The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ナノマテリアルの物性-動態-安全性の連関追求とその健康確保に向けて
Author(s)	鍋師, 裕美
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57962
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【13】

氏　　名	鍋　師　裕　美（なべ　し　ひろ　み）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　２３７５６　号
学位授与年月日	平成22年３月23日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学　位　論　文　名	ナノマテリアルの物性－動態－安全性の連関追求と健康確保に向けて
論文審査委員	（主査） 教　授　堤　　康央 （副査） 教　授　平田　收正　　教　授　小比賀　聡　　教　授　藤尾　　慈

論文内容の要旨

近年、ナノテクノロジーが劇的に進展したことによって、サイズや形状などをナノメートルサイズ（100 nm以下）に制御したナノマテリアルの開発とその実用化が盛んに行われている。ナノマテリアルは、従来までのサブミクロンサイズ（数百 nm～数十 μm）以上の素材とは決定的に異なる物性に起因した革新的な機能を発揮することから、様々な産業に革命を起こし得る夢の素材として期待されている。しかし昨今、ナノマテリアル特有の物性が二面性を呈し、予測しにくい毒性（ナノ毒性；NanoTox）を発現する可能性が危惧され始めており、ナノマテリアルの安全性評価とその健康確保が世界的な緊急課題となっている。非晶質ナノシリカやナノ酸化チタンなどは、素材が同じであるという前提でサブミクロンサイズ以上の従来素材と同様の基準で使われている。確かに、サブミクロンサイズ以上の従来素材は体内にほとんど吸収されないため、極めて安全性が高いと言える。しかし、実情は100 nm以下のサイズのナノマテリアルの体内吸収性に関する科学的情報は皆無に等しく、ハザード評価についても細胞傷害性・遺伝毒性/発がん性などのごく限られた項目が検討されているに過ぎない。すなわち、これらナノマテリアルの安全性確保は急務であるものの、その科学的な安全性情報は圧倒的に不足しているのが現状である。このような状況を憂慮し、経済協力開発機構（OECD）を中心に、ナノマテリアル開発・実用化を規制しようとする活動が、今、まさにスタートしたばかりである。しかし、科学的根拠に乏しい闇雲な規制は、ナノマテリアルの社会拒絶を招きかねない。従って、ナノマテリアルの社会受容を確保しつつ、ナノマテリアルの恩恵を最大限に享受するためには、科学的根拠に基づいたナノマテリアルの安全性情報の収集と、これらの情報を基盤とした安全なナノマテリアルの設計指針や使用ガイドラインの策定が必要不可欠である。そこで、申請者はナノマテリアルの物性情報から安全性を予測できるシステムの構築や、このシステムを活用した安全なナノマテリアルの創製を目指して、ナノマテリアルの物性と吸収性を含めた体内・細胞内動態、生体影響との連関情報の収集と、これら連関情報を基盤としたナノマテリアルの安全性確保研究を推進している。本論文では、ナノマテリアルの中で最も汎用されているナノシリカを対象とした粒子径-動態-生体影響の連関を評価した。

まずナノシリカの物性を評価した結果、本検討に使用した一次粒子径が70 nmのナノシリカ（nSP70）、および対照として用いた300、1000 nmの従来型シリカ（それぞれnSP300、mSP1000）は、いずれも表面のなめらかな均一性の高い粒子であり、生理的条件下で高い分散性を保った粒子であることが判明した。次に、ナノシリカの安全性評価に当たって最も重要な体内吸収性を経皮塗布マウスモデルを用いて評価した。その結果、nSP300やmSP1000は表皮層にすら到達しなかった。一方で、nSP70は真皮層にまで到達するのみならず、所属リンパ節や肝臓、脳内にも侵入していた。さらに興味深いことに、経皮吸収されて肝実質細胞内に移行したnSP70の一部は、核やミトコンドリアの内部に到達していた。以上、筆者らは直径70 nmのナノシリカが強固な皮膚角質バリアを通過して血中に移行し、組織蓄積性を示し得ることを先駆けて見出した。ナノシリカが経皮吸収され全身循環することが明らかになったため、ナノシリカが全身循環した際のハザード情報の収集を目的に、ナノシリカの生体影響と粒子径の連関を評価した。その結果、nSP70を静脈内投与したマウスにおいてのみ急性致死毒性、血液凝固異常、肝毒性が誘発されることが明らかになった。この結果は、ナノシリカがサブミクロンサイズ以上の従来型シリカとは決定的に異なる生体影響を誘発することを示すものである。そこで、これらの生体影響の発現とシリカの粒子径や体内分布との連関解析を試みた。まず、血液凝固異常にナノシリカの粒子径が与える影響を評価した。一般的に、体内に異物が侵入した際には、血液凝固第XII因子と接触して血液凝固が開始される。そこで、XII因子に着目してnSP70の血液凝固異常の発現機構を解析した。その結果、nSP70のみが血液凝固を促進すること、nSP70の凝固促進にはXII因子が必須であることが判明した。また、抗凝固剤の前投与によって、nSP70による急性致死毒性発現が顕著に抑制されたことから、nSP70の血液凝固促進作用が急性致死毒性発現に深く関与していることが強く示唆された。次に、肝毒性発現と粒子径・体内動態の連関を解析した。各粒子の体内分布を解析したところ、いずれの粒子も主に肝臓に局在することが判明した。しかし、肝臓内局在を詳細に評価すると、nSP70が肝実質細胞内侵入性・核内侵入性を示す点で、従来型シリカとは異なる動態を示すことが明らかになった。そこで、ナノシリカの肝臓内局在と肝毒性発現の連関を明らかにするため、シリカ投与マウスの肝実質細胞に対する影響を評価した。その結果、nSP70投与マウスの肝実質細胞では、nSP300、mSP1000投与群と比較して高い細胞傷害性・DNA傷害性を示すことが明らかになった。以上、申請者は、nSP70が従来型シリカとは異なる特有の動態特性を反映して肝毒性を誘発することを見出した。

以上の検討により、ナノシリカがサブミクロン以上の従来型のシリカとは異なる動態（体内吸収性を含む）・生体影響を発揮することを実証した。本知見は、これまで体内吸収性を示さないと信じて疑われなかったために安全性評価がほとんど行われていなかったナノシリカが、適用条件によっては、ヒトの健康に対してリスクを有する可能性を示す初めての知見であり、ナノシリカのリスク評価やその管理の重要性・緊急性を強く示唆するものである。また、本検討の結果から、ナノシリカの安全性を確保するに当たっては、粒子物性を適切に制御し、肝実質細胞移行性や血液凝固系に与える影響を最小限に抑えることが出来れば、有用機能のみを搭載した安全なナノシリカを創製出来ることを示した。これは、ナノシリカの安全性を確保するための具体的な指針の策定に向けて、物性－動態－生体影響の連関評価の連関解析という本アプローチが有用であることを実証するものである。今後、本知見をもとに、ナノマテリアルと人類が安全に共存していくために、詳細な検討が期待される。

論文審査の結果の要旨

昨今、ナノマテリアルのヒト健康への影響が世界的に危惧されており、薬学的観点からのナノマテリアルを配合した医薬品・化粧品・食品等の安全性評価とその確保が急務となっている。以上の背景を踏まえて、本研究では、ナノマテリアルの物性情報から安全性を解析できる手法の開発や、この手法を活用した安全なナノマテリアルの開発支援を目指し、ナノマテリアルの物性と曝露実態（吸収性やその後の体内・細胞内動態）、生体影響（安全性、毒性）との連関情報の集積と、これら連

関情報を基盤としたナノマテリアルの安全性確保研究を推進し、ナノマテリアルの中で、最も生活に浸透しているナノ粒子の一つである非晶質ナノシリカに関して、以下の知見・結論を得た。

1. 直径70 nmの表面未修飾ナノシリカ(nSP70)が生体で最も強固な皮膚バリアを透過して、体内に侵入することを初めて見出し、ナノシリカの安全性評価研究の必要性・緊急性を示した。

2. 粒子サイズの微小化に伴う肝実質細胞移行性の増大や物性変化を反映して、ナノシリカが肝毒性や血液凝固異常をはじめとする急性毒性を発現誘導することを先駆けて見出した。

以上の知見は、“物性-動態-安全性の連関解析”という新たな戦略でのナノマテリアルの安全性評価研究が、その安全性確保やリスク解析等に有用な情報をもたらすことを、国内外を含めて、初めて明らかとしたものであり、将来的にナノマテリアルの安全性確保や社会受容の促進に寄与するものと強く期待され、博士(薬学)の学位を授与するにふさわしいものと考えられる。