

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
令和6年度 分担研究報告書

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

異なった DNA 障害をもたらすと考えられる発がん物質の短期(3w)投与のプロトコルにおいて、MWCNT-7、MWCNT-N、MWCNT-B、DWCNT (TIPS 投与・0.5mg/ラット、)によって発生した肺がんの DNA 変異シグナチャー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。その結果、1) 予想に反してCNT発がんに関連して酸化ストレス由来のシグネチャーが検出されなかった。2) 肺癌、中皮腫と組織型が異なっても、同じCNTで誘発された腫瘍の変異シグネチャーは共通している。3) 将来的に投与後早期の非腫瘍組織を用いた発がん機序の解析に応用できる可能性があり、ナノマテリアルの有害性評価指標として役立つ可能性がある(この研究は星薬科大学の戸塚教授との共同研究である)。

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が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

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肺発がんニトロサミンN-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN)を4000mg/kgおよび環境タバコ煙発癌物質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、発生した肺がんのDNAシグナチャー解析を実施した。

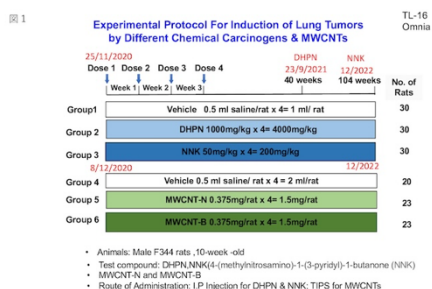


表1 Samples of TL-16 tumors analyzed by Dr Totsuka

	Rat number	Pathologic diagnosis (tube labelling)	Control tissue (tube labelling)
DHPN	32	Squamous Cell Carcinoma (T1)	Lung (2)
	40	Adeno - Carcinoma (T1)	Lung (2)
	49	S. C. Carcinoma (T1)	Lung (2)
	51	Combined S. C. Carcinoma+ Ad. Carcinoma (T1)	Lung (2)
	59	Ad. Carcinoma (T1)	Lung (2)
	60	Ad. Carcinoma (T1)	Lung (2)
NNK	64	Ad. Carcinoma (T1)	Lung (2) & Diaphragm (D)
	77	Ad. Carcinoma (T1)	Lung (2) & Diaphragm (D)
	79	Ad. Carcinoma (T1)	Lung (2) & Diaphragm (D)
MWCNT-N	118	Mesothelioma (T1)	Liver (L)
	119	Ad. Carcinoma (T1)	Liver (L)
	124	Mesothelioma (T2)	Liver (L)
	129	Mesothelioma (2)	Diaphragm (D)
MWCNT-B	139	Adeno - Carcinoma (T1, T2)	Liver (L)
	136	not identified yet (T1)	Liver (L)

(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

長期投与(～104週)において発生した肺がんについて解析した。その結果、1) 予想に反してCNT発がんに関連して酸化ストレス由来のシグネチャーが検出されなかった。2) 肺癌、中皮腫と組織型が異なっても、同じCNTで誘発された腫瘍の変異シグネチャーは共通している。3) 将来的に投与後早期の非腫瘍組織を用いた発がん機序の解析に応用できる可能性があり、ナノマテリアルの有害性評価指標として役立つ可能性がある。

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ことが期待できる。

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. Ahmed OHM, Naiki-Ito A, Takahashi S, Alexander WT, Alexander DB, **Tsuda H**. A Review of the Carcinogenic Potential of Thick Rigid and Thin Flexible Multi-Walled Carbon Nanotubes in the Lung. *Nanomaterials* (Basel). 15(3):168, 2025.
2. Sheema A.N, Naiki-Ito A, Kakehashi A, Ahmed O.H.M, Alexander D.B, Alexander W.T, Numano T, Kato H, Goto Y, Takase H, Hirose A, Wakahara T, Miyazawa K, Takahashi S, **Tsuda H**. Fullerene and fullerene whisker are not carcinogenic to the lungs and pleura in rat long-term study after 2-week intra-tracheal intrapulmonary administration. *Arch Toxicol*. 98, 4143-4158, 2024.

2. 学会発表

1. **内木綾**、**梯アンナ**、加藤寛之、**津田洋幸**、高橋智. 多層および単層カーボンナノチューブの肺・胸膜発がん性の比較. 第 41 回日本毒性病理学会総会 (2025 年 1 月、静岡)
2. Omnia Hosny, Dina Saleh, David Alexander, William Alexander, Hiroshi Takase, Akihiko Hirose, Jun Kanno, **Aya Naiki-Ito**, Satoru Takahashi, Masako Yudasaka, Ryota Yuge, **Hirovuki Tsuda**. Carbon Nano-Horns (CNH) and Carbon Nano-Brushes (CNB) do not induce lung cancer or pleural mesothelioma in the rat lung, 第 41 回日本毒性病理学会総会 (2025 年 1 月、静岡)
3. Ahmed HM Omnia, Dina M Saleh, Alexander DB, Alexander TW, Takase H, Takahashi S, Yudasaka M, Yuge R, **Tsuda H**. Assessment of Pulmonary Toxicity and Carcinogenicity of Carbon Nano-Horns (CNH) and Carbon Nano-Brushes (CNB) Using Intra Tracheal Instillation in the Rats, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024 年 7 月、福岡)

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