
ORIGINAL ARTICLES

Service RF. U.S. nanotechnology (2007) Health and safety research slated for sizable gains. *Science* 315: 926.

Singh S, Shi T, Duffin R, Albrecht C, van Berlo D, Hohn D, Fubini B, Martra G, Fenoglio I, Borm PJ, Schins RP (2007) Endocytosis, oxidative stress and IL-8 expression in human lung epithelial cells upon treatment with fine and ultrafine TiO₂: role of the specific surface area and of surface methylation of the particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 222: 141–151.

Watanabe A, Kajita M, Kim J, Kanayama A, Takahashi K, Mashino T, Miyamoto Y (2009) *In vitro* free radical scavenging activity of platinum nanoparticles. *Nanotechnology* 20: 455105.

Zhu MT, Feng WY, Wang B, Wang TC, Gu YQ, Wang M, Wang Y, Ouyang H, Zhao YL, Chai ZF (2008) Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats. *Toxicology* 247: 102–111.

安全なナノマテリアルの開発に 資するナノ安全科学研究の最前線

*大阪大学大学院薬学研究科 毒性学分野¹⁾、
独立行政法人医薬基盤研究所 バイオ
創薬プロジェクト²⁾、大阪大学臨床医
工学融合研究教育センター³⁾
永野貴士¹⁾、堤 康央^{1~3)}、
吉岡靖雄¹⁾

はじめに

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、サブミクロンサイズ(100 nm以上)の従来素材と比較して、圧倒的に優れた有用機能を有するナノマテリアル(少なくとも一次元の大きさが100 nm以下であり、ウイルスよりも小さい)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などを適用した製品が数多く上市されている。一方でナノマテリアルは、従来素材とは異なる吸収/動態特性を有していることも相俟って、革新的機能が逆に想定外の負の生体影響を産み出し得ることが危惧され始めている。本観点から我々は、ナノマテリアルの安全性を科学的根拠に基づいて解析し、安全なナノマテリアルの選別と利用促進、安全性が懸念されるものについては安全性を確保することを最終目的とした独自のナノ安全科学研究(Nano-Safety Science研究)(図1)を推進している^{1~8)}。本総説では、我々が実施するナノ安全科学研究のなかから、安全なナノマテリアルの開発に向けた最新の成果について紹介する。

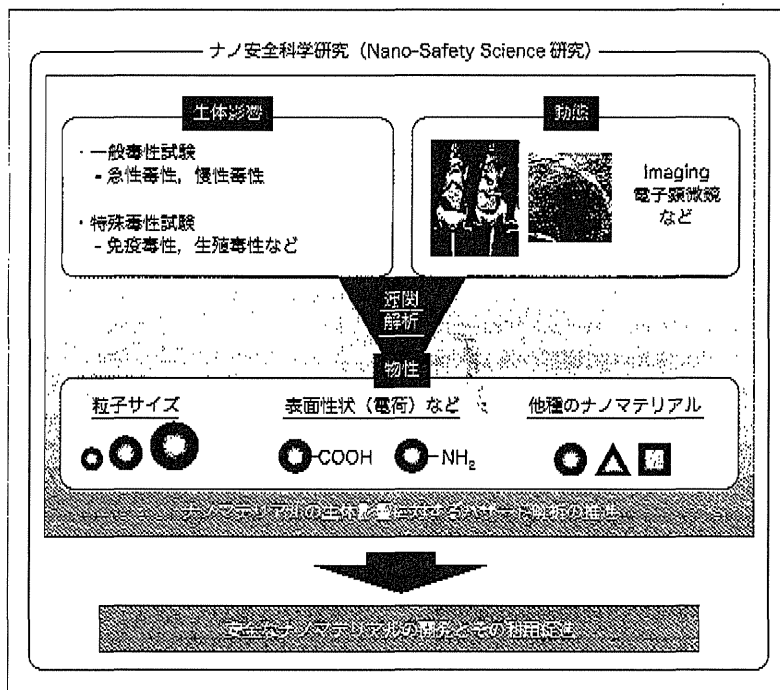


図1 ナノ安全科学研究

1. 生体免疫系による微粒子認識

近年、サブミクロンサイズの結晶質シリカやアラムアジュバントが、細胞内パターン認識受容体の1つであるNLRP3インフラマソームを活性化し、炎症応答を誘導することが報告された⁹⁾。これらの報告を契機に、微粒子センサーとも言うべき新たな分子機構が明らかとされつつある。しかし、微粒子センサーの活性化と粒子サイズの関係に関する検討は、まだまだ緒についたばかりである。以

上の点が解明できれば、学術的観点において大変興味深い知見となるのみならず、安全なナノマテリアルの開発という観点からも、きわめて重要な情報となる。そこで我々は、ナノマテリアルのなかでもヒトへの適用機会が高い非晶質ナノシリカを用いて、生体免疫系によるナノマテリアル認識機構の解明および安全なナノマテリアル開発を最終目標に、ナノマテリアルが免疫機能に及ぼす影響を評価してきた。これまでの検討において、粒子径70 nmのナノシリカ(nSP70)

*〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6
E-mail yasuo@phs.osaka-u.ac.jp(吉岡)

は、経皮塗布されることで表皮のランゲルハンス細胞や所属リンパ節などに侵入すること⁴⁾、また、経口投与によりパイエル板や腸管膜リンパ節といった腸管特有の免疫組織に局在することを明らかとしてきた。以上の事実、①ナノシリカが異物に対する強固な生体バリアを突破し、体内吸収されること、②体内吸収されたナノシリカは免疫系組織に移行することで、免疫攪乱作用を誘発する可能性を示している。そこで、ナノシリカとサブミクロンサイズのシリカを抗原とともに投与し、免疫系への影響を解析したところ、皮内投与モデル、経鼻投与モデルのいずれの検討においても、シリカの粒子径減少に伴い抗原特異的IgG抗体、IgE抗体の産生増強が認められた^{3, 5)}。以上の結果から、粒子径100 nmを閾値として、ナノシリカがサブミクロンサイズのシリカとは異なる免疫応答を惹起することが考えられた。すなわち、本結果は、粒子のサイズが免疫反応を含め、生体応答を左右する決定的なファクターである可能性を示しているといえる。本課題に関しては、独立行政法人医薬基盤研究所の石井 健先生にもご指導頂きつつ、今後は、これら生体免疫系による微粒子のサイズ認識機構を解明していくことで、安全なナノマテリアルの開発に有用な情報をもたらすと予想さ

れる。

2. 安全なナノマテリアルの開発に向けて

生体免疫系のナノマテリアル認識機構の解明に関して、我々は、遺伝毒性・生殖発生毒性などの観点からも、微粒子のサイズ認識機構の存在を示唆する成果を得ている。本稿では、生殖発生毒性のなかでも、妊娠マウスを用いた検討について紹介する。妊娠マウスに過剰量のnSP70、およびサブミクロンサイズのシリカを尾静脈内投与し、体内局在を解析したところ、nSP70のみ、母体肝臓だけでなく、胎盤にも集積するとともに、血液胎盤関門を通過し胎仔にまで移行することを明らかとした。本結果は、nSP70が母体のみならず仔に対しても、予期せぬ生体影響を及ぼす可能性を示している。そこで、nSP70の生殖発生に及ぼす影響評価を目的に、妊娠マウス・胎仔に及ぼす影響を解析した。その結果、妊娠マウスに高用量投与したハザード同定ではあるものの、nSP70投与群では、胎仔死亡率の増加とともに、胎仔体重がコントロール群よりも10%以上減少するなど、胎仔発育不全を誘発する可能性を明らかとした²⁾。なお、これら粒子の胎盤への集積や胎仔への移行、および胎仔への影響は、サブミクロンサイズのシリ

カでは認められなかった。以上の結果から、ハザード解析ではあるものの、nSP70は胎仔死亡や胎仔発育不全を誘発する可能性が示された。すなわち、シリカによる生殖発生毒性の発現は、シリカの粒子サイズの違いが要因の1つとなるといえる。

そこで、生殖発生毒性の発現において、粒子サイズ以外の要因を精査するために、粒子表面を修飾したナノシリカを用いて同様に解析した。本研究では、nSP70の表面がカルボキシル基、アミノ基で修飾されたnSP70-C、nSP70-Nを用いた。その結果、nSP70-C、nSP70-N投与群では、nSP70で認められた胎仔死亡や胎仔発育不全が一切認められず、きわめて安全性に優れていることが判明した²⁾(図2)。我々はすでに、nSP70の表面修飾が、nSP70により誘発される急性毒性や肝毒性をも軽減可能であることを明らかとしている。すなわち、粒子サイズの違いのみならず、表面性状の違いに関しても、ナノシリカによる生体影響を変化させることが明らかとなった。これらの事実を言い換えれば、極一部の安全性に懸念のあるナノマテリアルに関しても、適切に表面性状を制御することにより、安全性を担保できる可能性を示しており、安全かつ有用なナノマテリアル開発に資する基盤情報になり得ると期待される。

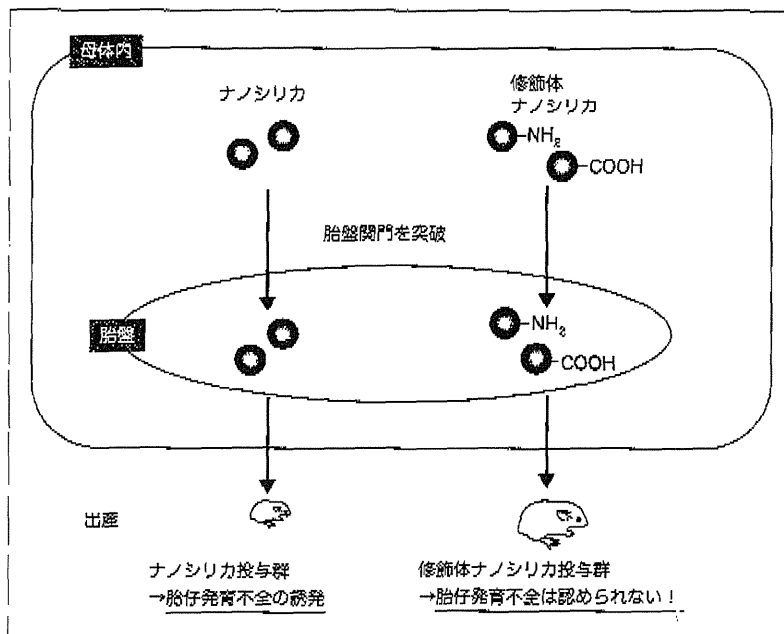


図2 安全なナノマテリアルの開発に向けて
表面修飾を最適化することで、高度に安全性を確保し得ることを明らかにし、有効かつ安全なナノマテリアルを開発できることが示唆された。

おわりに

本稿では、安全かつ有効なナノマテリアルの開発に資する基盤情報の収集を目的とした、我々のナノ安全科学研究について紹介させていただいた。今後は、粒子サイズ、表面性状などナノマテリアルの種々物性も含めた、生体免疫系によるナノマテリアル認識機構の解明を進めるとともに、ナノマテリアルの体内動態を定量的に評価し、生体影響に対する閾値設定や許容量の設定などリスク解析に資する情報収集を推進していく予定である。本研究が、ナノマテリアルの恩恵を最大限享受した豊かな社会の確立に貢献できることを期待する。

参 考 文 献

- 1) Morishige T, Yoshioka Y, Inakura H, et al. The effect of surface modification of amorphous silica particles on NLRP3 inflammasome mediated IL-1beta production, ROS production and endosomal rupture. *Biomaterials* 2010 ; 31 (26) : 6833-42.
- 2) Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nat Nanotechnol* 2011 ; 6 (5) : 321-8.
- 3) Yoshida T, Yoshioka Y, Fujimura M, et al. Promotion of allergic immune responses by intranasally-administrated nanosilica particles in mice. *Nanoscale Res Lett* 2011 ; 6 (1) : 195.
- 4) Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K, et al. Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application. *Biomaterials* 2011 ; 32 (11) : 2713-24.
- 5) Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K,

- et al. Amorphous nanosilica induce endocytosis-dependent ROS generation and DNA damage in human keratinocytes. *Part Fibre Toxicol* 2011 ; 8 : 1.
- 6) Higashisaka K, Yoshioka Y, Yamashita K, et al. Acute phase proteins as biomarkers for predicting the exposure and toxicity of nanomaterials. *Biomaterials* 2011 ; 32 (1) : 3-9.
- 7) Morishige T, Yoshioka Y, Inakura H, et al. Suppression of nanosilica particle-induced inflammation by surface modification of the particles. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 1297-307.
- 8) Hirai T, Yoshikawa T, Nabeshi H, et al. Amorphous silica nanoparticles size-dependently aggravate atopic dermatitis-like skin lesions following an intradermal injection. *Part Fibre Toxicol* 2012 ; 9 : 3.
- 9) Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell* 2010 ; 140 (6) : 821-32.

安全なナノ化粧品の開発に向けたナノマテリアルの安全性評価

吉田 徳幸,^a 吉岡 靖雄,^a 堤 康央^{*,a,b,c}

The Safety Assessment of Nanomaterials for Development of Nano-cosmetics

Tokuyuki Yoshida,^a Yasuo Yoshioka,^a and Yasuo Tsutsumi^{*,a,b,c}

^aLaboratory of Toxicology and Safety Science, Graduate School of Pharmaceutical Sciences; ^bThe Center for Advanced Medical Engineering and Informatics (MEI Center), Osaka University; 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan; and ^cLaboratory of Biopharmaceutical Research (LBR), National Institute of Biomedical Innovation (NiBio); 7-6-8 Saito-Asagi, Ibaraki, Osaka 567-0085, Japan.

(Received July 30, 2012)

A diverse array of nanomaterials (NMs), such as amorphous nanosilica (nSP), carbon nanotubes and titanium dioxide, has become widespread in use due to the development of nanotechnology. NMs are already being applied in universal fields because they have unique physicochemical properties. On the other hands, the safety of NMs has not been well assessed, because NMs have been considered as safe as common larger sized materials which are known not to be absorbed by the body. Because NMs have the potential to improve the quality of human life, it is essential to ensure the safety of NMs and provide information for designing safer NMs. In this regard, we studied the biological distribution and hazard identification of nSP following dermal administration, because nSP is used NMs in the cosmetics field. In the future, our study would help to set the no observed adverse effect level (NOAEL) and acceptable daily intake (ADI), and be useful information for the safety/hazard assessment and evaluation.

Key words—nanomaterial; Nano-Safety Science; amorphous nanosilica

1. はじめに

近年の革新的ナノテクノロジーの発展により、少なくとも1次元の大きさが100 nmよりも小さいと定義されるナノマテリアルの開発が急速に進展している。ナノマテリアルは、従来までのサブミクロンサイズ以上(100 nm以上)の素材とは異なり、サイズの微小化による比表面積の増大を反映した結果、被覆率、吸水・吸脂性などが劇的に増大するため、化粧品・医薬品・食品など様々な分野の製品に実用化が進んでいる。特に化粧品分野においては、ナノマテリアルを製品に適用することによって、従来までの化粧品と比較して、使用感・美肌効果・紫

外線遮蔽効果の向上が実現された。例えば、代表的な化粧品素材として使用されてきたサブミクロンサイズの酸化チタンは、従来まで白色顔料として使用されていたが、ナノサイズまで微小化することで、使用感・紫外線遮蔽効果という新たな機能が付加され、日焼け止めやファンデーションにまで適用範囲は拡大している。このように、今やナノマテリアルは化粧品領域において必要不可欠な存在であり、今後も、いわゆるナノ化粧品としての使用拡大、さらにはより有用性の高い、革新的な化粧品開発への応用に期待は高まるばかりである。一方で昨今、食品・化粧品への安全・安心への希求も相俟って、化粧品中ナノマテリアルの安全性評価や更なる安全性の確保が待望されている。しかし、ナノマテリアルの物性・品質を評価・管理・保障し、安全・安心に製造・使用していくための規制・ガイドラインについては、ようやく整備されようとしているに過ぎない。特に、化審法や労働安全衛生法においては、ナノマテリアルを構成する化学物質の構造式のみで規制がなされる可能性もあり、粒子径・形状・表面性

The authors declare no conflict of interest.

^a大阪大学大学院薬学研究科毒性学分野, ^b同臨床医学融合研究教育センター (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6), ^c独立行政法人医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクト (〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7-6-8)

*e-mail: ytsutsumi@phs.osaka-u.ac.jp

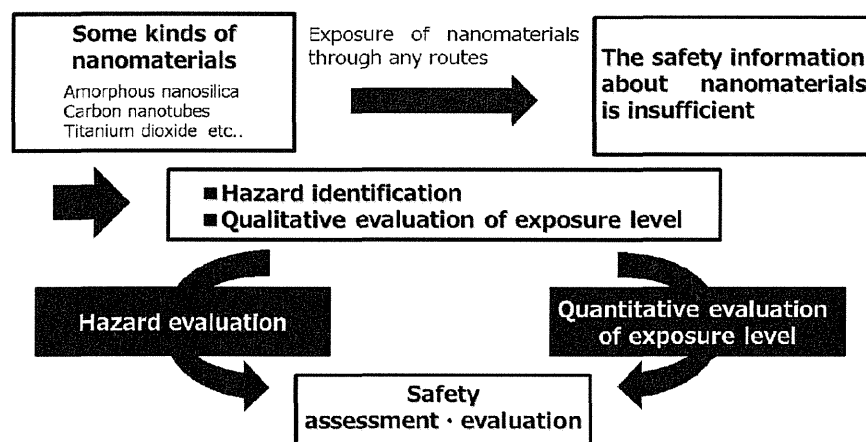
本総説は、日本薬学会第132年会シンポジウムS01で発表したものを中心に記述したものである。

状・タンパク結合性・分散/凝集状態など、ナノマテリアルに特有の品質管理・保障の規制・ガイドライン策定には程遠いのが現状である。さらに現状では、ナノマテリアルの曝露状況が不明瞭なこともあり、本来ならば最も考慮すべき曝露経路を想定した安全性情報も不十分である。したがって、今後のナノマテリアルの安全性研究には、実際の曝露経路を加味したうえで、体内に吸収されるか否かを判別し、もし吸収されるのであれば、体内動態・蓄積性・排泄経路を含めた ADME 情報を正確に把握することが必要不可欠である。そのうえで、ナノマテリアルを従来素材とは別個の素材と捉え、科学的根拠に基づいたナノマテリアルの安全性情報を収集することが課題となっている。これら情報を基にリスク解析を実施し、ナノマテリアルの no observed adverse effect level (NOAEL；最大無毒性量) や acceptable daily intake (ADI；1日許容摂取量) の設定、ひいてはハザードを誘発しない安全なナノマテリアルの創製に資する基礎情報を収集することこそが重要である。本観点からわれわれは、ナノマテリアルの安全性評価と安全なナノマテリアルの利用促進、そして安全性に懸念がある場合には安全なナノマテリアルに仕立てあげることを目的に、独自のナノ安全科学研究 (Nano-Safety Science 研究) を推進している (Fig. 1)。¹⁻¹⁶⁾ われわれはこれまで、非晶質ナノシリカ、カーボンナノチューブ、酸化チタンなど、種々のナノマテリアルを対象として、素材

の物性 (サイズ, 表面電荷, 親/疎水バランス, 形状など) と体内/細胞内動態, 生体/細胞応答の連関解析を進めてきた。そこで本稿では、非晶質ナノシリカが生産量・使用量・用途の点で最もわれわれの生活に浸透していることを踏まえて、非晶質ナノシリカの経皮曝露後の体内吸収性とハザード解析の結果を紹介する。

2. 非晶質ナノシリカの経皮吸収性評価

非晶質ナノシリカは、印刷機のトナーなどに使用されているカーボンブラックについて使用量が多いナノマテリアルであり、国内生産量は約 20000 トン、世界での年間生産量は 1 メガトン以上であり、その市場規模は 3 億 1400 万ドルにも及ぶ。非晶質ナノシリカは、サイズを微小化するに伴い、使用感や透明性、吸湿性の向上など、化粧品等の有用性を格段に向上させる機能を付与することができるため、日焼け止めやファンデーションなどの化粧品基剤に実用化されている。¹⁷⁾ 一方で安全性に関しては、2006 年の欧州化学物質生態毒性・毒性センターによる報告では、従来までのサブミクロンサイズ以上の非晶質シリカの安全性に問題はないとされている。¹⁸⁾ しかし、ナノマテリアルの動態特性を考慮すると、サブミクロンサイズの非晶質シリカに関する知見だけでは、非晶質ナノシリカの安全性を十分に確保できているとは言い難い。つまり、非晶質ナノシリカが化粧品や食品としてヒトへ常に曝露されている点を加味すると、非晶質ナノシリカは数あるナ



These information would be useful for the safety assessment and evaluation of nanomaterials and the design of useful and safer nanomaterials.

Fig. 1. Our Nano-Safety Science Study

ノマテリアルの中で最も安全性評価が急がれている素材であると言える。そこで本稿ではまず、非晶質ナノシリカの経皮吸収性/体内動態を定性的に評価した。

本検討では、1次粒子径が70 nmの実験用グレードの非晶質ナノシリカ (nSP70 と表記) を対象に、マウスを用いて *in vivo* での経皮吸収性及び体内動態を透過型電子顕微鏡により解析した。⁹⁾ nSP70 をマウス耳介皮膚に3日間及び28日間連続塗布し、投与局所及び所属リンパ節、各主要臓器におけるnSP70の局在を電子顕微鏡により観察した。その結果、表皮層に存在する角化細胞内、ランゲルハンス細胞内、神経や血管が豊富に存在する真皮層でnSP70の局在が観察された。さらに、投与局所近傍の所属リンパ節内や全身の主要臓器である脳や肝臓にもnSP70が認められた。以上の結果から、非晶質ナノシリカは生体内で最も強固な異物バリアである皮膚を透過し、脳や免疫組織に移行することが明らかとなった。この事実は、ナノマテリアルを化粧品に用いることにより、皮膚表面だけでなく、表皮や真皮にまで化粧品の美白効果や老化防止効果を発揮できるという、ナノマテリアルの有用性を示すものである。一方で、ナノマテリアルの経皮安全性評価においては、投与局所のみならず、脳や肝臓を始めとした全身レベルでの安全性評価の必要性も示唆している。特に角化細胞や表皮ランゲルハンス細胞などの皮膚の細胞は、生体防御機構の起点として働く細胞群であることを加味すると、非晶質ナノシリカの経皮曝露後のハザード解析を免疫学的観点から解析することは必要不可欠であり、次項で、非晶質ナノシリカの経皮吸収後の免疫系への影響についての知見を紹介したい。なお、上記の非晶質ナノシリカの経皮吸収性の結果はあくまでも定性的な評価によるものであり、今後、体内吸収量の定量的な解析が必須である。また、ヒトへの外挿性の観点から、よりヒトに近い皮膚を持つブタを用いた検討や、ヒトの皮膚を用いた *in vitro* での検討などが必要であると考えている。非晶質ナノシリカ以外のナノマテリアルの経皮塗布後の体内吸収性に関して、例えば非晶質ナノシリカと並んで化粧品中に既に使用されているナノ酸化チタンについて、マウスやブタを用いた検討が実施されている。¹⁹⁾ これらの検討では、ナノ酸化チタンは経皮適用しても体内吸収さ

れないとする報告が多数である。この原因の1つとして、われわれが検討に用いた非晶質ナノシリカは分散性が非常に高いが、一般に酸化チタンは凝集性が極めて高いことが知られており、上記の報告は凝集した素材の体内吸収性を評価している可能性がある。われわれの検討結果とこれら報告を加味して考察すると、今後のナノマテリアルの安全性研究には、ナノマテリアルの純度や分散/凝集状態といった、品質にも十分に考慮した解析を進める必要がある。一方で、化粧品など、経皮適用される製品にナノマテリアルを応用する際に、ナノマテリアルの分散/凝集状態を適切に調整することにより、サンスクリーン、美白剤、アンチエイジング剤などの使用目的により、皮膚表面、表皮、真皮などの各ターゲット部位を狙ってナノマテリアルを送達し、効能を生じさせるという、有用性と安全性を具備した製品の開発が実現するかもしれない。

3. 非晶質ナノシリカのアトピー病態に及ぼす影響

経皮吸収性評価の結果を踏まえ、非晶質ナノシリカの経皮吸収後の免疫系への影響解析を試みるために、代表的な皮膚免疫疾患であるアトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis; AD) モデルマウスを用いて解析した。¹³⁾ 本検討では、ADの発症や悪化の原因の1つであると考えられるヤケヒョウダニ (*Dematophagoides pteronyssinus*; Dp) の抽出抗原を曝露することにより、AD症状を発症するNC/Ngaマウスの皮内投与モデルを用いた。本モデルでは、AD病態が重症化することによって、皮膚局所の腫脹といったAD病態を生じる。本検討では、nSP70に加え、1次粒子径が30 nm, 100 nmの3種類の非晶質ナノシリカ (それぞれnSP30, nSP100 と表記)、及び300 nm, 1000 nmの2種類の非晶質シリカ (それぞれnSP300, mSP1000 と表記) を用いて、シリカとDpをともに皮内投与することで、シリカのサイズと生体影響の因果関係を解析した。なお本検討では、シリカのハザード発現を正確に把握するために、実際にヒトが経皮曝露し得る約100倍のシリカ量を用いた。まずはじめに、各検体を投与した際の耳介部を観察したところ、DpとともにnSP300, mSP1000を投与した群においては、Dp単独投与群と同程度の腫脹が観察された。一方で、nSP30, nSP70, nSP100を適用したマウスの耳介では、特に

腫れが増強していた。また、ADの代表的病変である痂皮形成、浮腫の促進は、nSP30, nSP70, nSP100適用群でのみ有意に増強されていた。以上の結果をまとめると、100 nm以下の非晶質ナノシリカをDpと投与することによって、Dp誘発性のAD病態の進行を促進させる可能性が示された。一方で、今回はあくまでADモデルマウスを用いた皮内投与の検討結果であるため、現在、現実的な経皮塗布モデルや通常マウスを用いた検討も実施し、詳細な情報を収集している。これらの結果を総合的に判断することで、非晶質ナノシリカとDpを経皮適用した際のハザード発現について、より慎重に考察する必要があると考えている。

次に、安全な非晶質ナノシリカの創製に向けた基礎情報を収集する目的で、非晶質ナノシリカ介在性のAD病態の促進機序の解明を試みた。一般に、かゆみを伴うAD病態は、アレルゲン特異的なIgEが起点となり、肥満細胞上のレセプターに結合した抗原特異的IgEの抗原との架橋反応を介し、かゆみの原因となるヒスタミンや各種炎症性サイトカインが産生され、結果的にAD病態を発症する。²⁰⁾一方で近年、細菌感染やアレルゲンへの接触を介してケラチノサイトから産生されるIL-18やthymic stromal lymphopoietin (TSLP)などのサイトカインが、IgE産生の中心を担うTh2型の免疫応答を促進し、AD病態の発症・悪化に関与する可能性が報告されている。^{21,22)}そこで、非晶質ナノシリカとDpとともに皮内投与したマウスの、血中Dp特異的IgE, Total IgE, 及び投与局所のIL-18, TSLPの発現を解析した。Dp特異的IgEとTotal IgEの産生を評価したところ、Dp単独投与群と比較して、非晶質ナノシリカを共投与した群において、特に顕著な産生増大が認められた。続いて、病態が進行している皮膚局所のIL-18とTSLPの産生を評価した。その結果、Dp単独投与群と比較して、粒子径の減少と比例してIL-18の産生が増強され、TSLPの産生は100 nm以下の非晶質ナノシリカのみ増大した。以上の結果から、非晶質ナノシリカ介在性のAD病態の促進には、IgEの産生上昇のみならず、IL-18やTSLPの産生も寄与していることが示唆された。また、粒子径の減少とIL-18産生経路の活性化が高く相関する傾向が認められた事実は、IL-18産生経路に係わるメカニズムが、シリカのサイズを

認識する可能性を示す興味深い知見である。

4. おわりに

本稿では、非晶質ナノシリカを用いた検討を中心として、経皮曝露後のナノマテリアルが誘発する、従来までのサブミクロンサイズの素材とは異なる体内動態、AD病態の促進に係わる情報の一部を紹介した。今後、無作用量や閾値の設定に加え、非晶質ナノシリカによるサイトカインの産生増強機序を明らかにする必要はあるものの、本結果から、IL-18やTSLPの産生を指標にナノマテリアルの安全性を予測・回避できるのみならず、粒子径を適切に制御することで安全なナノマテリアルの創製を実現できる可能性が示された。さらに今後は、ナノマテリアルの物性として粒子サイズ以外の、表面性状や形状・素材なども考慮し、非晶質ナノシリカの物性・動態とアトピー病態の促進の因果関係を精査する必要があるものの、安全かつ安心してナノマテリアルを化粧品分野に展開し得ることが判明した。既に筆者らは、尾静脈内投与モデルを用いた検討ではあるものの、表面性状を制御することで非晶質ナノシリカによる生殖発生毒性を回避できる可能性¹¹⁾及び細胞レベルでのDNA損傷発現や抗原処理過程の影響に関しても軽減できることを見出ししている(未発表データ)。以上の事実を加味すると、本検討で認められた非晶質ナノシリカによるAD病態の促進は、表面性状を制御するだけで回避できる可能性がある。さらに、ナノマテリアルの分散/凝集状態や純度といった品質情報をも考慮し、物性・品質-動態-生体影響の情報を考察することで、ナノマテリアル特有の物性・品質に応じた規制・ガイドラインの策定及びNOAELやADIの設定につながり、最終的には、有効かつ安全なナノマテリアルの開発に資する基盤情報になると期待している。なお、本稿では深く言及しなかったが、動物愛護の観点から、ナノマテリアルの安全性評価においても、化粧品分野で多用されるヒト細胞株活性化試験(human cell line activation test; h-CLAT)など、動物実験に替わる代替法の確立、利用が重要となってくるであろう。将来的に、筆者らのNano-Safety Science研究が、有効性と安全性を兼ね備えた高品質なナノ化粧品の開発の一助となり、人類の高質な生活の実現に貢献できることを期待している。

謝辞 本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究B一般、日本学術振興会科学研究費補助金(学術研究助成基金助成金)挑戦的萌芽研究、文部科学省地域科学技術振興施策知的クラスター創成事業、厚生労働科学研究費補助金化学物質リスク研究事業、厚生労働科学研究費補助金医療機器開発推進研究事業、厚生労働科学研究費補助金子ども家庭総合研究事業、環境省地球環境研究総合推進費、内閣府食品安全委員会食品健康影響評価技術研究、財団法人コスメトロジー研究振興財団、財団法人喫煙科学研究財団、財団法人武田科学振興財団、財団法人薬学研究奨励財団の支援を賜りました。ここに深謝申し上げます。また、本総説で紹介した研究内容は、大阪大学大学院薬学研究科 助教 吉川友章先生、国立医薬品食品衛生研究所 鍋師裕美先生、医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクト プロジェクトリーダー 角田慎一先生、サブプロジェクトリーダー 鎌田春彦先生、プロジェクト研究員 阿部康弘先生、長野一也先生を始めとする多くの方々との連携によって得られた共同成果であり、この場をお借りして御礼を申し上げます。

REFERENCES

- Morishige T., Yoshioka Y., Inakura H., Tanabe A., Yao X., Narimatsu S., Monobe Y., Imazawa T., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S., *Bio-materials*, **31**, 6833–6842 (2010).
- Morishige T., Yoshioka Y., Inakura H., Tanabe A., Yao X., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S., *Pharmazie*, **65**, 596–599 (2010).
- Morishige T., Yoshioka Y., Tanabe A., Yao X., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **392**, 160–165 (2010).
- Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Pharmazie*, **65**, 199–201 (2010).
- Higashisaka K., Yoshioka Y., Yamashita K., Morishita Y., Fujimura M., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Tsutsumi Y., *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 195 (2011).
- Hirai T., Yoshikawa T., Nabeshi H., Yoshida T., Tochigi S., Ichihashi K., Uji M., Akase T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Yoshioka Y., Tsutsumi Y., *Part. Fibre Toxicol.*, **9**, 3 (2011).
- Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Yoshikawa T., Itoh N., Tsutsumi Y., *Bio-materials*, **32**, 3–9 (2011).
- Hirai T., Yoshikawa T., Nabeshi H., Yoshida T., Tochigi S., Uji M., Ichihashi K., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Yoshioka Y., Itoh N., Tsutsumi Y., *Pharmazie*, **66**, 727–728 (2011).
- Morishita Y., Yamashita K., Yoshikawa T., Terada Y., Nabeshi H., Yoshioka Y., Itoh N., Tsutsumi Y., *Pharmazie*, **66**, 808–809 (2011).
- Nabeshi H., Yoshikawa T., Arimori A., Yoshida T., Tochigi S., Hirai T., Akase T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshioka Y., Tsutsumi Y., *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 93 (2011).
- Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Matsuo K., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Nakagawa S., Mayumi T., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Bio-materials*, **32**, 2713–2724 (2011).
- Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Part. Fibre Toxicol.*, **8**, 1 (2011).
- Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Mimura K., Morishita Y., Nozaki M., Yoshida T., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Monobe Y., Imazawa T., Aoshima H., Shishido K., Kawai Y., Mayumi T., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Yanagihara I., Saito S., Tsutsumi Y., *Nat. Nanotechnol.*, **6**, 321–328 (2011).
- Yoshida T., Yoshioka Y., Fujimura M., Yamashita K., Higashisaka K., Morishita Y., Kayamuro H., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Tsutsumi Y., *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 195 (2011).
- Hirai T., Yoshikawa T., Nabeshi H., Yoshida T., Tochigi S., Ichihashi K., Uji M., Akase T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Yoshioka Y., Tsutsumi Y., *Part. Fibre Toxicol.*, **9**, 3 (2011).

- 14) Morishige T., Yoshioka Y., Inakura H., Tanabe A., Narimatsu S., Yao X., Monobe Y., Imazawa T., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S., *Arch. Toxicol.*, **86**, 1297–1307 (2012).
- 15) Morishita Y., Yoshioka Y., Satoh H., Nojiri N., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Nabeshi H., Yoshikawa T., Tsutsumi Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **420**, 297–301 (2012).
- 16) Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Kondoh M., Yagi K., Mayumi T., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Nanotechnology*, **23**, 045101 (2012).
- 17) Napierska D., Thomassen L. C., Lison D., Martens J. A., Hoet P. H., *Part. Fibre Toxicol.*, **7**, 39 (2010).
- 18) European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, JACC Report, No. 51, 2006.
- 19) Sadrieh N., Wokovich A. M., Gopee N. V., Zheng J., Haines D., Parmiter D., Siitonen P. H., Cozart C. R., Patri A. K., McNeil S. E., Howard P. C., Doub W. H., Buhse L. F., *Toxicol. Sci.* **115**, 156–166 (2010).
- 20) Yamashita H., Michibata Y., Mizukami H., Ogihara Y., Morita A., Nose M., *Exp. Dermatol.*, **14**, 438–444 (2005).
- 21) Konishi H., Tsutsui H., Murakami T., Yumikura-Futatsugi S., Yamanaka K., Tanaka M., Iwakura Y., Suzuki N., Takeda K., Akira S., Nakanishi K., Mizutani H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 11340–11345 (2002).
- 22) Ziegler S. F., Artis D., *Nat. Immunol.*, **11**, 289–293 (2010).

ナノマテリアルの開発・安全性評価の最前線～産官学の取組み～

吉岡靖雄,^a 堤 康央^{*,a,b,c}

Recent Topics on Development of Nanomaterials and Nano-Safety Science

Yasuo Yoshioka^a and Yasuo Tsutsumi^{*,a,b,c}

^aLaboratory of Toxicology and Safety Science, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University; 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan; ^bLaboratory of Biopharmaceutical Research, National Institute of Biomedical Innovation; 7-6-8 Saito-Asagi, Ibaraki, Osaka 567-0085, Japan; and ^cThe Center for Advanced Medical Engineering and Informatics, Osaka University; 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan.

わ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、サブミクロンサイズ(数百 nm)以上の従来素材と比較して、圧倒的に優れた有用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。まさにナノテク立国の名に相応しい発展をとげているといつてよい。2015年度までに、ナノマテリアルの世界市場は250兆円にまで成長するとの見通しもあり、まさに、個人レベルで、企業レベルで恩恵を享受しつつあると言えよう。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上市されており、最近では、低分子と粒子の端境領域であるサブナノスケール(10 nm以下)にまで微小化が進んでいる。ある意味では、ピコテクと呼ぶ向きもあろうかと思うほどである。薬学領域においても、ナノメディシンとも言うべき新たな治療戦略が提唱されており、まさに21世紀を担う素材といつても過言ではない(ナノメディシンに関しては、昨今の関連学会を眺めると、ナノリポソームやナノスフェア、ナノエマルジョン、ナノデンドリマーに局限されているが、近々、これも打破されよう)。そのため、昨今の健康への関心の高まりも相俟って、21世紀テクノロジー産物としてのナノマテリアルには、安

全・安心であることがこれまで以上に強く求められている。言うまでもなく、有用・有効で、しかも高度に安全なナノマテリアルは他を圧倒する付加価値を持った知財であり、今後のナノテクノロジー研究は、これを開発するための取組みが鍵を握ってくる。さらに、知財技術立国を目指すわが国としては、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ていかなければならない。したがって今後は、ナノ毒性研究ではなく、むしろナノ安全科学研究とも言うべき、種々のナノマテリアルの物性と細胞内・体内動態、安全性との連関を追求し、高度な品質管理・品質保証も進めつつ、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、及び安全なナノマテリアルの開発支援を推進する必要がある。

本シンポジウムでは、ナノマテリアルの開発と実用化、ナノマテリアルの安全性研究、ナノマテリアルのレギュラトリーサイエンスに係わる、産官学の第一線の先生方にご講演頂いた。わが国の圧倒的な強みである「有用なナノマテリアルの開発と実用化」を最大限に活かし、このままさらに、人々や産業界がナノマテリアルの恩恵を最大限に享受していくためには、今回のシンポジウムでもみられたように、有用でしかも安全なナノマテリアルの開発と実用化研究をより一層力強く推進する必要がある。そのため、開発・実用化研究と安全性研究が両輪となって、強固に連携しつつ、互いに回転せねばならな

^a大阪大学大学院薬学研究科毒性学分野 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-6), ^b独立行政法人医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクト (〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7-6-8), ^c大阪大学臨床医工学融合研究教育センター (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-6)

*e-mail: ytsutsumi@phs.osaka-u.ac.jp

日本薬学会第132年会シンポジウム S25 序文

い。特に、産官学が個々の利益にとらわれず一致団結してリスク評価を行うとともに、リスク管理とリスクコミュニケーション、そして、何よりもリスクリテラシーを推し進め、ナノマテリアルへの社会の理解と受容の促進を図り、一方で有用性の確保や向上にチャレンジしていかねばならない。この連携、融合こそが今後の鍵となろう。薬学におけるナノ開発科学とナノ安全科学は、ナノ医薬はもとより、ナ

ノマテリアルを活用した化粧品・食品、さらには環境の安全性をも科学的に考究し、『ヒトにとって安全で安心、しかも豊かな健康環境を確立する』ことに寄与せねばならず、その期待はますます加速度を増している。本シンポジウムが、今後の産官学でのナノマテリアルの開発と実用化、その安全性確保や規制に、少しでも貢献できれば幸いである。

ナノマテリアルの安全性評価と安全なナノマテリアルの開発支援 ～ナノ安全科学研究の現状と今後～

吉岡靖雄,^{*,a} 吉川友章,^a 鍋師裕美,^b 堤 康央^{*,a,c,d}

Recent Topics about Nano-safety Science and Its Future

Yasuo Yoshioka,^{*,a} Tomoaki Yoshikawa,^a Hiromi Nabeshi,^b and Yasuo Tsutsumi^{*,a,c,d}

^aLaboratory of Toxicology and Safety Science, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University; 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan; ^bDivision of Foods, National Institute of Health Sciences; 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; ^cLaboratory of Biopharmaceutical Research, National Institute of Biomedical Innovation; 7-6-8 Saito-Asagi, Ibaraki, Osaka 567-0085, Japan; and ^dThe Center for Advanced Medical Engineering and Informatics, Osaka University; 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan.

(Received August 20, 2012)

Recently, it is concerned that nanomaterials induce undesirable biological responses (NanoTox) which is different from conventional materials attributed to their unique physicochemical properties in the world. Therefore, the movements to regulate the development and practical use of nanomaterials are accelerated in North America and Europe in corporation with Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). However, for our enjoying the benefits of nanomaterials, it is most important not to regulate nanomaterials in the blind way but to assure the security of nanomaterials and support the development of nanomaterial industries. These are duty of our country to be advanced country, technology-oriented nation and intellectual property nation. From these viewpoints, we are engaged on not NanoTox study but Nano-Safety Science study. That is, we try to research the relationship between physicochemical properties, biodistribution, intracellular localization, kinetics and biological responses (safety) of nanomaterials for the purpose of the collection and the transmission of safety information of nanomaterials based on scientific evidence lead to a support of nanomaterials' development. In this review, we would like to introduce our Nano-safety science study using mainly amorphous silica nanoparticles.

Key words—nanomaterial; Nano-Safety Science; amorphous nanosilica

1. はじめに

ナノマテリアルとは、少なくとも一次元が 100 nm 以下の素材であり、カーボンナノチューブやフラーレンのように新たに開発された素材と、ナノシリカやナノ酸化チタンなどのように古くから使用されていた素材を 100 nm 以下に微小化した素材に大

別される。ナノマテリアルは、原料が同じであっても、比表面積・強度・硬度・電子反応性などの点で、数百 nm～数 μm ほどのサブミクロンサイズの従来素材とは異なる機能を発揮する。そのため、様々な分野で革命を起こす夢の新素材として世界的に期待されており、既に多くの製品に利用・配合されている。例えば、ファンデーションや制汗スプレーなどの化粧品に多用されているナノシリカは、サブミクロンサイズのシリカと比較して使用感や皮脂の吸着作用の点で圧倒的に優れている。また、ナノ酸化チタンは白浮きしない日焼け止めの主成分として不動の地位を築いている。このように、ナノマテリアルは既にわれわれの生活に欠かせないものとなっており、今や、ナノマテリアルなくしてわれわれの生活の利便性を保てないと言ええる (ナノマテリアルの世界市場が、2015 年には 250 兆円にまで成

The authors declare no conflict of interest.

^a大阪大学大学院薬学研究科毒性学分野 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-6), ^b国立医薬品食品衛生研究所食品部 (〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1), ^c独立行政法人医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクト (〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7-6-8), ^d大阪大学臨床医工学融合研究教育センター (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-6)

*e-mail: Yasuo Yoshioka: yasuo@phs.osaka-u.ac.jp

Yasuo Tsutsumi: ytsutsumi@phs.osaka-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 132 年会シンポジウム S25 で発表したものを中心に記述したものである。

長するとの見通しもある)。すなわち、資源に乏しく技術立国・知財立国としての地位を築かざるを得ないわが国にとって、ナノテクノロジー及びその代表産物であるナノマテリアルは、まさに生命線と言っても過言ではない。しかし、ナノマテリアルの物性・品質を評価・管理・保障し、安全・安心に製造・使用していくための規制・ガイドラインについてはほとんど整備されていないのが現状である。また、規制・ガイドライン策定の基盤となる安全性評価についても、ハザード情報ですら不十分なうえに、リスク解析に必須の体内動態を始めとした曝露実態情報は極めて乏しいのが現状である。特に、粒子径・形状・表面性状・タンパク結合性・分散/凝集状態など、ナノマテリアルに特有の物性・品質と、曝露実態情報・安全性情報の連関解析は全くなされていないのが現状である。このような中で、アメリカ国立労働安全衛生研究所 (National Institute for Occupational Safety and Health; NIOSH) によるナノ酸化チタンの規制や、Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) に基づいた化粧品に含有されるナノマテリアルの成分表示義務など、既にナノマテリアルの規制や管理が開始されつつある。すなわち、ナノマテリアルを構成する化学物質の構造式のみで規制がなされようとしており、ナノマテリアルに特有の物性・品質に対する管理・保障の規制・ガイドライン策定には程遠いのが現状である。確かに、ヒト健康の確保が第一義的に重要であり、アスベストの二の舞にならぬように、迅速なリスク管理が求められてはいるものの、安全性を担保あるいは予測するための科学的かつ具体的な情報に乏しい状況下で規制や管理が先行すると、風評被害によって安全なナノマテリアルまでもが闇に葬られかねない。ナノマテリアルの恩恵を享受した豊かな社会の実現に向けて、またわが国が、技術立国・知財立国としてあり続けるためにも、ヒト（製造現場、ユーザーなど）の健康確保や生態/生体系の保全を高度に達成しつつ、ナノマテリアルの不当な社会拒絶は絶対に避けなくてはならない。したがって、ナノマテリアルの物性・品質を考慮したうえで、単にハザードを同定するだけでなく、曝露実態を加味したナノマテリアルの定量的な安全性情報を収集し、適切にリスクを解析・評価するための情報を収集していくことが最

優先課題である。さらにその両輪として、最も重要なことは、現象論で議論するのではなく、サイエンスに立脚したハザード発現メカニズムを明らかにすることによって、安全なナノマテリアルを創製するための基盤情報を収集するとともに、安全性に懸念があるものについても安全なものに仕立て上げる技術開発が必要であろう。

本観点からわれわれは、ナノマテリアルの安全性を科学的根拠に基づいて解析し、安全なナノマテリアルの選別と利用促進、安全性が懸念されるものについては安全性を確保することを最終目的とした独自のナノ安全科学研究 (Nano-Safety Science 研究) (Fig. 1) を推進している。¹⁻¹⁴⁾ 本稿では、ナノマテリアルの中でも最も汎用されているものの1つである非晶質ナノシリカに焦点を絞って、われわれの取組みを題材にナノマテリアルの安全性評価研究の現状及び課題をご紹介させて頂き、各方面の先生方からご意見・ご批判を仰ぎたい。

2. 非晶質ナノシリカの体内動態評価

非晶質ナノシリカは、ナノマテリアルの中でも人体に直接適用する製品において使用量が多い素材であり、ヒトへの曝露機会が高いナノマテリアルの1つである。例えば、使用感の向上を目的としたファンデーションなどの化粧品基材や、固結防止作用を目的とした粉末調味料などの食品添加物に幅広く用

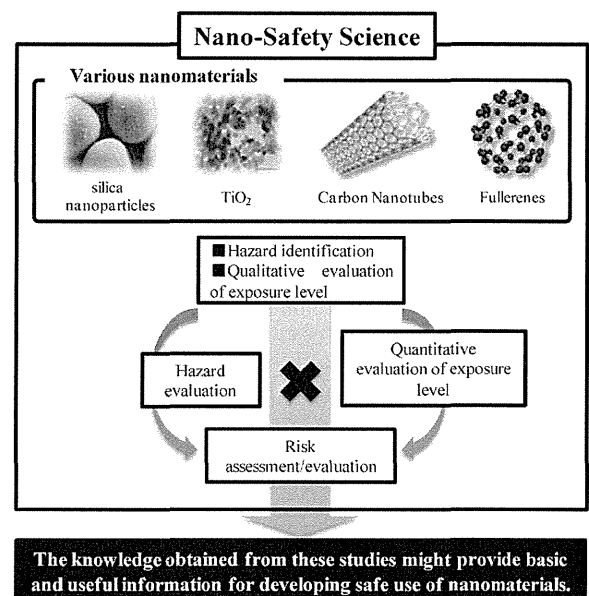


Fig. 1. Our Nano-Safety Science Study

いられている。また、薬学領域においては、遺伝子送達キャリアなどの薬物送達素材としても期待されている。食品中に含まれる非晶質ナノシリカの主流は35 nm前後であるが、現時点で7 nmの非晶質ナノシリカも使用されており、今後、サイズの微小化とそれに伴う機能の向上はさらに進行すると予想されている。厚生労働省によると、ヒトの1日シリカ摂取量は少なくとも500 µg/dであると推定されている。一方で、国外においてはコーヒークリーマーに5.1 g/kg、スパイスミックスに4.9 g/kg、インスタントスープに0.6 g/kg、粉末ソースに5.4 g/kgで含有される例が報告されている。仮にこれら4製品を1日に摂取するだけで非晶質ナノシリカの摂取量は750 mg/dとなり、500 µg/dをはるかに超えることから、われわれは推定値以上に非晶質ナノシリカを摂取していると考えられる。すなわち、非晶質ナノシリカはわれわれの生活に浸透し、老若男女、妊婦を問わず曝露を避け得ない現状にあり、その安全性確保、さらには安全な非晶質ナノシリカの設計が急務となっている。

非晶質ナノシリカの安全性評価にあたり、既に食品、化粧品分野で実用化されていることを考慮して、経口投与、及び経皮塗布における体内吸収性・組織移行性を評価した。なおわれわれは、製造現場や環境中に放出された非晶質ナノシリカに対する、非意図的吸入曝露による影響についての解析も鋭意進めているところである。まず、一次粒径が70 nmの非晶質ナノシリカ(nSP70)を28日間連続でマウスに経口投与、あるいは経皮塗布し、体内吸収性を評価した。⁶⁾ その結果、従来のサブミクロンサイズ以上の非晶質シリカでは考え難かったことではあるが、nSP70は腸管、並びに皮膚のバリアを突破し、いずれの経路においても体内に移行することが明らかとなった。また、体内移行後の局在を解析したところ、肝臓や脳などの遠隔部位を含めた、全身のあらゆる組織で粒子が観察された。以上の事実は、nSP70を経口、あるいは経皮から曝露することで、体内に吸収され、血流を通じて全身組織に移行することを示唆している。したがって、nSP70の経口投与・経皮塗布の影響を解析するにあたって、曝露局所の影響だけでなく、全身を対象とした生体影響を評価する必要がある。一方で本検討においては、体内吸収性を解析するために非常に高用量の投

与であったにもかかわらず、生化学検査などの一般毒性学的解析において顕著な生体影響は認められなかった。そのため、nSP70の安全性に関して大きな懸念はないと考えられるものの、今後、体内蓄積性などを考慮し、より長期の検討などを実施する必要があると考えられる。特に、体内吸収量の定量的解析や、ハザード発現の閾値などをより詳細に解析し、リスク解析に向けた情報を引き続き収集する必要がある。

3. 非晶質ナノシリカが体内移行した際のハザード同定

前項の検討から、非晶質ナノシリカが経口・経皮曝露により体内に吸収され、全身組織に分布し得ることが明らかとなった。そのため、非晶質ナノシリカが血中移行し全身循環した際のハザード情報を収集することが必要不可欠となる。そこで、非晶質ナノシリカが全身循環した際の局在・影響を、粒子径300 nm (nSP300)、1000 nm (mSP1000)であるサブミクロンサイズの従来型非晶質シリカと比較した。⁶⁾ まず、血中移行後の体内局在を詳細に解析するため、マウスの静脈内にnSP70、nSP300、mSP1000を投与し、*in vivo*イメージングを実施した。その結果、いずれの粒子も肝臓に局在する傾向が認められるものの、nSP300、mSP1000が胆嚢に集積したのに対して、nSP70は胆嚢のみならず、肝臓全体にわたって集積している像が得られた。さらに、透過型電子顕微鏡を用いて詳細に組織内局在を解析したところ、nSP300、mSP1000が主に肝クッパー細胞(肝臓内の免疫担当細胞)内に取り込まれていたのに対し、nSP70のみが肝実質細胞(肝臓固有の機能を担う細胞)内にまで移行していることが明らかとなった。以上の結果から、非晶質ナノシリカは、従来型非晶質シリカとは全身循環した際の体内局在が全く異なることが明らかとなった。

次に、静脈内投与後の安全性評価を試みた。実際に使用されている非晶質ナノシリカが様々な表面修飾を施されていることを考慮し、nSP70、nSP300、mSP1000に加え、nSP70の表面がアミノ基、カルボキシル基で修飾された非晶質ナノシリカ(nSP70-N、nSP70-C)を用いた。その結果、nSP70-N、nSP70-C、nSP300、mSP1000に関しては、静脈内に過剰量を投与するという極めて過激な実験系にもかかわらず、生化学検査、血球検査などの一般毒性学試験に

においては目立った異常所見は観察されなかった。一方で、表面未修飾の nSP70 に関しては、マウスに対する肝毒性、血液凝固異常、及び急性致死毒性が観察された。以上の結果から、多くの非晶質ナノシリカ素材に関しては安全であると考えられる一方で、特定の表面性状を持つものに関しては、従来型非晶質シリカにはないハザードを発現してしまう可能性が示された。今後、非晶質ナノシリカの表面性状と生体影響の連関をより詳細に解析していくことが、ハザード発現メカニズムの解明、及び非晶質ナノシリカの安全性をより高度に担保することにつながると思われる。

4. 妊娠マウスに対する安全性評価

われわれは非晶質ナノシリカが全身循環した際の影響について、一般毒性のみならず、遺伝毒性、免疫毒性、生殖発生毒性など、特殊毒性学的な解析も鋭意進めており、次に、妊娠マウスを用いた生殖発生毒性について紹介する。妊婦や胎児は外来異物や化学物質に対して脆弱であること、それら個体の受けた悪影響は、数世代に渡り引き継がれてしまう可能性があることから、生殖発生毒性などの次世代影響は最優先で評価されるべき項目である。しかし、ナノマテリアルの次世代影響に関する情報は他の評価項目と比較してもいまだ乏しいのが現状である。そこで、非晶質ナノシリカを妊娠マウスの母体に投与し、胎児に与える影響を評価した。⁹⁾ まず、妊娠マウスにおける非晶質ナノシリカの体内動態について検討した。妊娠マウスに過剰量の nSP70, nSP70-N, nSP70-C, nSP300, mSP1000 を静脈内投与し、各粒子の体内局在を解析したところ、いずれも肝臓に集積するものの、nSP70, nSP70-N, nSP70-C は胎盤に移行するとともに、血液胎盤関門を通過し胎児にまで移行する様子が観察された。一方で、nSP300 や mSP1000 は、胎盤や胎児への移行は全く観察されなかった。一般に血液胎盤関門は分子量 1000 以上の物質を受動的に通過させないため、nSP70 の胎児への移行には能動的な機序が関与していると考えられる。今後は、血中から胎児に移行する nSP70 の量を定量的に測定するとともに、蓄積量などを詳細に検討する必要がある。

次に、ナノマテリアルが胎児に及ぼす影響を評価するため、妊娠後期のマウスに過剰量の各非晶質シリカを静脈内投与し、ハザード解析を試みた。⁹⁾ 母

体体重を測定した結果、nSP70-N, nSP70-C, nSP300, mSP1000 投与群は未処理群と変化が認められない一方で、nSP70 投与群においてのみ投与後から著しい母体体重の減少が観察された。そこで、胎児吸収率、子宮重量を評価した結果、母体体重と同様に、nSP70-N, nSP70-C, nSP300, mSP1000 投与群では変化は観察されなかったが、nSP70 投与群においてのみ胎児吸収率の増加が認められ、子宮重量も有意に低下していた。さらに、nSP70 投与群では胎児体重がコントロール群よりも 10% 以上減少し、胎児発育不全を誘発していることが明らかとなった。本結果は、従来型のサブミクロンサイズの非晶質シリカや、多くの非晶質ナノシリカについては安全性が高いことを示すとともに、過剰量の静脈内投与によるデータではあるものの、ナノマテリアルの胎児毒性にも十分留意する必要があることを示している。さらに、最も重要なことであるが、本データは、極一部の安全性に懸念のあるものに関しても、適切な表面修飾を施すことにより、安全性を担保できる可能性を示している。今後は、経皮・経口投与など実際の曝露経路における検討や、曝露実態を考慮した投与量での評価など、より詳細な検討を進める必要があると考えられる。

5. ハザードメカニズムの解明

胎児発育不全により、胎児体重が平均体重より大きく減少する疾患は、子宮内胎児発育遅延 (intra-uterine growth restriction; IUGR) と呼ばれており、近年増加傾向にある。IUGR は成長の遅延だけではなく、胎児の生命にも係わる疾患であり、IUGR 児のおおよそ 1/3 に分娩前の胎児仮死の兆候がみられ、場合によっては子宮内胎児死亡につながることもある。さらに IUGR は、ヒトにおいても出生後のアレルギー性疾患や生活習慣病のリスクファクターとなることが明らかとなっており、克服すべき重要疾患の一つである。そこで、より有効かつ安全なナノマテリアルの創製に向けて、nSP70 の IUGR 誘発メカニズムの解明を試みた。⁹⁾ IUGR の疾患誘発要因としては、1) 妊娠高血圧や貧血など母体の要因、2) 先天性染色体異常など胎児の要因、3) 血栓や胎盤機能不全など胎盤の要因が知られている。特に、妊娠高血圧と胎盤機能不全が最も大きな要因とされ、IUGR 全体の 70% ものケースにおける主要因とされる。われわれは、nSP70 が母体血圧に

影響を与えないことを明らかとしているため、nSP70が胎盤を傷害することで胎盤機能不全を誘発した可能性を考えた。そこで、nSP70投与群での胎盤形成について組織病理学的に評価した。その結果、脱着膜において一部壊死、炎症細胞の浸潤が認められるとともに、トロホブラストの形態異常、さらには螺旋動脈の形成不全が観察された。また羊膜においては、血管は正常に形成されているものの、血球がほとんど認められず顕著な血流障害が誘発されていると考えられた。すなわちnSP70は、螺旋動脈の形成不全、それに伴う羊膜での血流障害を誘発したものと推察された。以上の結果から、妊娠マウスがnSP70に曝露されると、nSP70は胎盤に移行し組織障害を誘発することで、IUGRなどを惹起する可能性が示唆された。

6. 「こころ」の安全科学に向けて

日本国内において、全国の小中学生の6.3%が自閉症、学習障害、注意欠陥多動性障害などに罹患していることが知られており、成長過程の子供の不安・鬱といった心的感情である情動機能の異常や、記憶・学習などの認知機能の異常が問題視されている。一般的に、これら情動・認知機能異常の発症・悪化には、遺伝的要因のほか、虐待や孤独感・疎外感など、家庭環境や友人関係から起こる社会的なストレスや生活環境が関与し、それら種々の影響が加算されて生じると考えられていた (Two-Hit Hypothesis)。一方で近年、情動・認知機能異常の発症に、環境物質などの妊娠期曝露が関与する可能性が疫学研究により報告されている。例えば、妊娠期のインフルエンザ感染が、子の統合失調症罹患率を増加させる可能性や、殺虫剤への妊娠期曝露が、子の自閉症罹患率を増加させる可能性が報告されている。これらの知見は、従来までの、子供の「こころ」の問題に新たな視点を与えるものである。すなわち、子供の「こころ」の問題に向き合う際には、環境物質の曝露が先天的な情動・認知機能に関与する可能性をも加味する必要がある。したがって今後は、「こころの安全科学」ともいうべき、新規の学術領域に着目し、環境物質と情動・認知機能の因果関係の解明を目指していくことが、重要課題であると考えられる。上記の観点からわれわれは、ナノマテリアルの次世代影響の解明に向けた次なる取組みとして、ナノマテリアルの妊娠期曝露が次世代の

「こころ」の発達に及ぼす影響評価を推進している。

7. おわりに

本総説では、試薬グレードの非晶質ナノシリカを用いた検討ではあるものの、粒子径が変化することによって体内動態が変化し、その結果、ナノマテリアルと従来素材では、生体影響も異なってくる可能性を明らかにした。一方で、表面修飾を最適化することで、高度に安全性を確保し得る可能性を明らかとし、安全かつ有用なナノマテリアルの開発・実用化に向けた方向性を示した。実用化されているナノマテリアルの多くに種々の表面修飾などが施されているという事実を踏まえて考えると、当然、それぞれの素材・物性のマテリアルに対する安全性評価が必要であるものの、実用化されている多くのナノマテリアルが安全に使用できるものと考えている。現在われわれは、安全なナノマテリアルの創製に資する基盤情報の収集として、今回紹介した非晶質ナノシリカを用いた検討を始め、様々なナノマテリアルの物性と、あらゆる曝露経路における生体影響の連関を解析している。また、粒子径・形状・表面性状・タンパク結合性・分散/凝集状態などナノマテリアルに特有の物性・品質と、曝露実態情報・安全性情報との連関解析も試みている。今後は、適切なリスク解析に向けて、ハザード同定で得られた情報を基に、吸収・分布・代謝・排泄・蓄積性といった動態 (ADME) 情報を定性・定量解析し、曝露実態を解明するとともに、定量的なハザード解析を推進し、リスク解析に資する情報の集積を図らねばならない。そして、安全性情報を収集したうえで、安全性の高いものは実用化を推進し、安全性の低いものは表面性状制御を始めとした適切な方策を講じて安全性を高めていくことで、ヒト健康の確保と同時に、われわれがナノテクノロジーの恩恵を享受しつつナノ産業界の発展も達成できるものと考えている。わが国は、ナノマテリアル加工技術が世界で最も進歩しており、安全なものを先駆けて産み出す力を持っている。すなわち、有効でしかも安全という、圧倒的優位性を持ったナノマテリアルを産み出すことが知財立国・技術立国としてのわが国の進むべき道であると考えられる。本稿では誌面の都合上、筆者らの知見の一例のみ紹介させて頂いたが、今後、こういった Nano-Safety Science 研究を積み重ねることで、ヒトの健康環境を確保しつつ、ナノ

産業の発展にも寄与できるものと期待している。

謝辞 本研究は、厚生労働科学研究費補助金化学物質リスク研究事業、厚生労働科学研究費補助金医療機器開発推進研究事業、内閣府食品安全委員会食品健康影響評価技術研究、薬学研究奨励財団の支援を賜りました。ここに深謝申し上げます。また、本総説で紹介した研究内容は、医薬基盤研究所 バイオ創薬プロジェクト プロジェクトリーダー 角田慎一先生、サブプロジェクトリーダー 鎌田春彦先生、プロジェクト研究員 阿部康弘先生、長野一也先生を始めとする多くの方々の連携によって得られた共同成果であり、この場をお借りして御礼を申し上げます。

REFERENCES

- 1) Morishige T., Yoshioka Y., Tanabe A., Yao X., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **392**, 160–165 (2010).
- 2) Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Morishita Y., Yoshida T., Fujimura M., Kayamuro H., Nabeshi H., Yamashita T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Kawai Y., Mayumi T., Yoshikawa T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Inflammation*, **33**, 276–280 (2010).
- 3) Higashisaka K., Yoshioka Y., Yamashita K., Morishita Y., Fujimura M., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Yoshikawa T., Itoh N., Tsutsumi Y., *Biomaterials*, **32**, 3–9 (2011).
- 4) Nabeshi H., Yoshikawa T., Akase T., Yoshida T., Tochigi S., Hirai T., Uji M., Ichihashi K., Yamashita T., Higashisaka K., Morishita Y., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshioka Y., Tsutsumi Y., *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 464 (2011).
- 5) Nabeshi H., Yoshikawa T., Arimori A., Yoshida T., Tochigi S., Hirai T., Akase T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshioka Y., Tsutsumi Y., *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 93 (2011).
- 6) Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Matsuo K., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Bio-materials*, **32**, 2713–2724 (2011).
- 7) Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Part. Fibre. Toxicol.*, **8**, 1 (2011).
- 8) Tsutsumi Y., Yoshioka Y., *Nat. Nanotechnol.*, **6**, 755 (2011).
- 9) Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Mimura K., Morishita Y., Nozaki M., Yoshida T., Ogura T., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Monobe Y., Imazawa T., Aoshima H., Shishido K., Kawai Y., Mayumi T., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Yanagihara I., Saito S., Tsutsumi Y., *Nat. Nanotechnol.*, **6**, 321–328 (2011).
- 10) Yoshida T., Yoshioka Y., Fujimura M., Yamashita K., Higashisaka K., Morishita Y., Kayamuro H., Nabeshi H., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Itoh N., Yoshikawa T., Tsutsumi Y., *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 195 (2011).
- 11) Hirai T., Yoshikawa T., Nabeshi H., Yoshida T., Tochigi S., Ichihashi K., Uji M., Akase T., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Itoh N., Tsunoda S., Yoshioka Y., Tsutsumi Y., *Part. Fibre Toxicol.*, **9**, 3 (2012).
- 12) Morishige T., Yoshioka Y., Inakura H., Tanabe A., Narimatsu S., Yao X., Monobe Y., Imazawa T., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Mukai Y., Okada N., Nakagawa S., *Arch. Toxicol.*, **86**, 1297–1307 (2012).
- 13) Morishita Y., Yoshioka Y., Satoh H., Nojiri N., Nagano K., Abe Y., Kamada H., Tsunoda S., Nabeshi H., Yoshikawa T., Tsutsumi Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **420**, 297–301 (2012).
- 14) Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Arimori A., Isobe M., Tochigi S., Kondoh S., Hirai T., Akase T., Yamashita T., Yamashita K., Yoshida T., Nagano K., Abe Y., Yoshioka Y., Kamada H., Imazawa T., Itoh N., Kondoh M., Yagi K., Mayumi T., Tsunoda S., Tsutsumi Y., *Nanotechnology*, **23**, 045101 (2012).

ナノ安全科学研究の最前線

大阪大学大学院薬学研究科 吉岡靖雄、堤 康央
yasuo@phs.osaka-u.ac.jp, ytsutsumi@phs.osaka-u.ac.jp

はじめに

少なくとも1次元が100 nm以下の大きさ(ウイルスとほぼ同じ大きさ)であるナノ材料は、サブミクロンサイズ以上(100 nm以上)の従来素材とは異なる画期的機能を発揮することから、様々な分野で夢の新素材として期待されている。例えば、電化製品・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などを適用した製品が数多く上市されている。また最近では、低分子と粒子の端境領域であるサブナノスケール(10 nm以下)にまで微小化が進んでいる。ナノ材料の世界市場は、2015年には250兆円にまで成長するとの見通しもあり、今後ますます、我々の生活に欠かせないものとなるであろう。そのため、昨今の健康への関心の高まりも相俟って、21世紀テクノロジー産物としてのナノ材料には、有用・有効なのは当たり前で、安全・安心であることがこれまで以上に強く求められている。特に、ナノテク立国を目指す我が国においては、安全・安心と高品質保証は、他を圧倒する付加価値となろう。言うまでも無く、有用・有効で、しかも高度に安全なナノ材料は他を圧倒する付加価値を持った知財であり、今後のナノテクノロジー研究は、これらを開発するための取り組みが鍵を握ってくる。さらに、知財技術立国を目指す我が国としては、ナノ材料の開発・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、ナノ材料の安全性を高度に保障していかなければならない。一方で、ナノ材料の安全性研究の現状は、ナノ材料の腹腔内や静脈内への過剰量投与によるハザード同定が中心であり、実際の曝露実態を加味した投与量・投与経路での体内動態や細胞内動態を追求し、リスク(ハザードと曝露時間・量との積算)

を解明しようとする研究は国内外を問わず乏しい。さらに、粒子径・形状・表面性状・蛋白結合性・分散/凝集状態など、ナノ材料に特有の物性・品質と、曝露実態・安全性の連関解析はほとんどなされていないのが現状である。したがって我々は、ナノ材料の物性・品質が、体内動態・安全性に及ぼす影響を精査したうえで、純度といった一般化合物と同様の品質管理・保障は勿論のこと、ナノ材料特有の物性・品質に応じた規制・ガイドライン策定に向けた取り組みを開始せねばならないであろう。そのためには、合成化学、ナノ工学、毒性学など多分野の研究者が一致団結し、分野横断的な安全性・開発研究を産官学一体となって推進する必要がある。

本観点から我々は、ナノ材料の安全性を科学的根拠に基づいて解析し、安全なナノ材料の選別と利用促進、安全性が懸念されるものについては安全性を確保し、高度な品質保証に叶うナノ・レギュラトリーサイエンスを目指した独自のナノ安全科学研究(Nano-Safety Science 研究)を推進している [1-14]。本総説では、我々が実施するナノ安全科学研究の中から、安全なナノ材料の開発に向けた成果について紹介する。

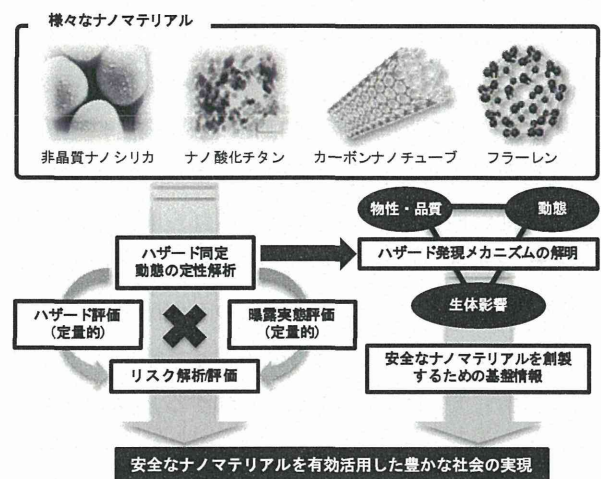


図1 ナノ安全科学研究

ナノ安全科学研究

我々は、ナノマテリアルの安全性確保及び安全なナノマテリアルの創製に資する基盤情報の収集を目的としたナノ安全科学研究を推進しており、ナノマテリアルの物性と体内動態、生体影響の連関評価を試みてきた。ここでは、我々のナノ安全科学研究の中から、非晶質ナノシリカを用いた研究について紹介させていただきたい。非晶質ナノシリカは、ナノマテリアルの中でも人体に直接適用する製品において使用量が多い素材であり、ヒトへの曝露機会が高いナノマテリアルの一つである。例えば、使用感の向上を目的としてファンデーションなどの化粧品基材、固結防止作用を目的として粉末調味料などの食品添加物に幅広く用いられている。また、遺伝子送達キャリアなどの薬物送達素材としても期待されている。我々はこれまでの検討から、粒子径 100 nm 以下のナノシリカが、経皮・経口・経鼻等の経路からも体内吸収され、脳や胎盤といった特にバリア機能の発達した部位や、細胞の核内にまで到達し得ることを明らかとしてきた。そこで、粒子径 70 nm のナノシリカ (nSP70) と、対照群として 300、1000 nm の従来型シリカ (nSP300、mSP1000) を用い、粒子径と体内局在、ハザードとの関係を精査した。まず、体内吸収後の安全性評価の観点から、静脈内投与後の各粒子の局在を解析した。その結果、6 時間後には nSP300、mSP1000 が胆のうのみに集積していたのに対し、nSP70 は肝臓全体に広がって分布していることが示された。さらに、透過型電子顕微鏡観察の結果、nSP70 のみが肝実質細胞内にまで侵入しており、この結果と相関して、過剰量の投与では、nSP70 投与群でのみ肝実質細胞の強い傷害に起因した重篤な肝障害や、血液凝固系異常などを伴う急性致死毒性が観察された。また、これら劇的なハザードが観察されない投与量においても、nSP70 の妊娠母体への投与によって、nSP70 のみが胎盤に移行するとともに、血液胎盤関門を突破して胎仔にまで侵入し、胎仔発育不全の誘発に注意する必要があることを明らかにした。以上の結果から、粒子径の違いにより、シリカの体内・細胞内動態、さらにはその

生体影響までもが変化することが示された。次に、安全なナノシリカの創製に向け、nSP70 の表面がアミノ基、カルボキシル基で修飾された nSP70-N、nSP70-C を用いて、表面性状と生体影響の関係を精査した。その結果、表面修飾体では nSP70 で認められた急性致死毒性や胎仔毒性等が一切観察されず、安全性が飛躍的に向上することが明らかとなった。すなわち、本研究の最も重要な点は、ナノシリカの表面修飾が、その有効性を保持しつつ、安全性を担保できる極めて有望なアプローチになり得る可能性が示されたことである。さらに現在、ナノカーボン素材に関しても、物性と動態、生体影響の連関情報を収集している。一例をあげると、これまでに我々は、様々な物性のカーボンナノチューブを用い、カーボンナノチューブによる DNA 傷害性や起炎症性などのハザードが、長さ、太さといったカーボンナノチューブの形状 (物性) により規定され、物性を制御することで、安全性が向上する可能性を明らかとしている。また、フラーレン C60 は適切な表面修飾により、高度に安全性を確保しつつ、圧倒的な抗炎症作用を発揮させ得ることを我々は認めており、現在、その実用化を目指した研究を推進中である。今後は、ナノカーボン素材に関しても、表面修飾による表面性状の変化と、生体影響との連関解明を図ることで、より安全性に優れた素材の創製が可能になると期待される。

今後の展望

ナノマテリアルの安全性が懸念されていることの根底には、従来の化審法と同様、物質名のみに基づいた安全性の議論が中核であったことも一因にある。裏を返せばこれは、粒子径・形状・表面性状・蛋白結合性・分散/凝集状態といったナノマテリアルの物性・品質と、動態やハザードとの連関情報などの、ナノマテリアルの安全性確保に資する具体的情報が乏しいことを意味している。そのうえ、肝心の曝露実態情報、即ち、どういった経路でヒトが曝露し、どの程度が吸収され、体内・細胞内のどこに分布し、どの程度の期間、蓄積され、そしてどのように排泄