

平成 24 年度厚生労働省委託事業

平成 24 年度次世代医療機器評価指標作成事業

ナノ材料を応用した医療機器
審査 WG 報告書

平成 25 年 3 月

座長 石原 一彦

東京大学大学院工学系研究科 マテリアル工学専攻

バイオエンジニアリング専攻 教授

目 次

I. 次世代医療機器評価指標作成事業ナノ材料を応用した医療機器審査 WG 委員名簿	1
II. 平成 24 年度 WG 会議議事概要	3
III. ナノマテリアルを利用した医療機器について	15
ナノマテリアルで発現する性質・特徴	
ナノマテリアルを含む医療機器	
いくつかのナノマテリアルに関する実例について	
ナノマテリアルの生物学的影響評価	
現在の評価システムのナノマテリアルを含む医療機器への適用の妥当性	
ナノマテリアルを含有する医療機器に関する注意事項	
結語	
ナノマテリアルを応用した医療機器に関連した最新研究調査	
IV. 本 WG による Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR)からの Request for a scientific opinion: Health effects of nanomaterials used in Medical Devices に対する本 WG の回答	67
V. 調査事項	69
1. ナノマテリアルの定義およびリスク評価の考え方について	伊佐間和郎
2. HAp ナノ微粒子の毒性評価報告例（特殊な方法によるもの）	宇尾 基弘
3. 無機系ナノマテリアルの安全性評価法に関する調査	山岡 哲二
4. 金属材料におけるナノ材料とそれに対する評価法	塙 隆夫
5. ナノ粒子の毒性評価について	青柳 隆夫
6. 高分子ナノ材料の安全性評価について	岸田 晶夫

ナノ材料を応用した医療機器 審査 WG 委員等名簿（敬称略）

座長

石原 一彦 東京大学大学院工学系研究科 マテリアル工学専攻
バイオエンジニアリング専攻 教授

委員（五十音順）

青柳 隆夫 独立行政法人 物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点(MANA) ナノライフ分野コーディネーター/PI（主任研究者）
生体機能材料ユニット長

伊佐間和郎 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長

宇尾 基弘 東京医科歯科大学 医歯学総合研究所 先端材料評価学分野 教授

岸田 晶夫 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 生体機能修復研究部門
物質医工学分野 教授

埜 隆夫 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 金属生体材料学分野 教授

山岡 哲二 国立循環器病研究センター研究所 生体医工学部 部長

厚生労働省

浅沼 一成 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室長

東 健太郎 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室 新医療材料専門官

津田 亮 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室 主査

国立医薬品食品衛生研究所（事務局）

松岡 厚子 医療機器部 部長

宮島 敦子 医療機器部 室長

加藤 玲子 医療機器部 主任研究官

次世代医療機器評価指標作成事業
ナノ材料を応用した医療機器審査 WG
平成 24 年度第一回委員会 議事概要

1. 開催日時： 2012 年 10 月 29 日（月） 14 時～16 時
 2. 開催場所： 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 3 階 第一会議室
 3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）
委員：石原 一彦（東京大学）、青柳 隆夫（物質・材料研究機構）、伊佐間 和
郎（国立医薬品食品衛生研究所）、宇尾 基弘（東京医科歯科大学）、岸田
晶夫（東京医科歯科大学）、塙 隆夫（東京医科歯科大学）、山岡 哲二（国
立循環器病研究センター研究所）
厚生労働省：金川 幸紀
事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：松岡 厚子、宮島 敦子、加藤 玲子
 4. 配布資料
 1. 平成 24 年度第一回委員会議事次第
 2. 委員名簿
 3. 次世代事業説明用資料
 4. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) :
Request for a scientific opinion: Health effects of nanomaterials used in Medical
Devices
 - 5-1. Ostim®の事前配布資料
 - 5-2. 宇尾委員からのレポート
 - 5-3. 山岡委員からのレポート
 - 6-1. AuroLase® therapy/ AuroShell®の事前配布資料
 - 6-2. 青柳委員からのレポート
 - 6-3. 岸田委員からのレポート
 - 7-1. Sandvik Bioline 1RK91 の事前配布資料
 - 7-2. 伊佐間委員からのレポート
 - 7-3. 塙委員からのレポート
 8. 利益相反関連書類（委員のみ配布）
- 参考資料： Nanomaterials in medical devices

5. 議事内容

(1) 開会の挨拶（座長）および委員紹介

(2) 次世代事業の説明・および活動の方向性について（事務局・松岡）

次世代医療機器評価指標作成事業について説明。本年度は4つの事業を進めている。本審査WGにおいては、ナノ材料を応用した医療機器についてご討議いただく。海外で既にナノ材料を応用した医療機器があり、海外からの申請を視野に入れ、ナノ材料に関して、ナノ材料が含まれていることで、現存の新規材料の安全性評価だけではなく、特別な配慮が必要であるかどうかについて、ご討議いただきたい。また、評価指標作成の必要性についても、本審査WGでの検討課題としていただき、要、不要の根拠となる事例について調査を行い、報告書としてまとめる。

(3) 海外製品の現状調査報告および討議

事前配布資料の分担に従って、各委員より調査内容について報告がなされ、ナノ材料に関して討議を進めた。

宇尾委員・山岡委員：Ostim®

骨欠損部充填用の水酸アパタイトナノ微粒子。生体分解が早く、骨形成速度が増すと考えられる。ナノサイズであることが特徴的な機能を果たす第一条件とは言えない。生体影響への懸念無し。

青柳委員・岸田委員：AuroLase® therapy/ AuroShell®

ナノ粒子を用いたがん治療法。シリカナノ粒子の表面に金を析出成長させ、ポリエチレングリコールで被覆したナノシェル構造を有する。ナノサイズは機能を果たす第一条件。生体影響への懸念有り。

伊佐間委員・埴委員：Sandvik Bioline 1RK91

縫合針用ステンレス鋼ワイヤー。時効処理後にナノサイズの結晶相が現れることで、高延性と高強度を示す。外形的にはナノサイズではなく、ナノ材料ではない。生体影響への懸念無し。

討議された論点

- ・ ナノ材料の定義について

ナノ材料を応用した医療機器として、ナノキャリアは含めない。

- ・ ナノ材料を応用した医療機器として想定される形状について

原料はナノサイズであるが、最終製品中ではナノサイズではなくなっている場合。

別の何かと複合化されている場合（ナノサイズではなくなっている場合や、複合化された中でナノ構造を維持している場合を含む）。

また既存の材料であるが、分解によってナノ粒子の出現が予測される場合や、ナノオーダーの摩耗粉が出現する場合、ナノ材料を応用した医療機器の範疇に入るか否か。

- ・ 医療機器として、何か問題が起こった時に追跡できるシステムが必要である。これはナノ材料に限らず、すべての材料について必要なプロセス。
- ・ ナノ材料が医療機器に使われて最近話題になっている研究事例についてカーボンナノチューブを埋入した人工関節の例。
- ・ ナノ材料に危険性があるのであれば、医療機器に関する通常の安全性評価法において引っかかってくるはずである。（例カーボンナノチューブ、フラーレンが、カーボンブラックと異なる毒性を示す例有りだが、試験法は通常の方法。）膨大な情報データベースから、ナノのオーダーで何か起こる可能性のある危険性をピックアップする必要がある。

今後の調査について

- ・ ナノ材料として特徴づけされた際に、それに対する評価法が正当かどうかについて調査する。

アパタイト、金属、ポリマー粒子に関して、各委員の専門の分野について、通常の安全性試験以外の特別な評価方法（例えば遺伝子発現レベルの評価）で、影響が観察されているような事例があるかを、データベース検索を行い、次回発表する。

- ・ この WG で討議した結果を踏まえ、資料 4 の SCENIHR: Request for a scientific opinion: Health effects of nanomaterials used in Medical Devices に、この委員会として回答を作成する。

資料 4 の参考文献の中で、SCENIHR の発出している、ナノテクノロジー、ナノマテリアルのリスクアセスメントに関する 3 つの文書については、事務局が集めて委員の先生方に送付する。

(4) 今後の会議日程について

ナノ材料を応用した医療機器審査 WG 平成 24 年度第二回委員会

日時：平成 24 年 12 月 21 日（金）17 時～19 時

場所：東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 3 階 第一会議室

第三回（予定）：平成 25 年 1 月 21 日（月）14 時～16 時

第四回（予定）：平成 25 年 2 月 28 日（木）14 時～16 時

次世代医療機器評価指標作成事業
ナノ材料を応用した医療機器審査 WG
平成 24 年度第二回委員会 議事概要

1. 開催日時： 2012 年 12 月 21 日（金） 17 時～19 時
2. 開催場所： 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 3 階 第一会議室
3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）
委員：石原 一彦（東京大学）、青柳 隆夫（物質・材料研究機構）、伊佐間 和
郎（国立医薬品食品衛生研究所）、宇尾 基弘（東京医科歯科大学）、岸田
晶夫（東京医科歯科大学）、塙 隆夫（東京医科歯科大学）、山岡 哲二（国
立循環器病研究センター研究所）
厚生労働省：浅沼 一成、東 健太郎、津田 亮
事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：松岡 厚子、宮島 敦子、加藤 玲子
4. 配布資料
 1. 平成 24 年度第二回委員会議事次第
 2. 平成 24 年度第一回委員会議事概要（案）
 3. Report on Nanotechnology To The Medical Devices Expert Group Findings and Recommendations, (27.7.2007) : Working Group on New and Emerging Technologies in Medical Devices (N&ET WORKING GROUP)
 4. Proposal for a REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on medical devices, and amending Directive 2001/83/EC, Regulation (EC) No 178/2002 and Regulation (EC) No 1223/2009, (26.9.2012) : EUROPEAN COMMISSION より抜粋
 5. Biological Assessment of Medical Devices Containing Nanomaterials - Scientific Report, (18.8.2011) : Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé).
 6. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) : Request for a scientific opinion: Health effects of nanomaterials used in Medical Devices
 7. Hap ナノ微粒子の毒性評価報告例（特殊な方法によるもの） 宇尾委員
 8. N. Ciftcioglu et al., Are apatite nanoparticles safe? Lancet, 369, 2078, 2007
 9. R. Meena et al., Effect of hydroxyapatite nano particles on proliferation and apoptosis of human breast cancer cells (MCF-7). J. Nanopart. Res. 14, 712-722, 2012

10. M. Razavi et al., Microstructure, mechanical properties and bio-corrosion evaluation of biodegradable AZ91-FA nanocomposites for biomedical applications. Materials Science and Engineering A, 6983-6944, 2010 (埧委員)

5. 議事内容

(1) 開会の挨拶（松岡）及び本省担当者紹介、配布資料確認

(2) アパタイト・金属・ポリマー粒子などのナノ材料に関して、通常の安全性試験以外の特別な評価方法で、ナノサイズであることの影響が観察されているような事例があるかについて、各委員からの報告と議論を行った。

<アパタイト、セラミックス>（宇尾委員、山岡委員）

○ナノ粒子特有の付加的な試験をしなければいけないというようには、参考にしたどの論文からも読み取れない。一般的な試験で十分評価できるのではないと思われる。

○バルク材料からナノサイズの物質が出てくる場合が対象事例と考えられるが、その物質がその場に留まるのであれば、従来型の炎症などの評価法で十分である。

○ナノオーダーサイズのみ認められる生物学的応答の報告がなされた場合、レギュレーションの必要はあると考えられるが、そのような具体的現象が認められていない現状においては、有効な評価システムの導入は不可能ではないと思われる。

○セラミックス製の医療機器から数ナノオーダーでの粒子が生じることはほとんどないと考えられる。（サイズが小さくなると溶解性も上がり、すみやかに溶けてしまう？）

○セラミックス製の医療機器を申請する際は、対摩耗性や機械的強度を示すことになるので、それをもって十分に担保されるのではないと思われる。

<金属>（埧委員、伊佐間委員）

○マグネシウム合金に限って言えば、部分的に腐食していきながら、小さい粒子が剥がれる。剥がれた粒子も腐食されて小さくなっていくので、どのサイズが血流に運ばれるかが問題になると思われるが、そういったネガティブな研究はやられていない。ただし、最近、マグネシウム合金をステントに応用しようという研究はされなくなっている。

○鉄の微粒子である SPY はすでに臨床で使用されており、マクロファージに取り込まれることも分かっている。インターロイキンの産生をみて、健康に影響がないとの結論が出されている。論文も多数あり。

○金属を用いた医療機器においては、摩耗や腐食に関する評価項目が入っているはずなので、摩耗や腐食によりナノ粒子が生じ、そのナノ粒子による影響は、その評価により拭われると思われる。

＜ポリマー、有機材料＞（青柳委員、岸田委員）

○一般的な材料の細胞毒性評価には、細胞生存率、ROS (reactive oxygen species)や炎症系のサイトカイン(TNF- α , IL-1, IL-6)の産生量、Ames test, Comet Assay といった評価法が用いられるが、ナノ材料においても前述の評価法を用いて評価してあることがほとんどであり、ナノ材料特有の評価法は確立されていない。

○ナノ粒子が細胞に取り込まれるのは事実なので、これまでの評価方法を有効に利用することで評価することは必要と思われる。

(3) 2012 年 9 月に公表された MDD 改正案について、厚生労働省・東氏より説明があった。

○2007 年に出されたヨーロッパの既製文書では、ナノスケールの物質を含むようなものについて、医療機器クラスの中でも特別なクラスに上げる（クラス III）という考え方とか、生物学的安全性評価に関連した基準を作っていくべきだとか、市販後のリスク評価についての報告システムが必要ではないかという提案がなされていた。

○改訂案の中ではナノ物質を含むようなもので、人体に放出されるものについて、特別な評価プロセスが必要ではないかということ等々が記載されている。

○今回の改正にあたりその条文に、ナノ材料の定義を設けるべきという案がある。（例えばサイズが 1-100 nm とか）これは ISO とか、カナダとか、いろいろな国でナノ物質の定義を作られているのと、比較的似通ったような内容なのではないかと思われる。

○現在のところ日本では対象製品がある訳ではないので、どのように考えて行けばよいか悩みどころである。

(4) Biological Assessment of Medical Devices Containing Nanomaterials - Scientific Report について岸田委員より説明があった。

○リスクマネージメントのやり方が記載されており、レギュレーションを考える場合参考になるとと思われる。

第三回委員会では、上記 Scientific Report のそれぞれ関係のある部分について、記載内容についてのまとめと、その内容に対して賛成できるかどうかを議論することになった。

そのために、まず本委員会としての、ナノ材料の定義を明らかにする必要がある。また、ナノ材料自体が医療機器として利用される場合及び、ナノマテリアルを含有する医療機器の評価に対する基本的な見解を座長がまとめて事務局に送付し、年内にメールにて委員に配布する。

その後、Report の担当部分を決定し、レポートを第三回委員会までに事務局へ提出

することとした。

(5) 報告書は、これまで調査した結果、本 WG からのナノ材料を応用した医療機器の安全性評価についての提案及び SCENIHR への回答などを掲載することとし、承認を得た。

6. 今後の会議日程について

ナノ材料を応用した医療機器審査 WG 平成 24 年度第三回委員会

日時：平成 25 年 2 月 28 日（木）17 時 ～ 19 時

場所：東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 3 階 第一会議室

次世代医療機器評価指標作成事業
ナノ材料を応用した医療機器審査 WG
平成 24 年度第三回委員会 議事概要

1. 開催日時： 2013 年 2 月 28 日（木） 17 時～19 時
2. 開催場所： 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 3 階 第一会議室
3. 出席者（座長以下五十音順・敬称略）
委員：石原 一彦（東京大学）、伊佐間 和郎（国立医薬品食品衛生研究所）、宇
尾 基弘（東京医科歯科大学）、岸田 晶夫（東京医科歯科大学）、塙 隆
夫（東京医科歯科大学）、山岡 哲二（国立循環器病研究センター研究所）
厚生労働省：浅沼 一成、東 健太郎、津田 亮
産業技術研究所：本間 一弘
事務局（国立医薬品食品衛生研究所）：松岡 厚子、宮島 敦子、加藤 玲子
4. 配布資料
 1. 平成 24 年度第三回委員会議事次第
 2. 平成 24 年度第二回委員会議事概要（案）
 3. ナノマテリアルを利用した医療デバイスについて（本 WG における定義）
 4. Biological Assessment of Medical Devices Containing Nanomaterials - Scientific Report, (18.8.2011) : Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé).
 5. 分担表
 6. 各委員からのレポート
 - 6-1: 山岡委員
 - 6-2: 岸田委員
 - 6-3: 塙委員
 - 6-4: 宇尾委員
 - 6-5: 青柳委員
 - 6-6: 伊佐間委員
 7. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) : Request for a scientific opinion: Health effects of nanomaterials used in Medical Devices
 8. 当日配布資料：H25 年 3 月 4 日開催次世代事業合同検討会（経済産業省・厚生労働省）資料

5. 議事内容

(1) 配布資料確認

配布資料 8 に関して、事務局より、H25 年 3 月 4 日に、次世代事業合同検討会が開催され、配布資料の内容で本審査 WG の活動について紹介を行う旨が、説明された。

(2) 座長よりナノマテリアルを利用した医療デバイスについて（本 WG における定義）の説明がなされた。

○医療デバイスには、薬物運搬体やイメージング剤などの分散系で使用することを前提としている一部をのぞき、ナノマテリアルをそのまま利用することはなく、従来のマテリアルと併用しバルク材として利用されることが一般的である。このようなナノマテリアルを含有する医療デバイスに対して以下の点を考慮することとした。まず、ナノマテリアルのサイズ範囲について本 WG では「2 次元以上が 1~100 nm の物質とする」ことが妥当であるとした。この定義に入るナノマテリアル自体を医療デバイスとして利用し、医療機能性を発現させる場合には、ナノマテリアルに細胞侵入性や免疫原性、感作性などが無いことを担保することが求められるが、ナノマテリアルを含有していても、従来のマテリアルの評価で対応できる場合もあり、その例を 7 つ列挙することとした。

(3) Biological Assessment of Medical Devices Containing Nanomaterials - Scientific Report を基にしたレポートについて各委員が発表し、討議を行った。

I. 医療機器に使用されるナノマテリアルに関連する状況

(I.A., I.B. : 岸田委員, I.C. : 埴委員)

I.A.には用語（ナノスケール、ナノテクノロジー、ナノマテリアル、ナノ構造物質、ナノオブジェクト）について記載されている。

I.B.にはナノスケール固有の機能（主要な表面効果、凝塊および凝集、熱力学特性に及ぼすサイズの影響、機械的特性に及ぼすサイズの影響、量子効果、結晶構造の影響、ナノスケールと生物学的スケール）について記載してある。

I.C.ではナノマテリアルが含まれている医療機器について列挙しており、その対象物について本 WG の定義と該当するか否か分類した結果、ナノマテリアル自身がそのまま使用されるもの（温熱療法に用いられるナノ粒子など）以外は、該当しないと判断できると結論付けた。

II. ナノマテリアルの生物学的影響評価

(II.A. : 宇尾委員・山岡委員, II.B. : 青柳委員)

II.A.ではナノマテリアルの毒性に関連する最新情報について記載してあるが、その大半の文献が毒性ありという報告であるため、一見するとナノマテリアルは毒性が

あり危ないという印象を与えかねない章になっている。しかしながら、逆の報告もあり、よく分かっていないというのが現状である。さらに *in vitro* でも *in vivo* でも現状ではあり得ない高濃度で試験していたり、試験方法にも問題があったりする場合もある。また、本文にも「文献でも強く意識されているように、ここに示す内容が医療機器の実際の安全性に必ずしもつながるものではないことが前提である。」と明記されていることから、ナノを含んでいるから危ないというイメージ先行の考え方に陥らないように気をつける必要がある。

II.B.ではナノマテリアルの毒性評価に関する最新情報について、カーボンナノチューブ、銀のナノパーティクル、医療機器の摩耗片、断片の影響が例に示されている。これまで言われてきているように、ナノマテリアルの毒性評価に関してはサイズ、形状、分散性、分子／イオンを明確にし、評価を丁寧に繰り返し、データを集積することが極めて大事である。また、時間経過も重要なファクターであると考えられる。

III. 現在の評価システムのナノマテリアルを含む医療デバイスへの適用の妥当性

(III.A.: 岸田委員, III.B.: 伊佐間委員・岸田委員, III.C.: 岸田委員)

III.A.では医療機器に関連する現在の規制のレビューがまとめられている。その主なものは以下のとおりである。能動型植込み型医療機器 (AIMD) に関連する Directive 90/385/EC と医療機器に関連する Directive 93/42/E (最近改訂され、Directive 2007/47/EC22b) に統合) と生体外診断機器に関連する Directive 98/79/EC である。これらの指令は、医療機器メーカーがリスク管理に責任があるという前提に基づいている。

III.B.ではナノマテリアルを含有する医療機器に関する注意事項についての項で、様々な材料のキャラクタリゼーションや毒性試験を行うにあたって、生じる問題が紹介されており、どういったことに注意が必要か書かれている。例えば細胞毒性試験をする場合、使用する試薬の吸着とか、吸着した試薬が細胞内に取り込まれるときに、ナノ粒子があるとナノ粒子に試薬が吸着し、その取込みが妨害される、あるいは促進されることがあるため、ナノ材料特有なことが起きないか事前に調べた上で、細胞毒性試験をやるようにというようなことが記載されている。

III.C.ではベネフィットとリスク分析をする際における意思決定を支援するフローチャートを示してある。これはナノマテリアルを使った医療機器だから特別な評価法をやらなければならないというのではなく、あくまでもナノマテリアルを含んだ医療材料になるか否かの判断をする際、利用できると思われる。

以上の報告を本 WG の今年度の報告書へ掲載するにあたり、宇尾委員作成資料の形

式に書きぶりを統一することにし、3/11 までに石原座長へ提出して頂き、それを基として石原座長に 3/15 までに取りまとめ頂くことになった。

(4)第一回から第三回までの討議において、本 WG ではナノ材料を含んだ医療機器に対して、特別に従来の製品とは異なる評価を実施する必要があるか否かについても検討を行ってきたが、現段階においては、ナノ材料に特化した評価指標を作成する必要はないと結論付けられた。

(5) SCENIHR へは、日本の一グループの考え方として、ナノマテリアルを含んだ医療機器についての考え方を石原座長にまとめて頂き、回答とすることとなった。(厚生労働省にて内容を確認して頂く。)

(6) 報告書には、これまで調査した結果、本 WG からのナノ材料を応用した医療機器の安全性評価についての提案、学会等からの情報収集及び SCENIHR への回答などを掲載することにした。なお、Afssaps の Biological Assessment of Medical Devices Containing Nanomaterials - Scientific Report はリンク先を掲載するに留めることにした。

ナノマテリアルを利用した医療機器について

近年、ナノテクノロジーが注目され様々な分野において機器の高機能化、高性能化に期待がもたれている。特に、半導体や光通信関連においては、対象となる電子、光子のサイズからしてナノテクノロジーを利用することの有効性が示唆されている。ナノテクノロジーは、マテリアルの開発に対しても適用されてきており、いわゆるナノマテリアルが製造されるようになってきた。代表例は、カーボンナノチューブ、フラーレンあるいはグラフェンのようなカーボン系マテリアルで、多原子間結合により様々な構造を取ることが確認され、その機能にも注目が集まっている。一方、ナノポーラスシリカやシリカナノ粒子、金属ナノコロイドなどもその特徴ある構造から、従来にない新しいマテリアル機能が期待されている。

一方で、新しい技術によって生み出される、あるいは新しい技術に応用される化学物質に対する安全面での懸念は強くもたれており、過剰な意識のもとに危険性を危惧している場合も多い。これは対象となる化学物質に対する情報の不足から導出される自明の理であると判断される。したがって、新しい化学物質に関連した情報を取捨選択できる明確な判断基準が不可欠であることは間違いない。特に医療においては直接生命に関わる場合もあり、またその影響の及ぶ範囲が大きいことも考慮することが大切である。新技術、新材料の発展が、我が国の社会、経済、医療にとって大きな福音をもたらすことは事実であり、明確な判断のもと、これらを排除する必要がないと判断できるようならば、そのポテンシャルを最大限に生かす技術開発、機器開発に関して抵抗となるようなことは避けるべきである。

医療機器に新機能を付与し、従来品との差別化、新規化を求める場合には、これらの新マテリアル系を利用する、従来のマテリアルの一部に添加するということは容易に考えることである。すなわち、このような方法・手法で新規性を主張するならば、ナノマテリアルによる機能発現を新たに付加できたのか？医療機器の性能・機能にナノマテリアル自身がどのような役割を本質的に果たしているのか？ナノマテリアルを利用することの必然性はどこにあるのか？などの疑問に対する明快な回答を求めることは、医療機器の安全性を審査するための第一歩となる。ここでは、このようなナノマテリアルを適用した医療機器に対して、その安全性、医療機能性を判断するにあたり、極めて曖昧に利用されているナノマテリアルを規定することが不可欠である。これに関連して、ナノマテリアルの安全に関する検討は既になされており（平成21年3月：厚生労働省医薬食品局：ナノマテリアルの安全対策に関する検討会報告書*）、判断の方向性は見いだされている。これによると、「現時点では、ナノマテリアルに特化した規制を導入するための根拠となる科学的な事実は認められないために、現存制度の下で対応することが当面は妥当」とされている。これを踏まえて、ナノマテリアルを利用した医療機器の安全性・医療機能性に関して、その評価指針を確立すべく本ワーキンググループでは検討

を行った。

医療機器には、薬物運搬体やイメージング剤などの分散系で使用することを前提としている一部をのぞき、ある程度の大きさを持つことが想定される。使用されるマテリアルもバルク材であり、使用環境・期間を考慮して優れた機械的特性、耐久性および表面機能性などが基本特性として求められる。したがって、ナノマテリアルをそのまま利用することはない。その意味においては、ナノマテリアルを適用しようとする際には、従来のマテリアルと併用しバルク材とする、すなわち、添加剤、充填材、表面機能化材などとして利用されることが一般的である。このようなナノマテリアル複合化バルク材の場合には、溶出や剥離、解離などナノマテリアルが脱落しないことをもって、安全性の担保は従来の評価基準で判断できる。一方において、生分解性マテリアルと複合化するような場合に対しては、ナノマテリアル自体の安全性に関して注意する必要がある。そこで、ナノマテリアルを含有するバルク材を利用して製造された医療機器に対しては、以下の点を考慮する必要がある。

対象となるナノマテリアルのサイズ範囲に関しては様々な定義がなされており、確立されているものではない。一般的には 100 nm 以下のマテリアルが対象とされてきているが、本ワーキンググループでは、医療機器を前提としており、マテリアルの観点から単純な原子、分子などを考慮対象から除外するために、ナノマテリアルの定義として、「素材に関わらず、「幅、厚み（直径）、長さなどの 3 次元のうち、2 次元以上が 1～100 nm の物質とする」ことが妥当であるとした。

この定義に入るナノマテリアル自体を医療機器として利用し、医療機能性を発現させる場合には、ナノマテリアルに細胞侵襲性や免疫原性、感作性などが無いことを担保することが求められる。一方において、ナノマテリアルを含有する複合バルク剤（それ自体はナノマテリアルの定義に該当しない）についても、ナノマテリアル自体と同様の注意が必要となる場合があるがその範囲は狭く、多くは、以下 1～7）に該当し、従来のマテリアルの評価で対応できる。

- 1) 体内環境において、加水分解などを受けて、より小さな分子・原子、イオンのレベルになり、これらの安全性が担保されている場合。
- 2) コーティング膜や表面処理材のように基材となる従来のマテリアルに強固に結合しており、基材と一体として機能することを念頭に置いて製造されている場合。ただし、摩耗による付着物の遊離が起こる場合にはこの限りではない。
- 3) 多孔体シリカやアルミナなどのように、ナノサイズの物質を原料とし、これを一体成形加工の後にバルク材として使用する場合。
- 4) コンポジットレジンのようにフィラーとして液状マテリアルに添加され、これが最終的に固化することで容易に脱落や溶出しないことが前提となっている場合。このフィラーが溶融・破碎、噴霧、沈殿など従来の方法で製造されている場合。
- 5) 有機系ナノマテリアル（ポリマーセグメント、オリゴマーなど）を原料としているが、

その重合などによりポリマー化により高分子量体としているような場合。

6) 体外で使用する医療機器で、遊離物などが上記ナノメートルサイズであるが、体内に吸引、摂取されない場合。

7) 表面にナノメートルサイズの凹凸をつけたバルク材で、凹凸表面の機械的特性の評価において破壊、脱離、解離などが無い場合。

*ナノマテリアルの安全対策に関する検討会報告書：平成21年3月31日 医薬食品
局審査管理課 化学物質安全対策室

<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2009/03/h0331-17.html>

ナノマテリアルで発現する性質・特徴

ギリシャ語の小人を表す接頭辞「ナノ」は、10 億分の 1 を指す。したがって、ナノメートルは、1 メートルの 10 億分の 1 (10^{-9} m または nm) の意味である。1959 年頃に物理学者のリチャード・ファインマンは、プレゼンテーションにおいて、ナノテクノロジーの概念を導入した。そのときの講演タイトルは、「原子レベルには発展の余地がある (There's Plenty of Room at the Bottom)」であり、分子や原子を巨視的対象として取り扱うことを想定したものであった。ナノテクノロジーは 1980 年代に離陸した。その背景には 2 つの顕微鏡の発明があった。それらは材料を原子または準原子レベルのスケールで観察することを可能にした。一つは 1981 年に登場した走査型トンネル顕微鏡 (STM) ともう一つはその 2 年後に登場した原子間力顕微鏡 (AFM) である。その数年前、研究者が より良い性能をもった 新しい多機能 材料を作成するために、ナノメートルスケールでの物理化学的性質の変化を使用し始めていた。いくつかのナノマテリアルは、古代以来、その特性が応用されてきたが、フラレーンと電子部品の小型化に伴い、製造されたナノマテリアルの化学的性質の面で多様化していることに関連して工業製品が多様化したのは 21 世紀初頭であった。

エネルギー、自動車や建設業、衣類、化粧品、食品などのナノテクノロジーに関わる分野の中で、健康分野は、ナノマテリアルとこの特定の分野に革命をもたらすナノメートルデバイスに対する期待をかけている。ナノメディシンは、細胞を修復したり、治療したりするための複雑なシステムを有するナノシステムを使用して、病気の予防、診断、治療の面で根本的な変化を約束する。ナノテクノロジーの応用は手術、診断、がん治療、分子イメージング、医療機器及び組織工学において開発されている。ナノテク研究の成果である種々の医療機器は現在開発中であり、数は少ないがいくつかがすでに市場に投入されている。

1. 用語

ナノメートルスケールで使用される技術や材料を記述するために使用される用語の正確な定義は、科学、産業、法的レベルでまだ検討中である。普遍的に受け入れられている定義は、1~100 nm の間に少なくとも 1 つの次元を持ち、この小さなスケールに特有の新しい物理的、化学的および生物学的特性の概念を持つナノメートルスケールの材料を指す。この文章が作成された時点で、専門用語に関しては明確な国際的なコンセンサスがまだ存在しなかったため、ここでは国際標準化機構 (ISO) で提供された定義を使用する¹⁾。この文章で使用される様々な用語の意味は、この文書の理解を確実にするために、以下のように表現する。

1-1. ナノスケール (Nanoscale)

ISO の定義によれば、ナノスケールはおおよそ 1~100 nm の 範囲を示す。留意すべ

き点は、境界はおおよそであって、1~100 nm に限られるものではない。下限は単一原子や原子団をナノオブジェクト(後述)やナノ構造体の要素から除くために導入された。同様に、100 nm のスケールを超えても、その特性が同じオブジェクトから外挿されたものと大きく異なっている場合も、いくつかのオブジェクトは、ナノオブジェクトとみなされる。

1-2. ナノテクノロジー (Nanotechnology)

ナノテクノロジーは、個々の原子、分子またはバルク材料に関連付けられているものとは異なる大きさと構造依存特性や現象を利用するためのナノスケールでの操作および制御を指す。用語の「操作と制御」とは、材料の合成を含む。ナノテクノロジーは、したがって、材料がナノスケールで構造化できるようにするプロセスを使用した構造、装置及びシステムの製造を含む。

1-3. ナノマテリアル (Nanomaterial)

ナノマテリアルは、ナノテクノロジーにおいて重要な役割を果たしている。ナノマテリアルは、ナノスケールで1つ、2つまたは3つの次元を有する材料(ナノオブジェクト: nano-object)、またはナノスケールの内部構造や表面構造を有し(nanostructured materials)、そしてこの小さなスケールに特異的な1つまたは複数の新しい物理的、化学的および生物学的特性を有する材料である。この包括的な用語はナノオブジェクトおよびナノ構造材料を含んでいる。

それらの製造物から、自然ナノマテリアルと偶発ナノマテリアルを区別することは有用である。**製造されたナノマテリアル (manufactured nanomaterials)** は、特定の特性または特定の組成を有するように、工業的あるいは研究目的で人間によって計画的に生産されている。反対に、**天然ナノマテリアル (natural nanomaterials)** は、宇宙、火山、森林火災、粘土や動物の骨の分解でできた無機物のナノ粒子あるいはナノスケールの凝集体である。人類起源の**偶発的ナノマテリアル (incidental nanomaterials)** は、自動車、焼却灰、工場排煙他から放出される大気中ナノ粒子または超微細粒子を指す。それらは揮発性有機汚染物質の副産物として、大気中で形成され得る。

自由ナノマテリアル (free nanomaterials) は、使用者の臓器、組織または細胞中に放出されることがないようにカプセル化または結合されていないナノマテリアルを指す。

ナノ強化材料 (nano-reinforced materials) は、新しい機能を導入したり物理的および機械的特性を変化させたりするために、マトリクス中にナノオブジェクトを含んでいる。ナノ複合材料は、例えば機械的に補強する応用例において、摩耗への耐性を高めるために使用される典型的な例である。

1-4. ナノ構造物質 (Nanostructured material)

ナノ構造材料は、ナノスケールの表面もしくは内部構造を有する材料であり、この小さなスケールに特有の1つまたは複数の新しい物理的、化学的、生物学的特性を持つ物

質を指す。ナノメートルの細孔のある表面を有する材料は、ナノ構造物質の典型的な例である。

切断、リソグラフィ、ナノ粒子の包含あるいはナノスケールでコーティングすることによって材料表面をナノ構造化することができる。これらのコーティングは、一般に物理的または化学蒸着（プラズマ、電気化学やレーザーアブレーションなど）することによって得られる。

1－5．ナノオブジェクト（Nano-object）

ナノオブジェクトは、ナノスケールで1つ、2つまたは3つの外形寸法を有する材料である。ナノオブジェクトの形態はさまざまである。

ナノ粒子（nanoparticle）は、ナノスケールで3つの外形寸法を有するナノオブジェクトである。ナノ粒子は、すべて球状というわけではなく、ロッド状、バネ構造などの形状を有していることもある。

2つのナノスケールの外形寸法とより大きな第3の外形寸法をもつナノオブジェクトは、**ナノファイバー（nanofibers）**、**ナノチューブ（nanotube）**、**ナノフィラメント（nanofilament）** または **ナノロッド（nanorods）** を含む。

ひとつのナノスケールの外形寸法と2つのより大きな外形寸法をもつ典型的なナノオブジェクトは、**ナノフィルム（nanofilms）**、**ナノ層（nanolayers）** または **ナノコーティング（nanocoating）** である。

2．ナノスケール固有の機能

材料の特性は、その構造と化学組成に依存している。しかし、ナノスケールへの切り替えは、鍵となる物理化学的特性の変化を誘発する。特定のサイズよりも小さな寸法では、物理化学的特性の一つ以上を変更することが可能である：融点、磁氣的・電氣的・光学的特性等である。

2－1．主要な表面効果

表面/体積比の増加は、小型化の直接的な結果である。小さなオブジェクトほど、同じ質量で比較して大きな面積をもつ²⁾。10グラムの銀の粒子は約 5 cm^2 の外部表面積を有する。一方、おなじ重量の直径10 nmのナノ粒子は合計で約 600 m^2 、すなわち表面積は 10^6 倍に増加する。鉄の微結晶（1 μm ）は、構成原子の1%以下しか表面に現れないのに対し、ナノ結晶（1 nm）は、その表面上に90%以上の原子を有している³⁾。このように、ナノオブジェクトの比表面積（単位重量当たりの外表面積）は、非常に大きいことがわかる。

ナノマテリアルは、しばしば中心部分で整列化していて不定形の表面のように乱れた構造をとるような結晶化によって特徴付けられる。ナノオブジェクトの表面の原子の大部分を考えると、結晶ネットワークは、異常配列や原子の再配列につながるような強い

束縛を受けることがある。このような形態は、特に吸着、吸収、および外部の化学種の結合のような外部表面に現れる現象を変える。ナノ粒子のこのような特定の化学反応性は、広く化学触媒作用および生物学的な応用に用いられている。

2-2. 凝塊および凝集

ナノオブジェクトの表面での熱力学的不安定性は、表面を高反応性にする。増加した表面エネルギーとナノ粒子に特有の高い分散率は、多くの場合、これらの材料にしばしば観察される凝塊と凝集に寄与する⁴⁾。このような挙動は、コロイドの領域で研究されてきた。

凝集はお互いに隣接している粒子と弱い力（ファンデルワールス力、静電気や表面張力）によって結合した粒子の会合体である。凝集の形態は、ナノマテリアルの特性ではなく、懸濁液又はエアゾールにおける分散と凝集の効果の間のダイナミックなバランスの一時的な状態の結果である。

凝塊は、様々なナノ粒子が強い結合（共有型）によって結合されている不均一なナノ粒子である。それは、いくつかの主要なナノ粒子の融合が原因である可能性があり、凝塊特性は、凝塊体の最終的な形態（コンパクト、寸法等）や周辺環境（呼吸器系や細胞の浸透など）との相互作用を決定する。これらの情報の全ては、ナノマテリアルを含む医療機器の生物学的評価において決定的であるということが証明されるかもしれない⁵⁾。

2-3. 熱力学的特性に及ぼすサイズの影響

サイズの減少が臨界核のサイズを下回った場合、結晶が不安定になる。これは、結晶構造の変化もしくは体積の増加の引き金になる⁶⁾。表面/体積比の増加は、球体の内部に向かって圧力を発生させ、融点の低下、潜熱の減少と相共存領域の拡張などの材料の熱力学的性質の変化を誘発する。固液相転移温度の低下がサイズ低下とともに観察することができる⁷⁾。例えば、金の融点は、10 nm のナノ粒子では約 1000°C を超えるが、2 nm のナノ粒子では 500°C である。この融点降下は、5 nm 以下の臨界直径に到達したナノ粒子に特に劇的である。しかし、マトリックスに組み込まれたナノ粒子については、融点はナノ粒子とマトリックス間の相互作用に応じて高くなったり低くなったりする。

2-4. 機械的特性に及ぼすサイズの影響

いくつかのケースでは、粒径の減少は、従来のかさばる材料と比較して同じ物理的および機械的特性を維持し、あるいは改善しながら、軽量化につながるができる⁸⁾。例えば、6 nm のナノ結晶から形成された銅は、機械的変形に対して 50 μm の微結晶より 5 倍以上の耐性がある。これは小さなサイズは、内部構造欠陥（転位、不純物など）を制限するためである⁹⁾。

歴史的には、ナノ構造材料は、何世紀にも渡って使用されているが、その開発は、主に微細な構造を検出することができる顕微鏡のおかげで、1980 年以降の転換点を迎えた。ナノ構造金属の工業用および医療用の開発は、特に銅、ニッケル、亜鉛、アルミニウム、鉄、銀、金とチタンに 焦点 を当てている。

これらの金属は、ナノ構造化によって機械的な磨耗や損傷に対する抵抗値の増加を示すが、それらはしばしば低い延性を示す（破断せずに引張応力を受けて変形する能力）。従来の材料に適用される Hall-Petch の法則によると、粒径と結晶材料を変形させるために必要な応力の量は反比例の関係がある：より小さい粒は、転移現象のおかげでより材料を変形させ（結晶構造内の微小な欠陥の伝播）、結果として強い材料を与える。しかし、いくつかのナノ結晶材料は、この関係の結果としての機械的性質を有しているか、もしくは負の Hall-Petch 効果を示すことが指摘されている。実際には、約 30 nm 以下では、粒同士の結合の体積がもはや無視できず、粒界スペースで発生した他の物理現象では、転位が支配的になる。

2－5．量子効果

ナノマテリアルの寸法が、システムの代表的な物性値（例えば：ボーア励起子半径－励起電子と正孔の距離、フェルミ波長レベルあるいは磁気交換距離）に匹敵するようになると、量子現象が現れる。物理化学的性質（電気的、光学的、磁氣的）は、バルク材料のものとは根本的に異なっている。量子現象は、1/10 nm 以下でサイズのために基本的に支配的である^{7,10)}。

金属や特に半導体として非局在電子を備えたシステムの場合、励起子の移動がとてもエネルギーバンド、量子特性を生成する離散的なエネルギー準位の賛成で消えることに閉じ込めることができる¹¹⁾。これは一般的に三次元での電子の運動が量子閉じ込めにより制限されている量子ドットのケースです。

量子特性はナノスケール内の材料の大きさに依存する。紫外線（UV）光源の下では、セレン化カドミウムの量子ドットは、その大きさに応じて色が変わる。3 nm では緑色、4 nm では黄色、5 nm では赤色である⁷⁾。これらのナノ結晶の光学特性は、医療用画像処理アプリケーションに用いられる。それらは蛍光分子と比較して多くの利点を提供する：動的イメージングのために明るく、より安定しており、励起可能な広いスペクトル、ナノ結晶のサイズに応じた蛍光発光の微調整など。

2－6．結晶構造の影響

ナノ粒子やナノコンポジットは、それを強化し、付属品としてのみ機能する材料に組み込まれているが、他の材料は興味深い固有の機械的および化学的特性を示す。フラーレンファミリーに属するカーボンナノチューブは、自然界には存在しない特性を有する：ダイヤモンドよりも硬く、鋼に比べて 100 倍以上の耐性と 6 分の 1 の軽さである。

優れた熱的および化学的安定性を備えていながら、いくつかのナノチューブは導体または半導体である。これらの管状のナノマテリアルは、通常、グラフェン型構造に配置された炭素原子から形成される。最も単純な形式は、SWCNT（単層カーボンナノチューブ）であり、約 0.4 nm の直径と最大 1 mm の長さの単一ロールアップされたシートからなる。より複雑なフォームでは、これらのナノチューブは、炭素の多同心円筒で構成され（多層カーボンナノチューブ、または MWCNT）、2 から 100 nm の直径を有する。

2-7. ナノスケールと生物学的スケール

医療への応用のための生物学的メディアと材料の相互作用を改善するために、材料をナノ構造によって生物学的システムを模倣するように作る試みが行われている。天然鉱物粒子のナノスケールは、材料に最適な堅牢性を与えるであろうと自然の欠損にはより容易に適合させるであろう¹²⁾。

実際に、自然は、高性能な生体システムを生成するナノスケール構造の恩恵を受けていると思われる。良い例は、しばしば 10~50 nm の固体包有物が柔らかいタンパク質マトリックスに組み込まれている繊維状補強材との生物学的起源の複合として模式的に記述されている自然骨の組成物である。天然骨（カルシウムとリン酸）に類似した鉱物組成と、しばしば骨の代用として使用される合成ハイドロキシアパタイトは、巨視的に優れた骨伝導（骨再生を受けるための材料の受動性）を持っている。しかし、それは完全にそれが高度に結晶化し、純粋であり、したがって、インプラントとして体内で長期的なままである場合は特に、再吸収されることはない。ナノスケールでのヒドロキシアパタイト粒子の大きさの減少は、これらの合成ナノ粒子が生体吸収性になることを可能にするかもしれない¹³⁾。

さらに、露出された表面上の複数の原子が多ければ多いほど、外部要素とのより大きい交換面となる。ナノマテリアルのこの特定の機能は生物学的用途に有用である。実際には、材料が生物学的培地に導入されたときに、最初の段階は、材料表面上への血清タンパク質あるいは他の生物学的要素の急速な吸着である。これらのタンパク質は、その後、表面の物理化学的特性（例えば、疎水性、粗さ、凹凸、化学反応性）に応じて異なる立体構造をとる。血漿タンパク質におけるタンパク種、吸着量、コンフォメーションは、その後、材料表面への細胞の接着と増殖を促進防止、あるいは細胞膜受容体との相互作用を決定する¹⁴⁾。

タンパク質とナノマテリアルとの間の相互作用は、大きな比表面積、微細構造化された粗さや凹凸、または修飾された電子の分布等、ナノオブジェクトに固有のユニークな表面特性のみに影響されるべきである。この種の表面は、たとえば、タンパク質の吸着のためのより多くのサイトを提供し、細胞接着と増殖を促進する。整形外科用インプラントのナノ構造チタン表面は、未処理表面に比べて大幅に骨芽細胞の接着性を高めることが示されている¹⁴⁻¹⁷⁾。

ナノマテリアルは、ユニークな特性を示し、健康保健分野において活用することができる。ナノスケールのレベルで効果を増加させた生物学的システムを模倣する合成材料は、それらの生体適合性を向上させる。またサイズが小さいおかげで、ナノ粒子は、現在の技術を使用してアクセスすることは難しいと考えている場合でも、おそらく身体の標的領域に達し、多数の細胞を浸透することができるはずである。ナノ粒子は身体の防御機構によって排除される異物性が考えられるが、一方でナノテクノロジーは、最適なオーダーメイド医療への希望を育む：インテリジェントで、多機能ナノプローブは非常に早い段階で異常細胞を検出することができるであろう、これらの細胞を破壊したり、所望の時間に患者に適切な薬の正確な用量を分配し、医師にリアルタイムで医療データを伝えることが可能にあるだろう。

引用文献

1. ISO/TS 27687 : 2008, Nanotechnologies - Terminology and definitions for nano-objects -nanoparticle, nanofibre and nanoplate. **2008**
2. Nel, A.; Xia, T.; Madler, L.; Li, N., Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science* **2006**, *311* (5761), 622-627.
3. Ford, W. T., Inorganic-Organic composite. In *Nanoscale Materials in Chemistry*, 2 ed.; Klabunde, K. J.; Richards, R. M., Eds. John Wiley & Sons Inc.: New Jersey, **2009**; pp 1-13.
4. Preining, O., The physical nature of very, very small particles and its impact on their behaviour. *Journal of Aerosol Science* **1998**, *29* (5-6), 481-495.
5. Jiang, J.; Oberdorster, G.; Biswas, P., Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *Journal of Nanoparticle Research* **2009**, *11* (1), 77-89.
6. Abdellaoui, M.; Djega-Mariadassou, C.; Gaffet, E., Structural study of Fe---Si nanostructured materials. *Journal of Alloys and Compounds* **1997**, *259* (1-2), 241-248
7. Burda, C.; Chen, X.; Narayanan, R.; El-Sayed, M., Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. *Chem Rev* **2005**, *105*, 1025-102.
8. Meyers, M. A.; Mishra, A.; Benson, D. J., Mechanical properties of nanocrystalline materials. *Progress in Materials Science* **2006**, *51* (4), 427-556.
9. Cao, G., Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties & applications. Imperial College Press: London, 2004.
10. Gleiter, H., Nanostructured materials: basic concepts and microstructure. *Acta Mater.* **2000**, *48*, 1-29.
11. Klabunde, K. J., Introduction to nanoscale materials in chemistry. In *Nanoscale Materials in Chemistry*, 2 ed.; Klabunde, K. J.; Richards, R. M., Eds. John Wiley & Sons Inc.: New

Jersey, 2009; pp 1-13.

12. Dorozhkin, S. V., Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta Biomaterialia* **2010**, 6 (3), 715-734.
13. Watari, F.; Takashi, N.; Yokoyama, A.; Uo, M.; Akasaka, T.; Sato, Y.; Abe, S.; Totsuka, Y.; Tohji, K., Material nanosizing effect on living organisms: non-specific, biointeractive, physical size effects. *Journal of The Royal Society Interface* **2009**, 6 (Suppl 3), S371-S388.
14. Jager, M.; Zilkens, C.; Zanger, K.; Krauspe, R., Significance of nano- and microtopography for cell-surface interactions in orthopaedic implants. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* **2007**, 8, 19.
15. Ward, B. C.; Webster, T. J., The effect of nanotopography on calcium and phosphorus deposition on metallic materials in vitro. *Biomaterials* **2006**, 27 (16), 3064-3074.
16. Sato, M.; Webster, T. J., Nanobiotechnology: implications for the future of nanotechnology in orthopedic applications. *Expert Rev. Medical Devices* **2004**, 1 (1), 105-114.
17. Webster, T. J.; Ejiofor, J. U., Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo. *Biomaterials* **2004**, 25 (19), 4731-4739.

ナノマテリアルを含む医療機器

ナノマテリアルのナノスケールの構造に関係する新たな物理的、化学的、生物学的性質を利用するナノ医療は、ナノテクノロジーの医療分野への応用として期待されている。ここでは、すでに商品化されている、あるいは開発途上の医療機器でナノマテリアルと考えられているものが、ナノマテリアルに該当するかどうかを考える。整形外科、歯科、循環器インプラントのような典型的な医療器材から精巧な電子的生体模倣的デバイスまでの広範囲のものを対象とする¹⁾。

1. 医療器材

直径がサブミクロンの皮下注射用針はナノレベルの量の薬剤を注入できるためナノマテリアルとして扱われるが、これはナノマテリアルではない。一方、抗菌のため創傷保護材料および医療用布に銀ナノ粒子を担持させたものは、ナノ粒子部分のみナノマテリアルに該当する。また、開発研究途上の埋め込み型超好感度センサー、動力源なしの自立性エンジン、精密駆動アーム、分子コンピュータなどは、ナノマテリアルに該当しない。

2. 歯科・整形外科用品

歯科用コンポジットレジンフィラー粒子は 0.01～50 μm であり、フィラーとして石英結晶、シリコン、ジルコニアから 10～100 nm のナノ粒子が造られるため、ナノマテリアルと扱われるが、フィラー自体はマトリックス内に含有されており、ナノマテリアルには該当しない。骨充填材のハイドロキシアパタイトゲル、また銀ナノ粒子を含有する骨セメントは、ナノマテリアルに該当しない。骨形成促進に効果のあるナノスケールの化学的表面処理とナノ多孔体の形態制御による表面は、ナノマテリアルに該当しない。

3. 循環器デバイス

ステントは、血栓形成防止のためのポリマーあるいはセラミックスのナノ多孔性ナノスケールコーティング、すなわち 50 nm 厚さのポリマーコーティングや 100～500 nm の多孔性超微細ハイドロキシアパタイト粒子コーティングが施されるが、これはナノマテリアルに該当しない。銀ナノ粒子をコーティングしたカテーテルは、ナノ粒子の部分のみナノマテリアルに該当する。エレクトロスピンニングによるポリマーナノファイバーは不織布、人工血管、人工心臓弁への応用が可能であるが、ナノマテリアルには該当しない。

4. 手術器具

20～40 nm 厚さのナノスケールダイヤモンドコーティング低摩擦メス、ナノ結晶を含むステンレス鋼製縫合針、シリコン化合物、カーボンナノチューブからなるナノスケールナイフは、いずれもナノマテリアルに該当しない。一方、脳脊髄液排出に際してのカテーテルに担持される銀ナノ粒子は、ナノマテリアルに該当する。

フェムト秒レーザのナノピンセットとして利用、ナノ手術デバイスに利用される微細加工技術を施した表面はナノマテリアルに該当しない。

5. がん治療におけるナノテクノロジー

15 nm、150 nm のナノ粒子による温熱療法、ナノスケールの孔を持つ 30 μm の ^{32}P を担持したシリコンマイクロ粒子からの β 線照射は、ナノマテリアルに該当する。

6. 体内埋入機能性デバイス

数千のナノ多孔を持つシリコン薄膜からなるフィルターはナノマテリアルに該当しないが、ナノエレクトロニクス部品を搭載した網膜や 5 nm のダイヤモンドナノ粒子の超薄膜による網膜の保護は、ナノマテリアルに該当する。

7. 診断・モニタリングデバイス

カーボンナノチューブや金ナノ粒子の単独使用は、ナノマテリアルに該当する。

結論

ナノサイズの形態のまま使用し、ナノサイズの効果を利用している場合に限り、ナノマテリアルに該当するものとしたが、ナノマテリアルであってもそのリスクを評価する独自の評価方法があるわけではない。

引用文献

1. Roszek, B.; De Jong, W. H.; Geertsma, R. E., RIVM report - Nanotechnology in medical applications: state-of-the-art in materials and devices. Bilthoven, 2005; Vol. 265001001/2005.

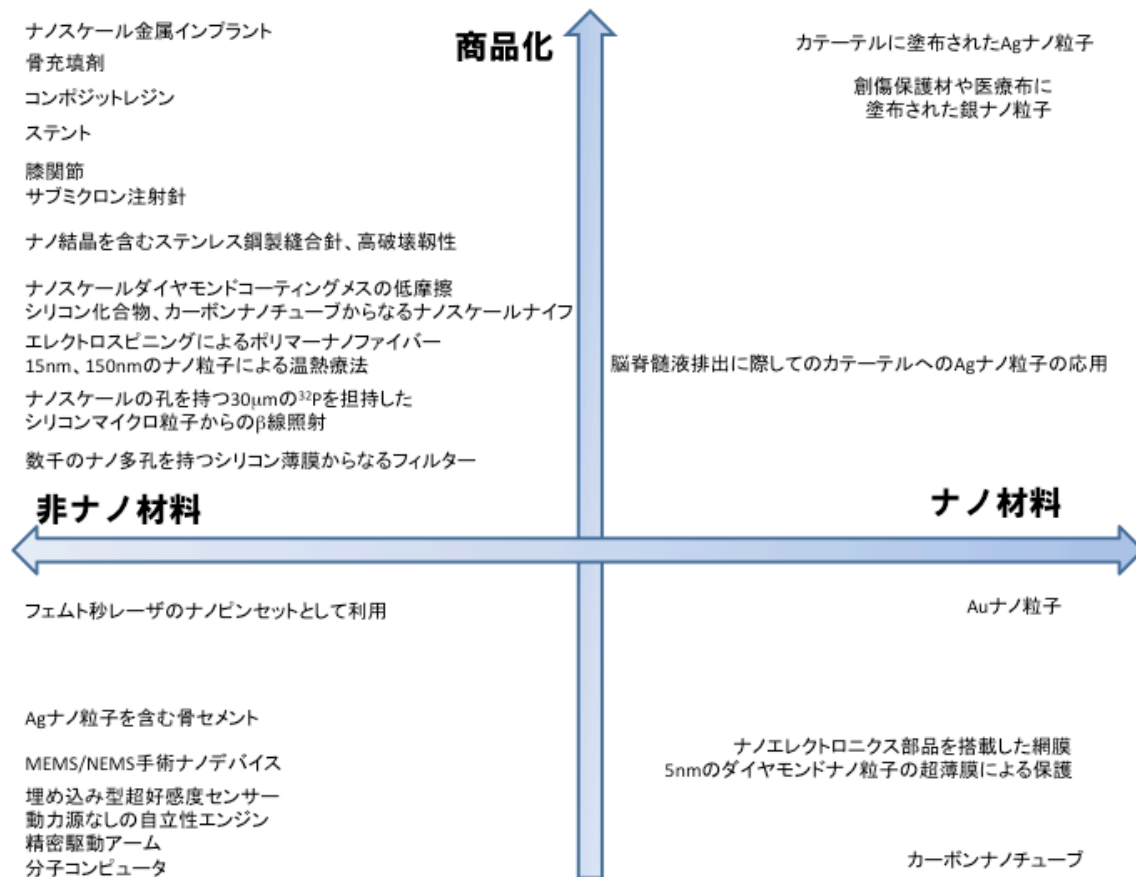


図1. ナノマテリアルと考えられている物質の医療用途としての実用化レベルとナノマテリアルの対象となるかの判断

いくつかのナノマテリアルに関する実例について

金、ダイヤモンド、シリカ、酸化鉄、ヒドロキシアパタイト、チタンなどのナノ微粒子が、医療機器として応用され得る。これまでの応用例や、これから想定される頻度を考慮すると、以下の3つの代表例の毒性評価の現状を把握することは大変重要である。

- ・カーボンナノチューブ（医療機器としては開発中であるため）
- ・銀のナノ粒子（既に市場で使われているため）
- ・摩耗片や断片（既に使われている医療機器の摩耗等で発生するため）

1. カーボンナノチューブ（CNTs）の毒性に関して

CNTsの医療機器への応用としては、分子認識やターゲットの微量分析、ガン治療への応用が期待されている。アスベスト様の繊維構造を有しているために、肉芽腫や肺胞の繊維化が懸念される。単層のカーボンナノチューブ（SWCNT）は酸化ストレスにより遺伝子に対して毒性を発現する。

CNTsの毒性は、その長さや形状、凝集の程度の大きく影響され、短いものは容易に貪食され、消失していくので毒性も低い。また、5.9 mmの多層のカーボンナノチューブ（MWCNT）は、2ヶ月後も80%が肺に滞留していることが観察されたのに対し、700 nmのものは同期間で36%の滞留率であった¹⁾。

CNTsでは、その合成触媒として用いられる金属のコンタミ（不純物）が毒性発現に関与することあり、純度を高くすると毒性が低減することもある。

CNTsの毒性には、単層か多層か、その長さ、コンタミの影響が関与している。後述のように、製造の際に規格をより厳密なものにして、その毒性評価に供することが極めて重要である。

2. 銀ナノ粒子の毒性に関して

銀の抗菌作用に関しては、銀イオンがタンパク質やアミノ酸と結合することが知られている。また、酸化ストレスによって細胞のアポトーシスを誘導する。銀ナノ粒子サイズや形状、表面積によってその抗菌活性は変化するという報告ある²⁾。その研究では、サイズとしては10 nm程度で、三角形のものの活性が高かった。銀の毒性に関して、食物摂取や皮膚接触によって体内に取り込まれた銀は、いわゆる「銀中毒」の症状を呈することも知られている。銀の抗菌効果のために銀ナノ粒子を含んだ創傷被覆材が使用されているが、これによって銀中毒が発症した例も報告されている³⁾。

銀の抗菌効果を付与する目的でコーティングされたデバイスが開発されている。このデバイスにおいてもその毒性発現には注意が必要である。比較的歴史のある銀ナノ粒子であっても、その溶出によって毒性発現が起こる可能性が有り、安定性、溶出性などを

十分に考慮する必要がある。

イオンの溶出などはバルクのマテリアルでも起こりうることであり、表面積の問題に集約される。ナノマテリアルが故に起こりうるのはサイズの影響であろう。

3. 医療機器の摩耗等で発生する摩耗片や断片に関して

実用化され、多くの手術例があるのが人工関節である。人工関節におけるポリエチレン部の摩耗は一年間で 100 μm 進行し、数ミクロンの微粒子が 10 億個発生するとされている⁴⁾。また、一方金属部では 10~90 nm (平均 50 nm、 $10^{12}\sim 10^{14}$ 個/年とされている⁵⁾。それぞれ発生した破片微粒子はマクロファージの貪食によって消失するが、その限界を超えると肉芽生成を引き起こす。

この微少断片が他の臓器（例えば肝臓、脾臓、骨髄）へ移動する現象が知られているが、そのメカニズムは不明である。また、免疫系を破綻させる可能性が指摘されているがそのメカニズムも不明である。実際の人工股関節の手術後 8 年で、肉芽腫の発症の例がある。金属部に用いられるコバルトクロム合金では、コバルトイオン (Co^{2+}) の遺伝子毒性、発がん性が報告されている⁶⁾。

二酸化チタンにおいては、アナターゼとルチルの結晶系が知られているが、不活性ルチルは活性アナターゼよりも低毒性であること、また ROS をきっかけとするアポトーシス誘導も知られている。また、動物実験では肺毒性や炎症反応、また全身症状として無感情、無気力、食欲減退、振戦なども報告されている。

4. 毒性評価のためのナノマテリアルの規格化

上述のように、マテリアルのサイズを形状が毒性発現に極めて重要な要因となる。その他、溶出イオン、不純物、分解物なども想定される。毒性評価に供するためのキャラクター化として以下の項目がほぼ網羅していると考えられる⁷⁾。同一の材料だとしても性質・毒性は全く異なるものもあり、たとえば、CNTs においてもおよそ 50,000 種類の存在が知られている。

以下、8 種類のキャラクター化として

- ・ サイズとサイズ分布
- ・ 形状
- ・ 凝集状態
- ・ 溶解性／分散性
- ・ 比表面積
- ・ 組成（化学組成、結晶系、他）
- ・ 表面荷電
- ・ 表面化学

5. 考慮すべき物理的な要因

ナノマテリアルのサイズについては実際の大きさとその形状が重要となる。なぜなら前述のように、CNTs では、そのサイズで毒性が変化するからである。また、銀の微粒子ではその形状で毒性が異なり、二酸化チタンでもその形状がロッド状か球状かで毒性が異なるからである。

ナノマテリアルのサイズの評価には走査型電子顕微鏡（SEM）鏡や透過型電子顕微鏡 TEM が効果的であり、最近の進歩が著しい。例え SEM では速いスキャンスピードや大面積の測定が可能になっている。原子間力顕微鏡（AFM）も I.S. unit に関係しており重要な測定法である。SEM と AFM の組み合わせも効果的である。これらを測定する際に、参照試料も測定精度を保証するために大変重要である。

一般に工業製品は、サイズや形状に分布があることが多く、それらが毒性発現に関わってくるので注意が必要である。その製品証明書に書かれたサイズや形状には、その測定の信頼性や不確定性も含んでいる可能性がある。また、ロットによってもその内容が変化することも予想され、より厳密な製品保証が重要である。

ナノマテリアルは一般に凝集しやすく、その凝集状態のサイズの違いが毒性に影響する。例えば分散性が高い SWCNT では素早く肺胞間質へ取り込まれることが報告されている。一般に、凝集性や分散性は媒質の種類や性質によって大きく異なり、分散状態は時間経過によって変化する場合がある。例えば超音波照射によって分散性を高めても、その後凝集を生起する場合がある。

分散性を得るために添加される分散剤（界面活性剤）の影響も考慮しなければならない。

一般に、毒性を発現する原因とし金属系のマテリアルであれば、イオンの溶出が毒性発現の原意となる。溶出には比表面積が重要であり、その評価法として比表面積 $S = 3 / (\text{密度} \times \text{半径})$ も一指標として利用可能であろう。また、その体積も考慮すべきである。

6. 考慮すべき化学的な要因

毒性を発現する化学的な要因としては、混入する不純物や製造工程や滅菌工程、保存中に発生する物質である。たとえば、オートクレーブ滅菌では高温に曝されるので注意が必要である。エチレンオキシドガス滅菌では、その化学反応も考慮しなければならない。前述したように、CNTs 製造工程で混入する鉄イオンやイットリウムイオン、残存有機溶媒、なども問題となる。

医療機器にコーティングによって生体適合性や抗菌性を付与することが想定される。その際には、コーティングにお種類や、その厚さ、均一性、下地の素材との密着性も重要である。剥離してくるコーティング層の大きさや形状も前述のように毒性発現の大きな要因となるからである。

ポリエチレングリコールは、血液中の安定性を高めるコーティング技術として応用される。たとえば、バイオイメージングを想定した量子ドットの表面に修飾すると半減期は大幅に延長する。また、その半減期は修飾するポリエチレングリコールの分子量に依存する。たとえば、分子量が 750 だと半減期は 12 分間であるのに対して、分子量 5000 では 70 分間に延長する⁸⁾。生体適合性を発現する親水性の高分子はかなりの種類があり、いずれも分子量依存性があると考えられる。

表面の電氣的な性質もたいへん重要である。その指標としてはゼータポテンシャルが有効である。また、その電荷の大きさの正負も重要である。一般に細胞表面は糖鎖を構成するシアル酸の影響で負に帯電している。従って、静電反発が期待され負電荷であれば比較毒性は低い。一方、正電荷の表面はクーロン力によって細胞表面との相互作用が生起し、構造を破壊したり凝集を引き起こしたりするために毒性を発現する。従って規格化のパラメータとして極めて重要である。

結論

ナノマテリアルの毒性評価に関しては、医療機器を想定した場合においてデバイスから脱離するマテリアルのサイズ、形状、分散性、分子／イオンを正確に理解し、評価を丁寧に繰り返し、データを集積することが、極めて大事である。いくつかは触れられているように、時間経過も重要な要素である。これらは、マテリアルに関して基本であり、従来の医療機器の安全性評価指針によっても十分に判断できる。

引用文献

1. Muller, J.; Huaux, F.; Moreau, N.; Misson, P.; Heilier, J.-F.; Delos, M.; Arras, M.; Fonseca, A.; Nagy, J. B.; Lison, D., Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2005**, 207(3), 221-231.
2. (a) Morones, J. R.; Elechiguerra, J. L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J. B.; Ramírez, J. T.; Yacaman, M. J., The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* **2005**, 16 (10), 2346; (b) Pal, S.; Tak, Y. K.; Song, J. M., Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology* **2007**, 73 (6), 1712-1720.
3. Trop, M.; Novak, M.; Rodl, S.; Hellbom, B.; Kroell, W.; Goessler, W., Silver-Coated Dressing Acticoat Caused Raised Liver Enzymes and Argyria-like Symptoms in Burn Patient. *The Journal of Trauma* **2006**, 60 (3), 648-652. 10.1097/01.ta.0000208126.22089.b6.
4. Shanbhag, A. S.; Rubash, H. E., Wear: The Basis of Particle Disease in Total Hip Arthroplasty. *Techniques in Orthopaedics* **1993**, 8 (4), 269-274.

5. Doorn, P. F.; Campbell, P. A.; Worrall, J.; Benya, P. D.; McKellop, H. A.; Amstutz, H. C., Metal wear particle characterization from metal on metal total hip replacements: Transmission electron microscopy study of periprosthetic tissues and isolated particles. *Journal of Biomedical Materials Research* **1998**, *42*, 103-111.
6. Papageorgiou, I.; Brown, C.; Schins, R.; Singh, S.; Newson, R.; Davis, S.; Fisher, J.; Ingham, E.; Case, C. P., The effect of nano- and micron-sized particles of cobalt-chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials* **2007**, *28* (19), 2946-2958.
7. (a) SCENHIR Scientific Basis for the definition of the term "nanomaterial"; Directorate-General for Health & Consumers, European Commission: 2010; (b) Montes-Burgos, I.; Walczyk, D.; Hole, P.; Smith, J.; Lynch, I.; Dawson, K., Characterisation of nanoparticle size and state prior to nanotoxicological studies. *Journal of Nanoparticle Research* **2010**, *12* (1), 47-53; (c) Murdock, R. C.; Braydich-Stolle, L.; Schrand, A. M.; Schlager, J. J.; Hussain, S. M., Characterization of Nanomaterial Dispersion in Solution Prior to In Vitro Exposure Using Dynamic Light Scattering Technique. *Toxicological Sciences* **2008**, *101* (2), 239-253; (d) Powers, K. W.; Brown, S. C.; Krishna, V. B.; Wasdo, S. C.; Moudgil, B. M.; Roberts, S. M., Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials. Part VI. Characterization of Nanoscale Particles for Toxicological Evaluation. *Toxicol. Sci.* **2006**, *90* (2), 296-303; (e) Warheit, D. B., How Meaningful are the Results of Nanotoxicity Studies in the Absence of Adequate Material Characterization? *Toxicological Sciences* **2008**, *101* (2), 183-185.
8. Ballou, B.; Lagerholm, C. B.; Ernst, L. A.; Bruchez, M. P.; Waggoner, A. S., Noninvasive Imaging of Quantum Dots in Mice. *Bioconjugate Chemistry* **2004**, *15* (1), 79-86.

ナノマテリアルの生物学的影響評価

ナノマテリアルは従来の物質とは異なる特異な物性を示す可能性がある一方で、生体に対して従来の物質にない反応や従来と異なる臓器・部位への到達を示す可能性が指摘されている。特にナノマテリアルは微小サイズゆえ、比表面積が増加し、生体関連物質との結合や反応が高効率で起こる可能性が有り、それに起因する毒性が懸念されている。

ナノマテリアルは従来物質に比べて毒性が亢進する例（CuO の遺伝毒性）や、逆にナノマテリアルの方が毒性発現は低い例（TiO₂ の遺伝毒性）があり、ナノサイズに対する画一的な見解が得られていない。これらはあくまでバルク材料との比較であり、影響が認められる場合においても細胞や組織内への取り込みが起きた後の過程であることは、強く意識しなければならない。すなわち、材料特性との関連を十分に考慮しつつ、毒性発現過程の詳細な理解が必要である。すなわち、医療機器から分解、溶離、溶出などのより排出される場合であり、これは通常の医療機器の安全性評価法が適用できる範囲である。

図2に、種々の毒性発現過程におけるナノマテリアルと生体との反応を記す。

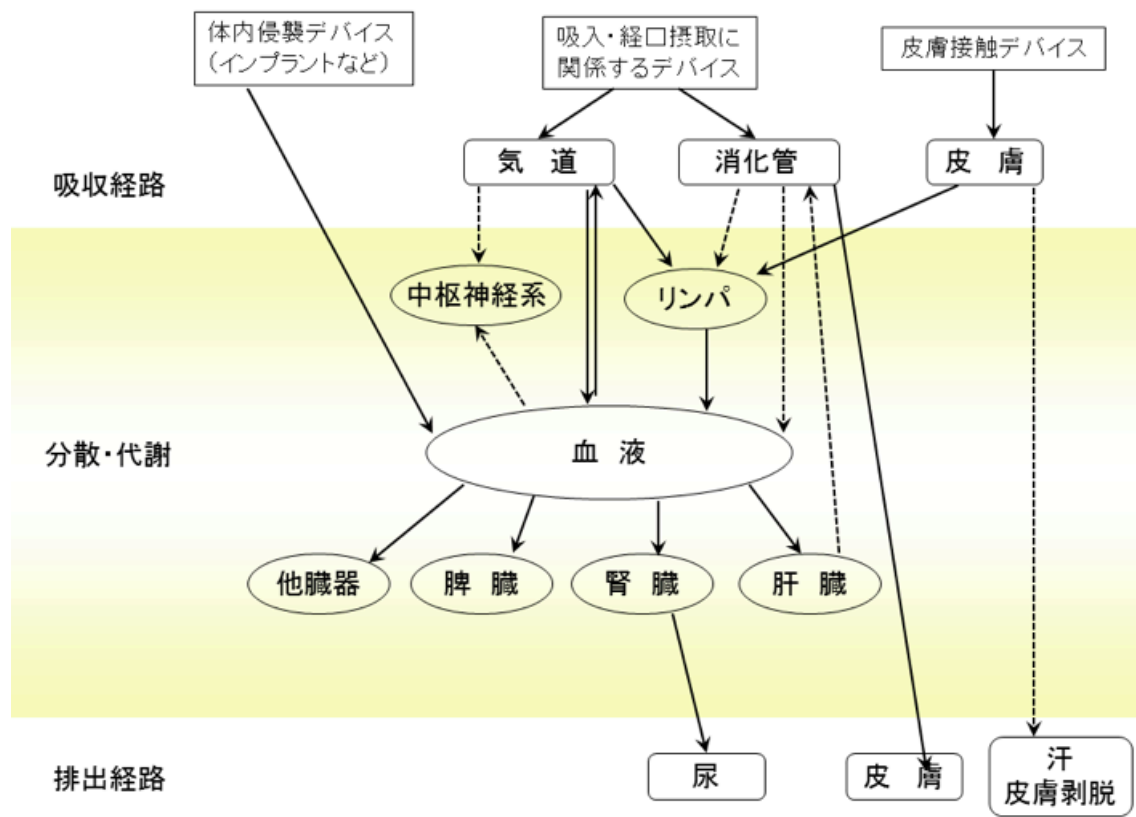


図2 医療機器から生成するナノマテリアルの動態 (文献¹⁾より改変)

—▶ 確認された経路 ----▶ 仮定される経路

1. ナノマテリアルと生体との反応

ナノマテリアルを含む物質へのタンパク質の吸着は最初に高濃度に存在するタンパク質が吸着し物質表面を被覆するが、追ってより高い親和性を持つ（が、低濃度の）タンパク質に置き換わって吸着する（Vroman 効果）ことが知られている。タンパク質吸着の量や種類はナノマテリアルの表面性状に影響され、一般的に疎水性表面を持つ物質の方が親水性表面を持つそれより早く血漿タンパク質により被覆（オプソニン化）されることが知られている²⁾。ナノマテリアルへの IgG、補体、フィブリノーゲンなどのオプソニンの吸着は食作用を促進し、循環系からの排出されて肝臓や脾臓に蓄積する。それにたいし、アルブミンが吸着したナノマテリアルは血中に長く存在することが示唆されている^{3,4)}。

2. ナノマテリアルの生体内動態

ナノマテリアルの吸収・分配・代謝・排出の過程は従来の物質と大きく異なる。生体内動態には物質の摂取経路、サイズ、表面性状および対象となる動物種が大きく影響する。

・**経皮吸収**：健康な皮膚はナノマテリアルを含む化学物質に対して優れた遮蔽性を示す。TiO₂ ナノ微粒子では健康な皮膚では、その浸透は角質層に限定され、下部層への明瞭な浸透は検出されていない⁵⁻⁷⁾。塗料・顔料・化粧品などに使用されている TiO₂ は多くがルチル型（アナターゼ型より触媒活性が低い）であり、分散性を向上させるため SiO₂ や Al₂O₃ でコーティングされている。一次粒子の粒径は 10～30 nm で、凝集して数 μm 程度となる。粒径 4 nm 及び 60 nm の TiO₂ をブタの皮膚に塗布したケースでは 30 日間以内の塗布では深層への浸透は見られていないが、60 日間後には皮膚を透過して肝臓などに到達すること、無毛マウスでは長期塗布によりラジカル発生などに起因する慢性毒性を示すことが報告されている⁹⁾。

・**経気道吸収**：ナノマテリアルの呼吸器系からの吸収には粒子サイズ、吸入力、気道の構造など多くの要因が関係する。一般的に 10 μm 以上の粒子は鼻腔で除去され、数 μm 程度では気道表面に沈着し、表面の繊毛により排出される。100 nm～1 μm では一部が上気道を通過し、100 nm 以下ではおよそ 50%が肺胞に到達するが、10 nm 以下では上気道で停止する¹⁰⁾。水溶性の物質は気道表面の粘液に溶解し、血液やリンパ液に吸収され、多臓器に拡散する。

肺胞内部での防御は肺胞マクロファージによるが、除去されなかったナノマテリアルは蓄積し、炎症、慢性毒性、およびアスベストで見られるような発がんリスクの原因となる。カーボンナノチューブ（CNTs）はアスベスト同様の繊維状構造を持つ物質であるため、吸入による呼吸器系への毒性が懸念され、検討がなされている。その多くは

CNTsなどのナノマテリアルの分散溶液の気管内投与によるものであり、ラットへの気管内投与試験では単層カーボンナノチューブ（SWCNTs）では肺に肉芽腫をSWCNTs投与量依存的に生じ、SWCNTs 中の残留金属の有無に寄らず石英より強いことから、SWCNTs に毒性があると報告されている¹¹⁾。多層カーボンナノチューブ（MWCNTs）の場合も排出が極めて遅く、60日後でも肺に投与量の81%が残留し、炎症・線維化・肉芽腫を誘発し、白石綿（Chrysotile）と同等の刺激性を持つとの報告がある¹²⁾。また呼吸器系から吸収されたCNTsや他のナノ微粒子の約1%が全身に移行し、肝臓や脾臓などに蓄積することも報告されている¹³⁻¹⁵⁾。

但し、実際のナノ微粒子の暴露は大気中に浮遊した粒子を吸入することによって起こるが、このような実験系を作製することが極めて困難であることから、多くの動物実験では、前述の分散水溶液の気管内注入が用いられているが、実際の暴露条件との差が問題となる。大気中への浮遊CNTs環境を作成し、動物への吸入試験の結果も少ないながら報告されており、肺胞中の好中球の増加や、肺胞壁の肥厚化、肉芽腫の形成が認められている¹⁶⁻¹⁸⁾。但し、これらの吸入条件は極めて高濃度の浮遊微粒子を吸入させており、文献18ではラットを2.5 mg/m³ 浮遊で90日暴露した際の、肺への吸着量は最大で1000 mg 以上と推定している。これに対し、実際にCNTs を使用している作業環境下での従事者の暴露量については、SWCNTs では1 mg/kg/日以下¹⁹⁾、MWCNTsでは数mg/kg/日²⁰⁾と報告されており、動物実験の吸入濃度は実際の作業環境より少なくとも数倍から数十倍の高濃度に相当し、吸入毒性試験の結果も過酷な暴露条件での結果であることを考慮すると、CNTs の吸入毒性が特段に高いとは断言できない。

・**経口吸収**：経口的に摂取されたナノマテリアルの殆どは糞便、尿より排出され、ごく一部が腸管のパイエル板や腸細胞を経由して吸収され、血流やリンパ液により肝臓や腎臓などの臓器に移行する。腸管での吸収速度は物質のサイズや表面電荷に依存する。歯科用修復物や化粧品などに使用される SiO₂ や TiO₂ のナノ微粒子では経口的に吸収され、脾臓や肝臓の腫脹、胆汁の分泌不全、急性腎不全などが報告されている^{21, 22)}。

・**全身動態と代謝、排出**：血流内のナノマテリアルはオプソニン化され、血管内皮細胞に検知・マクロファージにより貪食されて血流から排出される。ナノマテリアルは脾臓、肝臓、腎臓などの臓器に蓄積するほか、心臓、肺、骨髄からも検出されている。また中枢神経系への移行も起こり得る。

ナノマテリアルの表面性状はサイズ、形態とともに動態に大きく影響し、ナノマテリアルの中でも最も小さな金ナノ微粒子(10 nm)は全身に広く分布することが報告されている²³⁾。

ナノマテリアルの排出経路は摂取経路や物質の物性に依存するが、詳細については未知の部分が多い。経口吸収されたナノマテリアルは多くが糞便として排出される。血液

・リンパ液内のナノマテリアル排出は物質により異なり、フラーレンや CNTs は腎臓を経由しての排出が、ポリスチレンは肝臓から胆汁により排出されることが示唆されている。量子ドットの動態・排出は表面処理により大きく異なるが、マウスの血管内投与された量子ドットでは 133 日後でもリンパ液や骨髄に残留していることが報告されている²⁴⁾。

3. 細胞毒性

ナノマテリアルはウイルス等と同様に細胞に侵入し、細胞内小器官と相互作用する。通常の侵入経路はエンドサイトーシスであり、取り込まれたナノマテリアルは小胞を形成するが、数 nm 程度のナノ微粒子はイオンチャネルなどを経由する他、細胞膜を受動拡散により透過することが示唆されている。

取り込まれたナノマテリアルは比較的大きな微粒子では小胞内に存在するが、より小さな微粒子では細胞質に分散して存在することもあるが、通常は液胞などに集積する。SWCNTs では通常はライソソームに集積するが、高用量では一部がミトコンドリアにも侵入することが報告されている。細胞内の CNTs、量子ドット、フラーレン、金や TiO₂ のナノ微粒子はアポトーシスを誘起することが報告されている^{25, 26)}。また SWCNTs では有機修飾により分散性を高めると細胞への取り込みが促進されるが細胞毒性は低下し、無処理の SWCNTs の強い凝集性が細胞毒性を発現させることが示唆されている。

ナノマテリアルの細胞毒性の主たるメカニズムは活性酸素種 (ROS) のようなフリーラジカルの生成である。ナノマテリアルの表面は反応性に富み、特に遷移金属などではフェントン反応のようなフリーラジカルを生じる反応を触媒する²⁷⁾。またナノマテリアルに対する食作用もフリーラジカルを生成する一因である。CNTs では製造に金属微粒子を触媒として使用し、粗製の CNTs では触媒金属が不純物として残留しているが、これを精製・除去した CNTs では細胞内の ROS 産生が減少することも報告されている²⁸⁾。

4. 免疫応答

ナノマテリアルに対する抗体産生についての報告は少なく、マウスに於いてフラーレン (C₆₀, C₇₀) に対する抗体産生が報告されている程度である (但し、この結果はアジュバントの存在下でも再現されていない²⁹⁾)。また実験室事故によりヒドロキシアパタイトナノ微粒子に暴露されたヒトでカルシウム化合物に対する抗体価の向上の事例がある³⁰⁾。また金ナノ微粒子 (20 nm) の存在下では免疫応答が増強される、いわゆるアジュバント効果があること、その効果が従来のアジュバントより強いことも報告されている³¹⁾。免疫応答を誘起・亢進する報告が主であるが、CNTs では免疫抑制効果があることも報告されている³²⁾。

5. 血液との反応

ナノマテリアルの血流への影響については、血液の粘稠化や血管の損傷・閉塞などの直接的要因と、ナノマテリアルにより誘起された炎症性の各種メディエーターが血液中に拡散し、各種臓器内の血管に炎症を生じることによる間接的影響がある。

CNTs 類は血小板の凝集を促進し、ラットでは血栓を生成することが報告されている。またポリスチレンナノ微粒子では微小サイズ（20～30 nm）で溶血や炎症反応を示す他³³⁾、ポリスチレン、金、TiO₂ のナノ微粒子で赤血球への侵入が報告されている^{34,35)}。逆に、ポリソルベートや PEG コートされたガドリニウムなどの微粒子系薬剤では血液への影響が少ないことも示されている^{36,37)}。

6. 全身毒性

血中の多くのナノマテリアルは前述のように肝臓や脾臓に蓄積するほか、腎臓にも局在し、体外に排出される。量子ドットは優れた蛍光特性を示すため生体への応用が注目されているが、CdSe などの量子ドットでは Cd による急性・慢性毒性が報告されている²⁵⁾。量子ドットは蛍光により体内動態の評価がしやすいため、サイズや表面状態と体内動態の関係が調査されている。急性毒性の点からは表面をカルボキシル化した量子ドットの方がアミノ化したものより肺血栓症を起こしやすいことが報告されている³⁸⁾。

7. 遺伝毒性および発がん性

ある種のナノ微粒子（例えば CNTs）では細胞核内にまで侵入することが知られており、DNA への損傷が懸念される。細胞核内への侵入は核膜の微細孔をナノ微粒子から通過する経路と、細胞分裂時に核膜が消失した時期に DNA に接触するケースが考えられる。

DNA の直径は数 nm、ヌクレオソームの直径は約 10 nm で、長さは mm オーダーであり、これは CNTs のそれと類似している。細胞核内に侵入したナノ微粒子は DNA や細胞核に存在するタンパク質と直接、相互作用し、フリーラジカルの生成により DNA を損傷したり、有糸分裂時の染色体分離を阻害する可能性がある^{39,40)}。また銀のナノ微粒子は細胞核に侵入すること、DNA 修復やアポトーシス誘導に作用する p53 遺伝子発現を誘起していることから、DNA に損傷を与えていると推測されたとの報告がある⁴¹⁾。人工股関節などに使用され、摩耗により微粒子の生成が懸念される Co-Cr 合金についても、フリーラジカル生成に伴う DNA 損傷が報告されている⁴²⁾。

DNA 損傷の研究に比べると、ナノマテリアルの発がん性を示した報告は少ない。MWCNTs においては腹腔内投与に於いて中皮腫を引き起こす例が報告されている⁴³⁾。但し、この結果は MWCNTs を直接、p53 遺伝子欠損マウスの腹腔内に投与して得られたものであり、アスベストが経気道的吸入により肺で中皮腫を発生するのは条件が極

めて異なるため、MWCNTs の発がん性が示されたとは言いがたいことに留意する必要がある。

8. 発生毒性

ナノ微粒子はその優れた透過性ゆえに、胎盤を通過し、胎児に移行して発生毒性や変異原性を示すことも懸念されている。金ナノ微粒子（5～30 nm）を妊娠中のラットに投与したケースでは、投与量の内のごく微量（0.005～0.018%）が胎児から検出されているが⁴⁴⁾、同様の試験で胎児からは検出されないとしているものもある^{45,46)}。また *in vitro* の試験ではポリスチレンナノ微粒子や量子ドットが胎盤を通過することが示されている。但し、発生毒性に於いては特に材料の差異が大きく、胎盤通過が検出されていても、発生毒性や催奇形性を示した報告は少ない^{47,48)}。

9. 神経毒性

中枢神経系は血液脳関門により保護されており、また能動輸送による排出機能を備え、異物の侵入から防御されている。しかしながら高体温などの異常がある際にはナノマテリアルの透過性が亢進する⁴⁹⁾。種々の同一サイズの金属ナノ微粒子（50～60 nm）を腹膜下、血中、脳室内に投与した結果、血液脳幹門の損傷が見られ、その効果は Al に比べて Ag や Cu の方が強いことが報告されている⁵⁰⁾。また鼻腔から吸入されたナノ微粒子（酸化マンガン，30 nm）が嗅覚神経を通じて中枢神経系に移行する可能性も示唆されている⁵¹⁾。

結論

ナノマテリアルを用いた医療機器から、生体内にナノマテリアルやナノ微粒子が放出されるケースとしては、ナノマテリアルそのものを薬物キャリアなどとして用いる場合と、磨耗・分解などによりナノマテリアルが放出される場合が想定できる。

前者においては、創薬の規制の範疇と考えるのが妥当で有り、全身動態や特定部位・臓器への蓄積性、代謝・排泄経路など、通常の薬剤と同様の試験で安全性を担保できると考えられる。後者についても人工関節などの微小磨耗粉の発生などで既に検討されている項目で有り、現行の医療器具の安全性試験に於いて対応が可能と考えられる。

ナノマテリアルの毒性試験に於いては多くが *in vitro* での試験であり、そのまま *in vivo* 毒性に補外することが困難であることは言うまでも無い。また金属系ナノマテリアルや一部の CNTs などで ROS 産生やそれに伴う DNA 損傷が懸念されているが、これは金属などの材料依存的な現象を表面積の大きなナノマテリアルで評価していることと考えられ、ナノマテリアル特有の毒性発現とは考えにくい。

In vivo の動物実験に於いても、呼吸器系の影響を気管内へのナノマテリアル分散液注入など、実情と乖離した条件で評価しているものが多く、実際の暴露条件を模擬した吸

入試験や経口・血中投与ナノマテリアル吸入などの動物実験に於いても、その投与量は相当に高濃度である。すなわち、ナノマテリアルを用いた医療機器からこのような高濃度のナノマテリアルが放出される状況は想定し難い。少量の摩耗粉や分解生成物については、現行の医療機器安全性評価基準の想定内であり、また想定を超える多量のナノマテリアルが放出され、体内に移行する場合には、医薬品を想定した安全基準を適用するのが相当と思慮される。

引用文献

1. Oberdorster, G.; Maynard, A.; Donaldson, K.; Castranova, V.; Fitzpatrick, J.; Ausman, K.; Carter, J.; Karn, B.; Kreyling, W.; Lai, D.; Olin, S.; Monteiro-Riviere, N.; Warheit, D.; Yang, H., Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology* **2005**, 2(1), 8.
2. Aggarwal, P.; Hall, J.; McLeland, C.; Dobrovolskaia, M.; McNeil, S., Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2009**, 61, 429-437.
3. Nagayama, S.; Ogawara, K.-i.; Minato, K.; Fukuoka, Y.; Takakura, Y.; Hashida, M.; Higaki, K.; Kimura, T., Fetuin mediates hepatic uptake of negatively charged nanoparticles via scavenger receptor. *International Journal of Pharmaceutics* **2007**, 329 (1-2), 192-198.
4. Verrecchia, C.; Boulu, R. G.; Plotkine, M., Neuroprotective and deleterious effects of nitric oxide on focal cerebral ischemia-induced neurone death. *Advances in Neuroimmunology* **1995**, 5 (4), 359-78.
5. Borm, P.; Robbins, D.; Haubold, S.; Kuhlbusch, T.; Fissan, H.; Donaldson, K.; Schins, R.; Stone, V.; Kreyling, W.; Lademann, J.; Krutmann, J.; Warheit, D.; Oberdorster, E., The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology* **2006**, 3 (1), 11
6. Stern, S. T.; McNeil, S. E., Nanotechnology Safety Concerns Revisited. *Toxicological Sciences* **2008**, 101 (1), 4-21.
7. Sadrieh, N.; Wokovich, A. M.; Gopee, N. V.; Zheng, J.; Haines, D.; Parmiter, D.; Siitonen, P. H.; Cozart, C. R.; Patri, A. K.; McNeil, S. E.; Howard, P. C.; Doub, W. H.; Buhse, L. F., Lack of Significant Dermal Penetration of Titanium Dioxide (TiO₂) from Sunscreen Formulations containing Nano- and Sub-Micron-Size TiO₂ Particles. *Toxicological Sciences* **2010**, 115 (1) 156-66.

8. Wu, J.; Liu, W.; Xue, C.; Zhou, S.; Lan, F.; Bi, L.; Xu, H.; Yang, X.; Zeng, F.-D., Toxicity and penetration of TiO₂ nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. *Toxicology Letters* **2009**, *191* (1), 1-8.
9. Maynard, A.; Kuempel, E., Airborne Nanostructured Particles and Occupational Health. *Journal of Nanoparticle Research* **2005**, *7* (6), 587-614.
10. Lam, C.W.; James, J.T.; McCluskey, R.; Hunter, R.L., Plumonary toxicity of single-walled carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicological Sciences* **2004**, *77*, 126-34.
11. Muller, J.; Huaux, F.; Moreau, N.; Misson, P.; Heilier, J.-F.; Delos, M.; Arras, M.; Fonseca, A.; Nagy, J. B.;Lison, D., Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2005**, *207*(3), 221-231.
12. Geiser, M.; Kreyling, W. G., Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles. *Particle and Fibre Toxicology* **2010**, *7*, 2.
13. Semmler-Behnke, M.; Takenaka, S.; Fertsch, S.; Wenk, A.; Seitz, J.; Mayer, P.; Oberdorster, G.; Kreyling, W. G., Efficient elimination of inhaled nanoparticles from the alveolar region: evidence for interstitial uptake and subsequent reentrainment onto airways epithelium. *Environmental Health Perspectives* **2007**, *115* (5), 728-33.
14. Shvedova, A. A.; Kagan, V. E., The role of nanotoxicology in realizing the 'helping without harm' paradigm of nanomedicine: lessons from studies of pulmonary effects of single-walled carbon nanotubes. *Journal of Internal Medicine* **2010**, *267* (1), 106-18.
15. Tong, H.; McGee, J.K.; Saxana, R.K.; Kodavanti, U.P.; Devlin, R.B.; Gilmour, M.I., Influence of acid functionalization on the cardiopulmonary toxicity of carbon nanotubes and carbon black particles in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2009**, *239*, 224-32.
16. Li, J.G.; Li, W.X.; Xu, J.Y.; Cai, X.Q.; Liu, R.L.; Li, Y.J.; Zhao, Q.F.; Li, Q.N., Comparative Study of Pathological Lesions Induced by Multiwalled Carbon Nanotubes in Lungs of Mice by Intratracheal Instillation and Inhalation. *Environmental Toxicology* **2007**, *22*, 415-21.
17. Ma-Hock, L.; Treumann, S.; Strauss, V.; Brill, S.; Luizi, F; Mertler, M; Wiench, K; Gamer, A.O.; van Ravenzwaay, B.; Landsiedel, R., Inhalation Toxicity of Multiwall Carbon Nanotubes in Rats Exposed for 3 Months. *Toxicological Sciences* **2009**, *112*, 468-81.
18. Maynard, A.D.; Baron, P.A.; Foley, M.; Shvedova, A.A.; Kisin, E.R.; Castranova, V., Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. *Journal of Toxicology and Environmental Health, part A* **2004**, *67*, 87-107.

19. Han, J.H.; Lee, E.J.; Lee, J.H.; So, K.P.; Lee, Y.H.; Bae, G.N.; Lee, S.B.; Ji, J.H.; Cho, M.W.; Yu, I.J., Monitoring multiwalled carbon nanotube exposure in carbon nanotube research facility. *Inhalation Toxicology* **2008**, *20*, 741-9.
20. Reijnders, L., The release of TiO₂ and SiO₂ nanoparticles from nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability* **2009**, *94* (5), 873-876.
21. Ballestri, M.; Baraldi, A.; Gatti, A. M.; Furci, L.; Bagni, A.; Loria, P.; Rapana, R. M.; Carulli, N.; Albertazzi, A., Liver and Kidney Foreign Bodies Granulomatosis in a Patient With Malocclusion, Bruxism, and Worn Dental Prostheses. *Gastroenterology* **2001**, *121* (5), 1234-1238.
22. Sarlo, K.; Blackburn, K. L.; Clark, E. D.; Grothaus, J.; Chaney, J.; Neu, S.; Flood, J.; Abbott, D.; Bohne, C.; Casey, K.; Fryer, C.; Kuhn, M., Tissue distribution of 20 nm, 100 nm and 1000 nm fluorescent polystyrene latex nanospheres following acute systemic or acute and repeat airway exposure in the rat. *Toxicology* **2009**, *263* (2-3), 117-126.
23. Hagens, W. I.; Oomen, A. G.; de Jong, W. H.; Cassee, F. R.; Sips, A. J. A. M., What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2007**, *49* (3), 217-229.
24. Aillon, K. L.; Xie, Y.; El-Gendy, N.; Berkland, C. J.; Forrest, M. L., Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2009**, *61* (6), 457-466.
25. Hussain, S.; Thomassen, L. C.; Ferecatu, I.; Borot, M. C.; Andreau, K.; Martens, J. A.; Fleury, J.; Baeza-Squiban, A.; Marano, F.; Boland, S., Carbon black and titanium dioxide nanoparticles elicit distinct apoptotic pathways in bronchial epithelial cells. *Particle and Fibre Toxicology* **2010**, *7*, 10.
26. Sioutas, C.; Delfino, R. J.; Singh, M., Exposure Assessment for Atmospheric Ultrafine Particles (UFPs) and Implications in Epidemiologic Research. *Environmental Health Perspectives* **2005**, *113* (8), 947-955.
27. Pulskamp K, Diabate S, Krug HF. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants. *Toxicology Letters* **2007**, *168*, 58–74.
28. Kim, W.-U.; Lee, W.-K.; Ryoo, J.-W.; Kim, S.-H.; Kim, J.; Youn, J.; Min, S.-Y.; Bae, E.-Y.; Hwang, S.-Y.; Park, S.-H.; Cho, C.-S.; Park, J.-S.; Kim, H.-Y., Suppression of collagen-induced arthritis by single administration of poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles entrapping type II collagen: A novel treatment strategy for induction of oral tolerance. *Arthritis & Rheumatism* **2002**, *46*, 1109-1120.
29. Ciftcioglu, N.; Aho, K.M.; McKay, D.S.; Kajander, E.O., Are apatite nanoparticle safe?. *The Lancet* **2007**, *389*, 2078.

30. Dykman, L. A.; Sumaroka, M. V.; Staroverov, S. A.; Zaitseva, I. S.; Bogatyrev, V. A., Immunogenic Properties of Colloidal Gold. *Biology Bulletin* **2004**, *31* (1), 75-79.
31. Mitchell, L. A.; Lauer, F. T.; Burchiel, S. W.; McDonald, J. D., Mechanisms for how inhaled multiwalled carbon nanotubes suppress systemic immune function in mice. *Nature Nanotechnology* **2009**, *4* (7), 451-456.
32. Mayer, A.; Vadon, M.; Rinner, B.; Novak, A.; Wintersteiger, R.; Frohlich, E., The role of nanoparticle size in hemocompatibility. *Toxicology* **2009**, *258* (2-3), 139-147.
33. Geiser, M.; Rothen-Rutishauser, B.; Kapp, N.; Schurch, S.; Kreyling, W.; Schulz, H.; Semmler, M.; ImHof, V.; Heyder, J.; Gehr, P., Ultrafine Particles Cross Cellular Membranes by Nonphagocytic Mechanisms in Lungs and in Cultured Cells. *Environmental Health Perspectives* **2005**, *113* (11), 1555-1560.
34. Rothen-Rutishauser, B. M.; Schurch, S.; Haenni, B.; Kapp, N.; Gehr, P., Interaction of Fine Particles and Nanoparticles with Red Blood Cells Visualized with Advanced Microscopic Techniques. *Environmental Science & Technology* **2006**, *40* (14), 4353-4359.
35. Koziara, J.; Oh, J.; Akers, W.; Ferraris, S.; Mumper, R., Blood Compatibility of Cetyl Alcohol/Polysorbate-Based Nanoparticles. *Pharmaceutical Research* **2005**, *22* (11), 1821-1828.
36. Oyewumi, M. O.; Yokel, R. A.; Jay, M.; Coakley, T.; Mumper, R. J., Comparison of cell uptake, biodistribution and tumor retention of folate-coated and PEG-coated gadolinium nanoparticles in tumor-bearing mice. *Journal of Controlled Release* **2004**, *95* (3), 613-626.
37. Geys, J.; Nemmar, A.; Verbeke, E.; Smolders, E.; Ratoi, M.; Hoylaerts, M. F.; Nemery, B.; Hoet, P.H.M., Acute Toxicity and Prothrombotic Effects of Quantum Dots: Impact of Surface Charge. *Environmental Health Perspectives* **2008**, *116* (12).
38. Pante, N.; Kann, M., Nuclear Pore Complex Is Able to Transport Macromolecules with Diameters of 39 nm. *Molecular Biology of the Cell* **2002**, *13* (2), 425-434.
39. Nabiev, I.; Mitchell, S.; Davies, A.; Williams, Y.; Kelleher, D.; Moore, R.; Gun'ko, Y. K.; Byrne, S.; Rakovich, Y. P.; Donegan, J. F.; Sukhanova, A.; Conroy, J.; Cottell, D.; Gaponik, N.; Rogach, A.; Volkov, Y., Nonfunctionalized Nanocrystals Can Exploit a Cell's Active Transport Machinery Delivering Them to Specific Nuclear and Cytoplasmic Compartments. *Nano Letters* **2007**, *7* (11), 3452-3461.
40. Ahamed, M.; Karns, M.; Goodson, M.; Rowe, J.; Hussain, S. M.; Schlager, J. J.; Hong, Y., DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2008**, *233* (3), 404-410.
41. Papageorgiou, I.; Brown, C.; Schins, R.; Singh, S.; Newson, R.; Davis, S.; Fisher, J.; Ingham, E.; Case, C. P., The effect of nano- and micron-sized particles of

- cobalt-chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials* **2007**, 28 (19), 2946-2958.
42. 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. *Journal of Toxicological Sciences* **2008**, 33 (1), 105-116.
 43. Takahashi, S.; O., M., Cross placental transfer of 198Au-colloid in near term rats. *J Radiat Res* **1981**, 22(2), 242-249.
 44. Challier, J.; Panigel, M.; Meyer, E., Uptake of colloidal 198Au by fetal liver in rat, after direct intrafetal administration. *International Journal of Nuclear Medicine & Biology* **1973**, 1 (2), 103-6.
 45. Sadauskas, E.; Wallin, H.; Stoltenberg, M.; Vogel, U.; Doering, P.; Larsen, A.; Danscher, G., Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. *Particle and Fibre Toxicology* **2007**, 4 (1), 10.
 46. Wick, P.; Malek, A.; Manser, P.; Meili, D.; Maeder-Althaus, X.; Diener, L.; Diener, P.-A.; Zisch, A.; Krug, H. F.; von Mandach, U., Barrier Capacity of Human Placenta for Nanosized Materials. *Environmental Health Perspectives* **2010** 118 (3).
 47. Chu, M.; Wu, Q.; Yang, H.; Yuan, R.; Hou, S.; Yang, Y.; Zou, Y.; Xu, S.; Xu, K.; Ji, A.; Sheng, L., Transfer of Quantum Dots from Pregnant Mice to Pups Across the Placental Barrier *Small* **2010**, 6 (5), 670 - 678. 166
 48. Sharma, H. S.; Sharma, A., Nanoparticles aggravate heat stress induced cognitive deficits, blood-brain barrier disruption, edema formation and brain pathology. *Progress in Brain Research* **2007**, 162, 245-273.
 49. Sharma, H. S.; Ali, S. F.; Hussain, S. M.; Schlager, J. J.; Sharma, A., Influence of Engineered Nanoparticles from Metals on the Blood-Brain Barrier Permeability, Cerebral Blood Flow, Brain Edema and Neurotoxicity. An Experimental Study in the Rat and Mice Using Biochemical and Morphological Approaches. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **2009**, 9, 5055-5072.
 50. Elder, A.; Gelein, R.; Silva, V.; Feikert, T.; Opanashuk, L.; Carter, J.; Potter, R.; Maynard, A.; Ito, Y.; Finkelstein, J. N.; Oberdorster, E., Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environmental Health Perspectives* **2006**, 114, 1172-1178.

現在の評価システムのナノマテリアルを含む医療機器への適用の妥当性

規制というものは、予想される医療給付に比べて、医療機器を使用するときの患者への潜在的な生物学的なリスクを最小限に抑えるためのフレームワークを作成することを目指している。したがって、市場に医療機器を投入するために、製造者は適切な利益/リスク比を正当化する必要がある。ナノテクノロジーの発達は、新しい診断と治療のアプリケーションの面で多くの希望をもたらす一方で、完全には解明されていない潜在的な有害な生物学的効果が存在するのではないかという問題を提起する。ナノ物質の特性と挙動については、しばしばそれらのバルク物質の特性と挙動とは異なっているが、利益/リスク比を見積もる方法や現状のリスク管理手法はこれらナノマテリアルを含む医療機器に適用可能であろうか。

1. 医療機器に関連する現在の規制のレビュー

医療機器のための現在の規制は、いくつかの欧州指令に基づくものであり、主なものは以下のとおりである。能動型植込み型医療機器(AIMD)に関連する Directive 90/385/EC と医療機器に関連する Directive 93/42/E¹⁾ (最近改訂され、Directive 2007/47/EC²⁾に統合) と生体外診断機器に関連する Directive 98/79/EC である。これらの指令は、医療機器メーカーがリスク管理に責任があるという前提に基づいている。

このように、欧州市場に医療機器を市場にだすためには、その機器が欧州指令の別表 I に示されている、特に重要な安全要件に準拠しているということを、患者や医療従事者によるそのような医療機器の使用によって生じるリスクを最小限に抑えるために、機器の有効性と安全性の観点から具体的な証拠を提供することにより製造者は証明する必要がある。

2. Directive 93/42/EC および CE ラベリング

Directive 93/42/EC では、医療機器はリスクのレベルに応じて 4 つのクラス(使用期間、侵襲性、能動的な医療機器、等) に分類される。I は低リスク; IIa、IIb と III は高リスクである。例えば、中枢神経系、心臓や循環系と接触する侵襲的機器やインプラントだけでなく、抗菌性の銀ナノ粒子のような治療物質を組み込んだ機器は、グループ III に分類される。

AIMD と同様にクラス IIa、IIb および III との医療機器については、Directive 93/42/EC への準拠については公認機関として知られている独立した組織によって評価されます。適格と判断された場合には、製造者が欧州市場で自社製品を販売できるように、CE ラベリングの証明書を発行する。例えばフランスの例では、ヒトへの健康のリスクが高い医療機器 (IIA、IIB、III クラスおよび AIMD) については、製造者、代理人または販売代理店は、フランス国内での使用についてフランス保健製品安全庁 (AFSSAPS)

に通知しなければならない。またラベルと使用説明書のコピーを提出しなければならない。クラス I 製品については、製造者あるいはフランス国内本社の代理人による AFSSAPS への届け出で十分である。医薬品の場合とは異なり、AFSSAPS は医療機器の製造販売承認を発行しない。医療機器が市場に投入された後、AFSSAPS は警戒活動に入り、市場を監視し、必要であれば、適切な健康安全措施を講じる。

2010 年 3 月に適用された Directive 2007/47/EC では、適合性評価手続における臨床データの必要性が増大した。また CE ラベリング取得後、医療機器を監視する市販後臨床フォローアップの概念が導入されている。

3. EN ISO 14971 規格（リスクマネジメント）

欧州指令で規定された医療機器にとって不可欠な健康安全要件は、達成すべき結果と記述されるべき危険性（リスク）を規定しているが、技術的な解決法を提供していない。欧州統一規格への準拠は自主的であり、これらの本質的な要件に適合していることを前提としている。国際標準化機構（ISO）が発行した、EN ISO 14971 規格は「医療機器へのリスク管理の応用」と題されている³⁾。

この国際規格は、製造者が医療機器のライフサイクルを通して現状のプロセスを実行し、記録し、維持することを助ける。その目的は、使用する医療機器に関連した有害な事象を明確にし、それらの有害事象に関連したリスクを見積り、評価し、そして管理して、これらの管理方法の有効性を監視するためである。製造者は定められた順序で、次の原則に準拠しなければならない。

- できるだけ多くのリスクを除去または軽減すること（固有の安全設計と製造工程）。

健康と安全に関連した高レベルの保護を確実にするため、設計時に存在している技術や経験とともに、関連するいかなる技術的および経済的洞察を考慮に入れること。

- 必要に応じて、除去することができないリスクに関連した警告を含め、適切な保護措置をとること。

- 講じた防護措置の欠陥に起因する残存するリスクをユーザーに通知すること。

リスクマネジメントは、医療機器の初期設計段階から適用される。安全係数に影響を及ぼす可能性があり、医療機器の特性を識別するために使用することができる質問のリストは、EN ISO 14971 の Annex C に記載されている。

この規格の Annex I は、生物学的危険性に関連したリスク分析の適用に関するガイダンスを与える。その範囲は、細胞毒性、皮膚・眼・粘膜表面への刺激性、急性全身毒性や溶血などの短期的なものから、感作性、遺伝毒性、亜急性・亜慢性および慢性効果、発がん性などの長期的な影響のもの、または催奇形性を含む生殖への影響をも含む。生物学的なリスク分析は、次のものが含まれている必要がある：

- 物理的および化学的特性

- 臨床使用またはヒト暴露データの履歴
- 製品とその要素材料に関する既存の毒性および他の生物学的安全性データ
- EN ISO 10993-part1 の枠組みの中での試験手順

4. EN ISO 10993 規格（生物学的評価）

「医療機器の生物学的評価」としてまとめられている、EN ISO 10993 シリーズには現在 20 のパートがあり（表 1 を参照）^{3,4)}、いくつかは改訂中である。EN ISO 10993-1 「リスク管理プロセス内の評価とテスト」では、医療機器に付帯する生物学的リスク評価のための一般的な原則を定めている。EN ISO 10993 に記述されている試験法の利用は、生物学的な反応を評価するために使用される方法に科学的な有効性をもたらす。また、動物の倫理的な利用を確保するために必要な措置をとる一方で、医療機器の生物学的安全性評価に関するより大きな保証を提供する。

EN ISO 10993-1 は明示的に医療機器の生物学的リスクを評価するためのプロセスの概要を説明している。EN ISO 10993-1 は、人体との接触の特性や期間に応じた医療機器の分類に基づいて、生物学的応答を評価するために取り組むべき主な課題を決定している。

この 考察 に基づいて考慮されるべき様々な生物学的なリスクをまとめた表は、EN ISO 10993-1 の Annex A に記載されている。主要な生物学的な影響は次のとおりである。細胞毒性、感作性、刺激や皮内反応、全身毒性（急性、亜急性/慢性）、遺伝毒性、注入（局所毒性）及び血液適合性。その表は、実施すべきテストの網羅的なリストを提供しているのではなく、生体に暴露された際の性質や期間に関連して医療機器に最も適した生物学的リスク評価プログラムを作り上げるための指針の枠組みを提供しているのである。これらの線に沿って、あるいは特別な状況に応じて、下記のようなより詳細な生物学的リスクもまた評価されるべきである：慢性毒性、発がん性、生分解性、免疫毒性、生殖/発生毒性または他の任意の特定の毒性（例えば神経毒性）。生物学的リスク評価プログラムは、特定の応用における医療機器に応じて、よく周到に考えられそして十分に根拠を与えられるべきである。

引用文献

1. Council of the european communities, Directive 93/42/EEC concerning medical devices. 1993
2. European parliament; Council of the european communities, Directive 2007/47/EC concerning medical devices. 2007.
3. ISO, EN ISO 14971 : Medical devices – Application of risk management to medical devices. 2009.
4. ISO, EN ISO 10993-1: Biological evaluation of medical devices. 2010

表 1. EN ISO 10993 規格シリーズに含まれているパートのリスト

パート 1 : リスク管理プロセス内の評価とテスト
パート 2 : 動物愛護について
パート 3 : 遺伝毒性、発がん性、生殖毒性に関する試験
パート 4 : 血液との相互作用のためのテストの選択
パート 5 : <i>in vitro</i> で細胞毒性のためのテスト
パート 6 : 移植後の局所的な影響のためのテスト
パート 7 : エチレンオキサイド滅菌残
パート 8 : 生物学的試験のために使用される標準物質の選定と資格
パート 9 : 潜在的な分解生成物の同定と定量化のためのフレームワーク
パート 10 : 刺激性および皮膚感作性に関する試験
パート 11 : 全身毒性のテスト
パート 12 : サンプル調製と参考資料
パート 13 : 高分子医療機器の分解生成物の同定と定量
パート 14 : セラミックスからの分解生成物の同定と定量
パート 15 : 金属および合金からの分解生成物の同定と定量
パート 16 : 分解生成物と浸出用トキシコキネティクス試験デザイン
パート 17 : 浸出性物質の許容限度の確立
パート 18 : 材料の化学的特性
パート 19 : 物理化学、材料の形態学的 (技術仕様書)
パート 20 : 医療機器の免疫毒性学試験の原則と方法 (技術仕様書)

ナノマテリアルを含有する医療機器に関する注意事項

ここでは、ナノマテリアルを含有する医療機器のリスク評価において、注意すべき事項を記述する。「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準」(GLP)に従って、in vivo または in vitro 試験を実施すべきことは言うまでもない。

1. 医療機器に使用されるナノマテリアルの物理化学的性質及びバッチ再現性

ナノマテリアルを含有する医療機器の生物学的リスク評価を行う前に、系統的かつ正確な手法によってナノマテリアルの特性評価を行うことが不可欠である。それによって、ナノマテリアルの正確な毒性評価を実施し、得られた評価結果の再現性を保証することが可能になる。また、ナノマテリアルの毒性試験は、可能な限り臨床に近似した条件下で実施すべきである。

ISO 10993-1 によれば、材料の特性評価は生物学的リスク評価プロセスの中で不可欠な要素である¹⁾。次の理由により高い精度の特性評価が重要である。

- 1) 動物実験の結果をより効率的に解釈できる。
- 2) 材料について何らかの変更（供給元の変更、製造工程の変更など）に伴うリスクの理解を深め、試験バッチの再現性を確保する。

ISO 10993-18 および ISO 10993-19 に記載されている材料の特性評価は、バルク形態の化学物質について規定したものである^{2,3)}。しかし、医療機器に使用されるナノマテリアルの潜在的毒性には多くの物理化学的パラメータが影響すると考えられる。したがって、ナノマテリアルに特有の特性評価が必要である。医療機器に使用するナノマテリアルの特性評価をより適切に行うために、以下の 8 つの物理化学的パラメータが推奨される。

- サイズとサイズ分布
- 形態
- 凝結／凝集状態
- 溶解度および分散性
- 比表面積
- 化学組成および結晶構造
- 表面電荷
- 界面化学

上を示したパラメータは包括的リストではなく、ナノマテリアルを含有する医療機器

の生物学的リスク評価において、最も適切な特性パラメータを決定する必要があり、さらに必要に応じて補足すべきである。機器の製造工程や使用期間中に一部のパラメータが経時的に変化することがあることにも注意を払うべきである。

生物学的リスク評価の前に、医療機器に使用するナノマテリアルの正確な組成を知ることが重要であることは言うまでもない。さらに、カーボンナノチューブ（CNTs）のように、不純物が多量に存在し、それが医療機器の毒性に影響を及ぼすおそれがあるので、不純物には特に注意を払うべきである。

ナノマテリアルを含有する医療機器の製造業者は、使用するナノマテリアルの特性評価に妥当性、バッチ間再現性があり、そして、生物学的リスク評価に使用する試料が製造したバッチと厳密に一致するよう注意しなければならない。

2. 試料調製及び用量マトリクス

試料および参照材料の調整は、ISO 10993-12 に規定されている⁴⁾。一般に、試料には医療機器そのもの、医療機器の一部または抽出物が使われる。

試料の調製

ISO 10993-12 によれば、動物試験は医療機器と直接接触させた状態でも抽出物を使用しても実施できる⁴⁾。しかし、試料の調製方法は、ナノスケールの構造的特徴に適応させるべきである。

ナノマテリアルが医療機器のマトリックスに強固に固定されているときは、直接接触と抽出物のいずれを使用するかにかかわらず、現行の試料調製法を適用すべきである。ただし、試料表面に存在するナノマテリアルの潜在的に高い反応性を考慮することも重要である。

一方、遊離または凝集したナノマテリアルや抽出時にナノマテリアルを放出する医療機器では注意が必要である。一般に、個別のケースに応じて調製する必要があり、評価結果もケースバイケースで解釈すべきである。特に、ISO 10993-12 で推奨されている抽出溶媒中で遊離ナノマテリアルの挙動を確認すべきである。取り分け、凝結／凝集塊の溶解および形成は生物学的応答を変化させる可能性がある。

分散の重要性

一般的に、生物学的リスク評価のための試験方法は、可溶性化学物質のために開発されている。遊離ナノマテリアルは、凝結／凝集塊を形成しやすい。超音波などの物理的方法や界面活性剤または分散剤の添加によって、遊離ナノマテリアルの分散性を改善し、場合によっては安定度を高めることができるが、こうした状態はもはや臨床条件を反映したものではなく、生物学的リスク評価を改変する可能性がある。さらに、一部の界面活性剤は生物活性があるため、試験結果に影響するおそれがある。

血清を含有する培地には、分散剤として作用する可能性のあるタンパク質（例えばアルブミン）が含まれている。しかし、血清の組成は必ずしも厳密にコントロールできず⁵⁾、in vitro 試験結果を in vivo 試験結果に外挿するときには注意が必要である^{6,7)}。また、血漿タンパク質はナノマテリアルに迅速に吸着し、生物学的応答に影響するおそれがある。

一般論として、生物学的リスク評価は、特に凝結／凝集に関して、臨床条件を最も良く反映した実験条件下で行うべきである。そして、試料の調整方法にかかわらず、分散性と安定性とのバランスに注意しなければならない。

参照試料

参照材料を使用することによって、特定の試験条件下での材料の生物学的応答を定性的かつ定量的に決定することができる。ナノマテリアルの場合、試験プロトコルが標準化されておらず、物理化学的パラメータが明確に確立されていないために、使用できる参照材料が少ない。そのため、適切に特性評価済みのナノマテリアルについての十分なデータを収集することが必要とされている。だからこそ、試料について徹底的な特性評価を行うことが重要である。

用量マトリクス

試料の用量マトリクスという概念は生物学的リスク評価において重要である。ナノマテリアルの場合には、質量メトリクスより、比表面積が毒性評価において妥当な用量メトリクスであるという考えがある⁸⁾。ナノマテリアルの細胞内送達は、サイズおよび比表面積に依存するという報告がある⁹⁾。確かに、比表面積の利点は、このパラメータが凝集状態に依存しないということである（ただし、凝結状態には依存する）。一方、用量メトリクスとして粒子数を提案している研究者もいる¹⁰⁾。さらに、ナノポーラス材料では多孔率も考慮される。したがって、動物実験において通常使用されている単位である質量は、おそらくナノマテリアルの用量マトリクスとして適当ではないだろう。比表面積または粒子数に応じて試料を調整した方が生物学的リスクをよく反映すると考えられる場合には、これらは許容できる。また、それと同時に、質量と比表面積または粒子数との関係を導くことが賢明であろう。

3. トキシコキネティクスおよび生分解性

ISO 10993-16 によれば、次の場合にトキシコキネティクス試験が推奨される¹¹⁾。

- 機器が生体吸収性である場合
- 長期埋植機器で、生分解性または腐食性であることが知られているか予想できる場合、または、機器から浸出物が移行する場合

- 臨床使用中に機器から体内に潜在的に毒性または反応性のある分解生成物または浸出物が大量に放出されることが想定されるか知られている場合

ISO 10993-16 によれば、ナノマテリアルを含有し、人体と直接接触する医療機器、取り分け埋植機器については、トキシコキネティクス試験を検討すべきである¹¹⁾。特に、遊離ナノマテリアルまたは容易に放出されるナノマテリアルを含有している医療機器の生物学的リスク評価には、トキシコキネティクス試験が不可欠である。

試験方法は、医薬品用にデザインされた ADME 試験を応用してもよい^{12,13)}。ただし、ナノマテリアルの特性は、通常の方法の特性とは異なると考えられる。遊離ナノマテリアル（ナノスケールの分解生成物を含む）の吸収、分布、代謝および排出は、投与経路、動物種、ナノマテリアルのサイズおよび表面特性の 4 つの因子に依存する¹²⁾。選択したマーカーが遊離ナノマテリアルの物理化学的または生物学的性質を改変して生体内分布に影響することがないように注意する。また、試験中はマーカーが遊離ナノマテリアルに付着していることを確認することも重要である。

PET や蛍光標識などの画像技術は、定量的データが得られないものの、遊離ナノマテリアルの生体内分布の定性的評価には適している。

このトキシコキネティクス試験によって、その後に行う毒性試験を整理することができるので、より適切なリスク評価結果が得られるはずである。

4. 細胞毒性試験

ISO 10993-5 は、医療機器、材料およびその抽出物の潜在的な細胞毒性を判定するための *in vitro* 試験を規定している¹⁴⁾。その目的は、以下のことを評価することにある。

- 細胞溶解（細胞死）
- コロニー形成および細胞増殖の阻害
- その他の細胞に及ぼす影響（例えば、形態、膜病変、代謝機能不全、炎症反応）

試験方法として、ニュートラルレッド法、コロニー形成法、MTT 法および XTT 法などが記載されている。

ナノマテリアルによる細胞毒性試験の妨害

ナノマテリアルが比色定量結果や蛍光分析結果に影響するおそれがある。例えば、炭素系ナノ材料はニュートラルレッドの分子を吸着し、偽陽性になることが知られている¹⁵⁾。また、トリパンブルーによる標識後はナノマテリアルの凝結／凝集塊が細胞を覆い、細胞数の解釈が難しい¹⁵⁾。さらに、CNTs が MTT と相互作用して、細胞生存率を反映する比色反応を妨げる¹⁶⁾。一方、CNTs は、WST、XTT および INT とは相互作用しな

い¹⁶⁾。こうした試薬を原因とする問題を解消するために、コロニー形成試験を提唱する研究者もいる¹⁷⁾。

ナノマテリアルが試験結果に及ぼす潜在的な影響を考慮する際は、選択した細胞毒性試験の再現性、信頼性および感受性に注意を払う必要がある。特に、比色試薬や蛍光試薬を使用する試験ではナノマテリアルとの間で起こりうる妨害に注意すべきである。

5. 遺伝毒性試験

ISO 10993-3 に規定されている遺伝毒性試験は、侵襲性医療機器または生体と長期的／永久的に接触する医療機器の生物学的リスク評価にとって重要である¹⁸⁾。

In vitro 遺伝毒性試験

ISO 10993-3 では、一連の in vitro 遺伝毒性試験が推奨されている¹⁸⁾。

- 次の3種類の in vitro 試験
 1. 細菌を使った復帰突然変異試験（エームス試験）
 2. 哺乳類細胞を使った遺伝子突然変異試験
 3. 哺乳類細胞を使った染色体異常試験

または、

- 上記試験1とマウスリンフォーマ試験

ナノマテリアルは細菌細胞膜を通過するのが困難であると思われるし、原核生物にはエンドサイトーシスにより異物を取り込む能力がない。しかも、遺伝毒性の作用機序は、主としてナノマテリアルとミトコンドリアの相互作用に起因するが、その相互作用は細菌では検出できない。そのため、ナノマテリアルの細菌復帰突然変異試験では、偽陰性が生じる可能性がある^{19,20)}。別の in vitro 試験（例えば、コメットアッセイまたは小核試験）に変更する必要があるだろう。

コメットアッセイは小核試験に比べて信頼性が低いが、ナノマテリアルによる DNA の一次損傷性を確認するためには適している。

In vitro 小核試験も、ナノマテリアルに適していると考えられる。初代リンパ球などのヒト細胞を優先させるべきである。また、Cytochalasin B を使って分裂細胞を同定する場合には、ナノマテリアルのエンドサイトーシスやエキソサイトーシスとの間に妨害がないことをあらかじめ確認すべきである。このような妨害は、超常磁性鉄ナノ粒子で認められている²¹⁾。

試験方法にかかわらず、初代細胞株または哺乳動物の継代細胞株を使用する場合には、後者の表現型発現に関する情報が必要である。また、細胞内および細胞外のナノマテリアルの動態は、細胞のエンドサイトーシスおよびエキソサイトーシスの能力に依存

するので、使用するすべての細胞株についてその情報を記録すべきである。さらに、ナノマテリアルが毒性を示すためには、細胞内に取り込まなければならない場合がある¹⁹⁾。取り込み速度は取り込みプロセスとナノマテリアルの種類によって大きく変動するので、使用する細胞株におけるナノマテリアルのエンドサイトーシスおよびエキソサイトーシスに応じて試験プロトコルを適応させるべきである。

In vivo 遺伝毒性試験

In vivo 試験は、in vitro 試験によって確認された最も適切なクライテリアに基づいて選択しなければならない。また、試験物質が標的器官に到達していることを確認すべきである。In vivo 試験では、臨床条件をよく反映した投与経路および曝露条件を使用すると同時に、誘発された炎症レベルを示すべきである。特に、マクロファージおよび多核好中球など炎症に関与する細胞の動員を考慮に入れる必要がある。

遺伝毒性試験に関する勧告

いずれの医療機器においても、遺伝毒性を評価するためには、少なくとも 2 種類の in vitro 試験と 1 種類の in vivo 試験を行うべきである。原則として、医療機器に遺伝毒性があることが立証されたら、その開発は中止すべきである。ナノマテリアルの使用を正当化するためには、その使用によって期待されるベネフィットと毒性プロファイルとを常に対比して検討しなければならない。

6. 免疫毒性、遅延型過敏症及び刺激性

ISO 10993-10 は刺激性試験および遅延型過敏症試験を規定し²²⁾、ISO/TS 10993-20 は医療機器の免疫毒性試験に関する原則と方法を示している²³⁾。

樹状細胞またはマクロファージなどの免疫反応に関与する細胞は、ナノマテリアルの運搬および排出にも関与する。したがって、免疫毒性では、それらの細胞との相互作用を考慮に入れるべきである。

LLNA（局所リンパ節試験）は、ナノマテリアル、例えば局所塗布用化粧品に含まれる TiO₂ ナノ粒子の評価によく使用される。ただし、LLNA 試験では偽陽性が観察されることがあるので、刺激性物質とアレルゲンとの区別が課題である²²⁾。また、ナノマテリアルは、他の物質による感作性を増悪または緩和することによって、アジュバント効果または免疫抑制効果を誘導することもある。

初回に皮内注射を行う Magnusson and Kligman の試験は、材料が皮膚バリアを通過するので、より感受性が高い²²⁾。ナノマテリアルが皮膚曝露後に遅延型過敏症および免疫毒性を惹起する可能性は、表皮層を通過する能力と生体タンパク質と相互作用する能力に依存する。このタンパク質-ナノマテリアル複合体は免疫系によって認識され、生物学的作用に影響することがある。

刺激性試験または皮内反応試験については、現行規格が適用可能であろう。しかし、皮膚刺激性については、皮内投与の手法が均一溶液用に設計されているので、不溶性ナノマテリアルを含有する懸濁液を使った実験結果を解釈するときには注意が必要である。また、in vitro での前炎症性サイトカインの放出時にナノマテリアル（特に、カーボンブラックおよび二酸化チタン）の存在がアーチファクトを引き起こすおそれがある²⁴⁾。

7. 血液適合性試験

ISO 10993-4 の血液適合性評価には、血液学的項目、血栓形成、血液凝固、血小板および補体系の 5 つのパラメータがある²⁵⁾。一部のナノマテリアルは、血小板の活性化作用がある。したがって、ナノマテリアルを含有する埋植医療機器において、ナノマテリアルが血液と直接的または間接的に接触する場合や遊離ナノマテリアルが血液中に放出する可能性がある場合には、血液適合性評価を行うべきである。ナノマテリアルの in vitro 血液適合性評価に関しては、ASTM E2524-08 が利用できる²⁶⁾。

8. 全身毒性試験（急性、亜急性／亜慢性および慢性）

ISO 10993-11 は、急性、亜急性／亜慢性および慢性の全身毒性試験について規定している²⁷⁾。

ナノマテリアルを含有する医療機器の全身毒性試験は、臨床的、生物学的および病理解剖学的パラメータを含め、可能な限り実施すべきである。ナノマテリアルが可溶性であるか不溶性であるか、そしてナノマテリアルの長期生体内持続性に応じて、試験プロトコルおよび曝露期間を設定する必要がある。ナノマテリアルの種類によっては、追加の組織学的検査を行う必要がある。

生体器官またはシステムは、たとえ生理学的バリアによって保護されていても、遊離ナノマテリアルの影響を受ける可能性がある。したがって、これらの潜在的標的器官については、下記のような部位別に検討する必要がある。

- 心肺系（肺、心臓および血管など）
- 神経系（脳、脊髄および神経など）
- 消化器系（肝臓、胃、膵臓および腸など）
- リンパ系（胸腺、脾臓、リンパ節および骨髄など）
- 泌尿生殖器系（腎臓および生殖器など）

9. 発癌性、生殖毒性および神経毒性

医療機器の正常時および異常時に関連するリスクに応じて、追加の評価（発癌性、生殖毒性／発達毒性、神経毒性など）を実施する必要がある。

現時点では、ナノマテリアルに発癌性、神経毒性、催奇形性または生殖毒性があるかどうかを明確に確認することはできないが、そうしたリスクを除外することもできない。

一般に、遺伝毒性は発癌性を誘発する可能性がある。しかし、遺伝毒性がなくても発癌性は成立しうる。したがって、リスク解析では、これら2種類のリスクを個別に検討しなければならない。発癌性のリスクは臨床的に検証できないため、医療機器の使用目的とトキシコキネティクス試験の結果を考慮に入れながらリスクを解析する必要がある。

また、ナノマテリアルは胎盤関門を通過できるので、医療機器の使用目的に応じて催奇形性のリスクも検討すべきである。

ISO 10993 シリーズでは神経毒性について規定されていない。しかし、遊離ナノマテリアルが生理学的バリア、特に血液脳関門を通過する性質を見過ごしてはならない。医療機器の使用目的とその曝露経路に応じて神経毒性のリスクも検討すべきである。

引用文献

1. ISO, ISO 10993-1: Biological evaluation of medical devices - Evaluation and testing within a risk management process. 2010.
2. ISO, ISO 10993-18: Biological evaluation of medical devices - Chemical characterization of materials. 2009.
3. ISO, ISO/TS 10993-19: Biological evaluation of medical devices - Physico-chemical, morphological and topographical characterization of materials. 2006.
4. ISO, ISO 10993-12: Biological evaluation of medical devices - Sample preparation and reference materials. 2009.
5. Sayes, C. M.; Reed, K. L.; Warheit, D. B., Assessing Toxicity of Fine and Nanoparticles: Comparing In Vitro Measurements to In Vivo Pulmonary Toxicity Profiles. *Toxicological Sciences* **2007**, 97 (1), 163-180.
6. Maynard, A. D., Nanotechnology: The Next Big Thing, or Much Ado about Nothing? *Annals of Occupational Hygiene* **2007**, 51 (1), 1-12.
7. Hagens, W. I.; Oomen, A. G.; de Jong, W. H.; Cassee, F. R.; Sips, A. J. A. M., What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2007**, 49 (3), 217-229.
8. Oberdörster, G., Toxicology of ultrafine particles: in vivo studies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **2000**, 358 (1775), 2719-2740.
9. Teeguarden, J. G.; Hinderliter, P. M.; Orr, G.; Thrall, B. D.; Pounds, J. G., Particokinetics

- In Vitro: Dosimetry Considerations for In Vitro Nanoparticle Toxicity Assessments. *Toxicol. Sci.* **2007**, 95 (2), 300-312.
10. Wittmaack, K., In Search of the Most Relevant Parameter for Quantifying Lung Inflammatory Response to Nanoparticle Exposure: Particle Number, Surface Area, or What? *Environ Health Perspect. February* **2007**, 115 (2), 187-194.
 11. ISO, ISO 10993-16: Biological evaluation of medical devices - Toxicokinetic study design for degradation products and leachables. 2009.
 12. Zolnik, B. S.; Sadrieh, N., Regulatory perspective on the importance of ADME assessment of nanoscale material containing drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2009**, 61 (6), 422-427.
 13. Afssaps, Recommandations relatives a l'évaluation toxicologique des médicaments sous forme nanoparticulaire. 2008.
 14. ISO, ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices - Tests for in vitro cytotoxicity. 2010.
 15. Monteiro-Riviere, N. A.; Inman, A. O.; Zhang, L. W., Limitations and relative utility of screening assays to assess engineered nanoparticle toxicity in a human cell line. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2009**, 234 (2), 222-235.
 16. Worle-Knirsch, J.; Pulskamp, K.; Krug, H., Oops they did it again! Carbon nanotubes hoax scientists in viability assays. *Nano Letters* **2006**, 6 (6), 1261-1268.
 17. Herzog, E.; Casey, A.; Lyng, F. M.; Chambers, G.; Byrne, H. J.; Davoren, M., A new approach to the toxicity testing of carbon-based nanomaterials—The clonogenic assay. *Toxicology Letters* **2007**, 174 (1-3), 49-60.
 18. ISO, ISO 10993-3: Biological evaluation of medical devices - Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity. 2009.
 19. Singh, N.; Manshian, B.; Jenkins, G. J. S.; Griffiths, S. M.; Williams, P. M.; Maffeis, T. G. G.; Wright, C. J.; Doak, S. H., NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials* **2009**, 30 (23-24), 3891-3914.
 20. Landsiedel, R.; Kapp, M. D.; Schulz, M.; Wiench, K.; Oesch, F., Genotoxicity investigations on nanomaterials: Methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations—Many questions, some answers. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **2009**, 681 (2-3), 241-258.
 21. Doak, S. H.; Griffiths, S. M.; Manshian, B.; Singh, N.; Williams, P. M.; Brown, A. P.; Jenkins, G. J. S., Confounding experimental considerations in nanogenotoxicology. *Mutagenesis* **2009**, 24 (4), 285-293.
 22. ISO, ISO 10993-10: Biological evaluation of medical devices - Tests for irritation and skin sensitization. 2009.

23. ISO, ISO/TS 10993-20: Biological evaluation of medical devices - Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices. 2006.
24. Val, S.; Hussain, S.; Boland, S.; Hamel, R.; Baeza-Squiban, A.; Marano, F., Carbon black and titanium dioxide nanoparticles induce pro-inflammatory responses in bronchial epithelial cells: need for multiparametric evaluation due to adsorption artifacts. *Inhal Toxicol* **2009**, *21 Suppl 1*, 115-22.
25. ISO, ISO 10993-4: Biological evaluation of medical devices - Selection of tests for interactions with blood. 2009.
26. ASTM International, ASTM E2524-08: Standard test method for analysis of hemolytic properties of nanoparticles. 2008.
27. ISO, ISO 10993-11: Biological evaluation of medical devices - Tests for systemic toxicity. 2009.

結語

ISO の定義によれば、ナノスケールがおおよそ 1~100 nm の 範囲を示すことをふまえ、ここでは、ナノマテリアルを、幅、厚み（直径）、長さなどの 3 次元のうち、2 次元以上が 1~100 nm の物質とすると定義した。一方、薬物運搬体やイメージング剤などの分散系で使用される材料が創薬の範疇であると考え、ここで取り扱う医療機器は、ある程度の大きさを持つことが想定される。すなわち、ナノマテリアルを利用した医療機器とは、これらナノマテリアルを原料として構築されたバルク状のマテリアル、あるいは、生体内で想定期間使用した際に、ナノマテリアルが脱落・生成する可能性がある医療機器となる。

これらのナノマテリアルが特有の新しい物理的、化学的および生物学的特性の概念を持つナノメートルスケールの材料と提唱される限り、予期せぬ生物学的影響を与える可能性を否定は出来ないが、実際には、生体内でナノマテリアルの具体的な毒性が報告された例は見あたらない。

また、ナノマテリアルが医療機器から脱落しないことを担保するのは容易であり、安全性の担保は従来の評価基準で十分対応できる。一方、生分解性マテリアルと複合化するような場合に対しては、ナノマテリアル自体の安全性に関して注意する必要があるが、上述のごとく、妥当な危険性の報告は見あたらない。今後、継続的なサーチは重要であるものの、ナノマテリアルの安全対策に関する検討会報告（平成 21 年 3 月：厚生労働省医薬食品局）にあるように「現時点では、ナノマテリアルに特化した規制を導入するための根拠となる科学的な事実は認められないために、現存制度の下で対応することが当面は妥当」と同様に扱えるものであると結論づけた。

以上の報告を取りまとめるにあたり、その一部に Biological Assessment of Medical Devices Containing Nanomaterials - Scientific Report, (18.8.2011) : Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé).

http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/2551c1616b5fced270dbc1d789557fb3.pdf

を参考にした。

ナノマテリアルを応用した医療機器に関連した最新研究調査

【月日】 2012 年 9 月 26 - 27 日

【内容】 IUMRS-ICEM2012 (International Union of Materials Research Societies - Int'l Conf. on Electronic Materials 2012) における、ナノマテリアルが発現する新たな機能、および、これらナノマテリアルに対して、学会自体、あるいは、演者がどれほど関心をもち、基礎情報を有しているかを調査した。

【報告】 本学会では、ナノマテリアルを取り扱ったシンポジウムが多く開催された。「Nano Carbon Materials (Graphene, Carbon Nanotubes, and Fullerenes)」「Organic Nano-Materials with Flexible Structure and Devices」「Innovative Imaging Technologies and Applications from Nanometrologies to Bioinstrumentations」「Synthesis, Processing, and Characterization of Nanoscale Functional Materials」などのシンポジウムに於いても、ナノ微粒子の機能、特に、エレクトロニクス関連機能の向上が取り上げられた。

ナノマテリアル社会的受容 (Social Acceptance) に関するシンポジウムが一つ開催されたが、主に、酸化セリウムや酸化チタンと言ったエレクトロニクス関連の無機の高活性ナノ粒子と細胞との相互作用が検討され、その取り込みによる細胞の変化が検討されている。しかし、現状では、いわゆる生体における毒性との相関付けの達成は困難であろう。特に、Toll Like Receptor と酸化チタンなどのナノ粒子との関連研究は近年精力的にすすめられているが、医療機器の安全性に関連するナノサイズのマテリアルに外挿するのは妥当性に欠くと考えざるを得ない。



IUMRS-ICEM 2012
IUMRS International Conference on Electronic Materials 2012
September 23 (Sun) - 28 (Fri), 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan

Second Announcement & Call for Papers
Website: <http://iumrs-icem2012.org/>
Announcement: <http://iumrs-j.org/home/en>
Abstract Submission Due: March 31 (Sat), 2012

Contact Details
Chairman: Dr. Akihiro Kobayashi, National Institute for Materials Science (NIMS)
E-mail: kobayashi@nims.go.jp
General Secretary: Prof. Atsushi Suzuki, Yokohama National University
E-mail: suzuki@ynu.ac.jp

Secretariat of IUMRS-ICEM 2012
The Society of Nano-Structural Technology
E-mail: icem2012@nst.go.jp
Tel: +81-3-3508-8611
Fax: +81-3-3597-6135

Committees
International Advisory Board
NIMS Officers
Presidents of NIMS Affiliated Bodies
Organizing Committee
NIMS-J Officers
Program Committee
Organizers of Symposia

Registration Fee		Important Dates	
Early Bird Before 17 July 2012		Online abstract submission system open	
Member of IUMRS or NIMS-J Member of Academic Societies in Cooperation* Resident in Japan	¥60,000		in the end of January 2012
New Member/ Resident in Japan	¥70,000		
Overseas (New Student)	US\$400	Abstract submission deadline	31 March 2012
Student Member of IUMRS or NIMS-J Member of Academic Societies in Cooperation Resident in Japan	¥30,000		
New Student Member/ Resident in Japan	¥40,000	Acceptance notification	in the middle of May 2012
Overseas Student	US\$300		
Standard After 18 July 2012		Online registration open	by the end of May 2012
Member of IUMRS or NIMS-J Member of Academic Societies in Cooperation* Resident in Japan	¥70,000		
New Member/ Resident in Japan	¥80,000	Early bird registration deadline	17 July 2012
Overseas (New Student)	US\$500		
Student Member of IUMRS or NIMS-J Member of Academic Societies in Cooperation Resident in Japan	¥40,000	Conference	23-28 September 2012
New Student Member/ Resident in Japan	¥50,000		
Overseas Student	US\$400		
Onsite			
Member of IUMRS or NIMS-J Member of Academic Societies in Cooperation* Resident in Japan	¥60,000		
New Member/ Resident in Japan	¥70,000		
Overseas (New Student)	US\$400		
Student Member of IUMRS or NIMS-J Member of Academic Societies in Cooperation Resident in Japan	¥30,000		
New Student Member/ Resident in Japan	¥40,000		
Overseas Student	US\$300		

*1 This fee can apply for the members of Academic Societies in Cooperation.
*2 New Member/ Resident in Japan and overseas are acceptable.
*3 Registration fee includes Abstract CD-ROM and Program Book.

Busquet Busquet Fee: ¥10,000
Busquet: Choshiyoshi Yokohama, International Passenger Terminal

Family programs (Option) Sightseeing tours in Yokohama

【月日】 2012 年 10 月 11 - 12 日

【内容】 第 52 回日本核医学会学術総会に参加し、PET (Positron Emission Tomography ; ポジトロンエミッショントモグラフィ) で重要な化学合成プローブ開発におけるナノ材料の重要性、および、これらナノ材料導入に関する関連学会の現状と考え方について調査を行った。



【報告】 第 52 回日本核医学会学術総会は、平成 24 年 10 月 11 日 (木) ～13 日 (土) の 3 日間の予定でロイトン札幌とニトリ文化ホールにおいて開催された。北海道大学医学部核医学講座の継続的かつ活発な研究活動により、昭和 56 年、平成 6 年に続く 3 回目の開催である。本会議では、「核医学の新たな挑戦、個別化医療の推進をめざして」とサブタイトルが付され、核医学検査の中でも PET に大きな注目があつまり、また、長期評価指標としての SPECT が同時に多く取り上げられた。

歴史的にも、PET・SPECT プローブの開発は薬学研究者と核医学研究者により進められ、その実用化は製薬会社が担っていることから、これら放射活性プローブの、レギュレーションが医薬品として取り扱われることで問題は生じていない。主に、これらプローブが経静脈的に投与されることから、体内動態を含めた毒性等の評価が必至なことは自明である。本研究会で取り扱われているプローブは、ミセル性の自己集合型プローブであっても、医療機器として考慮すべきものではなかった。

さて、これらのモダリティーが医療機器の安全性評価の一システムとして有用かを考えた場合、PET はその短い半減期から、医療機器の安全性評価のためには使えない。また、医療機器から経年的に生じるナノサイズの物質 (ナノ粒子など) の長期影響を評価するには、SPECT は使用可能と考えられるが、生じる可能性のある物質自身が体内を移動する可能性がない場合には、局所だけの評価で十分であり、標識化による動態解析は必要ないと考えられる。現在までに、物質のサイズと生体内移行に関しては、数十ナノメートル以上の物質は移動しないことが多く報告されていることより、特に改めて評価する必要は無いと考えるのが妥当であろう。

【月日】 2012 年 10 月 18 日

【内容】 東京医科歯科大学先端生命医科学研究所・東京女子医科大学グローバルCOE
「再生医療本格化のための集学的教育研究拠点」・最先端研究開発支援プログラム
(First) ご所属の清水達也教授に面会し、新たな医療機器の創出におけるレギュレーションに関する経験などに関する情報を収集した。

【報告】 新たな医療機器の創出には常に安全性の確保という大きな課題が生じる。
1970 年頃に、ヒト線維芽細胞からなるシートを作製する技術を確立した Green 博士らは、間もなく重度熱傷の臨床治療にこぎ着けた。しかしながら、その後、この技術を利用した培養表皮の製造承認が降りるまでには 35 年以上という月日を要した。この新たな医療機器に関しては、社会の強い要請にも後押しされるかたちで関連省庁、関連学会からの指針や提言が出された。特に、ヒト細胞・組織を利用した医療と薬事法に関する指針では、我が国独特の情報を考慮した上で、少しでも多くの臨床研究に繋がるよう配慮されており、その結果臨床例数は順調な伸びを見せている。

(http://www.nihs.go.jp/-cgtp/cgtp/sec2/ct_prtcl/prtcl-j.html)

もちろん、安全性の確保という意味では、例えば、輸血製剤や臓器移植製剤など、これまでに確立された安全性の担保指標が大きく役立っている。これらに基づき、清水教授らは First の支援により「臓器ファクトリーの創製」を進め、その安全性の担保に大きな労力を注いできた (<http://twins.twmu.ac.jp/first/>)。一方で、細胞移植により起こるかも知れない“未知の”危険性に関しては、もちろん、十分に警戒しなければならないが、ここは、指針等にも明記することは不可能であり、ドキュメントの厳格化とトレーサビリティが義務化されていることは言うまでもない。

ナノマテリアルを利用した医療機器に関しても、同様に、これまでに明らかな生体内での毒性と関連づけられた事象が見出されているわけではない。すなわち、明確化されていない“リスク”が提唱されている状態である。上述のケースと同様に、十分な警戒を怠ってはならないが、現在の医療機器のレギュレーションで担保している安全性評価方針が、その危険性を十分に低減すると考えられる。

【月日】 2012 年 11 月 7 - 8 日

【内容】 第 49 回ペプチド討論会に参加し、主にナノサイズの合成ペプチドの自己組織化現象を利用したバルク材料で医療機器として用いられる可能性がある素材に関する情報を収集した。

【報告】 本研究会は、主に、化学合成ペプチドが主軸となり、その合成手法や、構造解析などをメインターゲットにしてきた歴史があるが、近年、ペプチド自身が作り出すアンチパラレル β シート構造などの自己組織化を利用した材料を組織工學材料として使用する研究が広がってきている。

例えば、PuraMatri™ と呼ばれるペプチドハイドロゲルは、様々な細胞培養に対し、三次元 (3D) のマイクロ環境を提供する合成マトリックスとして、BD 社より販売されている。もちろん、研究用材料としての販売であるが、このようなメカニズムに基づいた研究と論文発表では、必ずと言って良いほど、3D スキャホールド材料として利用可能であるとのコメントが付されている。

今回の研究会に於いても、「環状 β -ペプチドからなるペプチドナノチューブ」「組織工学を目指した細胞培養用ペプチドヒアルロン酸ゲル」などの研究報告があった。現在のところ、いずれも、基礎的研究であり、生体内で使用するような方向性は見出されていないが、多くの論文に有るように、幹細胞を包埋して、心筋梗塞や下肢虚血治療を目指すインジェクタブルスキャホールドとして利用するとなれば、原材料となる合成ペプチドは分子量が数千程度であることから、基材から容易に遊離して生体内を移行する可能性もある。この場合は、皮下投与・筋内投与後の医薬品の規制範囲に入る可能性があるもので、いわゆる、生体内で基本的には安定に存在する医療機器とは別の範疇と理解した方が良いであろう。



【月日】 2012 年 11 月 22 日

【内容】 第 50 回日本人工臓器学会に大会に参加し、ナノマテリアルを利用した医療機器の安全性評価・機能性評価に関する情報を収集した。

【報告】 本学会では歴史的に人工心臓（補助人工心臓）、および体外循環が主な研究対象とされてきた。しかしながら、近年の再生医療研究の広がりとともに、生物学的、生化学的、分子生物学的ツールや技術を利用した新たな医療機器に対する研究が盛んになってきている。



従来の補助人工心臓および体外循環システムであっても、その血液接触面における抗血栓性の更なる向上のために、ナノテクノロジーを利用した試みが増えつつある。一方で、近年補助人工心臓の中心となりつつある定常流ポンプは、従来とは異なる金属製が中心となっており、その界面には長期間安定的な抗血栓性特性が要求されている。これを達成するために上述したごとくナノテクノロジーの利用、あるいは、ナノサイズの自己集合型修飾システムが検討されている。

そこで、この関連研究の国際的情勢を詳細に把握しておられる、茨城大学工学部機械工学科増澤徹教授に、国内のレギュレーションに関する情勢を聞くとともに、インドをはじめとするアジア諸国でのレギュレーションに関する情報を収集した。基材表面に対する修飾に用いられる材料は、もちろん、血液接触面にあるために、もし脱落すれば血管内に侵入する可能性があるが、いずれも極めて少量の利用であること、また、*in vitro*における安定性の確保により、その安全性が十分に担保されていると理解されようとの方向性が現状であろう。例えば、既に上市されている薬物溶出ステントにおいても、用いられるコーティング素材が内膜肥厚や内皮脱落に繋がる懸念のみが解決の対象となっている。現在までに、ナノサイズの物質を生じる人工臓器の報告が無く、学会でも大きなトピックとなっていないが、今後、考慮すべき検討課題が生じないかは学会として注意深くサーチし続ける必要はあると思われる。

欧州委員会 (EC:European Commision) に設置されている新規及び新たに特定された健康リスクに関する科学委員会 (SCENIHR: Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks) からの「医療機器に使用されているナノマテリアルの健康への影響についての科学的意見のリクエスト (Request for a scientific opinion: Health effects of nanomaterials used in Medical Devices)」に対する、本WGの回答を下記の通り作成した。

Regarding for Medical devices applying “nanomaterials”

A variety of definitions have been made for the size range of nanomaterials, but generally, they are materials with 100 nm or less in the size dimension.

Since, we are considering those applying for preparation of a medical device, we have defined the nanomaterials as follows to exclude simple molecules from the standpoint of materials: regardless of the raw materials, materials with the size ranging from 1 to 100 nm in two or three dimensions among the width, thickness (diameter), and length. When the nanomaterials themselves are used as a medical device and made expression of medical functions, it is necessary to guarantee the absence of immunogenicity, cytotoxicity, and sensitization potential. On the other hand, in the case of the medical devices contain nanomaterials, they may require similar attention nanomaterials themselves. However, its range is narrow. In many cases, it is in the following points described as 1)–7), they can be addressed in the conventional evaluation procedure.

- 1) Even when the materials of the medical devices can be decomposed or hydrolyzed in vivo to the molecular, atomic levels, and ions, the safety of materials is secured.
- 2) When the nanomaterials are tightly bound to conventional materials as surface treating or coating and they shall not be released.
- 3) When the raw nano-sized materials, such as porous silica or alumina, are used as bulk materials after molding it integrally.
- 4) When the nanomaterials were used with liquid as fillers added to as composite resins in dental application and do not fall off easily and eluted, which eventually solidified is assumed.
- 5) When a high-molecular weight polymeric compounds are generated by complete polymerization reaction, although the raw materials are low-molecular weight organic compounds (polymer segments, oligomers, etc.).
- 6) When the medical devices are used in extracorporeal and none of any nanometer-sized compounds are ingested in the body.
- 7) When the bulk materials with the nano-meter sized surface roughness are used and no debris shall be produced in the body in the evaluation of the mechanical properties of the surface.

* Request for a scientific opinion: Health effects of nanomaterials used in Medical Devices:
Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR)
http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_r_q_032.pdf

ナノマテリアルの定義およびリスク評価の考え方について

国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
伊佐間 和郎

医療機器に使用されるナノマテリアルの定義およびリスク評価の参考として、EU および FDA におけるナノマテリアルの定義並びに EFSA における食品分野に使用されるナノマテリアルのリスク評価について調査した。

EU におけるナノマテリアルの定義

主としてサイズおよび比表面積に基づいて、ナノマテリアルを定義している。EU では、ナノマテリアルを新規化学物質として管理する方向で、同一組成の非ナノスケールの既存化学物質と客観的に区別するため、サイズおよび比表面積の範囲を具体的に規定している。また、新規の炭素系ナノマテリアル（フラーレン、グラフェンフレークおよび単層カーボンナノチューブなど）は、すべてナノマテリアルと見なしている。工業原料である化学物質としての管理を目的とした定義としては妥当であろう。

FDA におけるナノマテリアルの定義

FDA の規制対象製品に使用されるナノマテリアルに関する定義である。そのため、ナノマテリアルのサイズに関しては概ね EU におけるナノマテリアルの定義と同等であるが、特記すべきは、サイズのみならずナノスケールによる特性や現象に基づくことに言及したことである。この点が、化学物質の管理を目的とした、上記の EU におけるナノマテリアルの定義とは異なる。医療機器の製造業者は、本来ナノスケールに起因する特性や現象を期待してナノマテリアルを医療機器に使用するはずである。医療機器に使用したナノマテリアルがすでにこれらの機能を発揮しないならば、既存の非ナノスケールの物質とみなしても良いという考えだろう。

EFSA における食品分野に使用されるナノマテリアルのリスク評価

EFSA における食品分野に使用されるナノマテリアルの定義は、EU におけるナノマテリアルの定義を踏襲している。EFSA では、さらにリスク評価のガイダンスを提示している。この中で示されているリスク評価の考え方は、医療機器に使用されるナノマテリアルのリスク評価にも応用できる。例えば、消化管からナノマテリアルが吸収される可能性がある場合には、ADME 試験や *in vitro* 遺伝毒性試験などを要求している。医療機器に当てはめれば、埋植した医療機器からナノマテリアルが遊離する場合に相当するだろう。経口曝露のみを考慮する食品分野に比べて曝露経路が多様な医療機器では、考慮すべきパタメータが複雑ではあるが、基本的なリスク評価の考え方は参考になる。

ナノマテリアルの定義に関する勧告（EU）

ナノマテリアルを対象とした規制を導入するためには、ナノマテリアルを正しく定義する必要があることから、欧州委員会（European Committee: EC）は二つの機関、欧州共同研究センター（Joint Research Centre: JRC）と新興及び新規に同定される健康リスクに関する科学委員会（Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks: SCENIHR）に対し、規制を念頭においたナノマテリアルの定義を諮問した。その結果、EC は、2011 年 10 月 18 日、包括的な規制におけるナノマテリアルの定義を勧告した。

Commission Recommendation on the definition of nanomaterials

The European Commission, 2011

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:EN:PDF>

ナノマテリアルの定義

- － ナノマテリアルとは、その構成粒子が固定されていない状態（unbound）の粒子、凝結体（aggregate）または凝集体（agglomerate）であって、個数基準のサイズ分布（number size distribution）のうち 50% 以上が少なくとも一つの次元において 1 nm から 100 nm の範囲である粒子を含む、自然由来並びに非意図的または人工的に製造された物質である
- － 特定の場合並びに環境、健康、安全または欧州の競争力に関わる懸念といった観点から妥当と判断される場合には、粒子の個数基準のサイズ分布の 50% という閾値は、1-50% の閾値に置き換えてもよい
- － 少なくとも一つの次元で外径が 1 nm 未満のフラーレン、グラフェンフレークおよび単層カーボンナノチューブはナノマテリアルと見なす
- － 比表面積での判定も可能とし、ある物質の単位体積当りの表面積が $60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$ より大きければ、その物質は上記のナノマテリアルの範疇に入ると見なす
（ただし、個数基準のサイズ分布に基づいてナノマテリアルと判断された物質は、たとえ単位体積当りの表面積が $60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$ 未満であってもナノマテリアルと見なされるべきである）

業界向けドラフトガイダンス（FDA）

米国食品医薬品局（Food and Drug Administration: FDA）は、2011 年 6 月に、業界向けドラフトガイダンスを公表し、規制対象製品にナノマテリアルあるいはナノテクノロジーが使われているかどうかを判断するための基準案を示した。この中で、ナノマテリアルの定義は、サイズのみならずナノスケールによる特性や現象によることを言及した。また、規制措置は科学的根拠に基づくべきとしている。

Guidance for Industry: Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology

Food and Drug Administration, 2011

<http://www.fda.gov/regulatoryinformation/guidances/ucm257698.htm>

現時点において、FDA の規制対象製品にナノマテリアルを含有しているか、あるいは、ナノテクノロジーが応用されているかどうかを判断するために、次のことを考慮する。

1. 原材料または最終製品が少なくとも一次元でナノスケール（おおよそ 1 nm から 100 nm）であること
または、
2. サイズがナノスケールの範囲外（最大 1 μm ）であっても、原材料または最終製品がそのサイズに起因する物理的、化学的または生物学的な特性および現象を現すこと

これらの判断基準は、新製品に適用されるばかりでなく、規制対象製品またはその構成部分のサイズ、特性および効果が変わる製造の変更にも適用される。さらに、新しい情報が得られた時に変更されたり、将来の製品特有のガイダンス文書において改良されたりすることがある。

要するに、FDA の規制対象製品に使用することができる工業ナノマテリアルが現す特性におけるサイズの潜在的な役割と重要性を知ることが大事である。市販前審査では、必要に応じて、工業ナノマテリアルを含有している、または、ナノテクノロジーが応用されている製品の性質と作用をよく理解する機会を提供する。そして、ナノテクノロジーが適用されている製品が市販前審査の対象にならない場合には、製品開発過程の初期から FDA と協議するよう製造業者に要請する。このようにして、これらの製品の規制状況、安全性、有効性または公衆衛生上の影響に関して、適切にかつ十分に対処することができる。

食品分野に使用されるナノマテリアルのリスク評価ガイダンス（EFSA）

欧州食品安全機関（European Food Safety Authority: EFSA）は、2011 年 5 月に、食品分野に使用されるナノマテリアルのリスク評価ガイダンスを公表した。

Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain

European Food Safety Authority (EFSA), 2011

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2140.htm>

毒性試験の概要

毒性試験のストラテジーは、食品／飼料中にナノマテリアルが存在するかどうか、および、非ナノサイズの同一化学物質に関する毒性情報があるかどうかによって決定される。そして、六つのケースに分類し、それぞれのケースに応じた毒性試験を例示している。

Case 1: ナノテクノロジーを利用したが、製品にナノマテリアルが残存しない場合

Case 2: 食品接触材料からナノマテリアルが溶出しない場合

Case 3: 摂取前に食品／飼料中で完全に非ナノ形状に転換する場合

Case 4: 消化過程で非ナノ形状に転換する場合

Case 5: 同じ組成を持つ非ナノ形状の物質に関する毒性情報がある場合

Case 6: 同じ組成を持つ非ナノ形状の物質に関する毒性情報がない場合

表 ナノマテリアルの毒性試験ストラテジー

試験の種類	説明
In vitro 遺伝毒性試験	Case 4 で通常必要、Case 5 および 6 で必要
ADME	Case 4 で通常必要、Case 5 および 6 で必要
90 日間反復経口投与 毒性試験（齧歯類）	Case 4 で通常必要、Case 5 および 6 で必要
In vitro 消化試験	Case 3、4、5 および 6 で通常必要
その他の in vitro 試験	スクリーニングおよびメカニズム情報として必要かもしれない
生殖毒性試験	必要かもしれない、または、特定分野の規制あるいは EFSA ガイダンスによって要求される
発生毒性試験	同上
In vivo 遺伝毒性試験	同上
慢性・発がん性試験	同上
特殊毒性試験	同上

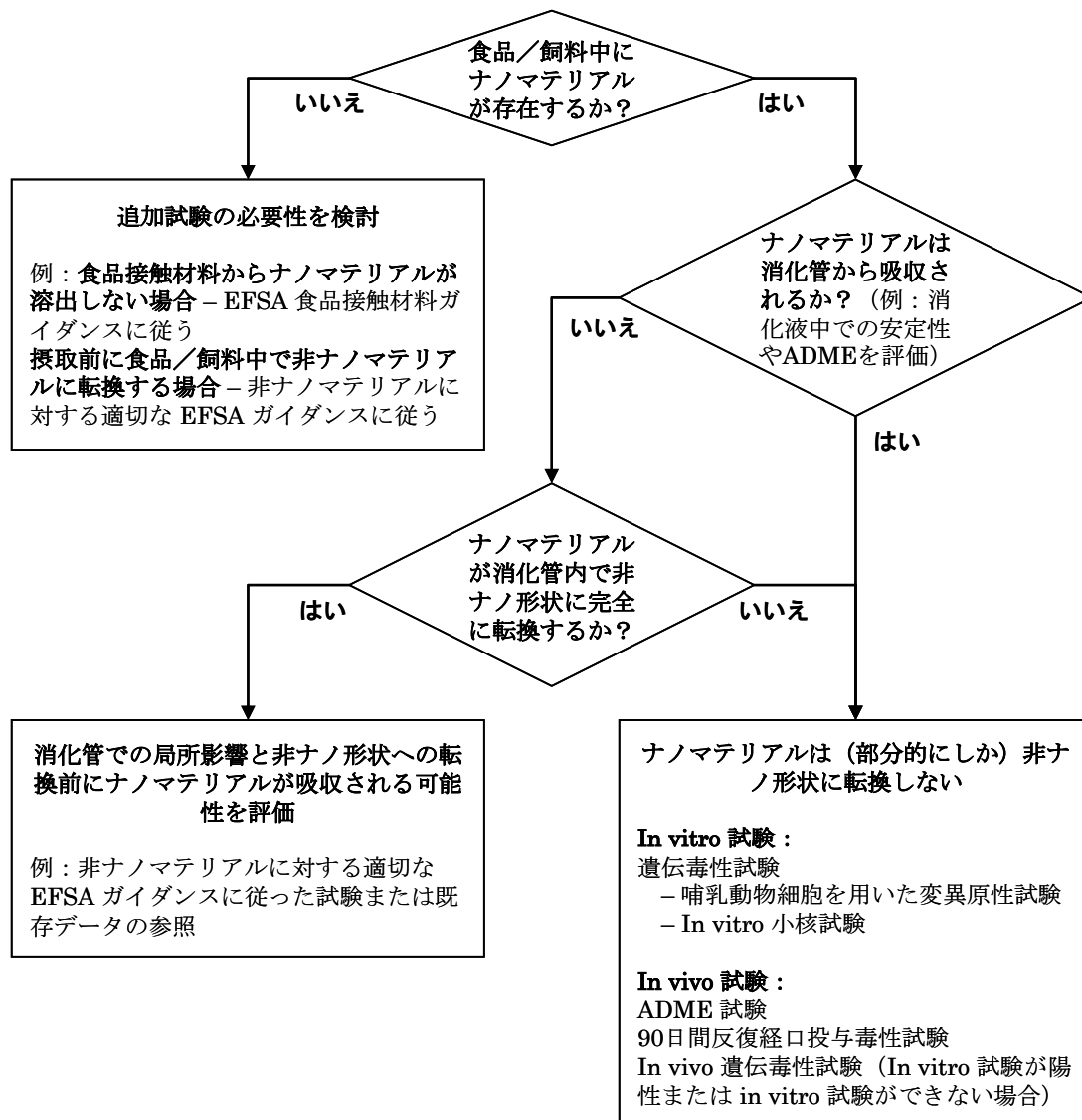


図 毒性試験の判断フロー

HAp ナノ微粒子の毒性評価報告例（特殊な方法によるもの）

東京医科歯科大学 医歯学総合研究所 先端材料評価学分野
宇尾 基弘

1) Are apatite nanoparticles safe?

N. Ciftcioglu et al., Lancet, 369, p.2078, 2007.

ヒトへの暴露例：目へのHApナノ微粒子(100～300 nm)の暴露事故後の抗体価（calcifying-nanoparticle specific）が暴露後から上昇し、10年経過後も低下せず。但し血球数などに異常は無い。

実際の事故例として興味深いが、特段の健康影響が出ているわけではない。

2) Effects of hydroxyapatite nanoparticles on proliferation and apoptosis of human breast cancer cells (MCF-7)

R. Meena et al., J. Nanopart. Res. 14, 712-722, 2012.

10～20 nmのHAp (50～250 mg/L)に暴露した細胞で活性酸素量(ROS)とp53遺伝子発現が濃度依存的に増加し、細胞増殖率は低下、DNAの断片化も起こっている。

但し、それぞれの現象の因果関係が不明で、ナノ微粒子特有の現象か、他の材質でも起きるのが不明なため、この試験の特異性は認められない。

3) Cytotoxicity of hydroxyapatite nanoparticles is shape and cell dependent

X. Zhao et al., Arch Toxicol., DOI 10.1007/s00204-012-0827-1

針状、棒状、板状、球状のHApナノ微粒子の細胞毒性を評価。BAES-2B（肺癌上皮）細胞では針状と板状で有意な細胞死やIL-6産生を認めたが、RAW264.7（マクロファージ）では有意差はない。細胞毒性が発揮されるのは100 µg/ml以上である。（形態が変化すると微粒子分散性も変わるので、単に形態のみの影響と断言できるかは疑問）

4) Evaluating the Toxicity of Hydroxyapatite Nanoparticles in Catfish Cells and Zebrafish Embryos

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/sml.201200639/pdf>

X. Zhao et al., Small, Early view; DOI: 10.1002/sml.201200639

針状、棒状の HAp の毒性をナマズ B, T 細胞(in vitro)と Zebrafish (in vivo)で評価→培養系では 10～300 µg /mL でいずれも影響ないが、Zebrafish では 3 µg /mL から孵化に影響すると思われる。

5) Effect of Particle Size of Hydroxyapatite Nanoparticles on its Biocompatibility

<http://ieeexplore.ieee.org/xpl/login.jsp?tp=&arnumber=6170899&url=http%3A%2F%2Fieeexplore.ieee.org%2Fiel5%2F7728%2F6365355%2F06170899.pdf%3Farnumber%3D6170899>

T. Ding et al., NanoBioscience, IEEE Transactions on, 11 (4), 336-340, 2012.

細胞毒性有り（100 ml/L 以上）、変異原性(Ames)なし、代謝毒性あり（血中投与？→腎臓）、HAP の粒径に関係があると推測される。

上記、2編はHAPナノ微粒子のサイズや形状と毒性を調査したものであるが、Zebrafish の孵化を除いて一般的な毒性評価法によるものである。

上記の論文を見る限り、HAPのナノ微粒子が特殊な毒性を示すものではなく、種々の評価方法についても、その方法でなければ毒性を検出できないという必然性があるものではない。HAPナノ微粒子を分散状態で薬剤のように投与する目的であれば、細胞毒性、変異原性などは通常の薬物の臨床前試験でチェックされるもので有り、ナノ微粒子である故に特段の追加実験が必要とは考えにくい。またHAPを原料とする固化体からの遊離ナノ微粒子を懸念するのであれば、これらの報告の微粒子濃度は極めて高く、その危険性を示唆するものとは考えにくい。

無機系ナノマテリアルの安全性評価法に関する調査

国立循環器病研究センター研究所 生体医工学部

山岡 哲二

無機・アパタイト系ナノマテリアルが生体に与える影響に関して、通常の安全性試験以外の特別な評価方法が実施された事例があるかを調査した。無機系材料の中でも、医療機器あるいはその部材として用いられるバルク材料が調査対象であり、そのバルク材料からナノサイズの物質が放出する場合が主な対象事例と考えられる。特に、ナノサイズの物質の集合や凝集塊に対して焼結等の処理することで作製されたバルク材料の場合には、時間とともに原料となるナノサイズの物質が放出されることも考えられる。しかしながら、組織内に留置されたバルク状医療機器から小さな物質が放出されたとしても、その物質がその場に留まるとすれば、従来型の炎症などの評価法で十分である。仮に、この物質が、生体内で移動できるほど小さな場合を想定すると、それは、恐らく 10 nm 程度、あるいはそれを下回る程の大きさであり、このような物質を元に作製された無機・アパタイト系材料は見出されなかった。コスメティクスにおけるナノパーティクルの体内動態に関しては詳細な研究があり、皮膚からは 20 nm であっても吸収されず、吸収の限界は 500 Da 程度ともされている (Bos JD, Meinardi MMHM. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Experimental Dermatology*. 2000;9:165-169.)。

仮に、血管内に留置されたバイオマテリアルから、小さな物質が放出された場合には、体内を循環することになるが、この場合には、むしろ末梢血管塞栓につながるミクロンサイズの物質はるかに大きな影響をもつ。例えば、MRI 造影剤としてのナノサイズの磁気微粒子 (SPIO) や薬物担体ミセルなどは、血中に投与されることがあり、マクロファージとの相互作用やその後のサイトカイン産生などが報告されている。この場合は、薬物としてのレギュレーションに従うべきであろう。

すなわち、体内を移動しない程度の小さな物質が放出された場合には、従来の局所的炎症の検討のみで十分であり、マクロファージなどの貪食による炎症への影響もナノマテリアルに特異的なものではなく、むしろ、サブミクロン程度の物質の影響が大きい。現在までに、マイクロスフェアと細胞との相互作用に関して多くの *in vitro* 研究が実施されているが、いずれも *in vivo* における毒性や危険性を実証しているものではない。もちろん、今後、ナノサイズに特有の生物応答が見出されたなら、詳細に検討する必要があるが、そのような具体的現象が認められていない現状に於いて、有効な評価システムの導入は不可能ではないかと考える。

金属材料におけるナノ材料とそれに対する評価法

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 金属生体材料学分野
塙 隆夫

金属材料でナノ材料とされているものは、ナノサイズの準安定相（結晶）を母相の中に析出させることで機械的性質の向上を行っているものである¹。これは通常の金属材料で行われている方法であり、特にチタン合金やステンレス鋼などは準安定相が非常に重要な役割を果たすものの、ナノサイズの構造が露出している訳でもなく、安全性の点で通常の金属材料と何ら相違はないため、ナノ材料としては扱えない。もちろん、ナノ材料に特化した評価法はない。

その他では、抗菌効果が期待される Ag ナノ粒子、また診断デバイスとして Au ナノ粒子の応用が挙げられるが、これは金属に限らず他のナノ粒子と同様の扱いとなる。特に、ナノ粒子に特化した安全性評価としては最近幾つかの報告がある²⁻⁴。

1. P. Liu, Space group and atomic structure determination of a nano-sized ordered phase derived from a f.c.c. structure in maraging steel 12Cr-9Ni-4Mo-2Cu using transmission electron microscopy. *Act. Crystallograph.* B59 (2003) 167-174.
2. A. Gajewicz, B. Rasulev, T. C. Dinadayalane, P. Urbaszek, T. Puzyn, D. Leszczynski, Advancing risk assessment of engineered nanomaterials: Application of computational approaches, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64 (2012) 1663-1693.
3. P. Xu, J. Xu, Z. Yang, Nano copper induced apoptosis in podocytes via increasing oxidative stress, *J. Hazardous Mater.* 241-242 (2012) 279-286.
4. N. R. Panyala, E. M. Pena-Mendez, J. Havel, Gold and nano-gold in medicine: overview, toxicology and perspective, *J. Appl. Biomed.* 7 (2009) 75-91.

ナノ粒子の毒性評価について

独立行政法人 物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトゥクス研究拠点 (MANA)

ナノライフ分野

青柳 隆夫

一般に、ナノスフェアやナノパーティクルは、薬物を封入させた DDS 担体として、さらには、バイオイメージングのための量子ドット、同イメージングや温熱療法に用いられるマグネタイトナノパーティクルとしてたいへん有用なバイオマテリアルである。一般に材料としての細胞毒性評価には、生存細胞数のカウントや、ROS(reactive oxygen species)、LPO(lipid peroxidation)、炎症を誘発する TNF- α 、interleukin-1 β (IL-1 β)、interleukin-6 (IL-6)の発生の評価、DNA へのダメージを調べる Comet Assay などが用いられる。

ナノパーティクルの毒性評価において、たとえば nanoparticles、toxicity、evaluation のキーワードを掛け合わせて文献調査してもナノ材料としての、特別な評価法は見つからず、それまでの評価法が用いられている。たとえば、Woodruff, RS, *et al.*, “Genotoxicity evaluation of titanium dioxide nanoparticles using the Ames test and Comet assay”, JOURNAL OF APPLIED TOXICOLOGY, 32(11), 934-943 (2012)で、数多くの応用が期待されている二酸化チタンのナノパーティクルの毒性評価が Ames test と Comet Assay によって評価されている。細胞に直接作用させて評価材料の濃度あるいは接触時間とその生存細胞数をカウントする場合には、細胞種によってその影響が顕著に異なることが報告されている。(例えば、Chowdhury, SM , *et al.*, “Cell specific cytotoxicity and uptake of graphene nanoribbons” BIOMATERIALS, 34(1), 283-293 (2013)) 通常、生存細胞数のカウントには、時間がかかるが、より早い評価を目的に、ミクロの細胞塊を用いた 3-D ハイスループットのアッセイも報告されている。この場合は、2-D のいわば通常の細胞培養で得られた評価よりも、低濃度で毒性を示すことが報告されている。

毒性評価において、ナノ材料そのものの毒性評価が、添加物や不純物によって引き起こされている場合もあるので注意が必要である。例えば、Galluzzi, L, *et al.*, “Development of a multilevel approach for the evaluation of nanomaterials' toxicity”, NANOMEDICINE, 7(3), 393-409 (2012)においてランタニドをベースとしたナノパーティクルの毒性が高く評価されたのは、パーティクルを構成するエチレンジアミン 4 酢酸 (EDTA) に基づくものであったとの報告がある。

評価法として、D. Kim, *et al.*, “On-Chip Evaluation of Shear Stress Effect on Cytotoxicity of Mesoporous Silica Nanoparticles” ANALYTICAL CHEMISTRY, 83(22), 8377-8382 (2011)で報告されている手法は興味深い。静的な状態での毒性評価とシェアストレスを発生させたときの状態では毒性に違いがあった。

以上、研究をわずかではあるが紹介した。ナノ材料の毒性を評価する研究は数多くなされているが、これまでの評価方法を有効に利用することによってその評価は達成できると考えられる。

高分子ナノ材料の安全性評価について

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 生体機能修復研究部門 物質医工学分野
岸田 晶夫

安全性評価の対象となる医療用高分子ナノ材料は、ナノサイズであることを積極的に応用したものと、生体内でバルクより遊離したものに分類でき、前者については従前の試験法を用いた安全性評価の研究が行われている。後者については、試料調製の段階から様々な要因が重なるため、特に積極的に研究が行われている様子はない。

高分子ナノ材料の安全性評価については、炎症性・毒性・遺伝毒性・発癌性などについて、細胞、細胞集合塊、動物実験等、種々の試験法によって行われているが、すべて既存の試験法であり、ナノ材料特有の試験法は文献検索によって見いだすことは出来なかった¹⁻⁵⁾。ナノ材料の安全性については、急性の反応だけでなく、治療に用いられてから年月を経てからの異常の発生が懸念される。特にナノサイズであることを積極的に応用した薬物送達 (DDS) 粒子については、用量が高いものも考案されており、また生体の各所に分散する可能性が高いために安全性についての関心が高いようである。

文献検索において特徴的であると思われたのは、上述の高分子ナノ粒子の安全性について DDS の観点からの論文が多いことと、欧州における取り組みに関連していると思われる論文が多いことであった。後者については、EU NanoSafety Cluster の発行している概論⁶⁾にプロジェクトがまとめられており、多くの研究が公的資金によって支えられているようであるが、当該概論も科学的な知識のまとめであり、医療用ナノ材料の安全性評価法について提案や推奨をしているものではない。現状では、多くの情報を集約して共通概念を構築する途上であり、それを効率的に行うための情報源を目指している。

以上のように、ナノ材料全般についての安全性評価も決定的なものではなく、医療用途の高分子ナノ材料についても、特別な観点からの試験法は見当たらなかった。欧州における取り組みについてはもとより、継続的な情報収集が必要であると考えられた。

文 献

- 1) Fernand Torres Andon and Bengt Fadeel, Programmed Cell Death: Molecular Mechanisms and Implications for Safety Assessment of Nanomaterials, Accounts of Chemical Research, DOI: 10.1021/ar300020b
- 2) Karina R Vega-Villa, et al, Clinical Toxicities of nanocarrier systems, Advanced Drug Delivery Reviews, 60, 929-938 (2008)
- 3) Maria Dusinska et al., Testing strategies for the safety of nanoparticles used in medical applications, Nanomedicine, 4(6) 605-607 (2009)
- 4) Andrew Cockburn, et al., Approach to the safety assessment of engineered nanomaterials (ENM) in food, Food and Chemical Toxicology, 50, 2224-2242 (2012)

- 5) Andreas M Nustroem and Bengt Fadeel, Safety assessment of nanomaterials: Implications for nanomedicine, *Journal of Controlled Release*, 161, 403-408 (2012)
- 6) www.nanosafetycluster.eu/uploads/files/pdf/2013_NSC_Compendium.pdf