

気管内投与試験によるナノ材料の有害性スクリーニング

－吸入暴露試験と気管内投与試験の比較－

森本泰夫

産業医科大学 産業生態科学研究所 呼吸病態学

共同研究施設

産業医科大学

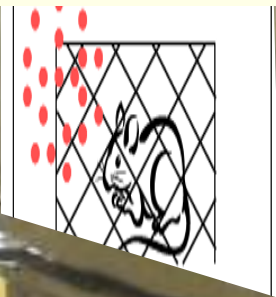
産業技術総合研究所

広島大学

吸入ばく露試験

吸入性化学物質の有害性評価試験 として、**信頼性の高い**試験

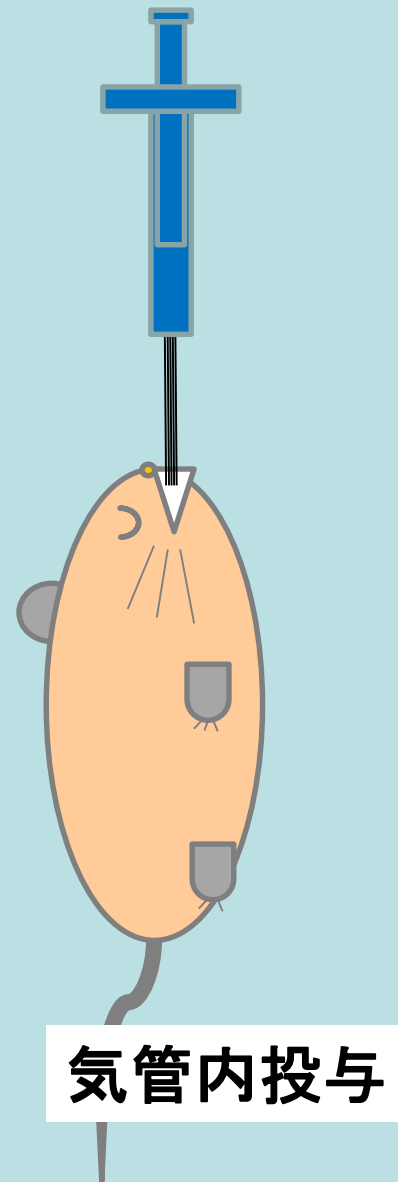
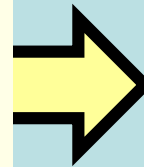
- 経費が高額
- 大型の設備等が必要
- 熟練者が必要



気管内投与試験



- 大型設備が不要
- 比較的簡易な操作
- 経費が廉価
- 既知量投与による用量反応関係や生体反応機序の解明に最適



工業用ナノ材料の有害性評価の手順

有害性が不明な工業用ナノ材料

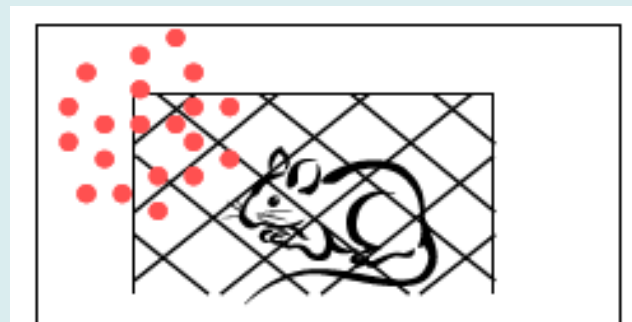
気管内投与試験

有害性の選別
(スクリーニング)



評価終了

吸入ばく露試験



有害性の最終評価

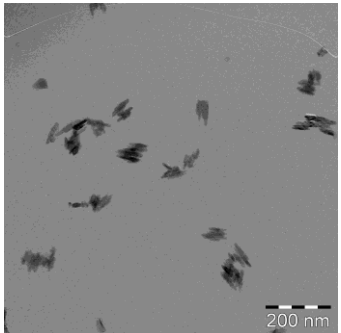
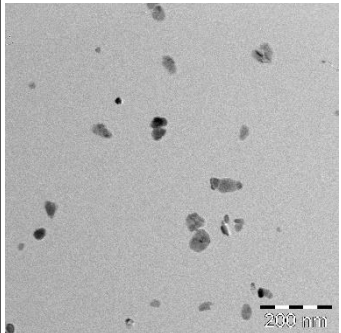
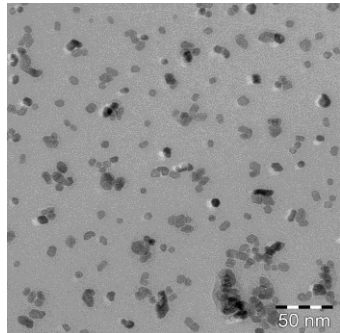
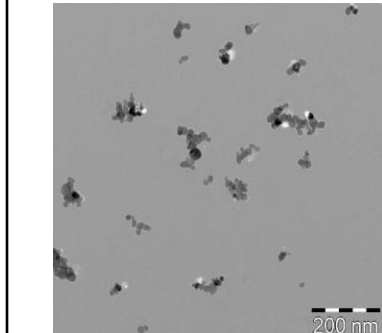
目的

工業用ナノ材料の肺の有害性評価において、気管内投与試験がスクリーニング試験として有効であるか検討する。

1) 吸入ばく露試験における有害性評価と気管内投与試験の有害性評価が一致するか

2) 肺内に同じ量が沈着した場合、吸入ばく露試験と気管内投与試験の肺反応が類似するか

本試験で使用した工業用ナノ材料

ナノ材料	TiO ₂	ZnO	CeO ₂	NiO
肺毒性	低い	低い	高い	高い
一次粒径	Short 12 nm, Long 55 nm	35 nm	7.8 nm	19 nm
比表面積	111 m ² /g	31 m ² /g	101 m ² /g	57 m ² /g
形状	Spindle-shaped	Sphere like	irregular shape	sphere
二次粒径 (DLS)	20-80 nm	17-37 nm	2.6-9.3 nm	39.8-47.1 nm
純度	99.5%		99.9%	More than 99.5%
かさ比重	4.17 g/cm ³	5.6 g/cm ³	7.216 g/cm ³	6.72 g/cm ³
溶解性	Low	High	Low	Low (> CeO ₂)
電子顕微鏡像				

ナノ粒子の吸入ばく露試験

対象動物 : F344雄性ラット 10週齢 (各群10匹)

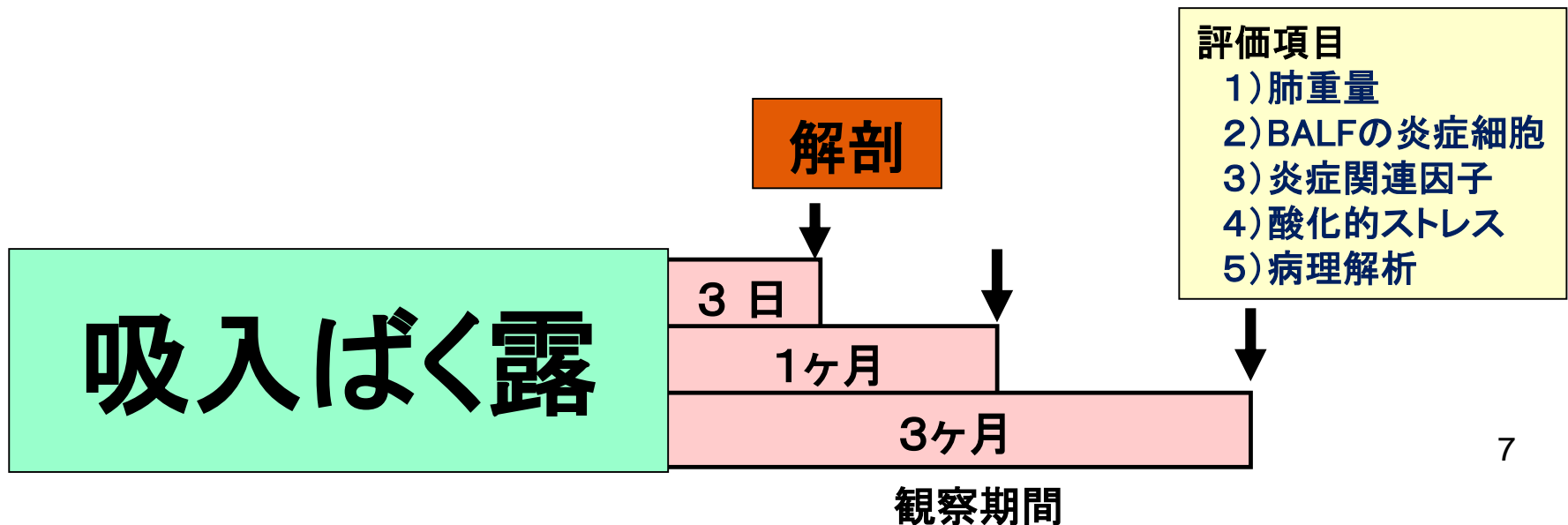
対象物質 : 酸化ニッケル(NiO)、酸化セリウム(CeO₂)
二酸化チタン(TiO₂)、酸化亜鉛(ZnO)

ばく露濃度

NiO 1.65 mg/m³, CeO₂ 2.09 mg/m³,

TiO₂ 1.84 mg/m³, ZnO 2.11 mg/m³

ばく露期間 : 1日6時間, 週5日間, 4週間



ナノ粒子の気管内投与試験

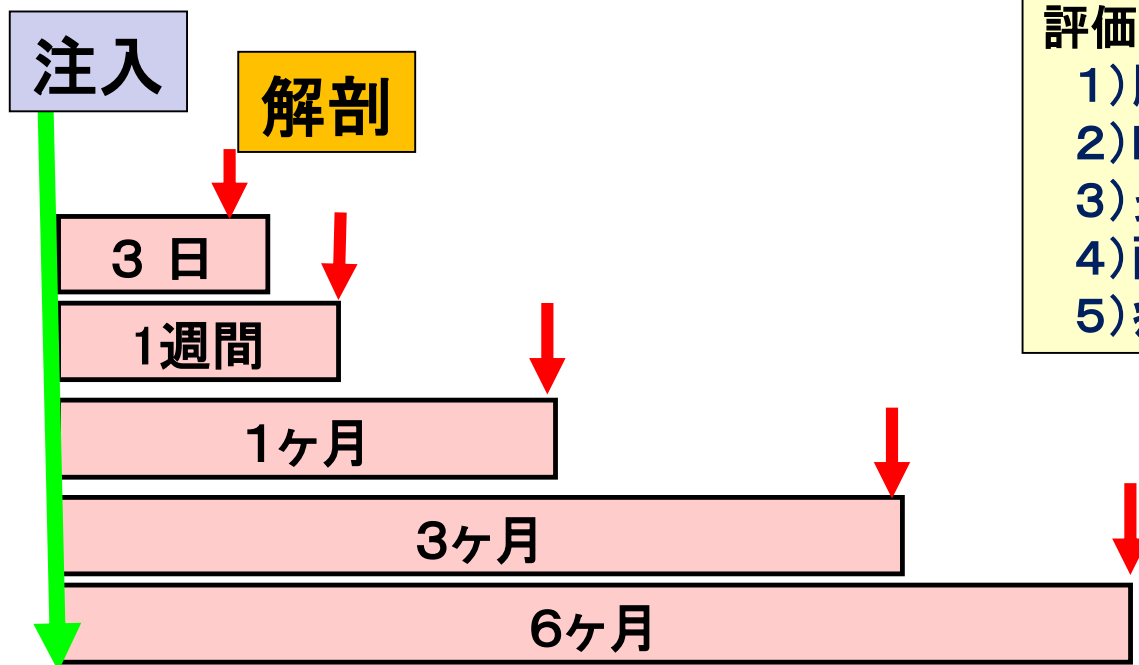


実験動物：雄性 F344ラット12週齢 (各群10匹)

注入試料：NiO, CeO₂, TiO₂, ZnO

注入量：0.2mg, 1mg / 0.4ml (蒸留水)

陰性対照群：蒸留水



評価項目

- 1) 肺重量
- 2) BALFの炎症細胞
- 3) 炎症関連因子
- 4) 酸化的ストレス
- 5) 病理解析

目的

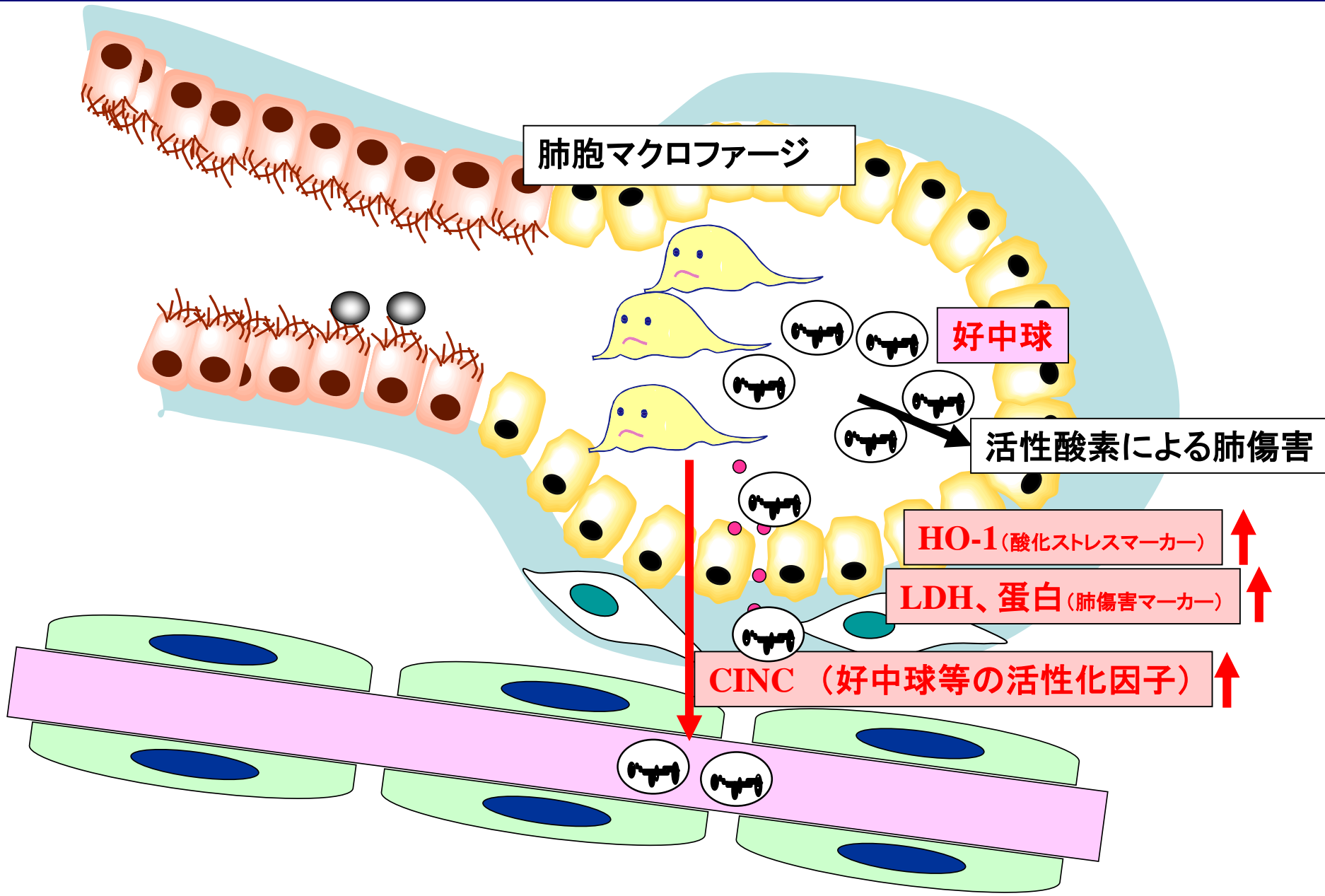
工業用ナノ材料の肺の有害性評価において、気管内投与試験がスクリーニング試験として有効であるか検討する。

1) 吸入ばく露試験における有害性評価と気管内投与試験の**有害性評価**が一致するか

評価項目の炎症とは？

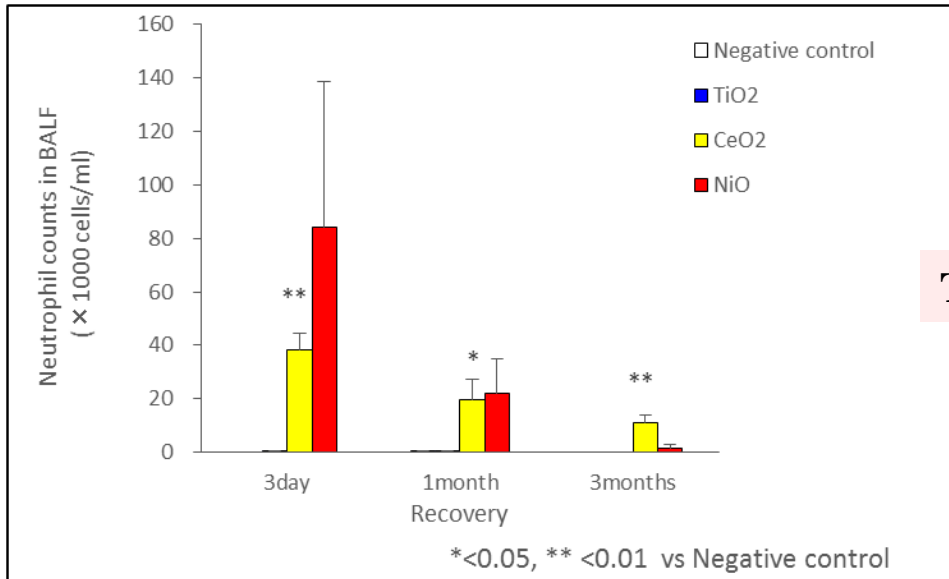
2) 肺内に同じ量が沈着した物質、吸入は、路内吸入し
気管内投与試験の**肺反応**が類似するか

有害性→炎症：好中球やマクロファージの浸潤



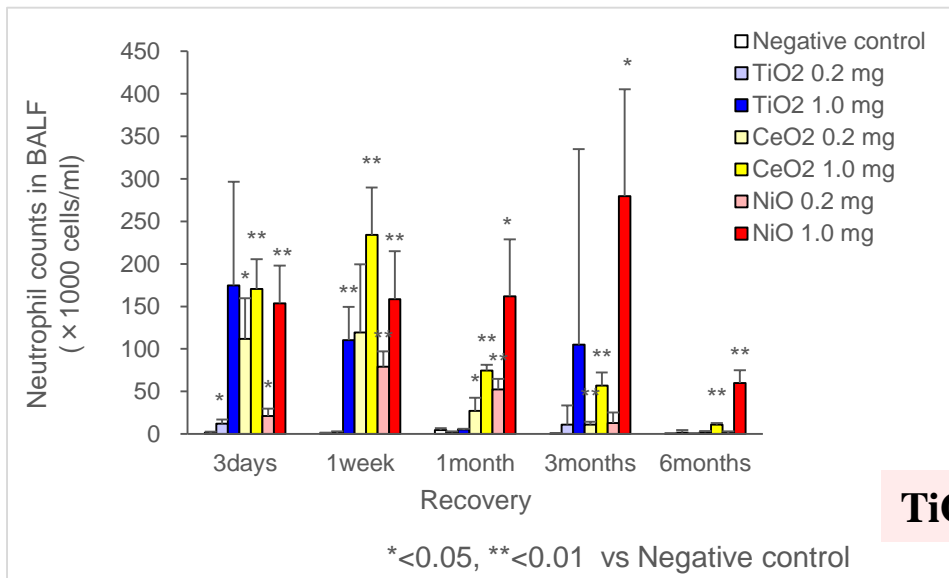
BALFの好中球数

吸入ばく露
試験



TiO₂ < CeO₂ < NiO

気管内投与
試験

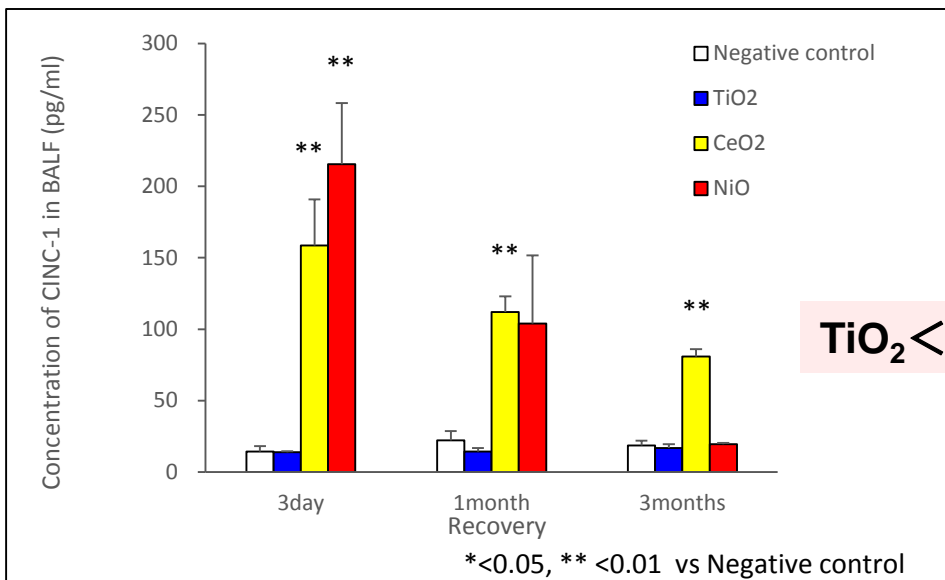


持続炎症

TiO₂ < CeO₂ < NiO

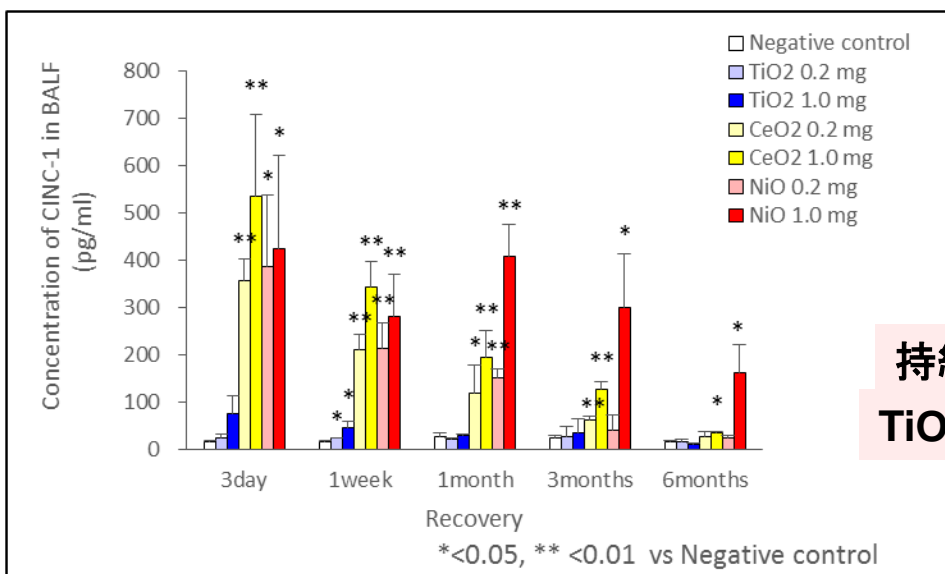
BALFのCINC-1濃度

吸入ばく露試験



TiO₂ < CeO₂ = NiO

気管内投与試験



持続炎症

TiO₂ < CeO₂ < NiO

両試験の肺炎症のまとめ

Endpoint	吸入ばく露試験			気管内投与試験		
	TiO ₂	CeO ₂	NiO	TiO ₂	CeO ₂	NiO
肺炎症 (病理)	→	↑	↑	↑→	↑	↑
BALFの総細胞数	→	↑	↑	↑→	↑	↑
BALFの好中球数	→	↑	↑→	↑→	↑	↑
BALFのLDH	→	↑	↑	↑→	↑	↑
BALFのCINC	→	↑	↑	↑→	↑	↑
BALFのHO-1	→	↑	↑	↑→	↑	↑

炎症 (-)

炎症 (+)

一過性炎症

持続性炎症

TiO₂, NiO: Morimoto et al. Nanotoxicology (2015)

CeO₂: Morimoto et al. J Nanoparticles Research (2015)

Review: Morimoto et al. International J. Molecular Sci (2016)

目的

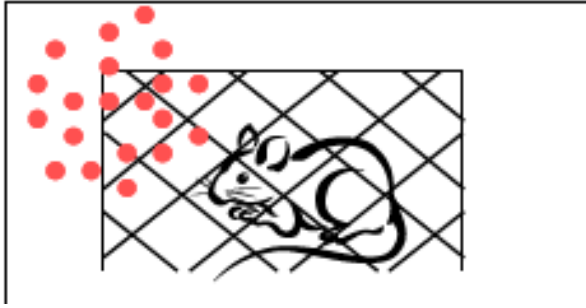
工業用ナノ材料の肺の有害性評価において、気管内投与試験がスクリーニング試験として有効であるか検討する。

1) 吸入ばく露試験における有害性評価と気管内投与試験の有害性評価が一致するか

2) 肺内に同じ量が沈着した場合、吸入ばく露試験と気管内投与試験の肺反応が類似するか

NiOの初期肺内保持量(3日後)

吸入ばく露試験



肺内保持量 ($\mu\text{g}/\text{rat}$)

132 μg

気管内投与試験



低用量
($\mu\text{g}/\text{rat}$)

136 μg

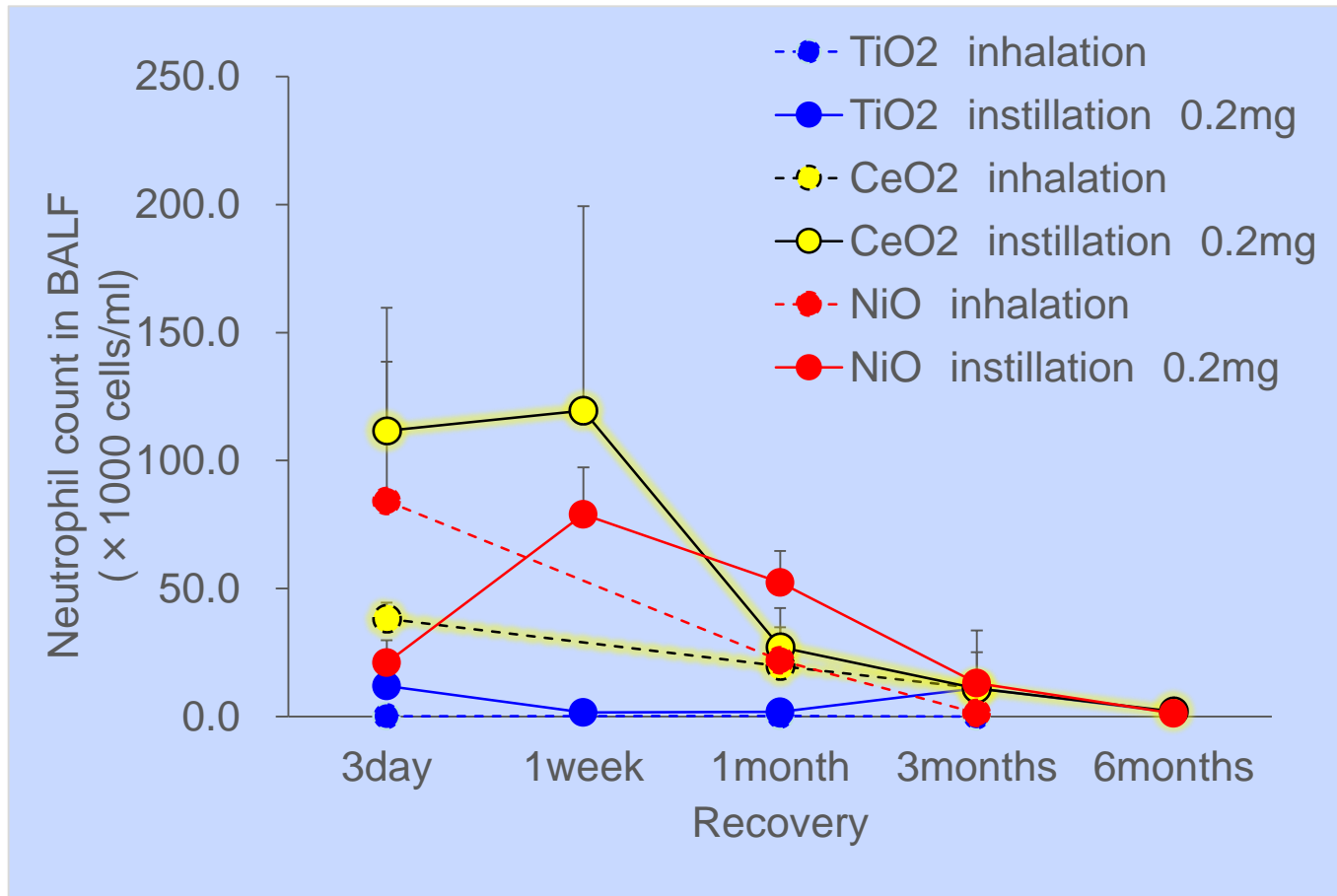
高用量
($\mu\text{g}/\text{rat}$)

738 μg

気管内投与試験の**低用量 (0.2mg/rat)** と
吸入ばく露試験 (**約2mg/m³**) の比較

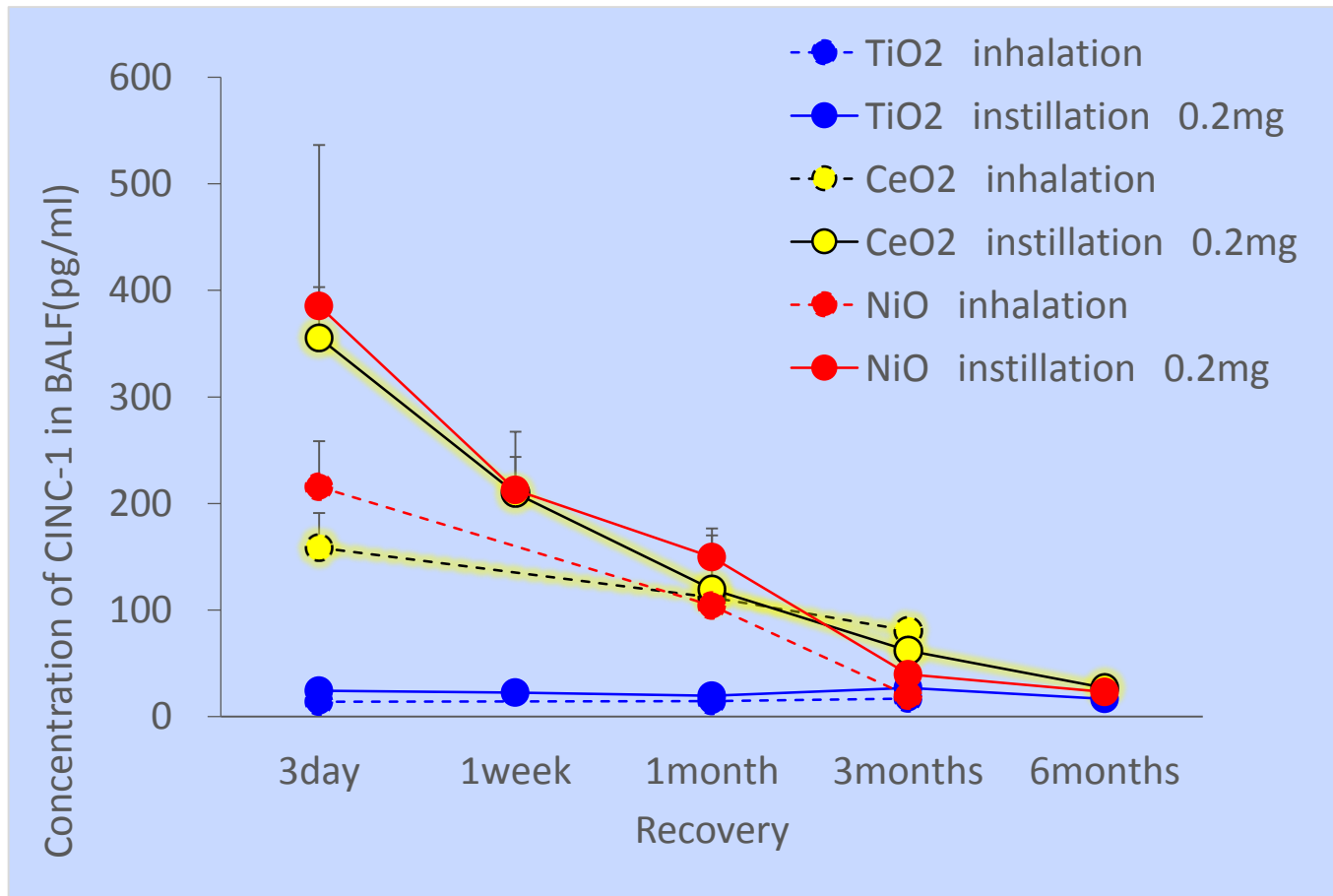
BALFの好中球数

気管内投与 \geq 吸入ばく露



BALFのCINC-1濃度

気管内投与 > 吸入ばく露



初期保持量が同じレベルの場合の肺の反応性

Endpoint	気管内投与試験と吸入ばく露試験の肺炎症
BALFの好中球数	気管内投与試験 \geq 吸入ばく露試験
BALFのLDH	気管内投与試験 $>$ 吸入ばく露試験
BALFのCINC濃度	気管内投与試験 $>$ 吸入ばく露試験
BALFのHO-1濃度	気管内投与試験 \geq 吸入ばく露試験
半減期	気管内投与試験 \geq 吸入ばく露試験

TiO₂, NiO: Morimoto et al. Nanotoxicology (2015)
 CeO₂: Morimoto et al. J nanoparticles research (2015)
 Review: Morimoto et al. Int. J. Mol. Sci (2016)

結論

1) 吸入ばく露試験における有害性評価と気管内投与試験の有害性評価が一致するか

ナノ粒子のうち、肺毒性の高い粒子と低い粒子に関しては、両試験の有害性評価は一致した。

2) 肺内に同じ量が沈着した場合、吸入ばく露試験と気管内投与試験の肺反応が類似するか

気管内投与試験の方が、吸入ばく露試験より肺炎症は、同等か高かった。

工業用ナノ材料の肺の有害性評価において、気管内投与試験がスクリーニング試験として有用であることが示唆された。