

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号、ページ、出版年
K. Sugibayashi, H. Todo, E. Kimura	Safety evaluation of titanium dioxide nanoparticles by their absorption and elimination profiles	J. Toxicol. Sci.	33 (3), 293-298, 2008
杉林堅次	紫外線防御試験法の国際的動向と紫外線防御剤の開発の課題：化粧品に用いられるナノ粒子の曝露と安全性問題のあり方	FRAGRANCE JOURNAL	36(10), 38-41, 2008

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Original Article

Safety evaluation of titanium dioxide nanoparticles by their absorption and elimination profiles

Kenji Sugibayashi, Hiroaki Todo and Eriko Kimura

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan

(Received February 19, 2008; Accepted March 3, 2008)

ABSTRACT — If titanium dioxide nanoparticles are inert and non-biodegradable, they must be evaluated similarly to fullerenes, carbon nanotubes and asbestos. We surveyed the titanium level in typical raw food materials, and then intravenously injected titanium dioxide nanoparticles (primary particle diameter: 15 nm; secondary particle size: 220 nm) in mice and determined their tissue distribution and elimination. As a result, an unexpectedly high titanium concentration was observed in several foods. It was also detected in blood and tissues of healthy mice without administration of titanium dioxide nanoparticles. Then, forced *i.v.* injection of the nanoparticles was performed in mice. The titanium level was significantly increased in blood and tissues, but no increase was found in the brain after *i.v.* injection. Most titanium was concentrated in the liver after injection, but the liver level decreased over time (ca. 30% decrease in 1 month). These data show that titanium must be eliminated from the body, and suggest that we should reconsider an evaluation method for toxicity of titanium dioxide nanoparticles.

Key words: Titanium dioxide, Nanoparticle, Absorption, Elimination

INTRODUCTION

Many nanomaterials have been prepared and evaluated for their functions and physical and chemical properties. In particular, biocompatible materials, ultrafine microstructures, and molecularly recognized and signaling materials have been broadly studied as leading-edge and advanced materials; fullerenes and carbon nanotubes are typical examples. In addition, titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles are used not only in several materials but also in humans in UV-care cosmetics. These nanomaterials may be categorized as non-biodegradable, and liposomes and nano- and micro-emulsions are found in labile nanoparticles. Are these nanomaterials safe for humans (Maynard *et al.*, 2006; Behling, 2007; Scientific Committee on Consumer Products, 2007; Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks, 2007)?

Titanium and titanium dioxide are believed to be highly inert and safe, even when they are absorbed via the GI tract and skin. If they are inert and non-biodegradable, we should evaluate the titanium dioxide nanoparticles similarly to fullerenes, carbon nanotubes (Singh *et al.*, 2006) and asbestos. It was found from our preliminary sur-

vey and experiments, however, that titanium is naturally contained in the body as well as in vegetables and soil, indicating that we may ingest titanium compounds daily despite no detailed information on the chemical structure of such compounds. In addition, size is very important for nonbiodegradable nanoparticles. Titanium dioxide particles bigger than 100 nm have been used in several foods and toothpastes (Lomer *et al.*, 2005); thus our strategy to estimate the safety of titanium oxide nanoparticles must be modified.

In the present study, therefore, we surveyed the titanium level in typical raw food materials, and then intravenously injected titanium dioxide nanoparticles (primary particle size, ca. 15 nm; secondary particle size, ca. 220 nm; see below in detail) into mice, and determined the tissue distribution and elimination kinetics of titanium.

MATERIALS AND METHODS

Surveillance and determination method of titanium concentration in typical foodstuffs

Typical cooking ingredients were selected, and their titanium concentration was measured using an ICP-MS (Agilent 7500ce, Agilent Technologies, Inc., Santa Clara,

CA, USA). Titanium concentration in blood and tissue samples as well as mouse diets (Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo, Japan) was also determined using ICP-MS. In addition, a bibliographical search was done for the titanium concentration in foods, soil and others.

Preparation of titanium dioxide nanoparticles dispersed in saline

Titanium dioxide nanoparticles (MT-150AW, particle diameter of 15 nm, as explained below) were obtained from Tayca (Osaka, Japan). Highly dispersed titanium dioxide nanoparticles, HD-MT-150AW, were prepared by the following patented method for dense skins of hydrated amorphous silica bound to a core. MT-150AW (100 g) was mixed and well dispersed in 900 g of water, and then the pH of the mixture was adjusted to pH 9.0 by adding NaOH solution and the mixture heated to 80°C. Next, 200 g/l (as SiO₂) liquid glass (sodium silicate) (215 ml) and 10% H₂SO₄ (180 ml) were added to the mixed solution (ca. 1,000 g) and vigorously stirred for 2 hr (Iler, 1959). The final pH of the resultant mixture was adjusted to 8.0 to 8.5. Stirring was continued for another 30 min and then the pH of the solution was adjusted to 7.0 by addition of NaOH solution. Finally, the reaction mixture was filtered and 2,000 g of purified water was added to rinse. The solution was dried at 120°C for 12 hr and jet-milled to obtain HD-MT-150AW.

Titanium dioxide nanoparticles dispersed in physiological saline, DIS-HD-MT-150AW, were prepared by sonication of HD-MT-150AW. A mixture of 6 g of HD-MT-150AW and 54 g of physiological saline purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) was sonicated using a sterile ultrasonic grinding device (Ultrasonic Generator Model US-300, Nihonseiki Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan) for 3 min under cooling conditions to obtain DIS-HD-MT-150AW.

Determination of physical and chemical properties of titanium dioxide nanoparticles

The silica content in HD-MT-150AW was analyzed using fluorescent X-ray spectroscopy (3270E, Rigaku Corp., Tokyo, Japan), and the crystal form of the nanoparticles was determined using X-ray diffraction (X'Pert Pro, PANalytical, Ea Almelo, Netherlands). The total number of bacteria in DIS-HD-MT-150AW was determined by a plate counting method.

The primary particle-size distribution of HD-MT-150AW was analyzed using image processing software (Mac-View Ver. 3, Mountech Co., Ltd., Tokyo, Japan). The secondary particle-size distribution of DIS-HD-MT-150AW was determined using a dynamic light scattering particle-

size analyzer (Microtrac 9340-UPA, Nikkiso Co., Ltd., Tokyo, Japan).

Intravenous administration of titanium dioxide nanoparticles

Male ddY mice weighing about 30 g were used in all animal experiments. These experiments were done under the guidelines of Life Science Research Center, Josai University. Saline suspension (50 µl) of titanium dioxide nanoparticles (DIS-HD-MT-150AW) (36,250 µg/ml, 1,813 µg/animal) was intravenously injected into the tail vein of mice under anesthesia by *i.c.* injection of sodium pentobarbital. The blood, brain, lung, heart, liver, spleen and kidney were excised 5 min, 72 hr and 1 month after injection. Tissue and blood were dissolved using Soluene-350 (Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA) to determine the titanium concentration by ICP-MS, as explained above.

Morphological evaluation of excised tissues

Slices of the liver were observed by electron microscope (JEM2000EX, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) to evaluate the intra- and inter-cellular presentation of titanium dioxide nanoparticles.

RESULTS AND DISCUSSION

Survey of titanium concentration in typical food materials

As described in the Introduction, titanium is naturally contained in several vegetables and soil, although there is no detailed information on the chemical structure of the compounds. The titanium level in several foodstuffs was therefore determined and a brief survey was carried out on several food materials; Table 1 summarizes these surveys and the experimental results. An unexpectedly high titanium concentration was observed in several food materials. In particular, the titanium concentration in soybeans (3.24 µg/g) and shrimp (2.52 µg/g) was high. Itoh *et al.* (2005) reported that the titanium concentration in several soils was over 3,300 µg/g, which may be related to the relatively high concentration in vegetables (*i.e.*, 20–30 µg/g for Chinese cabbage).

Preparation and characterization of titanium oxide nanoparticles

The preparation and physical properties (size) are very important for the safety and toxicity of titanium dioxide nanoparticles. Titanium dioxide nanoparticles dispersed in physiological saline, DIS-HD-MT-150AW, were prepared using the following two steps: preparation of highly dispersed titanium dioxide nanoparticles, HD-MT-150AW

Table 1. Titanium level in several foodstuffs and others

Food/Soil	Production area	Conc. ($\mu\text{g/g}$)	Food/Soil	Production area	Conc. ($\mu\text{g/g}$)
beef	Japan	0.17	lettuce ^a		41 \pm 15
beef	Australia	0.26	Boston lettuce ^a		10 \pm 14
pork	Japan	0.26	Japanese parsley ^a		53 \pm 12
pork	USA	0.44	Japanese radish (leaf) ^a		37 \pm 33
chicken	Japan	0.14	Welsh onion ^a		20 \pm 13
egg	Japan	1.70	tomato ^a		39.1 \pm 9.2
salmon	Norway	0.37	paprika ^a		14 \pm 16
shrimp	India	2.52	sprout ^a		38 \pm 16
onion	Japan	0.33	AIN 93G ^b	Josai Univ.	6.29
potato	Japan	0.12	α cornstarch		0.18
paprika	Netherlands	0.19	β cornstarch		0.18
carrot	USA	0.59	casein		1.60
corn	USA	0.60	cellulose		< 0.1
flour	mainly USA	0.31	soft water	USA	< 0.05
soybeans	Japan	3.24	water	Thailand	< 0.05
rice	Japan	0.91	soft water	France	< 0.05
orange	USA	0.65	mid-hard water	France	< 0.05
lemon	USA	1.64	hard water	France	< 0.05
grapefruit	South Africa	0.39	urban water	Thailand	< 0.05
banana	Philippines	< 0.1	soft water	Japan	< 0.05
Japanese parsley ^a	Japan	101 \pm 19	soft water	Japan	< 0.05
Japanese parsley ^a	Japan	10 \pm 13	water ^a	Japan	13 \pm 17 (ng/g)
Chinese cabbage ^a	Japan	29.5 \pm 14	soil ^a	Japan	3.2 \pm 8.0 (ng/g)
Chinese cabbage ^a	Japan	20 \pm 13	soil ^a	Japan	4980 \pm 220
bok-choy ^a		35.0 \pm 8.8	soil ^a	Japan	3380 \pm 180
Chinese cabbage ^a		22 \pm 19	soil ^a	Japan	5540 \pm 230
Cabbage ^a		52.7 \pm 11	soil ^a	Japan	5870 \pm 260
Macrophyll ^a		12.0 \pm 6.0			

^a Itoh *et al.* (2005), ^b from Prof. Wada (Josai Univ.)

from MT-150AW, and dispersion of HD-MT-150AW in saline by sonication to obtain DIS-HD-MT-150AW.

The surface of HD-MT-150AW was coated with silica. The isoelectric point of titanium dioxide is about 5-7, so titanium dioxide nanoparticles (MT-150AW) dispersed in physiological saline can be easily agglomerated. In other words, the surface modification of MT-150AW to HD-MT-150AW by silica was effective to avoid agglomeration in neutral saline, because the isoelectric point of silica is about 2-3.

The silica content of HD-MT-150AW analyzed by fluorescent X-ray spectroscopy was 27.5 wt%. X-ray diffraction patterns of HD-MT-150AW showed that the crystal form of titanium dioxide was rutile (data not shown). No bacteria were detected in DIS-HD-MT-150AW, as determined by the plate counting method.

Fig. 2 shows transmission electron microscope images of MT-150AW and HD-MT-150AW. Fig. 1 illustrates the grading curve of HD-MT-150AW, showing that it had a relatively narrow primary particle-size distribution and a mean particle diameter of 15 nm.

Fig. 3 shows the grading curve of the particles in DIS-HD-MT-150AW. The secondary particle-size distribution was wide, with an average particle size of 0.22 μm (220

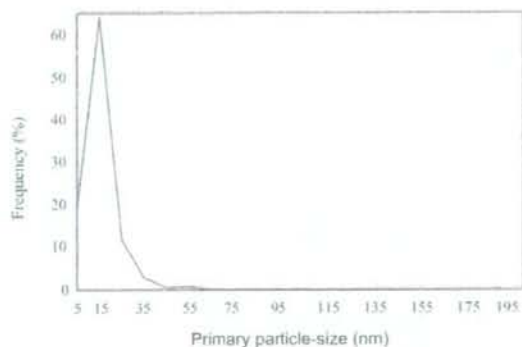


Fig. 1. Primary particle-size distribution of HD-MT-150AW analyzed by image processing software.

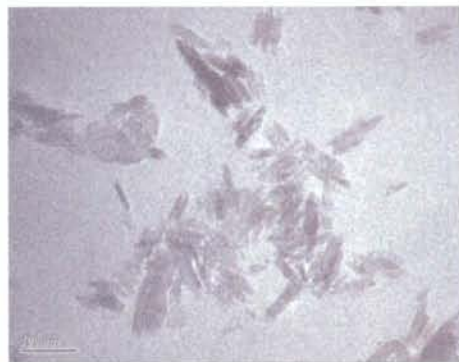


Fig. 2. Transmission electron microscope image of MT-150AW and HD-MT-150AW. Left side: MT-150AW. Right side: HD-MT-150AW.

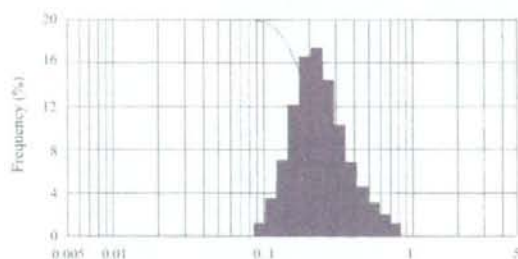


Fig. 3. Grading curve of particles in DIS-HD-MT-150AW analyzed by dynamic light scattering particle-size analyzer.

nm). Fig. 3 shows that DIS-HD-MT-150AW contains only a small number of particles with a particle diameter below 100 nm. Fig. 4 shows a transmission electron microscope image of DIS-HD-MT-150AW particles. DIS-HD-MT-150AW clearly contained the primary particles of HD-MT-150AW.

Tissue distribution of titanium after *i.v.* injection of titanium dioxide nanoparticles

Titanium was detected in the blood and tissue of healthy mice without the administration of titanium dioxide nanoparticles, and the titanium levels are shown in Figs. 5 and 6 (see blank column for control). For example, titanium concentrations in the blood and liver were 4 and 15.4 $\mu\text{g/g}$ tissue, respectively. Then, the titanium level was determined in the mouse diets and was found to be 17.5 $\mu\text{g/ml}$. Since the experimental animals consume about 5 g solid feed per day, the amount of titanium ingested was calculated to be 90 $\mu\text{g/day}$. Thus, most

titanium in mice must come from ingested titanium materials.

Forced *i.v.* injection of the nanoparticles was then performed in mice. The titanium level was significantly increased in blood and tissue, but no increase was found in the brain after *i.v.* injection. No increase in the brain level may ignore the severe toxicity reported by Long *et al.* (2007). Most titanium was concentrated in the liver after injection, followed by the kidney as shown in Figs. 5 and 6. Interestingly, the liver level decreased over time (ca 30% decrease in 1 month), suggesting that titanium must be eliminated from the body. Fig. 7 shows the total recovery of titanium from the tissues. The titanium lev-



Fig. 4. Transmission electron microscope image of DIS-HD-MT-150AW.

Safety evaluation of titanium dioxide nanoparticles

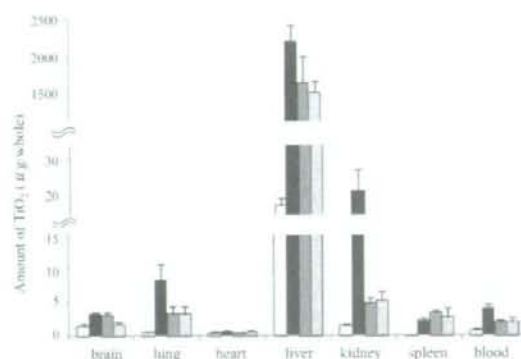


Fig. 5. Amount of TiO₂ in tissue and blood after *i.v.* injection □: before injection (control), ■, ▒ and ▫: 5 min, 72 hr and 1 month after injection. Each column represents the mean ± S.E. of 3 to 5 experiments.

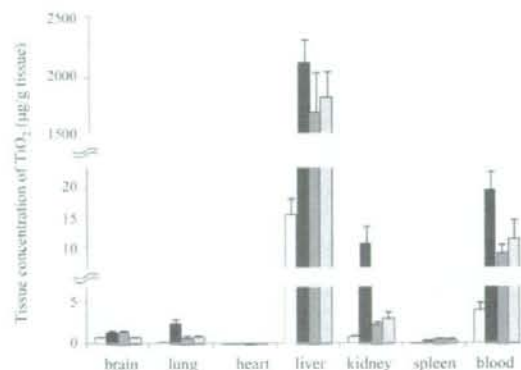


Fig. 6. Tissue concentration of TiO₂ after *i.v.* injection. Each column is the same as in Fig. 5.

el in mice apparently decreased over time after injection. Recently, a similar *i.v.* injection study of titanium dioxide nanoparticles was performed in rats by Fabian *et al.* (2008), where titanium was mostly detected in the liver and decreased over time. Jani *et al.* (1994) showed the distribution of orally administered titanium dioxide particles (100–500 nm) in the liver and spleen. Dental implants made of titanium were found to dissolve in biological tissues and were not toxic (Mu *et al.*, 2002; Hanawa, 2005). Their and our results suggest that titanium dioxide nanoparticles should be considered as a biodegradable or easily eliminated compound, not like asbestos and carbon nanotubes.

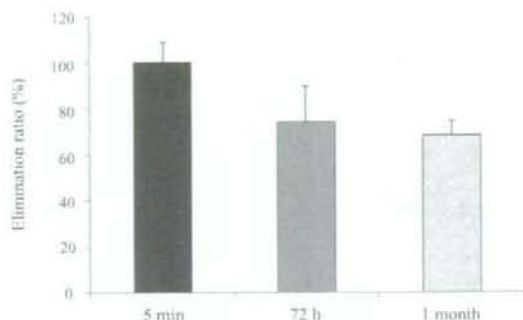


Fig. 7. Elimination ratio of TiO₂. Each column represents the mean ± S.E. of 5 experiments.

Finally, morphological evaluation was performed in mouse liver after administration of titanium dioxide nanoparticles, which were observed in hepatic cells. Titanium dioxide nanoparticles may be dissolved by macrophagic activity in the liver (Olmedo *et al.*, 2007). Detailed information will be presented in a separate paper.

Titanium was naturally contained in mice, especially in the liver, as well as in vegetables and soil. The titanium level gradually decreased after forced administration (*i.v.* injection) of titanium dioxide nanoparticles into mice. Thus, our strategy to estimate the safety of titanium dioxide nanoparticles in humans must be modified, although further experiments are necessary (Behling, 2007).

REFERENCES

- Behling, B. (2007): EC committee proposes new nanomaterials risk assessment procedure. *The Rose Sheet*, **28**, 12.
- Fabian, E., Landsiedel, R., Ma-Hock, L., Wiench, K., Wolleben, W. and van Ravenzwaay, B. (2008): Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats. *Arch. Toxicol.*, **82**, 151–157.
- Hanawa, T. (2005): Surface treatment of titanium in medical applications. *Journal of Japan Institute of Light Metals*, **55**, 553–556.
- Iler, R.K. (1959): U. S. Patent, No.2885366.
- Itoh, J., Saitoh, Y., Futatsugawa, S. and Sera, K. (2005): Elemental analysis of the vegetables on the market: Comparison with wild plants. *NMCC Annual Report*, 13.
- Jani, P.U., McCarthy, D.E. and Florence, A.T. (1994): Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *Int. J. Pharm.*, **105**, 157–168.
- Lomer, M.C., Hutchinson, C., Volkert, S., Greenfield, S.M., Catterall, A., Thompson, R.P. and Powell, J.J. (2004): Dietary sources of inorganic microparticles and their intake in healthy subjects and patients with Crohn's disease. *Br. J. Nutr.*, **92**, 947–955.

- Long, T.C., Tajuba, J., Sama, P., Saleh, N., Swartz, C., Parker, J., Hester, S., Lowry, G.V. and Veronesi, B. (2007): Nanosize titanium dioxide stimulates reactive oxygen species in brain microglia and damages neurons *in vitro*. *Environ. Health Perspect.*, **115**, 1631-1637.
- Maynard, A.D., Aitken, R.J., Butz, T., Colvin, V., Donaldson, K., Oberdörster, G., Philbert, M.A., Ryan, J., Seaton, A., Stone, V., Tinkle, S.S., Tran, L., Walker, N.J. and Warheit, D.B. (2006): Safe handling of nanotechnology. *Nature*, **444**, 267-269.
- Mu, Y., Kobayashi, T., Tsuji, K., Sumita, M. and Hanawa, T. (2002): Causes of titanium release from plate and screws implanted in rabbits. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **13**, 583-588.
- Olmedo, D.G., Tasat, D.R., Evelson, P., Gulielmotti, M.B. and Cabrini, R.L. (2008): Biological response of tissues with macrophagic activity to titanium dioxide. *J. Biomed. Mater. Res. A.*, **84**, 1087-1093.
- Scientific Committee on Consumer Products (2007): Preliminary opinion on safety on nanomaterials in cosmetic products.
- Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (2007): Opinion on the Appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the technical guidance documents for new and existing substances for assessing the risk of nanomaterials.
- Singh, R., Pantarotto, D., Lacerda, L., Pastorin, G., Klumpp, C., Prato, M., Bianco, A. and Kostarelos, K. (2006): Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **103**, 3357-3362.

化粧品に用いられるナノ粒子の暴露と安全性問題のあり方

杉林 堅次

Abstract : It is an urgent problem to evaluate safety concern of nanomaterials such as titanium oxide- and zinc oxide-nanoparticles that are broadly used as an UV-scattering cosmetic. The primary diameter of the nanomaterials is 15-50 nm. Possible exposure sites to human are the GI tracts, respiratory tracts (nasal cavity, trachea, tracheal branch and alveolus of the lung) and skin. Skin must be most important exposure site among them especially for general consumers. As easily understood by the 500 Dalton rule (where these small molecules have 0.2-0.4 nm in diameter), nanomaterials are hardly penetrated into the skin tissues through stratum corneum, primary permeation pathway of most compounds. We have to pay attention to the second permeation pathway (transfollicular pathway) of skin entry in case of nanomaterials. We also consider several wound skins which have low skin barrier function compared with normal skin for nanomaterial penetration into skin. In addition, we must consider the nanomaterial exposure in a quantitative way not qualitative way. For example, the resquamation rate and permeability coefficient of water are 1×10^{-9} and 2×10^{-7} cm/s, respectively. Physicochemical properties of nanomaterials are also important determinants for their skin entry. Evaluation study on the nanomaterial safety is just the mark of the start line. We have to pay attention to this issue.

Key words : nanomaterial, safety, skin exposure, titanium oxide nanoparticle, zinc oxide nanoparticle, 500 Dalton rule, permeability coefficient

1. はじめに

地球上に生活する我々人類に大きな影響を与える紫外線はその波長により UVA (紫外線 A 波)、UVB (紫外線 B 波) および UVC (紫外線 C 波) に分けられる。これらのうち、一番短波長域にあり地上には到達しない UVC には殺菌効果があり、

UVB にはビタミン D の生合成を助ける有用な働きがある。その一方で、UVB は表皮に侵入してサンバーン (赤い水ぶくれのような状態) と言われる肌の炎症を引き起こし、加えて、直接的に、また、間接的に活性酸素を介して、表皮細胞中の DNA を損傷させる。重篤な場合、これらは表皮細胞の細胞死や皮膚癌の原因にもなる。特に、近年のオゾン層破壊による皮膚癌発生率の増加は紫外線照射による有害事象として注目すべきである。さらに、UVA は表皮のメラノサイトを刺激して、肌の色を黒くするサンタン (日やけ) を招く。サンタン自体は肌を守る作用があるものの、UVA の半分は皮膚深部 (真皮) にまで到達して、肌のハリを支えているコラーゲン架橋結合を破壊してシワの原因になる。

紫外線防御化粧品 (UV ケア化粧品) は、この

"Margin of safety and exposure of nanomaterials used in cosmetics."

Kenji Sugibayashi (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, 城西大学薬学部薬粧品動態制御学講座—350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1)



1985 年城西大学薬学部講師, 89 年同助教授, 98 年同教授, 現在、城西大学薬学部薬粧品動態制御学講座教授, 同生命科学センター所長, 薬科学科主任, 日本香粧品科学会理事, 日本実験動物代替法学会評議員, 他。

ような人体（特に肌）に悪い影響を与える紫外線（UVA, UVB）から肌を守るために極めて有用であり、化粧品としての価値だけでなくヘルスケアにも対応できる医薬部外品になる。特に、UVケア化粧品のうち日やけ止め化粧品に、紫外線散乱剤として粒子径が15~50 nmの無機（酸化チタンや酸化亜鉛）超微粒子（ナノ粒子）が紫外線吸収剤と併用され始めるようになって、肌への紫外線防御効果が著しく高まった。

一方で、極めて細い繊維状物質でひとつのナノ材料あるアスベスト（石綿）の吸入によって肺線維症や肺癌、さらには稀な腫瘍である悪性中皮腫の危険性が大きく増すことが社会問題になった。また、この事件を契機にして、社会で広く使われているナノ材料・ナノ粒子の安全性を根本から見

直すべきであるとの機運が高まった。酸化チタンや酸化亜鉛微粒子といったナノ粒子は皮膚から吸収されないと考えられて化粧品に含有された経緯があるが、アスベスト問題が浮上してから、酸化チタンや酸化亜鉛微粒子の安全性ももう一度根本から見直す必要がある。

2. ナノ材料の安全性

ナノ材料、特に紫外線防御剤のヒトへの安全性は、暴露部位を中心に考えていくべきであろう。表1に化学物質の暴露部位とその特徴をまとめて示す。すなわち、ナノ材料（紫外線防御剤）のヒトへの暴露経路としては、消化管、気道（鼻粘膜、気管・気管支、肺胞）、そして皮膚が考えられる。表に示したように、紫外線防御剤を中心に考え

表1 ナノ材料（紫外線防御剤）の暴露部位とその特徴

暴露部位	特徴	備考	
消化管（口、胃、小腸など）	経口暴露。乳児などは小腸にバイエル板（Payer's patch）が発達しており、高分子も吸収される可能性がある。	紫外線防御剤の誤用による暴露が考えられる。	
気道	鼻粘膜	一般的に鼻呼吸において、粒径が2~20 μmの粒子では90%が鼻腔内に捕捉（暴露）される。鼻粘膜には mucociliary clearance という異物排除機能がある。鼻から脳へ直接物質が移行することがありうる。	肌に適用した紫外線防御剤が乾燥し、経気道暴露に至る可能性がある。ナノ材料を扱う作業労働者に対する危険性も考慮する必要がある（肺胞はアスベストの最も重要な暴露経路であった）。
	気管・気管支	一般的に鼻呼吸において、粒径が1~5 μmの粒子では約50%が気管気管支領域に留まるが、10~20 μmの粒子が気管・気管支まで達することは少ない。一方、口呼吸においては、10~20 μmの粒子の95%以上が気管気管支に沈着し、1~10 μmの粒子の約60~80%は細気管支レベルに沈着する。気道への沈着は粒子の性状、気道の解剖学的要因、呼吸パターンに依存している。また、気道、肺胞腔内に沈着した粒子状物質は粘液線毛上皮系を主体とするクリアランス機構によって、その多くは排除される。	
	肺胞	一般的に鼻呼吸において、1~5 μmの粒子の50%は肺胞領域に達するが、10 μm以上の粒子は肺胞レベルには沈着しない。一方、口呼吸においては、1~5 μmの粒子の40~50%は肺胞に沈着する。	
皮膚	物質の経皮吸収の最大のバリアーである角層は大きな分子は通さない。毛嚢経路でどの程度の分子が皮膚中に侵入するか検討が必要。また、皮膚に傷がある場合は、ナノ材料がその部分から深部に侵入する可能性がある。	紫外線防御剤の暴露経路としては最も重要。	

ば、その暴露経路の中心は経皮暴露であると考えられる。化粧品に含まれるナノ粒子ははたして皮膚中に滲入していくのか。

3. 物質の経皮吸収性と分子サイズ

物質のサイズ（分子量や分子容）と経皮吸収性の関係については、すでに本誌既刊号で考察したので、ここではその一部分だけを紹介する¹⁾。BosとMeinardiは「分子量500ダルトン限界説(500 Dalton rule)」を報告している²⁾。彼らは、現在までに皮膚感作性を示す物質の分子量のほとんどが500ダルトン以下であること、また、皮膚組織に薬物を送達する局所作用を期待する医薬品製剤やまた全身吸収性を期待したTDDS(Transdermal Drug Delivery Systems)中に含まれる薬物はほとんどが分子量500ダルトン以下であることを基準としてこの経験説を提唱している。すなわち、分子量500ダルトン以上の物質は皮膚を透過しないということである。分子量500ダルトン程度の物質の直径(または長径)は0.2-0.4nm程度であるのに対し、今回問題にしている紫外線防御剤中のナノ材料は15-50nmの微粒子粉体であることを考え合わせると、100倍程度の粒子径を有しているこれらナノ粒子は、常識から考えると皮膚から吸収することはほとんど不可能であると思われる。

しかし、皮膚には500ダルトン以下の物質の主要透過経路である角層に加えて、毛嚢や汗腺といった付属器官が存在するため、ナノ材料のこれら付属器官を介した侵入の可能性についても検討する必要がある。また、アトピー性炎症を呈する皮膚をはじめとしてバリア機能が著しく低下した皮膚や、傷を有した皮膚も対象にする必要があるなら、ナノ材料の皮膚透過性に及ぼす皮膚疾患や傷の影響についても評価しておく必要もあろう。

すでに本誌で考察した皮膚浸透経路に関する記述と、皮膚が溶解拡散膜なのか細孔膜なのかについての議論³⁾についても正確に理解してナノ材料の安全性について考察していかねばならない。

4. 経皮吸収の定量的理解について

科学の著しい発達につれて、微量の物質を定量できる測定機器が開発され、物質の定量感度が上昇した。今まで測定限界以下であった物質が皮膚中に見られるようになると、不思議なことに、「皮膚に浸透しない物質」から「皮膚に浸透する物質」に表現法が変わる。まったく節操ないことで、科学に携わっている者から見ると残念でならない。これは定量(程度)の概念が一般消費者だけでなく、科学者や科学・技術情報担当者にないためである。

皮膚浸透性や皮膚透過性の定量的指標として透

表2 種々物質の皮膚透過係数と皮膚透過係数の指標

透過係数 (cm/s)	指標と特徴
1×10^{-3}	角層一層の剥がれる(ターンオーバー)速度 1日で角層1層に浸透する速度
4×10^{-3}	クロモグリク酸ナトリウムのヘアレスラット皮膚透過係数
5×10^{-3}	カルセインナトリウムのヘアレスラット皮膚透過性
2×10^{-3}	1日で角層全層(20 μ m)に浸透する速度
2×10^{-7}	水分子のヒトおよびヘアレスラット皮膚透過速度 5-フルオロウラシルのヘアレスラット皮膚透過速度 ジクロフェナク酸ナトリウムのヘアレスラット皮膚透過速度
3×10^{-7}	皮膚を擦っても消えないボールペンやマジック色素の透過速度*
1×10^{-7}	ISMNのヒトおよびヘアレスラット皮膚透過係数
3×10^{-8}	ISDNのヒトおよびヘアレスラット皮膚透過係数
1×10^{-5}	リドカインのヒトおよびヘアレスラット皮膚透過係数
2×10^{-5}	5-フルオロウラシルのヘアレスラット stripped skin 透過速度
1×10^{-4}	フルビプロフェンやイブプロフェンのヘアレスラット皮膚透過係数

*角層の5層目に入れば消えないと仮定

過係数 (permeability coefficient, P , cm/s) が用いられる。角層は部位によって異なるが、約 20 層の角質細胞層からなり、約 20 μ m の厚みがある。最上層から 1 日 1 層剥がれるので、1 μ m/day、すなわち、 10^{-8} cm/s 以下の透過係数を示す物質は、まる 1 日かかってようやく角層 2 層目直前に移行したとしても、このとき物質が移行した部分 (1 層目) が体から剥がれる。 2×10^{-8} cm/s なら 1 日で約 20 μ m、すなわち角層下層まで到達する。水分子は 2×10^{-7} cm/s の皮膚透過性を示すので、数時間 (2.4 時間) で角層を透過することになる。最近ボールペン等で手にメモをとる学生をよく見かけるが、書いてすぐこの部分を擦ると文字は消される (ちなみに、これは角層上の皮脂によるものである)。しかし、しばらく (30 分ほど) してから皮膚を擦っても文字は消えない。これは文字を形成する色素が角層中 (おおよそ 5 層目以下) に滲入していくためである。これら色素の透過係数は 3×10^{-7} cm/s 以上であろうか。表 2 にこれら代表的物質の透過係数をまとめて示す。透過係数を使った皮膚透過速度の定量的概念の付与の手助けになれば幸いである。

もうひとつ、透過係数の具体的イメージに役立つのはどの程度の物質がどの程度の時間に吸収されるかということであろう。1 cm^2 の断面積を有する皮膚に適用した物質 (ただし物質は溶液として適用される) が 1 日に 1% 吸収された場合の透過係数は約 1×10^{-7} cm/s であり、10% 吸収された場合は約 1×10^{-6} cm/s となる。同様に 10% 吸収されるのに必要な時間が 24 時間なら約 1×10^{-8} cm/s で、2.4 時間なら約 1×10^{-5} cm/s ということもできる。

5. ナノ材料の性質について

ナノ材料の性質も皮膚透過性に影響する可能性

がある。ナノ材料の性質の中で皮膚透過性に強く影響すると考えられる因子には、粒子径、形状 (球形に近いとそれとも棒状に近いかなど)、表面荷電 (ゼータ電位)、硬さ (粘性) などが挙げられる。

また、酸化チタンや酸化亜鉛の超微粒子を始めとして、一般的なナノ材料が皮膚にどの部分にまたどの程度侵入し滞留するかといった定量的データが少ない現状を考えると、まだこれらナノ材料の因子を十分議論することはできない。ただ、ニキビ治療薬として adaparen のナノ粒子製剤 Differin が日本でも上市されるようになった。また、粒子とは言えないが、リポソームや他の脂質集合体 (液晶構造を有する脂質構造体を含む) など高容積の脂質集合体の皮膚適用研究も進んできた。当然、これらの研究の延長上として酸化チタンや酸化亜鉛の超微粒子の皮膚浸透性や安全性検討も進んでくるものと思われる。

なお、生体に暴露されるナノ材料の安全性は、生体に入った後に蓄積されるものと分解・代謝・消失するものに分けて考える必要がある。アスベストやカーボンナノチューブは前者の代表である。また、リポソームなどは当然後になる。紫外線散乱剤として用いられる酸化チタン超微粒子はどちらに分類されるか正しく評価してから安全性検討を開始する必要がある³⁾。

ナノ材料の安全性の評価は、いま始まったばかりである。今後の研究の進展を見守りたい。

参考文献

- 1) 杉林 堅次, *Fragrance Journal*, **35** (11), 25~28 (2007)
- 2) Bos J.D., Meinardi M.M., *Exp. Dermatol.*, **9**, 165~169 (2000)
- 3) K. Sugibayashi, H. Todo, E. Kimura, *J. Toxicol. Sci.*, **33** (3), 293~298 (2008)