

論文内容要旨

論文題目

Nano-Scaled Particles of Titanium Dioxide Convert Mouse

Fibroblastic Tumor Cells into Malignant Tumor Cells

(酸化チタンナノ粒子によるマウス線維芽細胞性腫瘍の悪性化進展)

所属部門： 分子疫学 部門

所属講座： 生化学・分子生物学 講座

氏 名： 小沼 邦重

【内容要旨】

ナノ粒子は、商品や医薬品として幅広く流通し、実用化に至っている。しかし、その発癌への関与は明らかではない。我々は、ナノ粒子の中でも最初期より使用されてきた酸化チタンに注目し、これがC57BL/6マウス由来の線維芽細胞性腫瘍で、正常同系マウス皮下に移植すると自然退縮するQR-32細胞の悪性化進展に関わるか否かを検討した。酸化チタンナノ粒子は、無処理の親水性のもの(TiO₂-1)と、この表面をステアリン酸で被覆することにより疎水性としたもの(TiO₂-2)を用いた。QR-32細胞(1x10⁵個)と、酸化チタン(5 mg)および溶媒1.5% carboxymethylcelluloseをそれぞれ移植直前に混合後皮下接種した。さらに、酸化チタンを皮下に予め接種後、30日および70日後に移入した部位にQR-32細胞を移植して、その増殖性の回復を観察した。QR-32細胞の増殖性の回復は、親水性酸化チタンを予め皮下移入し、その部位にQR-32細胞を移植した群にのみ観察された。また、増殖性を回復した細胞株を正常同系マウス尾静脈内に移植すると、転移能の獲得が認められた。親水性酸化チタンと疎水性酸化チタン処理による組織学的および炎症性サイトカインの発現に相違は見られなかった。しかし、無血清培地に懸濁した親水性酸化チタンあるいは疎水性酸化チタンにdichlorodihydrofluorescein (DCF)を添加して活性酸素の検出を行ったところ、疎水性酸化チタン自体に活性酸素の強い生成を認めた。QR-32細胞と酸化チタンを共培養すると、細胞内に活性酸素が生成し、疎水性酸化チタンを添加した場合の方が多くの生成を認めた。この時、細胞内の活性酸素の生成量に相応した細胞傷害が認められた。形態的には傷害性は核周辺の間隙形成や細胞の多核化をはじめとして観察された。QR-32細胞に酸化チタンを継続して添加培養すると、細胞傷害性から生き残った細胞群はマウスに致死増殖した。これらの現象は、抗酸化物質N-acetyl-L-cysteineの添加により抑制された。以上の結果より、一部の酸化チタンナノ粒子は、細胞内に活性酸素を生成することによりマウス線維芽細胞性腫瘍の悪性化を進展させる可能性のあることが明らかになった。

平成 22年 1 月 21 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 小 沼 邦 重

論文題目：Nano-Scaled Particles of Titanium Dioxide Convert Mouse
Fibroblastic Tumor Cells into Malignant Tumor Cells
(酸化チタンナノ粒子によるマウス線維芽細胞性腫瘍の悪性化進展)

審査委員：主審査委員

藤井 順 逸



副審査委員

本山 第一



副審査委員

鈴木 民夫



審査終了日：平成 22年 1 月 7日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

現代社会では、生活向上の目的で様々な人工産物が作られ、環境中に存在する。酸化チタンナノ粒子は最新科学の生んだそうした化学物質の一つであり、様々な医薬品や化粧品などに汎用されているが、極めて微細な粒子であるために認識されずに使用されていることも多い。その有害性については、これまでに警鐘がならされていなかったこともあり、ほとんど規制がなされていない。本研究では、C57BL/6 マウスに由来する線維芽細胞性腫瘍で、同系マウス皮下では自然に退縮するGR-32細胞を用いて、その細胞の悪性化を指標として、未処理（親水性）と表面を脂肪酸被覆処理（疎水性）した二種類の酸化チタンナノ粒子について、発癌過程への影響について検討を行った。

その結果、細胞を酸化チタンナノ粒子と混合して皮下移植した際には悪性化を認めなかったが、30日もしくは70日前にあらかじめ酸化チタンを移入した部位に細胞を移植すると、親水性酸化チタンを移入したマウス皮下でのみ腫瘍が形成された。その腫瘍細胞を培養し、マウス尾静脈から再び移植することで、悪性化の程度を確認した。移入部位における炎症性サイトカインをはじめとする遺伝子発現や組織学的解析では、悪性化に炎症がかかわる事を示す結果は得られなかった。酸化チタン存在下に培養した後にマウスに移植した細胞についても悪性化が認められた事から、酸化チタンは炎症以外の作用で悪性化をもたらすことが確認された。培地に酸化チタンを添加したところ、疎水性酸化チタンそのものから活性酸素が検出された。細胞に投与した場合には両方の酸化チタンで細胞内の活性酸素生成が促進されたが、その程度は疎水性酸化チタンで著しかった。こうした酸化チタンによる活性酸素の生成や細胞の悪性化は、抗酸化剤の投与で軽減された事から、生成した活性酸素種が細胞の悪性化にかかわることが分った。疎水性酸化チタンの方が親水性酸化チタンよりも活性酸素の生成能が高いにもかかわらず皮下では細胞を悪性化させなかった理由として、酸化チタンから生じた活性酸素があまりに大量であったために、移植した細胞を死滅させたことが考えられる。酸化チタンの量を変えた解析や、異なる評価系を用いた厳密な検討を行うことで、その有害性についてより正確な評価が可能であろう。

本論文は、酸化チタンナノ粒子が体内に取込まれた場合には、活性酸素の生成を介して細胞の悪性化に作用する可能性を示しており、酸化チタンナノ粒子の有害性に関する新しい知見であることから、博士（医科学）の学位論文にふさわしいと判断した。

(1, 200字以内)