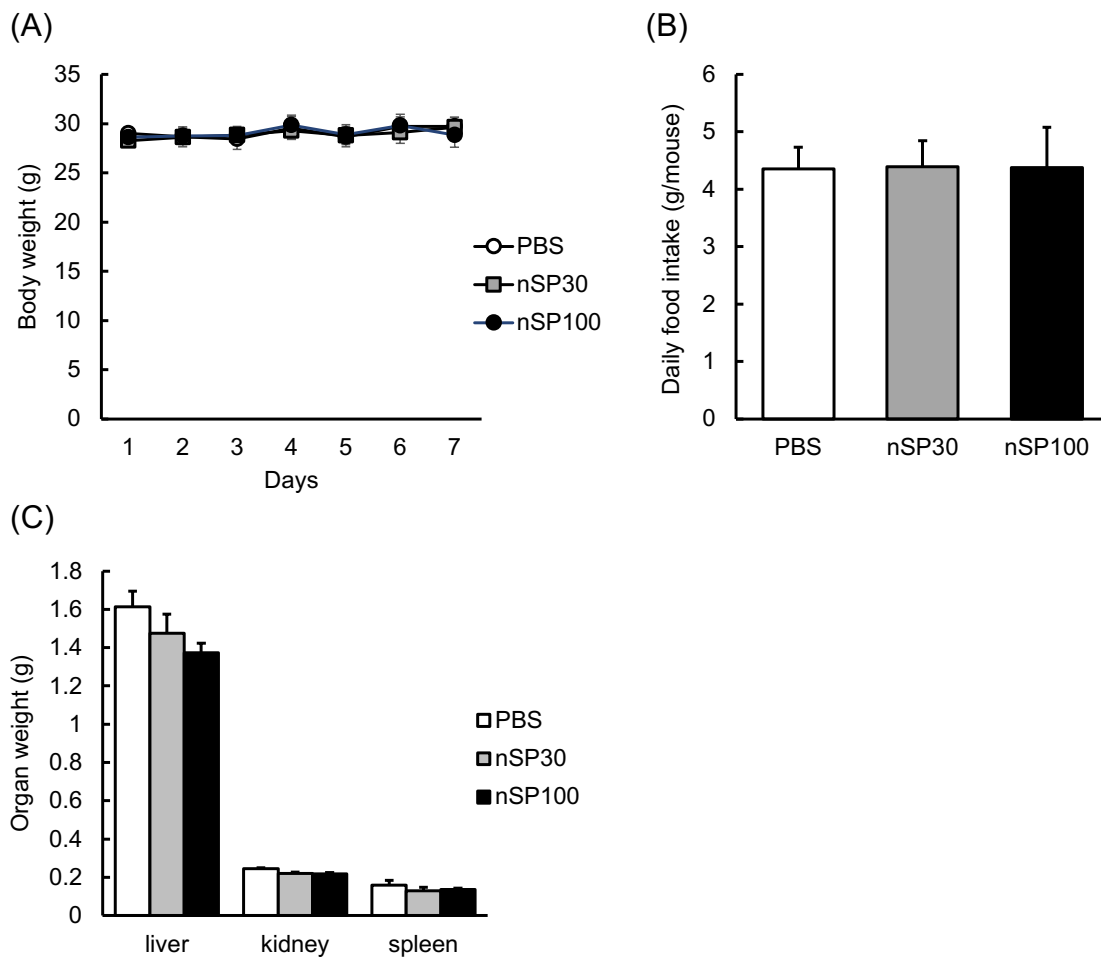
#### 【シンポジウム等】

1. 東阪和馬, 芳賀優弥, 辻野博文, 長野一也, 堤 康央: 非晶質ナノシリカによる胎盤毒性とその誘導機序解明., オンライン, フォーラム 2021., 2021 年 9 月.
2. 東阪和馬: 物性-動態-毒性の連関解析に基づく、脆弱な世代へのナノ粒子の健康影響評価と安全性確保., 日本薬学会第 142 年会., 名古屋 (愛知), 2022 年 3 月.
3. 東阪和馬: ヒトの健康へのリスク解析に資するナノマテリアルの神経細胞分化におよぼす影響とその機序解明., 日本薬学会第 142 年会, 名古屋 (愛知), 2022 年 3 月. (シンポジウム: 化学物質のヒト健康影響評価とリスク解析の今後 ~若手研究者目線で~)
4. 東阪和馬: 食品中ナノマテリアルの安全性評価: 安全なナノマテリアルの創製に向けた脳神経機能への影響評価., 第 49 回日本毒性学会, 札幌 (北海道), 2022 年 7 月. (シンポジウム: 食品安全に資する食品・食品添加物の健康影響評価と品質評価法の基盤開発)
5. 東阪和馬, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性評価について. 第 24 回医薬品質フォーラムシンポジウム, 東京 (東京), 2023 年 2 月. (シンポジウム: 欧州での食品添加物としての二酸化チタンの使用停止と医薬品規制への波及)
6. 東阪和馬: ナノ粒子による胎盤毒性と次世代への影響., 日本薬学会第 143 年会, 札幌 (北海道), 2023 年 3 月. (シンポジウム: 微粒子疾患の発症に関わる生体機構の解明と制御法開発)
7. 東阪和馬: ナノマテリアルの社会受容に向けた安全性研究の現状と今後. ナノインク懇話会, 大阪 (大阪), 2023 年 6 月.
8. 東阪和馬: 脆弱な世代に対する金属ナノ粒子の健康影響評価と安全性確保に向けて., メタルバイオサイエンス研究会 2023, 岐阜 (岐阜), 2023 年 10 月. (シンポジウム: 微小金属粒子のバイオサイエンス: 測定から生体応答まで)
9. 東阪和馬: ヒトと微粒子との環境共生に向けたナノマテリアルの物性とハザード発現との連関解析., 日本薬学会第 144 年会, 横浜 (神奈川), 2024 年 3 月. (シンポジウム: 微粒子との環境共生研究 up-to-date 2024)

#### 【国内学会発表】

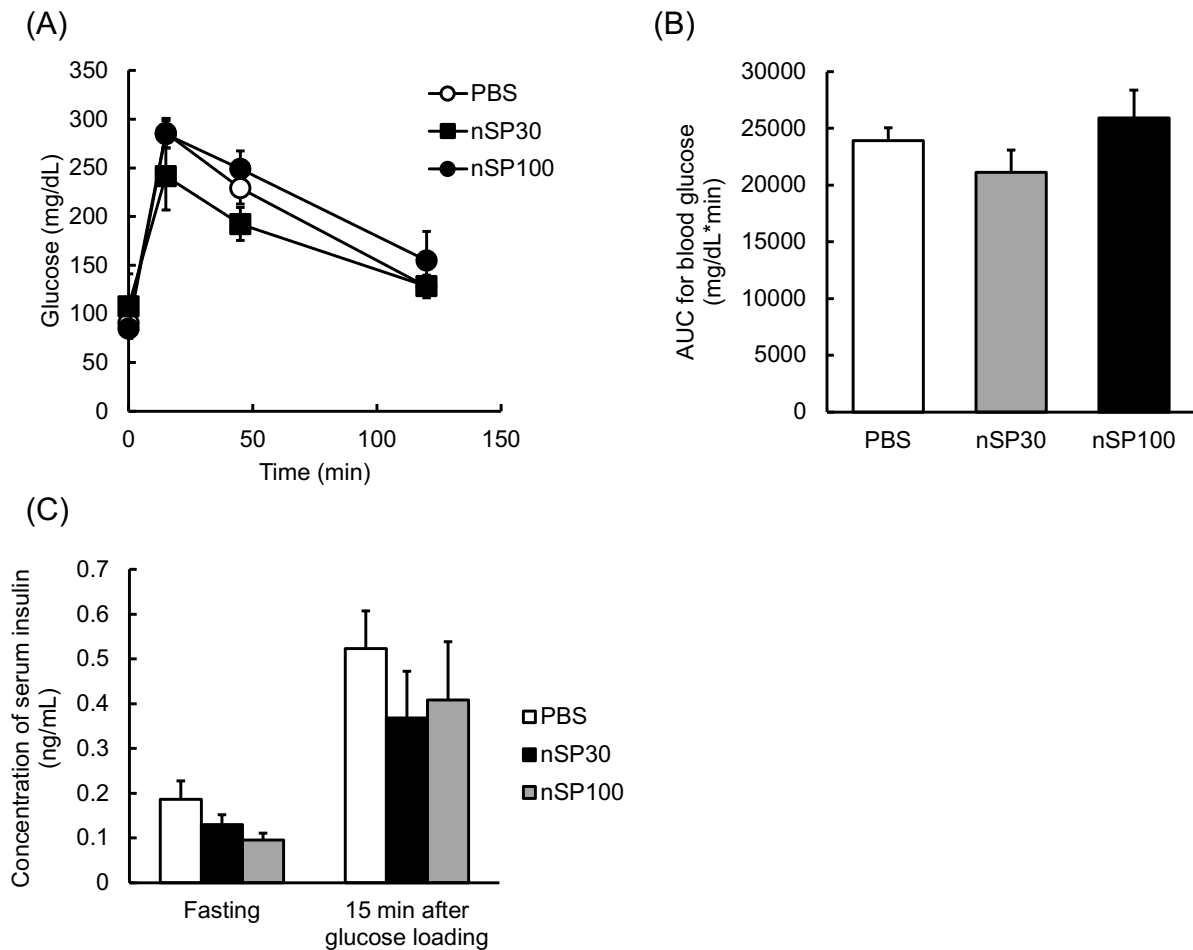
1. 坂橋優治, 東阪和馬, 泉谷里奈, 井阪 亮, 山口慎太郎, 清本琴淑, 北原 剛, 小林純大, 芳賀優弥, 辻野博文, 長野一也, 堤 康央: BeWo 細胞合胞体化モデルを活用した胎盤形成過程に対するナノマテリアルの安全性評価., 第 46 回日本香粧品学会., オンライン, 2021 年 6 月.
2. 坂橋優治, 東阪和馬, 泉谷里奈, Seo Jiwon, 北原 剛, 小林純大, 仲本有里菜, 山本怜奈, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: ナノマテリアルの胎盤毒性解析に向けて-銀ナノ粒子が誘導する胎盤細胞の合胞体化抑制における活性酸素種の関与., 日本薬学会第 142 年会., 名古屋 (愛知), 2022 年 3 月.
3. 奥村 萌, 芳賀優弥, 小西弘登, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央: 神経細胞における非晶質ナノシリカの動態評価., 日本薬学会第 142 年会., 名古屋 (愛知), 2022 年 3 月.
4. 山本怜奈, 東阪和馬, 北原 剛, 小林純大, 仲本有里菜, 坂橋優治, 泉谷里奈, Seo Jiwon, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: ナノマテリアルの胎盤毒性解析に向けて-非晶質ナノシリカ曝露による胎盤ホルモン産生への影響., 日本薬学会第 142 年会., 名古屋 (愛知), 2022 年 3 月.
5. 東阪和馬, 小椋万生, 衛藤舜一, 櫻井美由紀, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: 非晶質ナノシリカの鼻腔を介した吸入曝露が免疫系におよぼす影響の評価., 日本薬剤学会第 37 年会., オンライン, 2022 年 5 月.
6. 東阪和馬, 衛藤舜一, 小椋万生, 櫻井美由紀, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: 香粧品中ナノマテリアルの安全性評価: 獲得免疫系を介した非晶質ナノシリカのハザード解析とその発現機序解明., 第 47 回日本香粧品学会., 東京 (東京), 2022 年 6 月.
7. 坂橋優治, 東阪和馬, 泉谷里奈, Seo Jiwon, 北原 剛, 小林純大, 仲本有里菜, 山本怜奈, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: 活性酸素種の誘導を介した銀ナノ粒子による胎盤合胞体化の抑制., 第 49 回日本毒性学会, 札幌 (北海道), 2022 年 6 月.
8. 東阪和馬, 坂橋優治, 北原 剛, 泉谷里奈, 小林純大, 仲本有里菜, Seo Jiwon, 山本怜奈, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: ナノ粒子が胎盤細胞の合胞体化におよぼす影響評

- 価., フォーラム 2022., 熊本(熊本), 2022 年 8 月.
9. 坂橋優治, 東阪和馬, 泉谷里奈, Seo Jiwon, 北原 剛, 小林純大, 仲本有里菜, 山本怜奈, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: 胎盤形成段階の細胞合胞体化に着目したナノマテリアルの影響評価., 第 21 回次世代を担う若手のためのファーマ・バイオフォーラム 2022., 名古屋(愛知), 2022 年 9 月.
  10. 奥村 萌, 芳賀優弥, 小西弘登, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央: 非晶質ナノシリカの細胞内取り込みと経鼻投与後の動態評価., 日本薬学会第 143 年会., 札幌(北海道), 2023 年 3 月.
  11. 山本怜奈, 東阪和馬, 北原 剛, 仲本有里菜, 坂橋優治, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: 非晶質ナノシリカによる妊娠転帰への影響と炎症応答との関連追究., 日本薬学会第 143 年会., 札幌(北海道), 2023 年 3 月.
  12. 東阪和馬, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: 食品関連製品に含まれるナノマテリアルの神経細胞分化への影響解析., 日本食品化学学会第 29 回総会・学術大会., 富山(富山), 2023 年 6 月.
  13. 泉谷里奈, 東阪和馬, 坂橋優治, Seo Jiwon, 宮地一輝, 芳賀優弥, 辻野博文, 堤 康央: ナノマテリアル曝露が妊娠準備から着床期に及ぼす影響評価., 日本食品化学学会第 29 回総会・学術大会., 富山(富山), 2023 年 6 月.
  14. 山本怜奈, 東阪和馬, 北原 剛, 仲本有里菜, 坂橋優治, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: 非晶質ナノシリカ曝露による胎盤炎症応答の解析., 日本食品化学学会第 29 回総会・学術大会., 富山(富山), 2023 年 6 月.
  15. 奥村 萌, 芳賀優弥, 辻野博文, 東阪和馬, 堤 康央: 非晶質ナノシリカ粒子の細胞内取り込みと経鼻投与後の動態評価., 第 50 回日本毒性学会学術年会., 横浜(神奈川), 2023 年 6 月.
  16. Seo Jiwon, 東阪和馬, 坂橋優治, 泉谷里奈, 宮地一輝, 辻野博文, 芳賀優弥, 堤 康央: ナノマテリアル曝露による合胞体化抑制のエピジェネティックな観点からのメカニズム解析., 第 50 回日本毒性学会学術年会., 横浜(神奈川), 2023 年 6 月.
  17. 東阪和馬, 坂橋優治, 辻野博文, 芳賀優弥, 中島彰俊, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保に向けた胎盤細胞合胞体化への影響解析., 第 48 回日本香粧品学会., 東京(東京), 2023 年 6 月.
  18. 小林純大, 東阪和馬, 謝 燕坤, 奥野和香子, 村中瑞希, 芳賀優弥, 堤 康央: 非晶質ナノシリカ粒子の胎盤透過性及び胎盤細胞取り込み評価., 第 73 回日本薬学会関西支部総会・大会., 神戸(兵庫), 2023 年 10 月.
  19. 東阪和馬, 坂橋優治, 芳賀優弥, 中島彰俊, 堤 康央: 胎盤細胞の合胞体化に着目したナノ粒子の安全性評価研究., 第 31 回日本胎盤学会学術集会., 福岡(福岡), 2023 年 11 月.
  20. 佐伯悠真, 東阪和馬, 泉谷里奈, Seo Jiwon, 宮地一輝, 芳賀優弥, 堤 康央: 銀ナノ粒子の雄親曝露が妊娠転帰に及ぼす影響の評価., 日本薬学会第 144 年会., 札幌(北海道), 2024 年 3 月.
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)**
- 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



**図1：非晶質ナノシリカの経口曝露による耐糖能およびグルコース応答性インスリン分泌能への影響評価**

雌性ICRマウス（n = 4-6）に、nSP30、nSP100を2.5 mg/mouse/dayで7日間連日経口投与した。（A）投与開始から1週間での体重の推移、（B）マウス1匹あたりの平均1日摂餌量、（C）最終投与24時間後の肝臓、腎臓、脾臓重量を測定した。



**図2：非晶質ナノシリカの経口曝露による耐糖能およびグルコース応答性インスリン分泌能への影響評価**

雌性ICRマウス（ $n = 4-6$ ）に、nSP30、nSP100を2.5 mg/mouse/dayで7日間連日経口投与した。（A）最終投与後に、16時間の絶食下においてブドウ糖溶液を経口投与し、投与前（0分）、投与後15分、45分、120分に採血し、血糖値を測定すると共に、（B）試験中の血糖におけるArea Under the Curveを算出した。また、（C）ブドウ糖溶液の経口投与前、および、投与15分後の血中インスリン濃度を定量解析した。



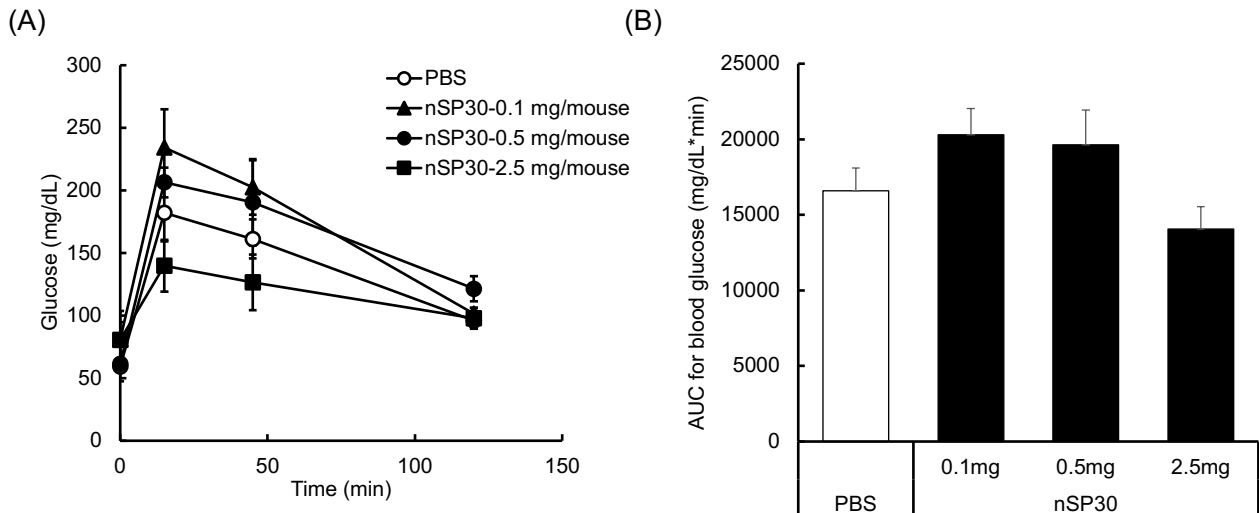


図3：非晶質ナノシリカの経口曝露による耐糖能への影響評価

雌性ICRマウスに、nSP30を0.1、0.5、2.5 mg/mouse/dayで7日間連日経口投与した。最終投与後に、16時間の絶食下においてブドウ糖溶液を経口投与し、投与前（0分）、投与後15分、45分、120分に採血し、（A）血糖値を測定すると共に、（B）試験中の血糖におけるArea Under the Curveを算出した。

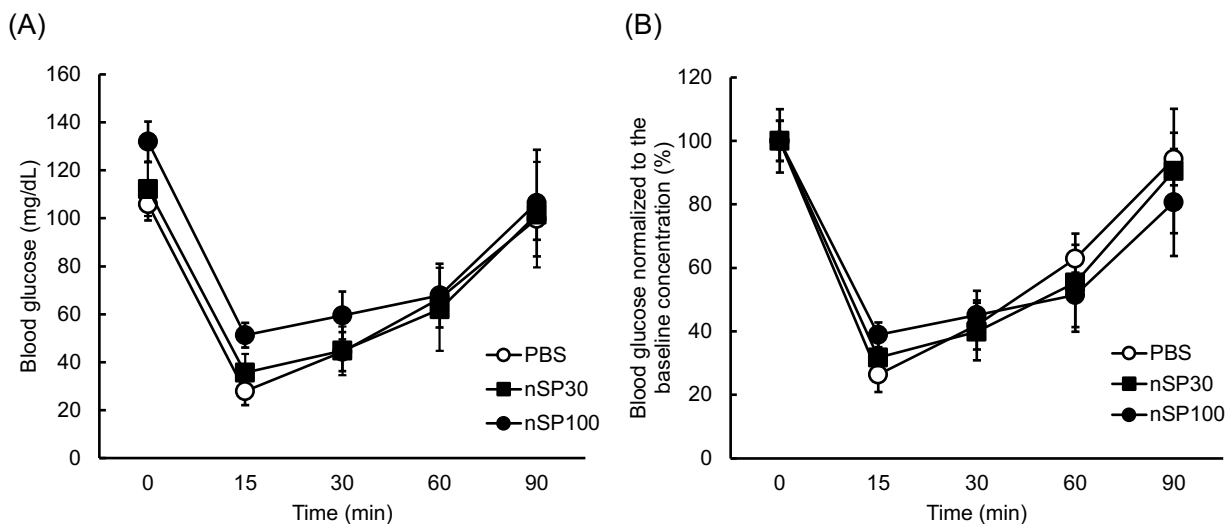


図4：非晶質ナノシリカの経口曝露によるインスリン抵抗性への影響評価

雌性ICRマウスに、nSP30、nSP100を2.5 mg/mouse/dayで7日間連日経口投与した。最終投与後に、2時間の絶食下においてインスリンを腹腔内投与し、投与前（0分）、投与後15分、30分、60分、90分に採血し、（A）血糖の絶対値の推移、（B）インスリン負荷前の血糖を100%として算出した相対的な変化を評価した。