



Title	ヒトの健康確保に向けた環境中ナノ微粒子の経粘膜曝露における安全科学研究
Author(s)	吉田, 徳幸
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/60085
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

氏 名	吉 田 徳 幸
博士の専攻分野の名称	博 士（薬学）
学 位 記 番 号	第 2 5 9 7 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 年 3 月 25 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	ヒトの健康確保に向けた環境中ナノ微粒子の経粘膜曝露における安全科学研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堤 康 央 (副査) 教 授 宇 野 公 之 教 授 小 比 賀 聡 教 授 辻 川 和 丈

論 文 内 容 の 要 旨

近年、革新的なナノテクノロジーの進展も相俟って、ナノマテリアル（NM）の開発・実用化が世界的に進んでいる。NMは、少なくとも1次元の大きさが100 nm以下に制御された素材として定義されている。NMは、その粒子径の微小化に伴い比表面積が劇的に増大した結果、従来までのサブミクロンサイズ以上の素材に比べて、電気的・磁氣的・光学的特性や組織浸透性などが飛躍的に向上する。これら特有の機能を活かし、既に香粧品・医薬品・食品・電子部品など、様々な産業分野の製品に実用化されている。従って、昨今の人々の健康への関心の高まりもあり、NMの安全性確保がより一層待望されている。その一方で、細胞・マウスレベルではあるものの、NMが我々の意図しない生体影響を誘発する可能性が疑われている。さらに、超高圧電子顕微鏡などを初めとした最新鋭のナノ解析技術によって、従来から大気汚染による健康被害の元凶となっていたディーゼル排気ガス（DEPs）や黄砂などの環境中微粒子中に、ナノサイズの微粒子が多数含まれていることが明らかとなっている。従って、我々の生活環境に既に浸透しているNMや環境中に存在するナノ微粒子とヒトの健康を取り巻く現状を踏まえると、今後も人類が健康で質の高い生活を謳歌するためには、NMの安全性情報の収集を図り、安全性を確保することが必要不可欠である。本観点から申請者は、ヒトの健康確保を第一義的な目的として、NMの安全性情報の収集を目的としたNano-Safety Science研究と、安全なNMはその利用促進に、一方で安全性に懸念があるNMに関しては安全性を担保したNMに仕上げていくNano-Safety Design研究を両輪とした、独自の安全性評価研究を推進している。この中で申請者は、現在最も汎用されているNMの1つである非晶質ナノシリカ（nSP）を対象に、主な曝露経路として経鼻曝露に着目した曝露実態情報とハザード情報の収集をパイロット的に実施した。

本検討では、実験グレードの直径が30 nm、70 nmのnSP（nSP30、nSP70と表記）、および300 nm、1000 nmのサブミクロンサイズの従来型シリカ（nSP300、mSP1000と表記）を使用した。本検討では、nSPの非意図的吸引曝露を想定し、各シリカをマウスに500 µg/body（シリ

カの許容曝露量の約50倍に相当）の投与濃度で、7日間連続経鼻投与した。各シリカを経鼻投与した際の体内吸収性を評価するため、各シリカを投与したマウスから鼻粘膜、肺、肝臓および脳を回収し、透過型電子顕微鏡で観察した。その結果、mSP1000、nSP300は鼻粘膜や肺といった投与局所のみで観察された一方で、nSP70、nSP30は、投与局所の鼻粘膜や肺だけでなく、肝細胞内や脳のグリア細胞内においても観察された。すなわち、経鼻吸収されたnSPは血中へ移行し全身に分布することが示され、全身臓器を対象とした安全性評価が必須であることが明らかとなった。そこで次に、nSPが経鼻吸収され血中移行することを考慮し、血球成分の変動を評価した。その結果、シリカの粒子径の減少に伴った血小板数の減少が認められ、特にnSP70およびnSP30投与群においてはコントロール群と比較して有意に低値を示した。また、血小板の減少に伴い、nSP70、nSP30投与群の出血時間は、コントロール群と比較して有意に延長していることが判明した。以上の事実から、nSP70、nSP30は経鼻吸収された後、凝固因子や血小板の消費により出血症状を呈する病態、消費性血液凝固障害を誘発する可能性が示された。そこで、血液凝固異常を回避できる安全なNMの創製に向けて、nSPによる血液凝固促進機構の解明を試みた。その結果、nSP70、nSP30投与群では、内因系血液凝固活性の指標である活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長が認められた。すなわち、nSPによる血液凝固異常は、主に内因系血液凝固系の活性化が要因である可能性が示唆された。内因系血液凝固は、陰性電荷を持った異物が、血液第Ⅻ因子をはじめとした血液凝固因子と相互作用することが起点となり開始する。従って、nSPの表面性状を適切に制御し、血液凝固因子との相互作用を軽減することが出来れば、消費性血液凝固障害を誘導しない、安全なnSPを創製できるものと考えられる。そこで申請者は、nSP70の粒子表面にカルボキシル基修飾を施したnSP70-C、およびアミノ基修飾を施したnSP70-Nを用いて、血液凝固系への影響を検証した。その結果、nSP70-C、nSP70-N投与群では、血小板数の減少、および内因系凝固系の活性化は認められず、コントロール群と同程度であることが判明した。そこで、血液凝固異常の誘発におけるnSPと血液凝固因子の相互作用を評価するため、内因系血液凝固系の血液凝固因子で、最も上流に位置する血液第Ⅻ因子と各表面修飾nSPの結合性を評価した。その結果、nSP70と比較して、nSP70-CあるいはnSP70-Nを適用した群では、単位シリカ当たりの血液第Ⅻ因子の結合量が低下していることが判明した。以上の事実、粒子表面を表面修飾したnSPは血液第Ⅻ因子との相互作用が抑制された結果、血液凝固異常の誘発が減弱したことを示している。

以上、本研究では、nSPが体内吸収性や体内局在/生体影響の点において従来までのサブミクロンサイズ以上のシリカとは異なる性質を発揮することを実証し、nSPのハザード誘発機構の解析を通じて、ハザードを発現しない安全なnSP創製に資する有用な情報を示した。また、本要旨では触れていないが、本研究を通じ、nSPの粒子表面を修飾することで組織障害を軽減できること、nSPがアレルゲン特異的な免疫反応を増強することを明らかとした。さらに、中国北京市に浮遊する都市大気粉塵の生体免疫系に及ぼす影響を精査した結果、抗原提示細胞の活性化が原因となって、アレルギー応答が増強されるという新知見を提示した。将来的に、本成果を世界に向けて発信することで、従来までの環境中微粒子の安全性研究に新たな知見を提供するだけでなく、NMのリスクコミュニケーション・リスク管理を実践・支援することで、環境中微粒子による健康被害の解決、および安全なNMの有効利用を促進に繋がるものと考えている。ひいては将来に渡ってNMと共存していくNMの社会受容の促進、Sustainable Nanotechnologyを実現することで、ヒトの健康を確保した豊かな社会の構築に貢献すること期待している。

本研究では、ナノマテリアルの中でも、カーボンブラックについて、流通している非晶質ナノシリカに焦点を絞り、世界的に未解明なナノマテリアルの動態（ADME）とハザード（T）に関する情報を集積し、またナノマテリアルの形状や大きさ、表面電荷などの物性とADMETの連関追求を先駆けて試みたものである。また近年、深刻化している越境問題でもある都市大気粉塵に関しても、環境微粒子の視点から免疫毒性の解明に挑戦し、下記のように多くの有益な新知見・結論を得ている。

1. 直径100 nmの表面未修飾ナノシリカは、経鼻曝露した際に体内に吸収され肝臓や脳をはじめとした組織に分布しうることが最初に見出した。
2. 直径100 nmの表面未修飾ナノシリカは、内因系血液凝固系の活性化を介して、消費性凝固障害を誘発する可能性を先駆けて明らかとした。
3. ナノシリカの表面物性を制御することによって、ナノシリカが誘発する組織障害や消費性血液凝固障害を軽減できることを認めた。
4. 直径100 nmの表面未修飾ナノシリカは、抗原特異的な体液性免疫応答を増強し、アレルギー発症に繋がる可能性を初めて明らかとした。
5. 都市大気粉塵は、NF- κ B経路依存的に炎症を惹起する可能性を明らかとした。
6. 都市大気粉塵は、樹状細胞の活性化に基づく抗原特異的な液性免疫応答を増強し、アレルギー発症に繋がる可能性を明らかとした。

以上は、地球規模でのSustainable Nanotechnologyを実現し、Nano-Safety DesignとNano-Safety Scienceにも貢献するものであり、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。