

分担課題: ナノマテリアルと流産

研究分担者 堤 康央 大阪大学大学院薬学研究科毒性学分野 教授

研究要旨

種々ナノマテリアルを配合した数多くの化粧品・食品が製造・実用化(上市)されており、我々は既に意図的・非意図的な曝露を避け得ない。一方で、ナノマテリアル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、予期しにくい毒性を発現してしまうことが世界的に危惧されており、早急な安全性評価とその確保が求められている。中でも、胎児は生体防御機構が未発達であるため、早産・流産・催奇形性など、予期せぬ重篤な障害を引き起こしかねないこと、過去の事例を鑑みると、ナノマテリアルの安全性評価を行うに際し、胎盤・胎児への移行性や胎盤機能に及ぼす影響、さらには、早産・流産・催奇形性誘発の可能性について精査することは最重要課題の一つと言える。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や安全なナノマテリアルの開発に資するリスク情報の集積を目的として、化粧品・食品の成分として既に上市されている非晶質ナノシリカを用い、母体・胎仔への影響に関するハザード評価を推進している。昨年度の検討において、過剰量を静脈内投与するハザード解析であるものの、粒子径 70 nm の非晶質シリカ(nSP70)が妊娠マウスに対して、流産や胎仔発育障害を誘発する可能性を明らかとした。そこで本年度は、ハザード発現における閾値の追求を目的に、nSP70 投与による投与量依存的な流産・胎仔発育障害の誘発頻度を検討し、興味深い知見を得た。今後は、ナノマテリアルの動態解析やヒトにおける疫学調査など曝露実態の解明によるリスク解析と、これらに基づくリスク評価を推進し、安全かつ有用なナノマテリアルの創出やナノマテリアルの安全確保等に資することを旨とするものである。

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およびナノマテリアル利用製品の実用化が多様化・加速化している。しかし昨今、ナノマテリアル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。しかしナノマテリアル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・胎仔への影響に関するハザード評価を推進している。昨年度の検討において、過剰量を静脈内投与するハザード評価であるものの、粒子径 70 nm の非晶質シリカ(nSP70)が妊娠マウスに対し

て、流産や胎仔発育障害を誘発する可能性を明らかとした。そこで本年度は、ハザード発現における閾値の設定を目的に、nSP70 投与による投与量依存的な流産・胎仔発育障害の誘発頻度を検討した。

また当該分担研究においては、研究の重要性和緊急性を鑑み、厚生労働科学研究費補助金化学物質リスク研究事業と別角度・別視点で研究を推進しつつ、情報交換を図るなど、連携しつつ、研究の効率化を図った。

B. 研究方法

1) ナノシリカ: Micromod 社より購入した表面未修飾の非晶質ナノシリカ(直径 70 nm; nSP70)を実験に供した。

2) ナノシリカの生殖発生毒性評価: nSP70 を妊娠 BALB/c マウスに 0.8、0.4、0.2 mg/mouse で妊娠

16、17 日目に 2 日間連続で尾静脈内投与した。シリカ最終投与 24 時間後に、子宮重量、吸収胎仔数、胎仔重量を測定した。

C. 研究結果

次項の考察にまとめて記載する。

D. 考察

昨年度の検討において、粒子径 70 nm、300 nm、1000 nm の非晶質シリカ (nSP70、nSP300、mSP1000) を静脈内に過剰量投与するハザード評価であるものの、妊娠マウスに投与することで、nSP70 投与群においてコントロール群と比較して有意な吸収痕が認められ、流産が誘発されることを明らかとした。さらに、nSP70 を投与したマウスから出生した胎仔は、コントロール群と比較して有意な体重低下が認められ、胎仔発育障害を誘発することを示した。そこで本検討では、ハザード発現における閾値の設定を目的に、nSP70 を妊娠マウスに対して、妊娠 16、17 日目に 2 日間連続で 0.8、0.4、0.2 mg/mouse で投与し、子宮重量、吸収胎仔数、胎仔重量を評価した。その結果、0.4、0.2 mg/mouse 投与群においては、0.8 mg/mouse 投与群で認められた子宮重量・胎仔重量の減少および吸収胎仔数の増加が全く観察されなかった。以上の結果から、今後より詳細な検討が必須であるものの、nSP70 の流産・胎仔発育不全誘発などハザード発現には閾値が存在することが判明した。

E. 結論

本研究では、化粧品・食品などに含有されているナノマテリアルの安全性確保や将来的なリスク管理、あるいは安全なナノマテリアルの創出に資する情報の集積を目的として、特に流産・胎仔発育不全への影響を追求した。その結果、体内に侵入した非晶質ナノシリカは、流産・胎仔発育不全などのハザードを発現し得ることや、そのハザード発現には閾値が存在する可能性など、重要な知見を得た。今後は、ナノマテリアルの動態解析やヒトにおける疫学調査など曝露実態の解明によるリスク評価を推進することで、安全かつ有用なナノマテリアルの創製に資する基盤情報を収集する必要があることが示唆された。本研究成果は、ナノマテリアルの安全性評価、特に生殖発生毒性評価の重要性を先駆け明らかとし、我が国の当該分野をリードする研究に発展している。また近未来的に環境省のエコチルプロジ

ェクトとの連携を視野に入れるなど、安全で豊かなナノマテリアルとの共存社会を目指した研究を推進している。

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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関連追求., ナノ材料のリスク評価と安全性対策, フロンティア出版, 44-53, 2010.
- 2) Morishige T., Yoshioka Y., Inakura H., Tanabe A., Yao X., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S. Cytotoxicity of amorphous silica particles against macrophage-like THP-1 cells depends on particle-size and surface properties. *Pharmazie*. 65(8):596-9, 2010.
- 3) Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y. Size-dependent cytotoxic effects of amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells. *Pharmazie*. 65(3):199-201, 2010.
- 4) Higashisaka K., Yoshioka Y., Yamashita K., Morishita Y., Fujimura M., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Yoshikawa T., Itoh N., Tsutsumi Y. Acute phase proteins as biomarkers for predicting the exposure and toxicity of nanomaterials. *Biomaterials*. 32(1):3-9, 2010.
- 5) Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Mimura K., Morishita Y., Nozaki M., Yoshida T., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Monobe Y., Imazawa T., Aoshima H., Shishido K., Kawai Y., Mayumi T., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Yanagihara I., Saito S., Tsutsumi Y. : Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice., *Nature Nanotechnology*, in press.

2. 学会発表

- 1) 吉岡靖雄, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保を目指して. 第 80 回日本衛生学会学術総会, 仙台, 2010 年 5 月.
- 2) 堤 康央: 安全なナノマテリアルの開発支援に向けた NanoTox 研究への取組み. 平成 22 年度日本環境変異原学会公開シンポジウム, 東京, 2010 年 5 月.
- 3) 堤 康央: ナノテクノロジーを活用した医療、化粧品、食品の安全性と今後の課題. 第 42 回大阪大学中之島講座「いまを読み解く -医療・都市-」『先端医療とその課題』, 大阪, 2010 年 10 月.
- 4) 山下浩平, 吉岡靖雄, 東阪和馬, 森下裕貴, 吉田徳幸, 藤村真穂, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 今澤孝喜, 味村和哉, 柳原 格, 齋藤 滋, 河合裕一, 眞弓忠範, 伊藤徳夫, 吉川友章, 角田慎一, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保に向けて: 非晶質ナノシリカの生殖発生への影響に関する基礎評価. 第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会, 沖縄, 2010 年 6 月.
- 5) 山下浩平, 東阪和馬, 森下裕貴, 藤村真穂, 潘 慧燕, 小椋健正, 伊藤徳夫, 吉川友章, 堤 康央: ナノマテリアルの安全性確保に向けて~非晶質ナノシリカの次世代への影響評価~. 第 9 回次世代を担う若手ファーマ・フォーラム 2010, 京都, 2010 年 10 月.
- 6) 山下浩平, 吉岡靖雄, 伊藤徳夫, 堤 康央: 安全性確保を目指したナノマテリアルの生殖発生影響評価. 日本薬学会 第 131 年会, 静岡, 2011 年 3 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

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。

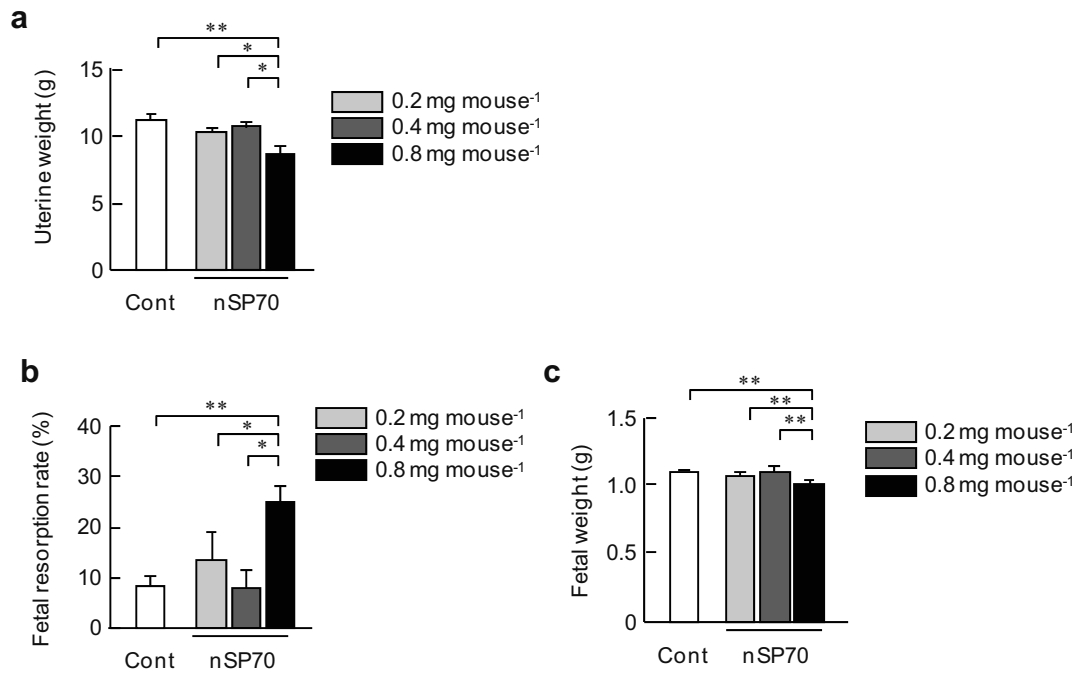


Figure 1. Dose-dependent toxicity of nSP70. Pregnant BALB/c mice were treated with 100 μ l of 0.2, 0.4, or 0.8 mg/mouse nSP70 or PBS (control) intravenously *via* tail vein on two consecutive days, at GD16 and GD17. At GD18, uterine weights (a), fetal resorption rates (b), and fetal weights (c) were evaluated. All data represent means \pm SEM. (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Mimura K., Morishita Y., Nozaki M., Yoshida T., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Monobe Y., Imazawa T., Aoshima H., Shishido K., Kawai Y., Mayumi T., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Yanagihara I., <u>Saito S.</u> , Tsutsumi Y.	Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice.	Nature Nanotechnolog y			in press
Morishige T., Yoshioka Y., Inakura H., Tanabe A., Yao X., Tsunoda S., <u>Tsutsumi Y.</u> , Mukai Y., Okada N., Nakagawa S.	Cytotoxicity of amorphous silica particles against macrophage-like THP-1 cells depends on particle-size and surface properties	Pharmazie	65(8)	596-9	2010
Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Tsunoda S., <u>Tsutsumi Y.</u>	Size-dependent cytotoxic effects of amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells	Pharmazie	65(3)	199-201	2010
Higashisaka K., Yoshioka Y., Yamashita K., Morishita Y., Fujimura M., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Yoshikawa T., Itoh N., <u>Tsutsumi Y.</u>	Acute phase proteins as biomarkers for predicting the exposure and toxicity of nanomaterials	Biomaterials	32(1)	3-9	2010
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	ナノ材料のリス ク評価と安全 性対策		44-53	2010