

学 位 論 文 要 旨

氏名 小林 俊夫

題 目：気管内投与によるナノ材料の有害性評価手法の開発

論文要旨：

科学技術の発展は、多様な化学物質の合成、加工を可能にし、人類に様々な恩恵をもたらしてきた。工業用製品はより小型化され、ナノメートルオーダーでの製造も可能となり、ナノサイズの工業用材料（ナノ材料）やその加工製品が様々な用途で利用されている。ナノ材料は一般に縦横奥行きのある三次元のうち少なくとも1辺が1~100 nmの範囲にある物質と定義されている。ナノ材料の出現により、様々な分野において製品の軽量化、高機能化を達成する研究開発が加速し、技術革新が期待されている。一方で、従来の化学物質とは異なる物理化学的特性に起因した、予期しえない健康影響が生じる懸念も高まっている。ナノ材料を取り扱う製造業従事者においては、吸入ばく露の機会が最も多く、呼吸器経路を介した有害影響が発現する懸念が高いと想定されている。一般的な化学物質の場合、吸入ばく露物質は、ラットを用いる吸入毒性試験により有害性評価が行われる。一方ナノ材料の場合、同一の化学組成であっても物性の異なる材料が存在し、これらの違いが有害性の違いに寄与することが知られている。そのため、物性の異なるそれぞれの材料について詳細な検証を行うことが理想的な有害性評価であると考えられる。しかしながら、吸入毒性試験は大規模な実験設備や多量の被験物質を必要とする非常に高コストな試験法である。したがって、簡便かつ低コストで実施可能なナノ材料の有害性評価法の開発が期待されている。

気管内投与試験は、実験動物の気管に直接被験物質を投与し、呼吸器における有害影響を評価する試験であり、簡易な実験器具と少量の被験物質で実施可能である。しかしながら、実際の作業環境で起こり得る吸入ばく露とは異なり、肺は瞬間的に多量の被験物質にばく露されるため、過剰な生体応答が生じることが懸念されている。また、肺内で被験物質の偏りが生じることが懸念される。さらに、国際的に合意された標準的な試験手法が確立されていないため、試験条件の違いが結果に及ぼす影響は不明である。そこで本研究では、気管内投与試験の標準的な試験条件範囲を確立することを目的とし、代表的なナノ材料を用いて、異なる試験条件で気管内投与試験を実施し、試験結果に及ぼす影響を定量的に評価した。その後、モデルナノ材料を用いて気管内投与試験を実施し、肺の炎症反応を指標にナノ材料の物性と有害影響の関連性を評価するとともに、確立した標準的な気管内投与試験法の性能検証を行った。

まず、代表的なナノ材料としてナノサイズの二酸化チタンを用い、ラットに気管内投与を行って、投与液量及び投与器具の違いが二酸化チタンの肺内分散並びに誘発される炎症反応に及ぼす影響について定量的に解析した。その結果、肺内分散については投与液量及び投与器具の違いは明らかでなかった。また、肺炎症反応については、投与器具の違いによる影響は明らか

(別紙様式第 3 号)

でなく、投与液量についても 0.5~2.0 mL/kg の範囲では著変は認められなかった。したがって、肺炎症反応を対象とした有害性評価においては、投与器具の違いは結果に影響せず、また投与液量についても 0.5~2.0 mL/kg の範囲であれば同等の反応性を検出することが可能であることを明らかとした。

続いて、確立した標準的な気管内投与条件により、モデル物質として物性の異なる 4 種類のナノサイズの酸化ニッケルをラットに単回気管内投与し、投与 3、28、91 日後における肺炎症反応を含む各種毒性学的検査項目について評価した。4 種類の酸化ニッケルは特に模擬リソソーム液に対する溶解性に大きな違いがあり、投与 3 日後には溶解性の順位に相当した強度の炎症反応が誘発された。しかしながら、溶解したニッケルイオンは速やかに排泄されるため、溶解性の最も高い材料では、投与 28 日後以降には回復した。中等度の溶解性を示す 2 材料については、投与 3 日後に確認された肺炎症反応は投与 28 日後にかけて進行性に持続し、投与 91 日後には線維成分の増生を伴った。一方、不溶性材料では明らかな炎症反応は示さず、粒子は肺に滞留又は所属リンパ節へ移行し沈着した。以上より、物性の違いに起因したナノ酸化ニッケルの有害性を、気管内投与試験によって明確に判別することが可能であることを示した。一方で、ヒトのリスク評価において重要な知見であると推定される炎症の持続性に関わる要因については明らかにできなかった。

本研究において整備した気管内投与試験の標準的手法に基づいて試験を実施することにより、試験条件に影響されない信頼性の高い有害性データを取得することが可能である。今後、信頼性の高い気管内投与試験データを蓄積するとともに、ヒトのリスク評価につながる知見を集積することが期待される。

(和文 2,000 字又は英文 800 語程度)

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	小林 俊夫
審 査 委 員	主 査： 山口大学・教授 日下部 健
	副 査： 山口大学・教授 加納 聖
	副 査： 鹿児島大学・教授 松元 光春
	副 査： 山口大学・教授 木村 透
	副 査： 山口大学・教授 森本 将弘
題 目	気管内投与によるナノ材料の有害性評価手法の開発
<p>審査結果の要旨：</p> <p>ナノサイズの工業材料（ナノ材料）は同一の化学組成であっても物性の異なる材料が存在し、この違いが有害性の違いに寄与する。そのため、物性の異なるそれぞれの材料について詳細な検証を行うことが理想的な有害性評価となる。ナノ材料の毒性評価値として適用が示されている吸入毒性試験は、大規模な実験設備や多量の被験物質を必要とする非常に高コストな試験法である。よってナノ材料の毒性評価には、簡便かつ低コストで実施可能な有害性評価法の開発が期待されている。気管内投与試験は、実験動物の気管に直接被験物質を投与する手法であり、簡易な実験器具と少量の被験物質で実施可能である。しかしながら、実際の作業環境で起こり得る吸入ばく露とは異なり、肺は瞬間的に多量の被験物質にばく露されるため、過剰な生体応答が生じることが懸念される。また、肺内で被験物質の偏りが生じる可能性がある。また、国際的に合意された標準的な試験手法が確立されていない現状である。申請者は気管内投与試験の標準的な試験条件範囲を確立することを目的とし、代表的なナノ材料を用い、気管内投与試験の実施条件を検討することにより、試験手法の効果を定量的に評価した。その後、肺の炎症反応を指標にナノ材料の物性と有害影響の関連性を評価するとともに、確立した気管内投与試験法に関する性能的評価を行った。</p> <p>第一章では、代表的なナノ材料としてナノサイズの二酸化チタンを用い、ラットに気管内投与を行うことで、投与液量及び投与器具の違いが二酸化チタンの肺内分散、および炎症反応に及ぼす影響について定量的に評価した。解析の結果、肺内分散については投与液量及び投与器具の違いは認められなかった。肺炎症反応についても、投与器具の違いによる影響は明らかでなく、投与液量についても 0.5～2.0 mL/kg の範囲では肺に著変は認められなかつ</p>	

2,000 字以内

た。したがって、肺炎症反応を対象とした有害性評価においては、投与器具の違いは結果に影響せず、投与液量についても 0.5~2.0 mL/kg の範囲であれば同等の反応性を検出できることを明らかにした。

第二章では、第一章で確立した気管内投与方法および実験条件を用い、モデル物質の毒性評価を行った。物性の異なる 4 種類のナノサイズの酸化ニッケルをラットに単回気管内投与し、投与 3、28、91 日後における肺炎症反応の分析、および各種毒性学的検査を行った。4 種類の酸化ニッケルは特に模擬リソソーム液に対する溶解性に大きな違いがあり、投与 3 日後には溶解性の順位に相当した強度の炎症反応が誘発された。しかしながら、溶解したニッケルイオンは速やかに排泄され、溶解性の最も高い材料を投与されたラットは投与 28 日後以降に回復した。中等度の溶解性を示す 2 材料については、投与 3 日後に確認された肺炎症反応が投与 28 日後まで進行性に継続し、投与 91 日後の肺では線維成分の増生が認められた。一方、不溶性材料では明らかな炎症反応は示さず、粒子は肺に滞留または所属リンパ節へ移行して沈着していた。以上の結果は気管内投与試験法が、物性の違いに起因したナノ酸化ニッケルの有害性を判別する性能を有することを示した。

申請者によって確立された気管内投与試験に基づいて試験を実施することにより、試験条件に影響されない信頼性の高い有害性データを取得する可能性が高まった。今後、信頼性の高い気管内投与試験データを蓄積するとともに、ヒトのリスク評価につながる知見を集積することが期待される。以上より、申請者および本論文は博士（獣医学）の水準を満たすものであると判断された。