

acid. The mobile phase was prepared as follows: 0.1 M sodium acetate was mixed with 0.1 M citric acid in a 10:9 ratio, and was adjusted to pH 3.5 (0.1 M sodium acetate-citric acid buffer), mixed with methanol in a ratio of 85:15 and then supplemented with sodium 1-octanesulfonate (100 mg/l), EDTA (2Na) (5 mg/ml). DA, 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), 3-methoxytyramine (3-MT), NA, normetanephrin (NM), 3-methoxy-4-hydrophenyl (MHPG), 5-HT, and 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5-HIAA) were analyzed.

Protein assay

Pellets were resuspended in 100 mM Tris-HCl (pH 10.4) and protein concentration was determined using Advanced Protein Assay Reagent (Cytoskeleton Inc., Denver, CO, USA). Measurements were performed according to the manufacturer's protocol.

Statistical analysis

The data were expressed as mean \pm S.E.M. Differences between groups were examined for statistical significance using a Mann-Whitney *U*-test. $P < 0.05$ indicated statistical significance.

RESULTS

Size distribution and agglomeration state in suspension of ZnO NPs

A scanning electron microscope image of ZnO NPs dispersed in saline containing 0.05% Tween-80 is shown

in Fig. 1A. ZnO NPs were slightly aggregated. The size distribution of secondary ZnO NPs in the suspension, analyzed by dynamic light scattering, ranged from 80 to 700 nm with 190 nm being the mode value (Fig. 1B).

Monoamine levels in 9 regions of the brain in ZnO NP-exposed mice

We first examined the effect of prenatal exposure to ZnO NPs on the levels of DA and its metabolites (DOPAC, HVA, and 3-MT; Fig. 2, Supplementary Table 1). DOPAC and HVA were significantly increased in the prefrontal cortex of ZnO NP-exposed mice (DOPAC, +49.1%; HVA, +28.4%; Fig. 2). DA and HVA were significantly increased in the hippocampus. Moreover, DA levels were decreased in the cerebellum. 3-MT level was not altered significantly in any of the regions of the brain examined in the present study. Next, we calculated the metabolic turnover of DA ((DOPAC+HVA+3MT)/DA), and found that it was significantly increased in the prefrontal cortex, neostriatum, nucleus accumbens, and amygdala in the ZnO NP-exposed group.

5-HT level was decreased in the hypothalamus, and 5-HIAA level was increased in the prefrontal cortex and hippocampus in ZnO NP-exposed mice (Fig. 3, Supplementary Table 2). The metabolic turnover of 5-HT (5-HIAA/5-HT) was increased in 8 regions of ZnO NP-exposed mice (Fig. 3, Supplementary Table 2).

We then measured the levels of NA and its metabolites (NM, MHPG; Supplementary Fig. 1, Supplementary Table 3). NM level was increased in the hippocampus

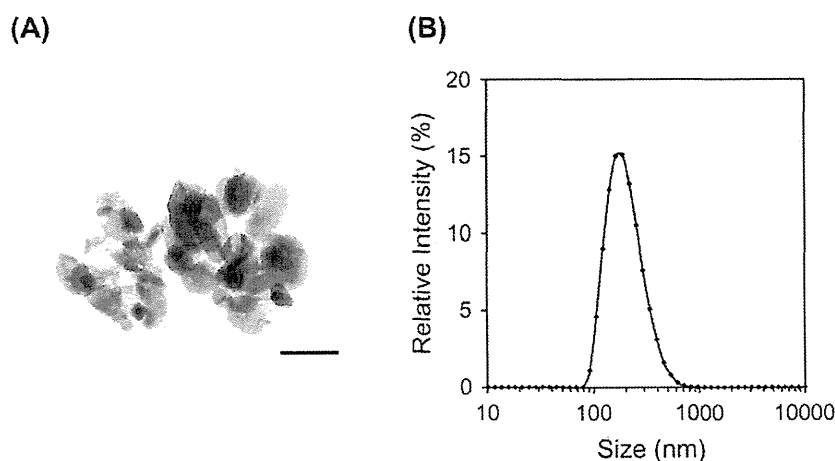


Fig. 1. Field-emission-type scanning electron microscopy images of ZnO NPs and their size distribution. ZnO NPs were suspended in saline with 0.05% (v/v) Tween-80 and were sonicated for 90 min immediately before administration. (A) The agglomeration state was assessed by field emission-type scanning electron microscopy (Scale bar = 50 nm). (B) The size distribution of ZnO NPs in the suspension was analyzed by dynamic light scattering.

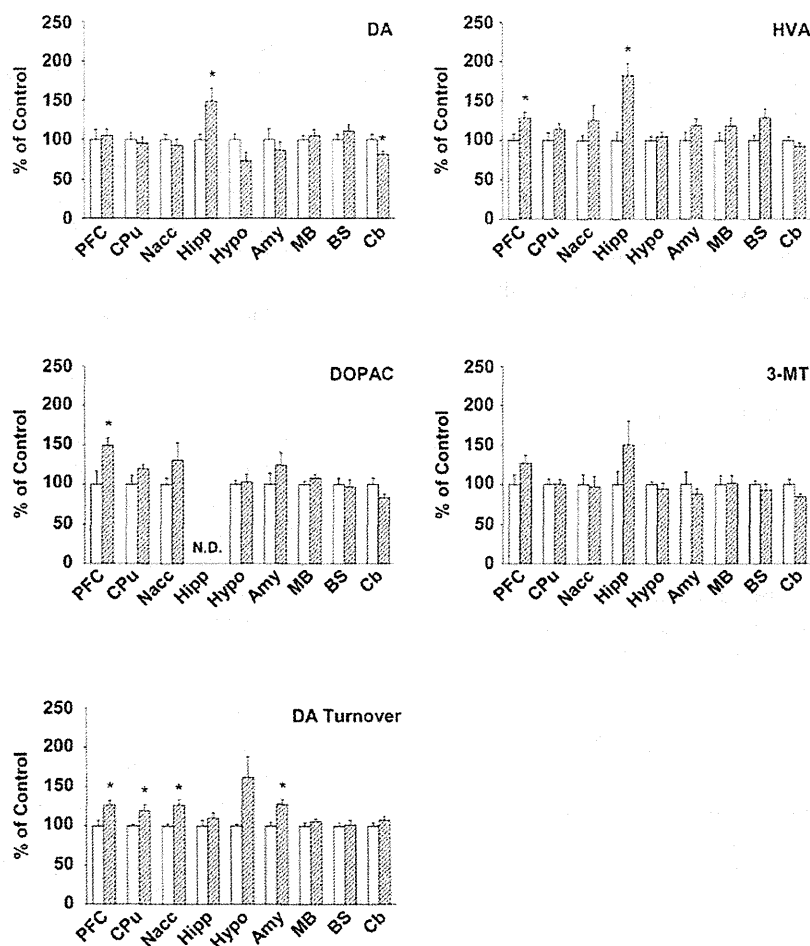


Fig. 2. Effects of prenatal ZnO NP exposure on DA and their metabolites level in the brain. DA turnover was calculated as (DOPAC+HVA+3-MT)/DA. Each column (Control group, open column; ZnO NP group, forward slash column) represents the mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$ vs each control group. Abbreviations: PFC, Prefrontal cortex; CPu, Neostriatum (Caudate-Putamen); Nacc, Nucleus accumbens; Hipp, Hippocampus; Hypo, Hypothalamus; Amy, Amygdala; MB, Midbrain; BS, Brainstem; Cb, Cerebellum. N.D.: Not detectable.

of ZnO NP-exposed mice. In addition, MHPG level was decreased in the hypothalamus, and cerebellum. NA level was not altered significantly in any of the regions of the brain examined in the present study. The metabolic turnover of the NA was decreased in the hypothalamus, and amygdala of the ZnO NP-exposed mice.

DISCUSSION

Developmental disorders of the brain caused by genetic and environmental factors are of great significance to psychiatric health. Previous studies indicated an associa-

tion between chemical exposure in the environment and monoaminergic neurotransmitter regulation (Matsuda *et al.*, 2010; Xia *et al.*, 2011; Sirivelu *et al.*, 2006). The monoaminergic system plays an important role in mental health, and its dysregulation leads to psychiatric dysfunction, such as behavioral depression, anxiety disorder, and Parkinsonism (Weiss *et al.*, 1981; Elsworth and Roth, 1997; Morilak and Frazer, 2004). It is noteworthy that prenatal stress can cause profound and long-lasting deficits in brain functions (Chung *et al.*, 2005; Son *et al.*, 2006). Maternally-stressed male mice have been shown to indicate altered dopaminergic responses (Son

Prenatal ZnO nanoparticle exposure alters monoamines in mouse brain

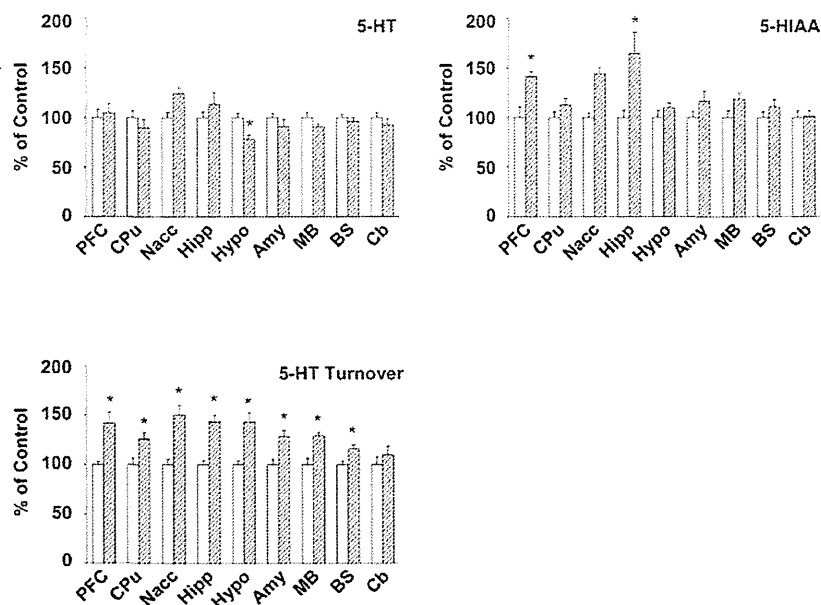


Fig. 3. Effects of prenatal ZnO NP exposure on 5-HT and their metabolites level in the brain. The 5-HT turnover was calculated as 5-HIAA/5-HT. Each column (Control group, open column; ZnO NP group, forward slash column) represents the mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$ vs each control group. Abbreviations: PFC, Prefrontal cortex; CPU, Neostriatum (Caudate-Putamen); Nacc, Nucleus accumbens; Hipp, Hippocampus; Hypo, Hypothalamus; Amy, Amygdala; MB, Midbrain; BS, Brainstem; Cb, Cerebellum.

et al., 2007). Furthermore, Narita *et al.* (2002), showed that fetal thalidomide or valproic acid exposure resulted in increased monoamine concentration in the brain, and induced an autism-like phenotype in rats.

In the present study, we comprehensively analyzed the amount of monoamines and their metabolites using HPLC in adult offspring mice. In the ZnO NP-exposed group, metabolic turnover of DA and 5-HT was significantly increased in the prefrontal cortex, neostriatum, nucleus accumbens, and amygdala. In the prefrontal cortex in particular, the levels of DA metabolites (DOPAC and HVA) and a 5-HT metabolite (5-HIAA) were significantly increased. 5-HT neurons of the raphe nucleus are projected to prefrontal cortex and neostriatum, and the activity of 5-HT and DA neuron systems are mutually regulated (Assié *et al.*, 2005). Oades (2008) reported that the metabolic turnover of DA and 5-HT are simultaneously increased in attention-deficit hyperactivity disorder patients. These reports reveal the importance of the balance of activity and metabolism of DA and 5-HT in the monoaminergic system of the brain. Combined with these reports, prenatal exposure to ZnO NPs induced monoaminergic neurotransmitter disruption, in particular

in the imbalance of DA and 5-HT levels, which potentially affects the mental and behavioral health of offspring. On the other hand, increased serotonin turnover in the prefrontal cortex and increased dopamine turnover in hippocampus, which were also observed in this study, were associated with interferon- α -induced depression (De La Garza and Asnis, 2003). Moreover, Barton *et al.* (2008) reported that brain serotonin turnover was elevated in patients with depression. These reports suggest the prenatally ZnO-exposed mice represent depression-like behavior. Further behavioral tests should be performed to solve the effects of prenatal ZnO NP exposure on the mental and behavioral health of offspring.

Synthesized neurotransmitters are stored in synaptic vesicles and then released from vesicles when action potential reaches the synaptic terminal. Released neurotransmitters are immediately inactivated by reuptake or metabolism. Although we measured the activity of monoamine oxygenase (a key enzyme in the metabolism of DA, NA, and 5-HT) in the prefrontal cortex and nucleus accumbens, we did not detect any significant alteration (Supplementary Fig 2). Because the increase of metabolic turnover depends on the increase of the amount of

monoamines present in synaptic cleft, further examination regarding this point may reveal the mechanism of ZnO NP-mediated increase of metabolic turnover of monoamines.

Although the mechanism of monoaminergic system disruption due to prenatal ZnO NP exposure is unclear, one possible mechanism is that prenatal exposure to ZnO NPs induced reactive oxygen species (ROS), which may influence the function of the monoaminergic system in offspring. Previous studies have reported that exposure to NPs, including ZnO NPs, produces ROS, and induces oxidative stress (Long *et al.*, 2006; Xia *et al.*, 2008). ROS-induced oxidative stress would cause functional impairment of the monoaminergic system via dysregulation of monoaminergic neurotransmitter metabolism. Monoaminergic systems may also be disrupted by Zn²⁺, which dissolves from ZnO NPs. Cho *et al.* (2011) showed that the toxicity of dissolved Zn²⁺ from ZnO NPs is much greater than a similar mass of ZnO NPs. Previous reports indicated that Zn²⁺ suppresses the function of the GABA_A receptor through allosteric mechanism (Hosie *et al.*, 2003). Taken together with the report which showed GABA_A receptors regulate dopamine release in the prefrontal cortex (Santiago *et al.*, 1993), an increase in Zn²⁺ caused by prenatal ZnO NP exposure may affect the release and metabolism of DA through suppression of the GABA_A receptor function. Additionally, the monoamine transporters may be disrupted by dissolved Zn²⁺ from ZnO NPs. Previous report indicated that Zn²⁺ plays a role in the monoamine transporters associated with monoamine metabolism (Scholze *et al.*, 2002). Further investigations of the interaction of prenatal ZnO NP exposure induced-monoamine disruption with ROS and Zn²⁺ will clarify these issues.

In conclusion, the present data indicated that prenatal exposure to ZnO NPs disrupted the levels of monoamine neurotransmitters of the brain and suggested that ZnO NPs could have potential toxicity with regard to mental health. Taken together with the report that ZnO NPs show higher developmental toxicity than other metal oxide NPs including TiO₂ and Al₂O₃ (Zhu *et al.*, 2008), the assumption would follow that avoidance of toxicity induced by ZnO NPs is an important for the issue in mental health. The toxicity of NPs is related to its characteristics of deposition and translocation to the tissues (Oberdörster *et al.*, 2005). We previously reported that subcutaneously injected TiO₂ NPs were translocated to the brain of offspring (Takeda *et al.*, 2009). ZnO NPs may also be transferred to the brain of offspring and affect the monoaminergic systems. Recent studies indicated that the interaction of NP surface with the proteins is important for the distribu-

tion of NPs in the body. Several reports showed that surface coating of NPs changed its accumulation and translocation to the tissues and its toxicity (Oberdörster *et al.*, 2009; Choi *et al.*, 2010). In order for ZnO NPs to be used safely, further studies are needed to clarify the molecular mechanisms of monoamine neurotransmitter disruption and to determine how the toxicity of ZnO NPs might be reduced.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank to Prof. Hirofumi Yajima for help with analysis of particle size distribution. We also thank Drs. Kenichiro Suzuki and Miyoko Kubo-Irie for analysis of ZnO particles and valuable discussion, and Yuta Takahashi and Takanori Shinotsuka for technical assistance. The authors appreciate the graduate and undergraduate students in the Takeda laboratory for their help with the experiments. This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Science Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan, a Grant-in-Aid for the Private University Science Research Upgrade Promotion Business Academic Frontier Project, a MEXT-Supported Program for the Strategic Research Foundation at Private Universities, 2011-2015, and a Grant-in-aid for the Health and Labour Sciences Research Grant, Research on the Risk of Chemical Substances, from the Ministry of Health, Labour and Welfare.

REFERENCES

- Assié, M.B., Ravailhe, V., Faucillon, V. and Newman-Tancredi, A. (2005): Contrasting contribution of 5-hydroxytryptamine 1A receptor activation to neurochemical profile of novel antipsychotics: frontocortical dopamine and hippocampal serotonin release in rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **315**, 265-272.
- Barton, D.A., Esler, M.D., Dawood, T., Lambert, E.A., Haikerwal, D., Brenchley, C., Socratous, F., Hastings, J., Guo, L., Wiesner, G., Kaye, D.M., Bayles, R., Schlaich, M.P. and Lambert, G.W. (2008): Elevated brain serotonin turnover in patients with depression: effect of genotype and therapy. *Arch. Gen. Psychiatry*, **65**, 38-46.
- Beckett, W.S., Chalupa, D.F., Pauly-Brown, A., Speers, D.M., Stewart, J.C., Frampton, M.W., Utell, M.J., Huang, L.S., Cox, C., Zareba, W. and Oberdörster, G. (2005): Comparing inhaled ultrafine versus fine zinc oxide particles in healthy adults: a human inhalation study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **171**, 1129-1135.
- Cho, W.S., Duffin, R., Howie, S.E., Scotton, C.J., Wallace, W.A., Macnee, W., Bradley, M., Megson, I.L. and Donaldson, K. (2011): Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn²⁺ dissolution inside lysosomes. *Part. Fibre Toxicol.*, **8**, 27.
- Choi, H.S., Ashitate, Y., Lee, J.H., Kim, S.H., Matsui, A., Insin,

Prenatal ZnO nanoparticle exposure alters monoamines in mouse brain

- N., Bawendi, M.G., Semmler-Behnke, M., Frangioni, J.V. and Tsuda, A. (2010): Rapid translocation of nanoparticles from the lung airspaces to the body. *Nat. Biotechnol.*, **28**, 1300-1303.
- Chung, S., Son, G.H., Park, S.H., Park, E., Lee, K.H., Geum, D. and Kim, K. (2005): Differential adaptive responses to chronic stress of maternally stressed male mice offspring. *Endocrinology*, **146**, 3202-3210.
- Dazzi, L., Seu, E., Cherchi, G., Barbieri, P.P., Matzeu, A. and Biggio, G. (2007): Estrous cycle-dependent changes in basal and ethanol-induced activity of cortical dopaminergic neurons in the rat. *Neuropsychopharmacology*, **32**, 892-901.
- De La Garza, R., 2nd and Asnis, G.M. (2003): The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium attenuates IFN-alpha induced alterations to monoamine turnover in prefrontal cortex and hippocampus. *Brain Res.*, **977**, 70-79.
- Elsworth, J.D. and Roth, R.H. (1997): Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Exp. Neurol.*, **144**, 4-9.
- Froehlich, T.E., McGough, J.J. and Stein, M.A. (2010): Progress and promise of attention-deficit hyperactivity disorder pharmacogenetics. *CNS Drugs*, **24**, 99-117.
- Hosie, A.M., Dunne, E.L., Harvey, R.J. and Smart, T.G. (2003): Zinc-mediated inhibition of GABA_A receptors: discrete binding sites underlie subtype specificity. *Nat. Neurosci.*, **6**, 362-369.
- Kawashiro, Y., Fukata, H., Omori-Inoue, M., Kubonoya, K., Jotaki, T., Takigami, H., Sakai, S. and Mori, C. (2008): Perinatal exposure to brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in Japan. *Endocr. J.*, **55**, 1071-1084.
- Kreyling, W.G., Semmler-Behnke, M., Seitz, J., Scymczak, W., Wenk, A., Mayer, P., Takenaka, S. and Oberdörster, G. (2009): Size dependence of the translocation of inhaled iridium and carbon nanoparticle aggregates from the lung of rats to the blood and secondary target organs. *Inhal. Toxicol.*, **21 Suppl. 1**, 55-60.
- Kuan, C.Y., Yee-Fung, W., Yuen, K.H. and Liang, M.T. (2012): Nanotech: propensity in foods and bioactives. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **52**, 55-71.
- Liu, H., Ma, L., Zhao, J., Liu, J., Yan, J., Ruan, J. and Hong, F. (2009): Biochemical toxicity of nano-anatase TiO₂ particles in mice. *Biol. Trace Elem. Res.*, **129**, 170-180.
- Long, T.C., Saleh, N., Tilton, R.D., Lowry, G.V. and Veronesi, B. (2006): Titanium dioxide (P25) produces reactive oxygen species in immortalized brain microglia (BV2): implications for nanoparticle neurotoxicity. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 4346-4352.
- Matsuda, S., Saika, S., Amano, K., Shimizu, E. and Sajiki, J. (2010): Changes in brain monoamine levels in neonatal rats exposed to bisphenol A at low doses. *Chemosphere*, **78**, 894-906.
- Morabito, K., Shapley, N.C., Steeley, K.G. and Tripathi, A. (2011): Review of sunscreen and the emergence of non-conventional absorbers and their applications in ultraviolet protection. *Int. J. Cosmet. Sci.*, **33**, 385-390.
- Morilak, D.A. and Frazer, A. (2004): Antidepressants and brain monoaminergic systems: a dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **7**, 193-218.
- Nakamura, K., Sekine, Y., Ouchi, Y., Tsujii, M., Yoshikawa, E., Futatsubashi, M., Tsuchiya, K.J., Sugihara, G., Iwata, Y., Suzuki, K., Matsuzaki, H., Suda, S., Sugiyama, T., Takei, N. and Mori, N. (2010): Brain serotonin and dopamine transporter bindings in adults with high-functioning autism. *Arch. Gen. Psychiatry*, **67**, 59-68.
- Narita, N., Kato, M., Tazoe, M., Miyazaki, K., Narita, M. and Okado, N. (2002): Increased monoamine concentration in the brain and blood of fetal thalidomide- and valproic acid-exposed rat: putative animal models for autism. *Pediatr. Res.*, **52**, 576-579.
- Needham, L.L. and Sexton, K. (2000): Assessing children's exposure to hazardous environmental chemicals: an overview of selected research challenges and complexities. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.*, **10**, 611-629.
- Nohynek, G.J., Lademann, J., Ribaud, C. and Roberts, M.S. (2007): Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. *Crit. Rev. Toxicol.*, **37**, 251-277.
- Oades, R.D. (2008): Dopamine-serotonin interactions in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Prog. Brain Res.*, **172**, 543-565.
- Oberdörster, G. (2001): Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **74**, 1-8.
- Oberdörster, G., Elder, A. and Rinderknecht, A. (2009): Nanoparticles and the brain: cause for concern? *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **9**, 4996-5007.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E. and Oberdörster, J. (2005): Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.*, **113**, 823-839.
- Paclt, I., Koudelova, J., Pacltova, D. and Kopeckova, M. (2009): Dopamine beta hydroxylase (DBH) plasma activity in childhood mental disorders. *Neuro Endocrinol. Lett.*, **30**, 604-609.
- Santiago, M., Machado, A. and Cano, J. (1993): Regulation of the prefrontal cortical dopamine release by GABA_A and GABA_B receptor agonists and antagonists. *Brain Res.*, **630**, 28-31.
- Scholze, P., Norregaard, L., Singer, E.A., Freissmuth, M., Gether, U. and Sitte, H.H. (2002): The role of zinc ions in reverse transport mediated by monoamine transporters. *J. Biol. Chem.*, **277**, 21505-21513.
- Shimizu, M., Tainaka, H., Oba, T., Mizuo, K., Umezawa, M. and Takeda, K. (2009): Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. *Part. Fibre Toxicol.*, **6**, 20.
- Sirivelu, M.P., MohanKumar, S.M., Wagner, J.G., Harkema, J.R. and MohanKumar, P.S. (2006): Activation of the stress axis and neurochemical alterations in specific brain areas by concentrated ambient particle exposure with concomitant allergic airway disease. *Environ. Health Perspect.*, **114**, 870-874.
- Son, G.H., Chung, S., Geum, D., Kang, S.S., Choi, W.S., Kim, K. and Choi, S. (2007): Hyperactivity and alteration of the midbrain dopaminergic system in maternally stressed male mice offspring. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **352**, 823-829.
- Son, G.H., Geum, D., Chung, S., Kim, E.J., Jo, J.H., Kim, C.M., Lee, K.H., Kim, H., Choi, S., Kim, H.T., Lee, C.J. and Kim, K. (2006): Maternal stress produces learning deficits associated with impairment of NMDA receptor-mediated synaptic plasticity. *J. Neurosci.*, **26**, 3309-3318.
- Takahashi, Y., Mizuo, K., Shinkai, Y., Oshio, S. and Takeda, K. (2010): Prenatal exposure to titanium dioxide nanoparticles increases dopamine levels in the prefrontal cortex and neostriatum of mice. *J. Toxicol. Sci.*, **35**, 749-756.
- Takeda, K., Suzuki, K.I., Ishihara, A., Kubo-Irie, M., Fujimoto, R., Tabata, M., Oshio, S., Nihei, Y., Ihara, T. and Sugamata, M. (2009): Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. *J. Health Sci.*, **55**, 95-102.
- Tin Tin Win, S., Mitsushima, D., Yamamoto, S., Fukushima, A., Funabashi, T., Kobayashi, T. and Fujimaki, H. (2008): Changes in neurotransmitter levels and proinflammatory cytokine mRNA

- expressions in the mice olfactory bulb following nanoparticle exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **226**, 192-198.
- Tin Tin Win, S., Yamamoto, S., Ahmed, S., Kakeyama, M., Kobayashi, T. and Fujimaki, H. (2006): Brain cytokine and chemokine mRNA expression in mice induced by intranasal instillation with ultrafine carbon black. *Toxicol. Lett.*, **163**, 153-160.
- Weiss, J.M., Goodman, P.A., Losito, B.G., Corrigan, S., Charry, J.M. and Bailey, W.H. (1981): Behavioral depression produced by an uncontrollable stressor: relationship to norepinephrine, dopamine, and serotonin levels in various regions of rat brain. *Brain Res. Rev.*, **3**, 167-205.
- Xia, T., Kovoichich, M., Liang, M., Madler, L., Gilbert, B., Shi, H., Yeh, J.I., Zink, J.I. and Nel, A.E. (2008): Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS Nano*, **2**, 2121-2134.
- Xia, Y., Cheng, S., He, J., Liu, X., Tang, Y., Yuan, H., He, L., Lu, T., Tu, B. and Wang, Y. (2011): Effects of subchronic exposure to benzo[a]pyrene (B[a]P) on learning and memory, and neurotransmitters in male Sprague-Dawley rat. *Neurotoxicology*, **32**, 188-198.
- Xiao, L. and Becker, J.B. (1994): Quantitative microdialysis determination of extracellular striatal dopamine concentration in male and female rats: effects of estrous cycle and gonadectomy. *Neurosci. Lett.*, **180**, 155-158.
- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H. and Xi, Z. (2009): Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *J. Appl. Toxicol.*, **29**, 69-78.
- Zhu, X., Zhu, L., Duan, Z., Qi, R., Li, Y. and Lang, Y. (2008): Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.*, **43**, 278-284.

～ナノ粒子の健康リスク～

私たちはいかにリスクを回避できるのか

梅澤 雅和

(東京理科大学総合研究機構戦略的環境次世代健康科学研究基盤センター)

今日は「私たちはいかにリスクを回避できるのか」という少し僕としては挑戦的なタイトルを付けさせて頂きました。私は東京理科大学の衛生化学の研究室で、ナノ粒子の毒性について研究をしています。当然そこからしっかりデータを出して、行政レベルでそのナノ粒子の有害性、リスクを管理、…出来れば勿論いいんですけど、そこまではまだすごく距離があるなと考えています。そこでその前に、私たちが何を出来るか、行政レベルでは動けなくても、私たちには何か工夫が出来るかもしれないと考えて普段研究をしています。何かルールを作るというよりは、工夫をしていくというところでしょうか。最後にそういう所まで皆さんと話し合えればいいなと思っております。よろしくお願い申し上げます。

その前に、ナノ粒子の健康リスク、ナノ粒子の有害性というのがどういうものなのかということ、もう少し、基礎的な所からお話をしたいと思っています。まず、今日のアウトラインを示します。始めのこの「ナノ粒子の特徴と有害性の懸念」につきましても、上田さんと武田先生もお話されましたので、その内容もご参照ください。私はもう少し、基礎的なお話から紹介したいと思っています。本当は今回、アウトラインの上から2点（工業ナノ材料の安全性とリスクについて）が主な内容になるかと思っていたのですが、最近中国由来と言われるPM2.5の話題が非常に話題として挙がってきているところで、この点は私もいろいろと気になるところがあるのと、あとは注意点等をアウトプットしておきたいと思うところがあります。そこで、それを今日の内容にも加えました。今回、もしかしたらナノテクの粒子の方にしか興味がなく、PM2.5はいいよとか、PM2.5にしか興味がなく、ナノテクはいいよとか(笑)そういう方もいらっしゃるかも知れませんが、今日はその両方のお話をさせて頂きます。最後にそのリスクを軽減する工夫ですね、私たち自身の生活の中で、ナノ粒子のリスクを減少させるための工夫としてどういったことが考えられるか。以上をお話ししたいと思います。

環境と健康との係わりということが、私の一番関心のあるところなんです。私自身は実際に高校、大学1年までアトピー皮膚炎などを持っていたのですが、実際ちょっと都心に通っていたところから、理科大学の薬学のキャンパスが今の千葉県野田市という首都圏郊外に移って私の生活地域・環境が変わり、そのときから、かなり皮膚の状態が良くなったりして、証明は勿論僕一人の例で出来るわけではないんですが(笑)、環境って侮れないなあっていうことを私自身強く感じています。「環境」と言ってもいろいろあるのですが、大気環境ですとか、あとは水とか土壌、そこから出来る食品ですね、あとは栄養とか運動とか。こ

れら全て、「遺伝・自分自身」以外は全部「環境」と言えるものです。で、これは先ほど武田先生が紹介された病理の写真を撮られた菅又先生の言葉なのですが、「水や食べ物はしっかり表示されていれば買って選ぶことが出来るんですね、でも大気、外の空気というのは選べない」吸わされてしまうものであるということで、この大気環境と健康というのは非常に重要なものだと考えています。それから、今回のこのナノ粒子に関しては、食品に含まれているものもあるのですが、一番重要な問題の一つは職業的環境ですね。製造や廃棄の現場でナノ粒子が大気中に舞っていて、職場で、職業としてその環境に曝される人にリスクが及ぶのではないかと、そういうことがナノ粒子の健康影響として重要課題の核の一つになっています。それから、ナノメディシンという言葉がありますが、ナノスケールの医薬品もありますね。ただし、医薬品というのは他のものと違った形で規制・管理がなされています。そこで、ここは少し違った性質があるなと感じていることも含めて、今日お話ししたいと思います。

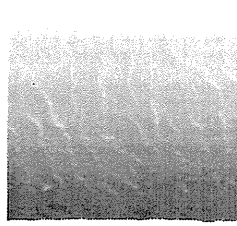
ナノテクノロジーとナノ材料

- ・ 新規の性質
 - 高い活性(抗菌)
 - 独特の電気的特性
 - 優れた耐久性(繊維材料)
 - 独特の体内動態(医薬) ...

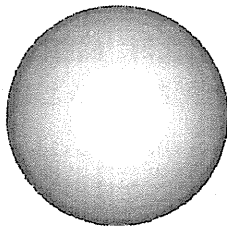
ノーベル賞受賞成分配合

まずは「ナノ粒子の特徴と有害性の懸念」の、基礎的なお話からしたいと思います。最近あまり「ナノ」と謳われているものが増えていないというお話もありましたが、やはり「ナノ」と「製品」で検索をかけると、まだまだ沢山出てきます。例えば先ほど武田先生がお話されましたが、ナノ粒子の化粧品は透過性が高いと謳う商品もある一方で、本当に透過性が高いのか、透過したら（リスクを考えると）困るところもありつつ、本当に透過性が高いのかどうかについては、まだ「？」な部分もありますが、それでも活性が高い、例えば抗菌剤が高いですとか独特の性質があるとか、繊維としても丈夫な場合があるとか、体内動態が特殊であるとか、様々なメリットがナノ粒子にあることが知られています。そのナノテク、ナノ粒子、ナノ材料のメリットを生かして産業に生かそうといったことは、もう10年以上前から進められてきたことです。さて、まずはナノ粒子の特徴ですが、それをここに端的に4つ並べました（上図）。

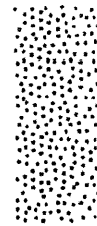
ナノ粒子の特徴



ヒトの髪の毛
直径 60 μm



マイクロ粒子
直径 60 μm



微粒子 (PM2.5)
直径 600 nm

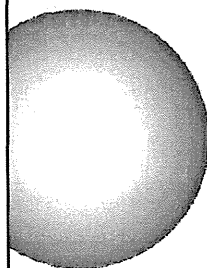


ナノ粒子
直径 60 nm

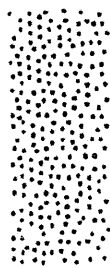
- ・「25 ナノメートル」は「2.5 マイクロメートル (PM2.5)」の 100分の1
 $25 \text{ nm} = 0.025 \mu\text{m} = 0.000025 \text{ mm}$
 $2500 \text{ nm} = 2.5 \mu\text{m} = 0.0025 \text{ mm}$

これは、武田先生の資料にもありましたでしょうか。ナノ粒子は、まずとにかく小さいですね。PM2.5 というのが話題になっていますが、PM2.5 は直径が例として $0.6 \mu\text{m}$ とすると、その 10分の1 がナノ粒子ということになります。もっと言うと、 $2.5 \mu\text{m}$ を 100分の1 にしてようやく 25 nm なので、PM2.5 の 10分の1 から 100分の1、更に直径にして小さいと思って頂ければ良いと思います。そのナノ粒子は新規の有用な材料なのですが、生体への影響も懸念されているというのが、今の問題となっているところです。何故これが問題となっているかということについて、これから説明を差し上げます。まず、ナノ粒子を含む粒子の生体影響・健康影響は、粒子の表面で起こる反応によってもたらされるとよく言われています。そのために、粒子の表面積が重要になるのです。

ナノ粒子の特徴—比表面積が大きい



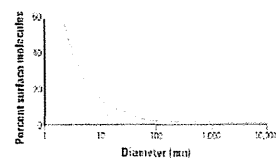
マイクロ粒子
直径 60 μm



微粒子 (PM2.5)
直径 600 nm



ナノ粒子
直径 60 nm

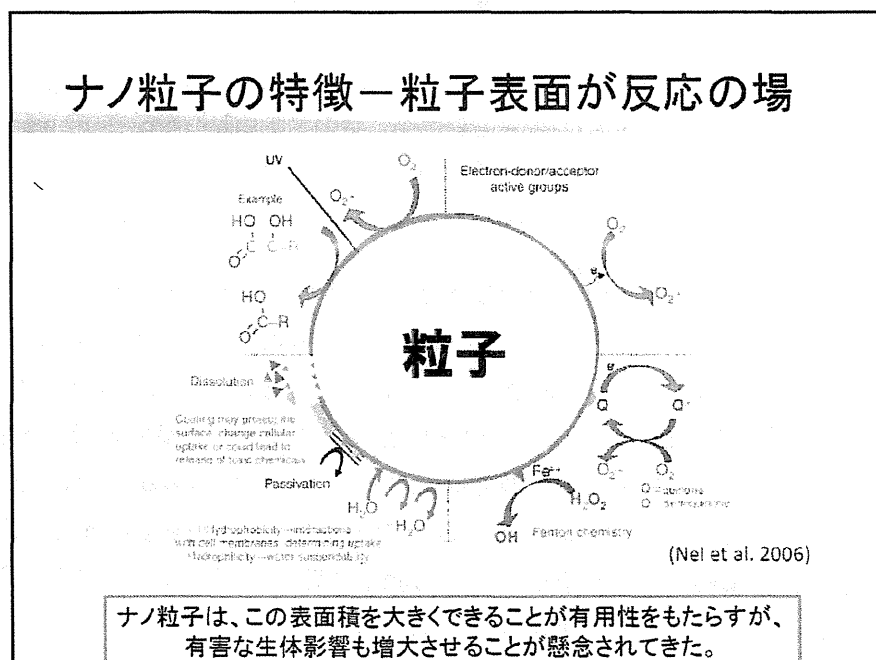


表出する原子の割合も増える
(Oberdorster et al. 2005)
(Nel et al. 2006)

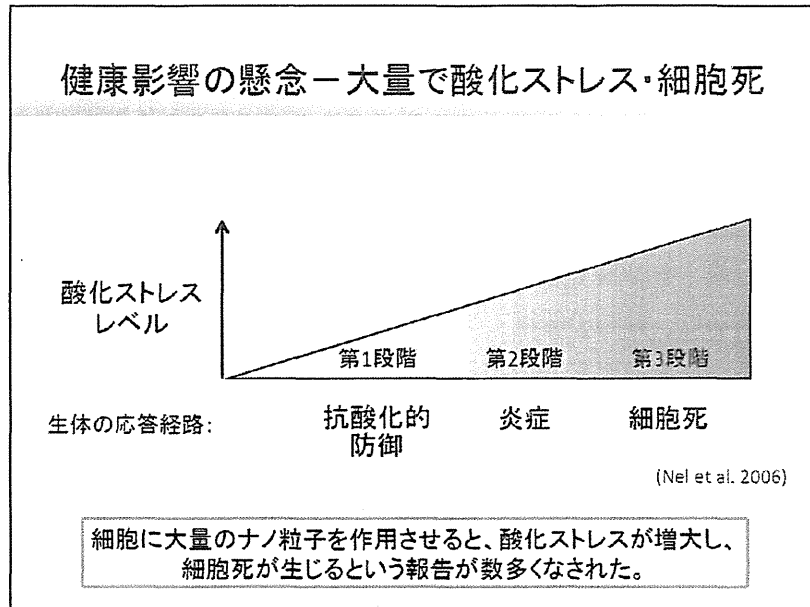
同質量で

	直径 1	:	直径 0.1 (10分の1)	
表面積	1	:	10倍	※直径に反比例
個数	1	:	1000倍	※直径の3乗に反比例

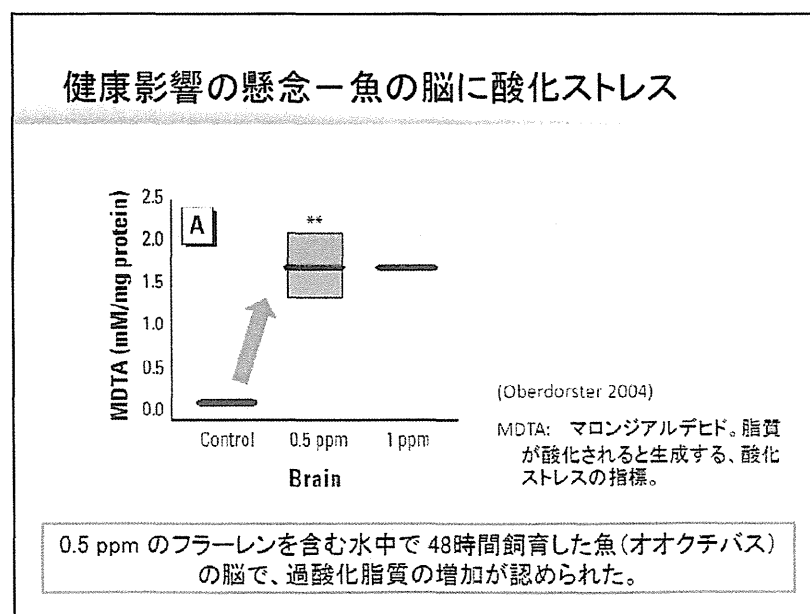
ここにはPM2.5とナノ粒子とを分けて示しましたが、粒子は直径が10倍であると、表面積は100倍に、質量（体積）は1000倍になります。なので、逆に「同じ質量の粒子」について比べると、直径が10分の1になると表面積が10倍になり、個数は1000倍になります。間違いのないように簡単に申し上げますと、同じ質量の粒子では、表面積は直径に反比例、個数は直径の3乗に反比例するのです。それから、小さくなるとただ表面積が増える、個数が増えるということだけでなく、小さくなることで粒子を構成する原子のうち、表面に出てくる原子の割合が増えるといったことも知られています。それでは何故、この表面積、表面の原子の割合が増えると問題になり得るのでしょうか。それは先ほども少し申しましたが、ナノ粒子、粒子というのは、その表面が反応の場であるためです。



これは2006年に発表された英文での総説（レビュー）にある図ですが、粒子の表面で様々な反応が起こるよね、ということが示されています。このときには、粒子の表面には様々な不純物が付いていることも含めて、例えば金属が付いていると、酸化還元反応が起こりやすいですとか、ラジカルの発生や酸化ストレスが生じやすいとか、脂質が酸化されたりとか、そういった反応が粒子の表面では起こるのではないかということが、ずっと指摘されてきました。とにかくナノ粒子というのは、表面積を大きく出来ることが有用性をもたらす一つの要因なのですが、その表面積が大きいことによる反応性の高さは、逆に生体影響、悪影響といったところの反応性も高めてしまうのではないかということが懸念されてきたのです。この粒子の表面で、酸化ストレス、活性酸素種が産生されることは数多く報告されてきました。この「活性酸素」が増えてしまうと何が問題なのかということについては、これも先ほどと同じレビューで示されていて、ここではその図を日本語に直したものを示します。

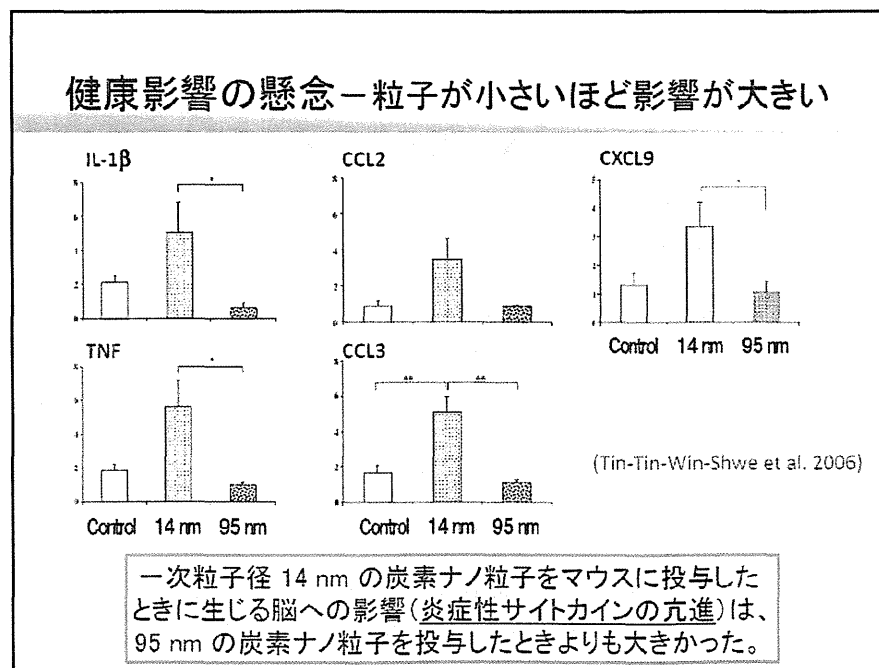


実は、活性酸素は実際に我々の体の中で、例えば、菌を殺して無毒化する役割を担ってもいるものです。なので、酸化ストレスはそのレベルが通常程度であれば、防御機能に活用されて、正常な生体防御反応を起こすというものです。ただし、これが過剰に増えてくると、炎症反応が起こったりですとか、もっと増えてしまうと細胞が死んでしまうのです。実際には、細胞が死を起こす過程で酸化ストレスレベルを上げる機構も生体は持っているのですが、その酸化ストレスレベルをナノ粒子が異常に上げてしまうのではないかとということが、ナノ粒子の毒性のメカニズムとしてよく指摘されてきたのです。これには「可能性」も含まれていますが、よく指摘されていることは確かです。例えばシャーレの上に細胞を培養して、そこに大量のナノ粒子を作用させると、酸化ストレスが増大して、細胞死が生じるという報告が10年前から多くなされました。ただし、「それは培養した細胞での話でしょ」ということではあったのですが、実際にこれが動物でもいくつか報告されたのです。

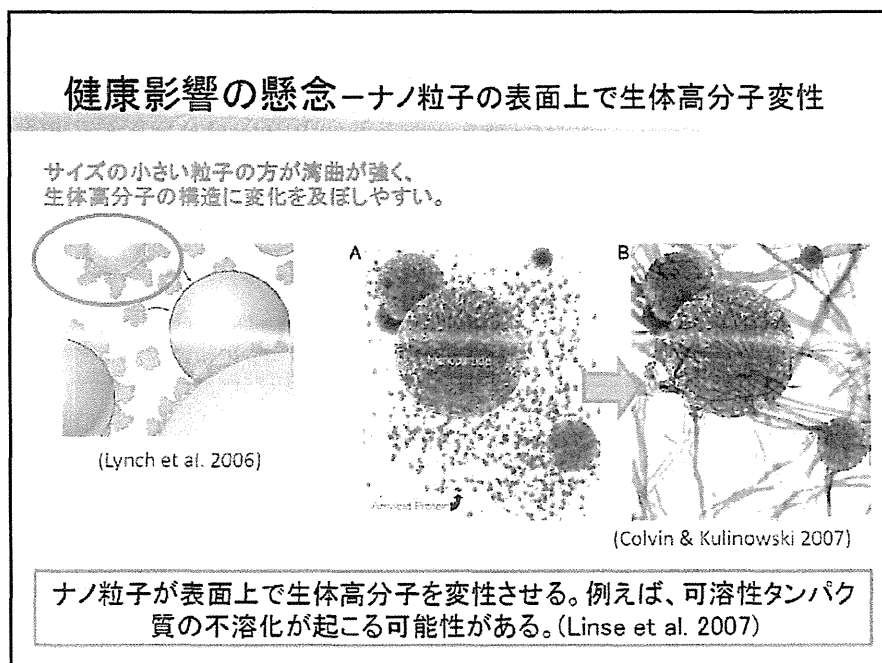


これ（前ページ下図）は実は、私が研究室に入る直前に見た論文にあったもので、研究室に入った頃に大学院生の先輩たちが驚いて騒いでいたものです。ここでは、魚の脳に酸化ストレスが生じるということが報告されたのです。どのような条件で得られた結果かと申しますと、魚を飼育する水の中にフラーレンを入れまして、そのときに0.5ppmのフラーレンを含む水槽で48時間、つまり2日間オオクチバスという魚を飼育したら、その脳で過酸化脂質の増加が認められたと。そういう論文が発表されたのです。これがおそらく動物で、動物の組織でナノ粒子により大きな影響が生じる可能性をと指摘した、初めての論文と言って良いと思います。続いて、「本当にそれが、粒子が小さいために起こった問題なのか」というところが議論の焦点になったのですが、確かに粒子が小さいほど大きな影響が生じるということが、いくつかの論文で報告されました。これ（下図）は、一次粒子径（元の粒子一つのサイズ）が14nmと95nmとを用いて、各々を投与したときの影響を比較した論文に載っていた図です。この論文では、粒子径の異なる2種類のカーボンブラックのナノ粒子を、各々マウスの、ここでは鼻腔内に投与し、そのときに起こった脳への影響を報告したものです。ここに5つ、評価した指標が書いてありますが、いずれも炎症性サイトカインやケモカインといって、炎症を誘導するようなタンパク質をコードする遺伝子の発現量を測定したとご理解頂ければと思います。それぞれのグラフで、左が粒子を投与していないもの、右が大きめの粒子を投与したもの、真ん中がナノ粒子=14nmのカーボンブラックを投与したときの結果を示したものです。この5つの指標で比較した結果、マウスの鼻腔内にナノ粒子を投与したときにだけ、そこに一番近い脳の領域でこれらの遺伝子の発現が亢進した、つまり炎症反応を誘導するような影響が認められたことを報告した内容になっています。

では、どうしてそういったことが起こるのかについて、その理由をもう少し違った観点から説明をしている研究者もいらっしゃいます。

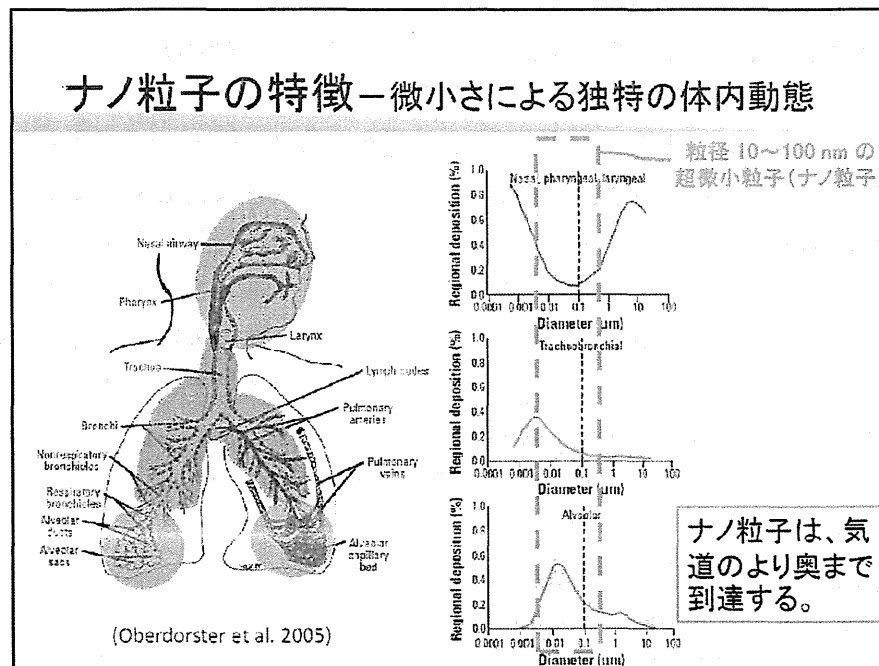


ここ（下図）に3種類の粒子（大きさの異なる紫、緑、黄のもの）が示されていますが、これ（紫）は非常に大きな粒子で、緑は少し小さい粒子、黄色のものは更に小さい粒子と頂ければと思います。また、先ほど粒子は表面で反応すると申し上げましたが、粒子は表面に様々な物質を吸着させたり、粒子同士が表面どうしでくっついて凝集したりと、様々なものを吸着させる性質もあります。で、この粒子の表面に生体高分子、例えばタンパク質や脂質も吸着するのですが、粒子は小さくなれば小さいほど表面が湾曲しているのです、吸着した体内の物質の性質を大きく変えるのではないかとということがまず指摘されています。小さい粒子の方が、生体高分子の構造に大きな変化を及ぼし易いということです。それから、これは例としてアミロイドというアルツハイマー病に関係するタンパク質の名前が書かれているのですが、可溶性のアミロイドが水に溶けている状態、すなわちタンパク質が水に溶けている状態の中にナノ粒子を入れると、粒子表面で反応が起こってタンパク質の性質が変わって不溶性になりますよ、と・・・こういった形でナノ粒子はタンパク質を変性させることがありますよ、ということを経験した論文もあります。つまり、ナノ粒子は表面上で生体高分子と反応し、タンパク質の変性等をもたらす可能性があるということ。その結果、例えば可溶性タンパク質の不溶化とか、そういうことも起こすのではないかと指摘されているのです。さて、ここまでで紹介した報告は、ナノ粒子を水槽の中に入れたときに魚で何が起きたかとか、細胞に添加したら何が起きるかという話でしたが、実際に我々が吸ったらどうなるかといったことも、数多く報告されています。

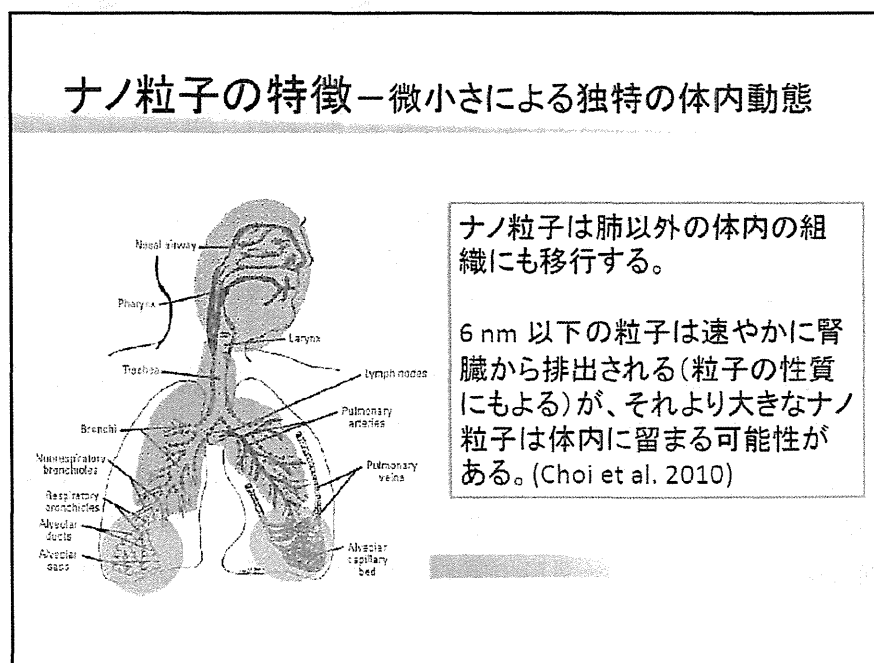


結論から申しますと、10nm から 100nm 程度の粒子というのは、気道のより奥まで到達するということが知られています。これは一つの模式図、シミュレーションの結果なのですが、大きな粒子は鼻腔や喉の辺りという極めて上気道の上の方でトラップされるので、奥には到達しないだろうということが、まず示されています。一方で、それよりも小さな粒子、10nm から 100nm の粒子というのは、この図の赤で示された肺胞の領域、つまり肺の一番奥の領域にまで到達するのではないかとということが指摘されてい

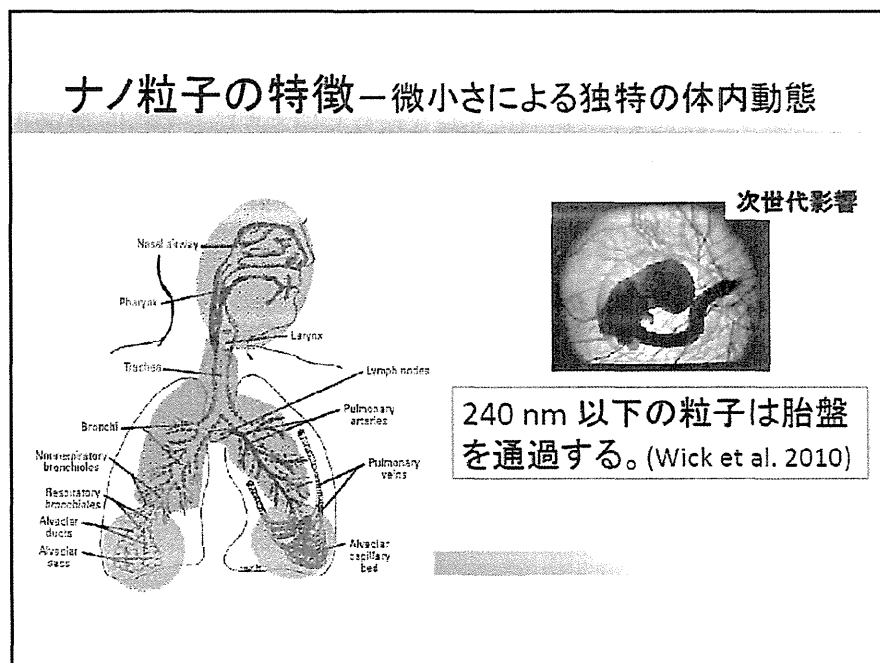
るのです。実はもっと小さなものになると、これはどれだけ大気中にあるかはわからないのですが、空気の流れに乗りにくくて、奥まで到達しないのではないかと、この図では示されています。



とにかくナノ粒子として問題になっているもののうち10nmから100nmといった粒子は比較的気道の奥、すなわち肺胞の近くまで到達してしまうのです。加えて、影響の及ぶのが肺だけなのであれば肺だけ注意すれば良いのかもしれないのですが、実はナノ粒子の影響というのは、これを吸ったときに肺以外にも起こることが知られています。どのような影響があるのかについては、後でまた疫学的な研究の報告も紹介しますが、その何故肺以外にも影響が及ぶかというメカニズムの一つとして、ナノ粒子が肺だけでなく肺以外の組織にも移行していくということが知られています。



一方で、もっと小さな粒子、報告では「6nm」以下とされているのですが、それ以下の粒子は速やかに腎臓から排泄されるので体内には留まらないんだけど、それよりも大きい6から100nmとか、そういった範囲の大きさの粒子は体内に留まる可能性があるのではないかとということも、これまでに報告されています。実際にはどのくらいのサイズだったら排出されるかとか、体内に分布するかということは、サイズ以外の粒子の性質にもよると思われますので、データが足りないところもあるんですが、このような報告があるということが事実としてあります。それから先ほどの武田先生のお話にもありましたが、次世代影響ということも問題になっています。まず、どれくらいの大きさの粒子だと子供に移行するかということなのですが、240nm以下の粒子は胎盤を通過出来るのではないかとということが、すでにはっきりと示されています。

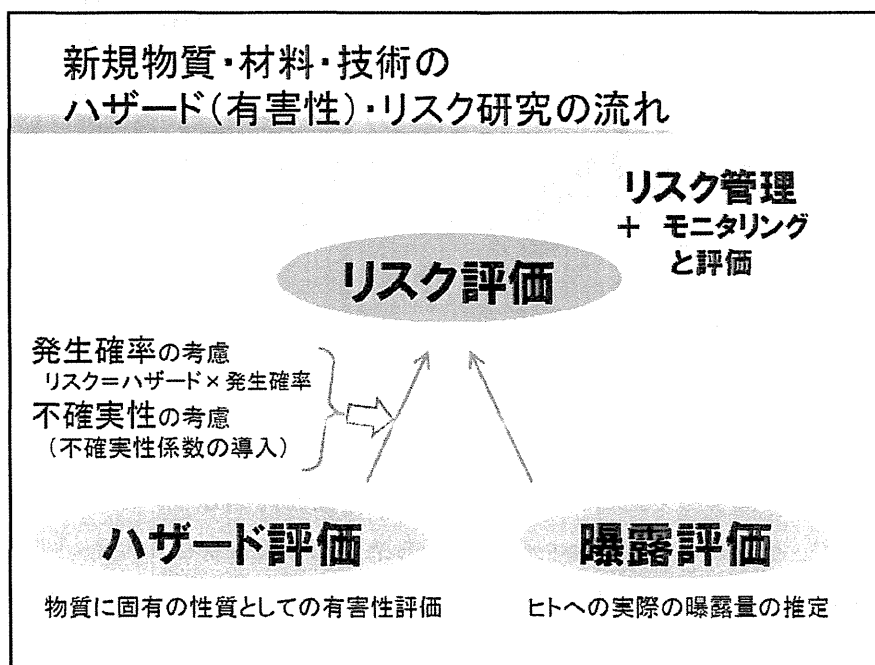


一方で、粒子の性質によってはこれ以上小さくても胎盤を通過せず、子供に移行しないということも報告されています。そのため、「240nm」という値もあくまでも目安なのですが（極めて大きい粒子は子供に移行しない）、ナノ粒子のようにある大きさ以下の粒子の一部は子供、胎児に移行して実際に影響を及ぼしてしまうのではないかとということが懸念されています。詳細については、先ほど武田先生が紹介した通りです。

さて、そのようなナノ粒子のリスクを回避するためにどういったことに注意する必要があるのか、何を解決しなくてはいけないのかということ、次にお話ししたいと思います。いろいろあると思います。毒性学研究的課題もあります。それからリスク管理としての課題もあります。そこで今日は、リスク評価ですとか、リスク管理のされ方と併せてお話をしたいと思います。先日の岩波『科学』（2012年10月号）にも書かせていただいたのですが、「ナノ粒子のリスク管理に向けて解決すべき課題」は主にこの3つだと私は考えています。まず、ナノ粒子の有害性をどういった指標で評価すればいいのか、逆に言い

ますと、こういった性質のナノ粒子はこういった影響を及ぼすのかといったことを、簡単に分類・評価できる方法・指標が必要だと思っています。次に、ナノ粒子の高感度かつ定量的な検出技術の確立が必要だと思っています。実際にナノ粒子は小さいということと、質量がないということがあって、それを検出すること、また、検出は出来ても非常に少ないものまで捕えられるかということや、量的にどうかということまでしっかり評価することが、非常に難しいのが現実です。なので、これはナノテクノロジーの発展の中でもっとしっかりしなくてはいけない部分だと思っています。最後に、曝露シナリオの区別です。つまり、「こういったナノ粒子はこういった風に使われるから、こういった形で我々に曝露されるのか」ということを、ナノ粒子ごとにもっとしっかりと区別して議論することが必要ではないかと考えています。

一つ一つについて、順に説明をしていきたいと思っています。実際に最終目標の一つとしては、行政レベルで新規の物質や材料—ここではナノ材料に焦点を絞っていますが—それに新しい技術ですとか、そういったものの有害性・リスクを管理していくことが挙げられますが、これはそこに至るまでにどういったことが必要かということを示した図です。



簡単に言うと、最後はリスクをなんとか監視（モニタリング）をしながら、しっかり管理していきま
すよと・・・モニタリングもして管理方法の妥当性も評価しながらやっていきますよ、という所にまで、
最終的に行きたいんですね。それを行政レベルで行うためには、少なくともリスクをしっかりと評価さ
れなくてはなりません。その評価のためには何が必要かと言うと、例えばまず「ナノ粒子の有害性」を
しっかり評価すること、それから、「ナノ粒子が実際我々にどの程度曝露されるか」ということを、必要
なケースごとに分けて、つまり場合分けをして評価していく必要があります。次に、先日の岩波『科学』
にも書かせて頂いたのが、有害性にしても曝露量にしても実験的にしか証明が出来ないので、ここには

確率とか不確実性といった要素も入ってくるということにも注意が必要だということです。さて、まず私の専門である毒性学としては何が必要かということについては、とにかくこの「有害性評価」をして、様々な性質を持つであろうナノ粒子ごとの安全性をしっかりと評価できる方法を作ることが求められています。それから、今後も様々な新しいナノ粒子が出来ることを考えると、出来る限り低コストで、かついろいろな毒性を、網羅的に評価できる方法というのが必要となるだろうというのが重要な課題の一つです。今、網羅的に生体応答を解析する手段もなくはないのですが、日本も含めてアメリカとかでも、そこから得られるデータをどういう風に使って、ナノ粒子を含む様々な化学物質の有害性をどのように上手く分類していくかというのは、今まさに研究されている段階です。とにかくそういったことを有害性の研究、ハザード研究から見出す必要があるというのが、今第一に重要な課題の一つで、これは実際に我々も薬学部としてしっかりと取り組んでいるところです。

解決すべき課題①

- 様々な性質を持つナノ粒子ごとの安全性を、
**低コストかつ網羅的に評価できる方法と
評価指標の確立**

ハザード評価

物質に固有の性質としての有害性評価

それを、ナノ粒子の
有害性(ハザード)研究から
見出す必要がある。

解決すべき課題②

- **生体試料中に分布した微量のナノ粒子を
定量的に検出できる技術の改善・確立**

ヒトの体にどのように影響を及ぼすのか？

ハザード評価

物質に固有の性質としての有害性評価

⇔ ナノ粒子の体内動態
(生体内への吸収、分布、
排出)の評価も困難

さて次に、ナノ粒子が実際に人に対してどの様に影響を及ぼすのか、どの様に影響を及ぼす可能性があるのかということを考える上では、そのナノ粒子の体内動態ですね、体の中でどの様に分布するか、つまりどう吸収され、分布して、そして排出されるのかということ、しっかり評価することが必要になります。しかしそれが、先ほども申し上げました通り、非常に困難なのが現実です。ここに、他にもあると思うのですが、ナノ粒子を検出するための代表的な方法を挙げました。

解決すべき課題②

- ・ **生体試料中に分布した微量のナノ粒子を定量的に検出できる技術の改善・確立**

	ICP-MS	蛍光	電子顕微鏡
定量性	○	○	×
感度	×	△	○
	詳細な分布は判らない。質量の小さいナノ粒子を高感度に研究できない。	蛍光色素により標識したものしか検出できない。	広い範囲を観察するのに、極めて多大な労力を要する。

1つ目のこの「ICP-MS」というのは、ナノ粒子に限らないのですが、化学元素を定量的に解析する方法です。例えば二酸化チタンでしたら、二酸化チタンが体のどこにどのくらい分布するかというのは、一応これを使えばわかります。しかし問題は、まずこのICP-MSでは、ある程度そこに質量がないと検出できません。なので、その質量の小さいナノ粒子を感度よく検出することは、実際に出来ていませんし、おそらく出来ないのではないかと考えています。それから、例えば動物を使って肝臓にこれだけ移行するとか、蓄積するとか、腎臓に行くとか肺に行くとか、そういった大雑把な分布はわかるのですが、組織の中のどの細胞に分布するかですとか、それがどういう風に移動するのとかといった詳細な分布というのは、この方法ではわからないというのが現実です。何故かと申しますと、この方法では生体試料をですね、全て混ぜてしまって（粉碎して）その中にある元素がどのくらいかということしか測れないので、生体試料の中の詳細な分布まではわからないためです。一方、感度を上げるということについては、顕微鏡を使って調べるという方法があります。電子顕微鏡を使えば、非常に分解能が高いので、細かいもの（構造）を見ることが出来ます。なので、これを使うとナノ粒子がどこにあるかということと、あと形状、形までしっかりと確認することが出来ます。ただし、これは非常に狭い範囲しか観察することが出来ないため、広い範囲を観測するためには、出来ないと言っていいくらい、労力を要するというのが現実です。広い範囲を見られないと何がいけないかと言うと、結局定量が出来ない、つまりどのくらいの量がそこにあったかわからないというのが問題になるのです。で、その中間的な性格を持つものに

蛍光顕微鏡がありまして、蛍光でナノ粒子を検出するといったものも非常に有用な技術なのですが、これはそもそもナノ粒子が蛍光を発するか、もしくは蛍光色素で標識できれば（粒子に付けられれば）良いのですが、そういったものを付けられない粒子ですとか、そもそもその粒子が蛍光を出さないとか、この方法で検出出来ないものは沢山あって用途が限られてしまうというところで、これも万能ではないのが現状です。この技術については、私自身はこの分析技術の分野には弱いのですが、実際にそういったことも研究を進めている人が多いので、しっかりこれらの点は改善されていって欲しいなと思っています。

解決すべき課題③

- ・ 各場面で議論に挙がるナノ材料は、どの用途に応用するものなのか。
- ・ どのような曝露シナリオが想定されるのか。

医薬なのか、化粧品なのか。
環境放出は限定的なのか。
職業曝露が問題なのか。

曝露シナリオを混同せずに、
建設的な議論を。

曝露評価

ヒトへの実際の曝露量の推定

さて、今までこの話（生体影響評価手法・指標の確立と、ナノ粒子の高感度かつ定量的な検出技術の確立の必要性）をしてきましたが、もう一点は、「曝露評価」。これは他の化学物質の場合でも重要なのですが、実際に我々がどれだけのナノ粒子に曝露されるのかを評価することが、リスク評価には必要になります。結局、ほとんど曝露されないものであったら、それは別に行政で管理する必要がないのです。ただ、今そのナノ粒子、ナノマテリアルが非常に多くの面で使われているという現実がありまして、それがもし環境中に放出される場面があって、我々に曝露される、我々がそれに触れる機会が増えていくとしたら、その評価がリスク評価、リスク管理に必要ということになります。今私は、「と、したら」という言葉で表現しましたが、とにかくここをしっかりと評価する必要があるのです。これは現在研究が進んでいるところでもありますが、そういうことを含めてナノ粒子、ナノマテリアルのリスクの問題に関して効果的な議論がなされているか、ここが少し私の気にしている所です。結局「その」ナノマテリアル、ナノ粒子が、医薬として応用され得るものなのか、化粧品に入っているようなものなのか、環境放出はあり得るけれども極めて限定的なのか、それとも非常に多い場面があるのかとか、そういった点が重要なのです。例えば、はじめに申し上げた職業曝露のように、生産段階とか廃棄の段階で放出され得ると、その場で仕事をする人たちに危険が及び得るのかですとか、そういったことをしっかりナノ粒

子ごとに、曝露され得る場面を分けてリスクの問題は議論されなくては、建設的な議論は出来ないのではないかと思います。例えば、あるナノ材料が医薬として応用されようとしている場合でも、そのリスクについて論じるときに、吸うかも知れないから、吸ったときの危険性、安全性を研究しなきゃいけない、という議論が一緒に行われることがあるのです。でも医薬で、もちろん吸入の医薬品もありますけれども、医薬として管理されているもので、環境放出されて、我々が吸う機会があるものというのはそうないと思って良いと思うんですよね。そういった感じで、その材料がどういったことに応用されて、どういった場合に我々がそれに曝露されるのかというのを分けて議論することが必要ではないかな、と考えています。話は変わりますが、化粧品や食品は、医薬品と比べて安全性の基準が非常に弱いです。それは、基本的にその必要性もないと考えられてきたところもあると思いますが、逆に医薬品と言うのは、極めてこれでもかというくらいに厳しい規制とも言える、製造から投薬の段階に至るまでかなり厳しいルールが決められています。何故かというと、医薬というのは病気になった人を治すという目的があるので、体に作用することを目的として作られているんですね。なので、有害な作用が起こらないようかなり厳しい規制がなされています。そのために、ナノ粒子を医薬として使う場合に関しては、ある程度その医薬品の一つ一つについての安全性試験などが、かなりしっかりと行われるはずなんです。なのでこれに関しては私は、それほど懸念をしておらず、そのルールがしっかり有効に働けばいいなと思っているくらいです。しかし、化粧品ですとか、あとは職業的曝露の問題や環境放出から懸念されるリスクですとか、そういったところは、やはりしっかりと、どれくらい我々はそれに触れるのかということも含めて評価しなければいけないなと考えています。

さて、ここから最近話題になってしまった大気環境中の微小粒子、PM2.5のお話をしたいと思います。まずは疫学報告の報告を簡単に紹介します。先ほど武田先生も少し紹介されましたが、PM2.5に関しては疫学報告のデータがしっかり出ているのです。とくにアメリカでは、EPA(環境保護庁)で5年に1度そのデータを評価し直して、基準値も変える必要があるかないとか、それをしっかりと議論しようということがルールとして決められているので、しっかりと成果がまとめられています。そこで、今日はそこから少し引用して紹介します。