

令和元年6月25日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2018

課題番号：26305023

研究課題名(和文) 工業的ナノ素材の循環器系への影響に関する疫学研究

研究課題名(英文) Epidemiological study on the effects of industrial nanomaterials on cardiovascular system

研究代表者

市原 佐保子 (Sahoko, Ichihara)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：20378326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：ナノサイズに物質のサイズを制御することが可能となり、応用可能な革新的技術として期待されている反面、その安全性の評価が待たれている。本研究では、すでに市場に多く出回っている酸化金属ナノ粒子に注目し、中国にあるナノ素材取扱工場の労働現場とその労働者を調査し、ナノ素材によるヒトへの影響を検討し、酸化チタン粒子の粒子数濃度と心拍変動とに関係があることを示し、長期間の高レベルの炭酸カルシウム粒子の曝露が肺機能の低下を誘発する可能性があることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナノ材料は、新たな物質・材料としてその応用性が期待されているが、新たな物性を持つため、ヒトに対する未知の有害性リスクを有する可能性が懸念されている。本研究の成果より、今後、ナノサイズレベルの粒子の心臓の自律神経系に対する影響を調査していく必要があることが明らかになった。また、炭酸カルシウムナノ粒子曝露を伴う工場労働者には、肺機能検査を定期的に受け、経過を観察していくことが必須であることを把握したと同時に、ナノレベルの粒子の健康影響に関し、更なる調査が必要であることが確認された。

研究成果の概要(英文)：Metal oxide nanoparticles are widely used in industry, cosmetics, and biomedicine. However, the effects of exposure to these nanoparticles on the cardiorespiratory function remain unknown. The objective of this study was to survey workplace exposure levels and health effects of workers exposed to nano-TiO₂ or nano-CaCO₃. The study showed that exposure to particles with a diameter <300 nm might affect heart rate variability in workers handling TiO₂ particles. The results highlight the need to investigate the possible impact of exposure to nano-scaled particles on the autonomic nervous system. In addition, long-term and high-leveled CaCO₃ particles exposure can induce pulmonary hypofunction in workers. Thus, lung function examination is suggested for occupational populations with nano-CaCO₃ exposure.

研究分野：産業医学

キーワード：労働衛生学 曝露評価 ナノ粒子 健康影響

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ナノサイズ(100 ナノメートル以下)に物質のサイズを制御することが可能となり、応用可能な革新的技術として期待されている。100 ナノメートル以下になると、一粒子あたりの表面積が格段に大きくなり、従来の微粒子よりも表面活性が高くなるため、新たな物質・材料としてその応用性が期待されている。反面、新たな物性を持つため、従来の測定法では定量が困難であり、有害性の定量評価が出来ず、ヒトに対する未知の有害性リスクを有する可能性が懸念されている。

2. 研究の目的

本研究では、すでに市場に多く出回っている酸化金属ナノ粒子に注目し、中国にあるナノ素材取扱工場の労働現場とその労働者を調査し、ナノ素材によるヒト心血管系への影響と労働環境中のナノ粒子との関連を検討し、ナノ素材のリスク評価のための科学的基礎資料を作成することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 酸化チタンは、塗料や光触媒などの用途、また、インク、繊維、食品および化粧品のような種々の製品において広く用いられている。本研究では、中国の上海にある酸化チタン粒子取扱工場の労働者において、酸化チタン粒子の曝露による心肺機能に及ぼす影響を調査検討した。工場内でフィルター上に採取した粒子の一次粒径は、走査型電子顕微鏡で測定した。また、光散乱粒子計数装置(OPC)と凝縮式粒子計数器(CPC)を使用し、工場内のリアルタイムのサイズ別粒子数濃度を計測し、300 nm より小さい粒子をナノサイズの粒子と定義した。同時に、4人の労働者にホルター心電図を装着し、作業前、作業中の脈拍をモニターした。さらに、労働者16人に対し、呼吸器系・循環器系検査を実施した。また、カスケードインパクターを用いて、曝露レベルも測定した。

(2) 炭酸カルシウムナノ材料は、現在、樹脂、ゴム、インク、塗料等に広く使用されている。炭酸カルシウムナノ粒子に曝露した労働者の職場での曝露レベルと健康への影響を調査するために、炭酸カルシウムナノ材料取扱工場、個人曝露および面積サンプリングと同時に、リアルタイムおよび粉塵のモニタリングを行い、質量濃度、粒径分布および粒子数濃度を測定した。さらに、56人の労働者(28人の曝露労働者および28人の未曝露対照)に対し、肺機能を中心とした健康指標に関し、比較検討を行った。

4. 研究成果

(1) 工場内で採取した粒子の一次粒径は46から560 nmであった。工場内で、10 μm より大きい粒子、5 μm 以上で10 μm より小さい粒子、3 μm 以上で5 μm より小さい粒子、1 μm 以上で3 μm より小さい粒子の数濃度は、300 nm 以下の粒子の数濃度と負の相関関係が認められた(図1)。

胸部X線検査にて、胸膜肥厚が1人の労働者で確認されたが、曝露との関連は明らかではなかった。4人の労働者に装着したホルター心電図の結果を合わせ、心拍変動とリアルタイムのサイズ別粒子数濃度との関係を共分散分析で検討したところ、300 nm 以下の粒子数濃度とNNの総数と正の関係にあり、副交感神経機能のパラメータであるRR50 +/-とそのパーセンテージと負の関係にあることが認められた。しかし、直径が1 μm やそれ以上の粒子の数濃度と心拍変動の指標との有意な相関関係は認められなかった。300 nm 以下の粒子数濃度から1, 2, 3 及び4分の遅延と心拍変動との関連性をさらに分析したところ、1分の遅延で、300 nm 以下の粒子数濃度とNN

の総数と最も有意に正の関係を示し、NN間隔の平均およびRR50 +/-とそのパーセンテージと最も有意に負の関係を示した(図2)。作業中の総質量濃度は9.58 - 30.8 mg/m³であったが、作

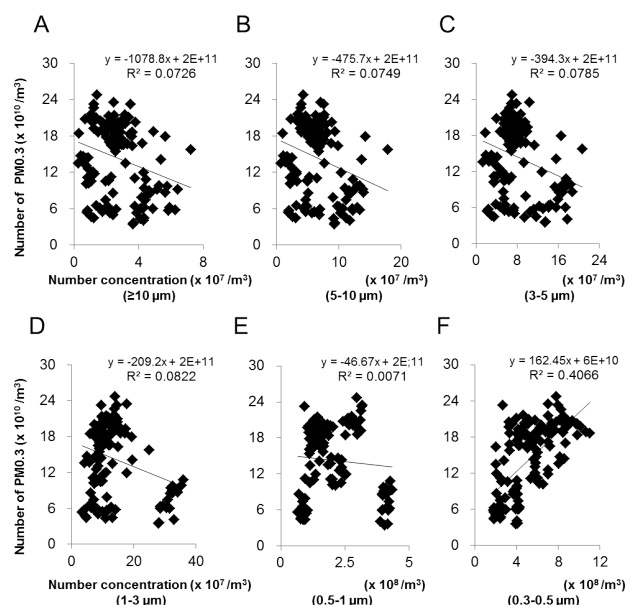


図1. 直径300 nm未満の粒子の数濃度と直径が(A) ≥10μm、(B) 5~<10μm、(C) 3~5 μm未満、(D) 1~3 μm、(E) 0.5~1 μm、(F) 0.3~0.5 μmの粒子の数濃度との関係

業前は有意に低かった (0.36 mg/m^3)。工場で10ヶ月から13年間働いていた16人の労働者では、呼吸機能の明らかな異常は観察されなかった。しかし、酸化チタン粒子を取り扱う作業員では、直径300 nm未満の粒子への曝露が、心拍変動に影響を与える可能性があるため、今後、ナノサイズレベルの粒子の心臓の自律神経系に対する影響を調査していく必要があることが示唆された。

(2) 職場での、炭酸カルシウムナノ粒子の重量濃度は、 $5.26 \pm 7.22 \text{ mg/m}^3$ ($0.042 - 20.897 \text{ mg/m}^3$)であり、労働者の呼吸レベルの高さでは、 $3.57 \pm 2.10 \text{ mg/m}^3$ ($2.04 - 8.16 \text{ mg/m}^3$)であった。粒子サイズ範囲は30から150 nmで、粒子数濃度は、8.193から39.621 粒子/ cm^3 の範囲であり、充填過程の作業環境で、最も高い重量濃度および粒子数濃度を

示し、粒子数濃度は炭酸カルシウムナノ粒子の重量濃度と正の相関があった。肺機能低下を示した労働者数は、対照群に比べ有意に高く ($p = 0.037$)。肺活量 (VC)、強制肺活量 (FVC)、1秒間の強制呼気量 (FEV1)、FEV1 / FVC は炭酸カルシウムナノ粒子の重量濃度と負の相関があった ($p < 0.05$)。ロジスティック分析により、炭酸カルシウムナノ粒子の曝露レベルは肺機能低下と関連していることが示された ($p = 0.005$)。一方、用量効果の関係は、炭酸カルシウムナノ粒子の累積重量濃度と肺機能低下の有病率との間に見出された ($p = 0.048$)。以上より、長期間の高レベルの炭酸カルシウムナノ粒子曝露は労働者に肺機能低下を誘発する可能性があるため、炭酸カルシウムナノ粒子曝露を伴う工場労働者には、肺機能検査を定期的に受け、経過を観察していくことが必須であることが示唆された。

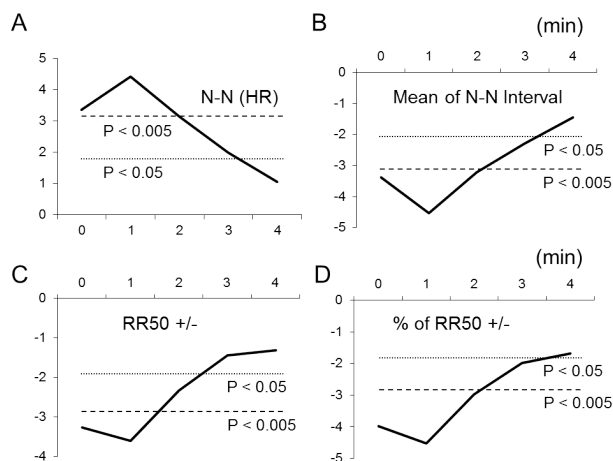


図2. 心拍変動のパラメータに対する重回帰分析における直径 <math>< 300 \text{ nm}</math>の粒子数の傾きに対する遅延時間とt値との関係

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 14 件)

1. Vranic S, Shimada Y, Ichihara S, Kimata M, Wu W, Tanaka T, Boland S, Tran L, Ichihara G. Toxicological evaluation of SiO_2 nanoparticles by zebrafish embryo toxicity test. *Int J Mol Sci* 2019 Feb 18;20(4). 査読有
2. Fukatsu H, Koide N, Tada-Oikawa S, Izuoka K, Ikegami A, Ichihara S, Ukaji T, Morita N, Naiki Y, Komatsu T, Umezawa K. NF- κ B inhibitor DHMEQ inhibits titanium dioxide nanoparticle-induced interleukin-1 β production: Inhibition of PM2.5-induced inflammation model. *Mol Med Rep* 2018 Dec;18(6):5279-5285. 査読有
3. Kitamura Y, Sasaki R, Ichihara S, Hiraku Y, Tomimoto H, Murata M, Oikawa S. Proteomic profiling of exosomal proteins for blood-based biomarkers in Parkinson's disease. *Neuroscience* 2018 Nov 10;392:121-128. 査読有
4. Li G, Liang L, Yang J, Zeng L, Xie Z, Dong M, Yang Z, Lai G, Huang W, Yang A, Chen J, Zhong Y, Li L, Ichihara S, Ichihara G, Huang H, Huang Z. Pulmonary hypofunction due to calcium carbonate nanomaterials exposure in occupational workers, cross-sectional study. *Nanotoxicology* 2018 Aug;12(6):571-585. 査読有
5. Yokoyama Y, Mise N, Suzuki Y, Tada-Oikawa S, Izuoka K, Zhang L, Zong C, Takai A, Yamada Y, Ichihara S. MicroRNAs as potential mediators of cigarette smoking-induced atherosclerosis. *Int J Mol Sci* 2018 Apr 6;19(4). 査読有
6. Zhang X, Zong C, Zhang L, Garner E, Sugie S, Huang C, Wu W, Chang J, Sakurai T, Kato M, Ichihara S, Kumagai S, Ichihara G. Exposure to 1, 2-dichloropropane induces CYP450-dependent proliferation and apoptosis of cholangiocytes in mice. *Toxicol Sci* 2018 Apr 1;162(2):559-569. 査読有
7. Huang F, Ichihara G, Yamada Y, Banu S, Ichihara S. Effect of 4-week inhalation exposure to 1-bromopropane on blood pressure in rats. *J Appl Toxicol* 2017 Mar;37(3):331-338. 査読有
8. Suzuki Y, Tada-Oikawa S, Hayashi Y, Izuoka K, Kataoka M, Ichikawa S, Wu W, Zong C, Ichihara G, Ichihara S. Single- and double-walled carbon nanotubes enhance atherosclerogenesis by promoting monocyte adhesion to endothelial cells and endothelial progenitor cell dysfunction. *Part Fibre Toxicol* 2016 Oct 13;13(1):54. 査読有
9. Tada-Oikawa S, Ichihara G, Fukatsu H, Shimanuki Y, Tanaka N, Suzuki Y, Murakami M, Izuoka K, Chang J, Wu W, Yamada Y, Ichihara S. Titanium dioxide particle type

- and concentration influence the inflammatory response in Caco-2 cells. *Int J Mol Sci* 2016 Apr 16;17(4):576. 査読有
10. Ichihara S, Li W, Omura S, Fujitani Y, Liu Y, Wang Q, Hiraku Y, Hisanaga N, Ding X, Maynard A, Kobayashi T, Ichihara G. Exposure assessment and heart rate variability monitoring in workers handling titanium dioxide particles-a pilot study. *J Nanopart Res* 2016 18:52. 査読有
 11. Tada-Oikawa S, Ichihara G, Suzuki Y, Izuoka K, Yamada Y, Mishima T, Ichihara S. Zn(II) released from zinc oxide nano/micro particles was involved in the attenuation of vasculogenesis in human endothelial colony-forming cells. *Toxicol Rep* 2015;2:692-701. 査読有
 12. Chang J, Ichihara G, Shimada S, Tada-Oikawa S, Suzuki Y, Radwa S, Kato M, Tanaka T, Ichihara S. Copper oxide nanoparticles reduce vasculogenesis in transgenic zebrafish through down-regulation of vascular endothelial growth factor expression and induction of apoptosis. *J Nanosci Nanotechnol* 2015; March;15(3):2140-2147. 査読有
 13. Wu W, Ichihara G, Hashimoto N, Hasegawa Y, Hayashi Y, Tada-Oikawa S, Suzuki Y, Chang J, Kato M, D'Alessandro-Gabazza CN, Gabazza ES, Ichihara S. Snergistic effect of bolus exposure to zinc oxide nanoparticles on bleomycin-induced secretion of pro-fibrotic cytokines without lasting fibrotic changes in murine lungs. *Int J Mol Sci* 2014 Dec 30;16(1):660-76. 査読有
 14. Suzuki Y, Tada-Oikawa S, Ichihara G, Yabata M, Izuoka K, Suzuki M, Sakai K, Ichihara S. Zinc oxide nanoparticles induce migration and adhesion of monocytes to endothelial cells and accelerate foam cell formation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014 Jul 1;278(1):16-25. 査読有

〔学会発表〕(計 20 件)

1. 市原佐保子、鈴木悠加、岩瀬優、出岡淑、池上昭彦、宗才、市原学. カーボンナノチューブによる血管における炎症誘導機構の解明 第 89 回日本衛生学会学術総会、名古屋、2019 年 2 月
2. Gaku Ichihara, Zhenlie Huang, Sahoko Ichihara, Yuji Fujitani, Seishiro Hirano, Sanae Takeuchi, Akiho Hirano, Hanlin Huang. Exposure assessment of barium sulfate particles in a factory. The 9th International Conference on Nanotoxicology, Dusseldorf, Germany, September 2018.
3. Sandra Vranic, Eri Watanabe, Yurika Osada, Sanae Takeuchi, Akiho Hirano, Toshihiko Sakurai, Akira Sato, Sahoko Ichihara, Wenting Wu, Lan Tran, Sonia Boland, Gaku Ichihara. Surface modification alters cytotoxicity of silica nanoparticles. The 9th International Conference on Nanotoxicology, Dusseldorf, Germany, September 2018.
4. 竹内咲恵、サンドラ ブラニッチ、渡邊英里、長田百合果、平野明穂、櫻井敏博、佐藤聡、市原佐保子、ウ ウェンティン、ラン トラン、ソニア ボーランド、市原学. シリカナノ粒子の表面修飾とアポトーシス誘導能に関する研究 第 45 回日本毒性学会学術年会、大阪、2018 年 7 月
5. 市原佐保子、鈴木悠加、出岡淑、市原学. AHR の欠損は、c-Jun 転写活性を増強し、AngII 負荷による心筋線維化を促進する 第 88 回日本衛生学会学術総会、東京、2018 年 3 月
6. 岩瀬優、鈴木悠加、出岡淑、宗才、市原学、市原佐保子. カーボンナノチューブによる血管における炎症誘導機構の解明 第 17 回分子予防環境医学研究会、津、2018 年 2 月
7. 林田有紗、市原学、渡邊英里、鈴木悠加、古谷知己、出岡淑、市原佐保子. 酸化チタンナノ粒子の物理化学的特性による影響 第 12 回ナノ・バイオメディカル学会大会、つくば、2017 年 11 月
8. Sahoko Ichihara, Zhenlie Huang, Gaku Ichihara, Yuji Fujitani, Seishiro Hirano, Sakie Takeuchi, Akiho Hirano, Hanlin Huang. Exposure assessment in a factory of barium sulfate particles. Inhaled Particles XII, Glasgow, UK, September 2017.
9. 市原佐保子、鈴木悠加、古谷知己、出岡淑、渡邊英里、林田有紗、長田百合果、市原学. 酸化チタンナノ粒子の物理化学的特性による血管内皮細胞への影響 第 87 回日本衛生学会学術総会、宮崎、2017 年 3 月
10. 市原佐保子、鈴木悠加、古谷知己、出岡淑、渡邊英里、林田有紗、長田百合香、市原学. 酸化チタンナノ粒子の物理化学的特性による血管内皮細胞への影響の検討 第 44 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、東京、2016 年 8 月
11. Sahoko Ichihara, Yuka Suzuki, Eri Watanabe, Arisa Hayashida, Yurika Osada, Tomoki Furutani, Kiyora Izuoka, Gaku Ichihara. Effect of physicochemical characteristics of nano-sized TiO₂ on adhesion of monocytes to endothelial cells. 11th International Particle Toxicology Conference, Singapore, Republic of Singapore, September 2016.
12. 市原佐保子、鈴木悠加、古谷知己、出岡淑、渡邊英里、林田有紗、長田百合果、市原学. 酸化チタンナノ粒子による血管内皮細胞への単球の接着能に対する影響 第 43 回日本毒性

学会学術年会、名古屋、2016年6月

13. 市原学、小林隆弘、市原佐保子. ナノマテリアル有害性評価と労働環境衛生学 第43回日本毒性学会学術年会、名古屋、2016年6月
14. 市原佐保子、鈴木悠加、呉文亭、出岡淑、伊東健、山本雅之、市原学. 吸引投与による多層カーボンナノチューブの影響とその作用機序の検討 第86回日本衛生学会学術総会、旭川、2016年5月
15. Sahoko Ichihara, Yuka Suzuki, Eri Watanabe, Yurika Osada, Arisa Hayashida, Tomoki Furutani, Kiyora Izioka, Gaku Ichihara. Effects of nano-sized TiO₂ on the adhesion of monocytes to endothelial cells. The 55th Annual Meeting of Society of Toxicology and ToxExpo, New Orleans, USA, March 2016.
16. Yuka Suzuki, Gaku Ichihara, Saeko Tada-Oikawa, Kiyora Izuoka, Sahoko Ichihara. Effects of nano-sized TiO₂ on the adhesion of monocytes to endothelial cells. MARINA-NanoVALID conference, Paris, France, September 2015.
17. Radwa Sehsah, Wenting Wu, Sahoko Ichihara, Naozumi Hashimono, Yoshinori Hasegawa, A. El-Sayed, N. Joseph, S. El-Bestar, Emily Kamel, Gaku Ichihara. Role of nuclear factor erythroid 2-related factor (Nrf2) in pulmonary inflammation induced by zinc oxide nanoparticles. Society of Occupational Medicine Annual Scientific Meeting, Manchester Conference Centre, Manchester, UK, July 2015.
18. 鈴木悠加、市原学、及川(多田)佐枝子、村上理彦、出岡淑、市原佐保子. 単球の血管内皮細胞への接着能に及ぼす酸化チタンナノ粒子の影響 第14回分子予防環境医学研究会、大阪、2015年2月
19. Radwa Sehsah, Wenting Wu, Sahoko Ichihara, Naozumi Hashimoto, Yoshinori Hasegawa, Ken Ito, Masayuki Yamamoto, Emily Kamel, Gaku Ichihara. Involvement of Nrf-2 in zinc oxide nanoparticles-induced pulmonary inflammation. フォーラム2014 衛生学・環境トキシコロジー、筑波、2014年9月
20. 市原佐保子、李衛華、尾村誠一、藤谷雄二、平工雄介、久永直見、丁訓誠、小林隆弘、市原学. 中国酸化チタン粒子取扱工場労働者に対する心肺機能を中心とした調査研究 第87回日本産業衛生学会、岡山、2014年5月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.jichi.ac.jp/enviro/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：市原 学

ローマ字氏名：Gaku Ichihara

所属研究機関名：東京理科大学

部局名：薬学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：90252238

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：李 衛華

ローマ字氏名：Weihua Li

研究協力者氏名：黄 振烈

ローマ字氏名：Zhenlie Huang

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。