



Title	ナノ・サブナノマテリアルの毒性評価および高脂肪食摂取時の影響に関する研究
Author(s)	山岸, 喜彰
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/26250
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

〔 題 名 〕

ナノ・サブナノ材料の毒性評価および
高脂肪食摂取時の影響に関する研究

学位申請者 山岸 喜彰

【背景・目的】

近年、ナノテクノロジーは、今世紀における重要案件である環境・エネルギー分野、また医薬品分野の他、食品分野、化粧品分野へ向けて技術革新に資する大きな期待が寄せられている。このように、あらゆる分野で利用されているナノテクノロジーにおいて中核を成しているのがナノ材料である。ナノ材料は一般に、「少なくとも1次元の大きさが100 nm以下に人工的に制御された素材」として定義され、従来までのサブミクロンサイズの素材に比して、粒子径の微小化に伴う組織浸透性や表面積の劇的増加により、電気・磁気・光学的特性や組織浸透性などが飛躍的に向上する。そのため、これら特有の機能を活かし様々な改善が施された製品が既に流通し、ナノ材料の使用量・利用範囲共に世界的に広がり続けている。

一方、ナノサイズ化により物質に独自の物性が付与されるため、生体や環境に対し予想もしなかった影響が起こり得るのではないかと懸念されている。特に、食品、医薬品、化粧品は、直接口に運ばれ、肌に塗布されるといった使用方法であることから、それら製品への利用率が高いナノ材料の安全性研究がここ最近、精力的に実施されてきた。しかし現在、様々な状況の様々な状態の人々がナノ材料に曝露される可能性がある中で、一般的な状態とは異なる状態に対するナノ材料の安全性研究はほとんど行われておらず、多様な状態の人々を標的にした研究は極めて少ないのが現状である。

このような状況を鑑みて、本研究では、「肥満」の状態に着目することとした。肥満は、全身の脂肪組織における慢性炎症状態を引き起こし、2型糖尿病、循環器系疾患、非アルコール性肝疾患、がん、といった様々な疾患の罹患率の増加や増悪に関与することが知られている。従って、肥満に対するナノ材料曝露の影響を精査していくことは、今後のナノ材料安全性研究の進展において重要な情報を提供できるものと考えられる。

上記の背景から本研究においては、食品、医薬品、化粧品分野において利用頻度が最も高いナノ材料の一つであるナノシリカ (nano silica: nSP)、最近、比較的利用頻度が高く未だハザード情報が乏しいサブナノ白金 (sub-nano platinum: snPt) に着目し、これらのナノ材料が肥満状態においてどの様な影響を与えるのかを肥満モデルマウスとして高脂肪食摂取マウスを用いて検討を行った。

【方法・結果・考察】

これまでの当研究室、および他のグループの報告からマイクロメートルサイズ (>1 μm) からナノメートルサイズのシリカの障害性を比較した検討により、粒子径70 nmのnSPにおいて顕著な障害性が認められることが確認されている。従って、本研究においては粒子径70 nmのナノシリカ (nSP70) を用いた。また、ナノ材料の定義を超える粒子径である300 nmのナノシリカ (nSP300) をコントロールとして用いて以下の検討を行った。さらに、肥満モデルマウスとしてC57BL/6マウス (雄性、8週齢) に対し、高脂肪食 (high fat diet: HFD) を8週間摂取させた。また、常食 (regular diet: RD) を摂取させたマウスを常食マウスをコントロールマウスとして実験に使

用した。

RD・HFDマウスにnSP70を投与したところALT活性がnSP70濃度依存的に上昇し、RDマウスと比べてHFDマウスでより高い活性が示された。従って、nSP70による肝障害は肥満により増悪することが明らかとなった。

次にnSP70の投与最終日において体重、および脂肪重量を測定したところ、RD・HFDマウス双方でnSP70濃度依存的な減少がみられ、nSP300では変化が認められなかった。さらにHFDマウスにおいてのみnSP70 40 mg/kgで脂肪細胞サイズの減少が認められた。以上より、nSP70投与による体重減少は肥満状態でより顕著に現れることが示された。

また、nSP70投与により血中の炎症性アディポサイトカイン (TNF- α ・IL-6) 量の増加が認められた。そのため、脂肪重量、脂肪細胞サイズの減少にはTNF- α ・IL-6の増加による脂肪細胞でのトリグリセリドの分解、およびアポトーシスが関与しているものと推測される。さらに、肥満状態ではTNF- α ・IL-6受容体の発現上昇が脂肪組織でみられる。従って、RDマウスに比してHFDマウスにおける脂肪重量と脂肪細胞サイズの減少は肥満状態におけるTNF- α ・IL-6受容体の発現上昇が原因の一端を担っているものと推察される。

以上より、nSPは粒子サイズの減少により障害性が増強されること、さらに肥満状態にnSPを投与することで肝障害が増悪することが確認された。また、体重、脂肪重量、脂肪細胞サイズの減少を引き起こすことが明らかとなった。

snPt1は15 mg/kgの条件でマウスに投与することで肝臓、および腎臓に種々の障害を与えることが示された。また、snPt1 (粒子径約1 nm)、およびsnPt8 (粒子径約8 nm) といったサイズの異なる2種類のsnPtを投与したところ、サイズの減少に伴い障害性が増強されることが明らかとなった。

HFDマウス (肥満モデルマウス) にsnPtを投与したところ、RDマウスでは障害性が認められないsnPt1 10 mg/kgにおいて致死的な毒性を示した。その際に、肝臓におけるALT・ASTの上昇、および壊死細胞の増加が確認されたことからHFDマウスではRDマウスと比較して肝障害が増強されることが明らかとなった。

【総括】

1. ナノマテリアルのサイズ依存的な障害性の増強

本研究においては、代表的なナノマテリアルの一つとしてnSPを、近年の使用量の増加により安全性情報の取得が急がれているsnPtの双方のナノマテリアルについてのハザード情報を取得した。その結果、物質の種類は異なるものの、いずれのナノマテリアルにおいてもサイズの減少と共にサイズ依存的な障害性の増強が確認された。従って、使用用途によって有効性と障害性を考慮し、適切なサイズを見出して使用していくことが必要であると考えられる。

2. 肥満におけるナノマテリアルの障害性の増悪

今回、一般的なハザード情報の他に、特殊な状態として「肥満」に着目して検討を行った。その結果、nSPでは、肥満状態において肝障害の増強と顕著な体重、脂肪重量の減少が認められた。また、snPtでは、肥満状態で致死的な毒性、及び肝臓への障害性の増強が認められた。従ってナノマテリアルは肥満状態において障害性が増悪することが明らかとなった。

本研究において得られた結果は、ハザード情報の取得であるものの、「肥満」という特殊な状態を扱ったものであり、ナノマテリアルの安全性研究において新たな知見を与えるものと考えられる。今後、肥満のみならずあらゆる状況のあらゆる状態に対するナノマテリアルのハザード情報が報告されていくことが予想され、ナノマテリアルの安全な使用法が模索されていくと思われる。本知見はその際に有用な情報の一つとなることが期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (山 岸 喜 彰)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授 八木 清仁
	副 査	教 授 堤 康央
	副 査	教 授 平田 収正
	副 査	教 授 高木 達也

論文審査の結果の要旨

学位申請者の山岸喜彰は近年、新たな機能性を有し使用範囲が急速に拡大しつつあるナノマテリアルに着目し、その生体影響について検討を行い以下に挙げる成果をまとめ学位論文として提出した。

本研究は、食品、医薬品、化粧品分野において利用頻度が高いナノマテリアルの一つであるナノシリカ (nSP) および最近、利用頻度が高く未だハザード情報を始めとした安全性研究の報告が少ないサブナノ白金 (snPt) に着目し、マウス肝臓に与える影響を中心に検討を行った。また生活習慣病の状態におけるナノマテリアルの影響を解析することを目的とし、肥満モデルとして高脂肪食摂取マウスを用いてナノマテリアルの影響を検討した。

これまでの研究においてnSPが肝臓に対して障害性を示すことが明らかとなっていたが、山岸は新たにsnPtが尾静脈投与により肝臓および腎臓に対して障害性を有することを明らかとした。さらにsnPtのサイズ減少と共に肝臓、腎臓に対する障害性が増強されることを見出した。使用用途によって有効性と障害性を考慮し、適切なサイズを見出して使用していくことが必要であることを示した点で高く評価している。

また、一般的なハザード情報の他に、特殊な状態である「肥満」に着目して検討を行っている。2 か月間にわたり高脂肪食を摂取させた肥満モデルマウスを用いて検討した結果、nSP投与により、肥満状態において肝障害の増強と顕著な体重、脂肪重量の減少が認められた。一方、snPt投与では、肥満状態で肝臓への障害性の増強ならびに致死毒性が認められた。本知見はナノマテリアルが肥満状態においては通常健康状態に比べ障害性を増強する可能性があることを示唆した点で高く評価している。

本論文にはナノマテリアルの安全性評価において重要な知見が含まれていると判断し、論文審査担当者全員が博士論文としてふさわしいと判定した。