

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題：ナノマテリアルと流産

研究分担者 堤 康央 大阪大学薬学研究科毒性学分野教授

研究要旨：

本研究では、医薬品や化粧品、食品などに含有されており、既に曝露を避け得ないナノマテリアルの生殖発生、特に流産に及ぼす影響に関して情報収集することを目的に、最も利用頻度の高いナノマテリアルの1つである非晶質ナノシリカに焦点を絞った。その結果、ナノシリカは、従来までのサブミクロンサイズ以上の非晶質シリカとは異なり、母体の血液凝固系を活性化し、胎盤の血流異常を引き起こし得ること、その結果、流産を招き得ることを見出した。今後さらに、これらの成果をもとに、ナノマテリアルの安全性に資する情報収集を加速していく予定である。

A. 研究目的

近年、産業利用を目的として開発・製造されるナノマテリアル（NM）およびNM利用製品の実用化が多様化・加速化している。しかし昨今、NM特有の物性に起因した革新的機能が、二面性を呈してしまい、予期しにくい毒性（ナノ毒性；NanoTox）を発現してしまうことが世界的に危惧されている。しかしNMのリスク管理に必須となる安全性情報は、あまりにも乏しい。以上の観点から本研究では、ナノマテリアルの安全性確保・リスク管理に資する情報の集積を目的として、特に次世代影響（生殖発生毒性）に焦点を絞り、ナノマテリアルの母体・胎児への影響に関して、流産を指標に、非晶質ナノシリカ（直径100nm以下のサイズの非晶質ナノシリカ）の安全性評価を試みた。また当該分担研究においては、研究の重要性と緊急性を鑑み、厚生労働科学研究費補助金化学物質リスク研究事業との連携しつつ、研究の効率化を図った。

略語：ナノシリカ（直径100 nm以下の非晶質シリカ；nSP）、従来型シリカ（直径がサブミクロンサイズ以上の非晶質シリカ）

B. 研究方法

1) ナノシリカ・従来型シリカ：Micromod社より購入した表面未修飾の非晶質ナノシリカ（直径30、70、100；それぞれnSP30、nSP70、nSP100）とサブミクロンサイズ以上の従来型シリカ（それぞれnSP300、mSP1000）と、粒子表面をアミノ基あるいはカルボキシル基で修飾した直径70 nmのナノシリカ（それぞれnSP70-N、nSP70-C）を実験に供した。なお、赤色蛍光色素（RedF）で標識したナノシリカ・従来型シリカは、蛍光イメージング解析に用いた。

2) ナノシリカの生殖発生毒性評価：ナノシリカ・従来型シリカを0.8 mg/mouseで妊娠16日目のBALB/cマウスに尾静脈内投与した後、各組織を回収・固定し、透過型電子顕微鏡で観察した。また、同量を妊娠16、17日目に2日間連続で尾静脈内投与した後、胎児・胎盤を観察した。

C. 研究結果（次項の考察にまとめて記述する）

D. 考察

1) ナノシリカの物性評価

本研究では、一次粒子径が70 nm（nSP70）

の蛍光標識ナノシリカを使用し、対照として、300 nm (nSP300)、1000 nm (mSP1000) のサブミクロンサイズ以上の従来型シリカを供した。各ナノシリカ・従来型シリカの形状を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察したところ、いずれもカタログ値と同等の一次粒子径を持った表面が滑らかな球状の粒子であり、分散性に優れていた。

2) 生殖発生毒性評価

nSP70 の胎盤形成や胎仔発育に及ぼす影響を評価した。各粒子径のナノシリカ・従来型シリカを妊娠マウスに投与し、胎仔・胎盤を観察した。まず、nSP70 を投与したマウスから出生した胎仔の重量を測定したところ、nSP300 および mSP1000 投与群ではコントロール群と比較して大きな変化は認められなかった。その一方で、nSP30 および nSP70 投与群では、流産と共に、胎仔発育障害を誘発することが示された。また母体においては血液凝固系が活性化されており、胎盤での血流異常が認められ、これらが流産の要因の 1 つとなっているものと考えられた。

E. 結論 (今後の展望)

本研究では、化粧品などに含有されているナノマテリアルの安全性確保・リスク管理に資する情報の集積を目的として、特に流産への影響を追求した。その結果、以下の結論を得た。

- ① 体内に侵入した非晶質ナノシリカは、流産を惹起し得ること。
 - ② ナノシリカに曝露された母体においては、血液凝固系が活性化され、胎盤での血流異常が生じ得ること。
- など、重要な知見を得た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. 吉川友章, 吉岡靖雄, 堤 康央: ナノ粒子の細胞内取り込みと経皮浸透., ナノ材料のリスク評価と安全性対策, フロンティア出版, in press.

2) 国内学会発表: 当該研究事業の成果のみ記載

【シンポジウム・招待講演など】

1. 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保を目指して., 第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会, 岩手 (盛岡), 2009 年 7 月.
2. 堤 康央: ナノマテリアルの安全確保に向けた NanoTox 研究の最前線 (Overview)., 日本薬学会第 130 年会, 岡山, 2010 年 3 月 (予定) .

2) 国際学会発表

1. Yoshikawa T., Nabeshi H., Matsuyama K., Nakazato Y., Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y., Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : In vitro nanotoxicological study of silica nanoparticles using dermal cell lines., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
2. Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y., Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Evaluation of size-dependent acute toxicity and toxicokinetics of amorphous nanosilicas., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
3. Matsuyama K., Yoshikawa T., Nabeshi H., Nakazato Y., Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y.,

- Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Evaluation of size-dependent intracellular distribution and genotoxicity of amorphous nanosilicas in human keratinocytes., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
4. Nakazato Y., Yoshikawa T., Nabeshi H, Matsuyama K, Imazawa T., Yoshioka Y., Abe Y., Kawai Y., Mayumi T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Differential acute toxicity and toxicokinetics of amorphous nanosilicas: The role of surface physicochemical properties., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.
5. Yoshioka Y., Morishige T., Tanabe A., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S. : Nanosilicas with different sizes and surface charges induce different profiles of cytokine production on macrophages., The 46th Congress of the European Societies of Toxicology (EuroTox), Dresden (Germany), 13-16 September, 2009.

H. 知的所有権の取得状況

- 1) 特許取得
該当無し
- 2) 実用新案登録
該当無し
- 3) その他
該当無し

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
吉川友章, 吉岡靖雄, 堤 康央	非晶質ナノシリカの 経皮吸収性/生体内 動態と安全性との連 関追求	亘 理 文 夫 (北海道大 学大学院教 授)	ナノ材料のリ スク評価と安 全性対策	フロンテ ィア出版	東京	2010年	in press