

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:慢性影響を考慮した効率的気管内投与法の確立に関する研究

研究分担者:北條 幹	東京都健康安全研究センター	薬事環境科学部 主任研究員
研究分担者:広瀬 明彦	化学物質評価機構	安全性評価技術研究所 顧問
研究分担者:高橋 祐次	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部 室長
研究分担者:横田 理	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部 室長
研究分担者:小林 憲弘	国立医薬品食品衛生研究所	生活衛生科学部 室長
研究分担者:菅野 純	国立医薬品食品衛生研究所	毒性部 客員研究員
研究協力者:前野 愛	東京都健康安全研究センター	薬事環境科学部
研究協力者:坂本 義光	東京都健康安全研究センター	薬事環境科学部
研究協力者:中江 大	帝京平成大学健康医療スポーツ学部	教授
研究協力者:大貫 文	東京都健康安全研究センター	薬事環境科学部 主任研究員

#### 研究要旨

MWCNTの2年間の吸入試験の報告は、保土ヶ谷製 MWNT-7 (NT-7) をラットに吸入させた Kasai らの試験 1 報のみである。本研究では、この吸入試験と同レベルの評価が可能な慢性試験方法の開発を目指し、気管内反復投与による NT-7 の肺腫瘍および胸膜中皮腫の誘発性について用量反応性データを得ることを目的とした。

F344 雄性ラットを対照群 (C 群)、低用量群 (L 群)、中用量群 (M 群) 高用量群 (H 群) および超高用量群 (EH 群) の 5 群に分け、動物数はそれぞれ 40、40、40、40 および 20 匹とした。10 週齢から、C 群には 0.1% Tween 含有生理食塩水を、L 群、M 群、H 群および EH 群にはそれぞれ 0.0175、0.07、0.28 および 0.42 mg/kg 体重の用量で Taquann 処理 NT-7 を 1 週間毎に 1 回、合計 13 回、気管内に投与し、試験開始から 104 週目まで経過観察した。

最終投与の翌日に、サテライト動物を剖検し、肺内の MWCNT の量を測定した結果、L 群、M 群、H 群および EH 群の負荷量はそれぞれ 30、191、980 および 1369  $\mu\text{g}/\text{lung}$  であった。蓄積率は、L 群が 47%、M 群が 75% であり、H 群と EH 群で 90% を超えていた。試験開始 73 週時点以降、H 群・EH 群で最終解剖までに胸膜中皮腫と疑われる病変により、9 例・11 例を剖検した。最終解剖の標本は、組織検索の途中だが、肉眼観察結果をもとにすると、肺の腫瘍を認めた例数とその頻度 (%) は、C、L、M、H および EH 群において、それぞれ、2 例 (5.2%)、4 例 (10.5%)、13 例 (33.3%)、5 例 (13.1%) および 3 例 (15.0%) であった。一方、胸膜中皮腫は、C 群・L 群では観察されず、M 群、H 群および EH 群の例数と頻度はそれぞれ 1 例 (2.6%)、11 例 (28.9%) および 12 例 (60.0%) であった。

本研究では、4 用量を設定した NT-7 の 13 週間の反復気管内投与による 2 年試験を実施した結果、肺腫瘍と胸膜中皮腫が発生し、総負荷量に対する用量反応性を把握することができた。肺腫瘍発生の用量反応性は、基本的には Kasai らの吸入試験と類似する

ものと考えられた。従って、ITによる2年間試験も、総肺負荷量（AUC面積）を合わせることで、2年間の慢性吸入試験をある程度代替し得ること、すなわち、リスク評価に活用し得ることが示された。ただし、高用量の気管内投与は中皮腫による早期死亡が多発させ、腫瘍の評価困難になることが再確認された。

## A. 研究目的

欧州では、近年ナノマテリアルのREACH登録制度が開始し、*in vitro*を中心とした新しい評価法も整備されつつある。しかし、ナノマテリアルの最も重要なエンドポイントと考えられる慢性毒性を*in vitro*試験で捕捉することは困難である。例えば、CNT等のナノマテリアルの発癌性が指摘されてきたが、その機序は、長期体内蓄積によるものと推測され、Ames試験など現状の*in vitro*遺伝毒性試験は有効ではない。このことから、ナノマテリアルの慢性吸入毒性については、動物を用いた評価手法の検討が依然として重要である。過去には、日本バイオアッセイセンターのKasaiらによりMWNT-7（保土ヶ谷製）の2年間の全身吸入曝露試験が実施され、肺の腺腫および腺癌が発症することが報告された。<sup>1)</sup>しかし、吸入試験の実施には特殊な設備とコストが必要である。また発がん性試験を実施できる施設は世界的にもごく限られており、2年間の連続吸入による発がん試験に代わって慢性の呼吸器影響を評価できる評価手法が求められている。

ラット気管内投与を用いた慢性試験は有力な代替手法の候補の一つであり、SuzuiらはMWNT-7に類似する形状のMWCNT-Nについて、2週間で合計8回の気管内噴霧投与 Intra-Tracheal Intra-Plumonary Spray (TIPS)後に2年間観察する実験で、肺腫瘍および胸腔内中皮腫が発症することを報告した<sup>2)</sup>。一方、Numanoらは、TIPS法によりMWNT-7（三井製）を12週間で合計12回投与した結果、5%の動物に肺腫

瘍が、95%の動物に胸膜中皮腫が発生した。<sup>3)</sup>さらに、我々が実施したMWNT-7（三井製）を4週間に1度、2年間の間欠気管内投与した試験では、上記TIPS試験の結果より頻度が低いものの、やはり胸膜中皮腫が発生し、胸膜中皮腫は気管内投与試験に特有の結果であることが示された（Hojoら）<sup>4)</sup>。これは、総曝露量が吸入と同程度だとしても、気管内投与ではDose Rateが著しく高いために胸腔へのMWCNT繊維の移行効率が高いことが原因と考えられる。我々の結果と、Numanoら<sup>3)</sup>の報告とを踏まえると、気管内投与による呼吸器毒性の評価には、中皮腫による早期死亡を考慮した投与頻度や用量設定が重要である。

一方で、我々の間欠投与試験では肺腫瘍が発生したものの<sup>4)</sup>、2用量しか設定できなかったことと、上記の通り中皮腫の発症により、肺発がんを評価できる個体数が減少したことから、MWNT-7による肺発がん性について十分な用量反応性を把握することはできなかった。

そこで、本研究では、2年間の吸入曝露試験を代替し、リスク評価へ活用できる試験法の開発を目指し、気管内投与による肺発がんの用量反応性を把握できる2年試験を行うこととした。2年間の実験期間の初期（13週間）に反復投与後に無処置で飼育するプロトコルを採用し、胸膜中皮腫が発生し得る高い用量域からNOAELになることが想定される低い用量域まで投与群を4用量設定した。また、被験物質は、過去に本研究班で使用されてきた三井製のMWNT-7ではなく、Kasaiらが使用した保土ヶ谷製

(NT-7) を用いることにした。

最終年度にあたる今年度は、途中死亡例および 2 年後の最終解剖の結果を報告する。

## B. 研究方法

### i)MWCNT の調製

保土ヶ谷製の MWNT-7 (NT-7) を Taquann 処理 (53 $\mu$ m メッシュ) <sup>5)</sup>した。この T-NT-7 を、200°C で 2 時間処理し、0.1% Tween80 (ポリソルベート、日油) 含有生理食塩水を加え超音波浴槽 (100W) で 30 分以上分散させた。サンプル濃度は、0.0175、0.07、0.28 および 0.42 mg/mL とし、それぞれを低用量群 (L 群)、中用量群 (M 群)、高用量 (H 群) および超高用量群 (EH 群) の投与に用いた。

なお、0.01 mg/mL の分散液を DLS で測定した二次粒子径は 571.4 nm であった。

### ii)動物飼育および投与

5 週齢の F344/DuCr1Cr1j の雄性ラットを購入し (ジャクソンラボラトリー・ジャパン)、コンベンショナル飼育室にて、床敷入りのプラスチック製ケージに 3 匹ずつ収容し、基礎飼料 CE-2 (日本クレア) と、限外ろ過した水道水を自由摂取させ、室温 23.0  $\pm$  0.2°C、湿度 49.7  $\pm$  6%、換気回数毎時 10 回 (HEPA フィルター経由)、12 時間蛍光灯照明の条件下で飼育した。

1 週間に 1 度、13 回投与後に 2 年間観察飼育した。ラットを、対照群 (C 群)、L 群、M 群、H 群および EH 群の 5 群に分け、動物数は C、L・M・H 群は 40 匹、EH 群は 20 匹とした。ただし、投与群については、13 週時点・最終解剖時点での肺負荷量の測定のため、別途、サテライト動物を用意し

た。

10 週齢の時点から、1 週間に 1 度、1 mL/kg 体重の投与量で、マイクロスプレイヤー (PennCentury 製) を用いて合計 13 回投与した。投与用量は、L 群、M 群、H 群および EH 群の各群について、0.0175、0.07、0.28 および 0.42 mg/kg 体重と設定した。

全動物について、1 週間から 4 週間に一度以上の頻度で、体重を測定した。

### iii)剖検・採材

13 回目の投与翌日に、全投与群 (4 群) について、サテライト動物 5 匹を剖検し、肺の全葉を 10% 中性緩衝ホルマリン溶液にて固定し、肺負荷量の測定に供した。

試験開始 104 週後に最終解剖を実施した。全動物について、イソフルラン麻酔下で全採血し、全臓器を摘出し、ホルマリン溶液で固定した。肺は、30cm 水柱圧で気管からホルマリン溶液を注入することにより固定した。

また、最終解剖以前に、人道的エンドポイントに達した動物および死亡動物についても同様に剖検した。最終解剖では、各群 8 匹について、右葉にリン酸緩衝液 (PBS) を注入して BALF を回収した。ただし、EH 群の生存率が著しく低かったため、EH 群を除く 4 群に関して解析した。BALF は遠心分離し、沈殿は白血球数の計数に、上清は LDH および総タンパク質量の測定に用いた。

また、MWCNT 投与群のサテライト動物 (4 ないし 5 匹) の肺は、全葉をホルマリン溶液で固定後、肺負荷量の測定の

### iv)病理組織学的解析

固定した臓器から、定法によりヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、光学顕微鏡による病理組織検索を行った。

#### v)肺負荷量の測定

肺内の MWCNT の測定は、Ohnishi らの蛍光マーカーを用いて検出する手法（大西法）に従った<sup>6,7)</sup>。肺組織をアルカリ溶液で溶解し、十分に分散させ、残存する肺組織を酸で溶解した後、MWCNT にベンゾ-ジペリレン (B[*gh*]P) を吸着させた。フィルターで MWCNT 繊維を捕捉してから、アセトニトリル溶液に B[*gh*]P を脱着させ、HPLC の分析に供した。

#### vi)気管支肺胞洗浄液 (BALF) の分析

BALF の沈殿を 2%の BSA 含有 PBS で再懸濁し、チュルク液で染色後に総細胞数の計測を行った。また、再懸濁液から自動遠心塗抹装置によって塗抹標本を作製し、メイグレンワルド・ギムザ染色し、白血球を分類・計数し、各種の白血球の個数を算出した。

BALF の上清の総タンパク質量は、2-D Quant Kit (Cytiva) により、乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性は LDH Cytotoxicity Detection kit (タカラバイオ) により、測定した。

#### vii)統計学的解析

体重、臓器重量、BALF 中の白血球数、総タンパク質量および LDH 活性の結果については Dunnett の多重比較検定を用いた。生存率については、Kaplan-Meier 法により生存期間を解析し、log-rank test により検定を行った。

#### <倫理面への配慮>

本研究では、人を対象とした研究、人の遺伝子解析および疫学研究は行っていない。動物飼育および動物実験は東京都健康安全研究センター動物実験実施規程に基づいて、動物実験委員会の事前審査および承認を受け、その管理のもと実施された。

#### C. 研究結果

本試験における、13 回投与後の L 群、M 群、H 群および EH 群の、総投与量の平均値は、それぞれ、64、255、1014 および 1519 であった (図 1・灰色棒グラフ)。一方、肺内の MWCNT 量の測定結果はそれぞれ 30、191、980 および 1369  $\mu\text{g}/\text{lung}$  であった。蓄積率は、L 群が 47%、M 群が 75%であり、H 群と EH 群で 90%を超えていた。(図 1)。

実験開始後 73 週時点で、EH 群で初めて胸膜中皮腫が観察された。その後、H 群および EH 群で最終解剖までに胸膜中皮腫と疑われる病変により、9 および 11 例を剖検した。

Kaplan-Meier による生存曲線の通り (図 2)、H 群・EH 群は C 群に対し有意な生存率の低下が認められた。

全投与群で、投与期間中に体重の抑制傾向が認められ、投与終了後には、いずれの群も平均体重が投与群に比べ 5%程度低い値となった。また最終解剖時点では H 群のみで C 群に対する有意な減少を認めた (図 3)。

事故等の途中死亡の動物を除外し、最終的に発がん性の評価に供する動物の有効数は、C 群 38 匹、L 群 38 匹、M 群 39 匹、H 群 38 匹および EH 群 20 匹であった。最終解剖

の標本については、現在、組織検索の途中だが、肉眼観察結果をもとにすると、肺の腫瘍を認めた例数とその頻度 (%) は、C、L、M、HおよびEH群において、それぞれ、2例 (5.2%)、4例 (10.5%)、13例 (33.3%)、5例 (13.1%) および3例 (15.0%) であった。一方、胸膜中皮腫は、C群・L群では観察されず、M群、H群およびEH群の例数と頻度はそれぞれ1例 (2.6%)、11例 (28.9%) および12例 (60.0%) であった。

観察済みの個体の増殖性病変の組織像のいくつかを図4に示す。EH群で認められた直径約7 mmのドーム状の腫瘍は腺がんと診断され (図4A)、乳頭状の増殖を示した (図4B)。免疫染色の結果、大半の腫瘍細胞はTTF1陽性であった (図4C)。胸膜中皮腫は2年間間欠投与の時と同様に、縦隔胸膜、特に Retrocardiac pleural folds (RPF) 周辺から発生した (図4D)。また、組織学的には、上皮性 (epithelioid)、肉腫性 (sarcomatoid) および二相性 (biphasic; 図4E) の3種の組織型が確認されており、肉腫性の中には一部骨化する例もあった (図4F)。

最終解剖におけるBALF内の白血球の構成は大半がマクロファージであり、投与群の動物でも顆粒球やリンパ球の増加は認められなかった。また、BALF上清の総タンパク質量は、肺泡領域の血管透過性の指標として、BALF上清のLDH活性は、呼吸器上皮の細胞毒性の指標として、それぞれ測定したが、投与に関連した変化は認められなかった。

#### D. 考察

Taquann処理NT-7を、13週間のIT投与

による反復曝露した結果、ラットにおいて肺腫瘍と胸膜中皮腫が誘発された。肺腫瘍の観察頻度は、L群・M群に関しては用量依存性に増加した。M群は、13週後の肺負荷量の値 (2年間のピーク値) は191  $\mu\text{g}/\text{rat}$  で、腫瘍の観察頻度は33.3%であった。この結果は、Kasaiらの吸入試験の0.2  $\text{mg}/\text{m}^3$  群の結果：2年後の肺負荷量152  $\mu\text{g}/\text{lung}$ ；肺腫瘍の発現頻度26.0%に、概ね一致するものであった。吸入試験の結果では、2  $\text{mg}/\text{m}^3$  群 (負荷量1369  $\mu\text{g}/\text{lung}$ ) においてさらに発現頻度が高くなったが (33.3%)、本研究では、H群、EH群では頻度が低下した。これは、試験前からの予想通り、中皮腫により早期死亡が多く発生したため、発生時期の遅い肺腫瘍の頻度が見かけ上、低下したものである。仮に、中皮腫の途中死亡個体を除いて肺腫瘍の観察頻度を算出すると、H群・EH群の頻度は、16.1%・33.3%となる。肺負荷量を横軸に、肺腫瘍の頻度を縦軸にとった用量反応曲線は、大きな傾きで立ち上がり、30%前後の頻度でプラトーになるKasaiらの吸入試験の結果の形状とよく似たものになる。

本研究において、2年間の肺負荷量のArea Under the Curve (AUC) の形状は、Kasaiらの週5日・2年間の曝露実験のように右肩上がりではなく、13週をピークに減少する台形である。にも関わらず、吸入試験と同程度の肺発がんの反応性が認められたことから、CNTの肺発がんの評価には曝露方法や曝露期間の違いは大きな影響は与えず、総負荷量およびAUC面積が重要であったことが示唆される。

一方、中皮腫の発生頻度は、用量反応性に、直線的に増加することがわかった。H

群・EH群における高頻度の誘発（それぞれ28.9%・60.0%）は、上記のとおり、肺腫瘍の評価を妨げることになった。過去のIT投与による2年間の反復試験の結果を踏まえると、投与プロトコルの違いに関わらず、MWNT-7の反復投与は1000 µg/ratの総投与量を超える場合、肺腫瘍の評価が困難であることが推察される。しかし、今回の中皮腫の発現頻度は、既報を踏まえた予想よりやや低く、早期死亡の発生時期もやや後半にシフトした。Numanoらの試験（総投与量1500 µg/ratの1用量で実施）EH群の投与プロトコルはとほぼ同一であったが、47週から最終解剖直前までの期間に95%の動物が中皮腫により死亡していた。また、Satoらの、3用量を設定した2年間試験でも、総投与量200 µg程度の中用量群・1000 µg程度の高用量群で、発現頻度は、60.0%、94.9%であった<sup>8)</sup>。これら2つの既報との差異は、本研究で用いた検体が、Numanoら、Satoらが用いた三井製のMWNT-7ではなく保土ヶ谷製のNT-7であったことが理由かもしれない。MWNT-7と比較して、原末の凝集体の形状が異なり、平均長が短いこと（横田）、DLSによる二次粒子径のサイズがやや小さいこと（北條・1年目報告）、*in vitro*でのマクロファージに対する毒性が弱いこと（石丸）等が本研究班で示されている。

なお、Kasaiらの吸入試験や、2年間の間欠反復投与の結果とは異なり、最終解剖のBALFの解析で、毒性影響は観察されなかった。これは、反復投与終了後（13週以降）、2年間の飼育の間に、気管支および肺胞に受けた急性的な傷害は回復したためと考えられる。また、このことは、肺がんや中

皮腫の誘発には、実験期間の後半に加えられた急性的な作用ではなく、実験期間の初期に組織に蓄積したMWCNTが与える低レベルかつ持続的な作用が重要であったことを示唆している。

## E. 結論

本研究では、保土ヶ谷製のMWNT-7（NT-7）を用い、4用量を設定した13週間のラット反復気管内投与を実施した結果、肺腫瘍と胸膜中皮腫が発生し、総負荷量に対する用量反応性を把握することができた。肺腫瘍発生用量反応性は、基本的にはKasaiら<sup>1)</sup>の2年間の吸入試験と類似するものと考えられた。従って、ITによる2年間試験も、総肺負荷量（AUC面積）をそろえることで、2年間の慢性吸入試験をある程度代替し得ること、すなわち、リスク評価に活用し得ることが示された。

ただし、総投与量1000 µg/rat以上の高用量の気管内投与は中皮腫による早期死亡が多発させ、腫瘍の評価困難になることが再確認された。投与期間やCNTの種類により異なるものの、この総投与量を最高用量の目安に、3から4群程度の用量設定することが、肺腫瘍および胸膜中皮腫を正しく評価するために重要であると考えられる。

## （謝辞）

本研究の遂行にあたり、技術的な助言をいただいた、沼野琢旬先生、大西誠先生、後藤裕子先生、また、技術的支援をしていただいた、生嶋清美氏、湯澤勝廣氏、五十嵐海氏、宮尾佳伸氏、河合礼果氏、平松恭子氏、長澤明道氏、安藤弘氏、野村紗希子氏、籾岡恭子氏、雑賀絢氏、中村麻里氏、

故矢野範男氏に深く感謝する。

#### F. 参考文献

- 1) Lung carcinogenicity of inhaled multi-walled carbon nanotube in rats. Kasai T, Umeda Y, Ohnishi M, Mine T, Kondo H, Takeuchi T, Matsumoto M, Fukushima S. *Part Fibre Toxicol.* 2016 Oct;13(1):53.
- 2) Multiwalled carbon nanotubes intratracheally instilled into the rat lung induce development of pleural malignant mesothelioma and lung tumors. Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Numano T, Abdelgied M, Takahashi S, Ohnishi M, Omori T, Tsuruoka S, Hirose A, Kanno J, Sakamoto Y, Alexander DB, Alexander WT, Jiegou X, Tsuda H. *Cancer Sci.* 2016 Jul;107(7):924-35.
- 3) MWCNT-7 administered to the lung by intratracheal instillation induces development of pleural mesothelioma in F344 rats. Numano T, Higuchi H, Alexander DB, Alexander WT, Abdelgied M, El-Gazzar AM, Saleh D, Takase H, Hirose A, Naiki-Ito A, Suzuki S, Takahashi S, Tsuda H. *Cancer Sci.* 2019 Aug;110(8):2485-2492.
- 4) Improved dispersion method of multi-wall carbon nanotube for inhalation toxicity studies of experimental animals. Taquahashi Y, Ogawa Y, Takagi A, Tsuji M, Morita K, Kanno J. *J Toxicol Sci.* 2013;38(4):619-28.
- 5) Two-year intermittent exposure of a multiwalled carbon nanotube by intratracheal instillation induces lung tumors and pleural mesotheliomas in F344 rats. Hojo M, Maeno A, Sakamoto Y, Ohnuki A, Tada Y, Yamamoto Y, Ikushima K, Inaba R, Suzuki J, Taquahashi Y, Yokota S, Kobayashi N, Ohnishi M, Goto Y, Numano T, Tsuda H, Alexander DB, Kanno J, Hirose A, Inomata A, Nakae D. *Part Fibre Toxicol.* 2022, 19(1), 38
- 6) Novel method using hybrid markers: development of an approach for pulmonary measurement of multi-walled carbon nanotubes. Ohnishi M, Yajima H, Kasai T, Umeda Y, Yamamoto M, Yamamoto S, Okuda H, Suzuki M, Nishizawa T, Fukushima S. *J Occup Med Toxicol.* 2013 Oct 25;8(1):30.
- 7) Improved method for measurement of multi-walled carbon nanotubes in rat lung. Ohnishi M, Suzuki M, Yamamoto M, Kasai T, Kano H, Senoh H, Higashikubo I, Araki A, Fukushima S. *J Occup Med Toxicol.* 2016 Sep 15;11:44.
- 8) Difference in carcinogenicities of two different vapor grown carbon fibers with different physicochemical characteristics induced by intratracheal instillation in rats. Sato K, Fukui H, Hagiwara Y, Ogawa R, Nishioka A, Numano T, Sugiyama T, Kawabe M, Mera Y, Yoneda T. *Part Fibre Toxicol.* 2023 Sep 28;20(1):37.

#### G. 研究発表

(論文発表)

Hojo M, Maeno A, Sakamoto Y, Yamamoto Y, Taquahashi Y, Hirose A, Suzuki J, Inomata A, Nakae D: Time-course of transcriptomic change in the lungs of F344 rats repeatedly exposed to a multiwalled carbon nanotube in a 2-year test. *Nanomaterials (Basel)*. 2023; 13(14):2105.

Miyauchi A, Akashi T, Yokota S, Taquahashi Y, Hirose A, Hojo M, Yoshida H, Kurokawa M, Watanabe W: Effects of inhalation of multi-walled carbon nanotube (MWCNT) on respiratory syncytial virus (RSV) infection in mice. *J Toxicol Sci*. 2023; 48(7):411-420.

Shimizu M, Hojo M, Ikushima K, Yamamoto Y, Maeno A, Sakamoto Y, Ishimaru N, Taquahashi Y, Kanno J, Hirose A, Suzuki J, Inomata A, Nakae D: Continuous infiltration of small peritoneal macrophages in the mouse peritoneum through CCR2-dependent and -independent routes during fibrosis and mesothelioma development induced by a multiwalled carbon nanotube, MWNT-7. *J Toxicol Sci*. 2023;48(12):617-639.

北條 幹:カーボンナノチューブの発がん性. *Precision Medicine*, 2023年6巻4号, p.30-34

北條 幹, 坂本義光, 前野愛:最前線・ナノマテリアルの実際の危険性—ラット慢性試験によるカーボンナノチューブの発がん性評価. *ファルマシア*, 2023年59巻7号, p. 659-663

(学会発表)

Tsuda H, Ahmed O, Saleh D, Alexander

W, Alexander D, Numano T, Takase H, Naiki-Ito A, Hirose A, Kanno J, Yudasaka M, Yuge R, Tomono S, Wei M, Hojo M, Tsuruoka S:

Carcinogenicity risk assessment of various carbon nanotubes by intraTracheal Intra-Pulmonary Spray (TIPS) dosing followed by 2-year observation. 2023 Inhaled Particles and NanOEh conference, Manchester, UK (May 15-18, 2023).

Hirose A, Maeno A, Hojo M, Taquahashi Y, Yokota S, Sakamoto Y, Kanno J: Comparison of tumorigenesis of MWCNT by intratracheal instillations and inhalation. ASIATOX 10<sup>th</sup> Annual Meeting, Taipei, Taiwan, (July 17-20, 2023).

Hojo M, Shimizu M, Ikushima K, Maeno A, Sakamoto Y, Yamamoto Y, Taquahashi Y, Kanno J, Hirose A, Suzuki J, Inomata A, Nakae D: Phenotypic characterization of macrophages during peritoneal mesothelioma development induced by a multiwalled carbon nanotube in wildtype C57BL mice. EUROTOX 2023, Ljubljana, Slovenia (September 10-13, 2023).

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)

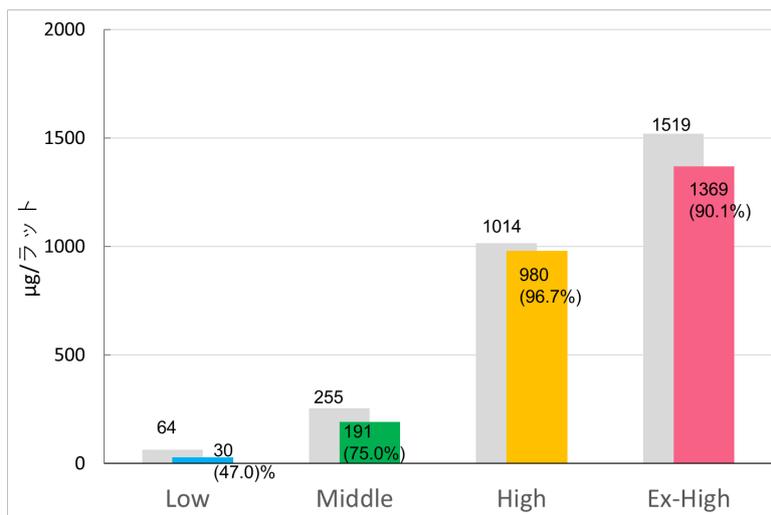


図1. 総投与量（灰色）と13週時点の肺負荷量測定結果

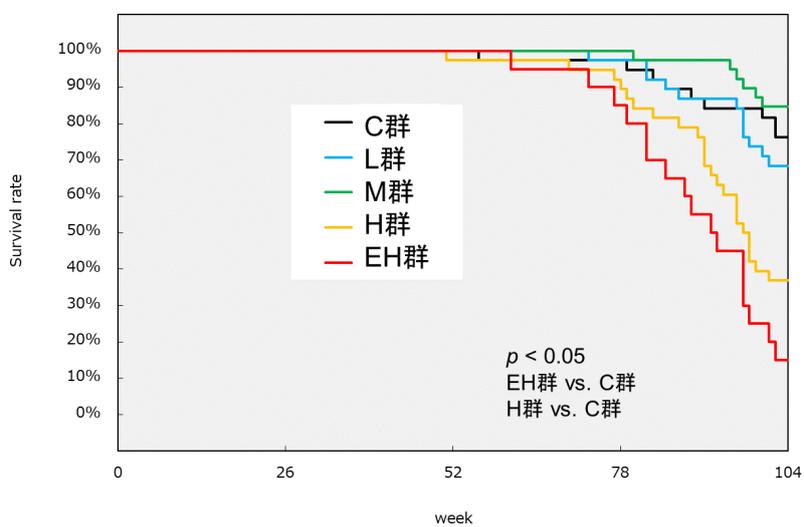


図2. Kaplan-Meier 法による生存曲線

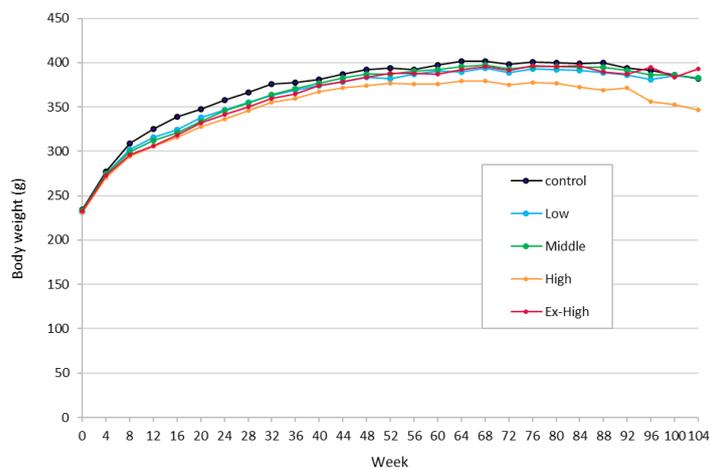


図3. 平均体重の推移

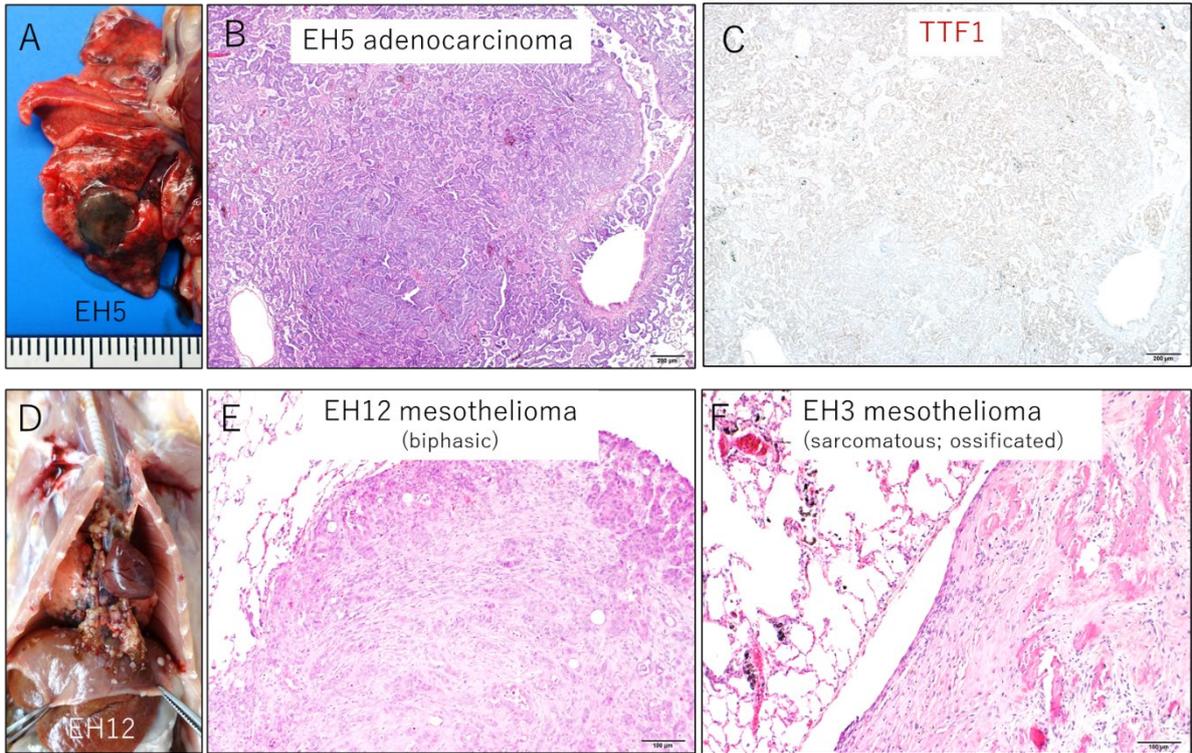


図4. 病理組織像 (増殖性病変)

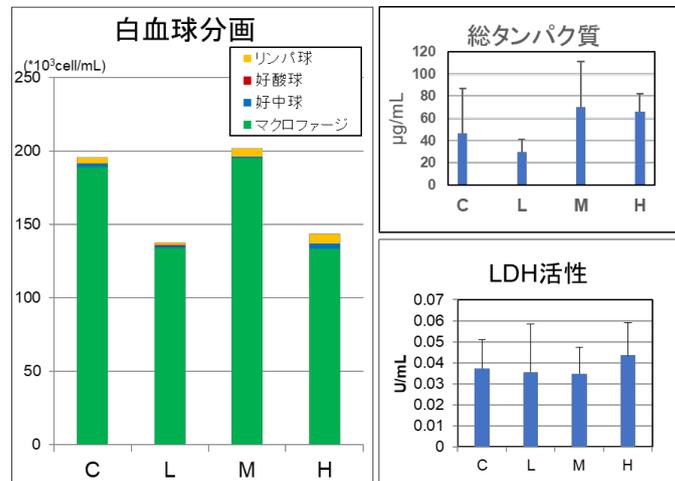


図5. BALF の解析  
(エラーバー: SD)