

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	傍島 淳
論文審査担当者	主 査 瀧 伸介教授 副 査 小泉 知展教授 ・ 菅野 祐幸教授
論文題目	Organ accumulation and carcinogenicity of highly dispersed multi-walled carbon nanotubes administered intravenously in transgenic rasH2 mice (遺伝子改変 rasH2 マウスを用いた高分散した多層カーボンナノチューブの静脈内投与による臓器集積と発癌性評価)
【背景】	多層カーボンナノチューブ (Multi walled carbon nanotubes: MWCNTs) はその優れた機械的特性や電気的特性から様々な製品に応用されている。MWCNTs を、drug delivery system (DDS), imaging, 再生医療の足場材などの生体材料として用いようとの試みがある。しかし現時点で MWCNTs が臨床応用されていない理由は、MWCNTs がアスベストに似た繊維状ナノ粒子であり、循環系に入った MWCNTs が他臓器に移動し腫瘍を誘導する可能性についての安全性が確認されていないことである。本研究では MWCNTs を遺伝子改変発癌性 rasH2 マウスに静脈内投与し、内臓臓器への集積と腫瘍誘導の有無を調査した。
【方法】	MWCNTs を遺伝子改変発癌性 rasH2 マウスに静脈内投与し、毎週死亡・衰弱の確認と体重測定を実施した。また最終評価の 26 週後に犠牲にして、規定された全ての臓器の組織評価と採血検査を行い、MWCNTs の存在と腫瘍の有無を調べた。評価した MWCNTs は、Thin と Thick の 2 種類で、それぞれ high dose(体重 1kg あたり 0.7mg)群, low dose(体重 1kg あたり 0.07mg)群の 2 群ずつ作製し、分散液と超音波分散機により現在の技術で最も高度に分散させて静脈内投与した。negative control 群は polysorbate 80 単独群(Vehicle 群)を用いた。
【結果】	全ての群の平均体重の変化は有意差はなかった。組織学的所見で肺には全ての群で腫瘍の発生を認めたが、群間に有意差を認めなかった。Vehicle 群の 1 例で胸膜由来と考える中皮腫を発生したがそれ以外は全て腺腫であった。次に腫瘍が多く発生していたのは脾臓で、Thick-MWCNTs (high dose)以外で腫瘍を認めた。肺と同様に、脾臓でも群間に有意差はなかった。その他には胃で Vehicle と Thick-MWCNTs (low dose)に 1 匹ずつ腫瘍が認められ、いずれも群間に有意差を認めなかった。これらの腫瘍を発生した部位に MWCNTs があるかを観察したが、いずれの部位にも存在しなかった。Vehicle 群と比較して、2 種類の MWCNTs を 2 用量で投与した全ての群の各臓器の腫瘍発生数に、有意な差はなかった。脾臓では Thin-MWCNTs (high dose)群の 2 匹で、解剖時に外観から MWCNT の沈着が認められた。2 匹とも MWCNTs の沈着は認めるものの、腫瘍は形成していなかった。全てのマウスのその他の臓器の組織標本に MWCNTs の沈着は認めなかった。
【考察】	MWCNTs の投与量は、1kg あたりでは high dose 群で 0.7mg, low dose 群で 0.07mg と過去の報告と比較してかなり多い量であるが、MWCNTs の集積を認めたのは 2 臓器と少なかった。本研究では現在の最も高度と考えられる技術を用いて MWCNTs を十分分散させたため、MWCNTs の凝集体が少なかった。このため、これまでの静脈投与実験と比較して、臓器への集積が少なかったと考える。現在の技術を用いれば MWCNTs を静脈内投与しても不要な臓器への集積することなく、DDS や imaging に活用できることを示すことができた。発癌性評価の結果は、2 種類の MWCNTs 群、Vehicle 群のいずれにも、肺、胸腺、脾臓、胃、会陰に腫瘍を生じたマウスがいたが統計学的な有意差はなく、いずれの臓器においても MWCNTs による腫瘍発生はなかった。腫瘍を認めた組織標本は詳細に検討されたが、MWCNTs はいずれの標本にも認められなかった。高度に分散された MWCNTs を遺伝子改変発癌性マウスに投与するという、最も過酷な評価方法で腫瘍が発生しなかったことは重要な結果である。少なくとも本研究で用いた体重 1kg あたり約 0.7mg 以下の MWCNTs を十分に分散させて静脈内注射を行えば、体内で腫瘍を発生する可能性が極めて低いことが明らかになった。
【結論】	循環系に入った高分散した MWCNTs の最も過酷な発癌性評価として、遺伝子改変発癌性 rasH2 マウスを用いて静脈内投与試験を初めて行った。一部の個体に MWCNTs の脾臓への集積を認めたが、全ての臓器で腫瘍の発生率は増加しなかった。高分散した MWCNTs を静脈内投与しても発癌する可能性は少ないと考える。本研究の結果は、MWCNTs の吸い込みによる循環系への移動や、癌治療薬の DDS や病変部の imaging など生体材料として用いる際の、臓器への集積と発癌性の評価に重要な情報を提供する。