

複層カーボンナノチューブ (MWCNT) の吸入によるがん原性試験結果

日本バイオアッセイ研究センター

1 被験物質

1-1 名称等

名 称：複層カーボンナノチューブ (MWCNT)

別 名：多層カーボンナノチューブ (MWCNT)

CAS 番号：308068-56-6(カーボンナノチューブとして)

1-2 組成式及び式量

組成式：C

式 量：12.01

1-3 物理化学的性状等 (以下、カーボンナノチューブとして、1-7まで同じ。)

外 観：黒色, 固体, 粉末あるいは塊状の黒色または暗灰色の粉末。

融 点：該当情報なし

沸 点：該当情報なし

溶解性：水に不溶

1-4 製造量 (文献 1)

今回の試験に用いたものを含めた複層カーボンナノチューブの全製造量として、国内で経済産業省に報告されたナノテクノロジービジネス推進協議会の会員企業の 2013 年の製造量合計は 46 トンとなっており、2012 年の 101 トンから半減している。

1-5 用途 (文献 1)

- ・エレクトロニクス分野
- ・エネルギー分野：リチウムイオン電池電極添加剤、キャパシタ、燃料電池
- ・マテリアル：導電性塗料／樹脂、導電性ペーパー／繊維、強化樹脂／強化金属、放熱部材
- ・バイオ：細胞培養、バイオセンサー、ドラッグデリバリー
- ・ナノテクノロジー：走査型プローブ顕微鏡、マニピュレーション

1-6 許容濃度等

管理濃度：未設定

日本産業衛生学会：未設定

ACGIH：未設定

IARC：Group 2B(MWCNT7)、Group 3(その他の MWCNT)

1-7 遺伝毒性

複層カーボンナノチューブの *in vitro* 遺伝毒性については、ヒトリンパ球を用いて細胞質分裂阻害法による小核試験（代謝活性化なし）の結果、2種類のMWCNTでは明瞭な用量相関性は認められなかったが、1種類のMWCNTで比較的低濃度の1用量でのみ上昇が認められた（文献2）。MWCNTをヒト気管支内皮由来の株化細胞（BEAS-2B）と初代培養細胞（SAEC）にばく露し、細胞分裂への影響を検索したところ、紡錘体に対する傷害は用量依存的に増加した。染色体の数的異常は初代培養細胞（SAEC）により調べたところ、1番染色体と4番染色体において、数的異常を持つ細胞の割合は用量依存的に増加していた（文献3）。

2 目的

被験物質のがん原性を検索する目的でラットを用いた吸入による長期試験を実施した。

3 方法

試験は、ラット（F344/DuCr1Cr1j）を用い、被験物質（MWCNT）投与群3群と対照群1群の計4群の構成で、各群とも雌雄50匹とし、合計400匹を使用した。

被験物質の投与は、微粒子発生装置で発生させたMWCNTエアロゾルを1日6時間、1週5日間で104週間全身ばく露（経気道投与）させることにより行った。

投与濃度は、雌雄とも0（対照群）、0.02、0.2及び2 mg/m³の4段階（公比10）とした。観察、検査として、動物の生死及び一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査を行い、さらに、血液学的検査、血液生化学的検査、解剖時の肉眼的観察、臓器重量測定、病理組織学的検査及び透過型電子顕微鏡（TEM）による肺中のMWCNTの観察を行った。

4 結果

動物の生死確認では、雌雄各群の生存動物は、対照群と暴露群との間に差は認められず、雄では 36 匹以上、雌では 34 匹以上生存した。一般状態の観察では特記すべき所見は認められなかった。

体重は、雄では対照群と暴露群との間に差は認められなかった。雌では、2 mg/m³ 群で暴露 1 週、暴露最終段階の 102 週と 104 週で低値が認められたが、その変化は僅かなものであった。

血液学的検査では、雄の 2 mg/m³ 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び白血球数の増加がみられた。雌では、白血球数が全暴露群で高値であった。尿検査及び血液生化学的検査では、雌雄に特記すべき変化はみられなかった。

解剖時の肉眼的観察では、雌雄の 0.2 mg/m³ 以上の群で肺の結節が観察され、さらに、雌雄とも 2 mg/m³ 群に肺の白色斑や黒色斑が全葉に散在性にみられた。臓器重量では、雄は 0.2 mg/m³ 以上の群、雌では 0.02 mg/m³ 以上の群から肺の重量増加が認められ、雌雄とも 2 mg/m³ 群の増加が顕著であった。

病理組織学的検査の結果は次のとおり。

—雄—

1) 腫瘍性病変 (表 1)

<肺>

細気管支—肺胞上皮腺腫の発生が対照群で 1 匹、0.02 mg/m³ 群で 1 匹、0.2 mg/m³ 群で 7 匹、2 mg/m³ 群で 5 匹認められ、Fisher 検定により 0.2 mg/m³ 群に増加が示された。0.2 mg/m³ 群の発生率は 14 %で、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 2 %~最大 12 %、平均発生率 5.8 %) を超えた。また、細気管支—肺胞上皮癌の発生が対照群で 1 匹、0.02 mg/m³ 群で 1 匹、0.2 mg/m³ 群で 8 匹、2 mg/m³ 群で 10 匹認められた。Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定では、0.2 mg/m³ 群と 2 mg/m³ 群に増加がみられた。また、これらの群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0 %~最大 4 %、平均発生率 1.0 %) を超えた。これらの腫瘍に加えて、2 mg/m³ 群では腺扁平上皮癌の発生が 1 匹認められた。腺扁平上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない稀な腫瘍である。

上記の肺にみられた 2 種類の悪性腫瘍 (細気管支—肺胞上皮癌と腺扁平上皮癌) を合わせた発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 0.2 mg/m³ 以上の群に増加がみられた。また、細気管支—肺胞上皮腺腫と細気管支—肺胞上皮癌を合わせた発生も Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 0.2 mg/m³ 以上の群に増加がみられた。さらに、肺にみられた 3 種類の腫瘍 (細気管支—肺胞上皮腺腫、細気管支—肺胞上皮癌及び腺扁平上皮癌) を合わせた発生は、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 0.2 mg/m³ 以上の群に増加がみられた。

2) 非腫瘍性病変

<肺>

肺胞壁の限局性線維性肥厚と肉芽腫性変化が 0.02 mg/m³ 群からみられ、0.2 mg/m³ 以上の群で増加した。細気管支-肺胞上皮過形成と肺胞上皮細胞過形成が 0.2 mg/m³ 以上の群で増加した。また、異型過形成、終末細気管支上皮過形成及び肺胞マクロファージの浸潤が 2 mg/m³ 群で増加した。

<胸膜>

肺胸膜（臓側胸膜）では、線維性肥厚が 0.02 mg/m³ 群と 0.2 mg/m³ 群の少数例にみられ、2 mg/m³ 群で増加した。壁側胸膜では、限局性線維化は暴露濃度に対応して増加した。また、横隔膜や縦隔の中皮の単純過形成は、2 mg/m³ 群で増加した。

—雌—

1) 腫瘍性病変 (表 2)

<肺>

細気管支-肺胞上皮癌の発生が、対照群で 0 匹、0.02 mg/m³ 群で 1 匹、0.2 mg/m³ 群で 0 匹、2 mg/m³ 群で 5 匹認められた。これらの発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 2 mg/m³ 群に増加が示された。また、細気管支-肺胞上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない稀な腫瘍であった。2 mg/m³ 群では、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び低分化型腺癌の発生が各 1 匹に認められた。扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び低分化型腺癌は当センターのヒストリカルコントロールデータではみられない稀な腫瘍である。

上記の肺にみられた 4 種類の悪性腫瘍 (細気管支-肺胞上皮癌、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び低分化型腺癌) を合わせた発生は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 2 mg/m³ 群で増加が示された。また、肺にみられた良性または悪性腫瘍 (細気管支-肺胞上皮腺腫、細気管支-肺胞上皮癌、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌及び低分化型腺癌) を合わせた発生は、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 2 mg/m³ 群に増加がみられた。

2) 非腫瘍性病変

<肺>

肺胞壁の限局性線維性肥厚と肉芽腫性変化が 0.02 mg/m³ 群からみられ、0.2 mg/m³ 以上の群で増加した。また、細気管支-肺胞上皮細胞過形成、異型過形成、肺胞上皮細胞過形成、終末細気管支上皮過形成及び肺胞マクロファージの浸潤が 2 mg/m³ 群で増加を示した。

<胸膜>

肺胸膜 (臓側胸膜) の線維性肥厚が、0.02 mg/m³ 群と 0.2 mg/m³ 群で少数例にみられ、2 mg/m³ 群では増加した。壁側胸膜では、限局性線維化と中皮の単純過形成が観察された。

5 まとめ

当該被験物質 (MWCNT) を 0、0.02、0.2 及び 2 mg/m³ の濃度で 2 年間にわたり雌雄の F344/DuCr1Crj ラットに全身暴露した結果、雄では 0.2 mg/m³ 以上の群、雌では 2 mg/m³ 群で肺の悪性腫瘍の発生増加が認められた。従って、MWCNT はラット雌雄への全身暴露により明らかながん原性を示すと結論する。

表1 複層カーボンナノチューブ (MWCNT) のがん原性試験における肺の腫瘍発生 (ラット 雄)

	投与濃度 (mg/m ³)	0	0.02	0.2	2	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50	
良性腫瘍	細気管支-肺胞上皮腺腫	1	1	7 *	5		
悪性腫瘍	細気管支-肺胞上皮癌	1	1	8 *	10 **	↑↑	↑↑
	腺扁平上皮癌	0	0	0	1		
	細気管支-肺胞上皮癌 + 腺扁平上皮癌	1	1	8 *	11 **	↑↑	↑↑
	細気管支-肺胞上皮腺腫 + 細気管支-肺胞上皮癌	2	2	13 **	15 **	↑↑	↑↑
	細気管支-肺胞上皮腺腫 + 細気管支-肺胞上皮癌 + 腺扁平上皮癌	2	2	13 **	16 **	↑↑	↑↑

表2 複層カーボンナノチューブ (MWCNT) のがん原性試験における肺の腫瘍発生 (ラット 雌)

	投与濃度 (mg/m ³)	0	0.02	0.2	2	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50	
良性腫瘍	細気管支-肺胞上皮腺腫	3	1	4	3		
悪性腫瘍	細気管支-肺胞上皮癌	0	1	0	5 *	↑↑	↑↑
	扁平上皮癌	0	0	0	1		
	腺扁平上皮癌	0	0	0	1		
	低分化型腺癌	0	0	0	1		
	細気管支-肺胞上皮癌 + 扁平上皮癌 + 腺扁平上皮癌 + 低分化型腺癌	0	1	0	8 **	↑↑	↑↑
	細気管支-肺胞上皮腺腫 + 細気管支-肺胞上皮癌 + 扁平上皮癌 + 腺扁平上皮癌 + 低分化型腺癌	3	2	4	11 *	↑↑	↑↑

*: p ≤ 0.05 で有意

** : p ≤ 0.01 で有意

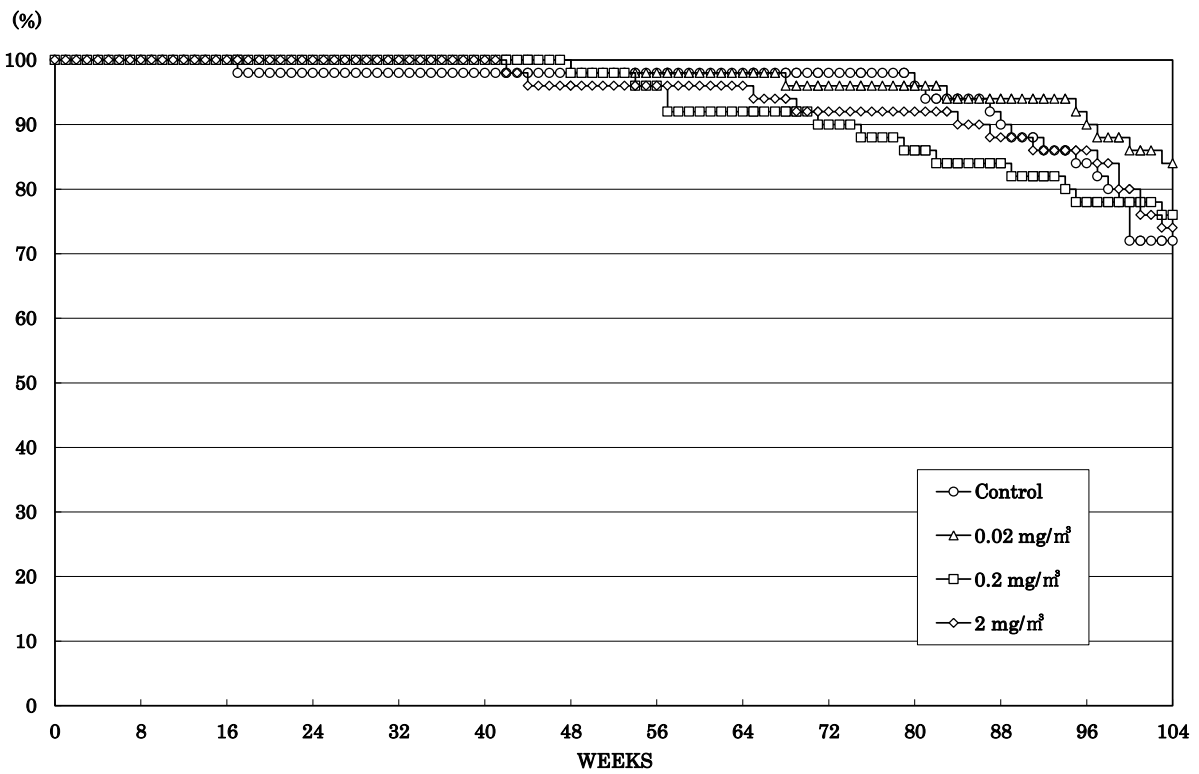
(Fisher 検定)

↑: p ≤ 0.05 で有意増加

↑↑: p ≤ 0.01 で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

図1 複層カーボンナノチューブ (MWCNT) のがん原性試験における生存率 (ラット)
(雄)



(雌)

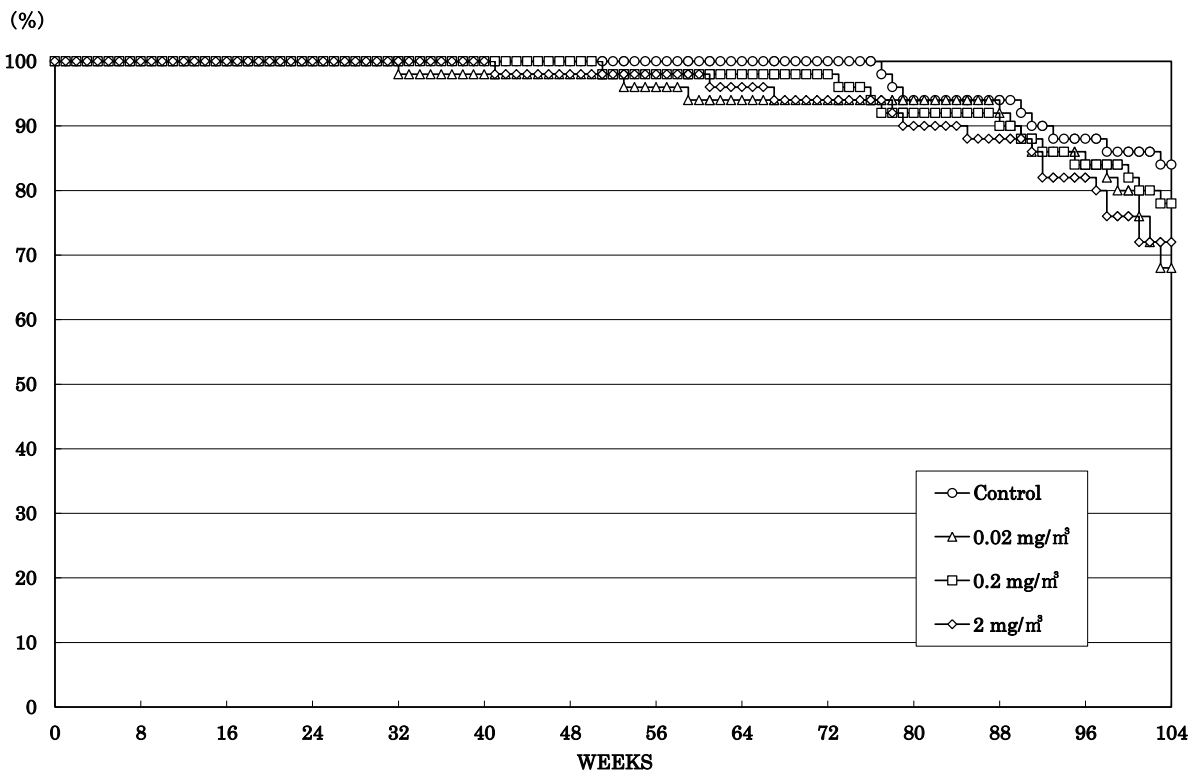
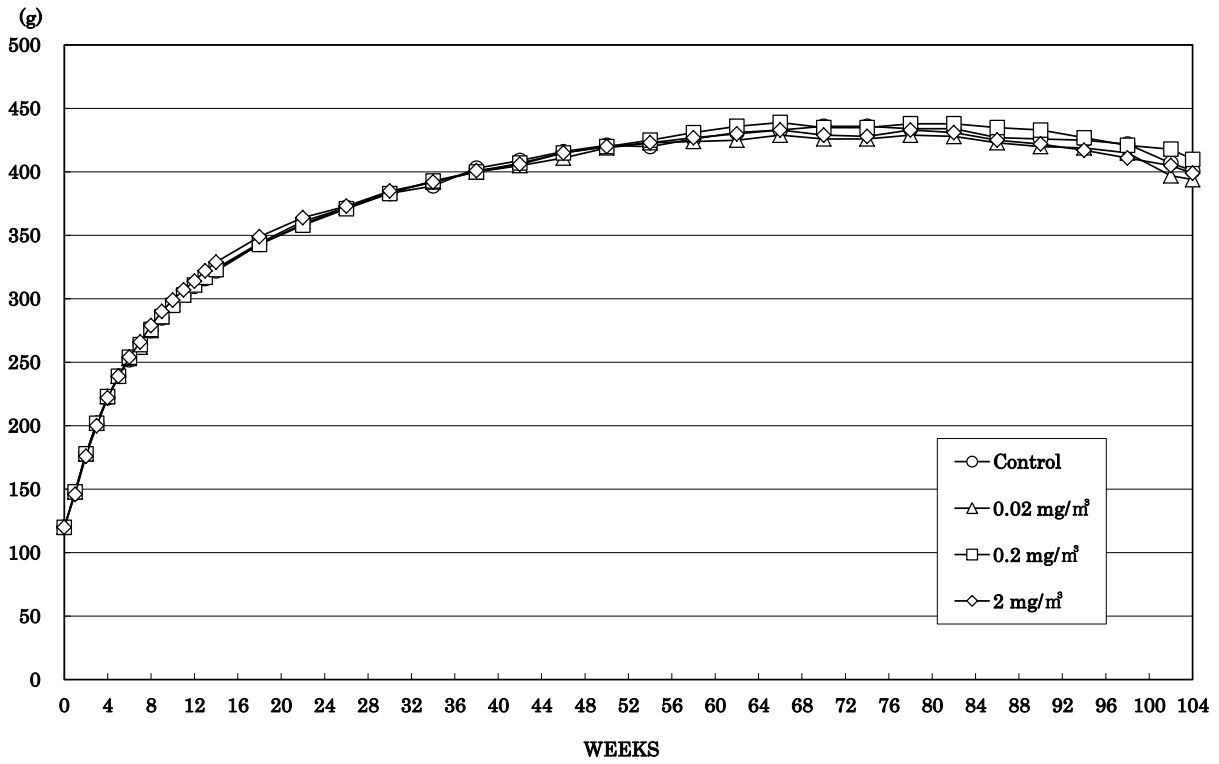
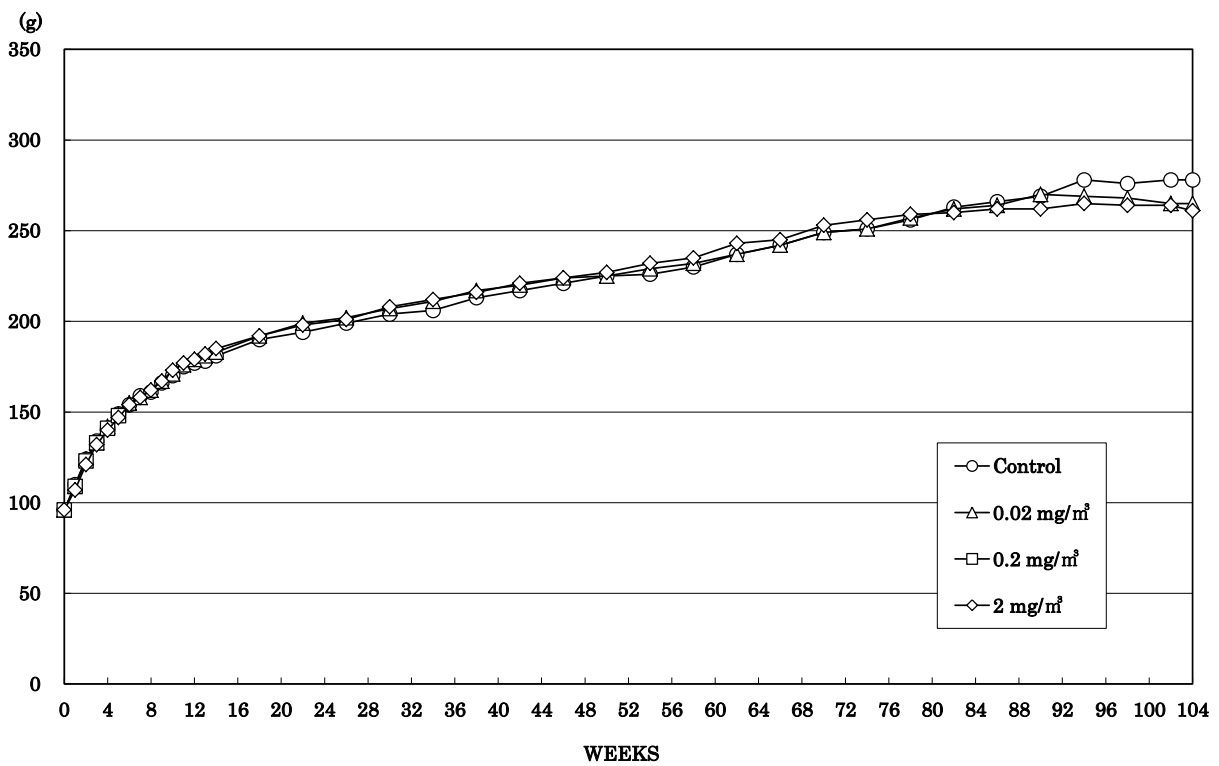


図2 複層カーボンナノチューブ (MWCNT) のがん原性試験における体重推移 (ラット)

(雄)



(雌)



文献

1. 平成 26 年度ナノマテリアル安全対策調査事業報告書 (JFE テクノリサーチ株式会社)
2. Tavares AM, Louro H, Antunes S, Quarré S, Simar S, De Temmerman PJ et al. (2014) Genotoxicity evaluation of nanosized titanium dioxide, synthetic amorphous silica and multi-walled carbon nanotubes in human lymphocytes. *Toxicol In Vitro*. 28: 60-69.
3. Siegrist KJ, Reynold SHs, Kashon KL, Lowry DT, Dong C, Hubbs AF et al. (2014) Genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes at occupationally relevant doses. *Particle and Fibre Toxicology*. 11: 6.