

ミニ特集 第80回日本衛生学会
連携研究会：繊維・粒子状物質研究会

ナノマテリアルの安全確保に向けた Nano-Safety Science 研究

吉岡 靖雄^{*1,2,3}, 吉川 友章^{*2,3}, 堤 康央^{*1,2,3}

^{*1} 大阪大学臨床医工学融合研究教育センター

^{*2} 大阪大学大学院薬学研究科

^{*3} 独立行政法人医薬基盤研究所

Nano-Safety Science for Assuring the Safety of Nanomaterials

Yasuo YOSHIOKA^{*1,2,3}, Tomoaki YOSHIKAWA^{*2,3} and Yasuo TSUTSUMI^{*1,2,3}

^{*1}The Center for Advanced Medical Engineering and Informatics, Osaka University

^{*2}Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

^{*3}National Institute of Biomedical Innovation

Abstract Developments in nanotechnology have fostered the widespread use of a diverse array of nanomaterials such as nanosilicas and carbon nanotubes. Nanomaterials are already being used in electronics, sunscreens, cosmetics, and medicines, because they have unique physicochemical properties, such as conductivity, strength, durability, and chemical reactivity. The advent of nanomaterials has also provided extraordinary opportunities for biomedical applications. However, the increasing use of nanomaterials has raised public concern about their potential risks to human health. In particular, recent reports have indicated that carbon nanotubes induce severe inflammation and mesothelioma-like lesions in mice. In this regard, we have attempted to elucidate the pharmacodynamics and safety of nanomaterials in order to develop novel, safe nanomaterials and to establish scientifically based regulations. In this review, we introduce our data on the safety of nanosilicas, particularly the relationships among their physical properties (predominant grain size, configuration, and surface charge), pharmacodynamics, and safety. Our study will help to improve the quality of human life by establishing standards for the safe use of nanomaterials.

Key words: nanomaterial (ナノマテリアル), Nano-Safety Science, nanosilica (ナノシリカ)

はじめに

2000年1月に、当時の米国クリントン大統領が「国家ナノテクノロジー戦略」を発表し、大規模国家予算を投資したことが一つの起爆剤となり、ナノマテリアルの開発研究と生産、そして実用化が、国内外の産官学を問わず、多くの領域（医療、情報、環境、エネルギーなど）で急速に進展した。ナノマテリアルとは、少なくとも一

次元の大きさが100 nm以下で製造された超微細材料と定義されている。このナノマテリアルは、従来までのサブミクロンサイズ以上(100 nm以上)の素材とは異なり、サイズ減少に伴う組織浸透性の増大や電子反応性の増大、重量あたりの表面積の増加などにより、抗酸化効果や紫外線遮蔽効果といった有用機能が格段に向上しており、我々の生活の質的向上に革命を起こすものと注目されている。そのため、種々の産業で夢の新素材になるものと期待されており、医薬品・食品・化粧品領域では、ナノシリカやナノ酸化チタン、フラーレン、白金ナノコロイド、ナノシルバーなどが、必須素材として既に上市されている（図1）。

一方で、ナノマテリアルの物性（サイズ、形状など）に起因した革新的機能が逆に、二面性を呈してしまい、

受付2010年7月31日、受理2010年7月31日
Reprint requests to: Yasuo YOSHIOKA, PhD
The Center for Advanced Medical Engineering and Informatics,
Osaka University, 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan
TEL: +81(6)6879-8177, FAX: +81(6)6879-8177
E-mail: yasuo@phs.osaka-u.ac.jp

物質名	国内生産量	用途
カーボンナノチューブ	120-140 t	電子材料
カーボンブラック	80万 t	タイヤ、自動車部品等
二酸化チタン	1450 t	化粧品、光触媒等
フラーレン	2 t	化粧品、スポーツ用品等
酸化亜鉛	480 t	化粧品等
非晶質シリカ	9万 t	食品、化粧品、インク、合成ゴム、タイヤ等

図1 主なナノマテリアルの生産量と用途。経済産業省のホームページから一部改変して転載。

サブミクロンサイズ以上の従来型素材では観察されない特徴的な毒性、所謂、ナノトックス (NanoTox) を発現してしまうことが世界的に懸念されている (1-3)。例えば、今後の詳細な検証が必要ではあるものの、カーボンナノチューブや酸化チタンの発がん性・起炎性など、健康被害を示唆する研究報告が相次いでいる (4-6)。そのため、経済協力開発機構 (OECD) と連携しつつ、欧米各国などはナノマテリアルの開発やその利用を規制しようとする動きを加速している。我が国でも、厚生労働省や経済産業省、環境省、内閣府を中心にナノマテリアルの安全性評価研究が今、まさにスタートしたところである。

以上の NanoTox 研究を推進するうえで考慮すべき点は、例えば医薬品・化粧品・食品の場合、老若男女・妊婦・胎児・乳幼児・病人を問わず、あらゆる世代のヒトが一生に渡って曝露され続けることにある。そのため、ナノマテリアルがごく僅かでも体内に吸収され、長期に渡って蓄積され続けると、安全性に大きな問題を招きかねない。しかし、NanoTox 研究の大部分はハザード評価 (毒性の有無) に偏重しているのが現状であり、肝心の“体内吸収性や体内／細胞内動態に関する情報”は、世界的に欠乏している。これは、従来までのサブミクロンサイズ以上の素材で積み重ねられてきた知見に基づき、ナノマテリアルの場合でも曝露されても吸収される筈がないだろうという誤った認識にも大きく影響されている。即ち、このままでは、ナノマテリアルの体内吸収性／体内動態に関する検討がなされぬまま、科学的根拠に乏しい無闇な使用規制が施行されてしまい、ナノマテリアルの有用性を享受した豊かな社会の構築や産業発展が阻害されてしまいかねない。従って、知財技術立国を目指す我が国としては、ナノマテリアルの開発・実用化を闇雲に規制するのではなく、ナノテクノロジーの恩恵を社会が最大限に享受できるよう、ナノ産業の育成や発展を強力に支援しつつ、一方で責任ある先進国、そして健康立国として、ナノマテリアルの安全性を高度に保障し、ヒトの健康環境を確保していかなければならない。すなわち、ナノマテリアルを活用した豊かな社会の構築のためにも、今こそ、どの程度我々はナノマテリアルに曝露され

ているのかといった曝露実態の解明や、生体内に取り込まれたナノマテリアルがどの程度組織に分布するのかといった定量的な体内動態評価、さらに、健康影響に及ぼす閾値追求など詳細な安全性評価が待望されている。

以上の背景を踏まえて我々は、安全なナノマテリアルの創製に向けた基盤情報の収集、使用指針の策定に向け、ナノマテリアルの物性・体内動態・安全性の3者連関を解析することで、健康影響発現に及ぼす閾値の追求・安全なナノマテリアルの設計指針の構築を図ってきた (6-11)。本稿では、我々の取り組みの中から、最も汎用されているナノマテリアルの一つである非晶質ナノシリカの安全性確保研究 (我々は、安全なナノマテリアルの開発研究を推進する視点から NanoTox 研究ではなく、Nano-Safety Science 研究と呼んでいる) について、体内・細胞内動態解析と免疫毒性評価に焦点をあて紹介させて頂き、各方面の先生方からご意見・ご批判を仰ぎたい。

非晶質ナノシリカの物性と経皮吸収性との関連評価

非晶質ナノシリカの用途は非常に幅広く、日焼け止めやファンデーションなどの化粧品基材、歯磨き粉や歯の充填剤、食品の固結防止・流動化剤などの食品添加物として利用されている。また、非晶質ナノシリカは食品中に最大 2%、化粧品におおよそ 20% 程度が配合されており、既に我々の生活に必須となっている。さらに近年では、非晶質ナノシリカのサイズダウンや分散性を向上する技術の開発が加速度的に進展しており、直径が 2.5 nm 程度のもの (所謂、サブナノサイズ) までも開発されつつあり、その使用量・適用範囲は増加の一途を辿っている。従って、非晶質ナノシリカの環境中への流出や廃棄、非晶質ナノシリカ含有製品の使用により、生体が経口、経肺、経皮など、様々な経路で非晶質ナノシリカに、意図的・非意図的な曝露を受ける機会が今後ますます増大していくことは想像に難くない。一方で、その安全性に関する検討は、他のナノマテリアルに比べて圧倒的に遅れているのが現状である。欧州化学物質生態毒性・毒性センターによれば、サブミクロンサイズ以上の非晶質シ

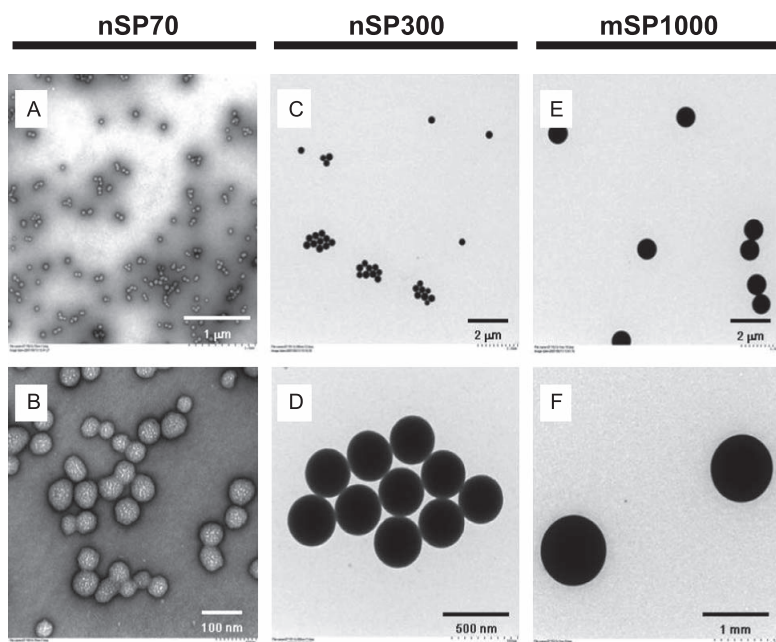


図 2 非晶質シリカの電子顕微鏡写真。(A and B) 直径 70 nm のシリカ (nSP70), (C and D) 直径 300 nm のシリカ (nSP300), (E and F) 直径 1,000 nm のシリカ (mSP1000)。

リカ（一次粒径は 100 nm 以下であっても、凝集体として、サブミクロンサイズ以上になる非晶質ナノシリカを含む）の安全性に問題は無いと報告されている (12)。しかし、この報告は、昨今の分散性に優れた 100 nm 以下の非晶質ナノシリカの安全性を保証するものではない。特に、100 nm 以下の分散性の高い素材に関しては、体内に吸収される可能性が世界的に懸念されており、この点に関する検討が急務となっている。

そこで本研究では、まず、分散性が極めて高い非晶質シリカを用いて、経皮吸収性・体内動態と粒子サイズとの関連を検討した。本研究では、一次粒径が 70 nm の非晶質ナノシリカ (nSP70) 及び、粒子径 300 nm, 1,000 nm の従来型非晶質シリカ (nSP300, mSP1000) を実験に用いた（現在は、30 nm, 50 nm の非晶質ナノシリカやサブナノサイズのものも使用しているが、これらに関しては今後報告させて頂く）。図 2 に非晶質シリカの透過型電子顕微鏡 (TEM) 写真を示す。いずれの粒子も非常に滑らかな形状をした粒子であり、一次/二次粒子径もカタログ値とほぼ同等であった。続いて、nSP70, nSP300, mSP1000 をマウス耳介に塗布した際の経皮吸収性を評価した。各非晶質シリカをマウスに 5 日間あるいは 28 日間連続経皮塗布し、投与局所および所属リンパ節、主要組織への移行を TEM により観察した。その結果、nSP70 が角質層を通過して表皮や真皮層にまで到達し、さらに、所属リンパ節・脾臓や脳内にまで移行することが明らかとなった。特に、リンパ節・脾臓では、リンパ球や貪食細胞であるマクロファージに多く取り込まれることが判明した。なお、従来までのサブミクロンサイズ以上の非晶質シリカである nSP300 や mSP1000 は、表皮層にすら到達しないこと（即ち、高度に安全であること）を確認している。現在は、経口・経鼻・経肺曝露により、nSP70

が投与部位の免疫担当細胞に多く取り込まれるだけでなく、生体内にも吸収されることを明らかとしつつあり、今後より詳細な体内動態を明らかにできるものと考えている。

そこで次に、各非晶質シリカをマウス尾静脈より投与し、非晶質ナノシリカが全身循環した際の動態および生体影響を評価した。まず、種々の粒子径の非晶質シリカの体内動態を蛍光イメージングならびに TEM 解析により評価したところ、nSP300 と mSP1000 は胆嚢に局在する一方で、nSP70 は肝臓全体へ速やかに分布することが明らかとなった（図 3）。また、nSP300 と mSP1000 は肝実質細胞には殆ど移行しないに関わらず、nSP70 は肝実質細胞へ移行し、最終的に核内にまで到達することが判明した。続いて、各非晶質シリカを 2 mg/head で尾静脈内投与した際の急性毒性を評価した。nSP300 や mSP1000 を静脈内投与したマウスにおいては急性毒性や肝毒性は全く認められなかったのに対して、nSP70 投与マウスは投与後 12 時間以内に全例が死亡した。また、これらのマウスから回収した血液中の肝障害マーカーを測定したところ、100 nm を閾値に粒子サイズの減少により著しい AST や ALT の産生上昇が認められた。これらの結果を重ね合わせると、急性毒性や肝障害性といった生体影響の違いは、非晶質ナノシリカの体内分布特性の差異に起因するものと考えられた。これまで、非晶質ナノシリカが経皮塗布後に体内吸収性や脳内蓄積性を示すといった報告は世界的に見ても皆無である。非晶質ナノシリカが非常に強固な皮膚角質バリアを通過して生体内に移行し、さらに脳をはじめとする各臓器に到達するという事実は非常に興味深く、少なくともこれらの事実は、直径 100 nm 以下の非晶質ナノシリカがサブミクロンサイズの非晶質シリカとは異なる体内/細胞内動態特性を

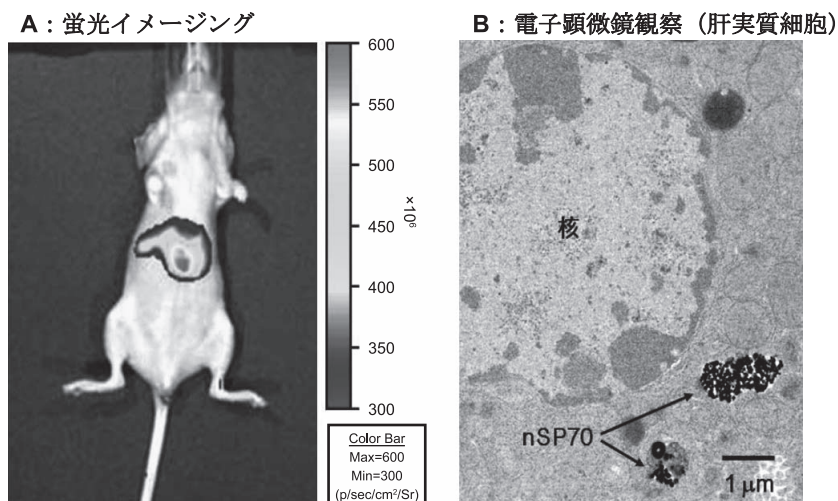


図3 nSP70の体内動態解析。DY676で標識したnSP70 (7×10^{10} 個)をBALB/cマウス(雌, 8週齢)の尾静脈内より投与した。投与24時間後にXenogen IVIS 200を用いてnSP70の局在を蛍光イメージングにより解析した(A)。また, 同様にnSP70を投与したマウスから肝臓を回収し, 電子顕微鏡を用いてnSP70の肝臓内局在を観察した(B)。

発揮する可能性を示している。現在, 我々は, 安全性評価において最も重要な経皮吸収量(曝露量)の評価を進めると共に, 皮膚透過機構の解析や皮膚局所における安全性評価を推進している。

非晶質ナノシリカの細胞内動態と安全性との関連追求

ここまでの検討結果から, 直径100 nm以下の非晶質ナノシリカがサブミクロンサイズの従来素材とは異なる動態特性を発揮し, ナノマテリアルの動態情報を基盤とした安全性評価が重要であることを明らかにした。そこで次に, 非晶質ナノシリカの細胞内動態特性と安全性の関連解析を試みた。まず, ヒト皮膚角化細胞株(HaCaT細胞)を用いて, 非晶質ナノシリカの細胞内局在を解析した。HaCaT細胞に各粒子サイズの非晶質シリカを添加し, 24時間後の細胞をTEMで観察した。その結果, nSP300あるいはmSP1000作用群では, 各シリカが細胞内に侵入した像が認められ, 特にmSP1000作用群においては細菌感染時と同様のリソソーム小胞の過形成を認めた。それに対して, nSP70は細胞内に侵入するばかりか, 核膜を透過して核内に侵入していた。これらの事実は, 直径が100 nm以下のナノマテリアルが従来までのマイクロメートルサイズのマテリアルとは異なる細胞内動態特性を示すことを裏付けている。即ち, ナノマテリアルの安全性を確保するに当たっては, 細胞内取り込み経路や細胞内オルガネラへの到達性, およびその機構などの細胞内動態に関して精査し, それらの情報を基盤とした安全性評価が必須であると考えられる。特に今回使用した非晶質ナノシリカの場合は, 核内移行特性を反映した遺伝子や核機能に対する影響の評価が必要であると考えられた。そこで, コメットアッセイにより, 非晶質シリカ処理によるDNA損傷の有無を検討したところ, nSP70

作用群においてのみ強力なDNA損傷効果が認められた。これらの結果は, 非晶質ナノシリカが粒子径の減少を反映して細胞傷害やDNA損傷を誘発し, 発がんリスクを増大させ得ることを示している。今後は, nSP70の核内移行性とDNA損傷との因果関係を精査すると共に, 発がん性試験などを検討する必要があると考えられる。

非晶質ナノシリカの起炎性評価および炎症惹起メカニズムの解明

これまでに, 生体に取り込まれた粒子状異物排除の根幹を担う免疫担当細胞が, ナノマテリアルを異物として認識した際に, 過剰反応や機能不全を起こす可能性が報告されており(6, 13), ナノマテリアルが未知の免疫攪乱作用を呈する危険性が指摘されている(14)。これらは, ナノマテリアルへの長期・多量曝露が, 炎症性疾患や自己免疫疾患, あるいは感染症罹患率の増大など, 予期せぬ毒性を引き起こす可能性を示している。我々はこれまでに, サブミクロンサイズの非晶質シリカが, 細胞にエンドサイトーシスで取り込まれた後, 活性酸素の産生を誘発し, 活性酸素がリソソームを破壊することでカテプシンBを細胞質に流出させ, インフラマソームの活性化を誘導することで炎症を惹起することを明らかとしている(15)。しかし, ナノメートルサイズの非晶質ナノシリカの起炎性については, 世界的にも明らかとなっていない。さらに上述したように, nSP70のみ経皮吸収性を有し, その後, リンパ節・脾臓のリンパ球や貪食細胞であるマクロファージに多く取り込まれることを明らかとしていることから, nSP70の免疫機能への影響評価は最優先課題と考えられる。

そこで, 粒子径の異なる非晶質シリカの起炎性について, マウスを用いて比較検討した。各粒子径の非晶質シ

リカをマウス腹腔内へと投与し、24時間後における腹腔内の総細胞数を起炎性の指標として評価した。その結果、nSP300, mSP1000 投与群では細胞数の増大はほとんど観察されなかったのに対して、nSP70 投与群においては、有意な細胞浸潤数の増大が認められるなど、非晶質ナノシリカは強い起炎性を有する可能性が示された。さらに、各非晶質シリカ投与2時間後における腹腔内のサイトカイン産生パターンを解析した結果、nSP70 投与群では、炎症性サイトカインやケモカインの産生が認められた。以上の結果より、非晶質シリカは粒子径の減少に従って起炎性が上昇することが明らかとなった。しかし、本結果はあくまでも腹腔内への大量投与による検討であるため、今後、曝露実態を考慮した投与ルートや投与量での検討、更には閾値の解明が必須であると考えられる。

粒子状物質が生体内に取り込まれた場合、まず貪食細胞であるマクロファージに認識されることで免疫応答が誘導される。そこで、代表的なマウスマクロファージ細胞株である RAW264.7 細胞を用いて、非晶質シリカの起炎性を *in vitro* で評価した。RAW264.7 細胞に各非晶質シリカを作用させ、培養上清中に産生される腫瘍壊死因子 (TNF α) 量を ELISA により評価した。その結果、nSP300, mSP1000 作用群における TNF α の産生量は未処理群とほぼ同程度であったのに対し、nSP70 作用群では有意な TNF α の産生亢進が観察された。本結果より、nSP70 はマクロファージからの TNF α など炎症性サイトカインの産生を誘導することで、炎症を惹起する可能性が示された。

次に、非晶質ナノシリカによる TNF α の産生誘導メカニズムを解析した。細胞が外部からのストレスやサイトカイン刺激を受けると、MAPK ファミリーである p38, c-jun N-terminal kinase (JNK) 及び Extracellular Signal-regulated Kinase 1/2 (ERK1/2) がリン酸化を受けて活性化し、炎症応答や細胞分化、細胞死など、多様な細胞応答に関わるシグナルを伝達することが知られている。そこで、RAW264.7 細胞に各粒子径の非晶質シリカを作用させ、各 MAPK の活性化を評価した。その結果、nSP300, mSP1000 は、いずれの MAPK も活性化しなかったのに対して、nSP70 は全ての MAPK を強く活性化することが明らかとなった。次に、各 MAPK 阻害剤存在下で、nSP70 を RAW264.7 細胞に添加し、TNF α の産生量を ELISA により評価した。その結果、nSP70 単独で作用させた場合、有意な TNF α の産生上昇が認められたのに対し、いずれの MAPK 阻害剤作用条件下においても、nSP70 による TNF α の産生は未処理群と同程度にまで抑制された。本結果は、nSP70 が p38, JNK, ERK1/2 全ての活性化を介して TNF α の産生を誘導することを示すものである (図4)。

起炎性の少ない安全なナノマテリアル開発に向けた取り組み

次に、起炎性の少ない非晶質ナノシリカの開発に向けた基礎情報の集積を目的に、非晶質ナノシリカの表面修

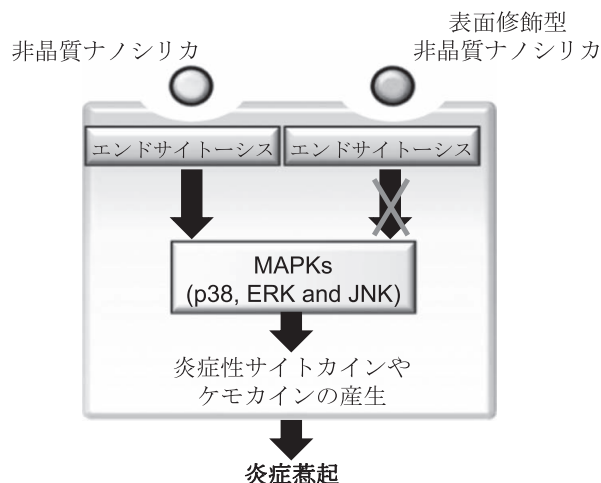


図4 非晶質ナノシリカの起炎性惹起メカニズムの模式図

飾がその起炎性に与える影響を検討した。本検討では、nSP70 の表面をカルボキシル基で修飾した nSP70-C を用いて起炎性を評価した。まず、RAW264.7 細胞を用いて、nSP70 及び nSP70-C の TNF α 産生誘導能を比較した。その結果、nSP70 作用群では TNF α の産生量が增加するのに対し、nSP70-C 作用群では全く増加が認められなかった。また、RAW264.7 細胞における MAPK の活性化を評価した結果、nSP70 作用群では、全ての MAPK が活性化されるのに対して、nSP70-C 作用群ではいずれの MAPK の活性化も認められなかった。従って、nSP70 はカルボキシル基修飾によって、MAPK の活性化が強く抑えられた結果、TNF α の産生が大幅に減弱した可能性が示された。さらに、nSP70 及び nSP70-C をマウス腹腔内に投与し、腹腔内の総細胞数を指標に起炎性を評価した。その結果、nSP70 投与群で腹腔内総細胞数が顕著に上昇するのに対し、nSP70-C 投与群は細胞数の上昇はほとんど認められず、未処理群との有意な差は観察されなかった。以上の結果より、nSP70 の有する起炎性は、表面のカルボキシル基修飾によって抑制可能であることが判明した。

終わりに

現在、ナノマテリアルの生体影響に関する詳細な情報を可能な限り早急に収集する必要性が世界的に叫ばれており、OECD では、2006 年から「工業ナノ材料作業部会」を設置し、安全性に対する論議を精力的に進めている。その一方で、ナノマテリアルは人類の QOL 向上に必須の新素材になる可能性を秘めているため、安全性に関するデータが不十分なまま施行された無闇な規制によって、ナノマテリアルの社会受容が阻害され、ひいてはナノマテリアルによって得られるべき恩恵を闇に葬ることだけは避けねばならない。さらに、種々ナノマテリアル配合製品が既に実用化・販売され、ナノマテリアルの人体曝露を避け得ない現状では、危険性のみを闇雲に指摘する

だけでは社会的混乱を招いてしまう。従って、今後、ナノマテリアルが社会から受容され、人類の豊かな暮らしに貢献するためには、適切なリスクマネジメントの実施によって安全性を確保した上で、そのメリットを最大限に享受することが重要である。本研究では、非晶質ナノシリカの皮膚吸収性・体内動態を明らかにした上で、粒子径と急性毒性・起炎性の連関を評価とした。さらに、最も重要なことであるが、適切な物性制御により起炎性を低減可能であることを明らかにした。すなわち、本研究は、単なるナノマテリアルの毒性研究 (NanoTox 研究) を目的としたものでなく、いかにして安全で安心、かつ有用なナノマテリアルを開発・実用化していくのかを視野にいたしたナノマテリアルの安全科学研究 (Nano-Safety Science 研究) を実施したものである。今回は紙面の都合上、割愛させて頂いたが、我々は本項で紹介した検討に加えて、経肺／経口曝露時の体内吸収性・体内動態の解析や、脳神経／免疫／生殖発生学的な Nano-Safety Science 研究を推進しており、既に多くの興味深い知見を得つつある。今後は、ナノマテリアルの曝露実態の解明、定量的な体内動態評価や健康影響に及ぼす閾値追求など詳細な安全性評価を推進するとともに、安全かつ有効なナノマテリアルの開発・実用化支援をより強力に推進することが必要不可欠と考えられる。本稿では紙面の都合上、我々の知見の一例のみ紹介させて頂いたが、これら Nano-Safety Science 研究が、今後のより安全なナノマテリアルの創製・社会還元に繋がり、科学的根拠に基づいた情報発信・リスクコミュニケーションにより、リスクリテラシーが高まり、安全で安心な社会の構築などに貢献し得るものと期待している。

謝 辞

本研究は、独立行政法人医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクトリーダー 角田慎一先生、同サブリーダー 鎌田春彦先生、同プロジェクト研究員 阿部康弘先生、同プロジェクト研究員 長野一也先生、大阪大学薬学研究科薬剤学分野教授 中川晋作先生、同分野准教授 岡田直貴先生、同分野助教 向 洋平先生、大阪大学大学院薬学研究科毒性学分野講師 伊藤徳夫先生、大阪大学大学院特任助教 鍋師裕美先生、をはじめとする多くの先生方のご指導のもと、遂行されたものであり、この場をお借りして御礼を申し上げます。また当該研究の推進に尽力してくれた学生諸氏に感謝申し上げます。

文 献

- (1) Service RF. Nanotoxicology. Nanotechnology grows up. Science. 2004;304:1732-1734.
- (2) Kagan VE, Bayir H, Shvedova AA. Nanomedicine and nanotoxicology: two sides of the same coin. Nanomedicine. 2005;1:313-316.
- (3) Zhao Y, Xing G, Chai Z. Nanotoxicology: Are carbon nanotubes safe? Nat Nanotechnol. 2008;3:191-192.
- (4) 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. J Toxicol Sci. 2008;33:105-116.
- (5) Poland CA, Duffin R, Kinloch I, Maynard A, Wallace WA, Seaton A, Stone V, Brown S, Macnee W, Donaldson K. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. Nat Nanotechnol. 2008;3:423-428.
- (6) Morishige T, Yoshioka Y, Tanabe A, Yao X, Tsunoda S, Tsutsumi Y, Mukai Y, Okada N, Nakagawa S. Titanium dioxide induces different levels of IL-1beta production dependent on its particle characteristics through caspase-1 activation mediated by reactive oxygen species and cathepsin B. Biochem Biophys Res Commun. 2010;392:160-165.
- (7) Yoshikawa T, Nabeshi H, Yoshioka Y. Evaluation of biological influence of nano-materials using toxicokinetic and toxicoproteomic approach. Yakugaku Zasshi. 2008;128:1715-1725.
- (8) Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, Morishita Y, Yoshida T, Fujimura M, Kayamuro H, Nabeshi H, Yamashita T, Nagano K, Abe Y, Kamada H, Kawai Y, Mayumi T, Yoshikawa T, Itoh N, Tsunoda S, Tsutsumi Y. Carbon nanotubes elicit DNA damage and inflammatory response relative to their size and shape. Inflammation. 2010;33:276-280.
- (9) Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K, Nakazato Y, Arimori A, Isobe M, Tochigi S, Kondoh S, Hirai T, Akase T, Yamashita T, Yamashita K, Yoshida T, Nagano K, Abe Y, Yoshioka Y, Kamada H, Imazawa T, Itoh N, Tsunoda S, Tsutsumi Y. Size-dependent cytotoxic effects of amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells. Pharmazie. 2010;65:199-201.
- (10) 吉川友章, 吉岡靖雄, 角田慎一, 堤 康央. 化粧品ナノマテリアルの安全性評価の現状と技術的課題～安全なナノマテリアルの開発支援に向けて～. コスメティックステージ 2010;4:44-48.
- (11) 吉川友章, 吉岡靖雄, 角田慎一, 堤 康央. 非晶質ナノシリカの経皮吸収性／生体内動態と安全性との連関追求. ナノ材料のリスク評価と安全性対策. フロンティア出版, 2010;44-53.
- (12) European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, JACC Report. 2006 No 51.
- (13) Mitchell LA, Lauer FT, Burchiel SW, McDonald JD. Mechanisms for how inhaled multiwalled carbon nanotubes suppress systemic immune function in mice. Nat Nanotechnol. 2009;4:451-456.
- (14) Dobrovolskaia MA, McNeil SE. Immunological properties of engineered nanomaterials. Nat Nanotechnol. 2007;2:469-478.
- (15) Morishige T, Yoshioka Y, Inakura H, Tanabe A, Yao X, Narimatsu S, Monobe Y, Imazawa T, Tsunoda S, Tsutsumi Y, Mukai Y, Okada N, Nakagawa S. The effect of surface modification of amorphous silica particles on NLRP3 inflammasome mediated IL-1beta production, ROS production and endosomal rupture. Biomaterials. 2010;31:6833-6842.