

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19590393

研究課題名(和文) ナノサイズ微粒子暴露による発癌リスク評価

研究課題名(英文) Carcinogenic risk assessment of nano-sized particles

研究代表者

今井田 克己 (IMAIDA KATSUMI)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：90160043

研究成果の概要(和文)：近年ナノ粒子を用いた物質に暴露する機会が増えているが、その発癌性については一定の見解が得られていない。本研究では酸化銅(CuO)およびtitanium dioxide(TiO₂)のナノ粒子とマイクロ粒子を気管内、胃内、静脈内の3つの異なる経路でラットに投与することにより、ラット肝中期発癌試験法を用いて肝発癌に対する影響を検討した。その結果、気管内投与でナノ粒子は肝発癌を促進する可能性が示唆され、ナノサイズの粒径は発癌の重要なリスク要因である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Carcinogenesis of nanoparticles remains uncertain despite nano-sized materials are widely used. In this study, liver carcinogenesis of nano- and micro-sized particles (Copper oxide;CuO, Titanium dioxide;TiO₂) was examined after exposure of three different routes. Consequently, these results indicate that nanoparticles have promoting potential on the liver carcinogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：ナノサイズ粒子、ラット肝中期発癌試験、気管内投与、強制胃内投与、経静脈投与、GST-P positive foci、酸化銅、二酸化チタン

1. 研究開始当初の背景

近年、ナノ技術の急速な発展に伴ってナノ粒子を用いた物質に暴露する機会が増えているが、ナノサイズの物質は、物質そのものによる化学的な影響だけでなく、ナノ粒子の持つ特殊な生物学的影響が懸念され、その発癌性については一定の見解が得られていない。

2. 研究の目的

本研究では酸化銅(CuO)およびtitanium dioxide(TiO₂)のナノ粒子とマイクロ粒子を異なる経路で投与し、物質の粒径による発癌性の影響を検討するため、ラット肝中期発癌試験法を用いて肝発癌に対する影響を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

被験物質は CuO マイクロ粒子 (粒径: 5 μm)、CuO ナノ粒子 (33nm)、TiO₂ マイクロ粒子 (5 μm)、TiO₂ ナノ粒子 (80nm)、quartz (4 μm) である。コントロールとして、肺サーファクタントの成分である 1, 2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine を投与した。6週齢の F344雄性ラットを6群に分け、全群実験開始時にDENを腹腔内投与し、3週目に2/3肝部分切除を施行した。[実験1]では2週目に1-5群に0.5mg/0.2ml vehicle/rat で被験物質を気管内投与した。気管内投与には専用に開発された特殊なゾンデを用いた。[実験2]では2週目から週1回の計6回、10mg/1ml vehicle/ratで、胃ゾンデを用いて強制胃内投与した。[実験3]では2、5週目に2mg/0.2ml vehicle/rat で尾静脈から投与した。いずれの実験群も8週目に屠殺剖検し肝の前癌病変であるGlutathione S-transferase placental form (GST-P)陽性細胞巢の肝の単位面積あたりの数と面積を解析し、それぞれの対照群と統計学的に比較検討することにより各物質の発癌性を評価した。

4. 研究成果

結果、[実験1(気管内投与)] : CuO ナノ粒子投与群では control 群と比べ GST-P陽性細胞巢の数が有意に増加した。

	No.	GST-P positive foci	
		number (no./cm ²)	area (mm ² /cm ²)
Quartz	12	4.53 ± 0.94	0.38 ± 0.14
CuO micro	15	4.95 ± 1.36	0.40 ± 0.15
CuO nano	15	5.49 ± 1.19*	0.45 ± 0.14
TiO ₂ micro	12	4.04 ± 1.40	0.40 ± 0.11
TiO ₂ nano	15	5.20 ± 2.20	0.43 ± 0.24
DPPC(control)	12	3.65 ± 1.92	0.39 ± 0.24

* p<0.05 vs DPPC (control) group.

[実験2(強制胃内投与)] : TiO₂ ナノ粒子投与群ではcontrol 群との比較では有意差がなかったが、TiO₂ マイクロ粒子と比べGST-P陽性細胞巢の数が有意に増加した。

	No.	GST-P positive foci	
		number (no./cm ²)	area (mm ² /cm ²)
Quartz	12	4.71 ± 1.52	0.40 ± 0.21
CuO micro	13	4.16 ± 1.06	0.35 ± 0.14
CuO nano	10	4.54 ± 1.38	0.38 ± 0.14
TiO ₂ micro	13	3.41 ± 1.14	0.30 ± 0.15
TiO ₂ nano	12	5.00 ± 1.18*	0.41 ± 0.14
DPPC(control)	12	4.03 ± 1.48	0.50 ± 0.33

* p<0.05 vs TiO₂ micro group .

[実験3(尾静脈投与)] : CuO、TiO₂ のいずれにおいても、GST-P 陽性細胞巢の数および面積について有意な差は認められなかった。

	No.	GST-P positive foci	
		number (no./cm ²)	area (mm ² /cm ²)
Quartz	13	4.36 ± 1.49	0.34 ± 0.14
CuO micro	13	4.17 ± 1.66	0.33 ± 0.15
CuO nano	12	4.86 ± 1.64	0.37 ± 0.16
TiO ₂ micro	12	3.93 ± 1.69	0.34 ± 0.17
TiO ₂ nano	13	5.44 ± 1.68	0.45 ± 0.22
DPPC (control)	12	3.88 ± 1.72	0.32 ± 0.16

以上より、気管内投与でナノ粒子は肝発癌を促進する可能性が示唆され、ナノサイズの粒径は発癌の重要なリスク要因である可能性があることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計40件)

- ① Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Saoo K, Kuno T, Imaida K. Lack of promoting effects from physical pulmonary collapse in a female A/J mouse lung tumor initiated with 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1- butanone (NNK) with remarkable mesothelial cell reactions in the thoracic cavity by the polymer. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 63: 181-185, 2011. 査読有
- ② Imaida K, Yokohira M, Hashimoto N, Kuno T. Risk analysis of environmental chemicals on lung carcinogenesis.

- Asian Pacific J Cancer Prev, 11: 9-12, 2010. 査読有
- ③ Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Suzuki S, Saoo K, Kuno T, Imaida K. Potassium octatitanate fibers (TISMO) induce pleural mesothelial cell reactions with iron accumulation in female A/J mice. *Oncol. Lett.*, 1: 273-278, 2010. 査読有
- ④ Yamakawa K, Kuno T, Hashimoto N, Yokohira M, Suzuki S, Nakano Y, Saoo K, Imaida K. Molecular analysis of carcinogen induced rodent lung tumors-Involvement of microRNA expression and Kras or EGFR mutation. *Molecular Medicine Reports*, 3: 141-147, 2010. 査読有
- ⑤ Takeuchi H, Saoo K, Yamakawa K, Matsuda Y, Yokohira M, Zeng Y, Kuno T, Totsuka Y, Takahashi M, Wakabayashi K and Imaida K. Tumorigenesis of 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), but not enhancing effects of concomitant high fat diet, on lung carcinogenesis in female A/J mice. *Oncol. Lett.*, 1: 137-142, 2010. 査読有
- ⑥ Suzuki S, Yokohira M, Hashimoto N, Saoo K, Matsuda Y, Yamakawa K, Nakano Y, Kuno T, Imaida K. Different threshold levels for 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) initiation of lung and colon carcinogenesis and the effects of an additional initiation by 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in A/J mice. *Molecular Medicine Reports*, 3: 301-307, 2010. 査読有
- ⑦ Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Suzuki S, Saoo K, Kuno T, Imaida K. Lack of modifying effects of intratracheal instillation of quartz or dextran sulfate sodium (DSS) in drinking water on lung tumor development initiated with 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in female A/J mice. *J. Toxicol. Pathol.*, 22: 179-185, 2009. 査読有
- ⑧ Hashimoto N, Yachida S, Okano K, Wakabayashi H, Imaida K, Kurokohchi K, Masaki T, Kinoshita H, Tominaga M, Ajiki T, Ku Y, Okabayashi T, Hanazaki K, Hiroi M, Izumi S, Mano S, Okada S, Karasawa V, Maeba V, Suzuki Y. Immunohistochemically detected expression of p27kip1 and skp2 predicts survival in patients with intrahepatic cholangiocarcinomas. *Ann. Surg. Oncol.*, 16: 395-403, 2009. 査読有
- ⑨ Matsuda Y, Takeuchi H, Yokohira M, Saoo K, Hosokawa K, Yamakawa K, Zeng Y, Totsuka Y, Wakabayashi K, Imaida K. Enhancing effects of a high fat diet on 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) induced lung tumorigenesis in female A/J mice. *Molecular Medicine Reports*, 2: 701-706, 2009. 査読有
- ⑩ Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Suzuki S, Saoo K, Kuno T, Imaida K. A lung carcinogenic bioassay of CuO and TiO2 nanoparticles with intratracheal instillation using F344 male rats. *J. Toxicol. Pathol.*, 22: 71-78, 2009. 査読有
- ⑪ Yokohira M, Kuno T, Yamakawa K, Hashimoto N, Ninomiya F, Suzuki S, Saoo K, Imaida K. An intratracheal instillation bioassay system for detection of lung toxicity due to fine particles in F344 rats. *J. Toxicol. Pathol.*, 22: 1-10, 2009. 査読有
- ⑫ Kuno T, Yokohira M, Matsuda Y, Suzuki S, Hashimoto N, Yamakawa K, Saoo K, Imaida K. Lack of modifying potential of 8-methoxypsoralen in the promotion or progression stages of lung carcinogenesis in A/J female mice. *Oncol. Rep.*, 20(4): 767-72, 2008. 査読有
- ⑬ Yokohira M, Takeuchi H, Saoo K, Matsuda Y, Yamakawa K, Hosokawa K, Kuno T, Imaida K. Establishment of a bioassay model for lung cancer chemoprevention initiated with 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in female A/J mice. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 60: 469-473, 2008. 査読有
- ⑭ Yokohira M, Kuno T, Yamakawa K, Hosokawa K, Matsuda Y, Hashimoto N, Suzuki S, Saoo K, Imaida K. Lung toxicity of 16 fine particles on intratracheal instillation in a bioassay model using F344 male rats. *Toxicol. Pathol.*, 36: 620-631, 2008. 査読有
- ⑮ Imaida K, Yokohira Y, Kuno T. Detection of carcinogenic and modifying potentials by test compounds using a mouse lung carcinogenesis bioassay. *J. Toxicol. Pathol.*, 20: 117-123, 2007. 査読有
- ⑯ Yokohira M, Takeuchi H, Yamakawa K, Saoo K, Matsuda Y, Zeng Y, Hosokawa K, Imaida K. Bioassay by intratracheal

instillation for detection of lung toxicity due to fine particles in F344 male rats. Exp. Toxicol. Pathol., 58: 211-221, 2007. 査読有

[学会発表] (計3件)

① N Hashimoto, M Yokohira, K Imaida, et al.
Comparison of nano- and micro-sized particles by three different route administrations using a medium-term liver carcinogenesis bioassay in F344 rats. American Association for Cancer Resaech 100th Annual Meeting 2009. 2009. 4. 19 Colorado Convention Center, (米国)

② 橋本希、横平正直、今井田克己、他：気管内投与による Cu0 ナノサイズ粒子の急性変化の検討－マイクロサイズ粒子との比較による－：第 25 回日本毒性病理学会：2009. 1. 27-28 浜松市

③ N Hashimoto, M Yokohira, K Imaida, et al.
Intratracheal instillation of Cu0 nanoparticles promotes liver carcinogenesis in F344 rats. 67th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. 2008. 10. 28-30 名古屋

[図書] (計1件)

① 今井田克己. 4. 内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)、第2部 社会問題となった疾患と病理学(環境). 深山正久, 樋野興夫, 坂元亨宇, 中山淳, 羽場礼次(編集), 病理と臨床 臨時増刊号, 文光堂, 27:137-142, 2009.

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kagawa-u.ac.jp/~ichibyou/jdata/jindex.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今井田 克己 (IMADA KATSUMI)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：90160043

(2) 研究分担者

久野 壽也 (KUNO TOSHIYA)

岐阜大学大学院・医学系研究科・腫瘍病理

研究者番号：00345779

(H19→ H21: 研究分担者)

横平 政直 (YOKOHIRA MASANAO)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：70403780

橋本 希 (HASHIMOTO NOZOMI)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：60448371

(H19→H21: 研究分担者)

井上達史 (INOUE TATSUSHI)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：80384593

(H22: 研究分担者)