

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：32511

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790127

研究課題名(和文)食品と食品包装材に含まれるナノ粒子の安全性評価と薬物相互作用の基礎的研究

研究課題名(英文)Examination of nano-particles contained in food and food packaging material in mice with drugs or chemicals induced toxicity.

研究代表者

磯田 勝広 (ISODA, Katsuhiko)

帝京平成大学・薬学部・講師

研究者番号：60423117

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：粒子径100nm以下のナノ粒子は化粧品、食料品に利用されていることから、安全性評価は焦眉の急である。また、薬物投与・化学物質暴露時に対する安全性評価に関する研究は未だ十分に行われていない。本研究は食品または食品添加物に含まれるナノ粒子の安全性を検討した。検討した結果、ナノシリカ、銀ナノ粒子、ナノクレイ粒子、ナノ白金粒子はマウスへの経口投与によって傷害性はなかったが、マウスへの尾静脈投与によって肝障害と腎障害が観察された。これらの結果から、食品に含まれるナノマテリアルの安全性をさらに検討する必要性のあることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Nanomaterials are used frequently in microelectronics, cosmetics and sunscreen, and research for the development of nanomaterial-based drug delivery systems is promising. Interactions between nano-size materials and drugs that have therapeutic potential need investigating. This research examined the safety of the nanoparticle contained in food or a food additive. The Result, silica nano-particles, clay nano-particles, silver nano-particles and platinum nano-particles did not have injury by oral administration to mice, but liver and renal damage were observed in tail vein administration to mice. Our findings suggest that there are the safety of the nanomaterial contained in food and also the necessity of inquiring.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：毒性学 食品衛生学

1. 研究開始当初の背景

周知のように、「ナノマテリアル」は21世紀の機能性・万能素材として注目されており、既に、情報通信技術、バイオテクノロジー、エネルギー工学、医療工学などの実用工学から物理学、化学、生物学、医学などの基礎科学にわたる広範な分野に利用されている。実際、化粧品中には美白成分・紫外線吸収素材としてナノマテリアルは使用されており、人類は「未知の人工機能性素材、ナノマテリアル」に日常的に暴露されつつある。昨今、マクロレベルでは毒性を持たないフラーレンやカーボンナノチューブがナノレベルサイズになると、電子レベルの反応性が飛躍的に増大するために生体に対して傷害性を発揮することが報告された。例えば、工業的に利用されているカーボンナノチューブの吸気暴露により肺組織傷害が誘発される。また、紫外線吸収素材であるナノフラーレンは皮膚に塗布すると循環血を介して脳内に移行し傷害性を示すことが報告され、少なくともナノフラーレンは皮膚および血液脳関門などの生体バリアを透過する可能性がある。

現在、規制緩和により医薬部外品の許認可は大幅に緩和され、ナノ粒子を利用した化粧品開発が立ち止まる気配は全く無い。既に化粧品中には多様なナノ粒子が使用されており、今後ナノ粒子の利用がさらに進むことは明白であること、さらに最近の技術革新からドラッグデリバリーシステムの応用にナノ粒子が有効な素材であることが注目を集めている。今後、ナノ粒子を含むナノマテリアルを用いた食品と食品添加物の開発が大きく進展することが予想されるが、食品に含まれるナノ粒子の安全性の評価は皆無である。本申請課題は、既に食品分野に置いて実用化されているナノマテリアルの安全性評価の基礎的知見の集積により、予想できない副作用を未然に防ぎ、安全な食品と健康な生活の実現に寄与できると考えられる。

2. 研究の目的

ナノマテリアルは、医工学などのあらゆる分野において次世代の万能素材として注目されている。現在までのナノマテリアル研究は万能素材としての機能面に焦点が当てられてきたが、最近マクロマテリアルでは毒性を示さない素材がナノマテリアル化に伴い組織傷害性を発揮することが示され、ナノマテリアルの安全性評価の必要性が認識され始めている。

微粒子のうち直径 100 ナノメートル以下のものをナノ粒子と呼ぶが、このように粒径が小さくなると、粒子の体積に対する表面積の比が急激に増大し、予想できない特性が出現する。ナノ粒子単独あるいは、ポリマー、セラミックス、金属などとの複合体を総称したナノマテリアルは、現在、21 世紀の材料として大きく注目され、実用化が始まっている。とりわけ、ナノ粒子は ROS の活性を上昇させ、細胞傷害性を示すことが報告されており、ROS 及びラジカルを介した副作用と毒性が報告されている薬物・化学物質の投与や暴露による人体に影響が出ることが予想される。食料品、食品添加物中には既にナノ粒子を含むナノマテリアルが利用されていることから、薬物投与・化学物質暴露時のナノ粒子の安全性評価は焦眉の急であると言える。しかしながら、ナノ粒子の安全性評価は緒についたばかりであり、食品添加物に含まれているナノマテリアル時に対する安全性評価に関する研究は未だ十分に行われていない。

生体に投与された薬物・化学物質は肝臓において代謝を受ける。このためナノ粒子の薬物投与・化学物質暴露時の安全性評価は「ナノ粒子の肝機能に及ぼす影響と肝傷害」に集約できる。本研究では、食品および食品添加物に含まれる多種多様な標準ナノ粒子などを用いて、安全性の検討および化学物質・薬物との併用により肝機能と肝傷害を検討することにより、ナノ粒子の安全性と薬物・化学物質の投与や暴露による安全性を検証する。

3. 研究の方法

(1) ナノシリカ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

実験には 8 週齢雄性 BALB/c マウスを使用した。粒子径 30, 50, 70, 1000nm ナノシリカ (SP30, SP50, SP70, SP1000) を経口投与した。投与 24 時間後に心採血して、遠心分離により血清を採取した。採取した血清より、肝傷害マーカー ALT と AST を測定した。さらに粒子径 70, 300, 1000nm ナノシリカ (SP70, SP300, SP1000) を週 2 回 4 週間経口投与し、上記バイオマーカーを測定した。また、週 2 回 4 週間アセトアミノフェン (200mg/kg) を腹腔投与し、SP70, SP1000 を経口投与し、薬物相互作用を検討した。

(2) 銀ナノ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

実験には 8 週齢雄性 BALB/c マウスを使用した。銀ナノ粒子は粒子径 40nm (NSP40) と粒子径 100nm (NSP100) のものを用いた。NSP40 と NSP100 を経口および尾静脈よりマウスへ投与し、投与 24 時間後に心採血して、遠心

分離により血清を採取した。採取した血清より、肝傷害マーカーALTとASTを測定した。また、シスプラチン（100umol/kg b.w.）、アセトアミノフェン（200mg/kg）を腹腔投与し、同時にNSP40とNSP100経口もしくは尾静脈より投与した。投与24時間後に心採血して、遠心分離により血清を採取した。採取した血清より、肝傷害マーカーALTとASTを測定した。腎障害のマーカーであるBUNを測定した。

(3) ナノクレイ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

実験には8週齢雄性BALB/cマウスを使用した。ナノクレイ粒子は一次粒子径1nm、水溶液溶解時は約200nmのものを用いた。ナノクレイ粒子を経口および尾静脈よりマウスへ投与し、投与24時間後に心採血して、遠心分離により血清を採取した。採取した血清より、肝傷害マーカーALTとASTを測定した。また、シスプラチン（100umol/kg b.w.）、アセトアミノフェン（200mg/kg）を腹腔投与し、同時にナノクレイ粒子を経口もしくは尾静脈より投与した。投与24時間後に心採血して、遠心分離により血清を採取した。採取した血清より、肝傷害マーカーALTとASTを測定した。腎障害のマーカーであるBUNを測定した。

(4) 白金ナノ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

実験には8週齢雄性BALB/cマウスを使用した。ナノ白金粒子は粒子径1nm(nsPt1)と粒子径8nm(nsPt8)のものを用いた。nsPt1とnsPt8を経口および尾静脈よりマウスへ投与し、投与24時間後に心採血して、遠心分離により血清を採取した。採取した血清より、ALTとAST、BUNを測定した。また、シスプラチン（100umol/kg b.w.）、アセトアミノフェン（200mg/kg）を腹腔投与し、同時にnsPt1とnsPt8経口もしくは尾静脈より投与した。投与24時間後に心採血して、遠心分離により血清を採取した。採取した血清より、ALTとAST、BUNを測定した。

(5) ナノポリスチレン粒子を用いた安全性の検討

実験には8週齢雄性BALB/cマウスを使用した。粒子径50, 200, 1000nmナノポリスチレン(NPP50, NPP200, NPP1000)をマウスに経口投与した。投与24時間後に心採血して、遠心分離により血清を採取した。採取した血清より、ALTとASTを測定した。

4. 研究成果

(1) ナノシリカ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

各種粒径のシリカ粒子をマウスへ経口投与した結果、肝障害のマーカーであるALT、

AST及び腎障害のマーカーであるBUN値は、上昇が観察されなかった。さらに、SP70, SP300, SP1000を週2回4週間マウスに経口頻回投与した結果をFig.1に示す。SP70, SP300, SP1000の単独投与において肝障害と腎障害は観察されなかった。またアセトアミノフェン(AA)を同時に投与した群においても障害は観察されなかった。

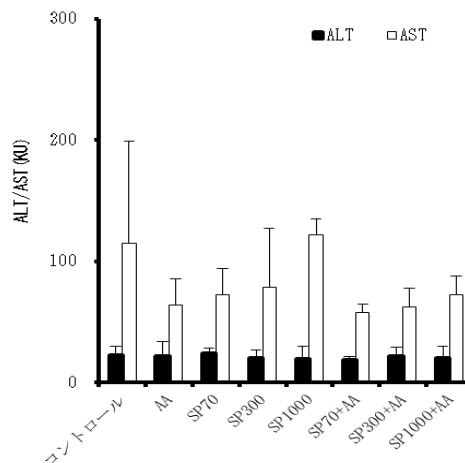


Fig.1 ナノシリカとアセトアミノフェンの頻回投与
n = 6 (mean ± S.D.)

(2) 銀ナノ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

NSP40とNSP100をマウスへ経口もしくは尾静脈から投与し、投与24時間後に血清中のALT、AST、BUNを測定した結果、全てのバイオマーカーの上昇は観察されなかった。次にNSP40とNSP100をマウスへ尾静脈から投与し、同時にシスプラチン（100umol/kg b.w.）もしくはアセトアミノフェン（200mg/kg）を腹腔投与した。結果、シスプラチンとNSPの共投与においては、肝傷害と腎障害は観察されなかった。次にアセトアミノフェン(APAP)とNSPの共投与においては、NSP40投与した群のみ肝障害が観察された。Fig.2に示した。これらのことより銀ナノ粒子は、粒子径によってアセトアミノフェンと薬物相互作用のあることが示された。

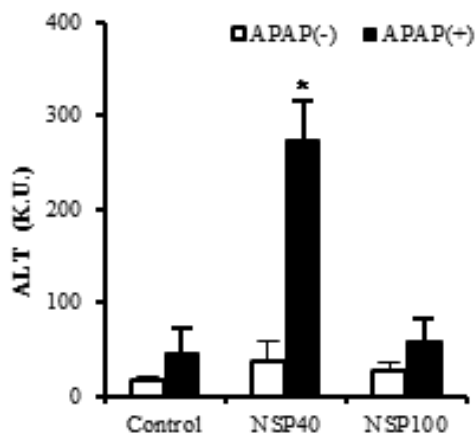


Fig.2 銀ナノ粒子とアセトアミノフェンの相互作用
n = 4 (mean ± S.D.)
*P < 0.05 v.s. without APAP

(3) ナノクレイ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

ナノクレイ粒子をマウスへ経口もしくは尾静脈から投与し、投与 24 時間後に血清中の ALT、AST、BUN を測定した結果、全てのバイオマーカーの上昇は観察されなかった。次にナノクレイ粒子をマウスへ尾静脈から投与し、同時にシスプラチン (100 μ mol/kg b.w.) もしくはアセトアミノフェン (200mg/kg) を腹腔投与した。結果、アセトアミノフェンとナノクレイ粒子の共投与においては、肝傷害と腎障害は観察されなかった。次にシスプラチンとナノクレイ粒子の共投与においては、共投与群のみ肝障害が観察された。これらのことよりナノクレイ粒子は、シスプラチンと薬物相互作用のあることが示された。

(4) 白金ナノ粒子を用いた安全性の検討と薬物・化学物質の相互作用

NsPt1 と nsPt8 をマウスへ経口投与した結果、ALT、AST、BUN 値の上昇は観察されなかった。次に nsPt1 と nsPt8 をマウスへ尾静脈投与した結果、nsPt1 投与群のみ、ALT、AST、BUN 値の上昇が観察された。そこで、シスプラチン (100 μ mol/kg b.w.) もしくはアセトアミノフェン (200mg/kg) を腹腔投与し、同時に nsPt1 と nsPt8 経口もしくは尾静脈より投与した。NsPt を経口投与した群は、薬物との相互作用は観察されなかった。NsPt を尾静脈投与した群は、アセトアミノフェンとの相互作用は観察されなかったが、シスプラチン (CDDP) と相互作用が観察された (Fig.3)。このことより、白金ナノ粒子は投与経路により障害性のあることが示され、さらにシスプラチンと薬物相互作用により肝障害と腎障害を誘導することが示された。

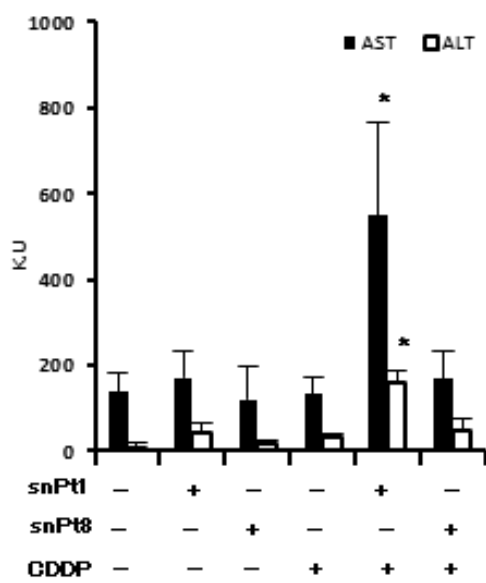


Fig.3 ナノ白金粒子とシスプラチンの相互作用
n = 4(mean \pm S.D.)
*P < 0.05 v.s.without CDDP

(5) ナノポリスチレン粒子を用いた安全性の検討

粒子径 50, 200, 1000nm ナノポリスチレン (NPP50, NPP200, NPP1000) をマウスへ経口もしくは尾静脈から投与し、投与 24 時間後に血清中の ALT、AST、BUN を測定した結果、いずれの粒子径のナノポリスチレンにおいても全てのバイオマーカーの上昇は観察されなかった。

(6) 総括

ナノシリカ粒子は経口投与によって毒性がなかった。また、経口投与による単回、頻回投与さらに医薬品との相互作用もなかった。銀ナノ粒子は、経口投与においては安全性が高いが、尾静脈投与をするとアセトアミノフェンとの相互作用により肝障害が誘導された。ナノクレイ粒子は、経口投与においては安全性が高いが、尾静脈投与をするとシスプラチンとの相互作用により肝障害が誘導された。白金ナノ粒子は、尾静脈投与において肝障害と腎障害が誘導された。ナノポリスチレン粒子は経口投与によって毒性がなかった。今後、多種類のナノマテリアルに関し、投与経路による毒性の有無、さらに薬物・化学物質の相互作用を検討する必要があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

1. Isoda K., Tetsuka E., Shimizu Y., Saitoh K., Ishida I., Tezuka M., 2013. Liver injury induced by thirty- and fifty-nanometer-diameter silica nanoparticles., *Biol. Pharm. Bull.*, 36, 370-375. (査読有)
2. Isoda K., Shimizu Y., Nishimura N., Tezuka M., Ishida I., 2013. Influence of nano-polystyrene particles in inducing cytotoxicity in mice co-injection with cisplatin, or paraquat., *Toxicology Letters*, 221S:242. (査読有)
3. Shimizu Y., Isoda K., Tezuka E., Yufu T., Nagai Y., Ishida I., Tezuka M., 2012. Influence of 50-nm polystyrene particles in inducing cytotoxicity in mice co-injected with carbon tetrachloride, cisplatin, or paraquat., *Pharmazie*.;67(8):712-4. (査読有)

[学会発表](計 11件)

1. 磯田勝広¹、油科香里¹、赤浦広紀¹、西村

- 哲治¹、手塚雅勝¹、吉岡靖雄²、堤康央²、石田功¹(¹ 帝京平成大薬、² 阪大院薬)、ナノ白金粒子の薬物相互作用に関する検討、日本薬学会第134年会、熊本県熊本市、2014年3月28日
2. Katsuhiro Isoda, Tetsuji Nishimura, Masakatsu Tezuka and Isao Ishida., Influence of nano-size polystyrene particles in mice with cisplatin, paraquat or acetaminophen. The 6th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health, October 28-31, 2013, Nagoya
 3. 松永 浩明、磯田 勝広、赤浦 広紀、山本 峻大、永田 隆太郎、西村 哲治、手塚 雅勝、石田 功、銀ナノ粒子とナノシリカ粒子の細胞毒性評価に関する研究、第57回日本薬学会関東支部大会、東京都板橋区、2013年10月26日
 4. 磯田 勝広、渡會 遥、赤浦広紀、松永浩明、西村哲治、石田 功、手塚 雅勝、投与経路による銀ナノ粒子の安全性と薬物相互作用の検討、フォーラム 2013 衛生薬学・環境トキシコロジー、福岡県福岡市、2013年9月13日・14日
 5. 山本 峻大、磯田 勝広、赤浦 広紀、松永浩明、永田 隆太郎、西村 哲治、手塚 雅勝、石田 功、経口投与によるナノシリカの安全性評価、フォーラム2013 衛生薬学・環境トキシコロジー、福岡県福岡市、2013年9月13日・14日
 6. Katsuhiro Isoda, Yoshimi Shimizu, Tetsuji Nishimura, Masakatsu Tezuka, Isao Ishida., Influence of 50-nm polystyrene particles in inducing cytotoxicity in mice co-injected with carbon tetrachloride, cisplatin, or paraquat, 49th-Congress of the European Societies of Toxicology, September 1-4, 2013, Interlaken, Switzerland
 7. 渡會 遥、磯田 勝広、蓑毛 詩乃、青野 豊大、手塚 雅勝、石田 功、銀ナノ粒子と医薬品における相互作用の検討、第40回日本毒性学会、千葉県千葉市、2013年6月17日
 8. 青野 豊大、磯田 勝広、蓑毛 詩乃、渡會 遥、手塚 雅勝、石田 功：銀ナノ粒子と薬物による相互作用の安全性評価、日本薬学会第 133 年会、神奈川県横浜市、2013年3月30日
 9. 野澤健志、磯田勝広、山本峻大、清水芳実、手塚雅勝、石田功：表面を修飾したナノポリスチレンの薬物相互作用の検討、フォーラム 2012 衛生薬学・環境トキシコロジー、愛知県名古屋市、2012年10月25日・26日
 10. 安平勝林、磯田勝広、手塚雅勝、石田功：ナノマテリアルとテトラサイクリンの薬物相互作用による安全性の評価、第56回日本薬学会関東支部大会、東京都品川区、2012年10月13日
 11. 蓑毛 詩乃、青野 豊大、渡會 遥、磯田 勝広、手塚 雅勝、石田 功：ナノサイズ銀粒子の安全性評価、第56回日本薬学会関東支部大会、東京都品川区、2012年10月13日
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
なし

6．研究組織

(1)研究代表者

磯田 勝広 (ISODA Katsuhiro)
帝京平成大学・薬学部・講師
研究者番号：60423117

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし