株式会社セラフト 御中

白金ナノ粒子を含んだミスト吸引による生体への安全性評価試験報告書

第 110212 号

平成 23 年 3 月 26 日

京都薬科大学
薬剤学分野

改　　訂	日 付	検 認	担当	教授	担当	担当
				山本	勝見	福井

１．試験目的

白金ナノ粒子を含む純水ミストの吸引による生体への影響を評価した。

２．試験内容

評価－１　白金ナノ粒子を含む純水をナノミスト化させたものを吸引した場合の急性毒性試験

白金ナノ粒子を含んだ純水のナノミストを下記の条件にて、ddy マウスに吸引させ、エーテル深麻酔下、血液を採取し、腎臓機能の指標である血漿中クレアチニン濃度、肝臓機能の指標である

血漿中ＡＬＴ活性を測定し、腎臓、肝臓に対する急性毒性を評価した。また、エーテル深麻酔下における放血による安楽死後、肺を摘出し、組織標本を作製することにより肺に対する急性毒性を病理学的に評価した。

評価－２　白金ナノ粒子を純水をナノミスト化させたものを吸引させた後の体内動態試験

白金ナノ粒子を含んだ純水のナノミストを下記の条件にて、ddy マウスに吸引させ、エーテル深麻酔下における放血による安楽死後、各臓器の摘出を行い、各臓器中の白金量をＩＣＰを用いて定量した。

動物実験はすべて京都薬科大学動物倫理委員会のガイドラインに従って行った。

試験条件
- 測定環境　室温 25.5℃、湿度　43%　（容器初期環境）
- ミスト発生装置　白金ナノ粒子を含むナノミスト発生装置
- 運転時間　30、60 日間；連続運転
- ミスト発生量　0.5ml/hour ミストユニット×３連タイプ＝1.5ml/hour
- 白金ナノ粒子濃度　100μｇ/mℓ　(100ppm)
- 白金溶媒　超純水
- 白金ナノ粒子径　1～50nm

試験設備
- アクリル製容器　500×500×500ｍｍ
- ミスト発生装置　ナノミスト発生装置
- 白金ナノ粒子濃度を 100μｇ/mℓ に調整したナノ粒子水

試験要領　白金ナノ粒子を含んだ純水をタンクに充填させたナノミスト発生装置をアクリル製容器に設置し、その空間にマウスを搬入した。また、ナノミスト発生装置は容器上方に設置しタンクの白金ナノ粒子水をナノミストとして放出するようにして連続運転させた。

血漿中クレアチニン濃度クレアチニンテストワコー（Wako）を用いて測定した。

血漿中ＡＬＴ活性トランスアミナーゼテストワコー（Wako）を用いて測定した。

肺組織標本の作製

マウスの肺を４％PFA 固定液に浸漬した。常法に従い、左葉、右葉（上葉、中葉、下葉）および中間葉の計５葉を切り出し、パラフィン包埋後、厚さ約３μｍで薄切し、ＨＥ染色を施した。

肺組織標本の病理組織学的検査方法

一般病理学的検査法に従って、検査した（バイオ病理研究所に依頼）。

ＩＣＰ-ＭＳによる各臓器中の白金量の測定方法

【測定前処理】

50ml トールビーカーに凍結乾燥した各臓器、60％nitric acid、30％hydrogen peroxide 60％perchloric acid を加え、それぞれをホットプレート上で加熱、蒸発させることを少なくても２回繰り返し、湿式灰化した。残存した無機物に７％nitric acid を 10ml 加えて約１時間放置し、溶解させることで測定試料とした。

【測定】

各測定試料に内標準として、ガリウム（Ga）を 200ppb となるように加えた後、以下のＩＣＰ－ＭＳ条件により測定した。

＜ICP-MS 条件＞

使用機器　；ICPM-8500（Shimadzu、Japan）
Coolant　gas-flow　；7.9L/min
Plasma　gas-flow　；1.5L/min
Carrier　gas-flow　；0.6L/min
ｻﾝﾌﾟﾘﾝｸﾞ深さ　；6ｍｍ

３．試験結果

腎臓急性毒性　　検討項目；血漿中クレアチニン濃度

群	マウス№	血漿中クレアチニン濃度（mg/dl）	
		After　30days	After　60days
未処理群	1	1.40	1.59
	2	1.74	1.82
	3	1.63	1.59
	4	1.63	1.64
白金ナノ粒子ナノミスト群	1	1.51	1.55
	2	1.40	1.52
	3	1.28	1.42
	4	1.05	1.45

＊　両群に有意差は認められなかったことから、腎臓に対する急性毒性はないものと考えられる。

肝臓急性毒性　　検討項目；血漿中ＡＬＴ活性

群	マウス№	血漿中ＡＬＴ活性（IU/L）	
		After　30days	After　60days
未処理群	1	5.7	4.8
	2	4.7	5.2
	3	6.6	5.5
	4	7.3	6.3
白金ナノ粒子ナノミスト群	1	5.1	5.4
	2	4.5	5.9
	3	3.9	4.3
	4	5.3	5.6

＊　両群に有意差は認められなかったことから、肝臓に対する急性毒性はないものと考えられる。

肺急性毒性　　検討項目；肺組織標本の病理組織学的検査方法

表- 1　30 日間経過後のマウスの肺

検査項目	未 処 理 マウス	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-1	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-2	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-3	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-4
気管支					
上皮の肥大、多層化	－	－	－	－	－
粘液細胞の増加	－	－	－	－	－
気管支周囲の炎症性細胞浸潤					
リンパ球	－	－	－	－	－
好酸球	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－
細気管支					
細気管支周囲の炎症性細胞浸潤					
リンパ球	－	－	－	－	－
好酸球	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－
肺胞					
炎症性細胞浸潤					
多核巨細胞	－	－	－	－	－
マクロファージ	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－
限局性肺胞内浮腫	－	－	－	－	－
限局性出血	±	±	－	－	－
血管					
血管周囲の浮腫	－	－	－	－	－
血管周囲の炎症性細胞浸潤					
リンパ球	－	－	－	－	－
好酸球	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－

－；異常なし、±；ごく軽度の変化、

＊　未処理と白金ナノ粒子ミスト・マウスともに、気管支、細気管支、肺胞、血管等に全く異常を認めなかった。
また、未処理およびプラチナミストのマウスに限局性肺胞内出血がごく軽度に認められたが、これらの肺胞内出血はと殺時のショックによるものと考えられる。

表-２　60 日間経過後のマウスの肺

検査項目	未 処 理 マウス	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-5	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-6	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-7	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-8
気管支					
上皮の肥大、多層化	－	－	－	－	－
粘液細胞の増加	－	－	－	－	－
気管支周囲の炎症性細胞浸潤					
リンパ球	－	－	－	－	－
好酸球	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－
細気管支					
細気管支周囲の炎症性細胞浸潤					
リンパ球	－	－	－	－	－
好酸球	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－
肺胞					
炎症性細胞浸潤					
多核巨細胞	－	－	－	－	－
マクロファージ	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－
限局性肺胞内浮腫	－	－	－	－	－
限局性出血	－	－	－	－	－
血管					
血管周囲の浮腫	－	－	－	－	－
血管周囲の炎症性細胞浸潤					
リンパ球	－	－	－	－	－
好酸球	－	－	－	－	－
好中球	－	－	－	－	－

－；異常なし、±；ごく軽度の変化、

＊　未処理と白金ナノ粒子ミスト・マウスともに、気管支、細気管支、肺胞、血管等に全く異常を認めなかった。

白金ナノ粒子ミスト吸引後の体内動態　　検討項目；ＩＣＰ－ＭＳによる臓器内白金量の定量分析
（定量限界；1ng/ml）

表-１　30 日間経過後のマウスの内臓

検査臓器	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-1	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-2	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-3	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-4
肺	未検出	3.5ng /tissue	未検出	1.5ng /tissue
心臓	未検出	未検出	未検出	未検出
脾臓	未検出	未検出	未検出	未検出
肝臓	未検出	未検出	未検出	未検出
腎臓	未検出	未検出	未検出	未検出

表-２　60 日間経過後のマウスの内臓

検査臓器	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-5	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-6	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-7	ﾌﾟﾗﾁﾅﾐｽﾄ マウス-8
肺	未検出	未検出	2.5ng /tissue	未検出
心臓	未検出	未検出	未検出	未検出
脾臓	未検出	未検出	未検出	未検出
肝臓	未検出	未検出	未検出	未検出
腎臓	未検出	未検出	未検出	未検出

＊マウスによっては、肺において微量の白金粒子が検出された。

４．総合評価

白金ナノ粒子のミストによる吸引は、肺、腎臓、肝臓における急性毒性は認められなかった。
また、試験期間中のマウスの体重変化についても、未処理群、白金ナノ粒子ミスト群の両群に有意差は見られなかった。
また、白金ナノミスト吸引による体内動態試験では、肺においてナノレベルの微量な白金が検出されたが、吸引試験による吸入によって肺で検出されたと考えられるが、肺に対する急性毒性を示す結果は認められていないので、生体への安全性に問題はないと考えられる。
また、肺への蓄積性および慢性毒性については、さらに長期的な試験を継続しなければ判断できない。
一般的な白金ナノコロイドのように白金粒子の周りに有機物が付いた状態とは異なり、本件で評価したものは、食品添加物として認可されている白金の金属粒子であり、人工歯冠などに使用されているように容易にはイオン化しない化学的に安定した物質から判断すれば、生体への影響は極めて低いと思われる。