

ナノマテリアルの有害性評価を迅速化・高度化する
短期経気管肺内噴霧暴露評価系および *in vitro* 予測手法の開発（23KD1002）

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 名古屋市立大学大学院医学研究科 特任教授

研究要旨

1) 短期（6w）のプロトコルにおいて発がん性の観察されたカーボンナノチューブのMWCNT-7、MWCNT-N、MWCNT-B、DWCNT（TIPS投与・0.5mg/ラット、）の発がん関連因子のRNA microarray 発現解析を実施した。
2) 長期投与（～104週）においては既知の肺発がん物質4種をTIPS投与した。2) ニトロサミンのDHPN（4回・計800mg/ラット）、タバコ煙ニトロサミン NNK（40mg）、MWCNT-N（1.5mg/ラット）、MWCNT-B投与（1.5mg/ラット）群の肺がん組織のDNA変異シグネチャー解析による遺伝子変化を分析による発がんに関わる遺伝子変化機序解析を行っている。その結果、MWCNTによる肺・胸膜中皮におけるRNA発現、DNAシグナチャー解析において、発がん性ニトロサミンとは全く異なる発がん経路が考えられた。

A. 研究目的

2層以上の多層壁カーボンナノチューブ（MWCNT）は、肺または/同時に胸膜中皮に発がん性のあることを明らかにしてきた。それらは体内に入ると分解されることなく異物として残留して沈着組織細胞に発がんさせる。このことは発がん性ニトロサミン類のように、生体内で代謝分解または活性化されて最終的にDNA障害をもたらすという従来の発がん物質とは全く異なる。すなわちMWCNTは生体内で分解する事なく長く残留して、残留部位に癌を発生させる。本研究ではMWCNTの発がん機序を明らかにして、その予測法を明らかにすることにある。

B. 研究方法

1) 短期（6w）実験のプロトコルにおいて既存の肺/胸膜中皮に発がん性の観察されたカーボンナノチューブのMWCNT-7、MWCNT-N、MWCNT-B、DWCNT（TIPS投与・0.5mg/ラット）及び既知の変異原性性肺発がんニトロサミン N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) 4000mg/kg 投与ラットの発がん関連因子のRNA microarray 発現解析を実施した。RNA Sequence heat Map ではUp regulationはDown regulationの7.4倍以上(701/95)に対して4種のCNTでは2.7倍(75/27)を示し、絶対的、相対的に異なった発現パターンであった。

2) 長期実験（～104週）において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）ともつれ型線維（Tangled fiber）のMWCNT-B（肺発癌性あり）を1回/週にて総投与量1.5mg/ラットを経気管内肺内噴霧（TIPS）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-nitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone

(NNK)を200mg/kgとなるように週1回にて4週間（計4回）投与し、初回投与より52-104週にて終了した。

（倫理面の配慮）

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。

C. 研究結果

1) 短期試験：肺発がん性においてニトロサミンのDHPNと4種のCNTではRNA Sequence heat Mapの発現は全く異なり、発がん機序が全く異なる可能性が示された。

2) 同様に肺発がん性ニトロサミンとMWCNTによって発生した肺がんのDNAシグナチャー解析ではCNTの肺発がんにかかる発がん機序は全く異なる可能性が示唆された。

D. 考察

本研究によって、MWCNTの肺・胸膜中皮における発がん機序はニトロサミンとは全く異なる経路が明らかになりつつある。

E. 結論

MWCNTの発がん予防に新しい道を拓くことになる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sultana N, Fukamachi K, Jiegou Xu, **Tsuda H**, Suzui M. mRNA expression profile of cytokines in

rat primary alveolar macrophages treated with multiwalled carbon nanotube (MWCNT). *Fundam Toxicol Sci.* 10:27-30, 2023.

2. Sultana N, Fukamachi K, Roy DC, Jiegou Xu, **Tsuda H**, Suzui M. mRNA expression levels of CCL4, IL6, and CXCL2 in multiwalled carbon nanotube induced lung tumors in rats. *Fundam Toxicol Sci.* 10:137-141, 2023.

2. 学会発表

1. **Tsuda H**. Carbon nanotubes (CNT), innovative materials of the 21st century: carcinogenicity evaluation of CNT with different wall structures, The 51st International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund (2023年11月、東京)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし