

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総括）研究年度終了報告書

毒性評価を目的としたナノマテリアル分類システムの構築

研究代表者

小泉直也（昭和薬科大学 薬学部 講師）

研究要旨

本研究は、ナノマテリアルの開発と製造および利用が安心して進められるため、ナノマテリアル安全性における分類システムを構築することを目的としており、3年間の計画でその分類評価項目の選定と妥当性の検討および既存のナノマテリアルを用いた分類システムの評価を行う。これまでに生体毒性が報告されている70nmのナノシリカを用いて、培養細胞における中・長期毒性評価モデルを構築したことから、ナノマテリアル作用による細胞増殖性の抑制機構について、検討するため細胞周期の変動について検討を行った。また、ナノシリカ粒子との細胞内相互作用分子として、ヒートショックプロテイン（HSP）が候補として検出されたことから、ナノ粒子とヒートショックプロテインの相互作用形式の解明に関しての検討をおこなった。

まず、構築した中・長期毒性評価モデルを用いて、細胞増殖性の低下が認められたナノシリカを作用後の細胞周期を測定したところ、ナノサイズのシリカ粒子を作用させた際にのみ細胞分裂速度が遅くなることが示された。また、ナノシリカ粒子による細胞周期の停滞はG2期に強く認められたことから、ナノシリカ粒子特異的なメカニズムの存在が示唆された。そこで、ナノシリカ粒子の相互作用分子の同定を目的に、プルダウンアッセイの改変法により、ナノシリカの沈降分画にHSPが存在することを明らかとした。次に、組み換えHSPを用いてシリカ粒子との結合性を検討したところ、直接の結合は認められなかった。しかしながら、アルブミンタンパク質の共存によりシリカ粒子とも間接的な結合をすることが明らかとなり、ナノ粒子とHSPタンパク質が生体内で相互作用する可能性が示された。

これら結果は、ナノシリカを中心としてナノ粒子と生体分子との相互作用の一端を明らかとしたものであり、中・長期毒性評価モデルにより引き起こされる細胞増殖性の低下を引き起こすメカニズムの解明の一助になると考えられる。ナノマテリアルの長期的な細胞への影響について、詳細なメカニズムが明らかとなることで、簡便な安全性評価基準の確立にもつながることから非常に有用な成果であると考えられる。