

ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法に関する総合研究 ＜化学物質リスク研究事業＞

研究目的

形状がアスベストに類似しており、中皮腫や肺がんの発生が懸念されている 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) に焦点をあて、そのヒトへの健康影響評価に役立つ手法を開発する。

研究方法

in vivo の系と *in vitro* の両系から MWCNT の生体影響評価方法の確立を目指して研究を進めた。*in vivo* の系では、吸入ばく露試験の代替法として広く利用されている気管内投与法により、ラットに MWCNT を単回投与、その後91日まで経過観察を行い (図1)、我々が現在実施しているヒトが実際にばく露される労働環境を再現した吸入暴露試験と比較検討が可能なデータを集積した。*in vitro* の系では、発がん性スクリーニング法として行われている遺伝毒性試験 (小核試験、染色体異常試験、遺伝子突然変異試験、細胞形質転換試験) を応用した評価手法の開発を目指した。予備検討として細胞毒性指標を検出するのに適切なアッセイ系 (コロニー法、酵素放出法) の検討、MWCNT に感受性の高い培養細胞の選択及び MWCNT の培養細胞への取り込みの確認をおこなった。

結果

in vivo の系での結果

肺胞腔内でマクロファージが速やかに MWCNT を貪食し、その後、徐々に肺胞壁内や肺内のリンパ組織の中に MWCNT が移行した。肺の毒性反応では、病変の発生率と強さに時間及び投与量に依存した増加を認めた。II 型肺胞上皮細胞の過形成、微小肉芽腫 (図2) 及び間質の線維化病変を 40 と 160 μg MWCNT 投与群に認めた。間質の線維化病変の強さは 40 μg MWCNT 投与群と 160 μg α -Quartz 投与群と同程度であった。肺関連リンパ節への移行が投与7日後から認められた。肝臓、腎臓、脾臓への移行が投与後1日から、脳への移行が投与後28日以降にほぼ100%の動物で認められた。

in vitro の系での結果 (図3)

細胞毒性指標ではコロニー法、酵素放出法ともに MWCNT に対する感受性が認められた。CHL/IU、V79、Balb3T3 細胞は、いずれも MWCNT 評価に使用可能であった。走査型電子顕微鏡 (SEM) により、MWCNT が CHL/IU 細胞に取り込まれているのを確認した (図4)。小核試験では、小核の誘発は陰性で、多核細胞が出現した。染色体異常試験で構造異常は誘発されず、数的異常の出現率が上昇した。遺伝子突然変異試験は陰性であった。細胞形質転換試験では、イニシエーション処理による形質転換細胞の出現率が上昇した。

今後の展望

本研究は、ナノマテリアルの経気道暴露によるヒトの健康影響を評価するために有用なデータとなる。種類が多い産業用ナノマテリアル及びナノマテリアル製品の発がん性等の健康影響を短期かつ効率的に評価するためのスクリーニング法の策定に利用できる。また、現在、国際協調に基づいた産業用ナノマテリアルの健康影響評価が OECD のもとで進んでおり、本研究の成果は多層カーボンナノチューブの健康影響に関する国際的な貢献に資する。

- ・ MWCNT 投与用量 : 0、40、160 $\mu\text{g}/\text{rat}$ 動物 : F344 rat、Male
- ・ 用量設定 : 160 μg MWCNT
 \equiv MWCNT aerosol at 5.0 mg/m^3 for 6hr, 5 day
- ・ 溶媒 : PBS + 0.1% Tween 80
- ・ 陽性対照 (肺線維化病変)

気管内投与 : α -Quartz (MIN-U-SIL 5, US.Silica) 0、160 $\mu\text{g}/\text{rat}$



図 1. MWCNT の気管内単回投与試験

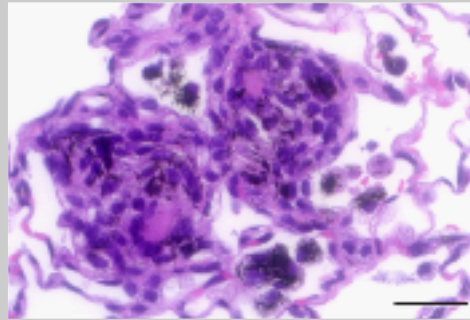


図 2. 微小肉芽腫
MWCNT 160 $\mu\text{g}/\text{rat}$,
91 days after instillation,
Bar 50 μm

細胞毒性	染色体異常	小核	突然変異	細胞形質転換
コロニー法 +	構造異常 -	小核 -	-	プロモーション -
酵素放出法 +	数的異常 +	多核 +		イニシエーション +

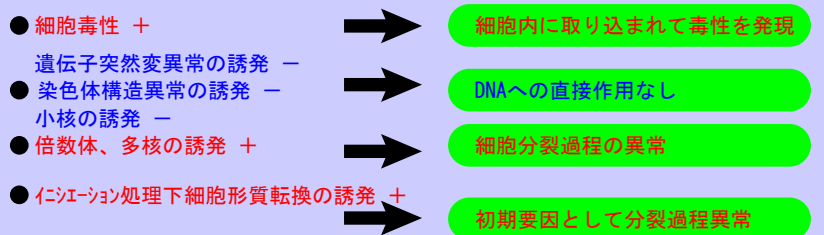


図 3. *in vitro* 試験の総括

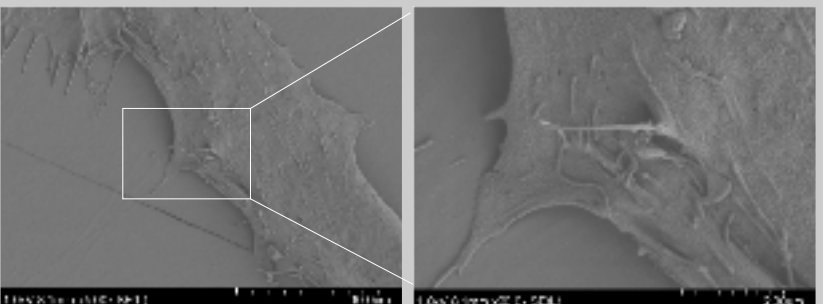


図 4. MWCNT の細胞内 (CHL/IU) への取り込み SEM 像