

研究開発項目③

「工業ナノ粒子の有害性評価手法の開発」

実施体制

学校法人産業医科大学

国立大学法人鳥取大学医学部

国立大学法人信州大学医学部

国立大学法人広島大学大学院工学研究院

(独)産業技術総合研究所 健康工学研究部門

計測フロンティア研究部門

安全科学研究部門

研究開発項目③の事業原簿対応と目標達成状況

公開

研究開発項目③	目標(事業原簿より)	達成度
<p>工業ナノ粒子の有害性評価手法の開発</p>	<p>中間) 工業ナノ粒子の吸入暴露試験装置を開発する一方で、文献情報等の分析を通して既存の吸入暴露試験、気管内注入試験、経皮暴露試験等に関わる課題を明らかにする。工業ナノ粒子の特徴を踏まえて既存の有害性評価試験に準じた試験を行い、工業ナノ粒子の特徴を踏まえた試験手順、キャラクターゼーション等の手法を試験結果と共に公開する。</p> <p>最終) ヒトの健康と環境に影響を与える可能性のある工業ナノ粒子の潜在的な生物反応を同定するとともに、その反応メカニズム、用量反応関係等を解明する一方で、工業ナノ粒子の特徴を踏まえた試料の前処理、投与、投与後観察、試験結果の取りまとめ等の手順、各工程において必要なキャラクターゼーションなどの要求事項を明らかにし、工業ナノ粒子の体内動態モデル、既存の有害性試験手法を補足・修正する方法、必要に応じ新たな有害性評価試験手法等を開発し、文書化して公開する。また、動物を用いた有害性評価試験の結果をヒトに関わる潜在的影響として外挿する際の考え方を示す。</p>	<p>○</p>

研究開発項目③
「工業ナノ粒子の有害性評価手法の開発」
「吸入暴露試験を中心とする
インビボ有害性試験法の開発・実施」

実施体制

学校法人産業医科大学

国立大学法人広島大学大学院工学研究院

紹介する項目

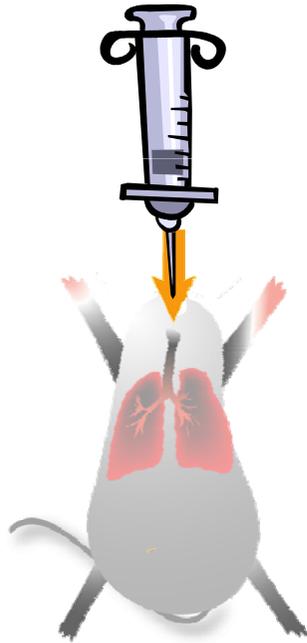
研究開発項目		実施機関	
①工業ナノ粒子のキャラクタリゼーション手法の開発	(1)工業ナノ粒子の調製技術の開発	ア) 気中分散系調製技術開発	広島大学 大学院 工学研究院
		イ) 液中分散系調製技術開発	産総研－環境管理技術研究部門 産総研－ナノシステム研究部門 北海道大学 大学院 地球環境科学院
		ウ) 工業ナノ粒子のフィルタ捕集効率の評価手法の開発と評価	金沢大学 大学院自然科学研究科
	(2)媒体中における工業ナノ粒子のキャラクタリゼーション手法の開発	ア) 気中粒子計測技術開発	産総研－計測標準研究部門 産総研－先進製造プロセス研究部門 金沢大学 大学院自然科学研究科
		イ) 液中粒子計測技術開発	産総研－計測標準研究部門
		ウ) 電子顕微鏡によるナノ粒子のキャラクタリゼーション技術開発	産総研－計測フロンティア研究部門
		エ) 微量試料に対する化学分析技術開発とナノ粒子の体内分布の測定	産総研－環境管理技術研究部門
	②工業ナノ粒子の暴露評価手法の開発	(1) 排出シナリオの構築	産総研－安全科学研究部門
(2) 環境中挙動モデルの構築		産総研－環境管理技術研究部門	
(3) 暴露評価技術の開発		産総研－安全科学研究部門	
③工業ナノ粒子の有害性評価手法の開発	(1)工業ナノ粒子有害性評価試験の開発	ア) 吸入暴露試験法の開発と試験の実施	産業医科大学 産業生態科学研究所
		イ) 経皮暴露による皮膚形態学的影響の評価	鳥取大学医学部
		ウ) 生体影響プロファイルの作成・評価手法の開発	産総研－健康工学研究部門
		エ) ESRイメージング技術による生体内酸化還元能への影響評価手法の開発	産総研－計測フロンティア研究部門
		オ) ナノ粒子の全身影響の観点からの有害性影響評価法の開発	信州大学医学部
	(2) 吸入暴露試験装置の開発	広島大学 大学院工学研究院	
(3) 有害性評価試験結果の外挿に関する研究	産総研－安全科学研究部門		
④工業ナノ粒子のリスク評価及び適正管理の考え方の構築	(1) 工業ナノ粒子の詳細リスク評価	産総研－安全科学研究部門	
	(2) ナノテクノロジーの社会的受容性に関する研究	産総研－安全科学研究部門	

-気管内注入試験-

研究開発課題	平成22年度 目標	現在までの達成点	達成度
<ul style="list-style-type: none"> ・気管内注入試験法の開発 ・フラレンの有害性評価 ・多層カーボンナノチューブの有害性評価 ・単層カーボンナノチューブの有害性評価 	<ul style="list-style-type: none"> フラレン注入後の2年後までの評価 多層カーボンナノチューブ注入後12ヶ月までの評価 単層カーボンナノチューブ注入後6ヶ月までの評価 	<ul style="list-style-type: none"> 注入2年後の評価完了 注入後12ヶ月後の評価終了 注入6ヶ月後の評価終了 	<ul style="list-style-type: none"> ◎ ◎ ◎
酸化ニッケルの有害性評価	酸化ニッケル注入後の2年後までの評価	注入2年後の評価完了	◎

-吸入暴露試験-

研究開発課題	平成22年度 目標	現在までの達成点	達成度
(工業ナノ粒子の有害性評価手法の開発)			
・吸入暴露試験法の開発			
・多層カーボンナノチューブの有害性評価	多層カーボンナノチューブ 吸入後3ヶ月までの評価	吸入3ヶ月まで評価完了	◎
・単層カーボンナノチューブ(SGCNT)の有害性評価	単層カーボンナノチューブ 吸入後3ヶ月までの評価	吸入3ヶ月まで評価完了	◎
・フラーレンの有害性評価	フラーレン吸入後3ヶ月までの評価	吸入3ヶ月まで評価完了	◎
・酸化ニッケルの有害性評価	酸化ニッケル吸入後3ヶ月までの評価	吸入3ヶ月まで評価完了	◎

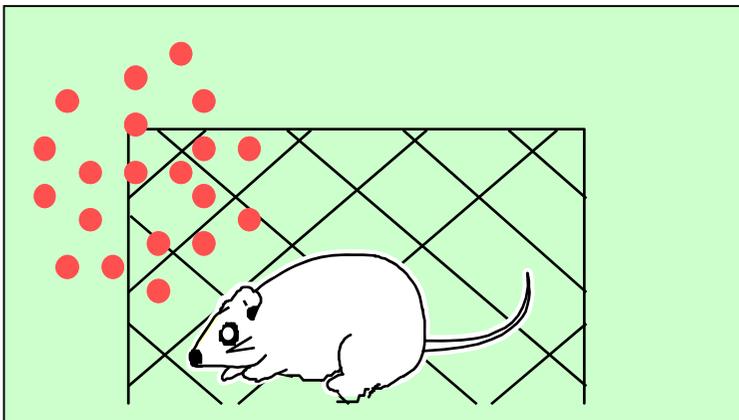


気管内注入試験

- 気管内注入試験法の開発
- フラレンの有害性評価
- 多層カーボンナノチューブの有害性評価
- 単層カーボンナノチューブの有害性評価
- 凝集サイズの異なるナノ粒子の影響

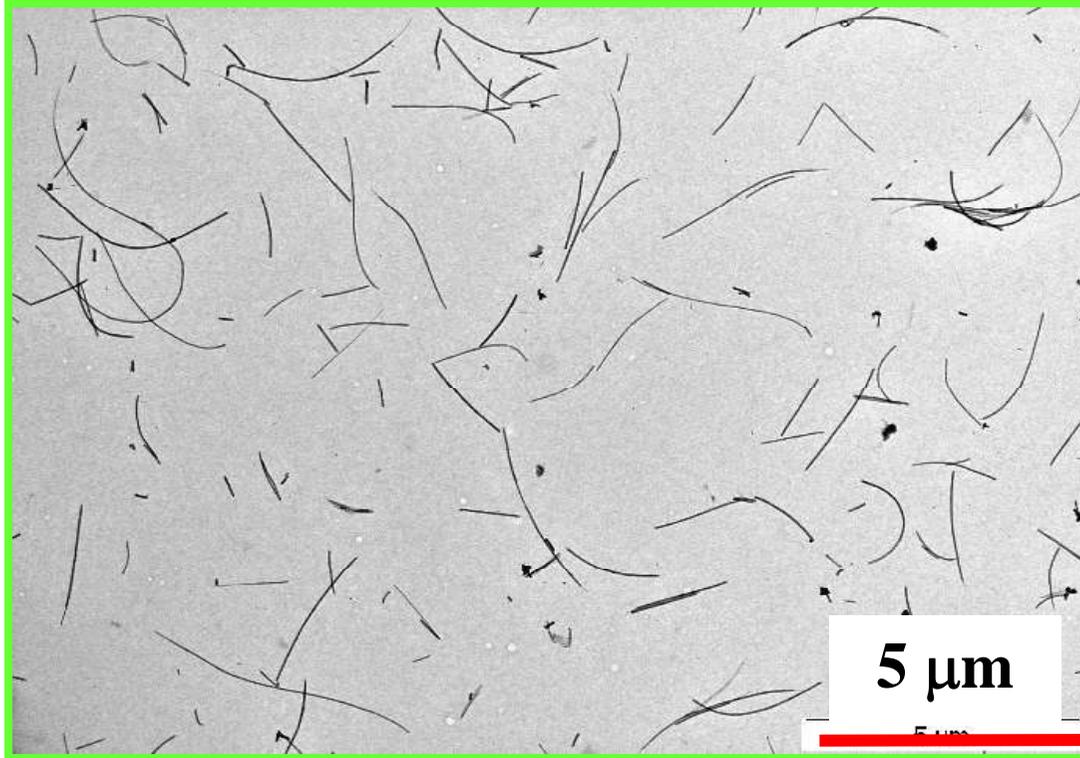
吸入暴露試験

- 吸入暴露試験法の開発
- フラレンの有害性評価
- 多層カーボンナノチューブの有害性評価
- 単層カーボンナノチューブの有害性評価



多層カーボンナノチューブの気管内注入試験

公開



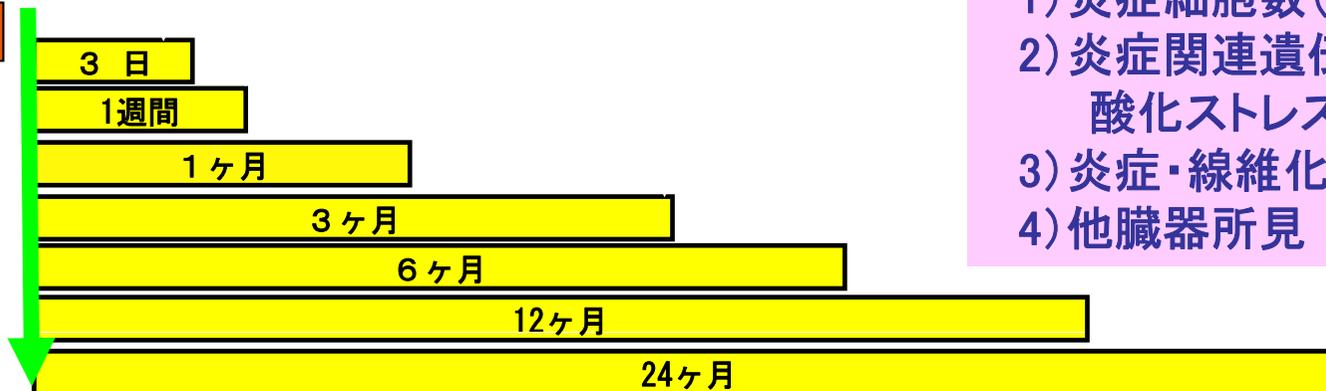
幾何平均径 48 nm
幾何平均長さ 0.94 μm

注入量：0.2 mg、1mg
(0.05% Triton 懸濁液)
比較対照群：酸化ニッケルナノ粒子
陰性対照群：0.05% Triton液

評価項目

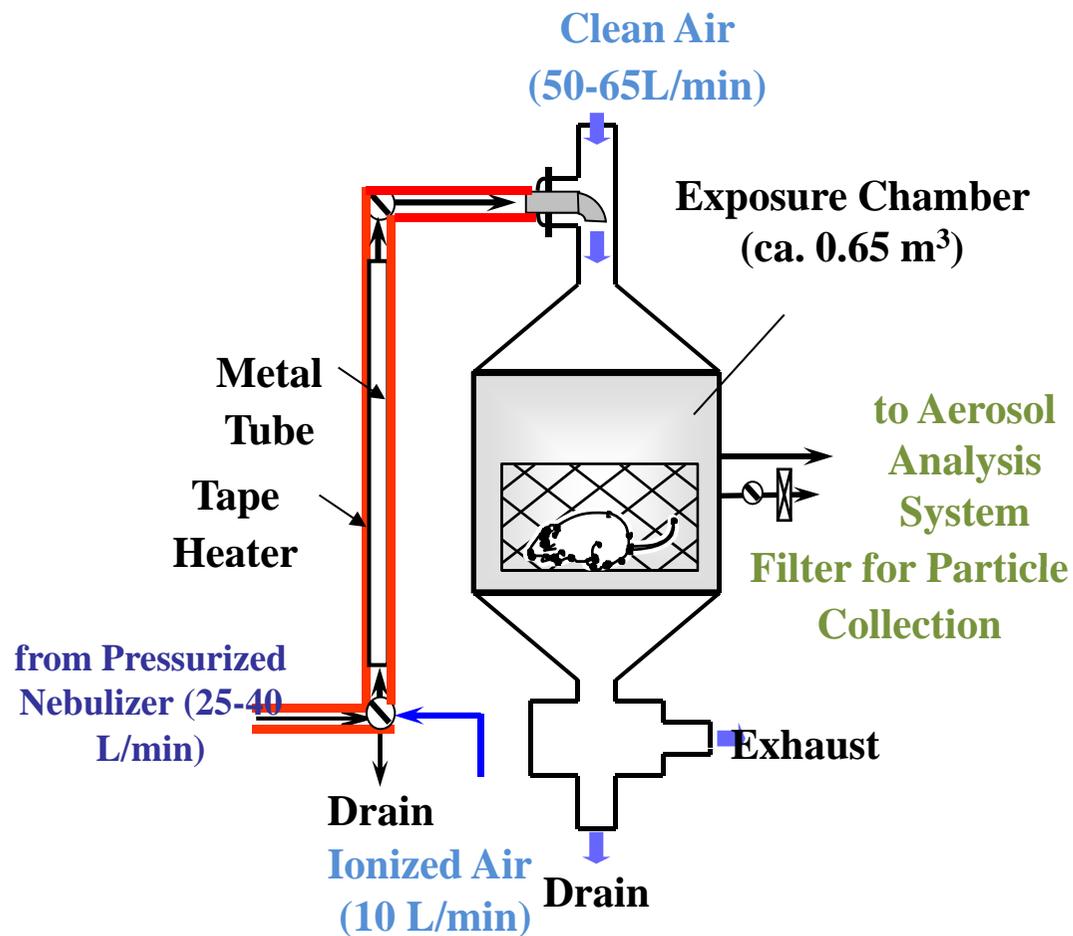
- 1) 炎症細胞数 (BALF)
- 2) 炎症関連遺伝子
酸化ストレス
- 3) 炎症・線維化 (肺病理)
- 4) 他臓器所見

気管内注入

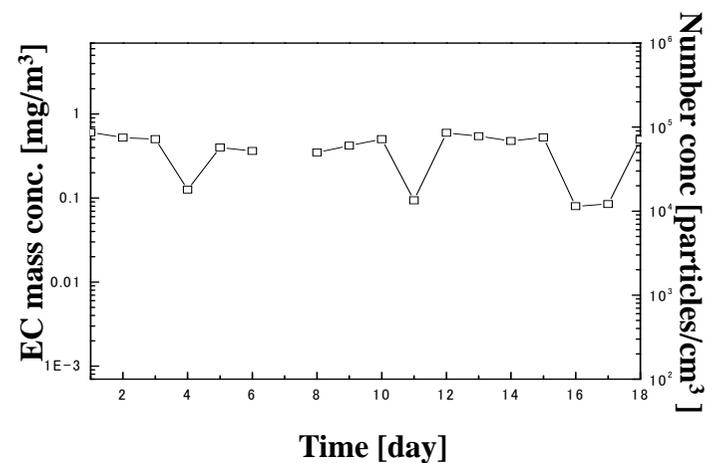
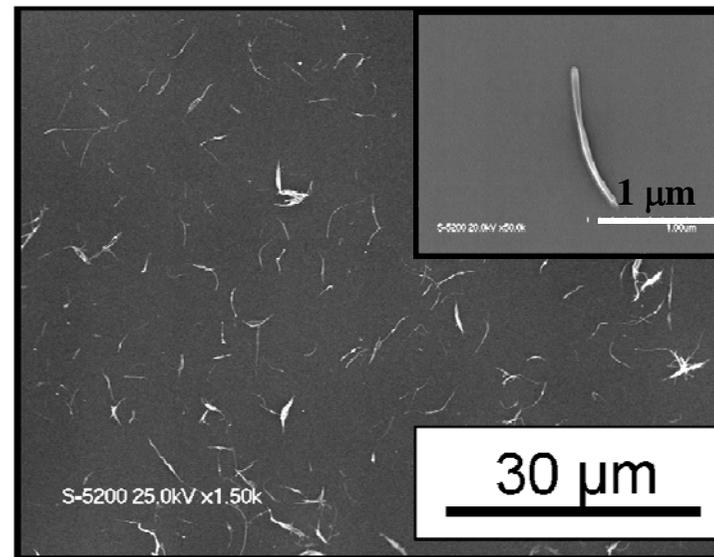


多層カーボンナノチューブの吸入暴露の状況 公開

全身暴露試験装置



暴露チャンバー内の多層カーボンナノチューブのSEM像



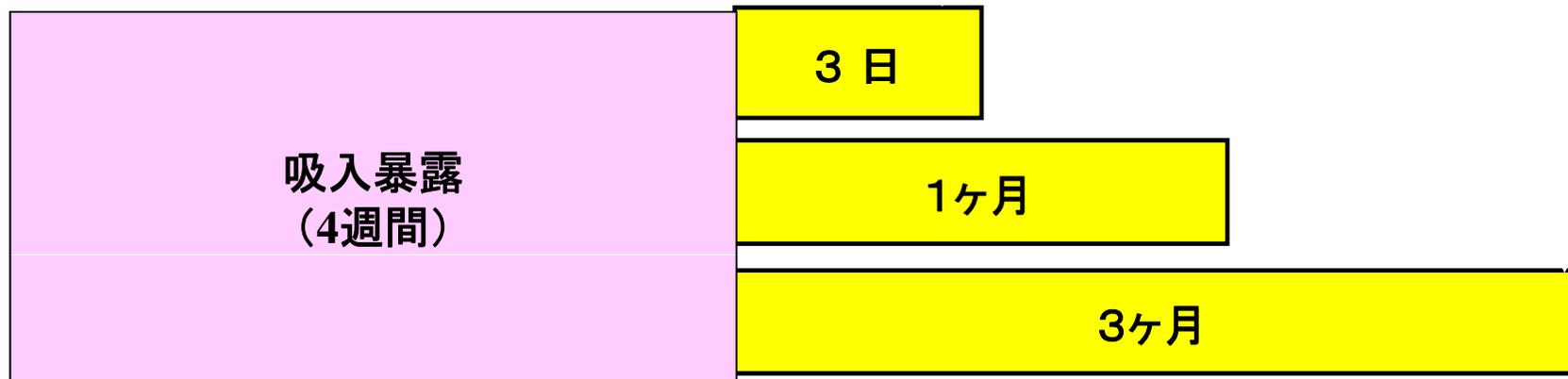
多層カーボンナノチューブの吸入暴露試験

公開

対象動物 : Wistar系雄性ラット

Triton暴露群	40匹
MWCNT暴露群 ($0.37 \pm 0.18 \text{ mg/m}^3$)	40匹
酸化ニッケル暴露群 ($0.2 \pm 0.1 \text{ mg/m}^3$)	40匹

暴露期間 : 1日6時間, 週5日間, 4週間



チャンバー内のMWCNT

平均個数濃度 $1.4 \pm 0.4 \times 10^4 \text{ particles/cm}^3$

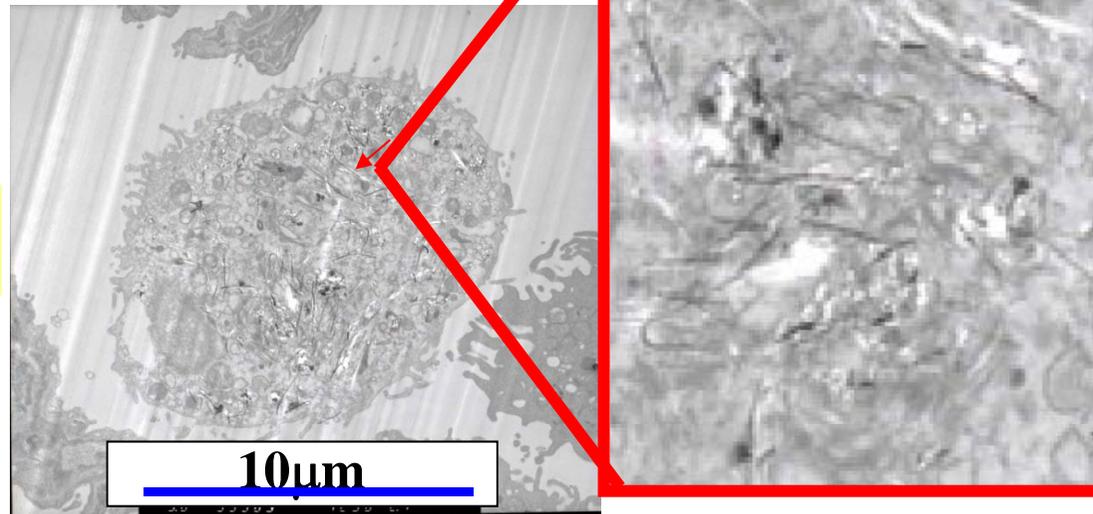
幾何平均長さ $1.1 \mu\text{m}$ (幾何標準偏差 2.7)

幾何平均径 $0.063 \mu\text{m}$ (幾何標準偏差 1.5)

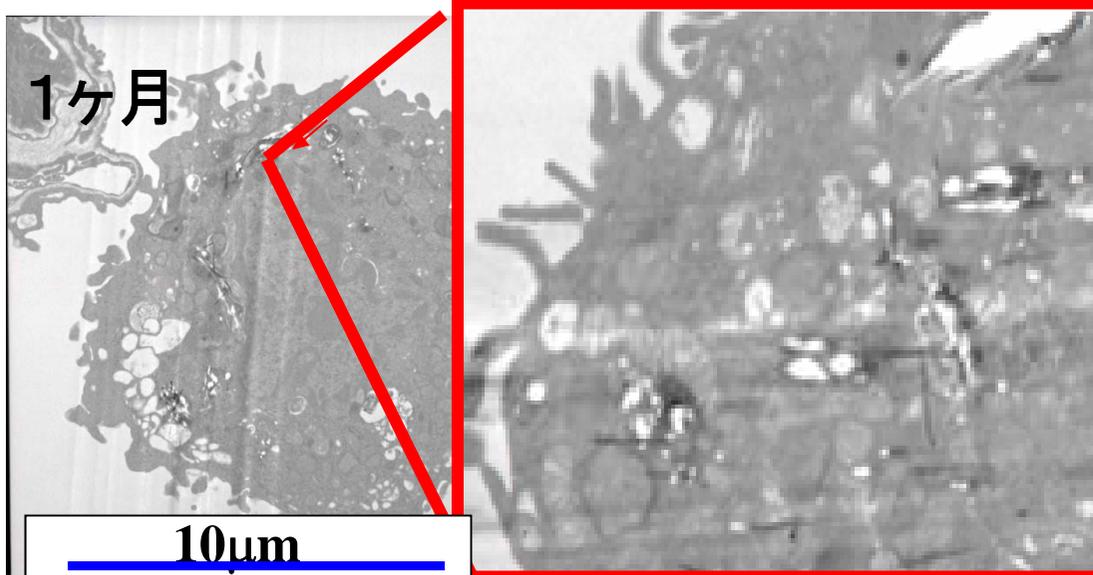
マクロファージのMWCNT貪食像

公開

気管内注入試験



吸入曝露試験



産総研 山本

BALFの総細胞数

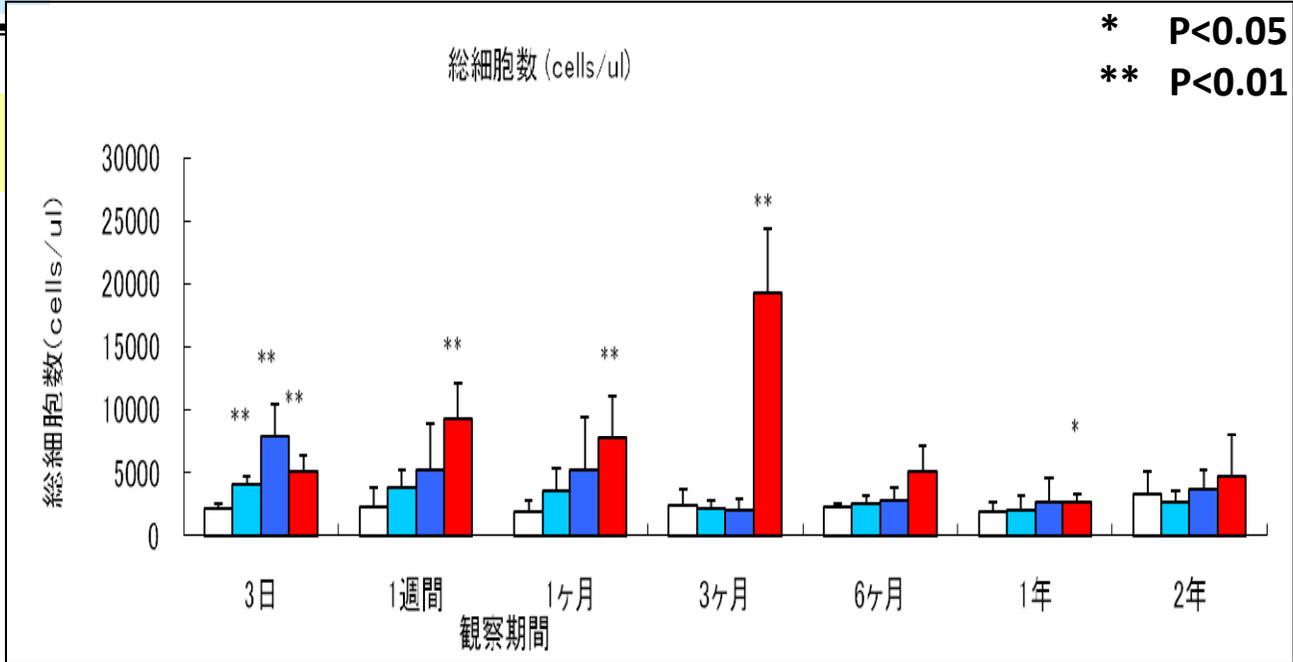
気管内注入試験

陰性対照群

MWCNT0.2mg 注入群

MWCNT 1mg 注入群

NiO 0.2mg 注入群



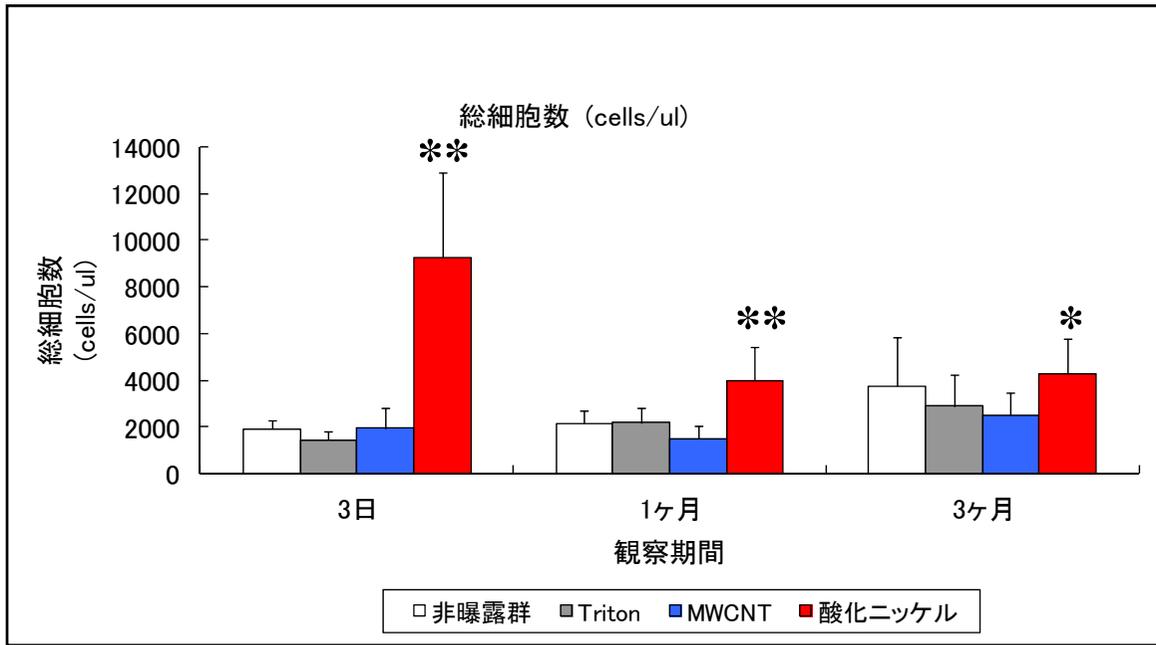
吸入暴露試験

非暴露群

トリトン 暴露群

MWCNT 暴露群

NiO 暴露群



BALFの好中球数

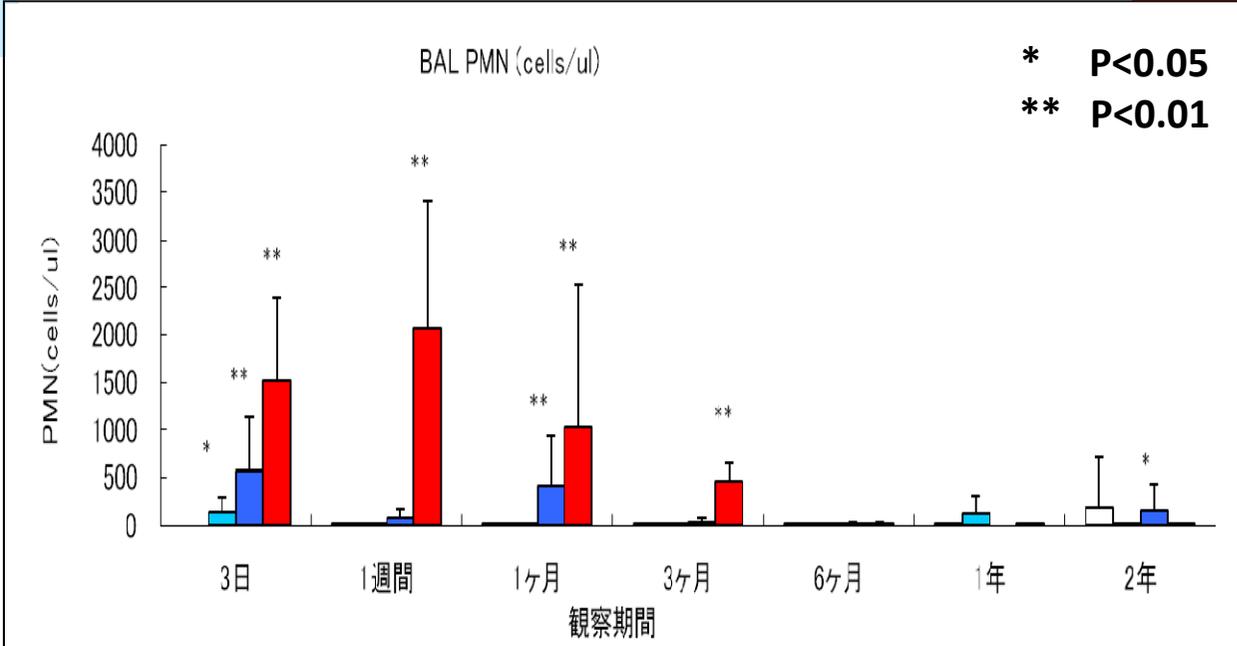
気管内注入試験

陰性対照群

MWCNT0.2mg 注入群

MWCNT 1mg 注入群

NiO 0.2mg 注入群



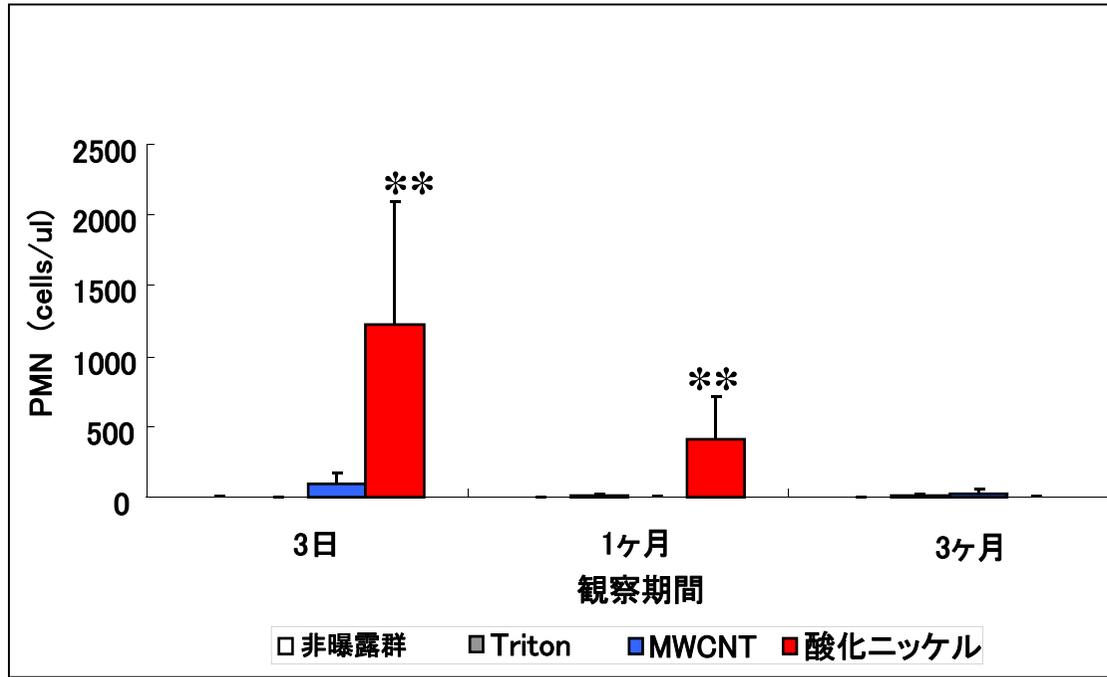
吸入暴露試験

非暴露群

トリトン 暴露群

MWCNT 暴露群

NiO 暴露群



炎症線維化関連遺伝子 HO-1遺伝子(肺組織)

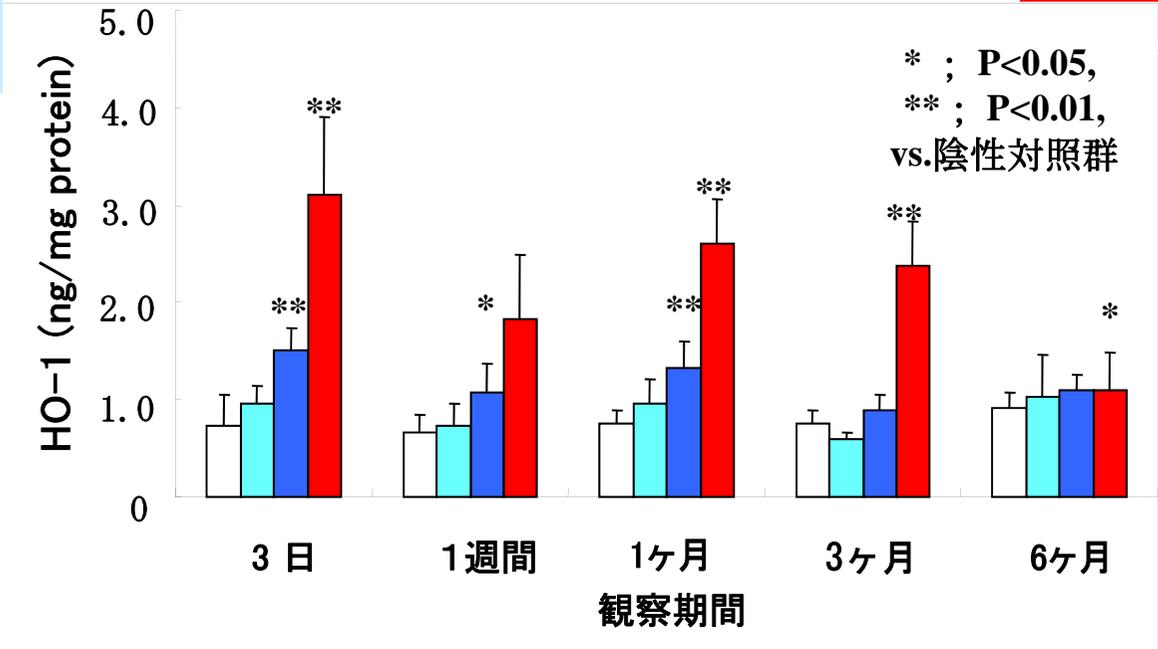
気管内注入試験

陰性対照群

MWCNT0.2mg 注入群

MWCNT 1mg 注入群

NiO 0.2mg 注入群



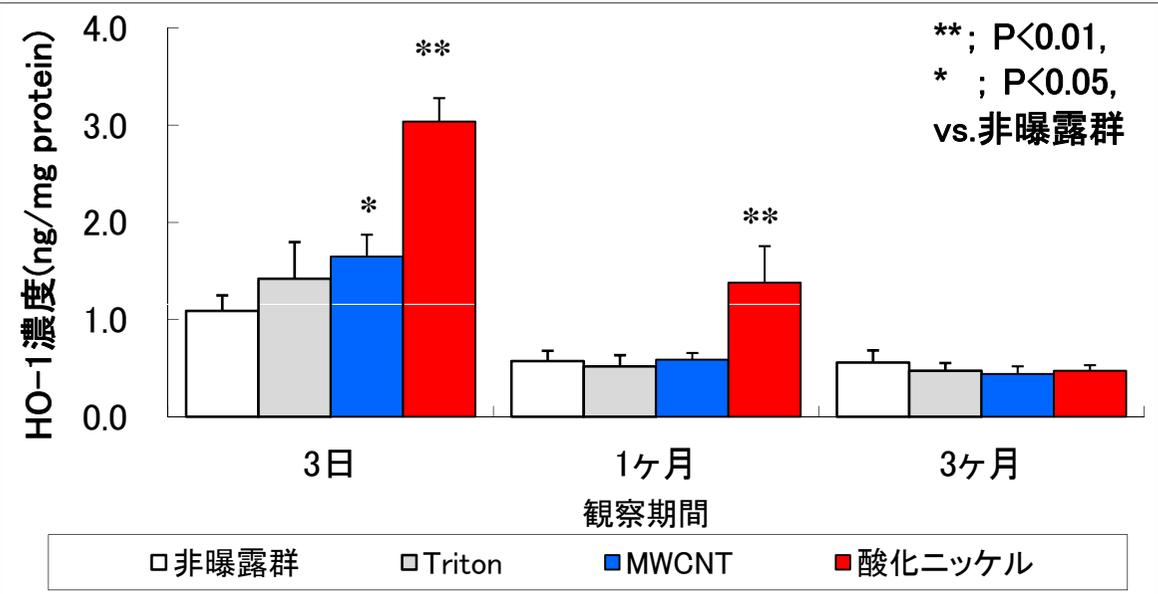
吸入暴露試験

非暴露群

トリトン 暴露群

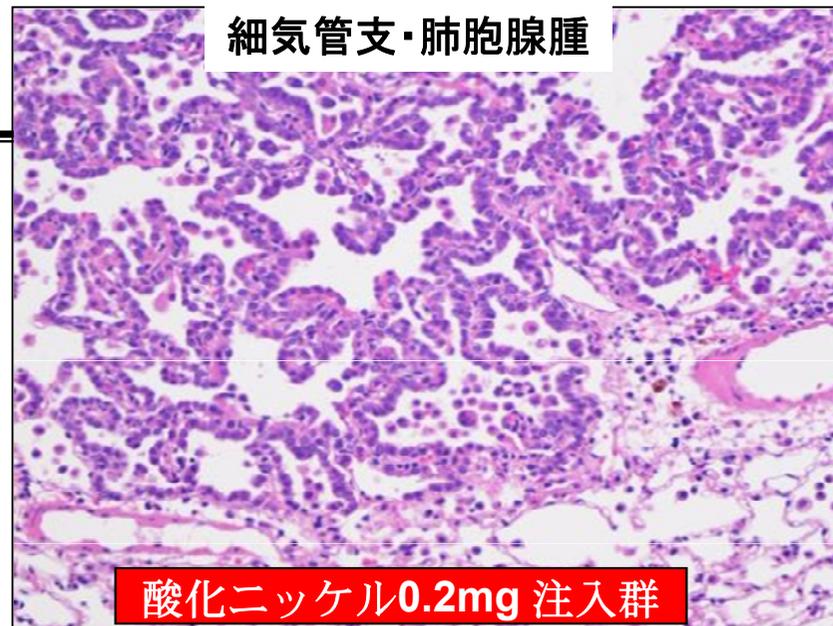
MWCNT 暴露群

NiO 暴露群



気管内注入試験
-24ヶ月-
肺腫瘍の検討

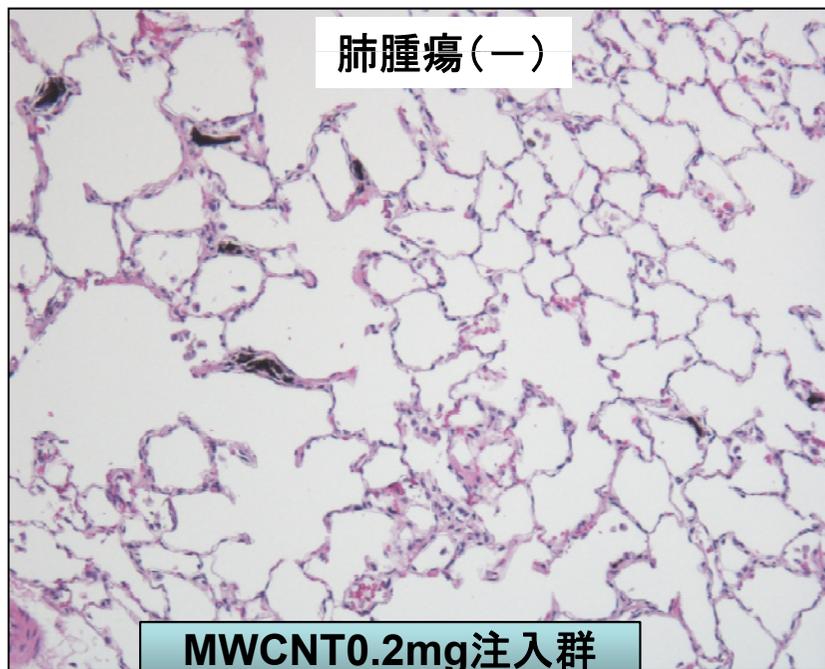
細気管支・肺胞腺腫



公開

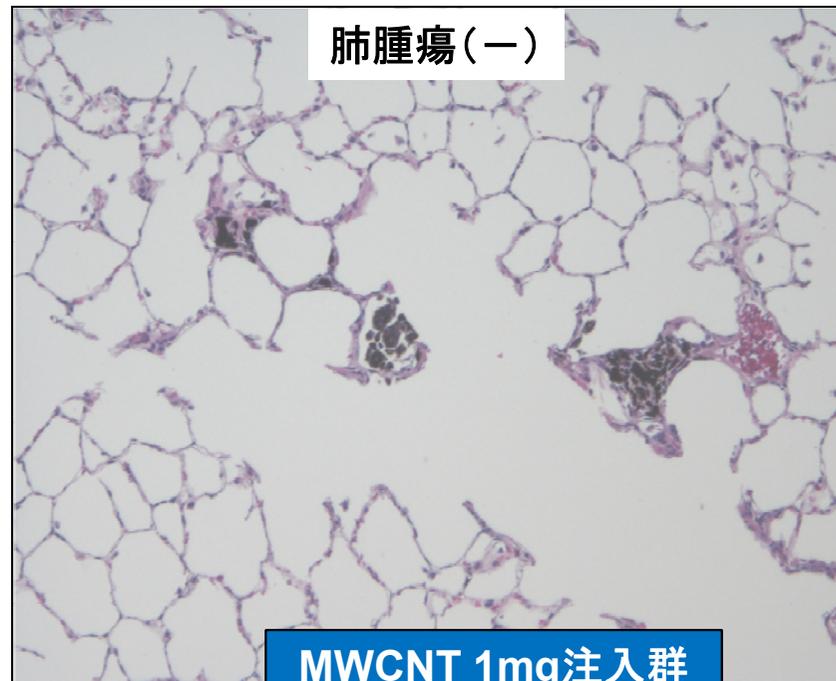
酸化ニッケル0.2mg 注入群

肺腫瘍(一)



MWCNT0.2mg注入群

肺腫瘍(一)



MWCNT 1mg注入群

他臓器の病理所見 まとめ

気管内注入試験

	所見の有無
大脳・小脳	特に異常所見を認めず
鼻腔	特に異常所見を認めず
精巣	特に異常所見を認めず
肝臓	特に異常所見を認めず
腎臓	特に異常所見を認めず
脾臓	特に異常所見を認めず

吸入暴露試験

	所見の有無
大脳・小脳	特に異常所見を認めず
鼻腔	特に異常所見を認めず
精巣	特に異常所見を認めず
肝臓	特に異常所見を認めず
腎臓	特に異常所見を認めず
脾臓	特に異常所見を認めず

気管内注入試験の結果のまとめ

	MWCNT 0.2 mg	MWCNT 1 mg	酸化ニッケル 0.2 mg
肺重量	↑ →	↑	↑
BALFの炎症所見	↑ →	↑ →	↑
炎症線維化関連 遺伝子	→	↑ →	↑ →
肺組織・炎症	↑ →	↑	↑
肺腫瘍	なし	なし	あり
肺組織・線維化	→	→	→
尿の酸化ストレス	→	→	→
他臓器病変	なし	なし	なし

吸入暴露試験の結果のまとめ

公開

	MWCNT	酸化ニッケル
肺重量	↑ →	↑
BALFの炎症所見	→	↑
炎症線維化関連遺伝子	↑ →	↑
肺組織・炎症	→	↑
肺組織・線維化	→	→
尿の酸化的ストレス	→	→
他臓器病変	なし	なし

NOAEL: 0.37 mg/m³

気管内注入試験

	SWCNT(A) 0.2 mg	SWCNT(A) 0.4 mg
肺重量	↑ →	↑ →
BALFの炎症所見	↑	↑
炎症線維化関連遺伝子	↑	↑
肺組織・炎症	↑ →	↑
肺組織・線維化	→	→
肺腫瘍	なし	なし
尿の酸化ストレス	→	→
他臓器病変	なし	なし

吸入暴露試験

SWCNT(A)
→
→
→
→
→
なし
→
なし

フラーレン試験のまとめ

公開

気管内注入試験

	フラーレン 0.1、0.2mg	フラーレン 1mg
肺重量	→	→
BALFの炎症所見	→	↑→
炎症線維化関連 遺伝子	→	→
肺組織・炎症	→	↑→
肺組織・線維化	→	→
尿の酸化ストレス	→	→
他臓器病変	なし	なし

吸入暴露試験

フラーレン
→
→
→
↑→
→
→
なし

研究開発の内容	意義
気管内注入試験の開発	<ul style="list-style-type: none">•世界最高レベルで分散された工業用ナノ材料の有害性評価手法を開発した。•世界最高レベルで分散された工業用ナノ材料の有害性評価を行い、学術論文等で公表した。•世界で初めて腫瘍を含めた慢性影響を評価した。
吸入暴露試験の開発	<ul style="list-style-type: none">•世界最高レベルで分散された工業用ナノ材料の有害性評価手法を開発した。•世界最高レベルで分散された工業用ナノ材料の有害性評価を行い、学術論文等で公表した。•暴露許容濃度を算定するための基準データ（NOAEL）となった。