

京都大学	博士 (医学)	氏名	永井裕崇
論文題目	Diameter and rigidity of multiwalled carbon nanotubes are critical factors in mesothelial injury and carcinogenesis (多層カーボンナノチューブの直径と剛性は、中皮細胞傷害と中皮腫形成に重要な因子である)		
(論文内容の要旨) アスベスト繊維は、その優れた物理化学的特性のため工業製品や建築物などに幅広く使用されてきた。しかし、吸入の20年から40年の後に肺癌や悪性中皮腫を誘発する事が明らかとなり、現在社会的な問題となっている。先進各国においてアスベスト繊維の使用は既に規制されているが、近年、アスベストと類似の物理的性質を持つ新物質・多層カーボンナノチューブ (以下、NT) が産業的に幅広く使用され始めている。共通の性質は細長い針状の構造、そして高い生体内耐久性の2点であり、その類似性のため、NTが中皮腫を引き起こす可能性について社会的懸念がある。発癌性の低いNTを産業的に使用するために、NTの細胞毒性・発癌機構の解析を行った。 5種類のNT(NT50a, NT50b, NT115, NT145, NTtngl;数字は平均直径で単位はナノメートル。tnglはtangledで絡まったの意)、3種類のアスベスト(クリソタイル、クロシドライト、アモサイト)を用いて中皮細胞、マクロファージに投与し光学顕微鏡で観察したところ、アスベストは中皮細胞、マクロファージに共によく取り込まれたが、NTはマクロファージにのみ効率良く取り込まれた。これより、アスベストとNTは中皮細胞への取り込みという観点で異なる性質を示す事が明らかとなった。また、NTを中皮細胞に曝露すると、NTは直径と逆相関の細胞毒性を示した。すなわち、細いNT(NT50a, NT50b)は毒性が強く、太いNT(NT145)は毒性が低かった。光学顕微鏡下では直径の異なるNT間に細胞との相互作用に差異は認められなかった事から、透過型電子顕微鏡を用いて観察を行った。すると、細いNTの方が太いNTよりも中皮細胞の細胞膜や核を貫通し易い事が明らかとなった。この時、アスベストはNTよりも直径が大きかったが、高頻度にファゴサイトーシスのように膜構造に囲まれた状態で細胞内に存在していた。NTは膜構造に囲まれておらず、NTとアスベストは異なる機構で細胞に入る事が示唆された。 また、NTをラットの腹腔内に投与すると、細いNTは太いNTと比べて、強い炎症を惹起し、中皮腫発生も早く、高率であった。NTをマクロファージに投与し、毒性やサイトカイン産生能を調べたが、直径の異なるNT間に差異は認められなかった。従って、炎症惹起性や発癌性についても、少なくともラット腹腔内投与のモデルにおいては、中皮細胞傷害性が強く関与している事が示唆された。直径が最も小さく、かつ凝集塊をつくるようなNT(NTtngl)は細胞に入らず、炎症惹起性や発癌性も最も低かったことから、中皮細胞に入るためには、直径が小さい事のみでなく、剛性が高く、直線性が高いことが重要であることと考えられた。			

カーボンナノチューブ誘発中皮腫をアレイ CGH 法によって解析すると、12例全例で Cdkn2A/2B の欠損が認められた。このゲノム欠損はアスベスト誘発中皮腫と同一の特徴であり、ナノチューブとアスベストが同様のゲノム変化を伴う中皮腫を誘発する事が明らかとなった。

総じて、NT とアスベスト繊維は異なる機構で中皮細胞に侵入する。その機構の差異故に、直径の大きな NT は中皮細胞に入りにくく、発癌性も低い事が明らかとなった。

(論文審査の結果の要旨)
 多層カーボンナノチューブ (以下、NT) はアスベスト繊維と類似の物理化学的性質を持つため、中皮腫を引き起こす可能性について社会的懸念がある。今回、NTの毒性・発がん性を決める因子を評価するため、5種類のNTと3種類のアスベストを用いて中皮細胞に投与したところ、アスベストは細胞に効率良く取り込まれたが、NTは殆ど取り込まれなかった。NTによる中皮細胞毒性は直径と逆相関であり、さらに透過型電子顕微鏡を用いて観察すると細いNT(~50nm)の方が太いNT(~150nm)よりも中皮細胞の細胞膜や核を貫通し易い事が明らかとなった。一方、アスベストの直径はどのNTよりも大きかったが、膜構造に囲まれた状態で細胞内に存在していた。NTは膜構造に囲まれておらず、NTとアスベストは異なる機構で細胞に入る事が示唆された。NTをラットの腹腔内に投与すると、細いNTは太いNTと比べて、強い炎症を惹起し、中皮腫発生も早く、高率であった。NTをマクロファージに投与し、毒性やサイトカイン産生能を調べたが、直径の異なるNT間に差異は認められなかった。従って、炎症惹起性や発がん性について、中皮細胞傷害性が強く関与している事が示唆された。直径が小さく、かつ凝集塊をつくるようなNTは細胞に入らず、発がん性も最も低かったことから、中皮細胞傷害には直径が小さい事と剛性・直線性が高いことが重要であることと考えられた。

以上の研究は多層カーボンナノチューブの毒性機構と発がん機構の解明に貢献し安全なナノマテリアルの開発に寄与するところが多い。
 したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。
 なお、本学位授与申請者は、平成24年1月6日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降