The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	次世代の安全確保に向けたナノ微粒子の動態・ハザード情報の収集
Author(s)	森下, 裕貴
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52265
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　森下裕貴　　）	
論文題名	次世代の安全確保に向けたナノ微粒子の動態・ハザード情報の収集

論文内容の要旨

母乳育児は、母子間の愛情形成やこどもの罹患リスク低下など、人工保育では得られないメリットを有している。こうした点から母乳育児は世界的に奨励され、こどもに母乳を与える母親が増加している。一方で、母乳にはPCBやダイオキシンなどの化学物質が含まれている。「こどもは小さな大人ではない」と言われるように、乳幼児は生体バリアや代謝機能等が未発達であることから、母親が曝露した化学物質が母乳を介して乳幼児に悪影響を与える例が多く知られている。例えば、ダイオキシンの曝露量が多い地域では、母乳を介した曝露により乳幼児の神経発達が遅延していると言われている。このように、授乳による乳幼児の化学物質曝露が懸念される一方で、授乳人口が増加し続けている現状からも、化学物質の安全性を評価するうえで、母乳を介した乳幼児への影響評価が必要不可欠であると考えられる。一方で近年、微粒子の安全性への懸念が広がっている。我々は老若男女を問わず微粒子に曝露しているが、例えば、PM2.5などの環境中微粒子は、循環器・呼吸器関連死亡の原因となることが知られている。さらに近年の疫学研究は、マイクロサイズよりもナノサイズといったように、より小さい粒子が健康被害を引き起こす主体である可能性を示している。こうした現状において、最近では人工的にサイズを100 nm以下に制御したナノマテリアルが、身の回りのあらゆる製品に実用化され、我々がナノ粒子を意図的に食べる、塗るといった機会が急増している。従って、ナノ粒子の更なる安全性情報の収集が求められている。ナノ粒子についても、乳幼児など、脆弱な個体を対象とした安全性評価は最優先課題であるが、ナノ粒子が母乳へ移行性し得るかどうかについても、情報が皆無に等しい状況である。本観点から著者は、適用製品数の点で最も汎用されるナノ粒子の一つであり、健康食品にも使用されている銀ナノ粒子（nAg）を使用し、授乳期の曝露に着目して安全性情報を収集した。

本検討では、粒子径100、50、10 nmのnAg（nAg100、nAg50、nAg10）を使用した。さらに、nAgはAg^+を徐放することが知られることから、Ag^+の動態・影響を評価する目的で硝酸銀水溶液を用いた。曝露が無ければリスクは起こりえないことから、化学物質の安全性を評価するうえでは、まずADMEなどの曝露実態情報を精査することが必要である。本観点から、まず、ナノ粒子の母乳移行性を評価した。血中から母乳中への銀ナノ粒子の移行性を評価する目的で、出産後3日の授乳期マウスにnAg100、nAg50、nAg10、Ag^+を静脈内投与した。ICP-MSにより母乳中銀濃度を測定した結果、いずれの群においても、母乳中に銀が検出された。従って、nAgとAg^+が、血中から母乳中へ移行することが明らかとなった。また、母乳中銀濃度は、nAg100 < nAg50 < nAg10 < Ag^+の順で高かったことから、nAgの粒子径が小さいほど母乳移行率が上昇すること、nAgの母乳移行率はAg^+と比較すると低いことが明らかとなった。次に、nAgの中で最も母乳移行性が高かったnAg10を用いて、より詳細な動態情報を収集した。授乳時期の違いによる母乳移行性の違いを検討する目的で、出産後3、7、14、21日の授乳期マウスに、nAg10を静脈内投与し、母乳中銀濃度を測定した。その結果、出産後3、7日のマウスでは母乳中に銀が検出された一方で、出産後14、21日のマウスでは検出されず、nAgは授乳初期ほど母乳中へ移行しやすいことが明らかとなった。次に、現実の曝露形態を加味し、授乳期マウスにnAg10、Ag^+を経口投与後に母乳中、血中銀濃度を測定した。その結果、母乳中、血中共に銀が検出され、nAg10、Ag^+が経口投与後、血中のみならず母乳中へ移行することが明らかとなった。また、前述の静脈内投与の検討では、血中銀濃度の方が母乳中銀濃度よりも高値を示した一方で、経口投与による検討においては、母乳中銀濃度の方が血中銀濃度よりも高値を示した。従って、経口投与後に血中移行したnAgは、静脈内投与した場合と比較して、血中から母乳へ移行しやすくなる可能性が示された。これまでの検討で、nAgが母乳中へ移行することを明らかとしたことから、次にnAgの母乳を介した乳幼仔への移行性、影響を評価した。授乳期のマウスに、出産日（出産後日数（PND）0）から離乳（PND20）までの21日間、nAg10、Ag^+を0.1、0.5 mg/kgで毎日経口投与し、その間、母乳育仔させた。PND7、14、21における仔の血中銀濃度を測定した結果、nAg10、Ag^+投与群共に銀が同定され、母乳中のnAgが仔の体内へ吸収されることが明らかとなった。次に仔の肝臓中・脳中銀濃度を測定した。その結果、興味深いことに、nAg10、Ag^+投与群共に、肝臓においてはPND14以降で銀濃度の減少が認められる一方で、脳においてはPND14からPND21にかけても増加し、それ以降もほ

とんど減少しないことが明らかとなった。従って、母乳を介して曝露したnAgは、仔の血液脳関門を突破し脳にまで到達すること、脳においては肝臓と比較して残留しやすいことが明らかとなった。次に、仔への影響を評価する目的で、経週的に体重を測定すると共に、PND21に血液生化学検査を実施した。その結果、群間の体重推移、血球細胞数、組織障害マーカーに有意な変化は認められなかった。従って、nAg10、Ag^{+}の授乳期曝露は、仔の成長抑制、血液毒性、臓器障害等は誘発しないことが明らかとなった。次に、仔の脳への影響を、13種の行動試験により網羅的に解析した。その結果、いずれの試験においても、群間のスコアに有意な変化は認められなかった。従って、nAgは、本実験における母体の摂取量（サプリメントとして経口摂取し得る量の数十～数百倍程度）においては、仔の基礎的な反射、痛覚感受性、歩行機能、協調運動機能、運動学習、筋力、自発運動量、記憶、うつ様行動、社会的行動、不安様行動、聴覚性驚愕反応、プレパルス抑制等には影響を与えないことが明らかとなった。

以上、本検討では授乳期曝露に着目したナノ粒子の安全性情報を先駆けて収集した。本研究により、ナノ粒子も母乳中へ移行し、母乳を介して仔に吸収されることが明らかとなったことから、低分子化合物等だけでなく、ナノ粒子についても、母乳を介したこどもへの影響を慎重に調べる必要性が示された。さらに、ナノ粒子の母乳移行性は、粒子径・授乳時期・曝露経路などにより規定されることを見出したことは、将来的に、母乳へ移行しづらいナノ粒子の開発、ナノ粒子が母乳中へ移行してしまうのを避ける方法論の確立等にも有用であると考えられる。本研究で明らかとした知見が重要な基礎情報となり、リスク評価・リスク管理が実施されることで、将来的に、老若男女が安心してナノ粒子含有製品を利用できる社会の実現に貢献できることを期待している。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　森下　裕貴　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教 授	堤　康央
	副 査　教 授	土井　健史
	副 査　教 授	水口　裕之

論文審査の結果の要旨

本論文は、近年、実用化が急速に進展しているナノ粒子にフォーカスし、その授乳期曝露に着目し、ナノ粒子の母乳移行性、母乳を介した仔への移行性・影響を評価したものである。また、父親曝露に着目し、ナノ粒子の精巣や生殖細胞への移行性について評価するなど、特に脆弱な世代に着眼し、ナノ粒子の次世代影響についての情報を収集しており、以下の結論・知見を得られている。

1. 母体が経口、経血管的に曝露した銀ナノ粒子は母乳へ移行し、母乳を介して乳幼仔へと移行することを明らかとした。

2. ナノ粒子の母乳移行性は、粒子径・素材・授乳時期などにより規定されることを見出した。

3. 曝露経路により、銀ナノ粒子の血中動態・母乳移行性が変化する可能性を明らかとした。

4. 乳幼仔は成体と比較して、銀ナノ粒子を体内に吸収しやすいことを明らかとした。

5. 銀ナノ粒子は母乳を介して仔の脳に移行する一方で、現実の曝露量の数十～数百倍程度を母体が摂取した場合においては、仔の情動認知機能には影響を与えないことを明らかとした。

6. シリカナノ粒子は血液精巣関門を突破し、精子の前駆細胞である精母細胞の核内にまで移行し得ることを明らかとした。

化学物質の安全性は、「曝露」と「ハザード」の積算で表される「リスク」の理解が不可欠であり、特に、ADME：動態（吸収されるのかなど、曝露されるのかどうか）を把握することがファーストステップとなるものの、その情報は皆無に等しい。その点、本研究によりナノ粒子が母乳や生殖細胞にまで移行し得ることを明らかとしたことは、ナノ粒子について母乳や精子を介した安全性評価を推進していく必要性を示したものであり、ナノ粒子の次世代影響評価研究において波及性の高い基礎知見と考えられる。また、ナノ粒子の物性や使用方法（使用時期など）を適切に調整することで、ナノ粒子の動態を制御し、意図した安全性や有効性を保持してナノ粒子を利用できる可能性を明らかとした。これら知見は、ナノ粒子のリスク評価・リスク管理に極めて有益で有り、将来的に、老若男女が安心してナノ粒子含有製品を利用できる社会の実現に貢献できるものである。

以上より、今後のNano-Safety Science：ナノ安全科学、Nano-Safety Design：ナノ最適デザイン、Sustainable Nanotechnology：安全かつ有効に持続利用可能なナノテクノロジーに向けた興味深い知見であり、博士(薬科学)の学位を授与するにふさわしいものと考えられる。