

令和5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（Kasai 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・細胞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。Kasai論文における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、Numanoの気管内投与（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の肺内蓄積量は吸入曝露においてTIPSより少ないことになり、それが肺と胸膜中皮における発がんの差異に関与した可能性があり、投与用量の差異（吸入曝露の方が少ない）が関与した可能性がある。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）を明らかにすることを目的とした。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、投与開始52週（5匹）、75週（5匹）、104週（15匹）後に解剖し、肺と胸膜中皮の炎症程度と腫瘍発生について解析する実験を実施中である。現在74週までに0.5mg/ラット群で4匹の死亡と肉眼所見として肺に腫瘍性病変が認められた。終了時には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。

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ことになる。吸入曝露試験の実施には高額の経費が要求されるために、低用量領域から発がん用量まで試験を実施することは全く困難であり、今後実施されることは恐ら

くあり得ない。しかし、実際には行政（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）に於けるリスク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）後に解剖し、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）X4

G 3：0.0008 mg/rat MWCNT-7
(0.0002mg/0.5mLx4)

G 4：0.004 mg/rat MWCNT-7
(0.001mg/0.5mLx4)

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

G 6：0.1 mg/rat MWCNT-7
(0.025mg/0.5mLx4)

G 7：0.5 mg/rat MWCNT-7
(0.125mg/0.5mLx4)

各群構成は25匹として、投与終了後52週（5匹）、72週（5匹）解剖例では腫瘍発生について詳細に検討中である。104週（15匹以上）後に解剖し、肺と胸膜中皮の炎症程度と腫瘍発生について解析する。104週における解剖時には胸郭洗浄液、血液、胸膜（中皮）、肺、肝、腎、脾、骨髄等を採取して炎症の程度、前がん病変を含

む腫瘍病変の発生について詳しく解析する。

C. 結果

52週に死亡した0.5mg/ラット群1匹に肺腫瘍と背側胸膜中皮腫（肉眼所見）が観察された。その後、74週までに無処置群で1匹、溶媒対照群で2匹、0.0008 mg/ラット群で1匹、0.004 mg/ラット群で1匹、0.5mg/ラット群3匹の死亡がみられた。そのうち0.5mg/ラット群では肉眼的肺腫瘍/中皮腫が見られたが、他の群では白血病または肺うっ血が認められた。

D. 考察

74週までに0.5mg/ラット群で4匹の死亡と肺の腫瘍性病変（肉眼所見）が認められたが、その他の群ではMWCNT-7曝露による腫瘍性病変を伴う死亡は認められていない。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

TIPS法で多層ナノチューブを投与した際の用量依存性と発がん標的組織の関係を明らかにするためにMWCNT-7を0.00008～0.5mg/ラットで投与する慢性観察研究を開始し、74週までに0.5mg/ラット群で4匹の死亡と肉眼所見として肺に腫瘍性病変が認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

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., Vol.10(1), 27-30 (2023)

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., Vol.
10(4), 137-141 (2023)

2. 学会発表

Tsuda H. CARBON NANOTUBES,

INNOVATIVE MATERIALS OF THE

21TH CENTRY: CARCINOGENICITY

EVALUATION OF CARBON

NANOTUBES WITH DIFFERENT WALL

STRUCTURES The 51st International

Symposium of The Princess Takamatsu

Cancer Research Fund 東京 1 1 月

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。