



Title	胎盤形成期におけるナノマテリアルの安全性評価
Author(s)	坂橋, 優治
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92107
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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 (坂橋 優治)	
論文題名	胎盤形成期におけるナノマテリアルの安全性評価
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を100 nm以下に制御したナノマテリアル (NM) の開発・利用が拡大している。例えば銀ナノ粒子は、高い抗菌作用を発揮することからケア用品や食品梱包材等に利用されており、我々の日常生活に欠かせない材料となっている。一方で、NMはそのサイズの微小さ故に、従来サイズの素材 (数百μm以上) とは異なる動態を示すことで、予期せぬ生体応答を誘発することが懸念されている。このような背景のもと、現在のNMの利用状況を鑑みると、我々は年齢・性別を問わず、継続的かつ意図的・非意図的にNMを曝露する機会にあると言え、それは妊娠期の女性のような、外来物質に対して脆弱な個体も例外ではない。本観点より、妊娠期NM曝露の生体影響について世界的に研究が進められており、著者らの研究室においても、NMがその物性によってはマウス胎仔発育不全を誘導することなどを報告してきた。一方で、著者らのこれまでの研究も含め、妊娠期でのNMの安全性評価は、胎児への影響に主眼を置いた研究が中心となっている。この点、妊娠期間中の胎児は、胎児と母体をつなぐ胎盤から酸素や栄養素などの供給を受け、その生命を維持していることから、妊娠期でのNMの生体影響を理解するうえでは、胎児毒性の誘導や流産などの有害妊娠転帰の発生に加えて、胎盤をも評価対象とした安全科学研究の推進が必要である。しかし現状では、胎盤に着目したNMの安全性評価は、胎盤重量の増減や胎盤各層の病理学的な形態観察など、胎児毒性の解析に付随して実施される事後的な観察研究にとどまっており、NMが胎盤自体の形成過程や機能獲得に及ぼす影響については、未だ理解に乏しい。 胎盤が有する機能の多くは、胎盤形成段階において単核の栄養膜細胞が細胞融合により多核化 (合胞体化) して合胞体栄養膜細胞へと分化する過程で獲得することが知られ、胎盤は合胞体化の進行に伴って構造と機能の両面で成熟する。つまり妊娠の進行においては、まず合胞体化が正常に進行し妊娠維持の土台となる胎盤が形成されることが不可欠であり、これら合胞体化に異常が生じた場合には、胎盤の機能低下が誘導され最終的に有害妊娠転帰にまで影響がおよぶことは容易に想像できる。しかし現状では、NMのような外来物質曝露が胎盤形成ならびに合胞体化過程に及ぼす影響評価は緒についたばかりであり、さらなる安全性研究が希求されている。以上を踏まえ本研究では、妊娠維持の中心的な役割を担う器官である胎盤に着目し、なかでも胎盤の形成・成熟過程において必須の分化過程である胎盤細胞の合胞体化に焦点を当て、NMの安全性評価を実施し新規知見の獲得を試みた。 まず第一章において、粒子径10 nmの3種類のNM (銀ナノ粒子、金ナノ粒子、非晶質ナノシリカ粒子) を供し、NMが胎盤形成過程で生じる合胞体化の進行に及ぼす影響を評価した。Bewo細胞での<i>in vitro</i>合胞体化モデルを用いた解析の結果、粒子径10 nmの銀ナノ粒子 nAg10のみが、①forskolin誘導性の合胞体栄養膜細胞の形成を抑制すること、②合胞体化に伴い増大するホルモンであるhCG β について、mRNAの発現低下および培養上清中での濃度低下を誘導すること、③細胞融合の促進に働くSyncytin-1/2の発現低下を誘導することを明らかとし、nAg10がBeWo細胞の合胞体化進行を抑制することを明らかとした。本知見は、nAg10が胎盤形成期の合胞体化過程にハザードを呈することを示したはじめての結果であり、胎盤形成に着目したハザード情報収集の重要性を提示し、妊娠期における新たな観点からのNMの安全科学研究の実施につながる成果である。 将来的なNMの持続的な安全利用においては、有用性を損なわずにハザード発現を回避できるようなNMの開発が求められており、そのためにはハザード発現機序に立脚したNMの最適設計が肝心である。そこで本研究では、第二章として、前章で明らかとした” nAg10による合胞体化抑制” について、(1)妊娠マウスを用いた<i>in vivo</i>でのバリデーションと、(2)BeWo細胞モデルでの合胞体化抑制の機序解明、の二点について検討を実施した。胎盤形成期にあたる妊娠10.5日目のマウスにnAg10を投与した際のハザード解析を実施したところ、nAg10投与群において胎盤重量が低下すると共に、合胞体化促進分子であるSyncytin-A/BのmRNA発現低下が示された。したがって、nAg10がマウス胎盤の低形成を誘導しうことを示した。また、NMの最適設計に向けたハザード発現機序の解明を目的に、nAg10を曝露したBeWo細胞における遺伝子変動を網羅的に解析したところ、nAg10曝露群においてミトコンドリア関連の遺伝子が多く発現変動している	

ことを見出した。さらに、nAg10が合胞体化過程において①ミトコンドリアの分裂を抑制すること、②nAg10曝露によりBeWo細胞内でのATP濃度が低下することを明らかとした。これら知見から、nAg10がミトコンドリアの機能異常を誘導することで合胞体化を抑制するという新たな仮説を提示することができた。今後、nAg10曝露と合胞体化抑制、そして有害妊娠転帰との連関について追究していくことで、NMの安全性確保に資する知見の獲得が期待できる。

以上、本研究は、これまで胎児毒性評価に付随して実施されるのみであった、NM曝露に起因した胎盤への影響評価において、胎盤自体の形成過程や機能獲得を評価項目に据えた毒性評価、すなわち胎盤毒性評価を実施することの必要性を提示したものである。本研究で得られた知見を足掛かりとして、安全に利用可能なNMの創製を目指すSustainable Nanotechnology（安全かつ有効に持続利用可能なナノテクノロジー）の観点を踏まえて、胎盤形成過程におけるハザード情報を収集・蓄積していくことにより、将来的には胎盤形成期でのハザード発現を回避できるようなNMの最適設計が進むと期待している。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (坂 橋 優 治)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 堤 康央
	副 査	教授 齊藤 達哉
	副 査	教授 池田 賢二

論文審査の結果の要旨

本研究では、粒子径100nm以下のサイズであるナノマテリアルの持続的な安全利用に向けて、特に安全性情報の収集が希求されている「妊娠期でのナノマテリアル曝露」について、妊娠維持に必須の産科器官である胎盤に着目したハザード解析に取り組んだ。その結果、胎盤の形成過程ならびに機能獲得に対するナノマテリアルの影響として、妊娠期でのリスク評価の実現に叶う興味深い知見を得るなど、学位論文に相応しい重要知見を得た。

1. 銀ナノ粒子の曝露が、胎盤細胞の合胞体化過程を抑制し得ることを先駆けて明らかとした。
2. 銀ナノ粒子が、合胞体栄養膜細胞が担うホルモン産生を抑制し得ることを初めて示した。
3. 胎盤形成期での10nmサイズの銀ナノ粒子曝露が、胎盤の低形成を誘導し得ること、またその胎盤では合胞体の促進に係る分子の発現が低下していることを最初に認めた。
4. 銀ナノ粒子は、ミトコンドリアの分裂過程の抑制や、ミトコンドリアの機能異常を誘導する可能性を提示した。

生殖発生毒性試験ではこれまで、胎児（胎仔）が評価の主体となっていたものの、妊娠の成立・維持の観点から妊娠期でのリスク解析においては、胎盤自体の形成過程や機能獲得に重点をおいたハザード解析の必要性を提唱するものであり、本研究での知見は、ナノマテリアルを含めた生体異物（化学物質）の持続的かつ安全な利用に大きく貢献するものと言える。また本研究を足掛かりに、将来的には、安全に利用可能なNMの創製を目指す Sustainable Nanotechnology（安全かつ有効に持続利用可能なナノテクノロジー）の観点から、胎盤形成過程に対するハザード発現を回避できるようなナノマテリアルの開発が進むことを期待するものである。

以上より、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。