



Title	ナノ銀粒子の曝露実態解明を目指した評価系の構築
Author(s)	石坂, 拓也
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82181
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

論文内容の要旨

氏 名 (石坂 拓也)

論文題名 ナノ銀粒子の曝露実態解明を目指した評価系の構築

論文内容の要旨

近年のナノテクノロジーの発展に伴い、少なくとも一次元の大きさが100 nm以下に制御されたナノマテリアル (NM) の開発が進んでいる。NMは、従来サイズの素材と比較し、組織浸透性や界面反応性などが格段に向上することから、現在では幅広い分野に用いられている。そのため、我々が意図的・非意図的にNMへ曝露する機会は増加しており、その安全性確保は重要課題である。

安全性の指標であるリスクは、一般的に、ハザードと曝露量により規定されている。その一方で、NMは、サイズや表面電荷といった物性の違いが、生体内動態やハザードを変化させるため、従来の化学物質とは異なり、組成が同一であっても同一のリスクを有するとは限らない。さらに、NMの物性は、生体内における凝集やイオン化などによって動的に変化し続けているため、従来の動態モデルでは予測も困難である。そのため、NMの曝露実態の理解に向けては、生体中で「何が」「どこに」「どれだけ」「どのような状態で」存在しているのかといった「動態/存在量/存在様式」の解明が不可欠である。しかし、これらの指標に立脚した曝露実態の解析は遅々として進んでいない。この要因は、NMを解析する手法の乏しさにある。例えば、NMの定量的解析手法として汎用される誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) は、NMの構成元素に基づいた定量解析には優れているものの、その定量値が粒子とイオンのいずれに由来するものであるのかを区別することは困難である。一方で、存在様式の解析に長ける動的光散乱法や電子顕微鏡観察では、定量性に乏しいことが致命的な課題となっており、NMの存在量と存在様式を同時に解析できる新規手法の構築が待望されている。この点を解決すべく、著者は単一粒子 (sp-) ICP-MS法に着目した。sp-ICP-MS法は元素の定量に強みを有するICP-MS法を基盤に、一粒子単位での定量を可能とした分析法である。本法の活用により、個々の粒子サイズの評価を始め、イオンと粒子の定量的な測り分けが可能であるため、従来法の課題を解決しうる測定法として期待される。しかし、本手法は、環境水といった比較的単純な試料への適用がほとんどであり、夾雑物の多い生体試料への適用例は少ない。

そこで本研究では、生体内で存在様式を変化させることが知られている銀ナノ粒子 (nAg) をモデルに、(1) 生体試料中のnAgの存在様式を変化させることなく、定量に適う効率で解析可能な前処理方法を探索・最適化した。(2) また、確立した手法を活用し、血中曝露させたnAgの動態について、銀量のみならず、存在様式の観点からも解析した。(3) さらに、各組織におけるnAgの曝露実態をもとに、適切な*in vitro*モデル系を設定し、その有用性を評価し、以下の知見を得た。

- (1) sp-ICP-MS法は、ICP-MSを基盤とした分析法であるため、測定試料は液状の必要がある。そのため、著者は、夾雑物を多く含む生体試料分析に向けて、試料前処理法の最適化を試みた。その結果、いずれの生体試料においても、NaOHの処理により、試料中nAgの存在量と存在様式を損なうことなく、測定に適う試料の可溶化を達成した。
- (2) 確立した分析法の実用性を評価するため、血中に曝露させたnAgの組織分布について、銀の存在量のみならず、存在様式の観点からも解析した。その結果、肝臓や脾臓などの食食性細胞が多く存在する臓器では、分布した銀の大部分が粒子体であったのに対し、他の組織では、粒子から溶出したと考えられるAg⁺の分布が主体であった。更に、糞便と尿中に排泄される銀を解析したところ、大部分がAg⁺として排泄されることが示唆された。以上より、血中曝露したnAgは、肝臓や脾臓などの食食性の細胞が多く存在する臓器に粒子体として一度取り込まれ、その後粒子から徐放されたイオンが体循環へ移行し、排泄につながることを示唆された。したがって、生体内におけるnAgの存在様式変化が、その生体内運命を制御していることが示された。
- (3) 上記(2)の検討で、各組織中には、粒子と、粒子から溶出したイオンが共存していたことから、曝露実態に即した*in vitro*安全性研究の先駆けとして、nAg/Ag⁺複合曝露における細胞障害性を、nAg・Ag⁺単独曝露時と比較して評価した。その結果、複合曝露条件では、Ag⁺の単独曝露と比較して、細胞障害性が緩和されることが示唆され、イオンと粒子の複合曝露で誘発されるハザードは、それぞれ単独曝露で誘発されるハザードの単純な加算とはならない可能性が示された。

以上、本研究は、NMの生体内存在様式に即した安全性評価の重要性を示した。これは、従来研究では見落とされていた「存在様式」という評価軸を新たにNMの安全性研究に組み込むものであり、この評価軸の活用によって、NMの動態予測や未知のハザードの機序解明は大きく進展すると予測される。将来的には、「粒子とイオンの比率」や「粒子径」のみならず、「表面電荷」や「表面修飾」といったNMのリスクを規定する多種多様な物性を網羅的に評価することにより、NMの精確なリスク評価の推進と適切な法整備が可能となり、有用かつ安全なナノマテリアルの創成と活用に繋がると期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (石 坂 拓 也)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	堤 康央
	副 査	教授	上田幹子
	副 査	教授	高木達也

論文審査の結果の要旨

本研究では、ナノ銀粒子 (nAg) の曝露実態 (曝露後の体内挙動 ; ADME) の解明を目指し、存在量と存在様式 (大きさ、表面性状、形状、イオン化など) を同時に解析できる技術基盤の構築とその評価を実施したところ、以下の興味深く、重要な知見を得た。

1. NaOHによる試料の可溶化により、試料中nAgの存在様式変化を伴わず、sp-ICP-MS法による粒子径・粒子/イオン存在比の解析を可能とし、生体内nAgの存在量・存在様式を同時に評価可能な基盤を構築した。
2. 血中曝露されたnAgとAg⁺の動態を評価した結果、銀の存在様式は変化しながら、分布・排泄されていることを明らかにし、生体内におけるnAgとAg⁺の存在様式変化が、nAgとAg⁺の生体内運命を制御している可能性が示された。
3. 分布組織における銀の存在様式をもとに、nAgとAg⁺が共存する*in vitro*試験系において、細胞障害性試験を実施したところ、複合曝露条件においてはAg⁺由来のハザードが緩和される可能性を示し、単独曝露では予測困難な生体影響が存在しうることを示した。

従来までの化学物質リスクは、曝露量とハザードの積算により理解され、その規制は構造式で実施されてきた。一方で、ナノマテリアル (NM) は、そのサイズや表面電荷といった物性の違いが生体内動態やハザードを変化させるため、構造式が同一であっても同一のリスクを有するとは限らない。さらに、NMの物性は、生体内における凝集やイオン化などによって動的に変化し続けているため、従来の動態モデルでは予測も困難である。この点、本博士論文で追究してきたNMの生体内存在様式に即した安全性評価は、見落とされていた「存在様式」という評価軸を新たに加えるものであり、この評価軸の活用によって、NMの動態予測や未知のハザードの機序解明が大きく進み、安全で有用なNMの開発、ヒトの健康確保に大きく寄与できるものと期待される。

以上より、博士 (薬科学) の学位論文に値するものと認める。