

カーボンナノチューブ(CNT) が新しいアスベストかもしれない という証拠が続々と

Mounting evidence that carbon nanotubes may be the new asbestos

Friends of Earth Australia (2008 年 5 月 21 日)

翻訳：吉澤剛＋江間有沙＋上田昌文

要旨

カーボンナノチューブ (CNT) は炭素原子からなる薄い中空の円筒であるが、アスベストにとっても良く似ている。2004 年、英国の王立協会と世界で二番目に大きな再保険代理店であるスイス Re のリスク専門家が、いったん肺に CNT が入れればそれはアスベストのように振舞うかもしれないと警告した。続く一連の実験では、齧歯類の肺に注入された CNT が炎症や肉芽腫の進行、線維症、心臓発作に関わる動脈の「プラーク」、DNA 損傷を引き起こすことが示された。二つの別々の研究では CNT は中皮腫の発症を起こしうることも示された。中皮腫というガンはこれまではアスベストの曝露だけが関係すると考えられていた。残念ながら、CNT にアスベストと同様の危険性がある証拠が積み上がってきているにも関わらず、スポーツ用品、自動車や飛行機の部品、強化プラスチックやエレクトロニクスにおける商業的利用も急速に広まっている。

アスベストの悲劇を繰り返さないために、地球の友は、曝露について安全な水準があるかどうかの研究によって示されるまで、CNT の商業的利用とナノチューブを含む製品の販売を直ちに停止することを求める。われわれはまた、人間の健康と環境を守るためにナノテクノロジーに特化した新しい規制を要求する。一つは労働現場および消費者製品において使われるあらゆるナノ物質の表示義務について、そしてもう一つはナノテクノロジーのガバナンス、政策的展開、研究の優先順位についての意思決定において市民に重要な役割を与えることについてである。

著名な科学者やリスク専門家は CNT がアスベストのようなリスクを生じうることを 2004 年から警告している

2004 年、王立協会と王立工学アカデミー (RS/RAE) の高名な科学者と世界で二番目に大きな再保険代理店のスイス Re のリスク専門家とともに、CNT は多くの物理的特性をアスベストと共有しているためにそれらは同様の健康リスクを持ちうることを警告した。

スイス Re は単刀直入に言う。「…ナノチューブにはサイズや形がアスベスト繊維に似たものがある。有害の可能性も似ているだろうことは明らかに思える」(Swiss Re 2004, p42)

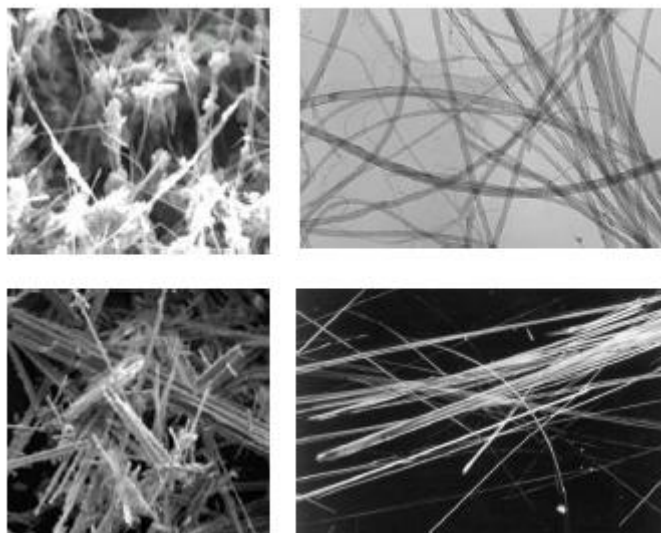


図1: CNT (上列)とアスベスト繊維(下列)の物理的特性の類似

RS/RAE はこう警告する。「産業界での繊維の曝露はアスベストの形態をとり、ガンを含め深刻な疾患の良く知られた原因である。そのような繊維の毒性は、肺に深く吸入を許すほどの狭さを持った直径、マクロフェージによって除去されるのを妨げる長さ、組織液中の溶解抵抗、そして酸化的損傷を起こしうる表面に依存する。…炭素や他のナノチューブは類似した毒性の可能性を高める物理的特性がある。…そのような物質は慎重な毒性評価が求められ、実験室や産業界で特に注意して扱われなければならない」(RS/RAE 2004, p50)

王立協会が定めた、アスベストのようなリスクをもたらす恐れがあるとみなせる主要な判定指標を、CNT は満たしている

2004 年に RS/RAE が、炭素や他のナノチューブがアスベストに似たリスクを生じうるかについて予測することは深刻な知識不足がわれわれの能力を危ういものにするに認識した。RS/RAE の提言によると、「アスベストを用いたこれまでの経験からすると、ナノチューブには特別な毒性学的注意が払われるべきである。求められる研究の種類はボックス 5.4 に列挙している」(RS/RAE 2004, p43)。別添 1 はこれらの研究の 2004 年以降の進捗を評価したものである。

CNT によって引き起こされる健康リスクについての理解に重大な不足があり、それには緊急に注意する必要がある。不足と言うのは、空中に浮遊したナノチューブが現実的な職業的ないし環境的条件下で肺に到達するかどうか。中皮腫や他の深刻な疾患にいたる現実的な曝露レベルでの長期的な吸入/曝露の可能性。セクターや職種を超えて労働者が直面しうる職業曝露レベル。急性毒性の可能性に影響するサイズや形や他のナノチューブ特性の役割。線維症、ガンや他の疾患の可能性に影響するサイズや形や他のナノチューブ特性の役割。ナノチューブの特性や毒性に影響する凝集、集積、分解、解離の役割。ナノチューブの長期的な生物学的耐久性。そして、製品のライフサイクルを通じてナノチューブが放出される可能性である。

しかし別添 1 に挙げられている研究が示すように、CNT の生物学的挙動に関して RS/RAE が特定し

た重要な予備的質問の多くは解答がなされている。既刊文献では、ナノチューブの形態によってはアスベストと同様の健康リスクを引き起こし、幅広い種類のナノチューブは限局的な毒性効果と全身性の毒性効果の両方を生じることが強く示唆されている。アスベストの悲劇を繰り返すおそれの早期兆候があったので、今後の研究によってナノチューブの曝露が安全だとみなされるレベルがあるかどうかははっきりするまで、CNT のこれからの商業的生産と販売を中止する手段を遅らせるどんな理由も受け入れられない。

ナノチューブがアスベストのような疾患や急性毒性を引き起こしうることを示す研究がますます増えている

近年、CNT の曝露がアスベストと同様の疾患や急性毒性、心臓発作に関わる動脈の「プラーク」の加速度的進行、細胞死、曝露面から遠く離れた箇所での DNA 損傷を引き起こしうるという証拠が積み上がってきた。

- アスベストのように見えるナノチューブは、アスベストのように振舞う。7 日間の生体内研究では、マウスの腹腔に注入された長い多層 CNT (MWCNT) はアスベストのような病原性を引き起こした (Poland et al. 2008)
- 180 日間の生体内研究では、アスベストの最も強力な形態よりも CNT の方がマウスの腹腔への注入後に中皮腫による死亡例が多かった (Takagi et al. 2008)
- 点滴注入により十分な量のナノチューブが肺に到達した生体内研究では、ナノチューブは炎症や線維症、肉芽腫を引き起こした (Lam et al. 2004; Muller et al. 2005; Shvedova et al. 2005)
- 比較生体内研究では、MWCNT の気管内注入が炎症と深刻な肺障害を引き起こし、吸入は中程度の病変を引き起こした (Li et al. 2007)
- CNT の既刊文献のレビューは知識不足が相当残っていることを強調しているが、単層 CNT (SWCNT) および多層 CNT (MWCNT) は深刻な肺疾患と場合によってはガンを生じうることを示している (Donaldson et al. 2007; Lam et al. 2006; Muller et al. 2006)
- 生体内研究によれば、肺内タンパク質は選択的に CNT と結合し、肺の免疫防御機構に損傷を与え、肺の感染症や肺気腫のリスクを増加させる (Salvador-Morales et al. 2007)
- ナノチューブは心臓発作や脳卒中を起こす動脈のプラークの加速度的進行の原因となり、生体内研究によってテストマウスの心臓内における DNA 損傷が示された (Li et al. 2007)
- CNT が用量依存的な細胞死を起こす生体内研究では、CNT が細胞核に取り込まれた (Porter et al. 2007)
- MWCNT は生体内研究で肌細胞の中に限局していた。それらは炎症、タンパク質の機能障害、細胞生存率の減少を引き起こした。著者たちは、これは肌障害の原因になりうると警告している (Monteiro-Riviere et al. 2005; Witzmann and Monteiro-Riviere 2006)

これらの研究の詳細な要約は別添 2 を参照のこと。

ナノチューブの職業曝露を測るのに適切な感度があつて費用対効果の高い技術はない

あらゆる CNT の職業曝露を日常的に計測するための、適切な感度があつて手ごろな検出技術がないことは非常に懸念される (Tantra and Cumpson 2007)。どのレベルのナノチューブの職業曝露が安全か、あらゆるレベルの長期的曝露は受け入れがたいリスクかどうかを決めるには、さらに多くの研究が求められる。だが労働現場でナノチューブの受け入れ可能な曝露レベルを決定し、法制化することができたとしても、費用対効果があつて日常的に労働現場の曝露レベルを計測できる技術がなければ、それを施行することは不可能となる。

今やナノチューブは電子機器、プラスチック、自動車部品、スポーツ用品、燃料フィルター、その他製品に使われているので、単に実験室の研究者ばかりでなく、非常に多様な産業や立場にいる労働者がナノチューブの職業曝露に直面しうる。Tantra and Cumpson (2007) いわく、「CNT に対する高い感度と選択性があつて費用対効果のある検出システムを持つ必要は、CNT、とりわけある特定の型のナノチューブが示す高レベルの毒性を持つという証拠が増えていることに突き動かされている。」

CNT の職業曝露を評価できる技術がナノチューブの商業的發展より遥かに立ち遅れているという事実は非常に懸念される。Tantra and Cumpson は、検出技術は学術文献で例証されることはあつたが、現実的な労働現場の文脈における適切性は調査されて来なかつたと戒める。あらゆるナノチューブに対する感度があつて費用対効果もある「完璧な」検出技術など存在しないと彼らは警告する。「あらゆる技術のなかで、ラマン分光法は最も有望である。だがしかし、この方法は限界がないということではなく、装置が複数のレーザー光を出し、検出が単層/多層 CNT を中心に行われるだけなら適しているということが分かつたに過ぎないであろう」(Tantra and Cumpson 2007, p261)。すなわち、これらの著者が最も有望だとした技術でさえ、様々な MWCNT を確実に検出することはできないかもしれないのである。

結論

予備的研究は、ある形態の CNT は中皮腫の進行を引き起こすことがありうることを示している。多くの研究では、限局的かつ/または全身性の毒性に加え、十分な量が肺に到達すれば、様々なナノチューブがアスベストと同様の病原性の原因となりうることを示している。明らかな知識不足は緊急性の高い研究を必要としている。しかし、予備的研究は、ナノチューブがアスベストと同様の害を引き起こす可能性を示す鍵として、英国王立協会によって出された質問の大半には既に肯定的に答えている。これはさらなる毒性学研究がなされている一方で、労働者と市民の健康を守るために規制が確立し、日常的に職業曝露を計測する検出技術が発達するまで、ナノチューブの商業的利用に対する強く事前警戒的なアプローチの正当な理由となる。

アスベストの悲劇を繰り返さないために、地球の友オーストラリア支部では CNT の曝露の安全水準があるのかについて例証できるまで、CNT の商業的利用およびナノチューブを含んだ製品の販売について即時のモラトリアムを求めている。CNT については非常に大きな健康リスクの証拠があるので、許容しうる職業曝露レベルの CNT と労働者に提供される製品安全データシートが、人造黒鉛に基づいたもののみでなければならぬということとはまったく受け入れられない。

CNT のさらなる商業的利用の前に、われわれは労働者や市民、環境を保護するナノテクノロジー固有の新しい規制を求める。それはあらゆる物理化学的特性化と包括的な安全性試験を必要とする、ナノチューブや他の製造ナノ物質に対するナノ特有の安全性評価を含む。用いられる評価指標もナノ物質に適したもの（すなわち、質量よりも粒子の表面積や粒子数）でなければならない。新しい許容曝露水準は明らかに法的強制力のあるものでなければならない。ナノチューブの商業生産を進める前に、日常的な職業曝露の計測に対して費用対効果があって信頼できる技術の発展が必要なのである。

CNT はナノ物質として、および繊維として安全性評価がなされるべきである。重大な健康被害を引き起こすことが示された MWCNT は直径 200nm 以下である。このサイズでの MWCNT や他の粒子に関する有害性についての鍵となるメカニズムは酸化的ストレス、炎症、100nm より小さいサイズの粒子に共通して関係するタンパク質相互作用のように思われるので、われわれは 300nm 以下のサイズのあらゆる粒子や物質に対してナノ固有の安全性評価と指標を適用することを求める（Friends of the Earth Australia 2008 を参照）。ナノチューブに関する有害性についての他の鍵となるメカニズムは呼吸域で持続性のある高アスペクト比繊維として挙動するように思われるので、それらの毒性は統一的な戦略の一部としてアスベストや他の繊維と一緒に評価されるべきであるという意見を支持する。

市民の「知る権利」を鑑み、労働現場および消費者製品において使用されるあらゆるナノ物質に表示義務を求める。最後に、ナノテクノロジーの発展により予測される大規模な社会的・経済的・環境的影響をもっと一般的に見ると、ナノテクノロジーのガバナンス、政策的展開、研究の優先順位についての意思決定において市民に重要な役割が与えられるよう求める。

付表 1 : 英国王立協会と王立工学会 (RS/RAE) (2004, Box 5. 4) によって確認された、CNT の健康リスクの可能性のアセスメントと評価の進捗

RS/RAE によって確認された、健康被害の可能性のあるナノチューブに関する鍵となる質問	返答	コメント / 関連する情報
作業場に存在しうる繊維の大きさと濃縮度を判断する、産出と処分の職業衛生学研究	ナノチューブの作業場で起こりうる濃縮は未知	ライス大学とある商業施設 (Maynard et al 2004) が NASA での暴露を研究したものしか、職業衛生学研究では公表されていない。この研究では暴露レベルは低かったが、この生産施設では一日に数グラムの CNT しか生産していなかったため、筆者らは「大規模生産条件下では、作業員に対するかなりの暴露が存在する可能性はある」と述べている。
繊維は 15 μ m よりも長いのか (マクロファージによって取り除くことができない)	Yes	商用化可能なナノチューブの中には 15 μ m/15,000nm よりも長いものがある (例: Poland et al. 2008, Takagi et al. 2008 によって用いられたサンプル)。しかし、15 μ m より短いナノチューブも分解しにくく有害である可能性があるとする研究もある (Donaldson et al. 2004, Muller et al. 2005, Shvedova et al. 2005)
空気の交換を行う肺の部位にも繊維は到達しうるのか (たとえば、繊維は 3 μ m よりも細いのか)	Yes	SWCNT は直径数 nm よりも一般的に小さい。MWCNT は概して 10-200nm/ 0.01-0.2 μ m くらいの直径である (Donaldson et al. 2006)
繊維は耐久性があるのか (繊維は肺で残存し同定できるのか)	Yes	下記参照
繊維は細胞を殺し、炎症を引き起こし、遊離基を放出するのか	Yes	ナノチューブが炎症を引き起こすことを示す研究がいくつかある (Lam et al. 2004, Wizmann and Monterio-Riviere 2006, Muller et al. 2005)。Shvedova et al. (2005) は、炎症と、酸化ストレス、サイトカインの用量依存性のバイオマーカーを SWCNT 暴露マウスの洗浄液の中で発見した。Monteiro-Riviere et al. (2005) は、純化された MWCNT が時間及び用量に依存して炎症性サイトカインを生成し、ヒト表皮角化細胞の細胞生存率を減らすということを発見した。Porter et al, (2007) は SWCNT が人間の細胞質と細胞核に摂取され、用量依

		存性の細胞死を生じさせることを可視化した。
金属を除去することでその毒性にはどのような影響があるか	ナノチューブは毒性を残す	純化された CNT は炎症、肉芽腫と線維症を実験齧歯動物の肺に引き起こし(Lam et al. 2004, Shvedova et al. 2005)、金属不純物が傷害を引き起こすのではなく、SWCNT そのものに毒性があるということを証明した。
繊維は吸入または注入されたあとラットの肺に残存するのか	Yes, 生体内の研究が齧歯動物の肺に残存することを示している	Muller et al. (2005) は MWCNT は、気管内注入のあと 60 日後でも肺病変において分解されず、81.2%の 5.9 μ m の MWCNT が残存し、36%の 0.7 μ m が残存することを発見した。Lam ら (2004)は、気管内注入の 90 日後でも、肉芽腫は固気混相マクロファージと SWCNT 粒子を含んでいることを発見した。Shvedova ら (2005) は、咽頭吸引の 60 日後でも SWCNT が肺に残存していることを発見した。Lam ら (2006 p209) は、「CNT は完全に不溶性で、おそらく生物学的に最も分解できない人工の物質の一つであろう」と解説している。
繊維は吸入または注入されたあと、炎症を引き起こすのか	Yes	SWCNT の咽頭吸引は、実験マウスの肺の炎症と傷害を引き起こし、用量依存性の酸化損傷を心臓のミトコンドリア DNA に引き起こした(Li et al. 2005, 2006)。Muller et al. (2005) は、MWCNT が繊維形式誘導性で炎症誘導性が高く、おおざっぱに言って、温石綿コントロール群と同等であることを発見した。Shvedova ら (2005) は、SWCNT が「ロバストで急性の炎症反応」を引き起こすことを発見した。24 日間の研究で、Li ら (2007)はマウスの MWCNT における気管内注入と吸引暴露を比較した。気管内暴露は炎症と深刻な肺胞の網目構造の破壊をもたらし、吸入暴露は「適度な病理学的な損傷」の発展だけをもたらした。
繊維は長期にわたる吸入のあと、肉芽腫や(あるいは同時に)癌を引き起こすのか	未知	1 つの短期間の吸入研究のみがなされた。最長期間の注入研究は 90 日間である。一連の吸入 vs.注入のナノチューブへの暴露の違いの可能性を考慮にいと、より多くの吸入研究と長期にわたる研究が、より現実味のある暴露の効果を探求するために必要とされる(Warheit et al. 2006)。Lam ら(2004) は、気管内注入の 90 日後でも、3 つの異なる SWCNT の種類が深刻な肉芽腫と線維性の損傷を引き起こすことを発見

		した。Muller ら(2005) は、気管内注入の 60 日後でも、MWCNT が線維症を引き起こすことを発見した。Shvedova ら(2005) は、SWCNT の咽頭吸引のあと 60 日後でも、間質性損傷が発病することを発見した。
繊維はラットの胸膜あるいは腹膜(それぞれ肺と腹腔の膜)に注入されたあと、中皮腫(癌)を引き起こすのか	Yes	Poland ら(2008) は、MWCNT の適量をマウスの腹部に投与した 7 日後、長い MWCNT が炎症と肉芽腫、中皮腫を発症させることを発見した。短いのと、もつれた MWCNT では発症しなかった。Takagi ら(2008) は、片方のマウス群の腹部に MWCNT の高容量を投入し、もう一方のマウス群の腹部にはクロシドライト(青石綿)を投与したところ、180 日後において、MWCNT を暴露されたマウスのほうが、クロシドライトを投与されたものよりも多くが中皮腫で死ぬことを発見した。

別添 2 : 主要研究の詳しい要約

以下のセクションでは CNT 毒性学についてのいくつかの既刊論文の詳しい要約である。そのため包括的とは程遠いものである。近年、CNT の毒性を調査した文献が劇的に増えている。より包括的な文献レビューは Donaldson et al. (2006)、Jain et al. (2007)、Lam et al. (2006)、Oberdörster et al. (2007)、Warheit (2006)を参照のこと。

げっ歯類の体腔へのナノチューブの注入はナノチューブがアスベストのように挙動し、中皮腫を起こしうることを示している

ナノチューブが中皮腫を起こす可能性があるかどうかを評価するため、王立協会・王立工学アカデミーはマウスの肺の内粘膜あるいは腹腔へのナノチューブの注入をする実験を推奨した (RS/RAE 2004)。研究では吸入され肺に運ばれたナノチューブではなく、直接ナノチューブを中皮膜に導入するので、注入は現実的な曝露シナリオをシミュレートしたものではない。ナノ物質は体中のあらゆるところに運ばれることは知られているが、肺の内粘膜に CNT が運ばれる可能性についてはデータがまだ全くない (Donaldson et al. 2006)。しかし注入の研究は、CNT がアスベストのような病原性を示す可能性を調べるのに必要な実験体制の貴重な一要素である。今日まで実施された二つの注入研究は、アスベストのように見える CNT がアスベストのような病原性を発生することを実証している。Takagi ら (2008)はさらに、180 日間の研究で CNT が実験マウスに致死的な中皮腫を生じさせることを示した。

アスベストのように見えるナノチューブはアスベストのようにふるまう：マウスの腹腔へのナノチューブの注射は 7 日以内にアスベストのような病原性を発生させる

3 つのスコットランドの大学、職業病医学 (UK)、米国ウッドロウ・ウィルソン国際学術センターからの研究者チーム (Poland et al. 2008) が少量の多層 CNT (MWCNT) をマウスの腹腔に注入した。研究者たちは、アスベストに最も似ているナノチューブである長い MWCNT が「アスベストのような、長さに依存した病原性」を示したことを発見した。これには「定性的にも定量的にも長いアスベストによって引き起こされる異物炎症反応に似た」炎症や肉芽腫および巨大細胞の成長が含まれる。最も懸念すべきは、Poland らが長い MWCNT がアスベストのような病原性を 7 日間以内という短い研究期間で生じることを発見したことである。彼らは、短く絡み合った MWCNT は長いアスベスト繊維のような挙動とは似ていないことも見つけた。著者らは短くなった MWCNT がマクロファージ(スカベンジャー細胞)で綺麗に一掃され、すなわち炎症効果が起こらなくなることを観察した。ところが少数のマウスを用いた実験(短い MWCNT の各実験につき n=3)では、MWCNT の単一注入と短期では、中皮膜内の短い MWCNT の挙動についてのさらなる研究が役立つであろうと示唆している。さらにこれらの結果は、短い MWCNT が安全であるということの意味しない。Poland らは「短い CNT は粒子であるという点で病原性があるかも知れず、ここで用いる分析試験では検出されずにアスベスト/繊維タイプの効果に対してのみ感度が高いということがありうる」と記している。

著者らは次のように結論づけた。「われわれの結果は、長期的な有害性が避けがたいのであれば、市場に[CNT を含んだ]製品が導入される前にさらなる研究と大いなる注意が払われることが必要だと示唆している」(Poland et al. 2008)

マウスの腹腔にナノチューブを注射した 180 日間研究では、最も強力なアスベストより中皮腫による死亡を起こした

日本の国立医薬品食品衛生研究所と東京都健康安全研究センターからなる研究者グループ (Takagi et al. 2008) はマウスの腹腔に大量の MWCNT を注入し、この効果を、180 日間以上にわたって最も強力なアスベスト (crocidolite) の注入したマウスと比較した。コントロールとして第 3 のグループにはカーボンフラレーンを処方した。用いた MWCNT はサンプルの 72.5%が 5 μ m 未満の長さであり、27.5%が 5-20 μ m であった。後者は Poland ら (2008) が短い・中間として参照した長さである。MWCNT を処方したマウスは中等度から重度の線維性腹部癒着 (炎症や損傷の結果として二つの組織が異常結合したもの)、異常多核巨大細胞や高発生の大型 (2.7 x 1.5cm) 腫瘍を示した。アスベストを処方したマウスも同じ症状を示したが、軽程度であった。MWCNT やアスベストを含んだ細胞は肝臓やリンパ節でも見つかった。フラレーンを処方したマウスは腹部の病変を示したが、腹部癒着や腫瘍成長は見られなかった。中皮腫による死亡は、MWCNT 処方マウスが最も高く、次いでアスベスト処方マウスであった。フラレーン処方マウスでは中皮腫の発現はなかった。フラレーンからアスベストのような病原性が発生しないといっても、それらが安全であるというわけではないということを強調しなければならない。というのも、Poland ら (2008) のように、この研究は粒子に関係した毒性学的損傷に対して線維に関する損傷の同定に対してのみ敏感だからである。

筆者らはナノチューブの幅広い商業的利用が進む前に、危険有害性物質の特定 (hazard identification) が必要であることを強調して結んでいる。「有害な曝露はそれが発生する前に防がれねばならない。それが、発ガン性試験を含む慢性影響の試験がひとわり終了する前に初期の (つまり、あまり安全でない) 製品がすでに広く出回ってしまっているというようリスクを製造業者や消費者に負わせなくてすむ、安全な製品を生産する方法なのである」(Takagi et al. 2008, p145)

注入曝露研究は CNT が炎症、線維症、肉芽腫の成長を引き起こすことを示している

ピアレビューを受けたいくつかの研究では、ラットやマウスを CNT に曝露するとアスベストのような病気となる可能性を実際に示した。これらの研究ではげっ歯類に CNT を曝すため、一般的に気管内注入あるいは咽頭吸引を用いる。これらの方法は、ナノチューブが吸入される場所から動物の喉の奥への CNT の急速静注 (ボラス) に頼っている。

注入実験は、現実的な曝露シナリオを模しておらず、吸入曝露による有害性を潜在的に過大視すると批判されてきた (Donaldson et al. 2006; Warheit et al. 2006; Oberdörster et al. 2007)。ナノチューブの注入曝露と吸入曝露を比較した唯一の既刊研究によれば、吸入は中度の病変の進行を起こしたも

の、注入曝露は吸入曝露より大きな有害性を引き起こすということである (Li et al. 2007)。現実的な曝露シナリオを用いた研究が強く求められているが、注入研究は CNT に固有の毒性を明らかにしているのである (Lam et al. 2006)。研究は、十分な量の CNT が肺に到達すれば、炎症や線維症、肉芽腫の成長を引き起こすことを示している。

マウスの単層 CNT への気管内曝露は肉芽腫および炎症を誘発した

NASA とテキサス大学の研究者たち (Lam et al. 2004) はマウスを (やや汚染された) 単層 CNT の気道内投与に曝し、7 日後と 90 日後に解剖した。SWCNT は投与量に依存し、持続性の類上皮肉芽腫や、場合によっては間質性炎症を引き起こすことを発見した。病変は 90 日グループでより顕著であり、マウスの肺から「肺胞中隔に拡がった気管支周囲炎および壊死」が発現したこともあった。

Lam らはカーボンブラックと大量の石英粉塵をコントロールとして用い、次のように結論づけた。「…もし CNT が肺に到達したら、それらはカーボンブラックより遥かに毒性が高く、また石英よりも毒性が高くなりうる。このことは慢性的な吸入曝露における重度の職業上の健康被害と見なされる」。彼らはまた、「…労働者が合成黒鉛に対する PEL[許容曝露限界]濃度の何分の一かの呼吸域 NT[CNT]粉塵に慢性的に曝露されたならば、彼らは重度の肺病変を進行させるおそれがある」と警告した。

咽頭吸引による単層 CNT へのマウスの曝露は肉芽腫の成長と線維症を早期発症させた

米国国立労働安全衛生研究所 (NIOSH) および NASA の研究者たちは SWCNT の単一気管内吸入投与にマウスを曝露させた (Shvedova et al. 2005)。彼らは純粋な (汚染されていない) SWCNT を、黒鉛粒子に対する既存の許容曝露限界を比例的に反映させたレベルで用いた (カーボンナノ物質に対する曝露限界は設定されていない)。彼らは 1 日後、3 日後、7 日後、28 日後、60 日後にマウスを解剖した。SWCNT への曝露は炎症、肺機能の低下、肉芽腫の成長や早発型の線維症を引き起こした。SWCNT は超微細のカーボンブラックや珪石の粉塵と比較して、(重量あたりの) 量でいうとより毒性が高かった。

著者らは次のような結論を出した。「この研究の結果は、労働者が現状の (黒鉛粒子に対する) PEL[許容曝露限界]で呼吸域の SWCNT 粒子に曝露されれば、何らかの肺病変を進行させる危険性がありうる」 (Shvedova et al. 2005, p703)

SWCNT へのラットの気管内曝露は肉芽腫と炎症を誘発する

3 つのベルギーの大学にいる研究者たち (Muller et al. 2005) は、原型のものと、細かくしたものの両方の MWCNT に気管内注入法を用いて 60 日間ラットを曝露させた。原型の MWCNT は気道中で凝集し、肉芽腫および周囲肺炎を誘発した。細かくした MWCNT は肺実質内でよく拡散し、炎症や線維化反応も誘発した。MWCNT は研究期間中の 2 ヶ月以上、肺の中に存在し続けた。原型の MWCNT の 80%、細かくした MWCNT の 40%は 60 日後もラットの肺に残っていた。著者らは「MWCNT は潜在的に人体に有害である」という結論を示した。

比較研究で、気管内への MWCNT の注入によって炎症ならびに重度の肺の損傷をもたらされることが見出された。吸入の場合は穏やかな病変が観察された

Chinese Academy of Sciences and Ningbo University の研究者たちが、マウスを用いて MWCNT を 1 回だけ気管内に注入することと、8 日から 24 日にわたって吸入をさせることを比較した(Li et al. 2007)。前者では気管支内壁の炎症と肺胞組織の重度の損傷をもたらされたのに対して、後者ではエアロゾル化したものを何度も吸入させても損傷は、著者たちは「穏やかな病変」と表現しているが、より軽いものであった。著者たちは、比較的長期間の穏やかな曝露においては、非吸引性の MWCNT がマウスの体内に取り込まれなれず、より微小なサイズの MWCNT は注入する場合と比べると吸引の場合はエアロゾル中で凝集してしまったのではないかと推測している。吸入実験では穏やかな病変は観察されたものの、注入実験では MWCNT 曝露による害が過大に見積もられている可能性があることが、この実験からうかがえる。

CNT の毒性に関する研究のレビューによって、S WCNT と MWCNT が肺疾患や、もしかしたら肺ガンを引き起こす恐れがあることが結論づけられる

ベルギーの研究者たちが文献をレビューして次の結論を得た。「これまで入手できた文献を概括すると、CNT (SWCNT ならびに MWCNT)が肺に達した場合、重度の炎症や繊維形成反応を引き起こす可能性がある。データから言えることにはいろいろな限界もあるが、労働者が吸引可能な CNT にさらされた場合、深刻な肺疾患のリスクを被るかもしれないことは示されている。」

吸引された粒子が持つかもしれない健康への悪影響を考えると、CNT の発ガン因子としての可能性をさらに調べる研究は、こうした粒子が炎症反応(肺炎)を引き起こし、それがもとで肺ガンの前哨となる遺伝毒性を持つ病変が起こることを示した研究があるだけに、重要だろう。そのことに次いで、CNT の繊維としての作用は、肺線維症や悪性塵肺は肺ガンのリスクの増加と関連していることがわかっているので、発ガンを引き起こす可能性があるかと深く憂慮すべき事柄だろう。

論文「CNT の毒性のレビューと職業面ならびに環境面に対して生じるかもしれないリスクの評価」において、NASA とテキサス医科大学の研究者たちは、CNT は健康への深刻な危険をもたらすだろうことを示す強力な証拠がある、と結論づけている。

CNT の肺毒性を調べた動物実験を総覧すると、CNT は肺における炎症、上皮肉芽腫、線維症および生体力学的な毒性変化を引き起こす可能性があり、それが肺機能の損傷につながるかもしれない……培養細胞による研究でも CNT が細胞毒性を示していた。これらの結果は、相当量の CNT 微細粒子が肺に到達し、毒性を発揮するだろうことを示している(Lam et al. 2006, p210)。

CNT の毒性に関する文献をレビューした Donaldson らは、「ナノ粒子と繊維の毒性学データベースを

構築しながら、CNT を吸引した場合の毒性にも適用可能な毒性パラダイムを打ち立てること」を追究してきた。エジンバラ大学と労働医学研究所の研究者たちは、「CNT には吸引可能な繊維としてあるいはナノ粒子として、酸化ストレスと炎症を引き起こす潜在的なリスクがある」と結論づけている。

「ピアレビューされた最近の文献から示唆されるのは、CNT の毒性は大量曝露した場合に予想される毒性にとどまらないかもしれないという点である。たとえば、CNT は、粒子の毒性をみる際の尺度となっているナノサイズの粒子であるカーボンや水晶よりも、同じ量で比べて場合毒性が強い……、しかしながら、CNT は吸引される間に凝集して大きな塊になるために、現在までのところ、人為的な影響を排除して吸引だけによるものと限定できるような実験はなし得ていないことに留意しなければならない。いくつか文献からも、CNT はおそらく酸化ストレスと炎症によるダメージをもたらすとみなすことができる(図 6)。さらに、これまでの研究によれば、CNT は肉芽腫の形成や繊維化というこれまで予想されていなかったことまで引き起こす可能性も示されている。ナノ粒子の毒性学パラダイムに基づくなら、ナノ粒子は最初に入り込んだ場所から他の組織に転移する可能性があるということも強調しておかねばならない。この点は今後の CNT 研究でも焦点となるべきものだろう」(Donaldson et al. 2006, p18)

毒性研究によって CNT が、心臓発作の原因となる動脈の“プラーク”形成の促進、免疫機能不全、DNA 損傷そして細胞死をもたらす可能性があることが示されている

SWCNT の気管内曝露は心臓発作の原因となる動脈の“プラーク”形成、DNA の損傷をマウスの心臓に引き起こした。ナノ物質は身体の中を移動し、曝露した箇所からほど遠い部分に損傷をもたらすというリスクを示していた。大気汚染物質の曝露が、とりわけ 100 ナノメートル以下の粒子がそこに含まれている場合には、循環器系疾患の発症と相関していることは、実験ならびに疫学研究で示されてきた。米国 NIOSH の研究者たちはマウスを用いた実験によって、SWCNT の気管内曝露が、肺への毒性に加えて、心筋梗塞や心臓発作の原因となる動脈プラーク(アテローム：粉瘤)の形成をもたらし、また心筋細胞のミトコンドリア DNA をも損傷していたことを見出した。彼らの観察によると「大半が凝集塊となった SWCNT を高濃度に呼吸器に曝露させると、肺への毒性が現れるだけでなく、血管への影響が現れる。これにはミトコンドリアの酸化的修飾とアテローム形成の促進が関係している。アテロームとは、血管壁にできた病変部分と脂肪と繊維組織から成る“プラーク”が堆積して盛り上がったものだが、それは狭心症、心臓発作、心筋梗塞、末梢血管障害などの循環器系疾患の根本原因となるものである。著者たちは次のように結論を下している。「まとめると、我々の発見が示しているのは、低レベルで慢性的な吸入曝露を生じる労働現場や環境において、SWCNT の吸入がどのような全身的な影響をもたらすのかを調べる研究をしっかりと進めていくことがとても重要になるのだということである」

肺のタンパク質には CNT に結合しやすいものがあり、そのことによって免疫系へのダメージや、肺の感染症ならびに肺気腫のリスクが高まる可能性がある

オックスフォード大学と Paul Sabatier 大学の研究者たちによると、肺のタンパク質には CNT に結合しやすいものがあり、そのことによって免疫機能が損傷を受けたり、肺気腫への脆弱性が大きくなるこ

とさえもある。界面活性タンパク質 A と D (SP-A and SP-D)は肺の気道の上皮細胞から分泌される。これらのタンパク質は、肺への感染を防御する前線という免疫上の重要な役割を担っている。彼らが行った試験管内実験では、SP-A と SP-D は、二価のカルシウムイオンの存在下でそれぞれ選択的に MWCNT 結合する。その結合の具合はナノチューブの凝集状態によって変化する。これはおそらく、ナノチューブ表面での不純物混入や化学的修飾の具合で左右されるのではないかと、著者たちは推測している。著者たちの次のように結論している。「こうした結果は、ナノチューブを長期間にわたって吸入曝露することは、感染症や肺気腫を起こしやすくなるという危険を高め可能性があるということを示している」(Salvador-Morales et al. 2007, p608)

CNT は細胞核に入り込み、入り込む量が多いほどそれだけ多く細胞死を引き起こした

CNT やその他のナノ物質を個々の細胞にとりこませることは医薬伝送の新しい手段となり得るともてはやされてきた。しかしナノ物質が持つかもしれないこの生物学的にユニークな有用性は、医療とは無関係な深刻な目新しい毒性リスクにもなりえるのである。SWCNT は半径わずか 0.6-3.5 ナノメートルと、細胞核の核膜の穴よりもずっと小さいので、容易にそこを通過できる。ケンブリッジ大学と Daresbury Laboratory の研究者たちによる試験管内実験において、SWCNT がヒトの免疫細胞に取り込まれ、その細胞核内の取り込まれた様子が撮影されている。Porter らは次のように述べている。「核内に取り込まれたという事実は、SWCNT が細胞内タンパク質や細胞内小器官や DNA に作用する可能性を示していて、もしそうだとするとその毒性は格段に強まることになるかもしれない。」Porter らは（取り込まれてから）4 日後には細胞の死亡率は取り込まれた SWCNT の量に応じて高まることを観察した。SWCNT が一番高密度で取り込まれていた細胞では、死亡率が劇的に高まっていた。

MWCNT は皮膚細胞内に入り込んで、炎症、タンパク質の機能の損傷、細胞の生存能の低下を引き起こすため、皮膚病の原因となりえる

ノースカロライナ州立大学の Monteiro-Riviere らは MWCNT の細胞毒性を調べた。彼らは、あり得るかも知れない皮膚への曝露を模して、ヒトの上皮角化細胞（ヒトの皮膚の外層を作る主な細胞）を用いた試験管内実験を行った。ただし彼らは彼らの研究が、「傷を持っていない実際の皮膚では角化細胞が外層バリアとしての保護機能を果たすが、我々の培養細胞ではそのような機能はないので、現実に労働現場でナノチューブの皮膚曝露が生じた場合にどうなるかを示すものではない」と戒めている。彼らが見出したのは、MWCNT が炎症を促進するサイトカイン（シグナル伝達タンパク質）を時間ならびに用量依存的に放出させ、細胞の生存能を低下させていくことである。彼らの観察によれば、「ナノチューブが製造される工程で職業曝露が起こるとすれば、もっとも主要な曝露ルートになるのが上皮細胞だが、MWCNT はその上皮に入り込んで滞留し、炎症反応を引き起こす可能性がある」(Monteiro-Riviere et al. 2005, p377)

その後の試験管での実験で、Witzmann と Monteiro はレビュー（2006）で、角化細胞のタンパク質に MWCNT が曝露した場合の影響を調べた。24 時間の曝露によって、36 種類の蛋白質の発現に変化が

生じていたことを見出した。48 時間では、それが 106 に増えた。著者たちは細胞生存率の低下も観察したが、ただし、これは角化細胞が成長を停止したためか、あるいは MWCNT の暴露によって細胞死が始まったためか、あるいはその両方かを突きとめることはできなかった。彼らは、タンパク質の発現の変化や、炎症を起こして細胞の生存率の減少することが観察されたのは、MWCNT の"有害な性質"を示すものだろうと結論している。「もしこうした反応が生体内でも起こると仮定すると、表皮への MWCNT の暴露は慢性的な炎症や損傷をもたらし、それが皮膚の病変を進行させていくことにつながるかもしれない」(Witzmann and Monteiro-Riviere 2006, p167)

文献

- Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G, Alexander A. 2006. Carbon nanotubes: A review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicol Sci* 92(1):5-22
- Friends of the Earth Australia. 2008. Discussion paper on nanotechnology standardisation and nomenclature issues. Available at: <http://nano.foe.org.au>
- Jain A, Mehra N, Lodhi N, Dubey V, Mishra D, Jain P, Jain N. Carbon nanotubes and their toxicity. *Nanotoxicol*1(3):167-197.
- Lam C-W, James J, McCluskey R, Hunter R. 2004. Pulmonary Toxicity of Single-Wall Carbon Nanotubes in Mice 7 and 90 Days After Intratracheal Instillation. *Toxicol Sci* 77:126-134
- Lam C-W, James J, McCluskey R, Arepalli S, Hunter R. 2006. A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. *Crit Rev Toxicol* 36:189-217.
- Li J-G, Li W-X, Xu J-Y, Cai X-Q, Liu R-L, Li Y-J, Zhao Q-F, Li Q-N. 2007a. Comparative Study of Pathological Lesions Induced by Multiwalled Carbon Nanotubes in Lungs of Mice by Intratracheal Instillation and Inhalation. *Environ Toxicol* 22: 415-421
- Li Z, Hulderman T, Salmen R, Chapman R, Leonard S, Young S-H, Shvedova A, Luster M, Simeonova P. 2007b. Cardiovascular Effects of Pulmonary Exposure to Single-Wall Carbon Nanotubes. *Environ Health Perspect*115(3):377-382
- Monteiro-Riviere N, Nemanich R, Inmana A, Wang Y, Riviere J. 2005. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett* 155:377-384.
- Muller J, Huaux F, Moreau N, Misson P, Heilier J-F, Delos M, Arras M, Fonseca A, Nagy J, Lison D. 2005. Respiratory toxicity of multi-walled carbon nanotubes. *Toxicol Appl Pharmacol* 207(3):221-31.
- Muller J, Huaux F, Lison D. 2006. Respiratory toxicity of carbon nanotubes: How worried should we be? *Carbon* 44:1048-1056.
- Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, Carter J, Karn B, Kreyling W, Lai D, Olin S, Monteiro-Riviere N, Warheit D, and Yang H (2005). "Principles for characterising the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy". *Particle and Fibre Toxicology* 2:8
- Oberdörster G, Stone V, Donaldson K. 2007. Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicol* 1(1):2-25.
- Poland C, Duffin R, Kinloch I, Maynard A, Wallace W, Seaton A, Stone V, Brown S, MacNee, Donaldson K. 2008. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotechnology* Published online: 20 May 2008: doi:10.1038/nnano.2008.111
- Porter A, Gass M, Muller K, Skepper J, Midgley P, Welland M. 2007. Direct imaging of singlewalled carbon nanotubes in cells. *Nat Nanotechnol* 2:713-717
- RS/RAE. 2004. Nanoscience and nanotechnologies. Available at <http://www.royalsoc.ac.uk/>
- Salvador-Morales C, Townsend P, Flahaut E, Vénien-Bryan C, Vlandas A, Green M, Sim R. 2007. Binding of pulmonary surfactant proteins to carbon nanotubes; potential for damage to lung immune defense mechanisms. *Carbon* 45(3):607-617
- Shvedova A, Kisin E, Merecr R, Murray A, Johnson V, Potapovnich A, Tyurina Y, Gorelik O, Arepalli S,

Schwegler-Berry D, Hubbs A, Antonini J, Evans D, Ku B, Ramsey D, Maynard A, Kagan V, Castranova V, Baron P. 2005. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *American Journal of Physiology: lung, cell and molecular physiology* 289:698-708.

Swiss Re. 2004. Nanotechnology: Small matter, many unknowns. Available at <http://www.swissre.com>

Takagi A, Hirose A, Nishimura T, Fukumori N, Ogata A, Ohashi N, Kitajima S, Kanno J. Induction of mesothelioma in p53^{+/-} mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *Journal of Toxicological Sciences* 33(1):105-116

Tantra R, Cumpson P. 2007. The detection of airborne carbon nanotubes in relation to toxicology and workplace safety. *Nanotoxicol* 1(4):251-265.

Warheit B. 2006. What is currently known about the health risks related to carbon nanotube exposures? *Carbon* 44:1064-1069.

Witzmann F, Monteiro-Riviere N. 2006. Multi-walled carbon nanotube exposure alters protein expression in human keratinocytes. *Nanomed: Nanotechnol, Biol Med* 2:158-168