

平成 22 年度 日本環境変異原学会 公開シンポジウム

# ナノマテリアルの 健康影響について考える

## 講演要旨集

2010 年 5 月 29 日(土) 10:00~16:45

慶應義塾大学 芝共立キャンパス

東京都港区芝公園 1-5-30

<http://www.j-ems.org/symposium/2010symposium.html>



## シンポジウム開催にあたって

ナノマテリアルとは、1次元のサイズが 100 nm より小さい物質の総称です。酸化チタン、セラミックファイバー、カーボンブラック、カーボンナノチューブ、フラーレンなどがナノマテリアルとして良く知られており、これらは、大きな比表面積や機能的立体構造などの特性から化粧品、医薬品、各種商業用品などに使用されています。一方でこの優れた特性はヒトが曝露された場合の毒性となって現れることが懸念されています。優れた材料として広く用いられたアスベストが、その曝露によってヒトに中皮腫や肺がんを誘発し、大きな問題となったことは記憶に新しいことです。ナノマテリアルにはアスベストに類似した繊維状物質があり、アスベストと同様の毒性があることが懸念されています。これらのことより、日常生活で多用されているナノマテリアルのヒトへの健康影響や安全性に高い関心が集まっています。そこで、本シンポジウムでは、アスベストとナノマテリアルの *in vitro*, *in vivo* における遺伝毒性やその作用メカニズム、実験動物に対する発がん性、ヒトへの影響などについて、6名の研究者の講演を企画しました。

まず高橋謙先生に、東アジアを中心とした地球規模のアスベスト問題について俯瞰していただきます。豊國伸哉先生には、発がん研究者の立場からアスベストによる中皮腫誘発メカニズムの解明とその発がん予防について、ご自身の研究をお話していただきます。これらのお話は今後ナノマテリアルの健康影響を考える上で、またその遺伝毒性の研究を進める上で大いに参考になることと思われまます。

阿部修治先生には、ナノマテリアルが優れた材料としてどのような用途に使用されているかを解説していただきます。世話人の1人である戸塚は種々のナノマテリアルの遺伝毒性について *in vitro*, *in vivo* の研究で得られた結果をお話します。続いて2名の研究者に、現在行なっておられるご自身のナノマテリアルの毒性研究について解説していただきます。堤康央先生には非晶質ナノシリカに、中江大先生には多層カーボンナノチューブに焦点を当ててお話していただきます。

ナノマテリアルは今後の人類の生活利便性を高める上できわめて有用な素材であることは間違いないことと思われまます。このシンポジウムが、アスベスト問題を教訓として皆がナノマテリアルについて理解を深め、その健康影響研究をよりいっそう進める契機となることを世話人は願っています。

世話人:

戸塚ゆ加里(国立がん研究センター研究所 がん予防基礎研究プロジェクト)

八木孝司(大阪府立大学 先端科学イノベーションセンター)

## 地球規模のアスベスト問題を俯瞰して

高橋 謙

産業医科大学 環境疫学研究室

わが国では平成 17(2005)年のいわゆるクボタ・ショックを契機に、悪性中皮腫(以下、中皮腫)等の石綿関連疾患(以下、石綿病)が社会問題化した。国民の健康不安とともに石綿専門外来が賑わい、石綿飛散のおそれのある建物の調査が行われたりしている。中皮腫による死者数は年間千人を超え、比較可能な 1995 年から 10 年間で倍増、2035 年頃までさらに数倍に増えると予測されている。労災補償の範疇でも、中皮腫と石綿起因性肺がんは群を抜く最多の職業がんとなった。クボタ周辺住民に関する疫学調査では、居住地が旧工場に近いほど中皮腫のリスクが極端に高まることが明らかにされた。職業ばく露がないため労災補償ではなく新たに制定された石綿救済法の対象となっている。すなわち、中皮腫は「職業がん」から「環境がん」の側面を合わせ持つようになった。肺がんやその他のがんの中にも石綿ばく露が関与するものが含まれていることを示唆する疫学調査結果も出始めている。わが国は 2006 年に石綿の全面使用禁止を達成し、国内の関心事は、増加する中皮腫等石綿がんの早期発見や有効な治療法の開発、公正な補償、建物等の修理解体に伴うばく露防止策に移った。

石綿問題では見逃せないもう一つ重要な視点がある。それは世界で「時相」のズレこそあれ、過去に石綿使用に依存した国々では例外なく石綿病が流行していることである。それは石綿病のドミノ現象と言ってもいいほどに、まずは先進国グループ内で次々と流行が表面化し、今、途上国へのシフトが始まりつつある。WHO、ILO、UNEP 等の国際機関も国際保健上の重要課題に位置づけて取り組みを強化している。そうした中、わが国は石綿疾患予防に対する国際協力とリーダーシップの発揮が求められている。わが国は先進国の中では石綿使用が最近まで遷延し、石綿がんの流行が遅れて始まったという特徴を有している。特にアジア途上国は石綿の使用実態において約 10-20 年遅れで日本を追随しており、石綿病の実態においても遠からず日本と似た歩みを見せる可能性が高い。わが国は、そうした途上国に対して関連技術や経験を積極的に伝える国際的責務を負っている。

MEMO



## アスベスト誘発中皮腫の発がん機構の解明とその予防への応用

豊國 伸哉

名古屋大学大学院医学系研究科生体反応病理学

2005年6月の兵庫県尼崎市周辺における「工場周辺の住民の石綿死」に関する報道はまだみなさんの記憶に新しいことと思う。アスベストは天然の繊維状の石であるが、エジプト時代にすでに使用されていたことがわかっており、日本では江戸時代に平賀源内が火浣布として報告している。その耐熱性や耐腐蝕性より奇跡の鉱物と呼ばれ、掘り出せばよいという経済性もあいまって、第2次世界大戦以後盛んに使用された。ところが、70年代より悪性中皮腫という極めて特殊ながんととの関係が強く疑われるようになり、1987年にはUICCからヒトにおける確定的発がん物質と認定を受けた。現在、経済的な発展が期待されるナノマテリアルの中にはアスベストと極めて類似の性質を有するものがあるため、「過去から学ぶ」ことも極めて重要だと考える。アスベストによる中皮腫発がんは30-40年ともいわれる極めて長い潜伏期間を有するのが特徴である。私たちは、すでにアスベストに曝露された方々の中皮腫発がん予防を目指して、実験動物を使用してアスベストによる中皮腫発がん機構解明に取り組んでいる。アスベストの物理化学的性質を検討する一方、培養細胞やラットにアスベストを投与し、生物学的性質を詳細に評価した。ヒドロキシラジカル発生の触媒能は鉄含有アスベストで高く、その能力は種々のキレート剤の存在で修飾を受けた。中皮細胞がアスベスト繊維を取り込むのを観察した。各アスベストを臓器可溶化物と反応させると、アクチン、ヒストン、ヘモグロビンなど特定の蛋白質に親和性が高いことを見出した。ラット腹腔内に各アスベスト繊維 10mg を投与すると、ほぼ全例で中皮腫発生を認めた。鉄のフリーラジカル発生の触媒性を増加させるニトリロ三酢酸の投与は発癌に要する期間を有意に短縮した。アレイ CGH 解析を行いゲノムDNAの変化を探索すると、ヒト中皮腫や酸化ストレス誘発動物モデルと同様の  $p16^{INK4A}$  がん抑制遺伝子のホモ欠損を90%以上に認め、今後予防評価や早期診断指標として使用できることが確認された。コロイド鉄の腹腔内投与も中皮腫を発生した。この場合は肉腫型でのみ  $p16^{INK4A}$  のホモ欠損を認めた。種々の証拠より、アスベスト発がんには局所の鉄過剰が重要な役割を果たしていることが示唆された。除鉄が中皮腫発がん

の予防標的として期待されると同時に、このような視点から新規のナノマテリアルを評価していくことの必要性が考えられる。

**参考文献:** 労働調査会 アスベスト関連疾患日常診療ガイド 平成 18 年

Toyokuni S. Mechanisms of asbestos-induced carcinogenesis. Nagoya J Med Sci 71: 1-10, 2009.

Toyokuni S. Role of iron in carcinogenesis. Cancer Sci 100: 9-16, 2009.

MEMO



## ナノマテリアルとは何か ～多様な材料の多彩な用途

阿部 修治

産業技術総合研究所 ナノシステム研究部門

ナノテクノロジーの普及とともにナノ材料の産業利用が広がるなかで、その健康や環境に対する影響についての懸念も広がり、リスク評価の必要性が認識されるようになった。ただし、一口にナノ材料と言っても、その意味するところはきわめて広く、受け取り方も人によってさまざまである。これは、ナノテクノロジーが広範な学問分野・技術分野にまたがり、それらの融合によって発展していることからして当然であろう。

このような広がりをもつナノテクノロジーであるので、まずは用語の使い方を共通化する必要がある、ISO のナノテクノロジー技術委員会(TC229)において世界各国からの専門家による議論が行われてきた。そこでのナノ材料に関係する主要な用語の定義やナノ材料の分類、命名法などに関する議論を紹介することから話を始めたい。

ナノ材料の種類は非常に多いが、代表的なものとしては、例えばOECDが有害性試験の対象として選んだ 14 物質(フラーレン、単層カーボンナノチューブ、多層カーボンナノチューブ、銀ナノ粒子、鉄ナノ粒子、カーボンブラック、二酸化チタン、酸化アルミニウム、酸化セリウム、酸化亜鉛、二酸化ケイ素、ポリスチレン、 dendrimer、ナノクレイ)などがある。国内ではこのうち6物質について、生産量が一定程度以上であるか今後生産量が増加する可能性の高い物質として、経済産業省が製造事業者に対する情報収集を行っている。これらの材料を例にとって、従来からの用途と、今後利用が見込まれる新しい用途を紹介する。

ナノ材料に関して多種多様な利用方法が考えられているのは、化学物質としての特性に加えて、ナノ物体の構造、サイズ、形状、集合状態などを制御することで、力学的、電氣的、磁氣的、光学的などの諸特性が任意に変えられるからである。たとえば半導体量子ドットは量子閉じ込め効果を利用し、そのサイズを制御することによってさまざまな発光色のものが作られる。単層カーボンナノチューブはらせん構造によって金属的にもなり半導体的にもなるし、半導体的な場合でも光学的性質がいろいろ制御できる。さらに、ナノ物体は、表面を修飾したり被覆したりすることで新しい性質を付与することができるし、さまざまな複合体を作ることのできるのもので、その用途はますます広がってゆくことだろう。

MEMO



## ナノマテリアルの *in vitro* および *in vivo* 遺伝毒性

戸塚ゆ加里

独立行政法人 国立がん研究センター研究所

近年、化粧品や医薬品、各種商業用品等にナノマテリアルが多用され、ナノマテリアルのヒトへの健康影響や安全性に高い関心が集まっている。そこで私達は、化粧品や商業用品等に頻繁に用いられているナノマテリアルである、カーボンブラック(CB)、フラーレン(C<sub>60</sub>)及びカオリンの遺伝毒性について *in vitro* 及び *in vivo* 実験系を用いて検討した。肺癌由来の培養細胞である A549 を用いて *in vitro* 小核試験を行った結果、CB、カオリン、C<sub>60</sub> 処理により容量依存的に小核の発現頻度が増加することがわかった。また、ICR マウスにこれら3種の微粒子を 0.2 mg/body の用量で単回気管内投与し、肺組織における DNA 損傷性をコメットアッセイを用いて検討したところ、CB、カオリン及び C<sub>60</sub> は DNA 損傷性を示すことがわかった。さらに、*gpt delta* マウスに被検物質を気管内投与し、最終投与の2ヶ月後の肺における突然変異の解析を行った。その結果、C<sub>60</sub>、カオリンを 0.2 mg/body の用量で気管内に単回または反復投与すると点突然変異(*gpt*)及び欠失変異(Spi<sup>-</sup>)頻度が有意に上昇することがわかった。*gpt* 変異スペクトラムを解析したところ、これらのナノマテリアル投与群において G:C→C:G がコントロール群と比べて増加していた。このことから、フラーレンおよびカオリンによる変異原性の誘発には酸化的損傷が関与している事が示唆された。事実、C<sub>60</sub>及びカオリンを投与した肺で 8-OHdG のレベルが溶媒対症群に比べて顕著に上昇することを確認した。

さらに、各種医薬品、商業用品等への応用が有望とされているナノマテリアルである多層カーボンナノチューブ(MWCNT)とマグネタイトの遺伝毒性についても、同様の方法で調べたところ、いずれのナノマテリアルも *in vitro* および *in vivo* の遺伝毒性試験で明らかに陽性を示した。MWCNT を投与した *gpt delta* マウスの肺に、被検物質を貪食したマクロファージおよび炎症性細胞浸潤が散見され、グラニューローマおよび線維化が発生していた。また、MWCNT を投与したマウスのリンパ節にも被検物質が観察された。一方、マグネタイトを投与した場合は、被検物質を貪食したマクロファージおよびリンパ球浸潤は観察されたが、グラ

ニューロームおよび線維化の発生はほとんど認められなかった。現在、これらナノマテリアルを *gpt delta* マウスに単回および反復気管内投与を行い、肺における突然変異誘発頻度について解析を行っている。

## MEMO



## 安全なナノマテリアル開発支援に向けた NanoTox 研究への取組

堤 康央

大阪大学薬学研究科・独立行政法人医薬基盤研究所

我が国のナノテクノロジー研究は、開発・実用化の点で世界をリードしており、従来までのサブミクロンサイズ以上の従来型素材と比較して、圧倒的に有用な機能を有するナノマテリアルが続々と産み出されている。例えば、医薬品・食品・化粧品領域では、非晶質ナノシリカやナノ酸化チタン、フラーレン、白金ナノコロイド、ナノシルバーなどが既に、必須素材として上市されている。一方で、ナノマテリアルの物性(サイズ、表面修飾、形状など)に起因した革新的機能が逆に、二面性を呈してしまい、従来型素材では観察されない、特徴的な毒性(NanoTox)を発現してしまうことが世界的に懸念され始めている。そのため、経済協力開発機構(OECD)と連携しつつ、欧米各国などはナノマテリアルの開発やその利用を規制しようとする動きを加速化している。そのため、知財技術立国を目指す我が国としては、ナノマテリアルの開発・実用化を闇雲に規制するのではなく、ナノテクノロジーの恩恵を社会が最大限に享受できるよう、ナノ産業の育成や発展を強力に支援しつつ、一方で責任ある先進国、そして健康立国として、ナノマテリアルの安全性を高度に保障し、ヒト健康環境を確保していかねばならない。本観点から我々は、種々のナノマテリアルの物性と細胞内・体内動態(曝露実態)、健康影響(安全性)との連関を追求し、科学的根拠に基づいたナノマテリアルの安全性情報の集積と発信、および安全なナノマテリアルの開発支援を推進しようとしている。本発表では、その一例として、非晶質ナノシリカに焦点を絞り、我々の取組を紹介させて頂く。

\*本研究は、平成19～21年度厚労科研化学物質リスク研究事業のサポートにより実施されたものである。また本研究は、大阪大学大学院薬学研究科毒性学分野、独立行政法人医薬基盤研究所創薬プロテオミクスプロジェクトのスタッフ、学生の皆さん、多くの先生方との共同研究の結果です。この場をお借りして御礼を申し上げます。

MEMO



## 多層カーボンナノチューブの発がんハザードを中心とした

### ナノマテリアルの安全性評価

中江 大

東京都健康安全研究センター環境保健部

ナノマテリアルは、高比表面積に基づく高反応性・極微サイズ・広範修飾可能性などの特徴から、多方面への応用により劇的な効果を顕すものとして開発が進められているが、それらの健全な社会受容を図る上で、適切なリスク評価・管理・広報を行うことが不可欠である。ナノマテリアルは、ナノサイズ形態、凝集によるオーバーナノサイズ形態、それら両者の併存状態、両者の間で再分散・再凝集が繰り返される状態など、多様な存在様式を取り、そのことが安全性評価において解決すべき主要な課題である。ナノマテリアルが周囲に及ぼす作用の性質や強度は存在様式の違いによって異なるので、ナノマテリアルの安全性評価においては従来の評価手法が必ずしも有効であると限らないという指摘がある。しかしながら、ナノマテリアルの環境中、特に実際のヒト曝露の際に想定される存在様式がなお不明確である現在、当面の対応としては、それらが明らかとなるまで手をこまねいて待っているのではなく、まず入手できる素材・製品としてあるがままの状態での評価を進め、情報を集積すべきであろう。

カーボンナノチューブ(CNT)は、優れた軽さ・強度・弾性・導電性の点から、エレクトロニクス分野や建築・製造分野における応用が有望視され、既に一部のスポーツ製品や自転車などの材料として利用されはじめているが、細長硬線維状であるという構造的特徴がアスベストに類似していることから、その健康影響についても早くから懸念されてきた。CNTの健康影響に関する疫学的情報は、その社会的普及がなお進んでいないことから、ほとんど得られていない。一方、CNTの *in vivo* 毒性については、最近まで比較的短期間の動物実験における炎症誘発作用が報告されるのみであったが、2008年に国立医薬品食品衛生研究所の菅野博士のグループが、我々との共同研究下に、*p53* 遺伝子ヘテロノックアウトマウスに多層(MW)CNTを単回腹腔内投与することにより、高率に腹膜中皮腫が誘発されることを報告した(Takagi A, *et al.*, J Toxicol Sci 33, 105-116, 2008)。さらに、我々は、独自に、菅野グループが用いたものと同じMWCNTを、遺伝子を改変していない通常ラットの陰嚢腔内に単回投

与し、腹膜中皮の全般的な肥大を背景に中皮過形成および中皮腫が高率に発生することを見出した(Sakamoto Y, *et al.*, J Toxicol Sci 34, 65-76, 2009)。すなわち、MWCNT は、少なくとも一定の条件下で、アスベストに類似した発がんハザードを持つことが判明したわけである。MWCNT の中皮腫誘発作用は、遺伝子改変動物に特有でなく、また、種を超えて発現するものなので、ヒトに外挿できる可能性があり、したがって、ヒトの健康に対する現実的リスクの有無を評価する必要がある。リスクの有無を明らかとするためには、用量相関性と背景機構の解析・ヒトに類似した曝露条件下での検討・曝露後体内動態の検索・ヒト環境における曝露実態の調査など、既に確立された手法による評価が必要で、我々を含む多くのグループがこれらのことに取り組んでおり、新たな知見も得られつつある。その結果、MWCNT の毒性・発がん性の発現には、長さ・太さ・断端形状・表面コーティングの有無・金属含有量などの特性が大きく影響することが明らかとなり、MWCNT を一括した普遍的なリスク評価が困難である可能性が示されている。

東京都健康安全研究センターにおいては、2009 年度より「カーボンナノチューブ等ナノ物質の健康影響に関する調査研究」と題する事業を展開している。本事業は、(1) 化粧品・食品・医療材料等の製品に含まれるナノマテリアルの存在状態や含有量についての定量分析法の確立と実態調査、(2) 大気・室内領域・水等の環境中に放出されるナノマテリアルの定量分析法の確立と実態調査、(3) ナノマテリアルの生体内分布および生体影響の特定・確認を目標として実施し、一部で予備的な結果も得つつある。我々は、将来的にナノマテリアルの安全性評価に貢献するため、事業を遂行しているところである。

ナノマテリアルは、人々の生活利便性を高める上できわめて有望な素材であり、それ故に、今後急速に普及することが予想される。しかし、我々はかつてアスベストを理想的な素材として認識し、特に日本においては欧米で危険性が指摘された後でさえ多用し続けたのである。そのことが今どういう状況を引き起こし、もたらされた損失がいかばかりであるかを考えれば、できるだけ早い段階でナノマテリアルの安全性を正確に評価し、適切に管理・広報することがいかに重要であるかは、本来、言うまでもないことである。ナノマテリアルの円滑な社会的受容を図り、将来の危険を回避するためには、すべてのステークホルダーが、近視眼的な利害に左右されず連携し、冷静かつ客観的な態度で、科学的知見に裏打ちされた対応を取ることが死活的に重要である。

MEMO



MEMO



平成 22 年度 日本環境変異原学会 公開シンポジウム  
講演要旨集

平成 22 年 5 月 29 日発行

日本環境変異原学会

〒170-0003 東京都豊島区駒込 1-43-9-401 口腔保健協会内  
Phone 03-3947-8891 FAX 03-3947-8391  
<http://www.j-ems.org/>

シンポジウム世話人：戸塚ゆ加里、八木孝司



平成 22 年度 日本環境変異原学会 公開シンポジウム

## 『ナノマテリアルの健康影響について考える』

### プログラム

---

10:00～10:05 開会の辞 山添 康（日本環境変異原学会会長）

10:05～10:15 はじめに 戸塚 ゆ加里（世話人）

座長:青木 康展(国立環境研究所)

10:15～11:00 高橋 謙(産業医科大学)

「地球規模のアスベスト問題を俯瞰して」

11:00～11:45 豊國 伸哉（名古屋大学）

「アスベスト誘発中皮腫の発がん機構の解明とその予防への応用」

座長:八木 孝司(大阪府立大学 先端科学イノベーションセンター)

13:00～13:45 阿部 修治（産業技術総合研究所）

「ナノマテリアルとは何かー多様な材料の多彩な用途」

13:45～14:30 戸塚 ゆ加里（国立がん研究センター研究所）

「ナノマテリアルの *in vitro* および *in vivo* 遺伝毒性」

座長:戸塚ゆ加里(国立がん研究センター研究所)

14:45～15:30 堤 康央（大阪大学薬学研究科・医薬基盤研究所）

「安全なナノマテリアル開発支援に向けた NanoTox 研究への取組」

15:30～16:15 中江 大（東京都健康安全研究センター）

「多層カーボンナノチューブの発がんハザードを中心としたナノマテリアルの安全性評価」

16:15～16:30 総合討論

16:30～16:45 おわりに 八木 孝司(世話人)

---

主催:日本環境変異原学会 <http://www.j-ems.org/>

協賛:慶應義塾大学薬学部、日本薬学会

世話人: 戸塚ゆ加里(国立がん研究センター研究所)

八木孝司(大阪府立大学 先端科学イノベーションセンター)

※このシンポジウムの参加者(希望する薬剤師に限る)には、慶應義塾大学薬学部 認定薬剤師研修制度による生涯研修認定単位(3 単位)が付与されます。