ナノマテリアル vs 環境中の超微小粒子

―毒性学の知識を取り交わす機会―

Vicki Stone（Institute of Biological Chemistry, Biophysics and Bioengineering, Heriot-Watt University, Edinburgh, Scotland, UK）他 18 名

翻訳：五島廉輔、五島綾子、上田昌文

原題：Nanomaterials vs Ambient Ultrafine Particles: an Opportunity to Exchange Toxicology Knowledge

http://dx.doi.org/10.1289/EHP424

『環境健康展望』Environ Health Perspective Advance Publication として 2016 年 11 月に公開されたもの

※　訳文中の段落番号は「原文テキスト」（PDF）との対応付けを容易にするために訳者の方で付したものです。

【翻訳者からのメッセージ】

分子レベルで物質や粒子を操作できるという着想に基づくナノテクノロジーは21世紀前後からアメリカの国策としてスタートし，日米欧はナノブームに沸きました。しかし現在では，25年を経てナノテクノロジーとしてしっかりと科学的事実及び科学分野の一部となってきました。ナノテクノロジーは実質的に人間活動のあらゆる領域（健康管理，食物と栄養，水の浄化など）において現実世界の応用に伴って発展してきているからです。

しかし計画的にまたは不注意にヒトや環境へのナノマテリアルを幅広く導入しますと，有害な予期しない不都合な影響の可能性が高まってしまいます。本論文ではナノリスクに関して一貫して世界に先駆けて取り組んできた欧州の様々な専門家が結集し，数十年の論文に基づいてナノマテリアル，環境中の超微小粒子の毒性学に関する19の鍵となるレッスン（課題）を提示している貴重な論稿です。ナノ粒子の毒性は複雑で奥深く体内に侵入し，戦慄を覚える影響もうかがえます。

1)背景
空気中の微小粒子物質（PM[1)]）の曝露による有害なヒトの健康影響を実証する豊富な文献がある。それらは超微小粒子（ナノサイズの粒子）が重要な役割を担っていることを強く支持してもいる。現在、工業ナノマテリアル（NM[1)]）は in vitro（試験管内）実験では物理学的性質や生物学的作用において明らかに PM と類似しているが、現在のところ、PM に比べて NM によるヒトの健康または疫学のデータはほとんど見当たらない。

2)目的
ナノマテリアル（NMs）で扱える物理化学的な特性は、より体系的で毒性学的な分析が可能な範囲に収まっている。そのために超微小粒子（UFP, 直径100nm以下）を調べれば、NMでによって引き起こされそうな健康影響を確認できるし、一方、NMを調べればUFPの毒性メカニズムの理解が容易になる。

3)方法
ワークショップにおいて専門家たちは利用できる情報を体系的に分析し、専門領域間で知識の交換を容易にする19の重要な教訓を明らかにした。

4)考察
重要な教訓は、物理化学的特性評価と毒性学評価のための具体的な技術と標準プロトコールの有効性から、用量と毒性の分子メカニズムの知識と定義にまで及んでいる。このレビューは、この先どのような領域の研究を優先的に行えば、これまでの研究とあわせてより強力に推進していけるかを示す。

5）結論
NMの毒性学の知識を応用すればPMの健康リスク研究を発展させることもできるし、PMの研究をNMに応用することでも同じことが言える。

序論
6）分子レベルで物質や粒子を操作できるという着想は映画のなかの物語のように聞こえる。しかし、過去25年を経て、それ自体でナノテクノロジーというしっかりした科学的事実ならびに科学分野を形成するようになった。ナノテクノロジーは実質的に人間活動のあらゆる領域（いくつかの例を挙げると、健康管理、食物と栄養、水の浄化、製造と技術）において、現実世界での応用を伴って、急速に発展している研究領域であるが、環境には新規の物質を幅広く導入すると、意図しようとしまいと、有害でかつ予期しない不都合な影響の可能性が高まってしまう。この分野の著しい進展に応じて、政府と規制機関はナノテクノロジー普及促進（例えば、米国国家ナノテクノロジー・イニシアティブ[2)]およびナノテクノロジーに関

する省庁間ワーキンググループ[3]）をリスク評価および規制（例えば、欧州ナノ安全クラスター　EU NanoSafety Cluster[4] およびNANoREG[5] のような関連したプロジェクト）とバランスを取ることを試みてきた。ナノ毒性学、すなわちナノスケールの物質の毒性研究は公表された文献の量で観る限り、ナノテクノロジーの進展に沿う形で前進してきた。事実、過去の有害物質と異なって、ナノ毒性学はナノテクノロジーの発展と平行して進んでいる。

7）ナノ毒性学についてのもともとの懸念は大気汚染中のPMの研究から生まれたものである（図１）。このレビューは大気汚染とナノ毒性学的健康影響研究のそれぞれで何が需要な発見か、そしてこの2つの粒子毒性学の領域の比較で何がわかるかを考察している。2015年5月に、COST[6]　MODENA[7]プロジェクトはPMとナノ粒子毒性学に関する知識を交換し、まとめるためにワークショップを主催した。以下はこれらの重複している研究分野を系統立って比較することの概略を述べ、さらに理解を深めるためには言っておかねばならない教訓（ボックス、後述）*とどの研究を優先するかの間にみられるギャップ*を明らかにしている。

NM研究にまだ効果的に応用されてこなかったPM研究から何を学ぶことができるのか？超微細粒子仮説とナノマテリアル

8）前世紀の終わりに、いくつかの疫学的研究によって当時安全と考えられていた空気で運ばれるPMによって引き起こされる健康影響が明らかになった（例えば Brunekreef　and Holgate 2002; Dockery et al. 1993）。　空気動力学径[8] が10マイクロメーターより小さい粒子(PM10)はヒトに吸い込まれ、気道に沈着するが、さらに小さい粒子は部分的により多く肺胞に沈着する（ICRP-66 1994)(Appendix I)。結果として、環境中のPMはしばしばPM_{10}と$PM_{2.5}$(空気動力学径で2.5マイクロメーターより小さい)と規定され、後者はPM_{10}の微細な画分に属するものとなる。PMの組成は複雑で変化しやすい(Appendix I)。UFPは実質的に質量で規定されるものにはなっていないけれども、屋外で観察される有害な健康影響の原因の典型的な一つの成分であると確認されてきた。また金属(Frampton et al. 1999; Jimenez et al. 2000; Pope 1991)や生物因子(Schins et al. 2004)のような、毒性のある他の成分も関与していることを示す証拠もある。各々の成分がどれくらい効いているかは、環境中の位置や時間の違いによって生じる組成の違いで異なってくるようである。

9）1990年代にPMによってもたらされる急性の呼吸器および心血管への影響の原因がUFP分画にあるとする仮説がたてられた(Oberdörster et al. 1995; Seaton et al. 1995)。このUFP仮説はげっ歯類を用いたモデル実験による毒性学的証拠から誘導されたもので、その実験ではより大きいTiO_2（酸化チタン）粒子（250nm）より、より小さいTiO_2粒子（20nm）が肺臓壁を通って炎症をより多く起こしやすいという結果が得られた(Ferin et al. 1992;

Oberdorster et al. 1994)。この仮説は間もなく疫学的証拠によって支持された(Peters et al. 1997)。すぐに利用できるPMサンプルが不足していたので、次の10年間の健康影響研究には代用の粒子（例えば、カーボンブラック、ディーゼルエンジンのすす、酸化チタンやポリスチレンビーズ）を使用して、UFPの毒性のメカニズムの研究がなされた。その結果がPMにあてはめられたのである(e.g. Li et al. 1996; Stone et al. 1998)。

10）自然工程および燃焼工程によってもたらされる環境中のPMとは対照的に、NMはナノスケールの大きさで、入念につくられる。何故ならば、同じ物質でそのバルク型と比較して技術的優位性を備えた性質を示すからである(The Royal Society 2004) Appendix I)。その例として、炭素元素からなる黒鉛状物質はナノスケールで半導体の性質を持っている（例えばカーボンナノチューブ）。この物質は可能性のある製品や応用の数を広げ、大きなチャンスと経済的利益を提供している。UFPとNMは非常に異なる原料や製造過程でつくられるが、それらの物理学的特徴は重複しているばかりか(Appendix I)、性質、挙動、特に重要な毒性もまた重複している可能性がある。2000年代初めに注目された国内的や国際的レポートはナノテクノロジーの重要性に光を当てる一方で、潜在的リスクについても認めていた(e.g. SCENIHR 2005; The Royal Society 2004)。2000年代中頃からこれらのレポートは、使われる専門用語の変化を伴いつつ、UFPの毒性学への関心を高めていった。

環境中のPMとUFPの健康影響 心肺に関する疫学的証拠

11）疫学研究によって、特に呼吸および心血管系において、短期及び長期の健康影響の両方において、PM_{10}と$PM_{2.5}$のとの間でつながりがあることが明らかになった（Dockery et al. 1993)。しかしながら、PMについての研究においては幅広い粒子サイズを含むものの、実質的に変数としてUFPの研究はほとんど報告されていない。UFPの代用品として粒子数濃度を用いた研究では、曝露は以前に心筋梗塞に罹った患者の再入院(Von Klot et al. 2005)、子供の急性喘息や収縮性血圧の上昇(Andersen et al. 2008; Pieters et al. 2015)と関連していた。虚血性発作での入院では、PM_{10}質量濃度より粒子数濃度により強い相関がみられると報告された(Andersen et al. 2010)。逆に急性心筋梗塞においては、質量指標より粒子数指標に高い相関があるかどうかはあまりはっきりしなかった（Lanki et al. 2006)。

12）粒子数濃度は心血管の健康の代用マーカーと関係づけられてきた。例えば、フィブリノーゲン、プロトロンビン因子 1 と 2 やヴォン・ヴィレブランド因子[9)]のレベルの上昇はUFP曝露と関連している(Hildebrandt et al. 2009)。糖尿病や耐糖能低下の患者の脈拍数および脈拍数変化と、UFPまたは$PM_{2.5}$との間で独自の関連性が観察された(Peters et al. 2015; Sun et al. 2015)。心臓リハビリテーションを受けている患者では、心臓の副交感神経系支配の調節、増加する血圧および全身性炎症のマーカーはすべてUFP曝露と関連していた(Rich et al.

2012)。酸化ストレス[10]と炎症に関係するバイオマーカーを含む疫学研究では、類似UFP(PM<0.25)から出る最初の燃焼マーカー[11]が年配の人々におけるIL-6とTNF、血小板活性化および赤血球抗酸化酵素活性の全身的変化と明らかに関連していた(Delfino et al. 2009)。同様に、上昇した血漿フィブリノーゲンや白血球はUFP曝露と関連していた(Gong et al. 2014)。

心肺に関する病状発現前および臨床的証拠

13）いくつかの前臨床（注：症状発現前）および臨床研究ではUFPの短期吸入と呼吸影響に取り組んできた。例えば、屋外の研究では喘息患者の肺機能低下をともなうUFPと炭素との関連が観察された(McCreanor et al. 2007)。一方、ニューヨークに住む喘息及び健康な青年期の男性は炎症指標の増加を示した(Patel et al. 2013)。UFPの前臨床および臨床研究の大多数がディーゼル排気ガスと特にUFPの豊富な源であるディーゼル排気微粒子(DEP)を用いて行われた。これらの研究は健康な人々の間に気道炎症が、炎症細胞[12]および伝達物質の量の上昇とともに、生じることを示した(Ghio et al. 2012; Xu et al. 2013; Yamamoto et al. 2013)。

14）吸入されたUFPは心臓機能の多くの面に変化を起こす。例えば、減少した心拍数の変化(Cassee et al. 2011; Pieters et al. 2012)、心血管リスクの前兆および不整脈の発生率、持続期間と重症度の増加である。

15）さらに都市大気中のUFP(Weichenthal 2012)またはディーゼル排気ガス(Mills et al. 2007)は心筋虚血症を悪化させる(Cascio et al. 2007; Robertson et al. 2014)。血管は血管平滑筋の弾力性の変化を通して血流を微妙に調節しており、UFPは一般に狭窄に向かってそのバランスを変える(Moller et al. 2011)。その結果として生じる血圧上昇や弛緩するための動脈の能力減少は通常有害である。血管機能障害は血管内皮から放出される一酸化窒素のような伝達物質の欠如により生じる (Courtois et al. 2008; Miller et al. 2009; Moller et al. 2011)。 この物質は血管収縮神経因子への感受性(Langrish et al. 2009)と圧感覚受容体/神経調節フィードバックにおける変化を高める(Rhoden et al. 2005; Robertson et al. 2012)。血液成分の調整不全も生じる。それは、UFPによって血液凝固性に上昇傾向が生じ(Kilinç et al. 2011; Nemmar et al. 2004)、血小板の活性化が促進され(Cascio et al. 2007; Lucking et al. 2011)、血餅クリアランスが減少する(Mills et al. 2005)からである。これらの影響もたらす大元になる細胞レベルおよび生化学的メカニズムは広範囲に及んでいて、そこでは酸化ストレスや炎症が悪化の鍵となっている(Miller et al. 2012) (図 3)。こうしたことが重なって心血管疾患が促進される。事実、動物実験でUFPの長期曝露(Araujo et al. 2008; Miller et al. 2013)はアテローム動脈硬化性血管疾患[13]を悪化させることを示した。

その他の標的臓器

16) 研究は主にUFPの吸入と心血管機能への影響に注目していたが、多くの第二の標的臓器が追加された（図 3 参照）。そのような研究は、脳や腎臓のような極めて重要な器官と非特異的な相互作用をもたらす血流に、UFPが転移するという肺胞転移仮説に基づいていた。UFP曝露と肺から消化管への粘液線毛クリアランスもまた脂質代謝や腸絨毛短縮への有害な影響と関連している可能性があり(Li et al. 2015)、消化管または肝臓の疾患にも臨床的な関連性を見いだせるかもしれないという示唆を与えている。

17）ほぼ15年前に始まったPMの中枢神経系（CNS）への影響に関する研究が以下の報告により認められた。それはメキシコ市の大気汚染による曝露がヒト及び動物において酸化ストレス、炎症、神経病理学、認知および行動に関して変化を生じたというものである(Calderón-Garcidueñas et al. 1999; Calderón-Garcidueñas et al. 2011)。多種多様なPM収集技術を用いた別の研究では、PMの曝露よって学習や記憶に関係する領域を含む脳中枢炎症変化を誘発するという初期の発見が支持された(Campbell et al. 2005; Fonken et al. 2011)。そのような健康アウトカム[14]は、吸入された粒子が肺胞に沈着すること、血液を経て脳へ行きつくこと、嗅粘膜沈着についで嗅脳への輸送が起きること(Balasubramanian et al. 2013; Elder et al. 2006)、あるいは中枢神経系へ全身性炎症の副作用で運ばれることという発見によって説明された；上記の作用が複数組み合わさせることもある。急性CNS炎症経過は直接生存しているヒトでは測定できないが、神経変性疾患が増えており、たとえ機械論的[15]にははっきりしなくても、炎症と神経変性の間の明確な関連があることは興味深い(Akiyama et al. 2000; Amor et al. 2010)。最近の研究は動物と人間でのアウトカムが同じものとしてとらえやすい領域、すまわち行動と認知について注目するようになった。例えば、2011年にFonkenらはPM2.5 (UFPを含んでいる)に曝露したマウスが空間学習と空間記憶に障害があったことを示した。新生児の時に濃縮されたUFPに曝露されたマウスを用いて、Allen らは雄マウスの心筋の持続的拡大や先天的免疫細胞の活性化と関連した行動に関するアウトカムを示した(Allen et al. 2014a; Allen et al. 2014b)。ある母集団を用いた研究では、幾人かの研究者たちは自動車からのエアゾール曝露と年配者(Ranft et al. 2009)と子供(Freire et al. 2010; Suglia et al. 2008)の認知機能の低下との関連を報告した。米国における二つの症例管理研究はまた交通に関連した汚染、特に$PM_{2.5}$による若齢期曝露との関係で自閉症に対するオッズ比[16]の上昇を報告した(Becerra et al. 2013; Volk et al. 2013)。NM研究がPMの脳への移動に対する可能性を証明した例外はあるが、NMの神経系への影響という観点ではほとんど研究されていない。*それ故にPM研究は物理化学的特徴に原因があるNMの潜在的な神経学的影響を確認するための戦略を発展させる基礎を提供するものである。*

18）疫学研究によって同じくPM2.5 と PM10の大気汚染が孫に及ぼす生殖毒性や有害影響

を及ぼすことと関連づけられた。最近の体系的レビューでは(Stieb et al. 2012)、PM2.5 とPM10 の曝露と低出生体重、早産と発育不全児の誕生との関係を報告された。van Rossemらは 2015年にPM2.5 や黒色炭素による母親への曝露が新生児の血圧上昇と関連していることを見出した。その影響はPM2.5 による胎盤の血管構造の変化により左右されるようにみえる(Veras et al. 2008)。前臨床（発症前）の研究では危険の可能性は十分に述べられていないけれども、UFP曝露の有害な健康影響は排除できないことを示している(Hougaard et al. 2015)。

19）上記に概説された証拠は環境中のPMが、特に呼吸、心血管、神経学および生殖では顕著だが、有害な影響が様々な領域で生じていることを実証している。心血管研究ではこのことがUFPでも示すだけの証拠の拡大がみられる。心血管以外では、疾病を誘導するUFPの役割について直接の証拠は概して得られていない。

【訳文はファイルの「その2」に続く】

Appendix I. Ambient UFP and engineered NM physicochemical characteristics

Ambient UFP
• Ambient air PM composition is complex, including coarse (2.5-10 um), fine (<2.5 um) and UF (<100 nm) particles. • Urban UFP derive mainly from combustion processes (e.g. traffic) and subsequent particle nucleation, coagulation and vapour condensation. • Urban UFP often contain transition metals or organic chemicals, i.e. complex composition (See Figure 2). • Mixture of insoluble to soluble particles and droplets, possibly leading to the release of several constituents from one particle in lungs. • Vary over time and place in size distribution, particle morphology, chemical composition and concentration. • Although relatively large in terms of number, UFP contribute relatively little to the mass of PM compared to coarse particles. • Controlled exposures are impeded by the temporal variability, which complicates mechanistic studies. • Are always surrounded by gaseous pollutants.

Nanomaterials
• A number of definitions exist which usually stipulate that at least one dimension is in the nano-scale (1-100 nm). Many NM have three dimensions in the nano-sclae, making them nanoparticles. • Often referred to as engineered or manufactured as they are designed and generated for a specific purpose. • Made in a wide variety of chemistries, consisting of single elements (e.g. carbon or metal), compounds (e.g. metal oxides or salts) or complex composites (e.g. core plus shell structure). • Can vary significantly in particle morphology and chemical composition but are well defined at production and close to production levels. • Spatial and temporal variance in airborne concentration may vary significantly. • Controlled exposures are possible, enabling detailed mechanistic studies. • Can be handled in a standardised manner, facilitating studies of defined properties.

Appendix I.

Ambient UFP and engineered NM physicochemical characteristics
環境中のUFPと工業NMの物理化学的特性

Ambient UFP
環境中のUFP

Ambient air PM composition is complex, including coarse (2.5-10 um), fine (<2.5um) and UF (<100 nm) particles.
環境中のPMの組成は複雑であり、粗い粒子(2.5-10 um)、細かい粒子(<2.5um)と超微粒子(<100 nm)を含んでいる。

Urban UFP derive mainly from combustion processes (e.g. traffic) and subsequent particle nucleation, coagulation and vapour condensation.
都市のUFPは燃焼過程（例えば、交通）そして続いて起こる粒子の核生成、凝集および気化物質凝結から主に作られる。

Urban UFP often contain transition metals or organic chemicals, i.e. complex composition (See Figure 2).
都市のUFPはしばしば遷移金属または有機化合物すなわち複雑な組成を含んでいる（図 2 を見よ）

Mixture of insoluble to soluble particles and droplets, possibly leading to the release of several constituents from one particle in lungs.
不溶性粒子から可溶性粒子と水滴の混合物は肺で一つの粒子から数種の成分の有利におそらく導く。

Vary over time and place in size distribution, particle morphology, chemical composition and concentration.
サイズ分布、粒子の形態、化学組成と濃度を時間と場所で変化させる

Although relatively large in terms of number, UFP contribute relatively little to the mass of PM compared to coarse particles.
UFPは粒子数の点から比較的大きいけれども、粗い粒子と比べてPMの質量にほとんど寄与しない

Controlled exposures are impeded by the temporal variability, which complicates mechanistic studies.
管理された曝露は時間的変動によって妨げられ、機械論的研究を複雑にする

Are always surrounded by gaseous pollutants.
常にガス状汚染物質に囲まれている

Nanomaterials
ナノマテリアル

A number of definitions exist which usually stipulate that at least one dimension is in the nano-scale (1-100 nm). Many NM have three dimensions in the nano-sclae, making them nanoparticles.
ナノスケール(1-100 nm)では少なくとも一次元であると通常規定している多くの定義がある。多くのNMはナノスケールではあるが、ナノ粒子を作り三次元である。

Often referred to as engineered or manufactured as they are designed and generated for a specific purpose.
特別な目的のためにデザインされ、生成されるので工業的なものか製造されたものとして引用されている

Made in a wide variety of chemistries, consisting of single elements (e.g. carbon or metal), compounds (e.g. metal oxides or salts) or complex composites (e.g. core plus shell structure).
単一元素（例えば炭素または金属）、化合物（例えば酸化金属または塩）または複雑な複合物（例えば芯と殻構造）から成り、様々な化学作用により作られる

Can vary significantly in particle morphology and chemical composition but are well defined at production and close to production levels.
粒子形態と化学組成は顕著に変化させることができるが、生成の段階で同定され、製品レベルに近い。

Spatial and temporal variance in airborne concentration may vary significantly.
空気で運ばれる濃度の空間的で時間的な変動は顕著に変わるかもしれない。

Controlled exposures are possible, enabling detailed mechanistic studies.
制御される曝露が可能であり、これは詳細な機械論的研究を可能にする

Can be handled in a standardised manner, facilitating studies of defined properties.
標準化された方法で扱われることができると、明確にさだめられた性質の研究を推進できる。

【図1】

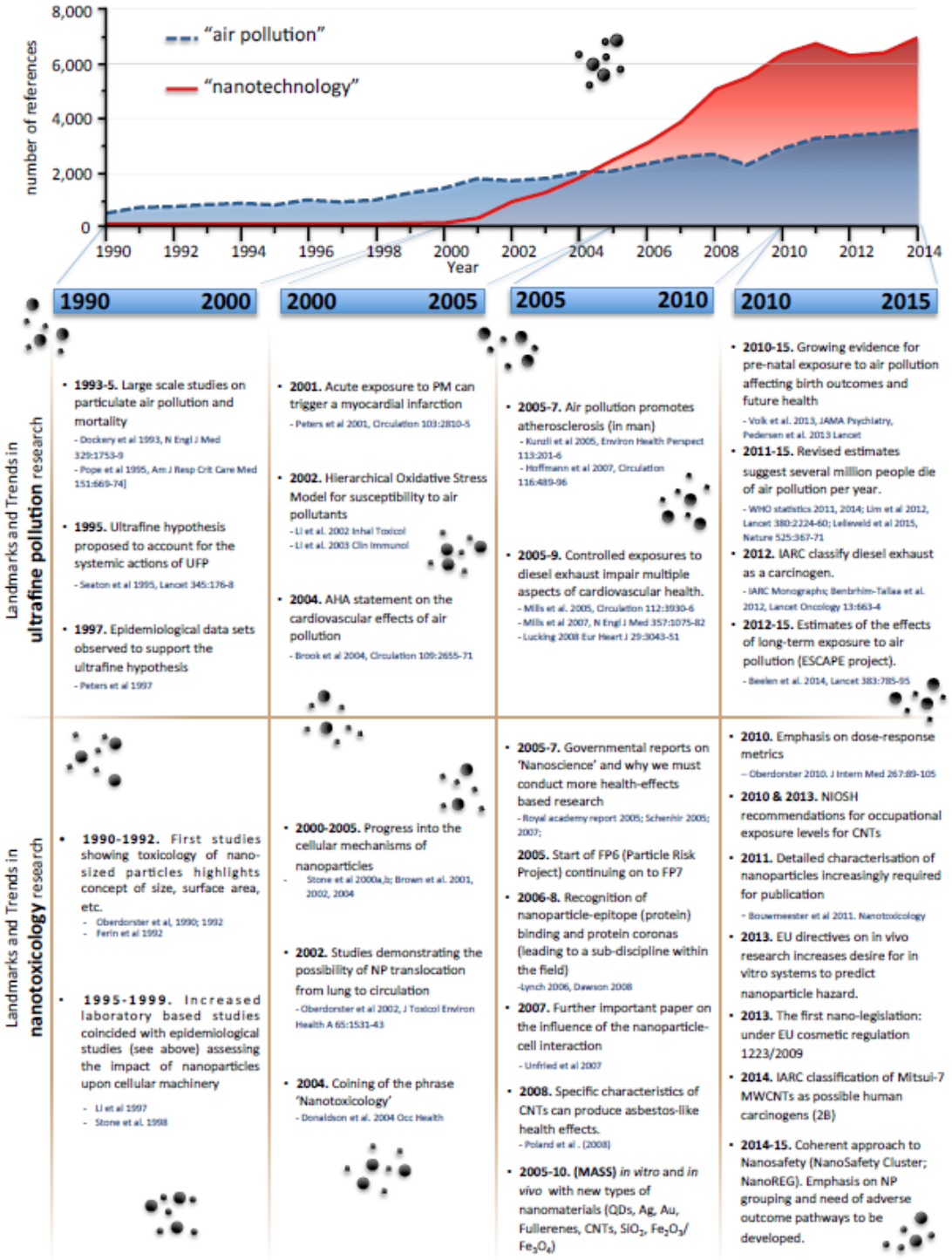

図１．過去３０年間にわたるPMとNMにおける増加する影響力を示す年表で、両領域における重要な研究とその研究動向を強調している。Pubmed.gov search に基づいた文献数/年（非累積的）で適応される制限もない。

【図2】

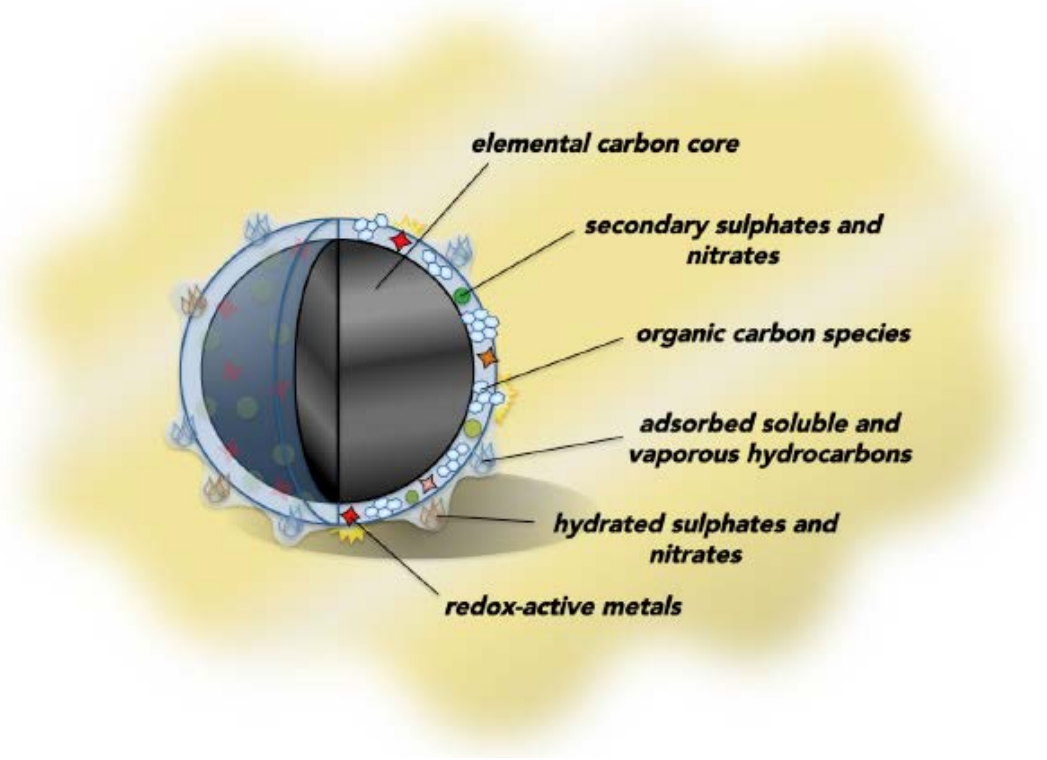

図 2　UFP（例えば、都会のPMまたは車の排気ガス中の粒子）の複雑な組成の例を示している概略図で、この例は都市の空気中で反応性遷移金属と有機炭化水素を含む多様な範囲の化学種でコーティングされた炭素コアをしばしば持っている。詳細図は原寸に比例していない。

【図3】

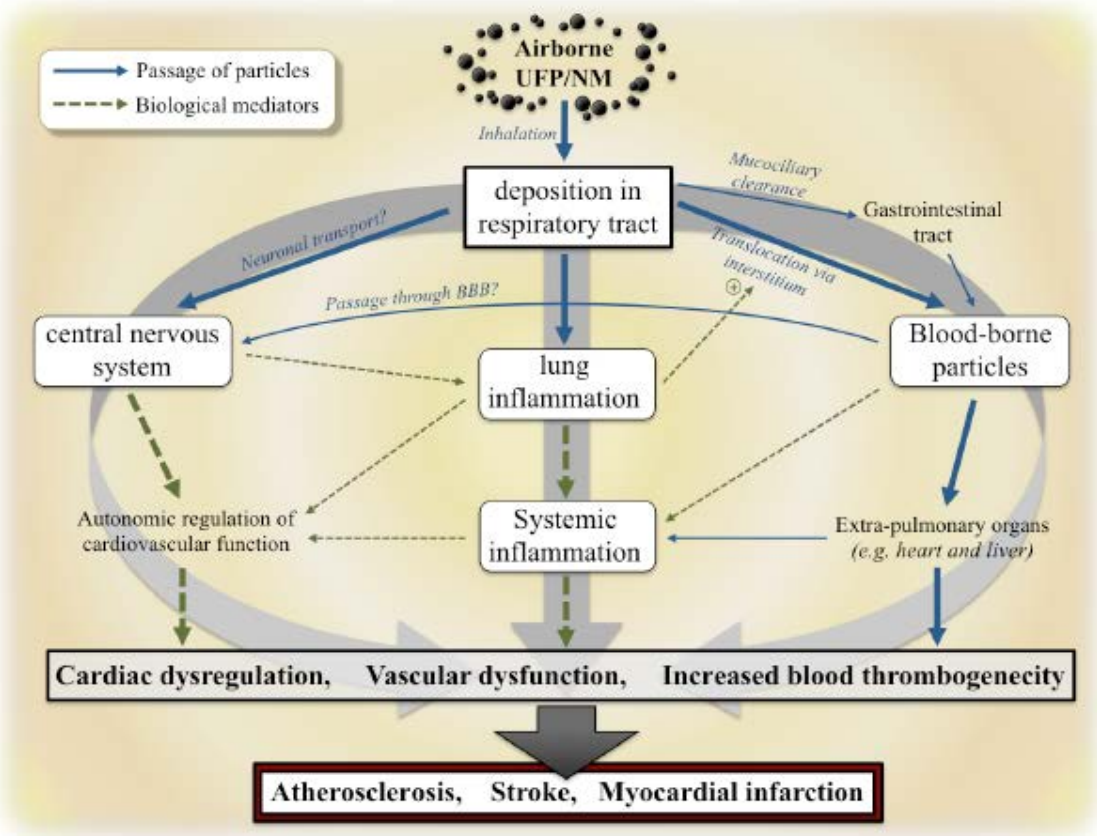

図 3　吸入されたUFPが第二の臓器や全身の組織に影響を与えるかもしれないいくつかの重要なメカニズムを示した概略図。これは吸入された粒子が心血管発症を起こすかもしれない方法を強調している。肺と心血管システムをつなぐ三つの主な経路（灰色の矢印、左から右へ）を示している。すなわち‘自律神経調節’、‘炎症伝達物質の経路’および‘粒子移動’である。これら三つの経路間の矢印は吸入されたUFPの多項目に及ぶ生物学的作用の広い分類に関係する機械論的経路とその影響との相互関係の程度を強調している。これらの経路に加えて、吸着された成分が効果を発揮するための潜在能力がある。

【図 4】

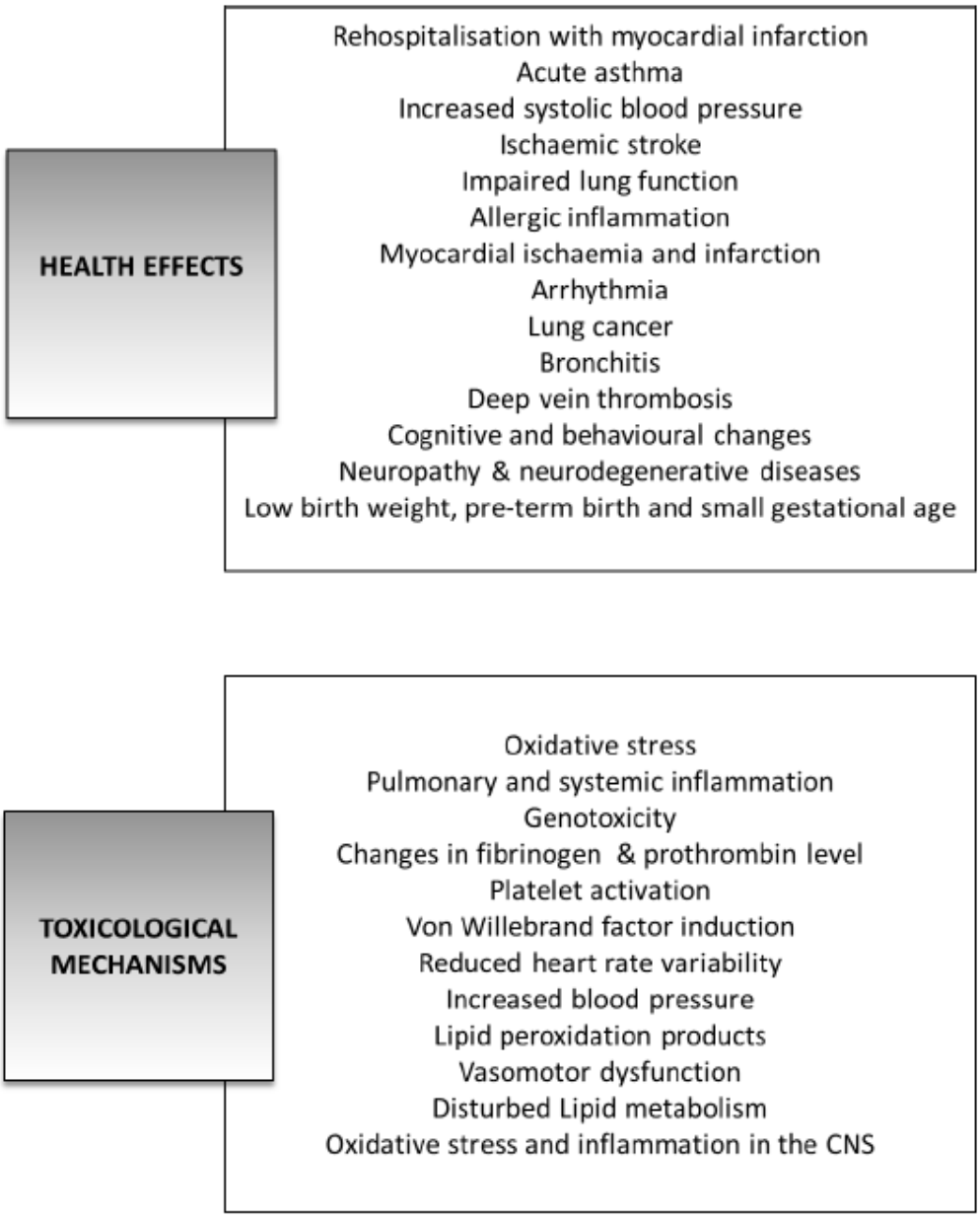

図 4　研究をデザインするための関連するエンドポイントの確認に使用できる健康影響と疾病の生物学的指標の範囲

【図 5】

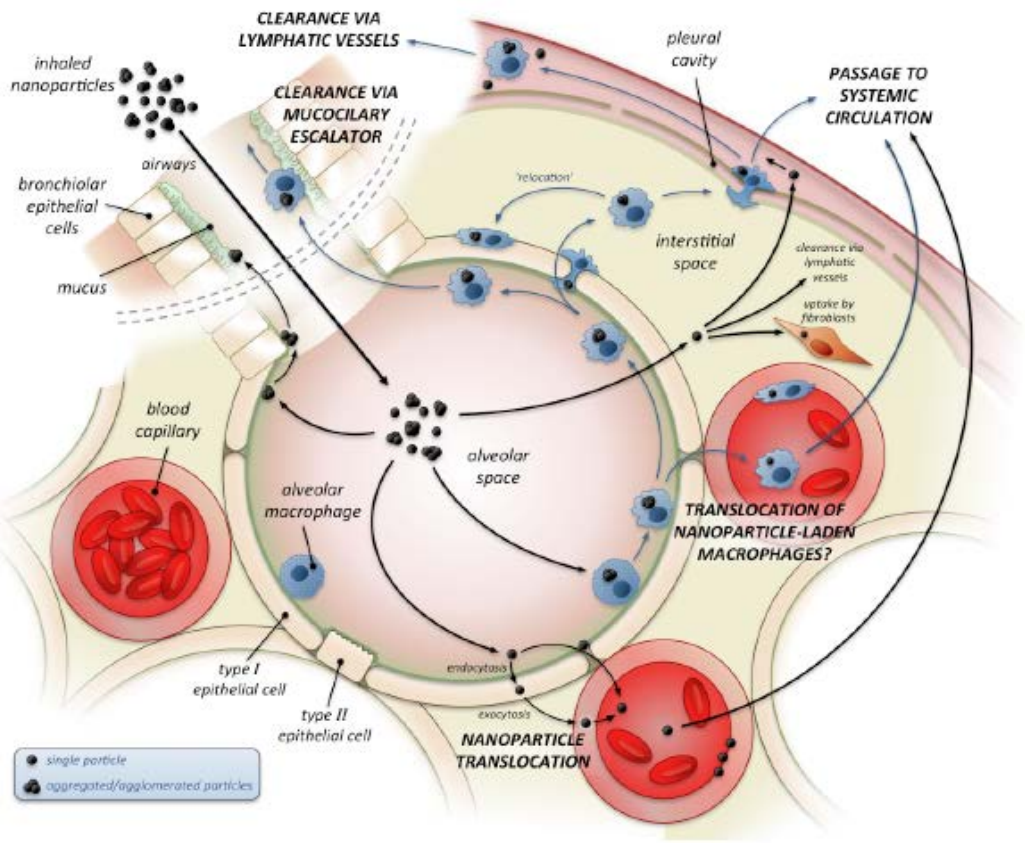

図 5　肺経由のNM曝露は上皮と間質空間への急速な輸送および上皮細胞（タイプⅠとⅡ）による実質的な食作用と肺胞マクロファージによる限定された初期の貪食作用を生じる。経路は吸入されたNMの輸送を示すものでげっ歯類の肺の肺胞上皮と間質の中へ、さらにリンパ管排液システムの中へ向かうと同様に血液循環の内皮血管膜を超える道筋がある。いくつかの証拠は肺組織からのクリアランスの有力なルートは肺胞上皮表面上に戻る再飛散経由（未知のメカニズムを経由）であることを示唆している。このルートは絨毛性気道と咽頭に向かう長期間マクロファージ介在性輸送のためである。ナノスケールのNMは上皮を越えるかもしれないが、他方より大きいアグリゲート/アグロメレートは肺胞マクロファージにより貪食されるようである。