



# 環境儀

NO. 46

OCTOBER 2012

国立環境研究所の研究情報誌

## ナノ粒子・ ナノマテリアルの 生体への影響

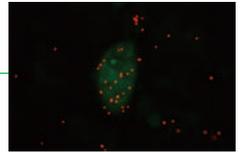
分子サイズにまで小さくなった  
超微小粒子と生体との反応

独立行政法人

国立環境研究所

<http://www.nies.go.jp/>





ナノマテリアルは  
水に溶けにくい粒子状物質です。  
非常に小さな粒子の生体反応を  
組織・細胞・分子レベルで解明し  
安全性評価につなげる必要があります。



ナノマテリアルとは、1～100 ナノメートル (nm) の粒子状の物質や構造体をもつ物質のことで、フラーレンやカーボンナノチューブなどの新しい炭素系素材をはじめ、化粧品や日用品に使われている銀ナノ粒子や酸化チタンナノ粒子など、様々な物質が含まれます。

これまで、様々な粒子状物質の生体影響に関するデータが報告されてきましたが、ナノサイズまで小さくなった粒子は、きわめて分子に近い生体内挙動を示すので、これまでの粒子とは異なる影響を及ぼす可能性があります。そのため、ナノ粒子・ナノマテリアルのヒトの健康への影響を中心とした安全性評価は喫緊の課題になっています。最近では、共通のナノマテリアル安全性試験方法を策定するための国際的会議もさかんに行われています。

ナノサイズの粒子は、呼吸器からだけでなく皮膚や消化管からも吸収されやすい性質があります。ナノサイズの粒子は非常に小さく取り扱うのが難しいので、生体影響に関する研究も遅れています。実験動物を用いた生体影響評価や、様々な細胞を用いた毒性発現機構を調べる実験方法を改良しながら、ナノ粒子やナノマテリアルの安全性評価の研究を続けています。

C O N T E N T S



ナノ粒子・ナノマテリアルの  
生体への影響

分子サイズにまで小さくなった  
超微小粒子と生体との反応

- Interview  
研究者に聞く!! ..... p4～9
- Summary  
“Small”であることに由来する  
生体影響への挑戦 ..... p10～11
- 研究をめぐって  
ナノトキシコロジー  
—毒性学における新たな課題— ..... p12～13
- 「国立環境研究所における  
ナノ粒子・ナノマテリアルに関する  
研究」のあゆみ ..... p14

●表紙写真：ナノ粒子の小動物用鼻部曝露装置

# Interview 研究者に聞く!!

ナノマテリアルは、新たな機能が期待される工業材料ですが、人の健康や環境に対する影響については、まだ明らかではありません。ナノマテリアルの生物体内での挙動やその毒性評価を研究している環境リスク研究センター・健康リスク研究室の平野靖史郎室長に、研究の成果やナノマテリアルをめぐる研究の動向をうかがいました。



平野靖史郎 / 環境リスク研究センター・健康リスク研究室室長

## ナノマテリアルの安全性を評価する

### 分子・原子レベルの サイズになった工業材料

**Q:** 近年、「ナノマテリアル」ということばをよく耳にします。ナノマテリアルとは何ですか。

**平野:** 「ナノ」サイズとは、「1mmの100万分の1の長さ」を表すことばです。これに、「材料」を意味する「マテリアル」を結合させた「ナノマテリアル」は、「ナノテクノロジーにより生み出された材料」という意味です。すなわち、大きさが1~100nmの小さな構造をもつ物質です。球形をした粒子もあれば繊維状やシート状のものなど、形状もさまざまですが、それらをすべてナノマテリアルと呼んでいます。

**Q:** とても肉眼では見えない大きさですね。

**平野:** 1nmより小さな粒子は、もう分子や原子に近いサイズですからね。100nmより大きい粒子は、従来の粒子の扱いになります。ナノサイズの粒子は、通常の光学顕微鏡では見ることができないくらい小さいので、観察したり、測定したりするのはとても難しいことなのです。

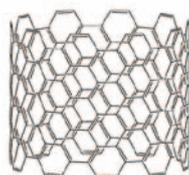
**Q:** ナノマテリアルには、どんなものがあるのですか。

**平野:** ナノテクを利用してつくられた工業用材料がナノマテリアルですが、実際ナノマテリアルはずいぶん私たちの身近なところで使われているんですよ。大きく分けると、フラーレンやカーボンナノチューブのような炭素系、銀ナノ粒子や二酸化チタンなどの金属系、 dendrimerなどの有機ポリマー、それに二酸化ケイ素などのセラミック系に分けられます(図1)。これらは、触媒や液晶などに使われますが、最近では医療や

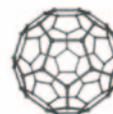
### ■ 図1 ナノマテリアルの種類

一口にナノマテリアルといっても、化学物質としては炭素、金属、セラミックス、有機高分子やこれらを複合的に含むものもあります。また、ナノマテリアルの種類がさらに増えていることから、総合的にナノオブジェクトとも呼ばれています。

ナノマテリアルはさまざまな工業用製品に使われていますが、日焼け止めクリームに用いられている二酸化チタンや消臭剤として使われている銀ナノ粒子などは、日用品として使われており、馴染みのあるナノマテリアルです。



単層カーボンナノチューブ



フラーレン

・炭素系  
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

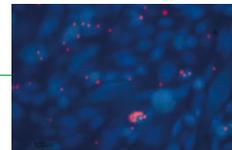
・金属系  
銀・金・鉄ナノ粒子、酸化セリウム、酸化亜鉛、酸化アルミニウム、二酸化チタン

・セラミックス系  
二酸化ケイ素、ナノクレイ

・有機高分子系・その他  
 dendrimer、量子ドット



健康リスク研究室のメンバー



も白くならないし、さらさらしています。こんな身近な物質が、生体に影響するのですか。

**平野**：10年ぐらい前から、ナノ粒子は、サイズが小さいので、細胞や組織の中に入りやすいのではないかとされていました。自動車の排ガス中のナノ粒子が、これまで研究されてきた比較的大きな粒子とは異なる機序で健康に影響する可能性があるとしてヨーロッパの研究グループを中心に、指摘されたことをきっかけに、ナノ粒子の安全性が注目されるようになりました。

また、2000年当時に米国のクリントン大統領がナノテクの推進を掲げてから様々なナノマテリアルが市場に出回るようになると、ナノマテリアルの健康への影響や環境への影響が危惧されはじめ、世界中でナノサイズの構造をもつ物質、すなわちナノマテリアルの安全性評価の研究が始まりました。

**Q**：先生がナノマテリアルの安全性についての研究を始めたきっかけは？

**平野**：かつて、アスベストの研究をしていたことが根底にあるからです。現在は、アスベストの有害性が明らかになっていますが、以前は、アスベストは夢の繊維といわれ産業を支える重要な素材でした。

私は30年ほど前に、国立環境研究所(当時は公害研究所)に入所しましたが、その時の上司が、環境中にこれから増えていくアスベストの健康影響にすでに注目していました。そして、新人の私に研究するように勧めてくれたのです。その時のアスベストの毒性に関する研究経験があったおかげで、取り扱うのが難しいナノマテリアルにも、比較的容易に取り組むことができました。

化粧品への応用も期待されています。

**Q**：医療や化粧品にも使われているのですか。

**平野**：医療用としては、ドラッグデリバリーシステムといって、体内の目的の場所に薬を効率よく運ぶためのカプセル材料などに使われます。酸化チタンや酸化亜鉛は日焼け止めクリームやファンデーションに、銀粒子は消臭スプレーに使われています。

これら化粧品に使うようになったのはずいぶん前からですが、最近の日焼け止めクリームは白くならないでしょう。物質の粒子がナノサイズにまで小さくなったので、光の反射が抑えられているためです。

## 注目されるナノマテリアルの安全性

**Q**：そういえば、最近の日焼け止めクリームは塗って

## アスベストや環境ナノ粒子とナノマテリアル

アスベストは天然に存在する繊維状の鉱物繊維で、肺に沈着した場合に肺がんや中皮腫を起こすことが知られています。中皮腫は肺や胸腔内を覆っている漿膜に起こるがんです。アスベストになぜこのような生体影響があるのでしょうか。まず、アスベストは水に溶解しにくく肺胞内に長くとどまることが理由としてあげられます。また、アスベストの繊維径が数十nmと、極めて細いために肺組織を通過して肺の外側、すなわち胸腔内にまで達することが、中皮腫を起こす原因だと考えられます。ナノマテリアルの代表的物質であるカーボンナノチューブは、形状が極めてアスベストに近く、また炭素素材ですので生体内で溶解することはありません。そのため、アスベストと同じような健康影響を及ぼすのではないかと危惧されています。アスベストの生体影響については多くの研究報告があり、ナノマテリアルの毒性研究を進める上で役立っています。

一方、大気中にも様々な粒子が存在しています。特に、交通量の多い道路の交差点には20~30nmの粒径をもつ環境ナノ粒子が多く存在することが知られています。ナノマテリアルが工業用製品として意図的に生産されることから、環境ナノ粒子のことを「非意図的なナノ粒子」と呼ぶこともあります。2009年9月にはPM2.5(2.5 $\mu\text{m}$ 以下の大気中微小粒子)の環境基準が設定されましたが、2.5 $\mu\text{m}$ 以下の粒子の中でも環境ナノ粒子のように超微小粒子の生体影響については不明の点が多く、吸入曝露実験を中心として環境ナノ粒子の生体影響に関する研究が進められてきました。

アスベスト、環境ナノ粒子、ナノマテリアルの生体影響に関する研究を進める上で共通していることは、これらの物質は不溶性あるいは難溶性の粒子状物質であり、粒子の表面が細胞や生体物質との反応の場になっていることです。これが、体内に吸収されて毒性が現れる通常の化学物質の場合と異なる点で、粒子状物質の研究で注意しておかなければいけない重要なポイントです。粒子状物質の生体影響の研究をした経験をもとに、はじめて精度の高いナノマテリアルの毒性研究ができると考えています。

**Q:** アスベストもナノマテリアルなのですか。

**平野:** 形状からは、アスベストのことを天然に存在するナノマテリアルと呼んでもよいと思います。アスベストは髪の毛よりも非常に細い繊維状の粒子で、吸入することにより肺に沈着し、中皮腫や肺がんを起こします(5ページのコラム)。

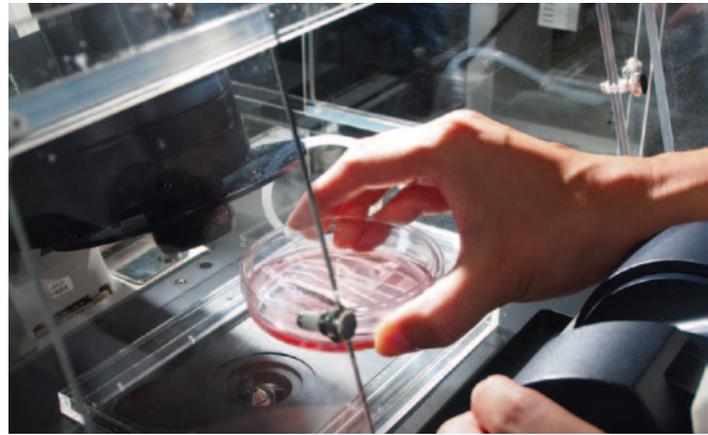
**Q:** 同じことがナノマテリアルでも起こるのですか。

**平野:** まだ、はっきりしていませんが、繊維状のナノマテリアルがアスベストと同じような健康影響を及ぼす可能性はあります。ですから、生体への影響の研究をさらに推し進めなければなりません。これまでの研究から、数十nmのナノ粒子が肺胞領域に沈着しやすいことがわかりましたが、繊維状粒子に関してはまだ研究段階にあると思います。

## 体内を移行する？

**Q:** ナノ粒子が肺に入るとどうなるのですか。

**平野:** 粒子の大きさによって、粒子の挙動が違います。ナノ粒子よりかなり大きいサイズの粒子(2.5~10 $\mu\text{m}$ )は、気管や気管支に沈着し、その後、痰とともに排出されますが、それより小さい2.5 $\mu\text{m}$ 以下のものは肺胞に沈着します。肺胞に入った粒子は、異物として捉えられ、白血球の一種であるマクロファージに食べられて肺胞表面から除去されます。このマクロファージの粒子除去作用を「貪食」とよんでいます。ところが、それらの粒子よりさらに小さいナノ粒子は、組織を比較的簡単に透過することができるので、肺胞壁を透過して血管内へ直接移行する可能性があるとい



共焦点レーザー顕微鏡を用いた細胞のナノ粒子取込み過程の解析

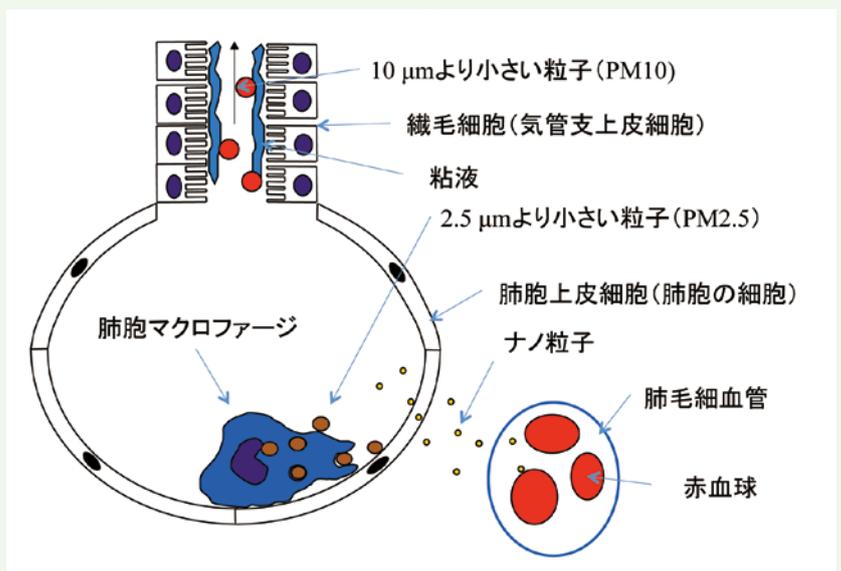
われています(図2)。

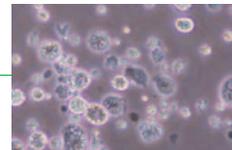
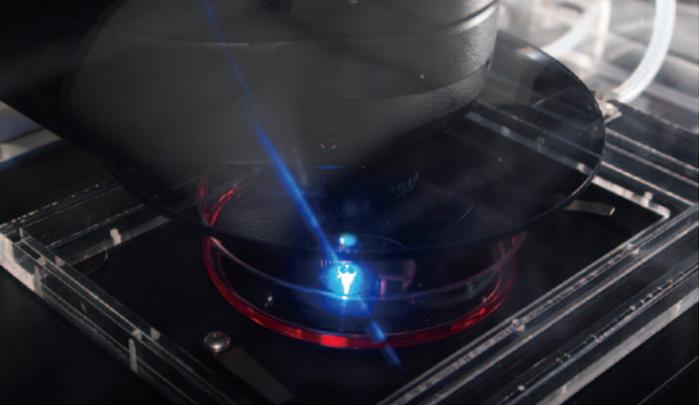
**Q:** 血管に入れば、体内のあちこちに移行するかもしれませんね。

**平野:** 心臓まで移行して、循環器機能に影響することも懸念されています。必ずしも吸い込んで体内に入るナノマテリアルばかりとは限りません。たとえば、日焼け止めクリームや消臭スプレーなどは、皮膚から体内への侵入が考えられます。そして、粒子のサイズが小さいということは、従来の材料に比べて、重さあたりの粒子の個数が多くなるので、生体成分や細胞と接する表面積も大きくなり、強い生体反応を起こす可能性があります。

### ■ 図2 肺に沈着した粒子のクリアランス機構

環境ナノ粒子やナノマテリアルは、粒子状物質として呼吸器から体内に取り込まれることが考えられます。これらの基本粒子サイズは1~100nm、すなわち0.001~0.1 $\mu\text{m}$ になります。これまで、粒子状物質の呼吸器における沈着や除去(クリアランス)は、主として、喉頭より下部気道に侵入する10 $\mu\text{m}$ 以下の粒子と、肺胞領域にまで達しやすい2.5 $\mu\text{m}$ 以下の粒子について研究されてきました。これらの粒子は、呼吸器に沈着した後、粘液・繊毛作用によりたんとして、あるいは肺胞マクロファージという白血球系の細胞が細胞内に取り込むこと(貪食)により呼吸器から除去されることがわかっていました。しかし、粒径が0.1 $\mu\text{m}$ 以下にまで小さくなると、粒子が肺の組織そのものを通過して血流などに移行し、これまでと異なる生体作用を示すのではないかと危惧されています。





しての影響を評価しなければなりません。それで、まず2006年から研究してきたディーゼル排気ナノ粒子とアスベスト、ナノマテリアルの体内での動態やカーボンナノチューブの生体への影響を検討しました。

## アスベストより細胞毒性が強い カーボンナノチューブ

**Q：**なぜ、カーボンナノチューブを調べたのですか。

**平野：**カーボンナノチューブは、細長い円筒状の構造をした炭素の同素体です。機械的な強度も高く、電気伝導性もよいので、さまざまな素材に使われています。ところが、アスベストと同様に繊維状で分解されにくいので、生体への影響も似ている可能性があるといわれています。すでに使われている物質に健康影響があったら大変ですから、急いで調べることにしたのです。

**Q：**どんな実験をしたのですか。

**平野：**まず、カーボンナノチューブをマウスの腹腔や気管に投与しました。約1年後のマウスの肺組織を観察すると、肺の拡張を妨げるように漿膜が厚くなっていました(図3)。

**Q：**やはり肺への影響が大きかったのですね。

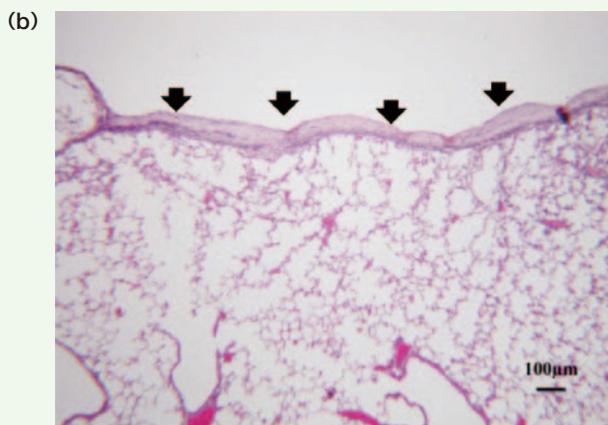
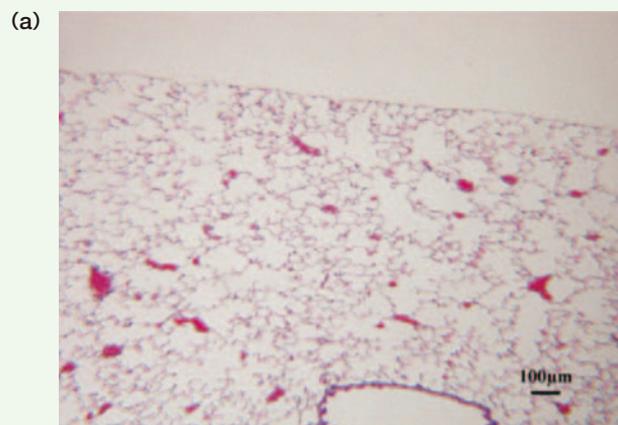
**平野：**ええ、肺腫瘍が発生した個体もありましたが、より詳細な研究が必要です。さらに、カーボンナノチューブをマウスに吸入させると、肺胞のマクロファージがカーボンナノチューブを取り込んでいることがわかりましたし、培養したマクロファージにカーボンナノチューブを添加すると、非常に効率よく細胞

**Q：**同じ重さだったら、ナノマテリアルのほうが生体と反応しやすいということですか。

**平野：**そうです。でも、ナノマテリアルの毒性に関する情報はまだとても少ないのです。小さすぎて測定するのが難しい上に、粒子同士がすぐにくっついてしまい、その物質の影響がよくわからないのですよ。

**Q：**健康への影響を調べるといってもずいぶん難しそうですね。

**平野：**今のところ、ナノマテリアルを規制するといっても化学物質としてしかできません。安全だとされていた物質でも、粒子の大きさや形状が違えば生体への影響が変わります。だから同じ化学物質でも、物性と



■ 図3 カーボンナノチューブを胸腔内投与したマウスの肺組織

カーボンナノチューブはアスベストに極めて近い形状をしています。アスベストは肺組織を透過して肺と胸郭の間(胸腔)にまで達することが知られています。そこで、カーボンナノチューブをマウスの胸腔内に直接投与して肺組織にどのような変化が起こるのかを調べたところ、(a)図に示した対照のマウスの肺に比べ、(b)図において矢印で示したように、カーボンナノチューブを投与したマウスでは、肺をつつんでいる漿膜(中皮)が肥厚していることがわかりました。

内に取り込まれることがわかりました。

**Q:** どうやって確認したのですか。

**平野:** 電子顕微鏡で、肺胞の様子を観察したのです。すると、カーボンナノチューブに、マクロファージの細胞膜が強く反応しているのがはっきりと見えました(図4)。また、カーボンナノチューブはマクロファージに対して強い細胞毒性を示すことがわかりました。

**Q:** ほかの細胞ではどうでしたか。

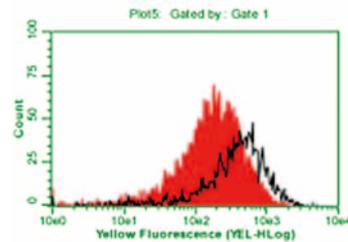
**平野:** 気管支の上皮細胞への影響も調べました。アスベストの影響と比べたのですが、細胞に対する毒性は、マクロファージと同様にアスベストより強いものでした(図5)。

**Q:** カーボンナノチューブはアスベストより生体への影響が大きいのですか。

**平野:** 今のところ、細胞毒性はアスベストより強そうです。ただし、カーボンナノチューブの繊維の長さによって、毒性が変わるようです。繊維の長さとの関係について、もっと詳細に調べていきたいと思っています。

**Q:** なぜ、マクロファージがカーボンナノチューブを取り込むことができるのでしょうか。

**平野:** その詳細はわかっていませんが、マクロファージには、ナノ材料を効率よく取り込む性質があるようです。マクロファージの表面には、カーボンナノチューブなどナノ材料を取り込む受容体があるといわれています。そこで、その遺伝子を使って、その受容体を発現する細胞をつくり、カーボンナノチューブの取り込み実験を行いました。この研究により、マクロファージが受容体を介して、カーボンナノ



フローサイトメーターを用いた細胞の解析

チューブを取り込んでいることがわかりました。この機構を詳細に調べれば、肺胞表面に沈着した粒子状物質を、どのようにしてマクロファージが貪食して粒子を除去するのか、その仕組みがわかると思います。

### 形が変われば毒性が変わる

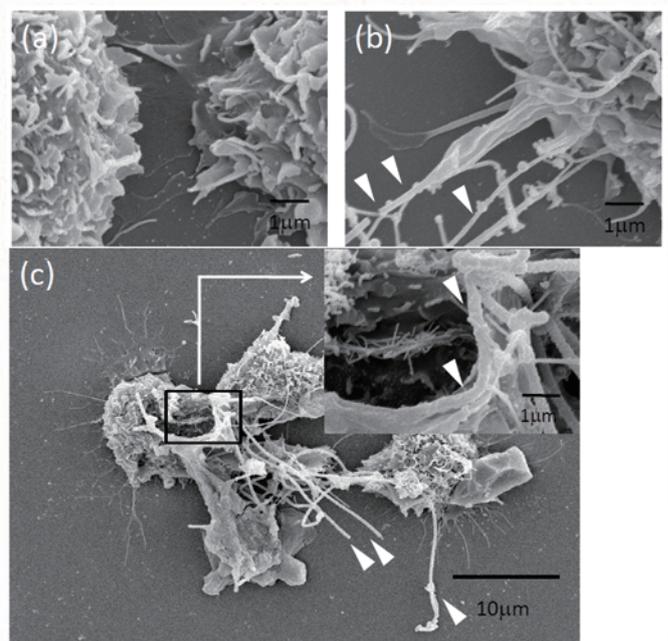
**Q:** 開発が進むナノ材料ですが、ナノサイズにまで小さくなった粒子は生体に悪いということになってしまうのでしょうか。

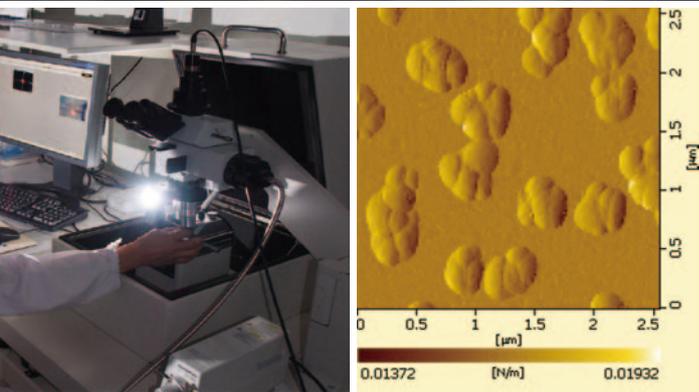
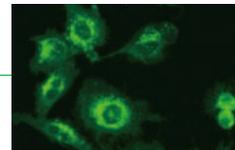
**平野:** たしかにサイズが小さいほど、生体への影響が

■ 図4 カーボンナノチューブはマウスマクロファージの細胞膜を傷害する

マウスのマクロファージをカーボンナノチューブとともに培養して走査型電子顕微鏡で観察しました。(a)は何も曝露していない対照のマクロファージですが、細胞膜の動きが活発であるために、表面は多くのひだ様の構造が見られます。(b)はマクロファージの細胞膜がカーボンナノチューブと反応して絡み合っている状態を示しています。(c)は長いカーボンナノチューブを完全に取り込めなかった細胞が傷害を受けたことを示しています。白い△は、細胞膜と反応したカーボンナノチューブを示しています。

(TAAP, 232 : 244-251)





原子間力顕微鏡を用いたナノマテリアルの形状解析

大きくなるといえるのですが、形や長さも大きく影響するようなのです。電子顕微鏡を使って、細胞内へ取り込む様子を観察すると、丸い粒子状のものは、細胞内に取り込まれても安定した状態ですが、繊維状のものは、長いと細胞内に取り込まれずにほかの細胞を傷つけたり、細胞内に入っても、核を傷つけたりするようです。アスベストでは、800℃に加熱すると結晶構造がくずれ、繊維状でなくなると、毒性が失われることがわかっています。

**Q：**繊維状のほうが生体への影響が大きいですか。

**平野：**生体内で分解されにくい繊維状の粒子についてはそのように考えています。アスベストと同様に、繊維の長い粒子が強い影響を示すと考えています。

**Q：**形が変わると毒性も変わるといえるのですか。

**平野：**そうです。同じ物質でも形が変われば、物性が変わるとともに生体への影響も変わります。アスベストは発がん物質ですが、その作用は物理刺激によるものなので「物理発がん」と呼んでいます。繊維という形状が生体影響に大きく影響していると考えています。化学物質としてではなく、物性から毒性を見ることが今まであまり取り込まれてこなかった考え方です。そこで、ナノマテリアルの毒性研究分野である「ナノトキシコロジー」では、毒性を物性から評価することを重視しています。でも、まだその試験方法は確立していません。

**Q：**今後はどのように研究を進めるのですか。

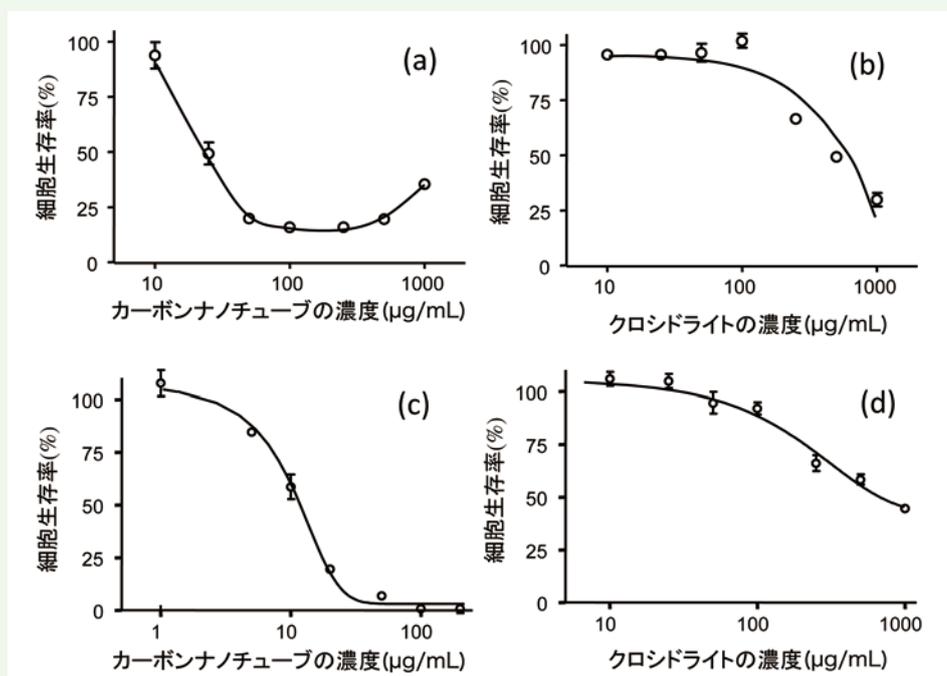
**平野：**ナノマテリアルは、そのすぐれた機能から、今後ますます多く使われることになるでしょう。そこで、安全にナノマテリアルを使うための国際的に合意された共通のガイドラインを一刻も早くつくり出さなければなりません。そのために、ナノマテリアルの毒性を評価する手法の開発に力を入れています。カーボンチューブに加え、化粧品などで使われる銀ナノ粒子や二酸化チタンにも注目しています。生産量も多く、使っている消費者も多いですからね。リスクばかりを考えるとせっかくの技術も進みませんから、安全にそしてベネフィットを最大限にいかしたナノマテリアルの使用に貢献できるようにしたいと考えています。

■ 図5 カーボンナノチューブの細胞障害毒性

アスベストの一種であるクロシドライト(青石綿)を比較対照用の繊維状粒子として用いて、カーボンナノチューブにどれくらい強い細胞障害性があるのかを調べました。細胞には、呼吸器に関連するマクロファージ(a,b)と気管支上皮細胞(c,d)を用いました。

縦軸の100%は細胞がすべて生きている状態、0%は細胞がすべて死んでしまった状態を表します。このグラフは、カーボンナノチューブではクロシドライトより低い濃度で細胞が死んでしまうことを示しています。これはカーボンナノチューブがクロシドライトより細胞障害性が高いことを意味しています。

(TAAP, 249 : 8-15)



## “Small”であることに由来する 生体影響への挑戦

2006年度から、「環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価」という5年間のプロジェクト研究を行いました。当時、「ナノ粒子」と漠然と呼ばれ始めていた超微小の粒子を、発生源や性状の違いから、自動車排ガス由来で交通量の多い交差点などに高濃度で存在する「環境ナノ粒子」と、新規素材として注目されていた「工業用ナノ粒子」に分けて考える必要がありました。

自動車排ガス由来の粒子状物質の生体影響に関する研究は、国立環境研究所に、ある程度のノウハウが蓄積されていたので、小動物に大気汚染物質を吸入させるための大型装置を活用しながら、比較的スムーズに「環境ナノ粒子」の研究を開始できました。一方、「工業用ナノ粒子」には、様々な物質があるので、物質を選択する必要がありました。そこで、私たちは、形状がアスベストにきわめて似ていて、生体影響が最も懸念されていたカーボンナノチューブを中心に研究を始めました。「環境ナノ粒子」と「工業用ナノ粒子」はともに、小さいがゆえに生体組織を通過しやすいのではないかと危惧され始めていました。プロジェクト研究では“Small”に対して生体がどのように反応するのかに焦点を当てて研究を進めました。

2011年度からは、研究材料を「工業用ナノ粒子」（ナノマテリアル）に絞り、「ナノマテリアルの毒性評価手法の開発と安全性に関する研究」を開始したとこ

ろです。5年間の第2期プロジェクトでは、カーボンナノチューブのみならず、銀ナノ粒子、酸化チタン、 dendrimerと呼ばれる樹状高分子の生体、あるいは生態影響評価方法の確立を目指しています。

### 環境ナノ粒子の生体影響

ディーゼルエンジンに由来する環境ナノ粒子の研究は、吸入曝露装置の開発に関する研究から始まり、実際にこの装置を用いて環境ナノ粒子の毒性・生体影響評価に関する研究が行われました。1か月から数か月間曝露する短期間の試験に加えて、18か月間の長期吸入実験も実施しました。環境ナノ粒子が、鼻腔内の嗅神経を介して脳内に直接輸送される可能性があること、循環器機能を変化させること、感受性が高いマウスにおいて肺の腫瘍発生率をわずかながら上昇させることが、明らかになりました。

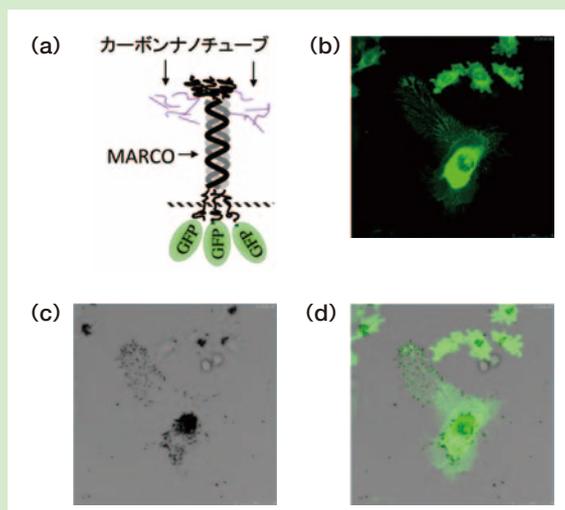
### 環境ナノ粒子の呼吸器内沈着と体内動態に関する研究

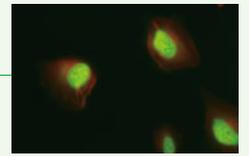
金ナノ粒子や蛍光標識したポリスチレン粒子を小動物の呼吸器内に曝露した実験結果から、20nmのナノ粒子は、エンドサイトーシスと呼ばれる細胞膜が陥入することにより細胞外の物質を取り込む機構を介して

■ 図6 カーボンナノチューブの取り込み

肺泡マクロファージは、肺泡領域に沈着した粒子状物質を貪食することにより、肺泡表面をきれいに保つ役割を果たしています。いわば、肺の掃除屋さんです。なぜ、マクロファージにこのような粒子除去機能が備わっているのでしょうか。それは、マクロファージの細胞表面にはMARCOと呼ばれる受容体が発現していて、その受容体が粒子状物質をいち早く認識するからです。

(a)はMARCO受容体をGFPと呼ばれる緑の蛍光を発するタンパク質と一緒に細胞膜上に発現させたイメージ図です。GFPと一緒に発現させることで、MARCOが細胞のどの位置に存在しているのかが分かります。(b)はMARCOだけを、(c)はカーボンナノチューブを中心に共焦点レーザー顕微鏡で撮影したものです。(d)は、(b)と(c)を重ね合わせたものですが、緑色の場所、すなわちMARCOが発現している位置にカーボンナノチューブが接着していることが分かります。すなわち、肺に沈着したカーボンナノチューブも、他の粒子状物質と同様に、MARCO受容体を用いてマクロファージが掃除してくれるということがわかりました。(TAAP, 259: 96-103)





肺胞上皮細胞に取り込まれた後、一部は肺胞壁を通過して毛細血管に移行することを明らかにしています。海外の研究機関で行われた実験でも、30nm程度かそれよりも小さく表面が正電荷を帯びていないナノ粒子は、組織を通過しやすいことが、知られています。

## 粒子を捕捉する細胞膜上の受容体

肺胞域に沈着した粒子状物質は、白血球の一種である肺胞マクロファージにより貪食と呼ばれる細胞内への異物取り込み過程によって、肺胞表面から除去されます。なぜ、マクロファージが効率よく粒子を細胞内に取り込むことができるのかについては、いまだ正確には解明されていません。しかし、マクロファージには三重らせん構造をもつ特有の受容体が細胞膜表面に存在しており、その受容体によって粒子を効率よく細胞内に取り込むことができるのではないかと考えられています。そこで、遺伝子工学的手法を用いて、この粒子を取り込む受容体を緑色の蛍光を発するタンパク質で標識して細胞内で人工的に発現させ、粒子の取り込みを調べました。カーボンナノチューブをはじめとした粒子も、この受容体を介して効率よく細胞内に取り込まれることがわかりました(図6)。

## カーボンナノチューブの細胞毒性試験

カーボンナノチューブの細胞に対する影響として、マクロファージや気管支上皮細胞を用いた細胞障害性試験を進めました。よく分散させたカーボンナノチューブは、非常に強く細胞を傷害し、アスベストの一種であるクロシドライトよりも細胞障害性が高いことがわかりました。さらに、電子顕微鏡を用いた組織

学的研究により、カーボンナノチューブの細胞障害性が、主として細胞膜や細胞小器官の1つであるライソゾームが傷つけられることで、起こることが明らかになりました。

## カーボンナノチューブの細胞毒性

カーボンナノチューブの細胞に対する影響として、マクロファージや気管支上皮細胞を用いた細胞障害性試験を進めました。よく分散させたカーボンナノチューブは、非常に強く細胞を傷害し、アスベストの一種であるクロシドライトよりも細胞障害性が高いことがわかりました。さらに、電子顕微鏡を用いた組織学的研究により、カーボンナノチューブの細胞障害性が、主として細胞膜や細胞小器官の1つであるライソゾームが傷つけられることによって起こることが明らかになりました。

## カーボンナノチューブの呼吸器毒性

まず、動物を用いた毒性学的実験として、吸入曝露チャンバーを作製してカーボンナノチューブの毒性を評価するシステムを構築し(図7)、またマウスへの胸腔内投与実験も行いました。カーボンナノチューブを短期吸入曝露したマウスでは、マクロファージにカーボンナノチューブが取り込まれていること、肺に強い炎症は見られなかったものの、酸化ストレスの指標である遺伝子の発現が上昇することが見いだされました。また、助剤を用いてよく分散した少量のカーボンナノチューブをマウスの胸腔内に投与した実験では、肺組織側の中皮が肥厚することなどの病理的变化が起きることが明らかになりました。



■ 図7 吸入曝露による生体影響を調べる

化学物質や製品素材などの生体影響評価を行う場合、まず、どのような経路で対象となる物質にわれわれが曝露される可能性があるかを見極めることが重要です。空気を經由して曝露することが想定される場合は、試験物質を実験動物に吸入させて影響を調べる必要があります。写真に示したように、鼻や頭部だけ短期間吸入曝露させるための装置のほか、飼育ケージごと動物を装置内に入れて長期間の試験ができるようにしたものもあります。細菌などが混入しない環境で、かつ作業者が試験物質に曝露することがないように様々な工夫がされています。

# ナノトキシコロジー

ナノテクノロジーは、私たちの生活に計り知れないメリットをもたらすといわれていますが、  
ナノ粒子やナノマテリアルに対する妥当な毒性試験方法



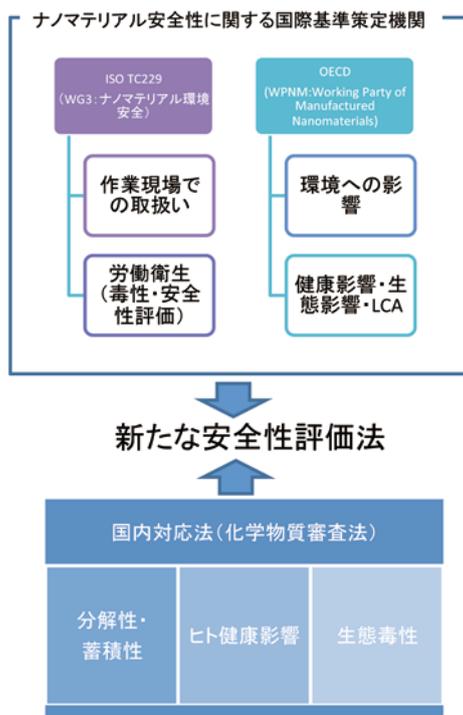
ナノ粒子・ナノマテリアルの生体影響に関する研究は、10年ほど前から急速に進展し、今や「ナノトキシコロジー」として毒性学における重要な研究領域になっています。毒性学の国内外の学会でも、「ナノトキシコロジー」のセッションが必ず設けられており、さらに関連する発表演題数も年々増えてきています。ナノ粒子・ナノマテリアルの毒性学的研究は、化学物質としての影響ではなく、物質がもつ物性の毒性を調べるのが基本となっており、この点が従来の毒性学と根本的に異なる点です。

## 世界では

ナノテクノロジーは、カリフォルニア工科大学のファインマン教授が、1959年の演説の中で“There

is plenty of room at the bottom.”（訳しにくいのですが、物質の本質には十分な余地があり、非常に小さなスケールで物性が制御されうるということを意味しています）と述べたことに端を発しているといわれています。その後、1985年にはフラーレン、1991年にはカーボンナノチューブが発見されました。また、2010年には、炭素のグラフェン構造の性質を明らかにした研究者に、ノーベル物理学賞が授与されました。

ナノテクノロジーの発展に伴い、開発された様々なナノマテリアルが、私たちの生活に使われ始めましたが、その生体影響についてはほとんど知られていません。そのため、ナノマテリアルの生体影響に関する研究を早急に開始することが求められました。経済協力開発機構 (Organization for Economic Co-operation and Development、OECD) や国際標準化機構 (International Organization for Standardization、ISO) において、世界標準となる安全性テストのガイドラインを策定するための作業が進められています (図8)。最初は、既存の安全性に関するテストガイドラインをナノ粒子・ナノマテリアルに適用することが可能かどうかについて議論が進められましたが、ナノ粒子・ナノマテリアルの中には、不溶性で水中での懸濁状態も安定でないものも多く、既存の試験方法では毒性試験を行うことが難しいのではないかと考えられています。そのため、不溶性の粒子を水溶液になじませるために助剤を適用し、安定な粒子懸濁試料を作製する方法も検討されています。

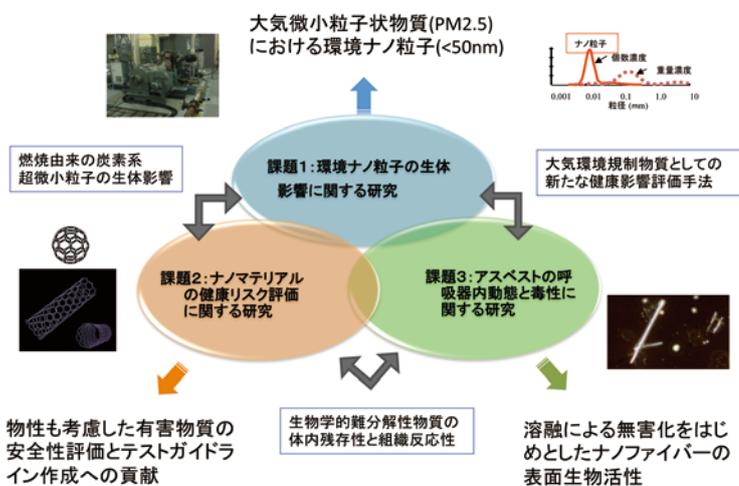


■ 図8 国内外におけるナノマテリアルの安全性に関する基準策定

製造されたナノマテリアルが世界で広く使われるようにするためには、各国で共有できる評価基準のもとに安全性試験を行う必要があります。このため、国際的には経済協力開発機構 (OECD) や国際標準化機構 (ISO) において、ナノマテリアルの安全性評価のためのテストガイドライン策定作業が進められています。国内では、化学物質審査法でナノマテリアルの安全性評価が可能なのか、あるいは新しい基準等が必要なのかについて議論されているところです。

# —毒性学における新たな課題—

本当にナノ材料をこのまま使い続けても、私たちの健康や環境に影響がないのでしょうか。  
が確立されていない状況が続いています。



■ 図9 国立環境研究所における  
ナノ粒子・ナノ材料の研究プロジェクト

国立環境研究所における第一期のナノプロジェクトでは、主としてディーゼル排気に含まれている環境ナノ粒子、カーボンナノチューブなどのナノ材料、アスベストやその融融物の生体影響を総合的に扱ってきました。ディーゼル排気ガス中の環境ナノ粒子やカーボンナノチューブ、フラウレンはともに燃焼に伴い発生する炭素系の物質です。カーボンナノチューブやアスベストは、化学成分は全く異なりますがともに分解しにくい繊維状のナノ構造を有しています。また、ディーゼル排気粒子やアスベストは、ともに大気の規制を受けている物質です。

## 日本では

10トン以上も、製造・輸入される新規化学物質について、国内では化学物質審査法に基づき、分解性・蓄積性、ヒト健康影響、生態毒性に関する試験をするように義務づけられています(図8)。しかし、化学物質審査法をはじめとした新規有害物質を規制する法律では、あくまで化学物質として試験することになっていますので、同じ化学物質なら粒径や形状が違ふことで新たな規制を受けることはありません。化学物質審査法は、経産省、厚労省、環境省が共同で管理・運営することになっているので、ナノ材料の安全性評価に関する研究も各省関連の研究機関を中心に進められています。一方、大学の研究室でも、毒性メカニズムなど基礎研究を中心に進められています。

## 国立環境研究所では

2005年に、国立環境研究所内にナノ粒子健康影響実験棟が完成し、ナノ粒子・ナノ材料の安全性

に関する高度な実験を行うことができるようになりました。この実験棟を中心に、「環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価」(2010年終了、図9)と「ナノ材料の毒性評価手法の開発と安全性に関する研究」(2011年開始)の2つのプロジェクトが進められており、ナノ粒子・ナノ材料の生体影響に関する成果が出ています。特に、吸入曝露実験に関しては、慢性的影響も調べられる大型の装置を用いた実験が行われています。また、細胞を用いた研究は動物実験の代替法としても注目されているほか、ナノ材料の魚毒性に関する実験も進めています。

海外との共同研究も積極的に行っています。ヨーロッパの研究グループやカナダを中心とする研究グループとは、それぞれ、NanoBRIDGESやTITNTという国際コンソーシアムを立ち上げて、お互いに協力しながらナノ材料の安全性に関する意見交換や共同研究を行っています。

\* NanoBRIDGES (<http://nanobridges.lukaszlubinski.com/>)  
\* TITNT (<http://www.titnt.com/>)

# 「国立環境研究所における ナノ粒子・ナノマテリアルに関する研究」のあゆみ

国立環境研究所では、粒子状物質の生体影響に関する研究を行ってきました。

ここでは、その中から、ナノ粒子・ナノマテリアルに関するものについて、その歩みを紹介します。

## 課題名

### 第一期自動車排出ガスに起因する環境ナノ粒子の生体影響調査 (2003～2007年度)

ディーゼル排気粒子中に含まれるナノ粒子の発生方法や動物試験方法の開発と、短期、中期曝露の影響評価を行いました。(環境省受託研究)

## 課題名

### 第二期自動車排出ガスに起因する環境ナノ粒子の生体影響調査 (2008～2010年度)

ディーゼル排気粒子中に含まれるナノ粒子の細胞曝露実験と実験動物を用いた長期曝露の影響評価を行いました。(環境省受託研究)

## 課題名

### 環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価 (2006～2010年度)

実験動物や細胞を用いて、環境ナノ粒子、アスベスト、カーボンナノチューブの毒性評価を行いました。(国立環境研究所リスク研究プログラム)

## 課題名

### ナノマテリアルの毒性評価手法の開発と安全性に関する研究 (2011～2015年度)

ナノマテリアルの健康影響や生態影響に関する試験方法の確立と総合的な安全性評価手法の開発を行っています。(国立環境研究所リスク研究プログラム)

これらの事業、プロジェクト、研究は以下のスタッフ組織によって実施されています(所属は当時、敬称略)

#### <研究・事業担当者>

国立環境研究所	平野靖史郎、古山昭子、藤谷雄二、鈴木明、石堂正美、山元昭二、黒河佳香、曾根秀子、井上健一郎、 鑑迫典久、Tin-Tin Win Shwe、宮山貴光、種田晋二、李春梅
千葉大学	鈴木和夫
聖マリアンナ医科大学	菅野さな枝
川崎医科大学	大槻剛巳、西村泰光
横浜国立大学	榊原和久
モントリオール大学	Claude Emond (カナダ)
グダニスク大学	Tomasz Puzyn, Ewa Mulkiewicz (ポーランド)
ワルシャワ工科大学	Michał Wozniak, Przemysław Oberbek (ポーランド)

## ● 過去の環境儀から ●

これまでの環境儀から、ナノ粒子やナノマテリアルに関するものを紹介します。

### No.44 試験管内生命で環境汚染を視る —環境毒性の in vitro バイオアッセイ—

環境汚染物質の毒性を評価するため、培養細胞や微生物を用いたさまざまな in vitro バイオアッセイ法を開発してきました。こうした試験法は、今後、環境モニタリングにも応用できると期待されています。

### No.38 バイオアッセイによって環境をはかる —持続可能な生態系を目指して—

国内で使用される化学物質は年々増えており、個別に管理することが難しくなっています。排水等の環境水の生態影響の大きさを、生物を使って直接測定し、改善目標と手法を提案して、市民が安心して暮らせる環境づくりの研究を紹介しています。

### No.22 微小粒子の健康影響—アレルギーと循環機能

国立環境研究所では、1990年代からディーゼル排気に関する研究を始め、2001年度からは重点特別研究プロジェクトとして「大気中微小粒子状物質 (PM2.5)・ディーゼル排気粒子 (DEP) 等の大気中粒子状物質の動態解明と影響評価プロジェクト」を行っています。この中から、DEP などの微小粒子のアレルギーや免疫機構に及ぼす影響や循環機能に関する研究の概要やその成果を紹介しています。

### No.21 中国の都市大気汚染と健康影響

経済発展著しい中国。日本の研究知見を活かした日中共同の大気汚染調査研究を行い、環境問題の解決に取り組んでいます。本号では共同研究の成果をもとに分析を行った中国都市部における大気汚染と健康影響の実態をお伝えしています。

### No.8 黄砂研究最前線 科学的観測手法で黄砂の流れを遡る

「大気エアロゾルの計測手法とその環境影響評価手法に関する研究」に端を発した、黄砂の化学的動態に関する基本的データや新手法による黄砂モニタリングやモデリングの話題などを中心に紹介しています。

## 環境儀 No.46

—国立環境研究所の研究情報誌—

2012年10月31日発行

編集 国立環境研究所編集委員会

(担当 WG: 西川雅高、平野靖史郎、鈴木武博、亀山康子、石垣智基、佐治光、滝村朗)

発行 独立行政法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2

問合せ先 (出版物の入手) 国立環境研究所情報企画室 029(850)2343

(出版物の内容) // 企画部広報室 029(850)2310

環境儀は国立環境研究所のホームページでもご覧になれます。

<http://www.nies.go.jp/kanko/kankyogi/index.html>

編集協力 有限会社サイテック・コミュニケーションズ

〒101-0052 東京都千代田区神田小川町3-14-3 イルサ202

無断転載を禁じます

リサイクル適性の表示: 紙ヘリサイクル可

本冊子は、グリーン購入法に基づく基本方針における「印刷」に係る判断の基準にしたがい、印刷用の紙へのリサイクルに適した材料「Aランク」のみを用いて作製しています。

## 「環境儀」既刊の紹介

No.1	環境中の「ホルモン様化学物質」の生殖・発生影響に関する研究	2001年 7月
No.2	地球温暖化の影響と対策— AIM: アジア太平洋地域における温暖化対策統合評価モデル	2001年 10月
No.3	干潟・浅海域—生物による水質浄化に関する研究	2002年 1月
No.4	熱帯林—持続可能な森林管理をめざして	2002年 4月
No.5	VOC—揮発性有機化合物による都市大気汚染	2002年 7月
No.6	海の呼吸—北太平洋海洋表層の CO <sub>2</sub> 吸収に関する研究	2002年 10月
No.7	バイオ・エコエンジニアリング—開発途上国の水環境改善をめざして	2003年 1月
No.8	黄砂研究最前線—科学的観測手法で黄砂の流れを遡る	2003年 4月
No.9	湖沼のエコシステム—持続可能な利用と保全をめざして	2003年 7月
No.10	オゾン層変動の機構解明—宇宙から探る 地球の大気を探る	2003年 10月
No.11	持続可能な交通への道—環境負荷の少ない乗り物の普及をめざして	2004年 1月
No.12	東アジアの広域大気汚染—国境を越える酸性雨	2004年 4月
No.13	難分解性溶存有機物—湖沼環境研究の新展開	2004年 7月
No.14	マテリアルフロー分析—モノの流れから循環型社会・経済を考える	2004年 10月
No.15	干潟の生態系—その機能評価と類型化	2005年 1月
No.16	長江流域で検証する「流域圏環境管理」のあり方	2005年 4月
No.17	有機スズと生殖異常—海産巻貝に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響	2005年 7月
No.18	外来生物による生物多様性への影響を探る	2005年 10月
No.19	最先端の気候モデルで予測する「地球温暖化」	2006年 1月
No.20	地球環境保全に向けた国際合意をめざして—温暖化対策における社会科学的アプローチ	2006年 4月
No.21	中国の都市大気汚染と健康影響	2006年 7月
No.22	微小粒子の健康影響—アレルギーと循環機能	2006年 10月
No.23	地球規模の海洋汚染—観測と実態	2007年 1月
No.24	21世紀の廃棄物最終処分場—高規格最終処分システムの研究	2007年 4月
No.25	環境知覚研究の勧め—好ましい環境をめざして	2007年 7月
No.26	成層圏オゾン層の行方—3次元化学モデルで見るオゾン層回復予測	2007年 10月
No.27	アレルギー性疾患への環境科学物質の影響	2008年 1月
No.28	森の息づかいを測る—森林生態系の CO <sub>2</sub> フラックス観測研究	2008年 4月
No.29	ライダーネットワークの展開—東アジア地域のエアロゾルの挙動解明を目指して	2008年 7月
No.30	河川生態系への人為的影響に関する評価—よりよい流域環境を未来に残す	2008年 10月
No.31	有害廃棄物の処理—アスベスト、PCB 処理の一翼を担う分析研究	2009年 1月
No.32	熱中症の原因を探る—救急搬送データから見るその実態と将来予測	2009年 4月
No.33	越境大気汚染の日本への影響—光化学オキシダント増加の謎	2009年 7月
No.34	セイリング型洋上風力発電システム構想—海を旅するウィンドファーム	2010年 3月
No.35	環境負荷を低減する産業・生活排水の処理システム—低濃度有機性排水処理の「省」「創」エネ化～	2010年 1月
No.36	日本低炭素社会シナリオ研究—2050年温室効果ガス70%削減への道筋	2010年 4月
No.37	科学の目で見る生物多様性—空の目とミクロの目	2010年 7月
No.38	バイオアッセイによって環境をはかる—持続可能な生態系を目指して	2010年 10月
No.39	「シリカ欠損仮説」と海域生態系の変質—フェリーを利用してそれらの因果関係を探る	2011年 1月
No.40	VOC と地球環境—大気中揮発性有機化合物の実態解明を目指して	2011年 4月
No.41	宇宙から地球の息吹を探る—炭素循環の解明を目指して	2011年 7月
No.42	環境研究 for Asia/in Asia/with Asia—持続可能なアジアに向けて	2011年 10月
No.43	藻類の系統保存—微細藻類と絶滅が危惧される藻類	2012年 1月
No.44	試験管内生命で環境汚染を視る—環境毒性の in vitro バイオアッセイ	2012年 4月
No.45	干潟の生き物のはたらきを探る—浅海域の環境変動が生物に及ぼす影響	2012年 7月

### 「環境儀」

地球儀が地球上の自分の位置を知るための道具であるように、「環境儀」という命名には、われわれを取り巻く多様な環境問題の中で、われわれは今どこに位置するのか、どこに向かおうとしているのか、それを明確に指し示すべしという意図が込められています。「環境儀」に正確な地図・行路を書き込んでいくことが、環境研究に携わる者の任務であると考えています。

2001年7月 合志 陽一  
(環境儀第1号「発刊に当たって」より抜粋)



このロゴマークは国立環境研究所の英語文字 N.I.E.S で構成されています。N=波(大気と水)、I=木(生命)、E=Sで構成されるOで地球(世界)を表現しています。ロゴマーク全体が風を切って左側に進むような動きは、研究所の躍動性・進歩・向上・発展を表現しています。