

化粧品のナノテクノロジー安全性情報

【調査対象期間:2016.6.16-2016.8.21】

1. 国内行政動向

1-1. 厚生労働省

平成28年度第2回化学物質のリスク評価検討会(有害性評価小検討会)が6月23日に開催されており、その会合の資料が公開された。

平成28年度ばく露実態調査対象物質としてカーボンブラックが挙がっており、以下の評価値(案)が示された。一次評価値(リスクが十分に低いかな否かの指標→行政指導の参考として活用):なし。二次評価値(健康障害防止措置の規制等が必要な否かの指標): 1mg/m³(吸入性粉じんとして)、3mg/m³(吸引性粉じんとして)。

<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi2/0000128514.html>

前回の部会にて案内されたように、平成28年度第1回化学物質のリスク評価検討会が6月24日に開催され、「平成28年度リスク評価対象物質のリスク評価について」の議題には酸化チタンも挙がっている。現時点では議事録は公開されていないが、資料が公開されている。それによると対象となっているのは、非ナノの酸化チタンであった。詳細リスク評価書(案)の「4 リスク判定及び今後の対応」には以下のように記載されていた。

4 リスクの判定及び今後の対応

(1) 酸化チタン(ナノ粒子)について(平成27年度詳細リスク評価書)

ばく露の高い作業の詳細とその要因解析の結果、リスクの高い作業としては、酸化チタン(ナノ粒子)を製造している事業場における充填又は袋詰め業務が確認された。当該業務のばく露レベルは、二次評価値 0.3mg/m³を超えるものであった。また、その要因を解析したところ、酸化チタン(ナノ粒子)のもつ物性や作業の態様から、酸化チタン(ナノ粒子)を製造している事業場における充填又は袋詰め業務については、作業工程に共通する問題と考えられる。

(2) 酸化チタン(ナノ粒子以外)について

ナノ粒子以外の酸化チタンについては、日本産業衛生学会における第2種粉塵(吸入性粉じん)の許容濃度である 1mg/m³を二次評価値としたところであり、平成 22年度のばく露実態調査で高いばく露が確認された粉体塗装の作業については、平成27年度にばく露実態調査を実施したところ、個人ばく露測定の結果、最高で 1.2 mg/m³と二次評価値を超えるばく露をしていることが明らかとなった。酸化チタンを粉体塗装している事業場については、作業工程に共通する問題と考えられる。

(3) 今後の対応について

酸化チタンは、吸入による健康障害のおそれがあるものと考えられるところ、ばく露実態調査の結果、高いリスクが作業工程に共通して確認されたことから、その製造・取扱作業において、労働者の健康障害防止措置の検討が必要と考えられる。

なお、健康障害防止措置の検討に当たっては、酸化チタン(ナノ粒子)の充填又は袋詰めにおいて高いばく露が確認されたこと、及び酸化チタン(ナノ粒子以外)の粉体塗装の作業について、二次評価値を超えた個人ばく露測定の結果が出ていることに留意が必要である。

また、これまで測定に用いてきた個人ばく露測定方法や作業環境測定方法では、ナノ粒子とそれ以外の粒子の区別がつけられないことにも留意が必要である。

なお、ナノ酸化チタンのリスク評価書は、2015年8月に公表されている。

<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi2/0000131286.html>

1-2. 経済産業省

特に動きなし

1-3. 環境省

特に動きなし

2. 国内外研究動向

2-1. 学会情報

1) 第43回 日本毒性学会学術年会

開催日時:2016年6月29～7月1日 (名古屋)

年会長:佐藤雅彦(愛知学院大・薬)

ナノマテリアル関連の演題は前回報告済。一部の演題について、要旨を掲載した。

O-33 気管内注入試験と吸入暴露試験による酸化亜鉛ナノ粒子の炎症能の検討(森本 泰夫/産業医科大学産業生態科学研究所)

酸化亜鉛ナノ粒子は、可視光線の透明化と紫外線の遮断能が強いことからサンスクリーン剤などの化粧品、LEDや太陽光発電パネル、UV反射用コーティング、抗菌剤、消臭剤など様々な用途における使用が期待されているが、生体影響は不明である。我々は、酸化亜鉛ナノ粒子の生体影響を検討するために、吸入暴露試験と気管内注入試験を行い、肺炎症をエンドポイントとして評価を行った。吸入暴露試験に関しては、F344ラットに低濃度(2.11mg/m³)または高濃度(10.4mg/m³)の暴露濃度で4週間(6時間/日、5日/週)の吸入暴露を行った。1次粒子径は、35nm程度であった。曝露終了後、3日、1ヶ月後に解剖し、気管支肺胞洗浄液(BALF)の細胞解析を行った。一方、気管内注入試験に関しては、吸入暴露試験で使用した同一の酸化亜鉛懸濁液を用いてラットに0.2mg、1mg/ratの用量で気管内注入を行った。注入終了後、3日、1週間、1ヶ月、3ヶ月後に解剖し、BALFの細胞解析を行い、吸入暴露試験と同様にBALFの細胞解析を行った。吸入暴露試験では、酸化亜鉛は3日目の高濃度でBALFの好中球が増加したが、一過性であった。気管内注入試験では、注入1週間後までBALFの好中球数の増加を認めたが、その後陰性対照レベルまで低下した。これらの結果を、以前行った酸化ニッケルナノ粒子、二酸化チタンナノ粒子の炎症持続性を用いて比較すると、酸化亜鉛による炎症は、炎症能が低い二酸化チタンナノ粒子の概ね同じレベルであった。以上より、酸化亜鉛ナノ粒子の炎症能は、低いことが示唆された。今後は、サイトカインのデータを含め総合的に判断する。本研究は経済産業省からの委託研究「ナノ材料の安全・安心確保のための国際先導的安全性評価技術の開発」による。

O-34 好中球が非晶質ナノシリカ誘発性の胎盤障害におよぼす影響解析(東阪 和馬/阪大院薬)

近年、ナノテクノロジーの発展に伴い、少なくとも1次元の大きさが100 nm以下に制御されたナノマテリアル(NM)の開発研究が進展している。しかし、NM特有の有用機能が、二面性を呈してしまい、我々の意図しない生体影響を誘発する可能性が指摘され

ており、科学的根拠に基づいたNMの安全性情報を幅広く収集することが必要不可欠である。このような背景のもと、これまでに我々は、粒子径70 nmの非晶質ナノシリカ(nSP70)が、その物性によっては、胎仔発育不全をはじめとする生殖毒性を誘発する可能性を見出してきた。一方で、これら生殖毒性の発現機序については殆ど明らかとされていないのが現状である。そこで本研究では、nSP70曝露による生殖毒性の発現機序の一端を明らかとすることを目的に、生体防御機構に重要な好中球の役割との関連解析を図った。まず、妊娠マウスにおけるnSP70投与後の末梢血好中球画分の割合を解析したところ、nSP70を投与することで、末梢血中の好中球画分の割合が有意に増加することが示された。そこで、好中球の増加が、nSP70投与による妊娠障害の誘発におよぼす影響を解析する目的で、妊娠15日目の母体マウスに好中球特異的な中和抗体である抗Ly-6G抗体を前処置した後、妊娠16日目にnSP70を尾静脈より単回投与した。その結果、抗Ly-6G抗体を前処置したnSP70投与群では、nSP70単独投与群と比較し、母体体重の低下、および子宮中に含まれる胎仔数の減少が亢進することが示された。さらに、好中球が妊娠維持における胎盤機能へおよぼす影響を評価した結果、好中球をdepletionすることで、nSP70投与による胎盤傷害の亢進につながることが示唆された。以上の結果から、nSP70投与による母体への影響、特に、妊娠維持の破綻に対し、好中球が抑制的に働く可能性が示された。現在、好中球の存在下、非存在下におけるnSP70の血中、胎盤での定量的な動態情報の収集が今後の検討課題であると考え、現在進行形で解析を進めている。

P-10 マウスにおけるシリカナノ粒子の表面修飾と炎症誘導作用との関係(渡邊 英里/東京理科大学)

【目的】ナノテクノロジーが発展してきた現在、その基盤となっているのがナノマテリアルである。工業ナノマテリアルの特性と生体影響との関係を明らかにすることは、安全なナノマテリアルを開発するため、あるいはナノマテリアルを安全に使用するために必要である。本研究ではシリカナノ粒子の表面修飾が生体との相互作用にどのような影響を及ぼすのかを調べた。

【方法】25nm粒子径のローダミンが結合したシリカナノ粒子を用意した。さらに粒子の表面にアミノ基、カルボキシル基、水酸基を付加させることで、それぞれ陽性、陰性、中性に帯電させた。これらの粒子を8週齢のC57BL/6J雄マウスに2 mg/kgと、10 mg/kgで咽頭吸引法によって曝露させた。24時間後、深麻酔下で気管支肺胞洗浄液(BALF)を回収し、細胞数、蛋白量、炎症性サイトカイン量を計測した。さらにBALF中の細胞へのシリカナノ粒子の取り込みを共焦点顕微鏡で観察した。

【結果・考察】陽性電荷を有するシリカナノ粒子は総細胞数、好中球数、総蛋白量、TNF- α 、好中球遊走因子MIP-2を量依存的に増加させたが、陰性電荷を有する粒子はこれらを変化させなかった。中性のシリカナノ粒子は高濃度暴露群でのみ総細胞数、好中球数、総蛋白量、TNF- α 、MIP-2を増加させた。以上より25 nm粒子径の陽性に電荷したシリカナノ粒子と中性のシリカナノ粒子が雄マウスへの咽頭吸引投与により、24時間後の急性期において炎症反応を誘導するのにに対し、同じ粒子径の陰性に帯電したシリカナノ粒子は炎症反応を誘導しないことがわかった。シリカナノ粒子の表面修飾が肺の炎症誘導に影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに、細胞が粒子を取り込んだ様子を共焦点顕微鏡によって確認できた。

P-208 雌雄ラットを用いたアナターゼ型ナノ酸化チタン(ANN-TiO₂)の2週間吸入毒性試験(笠井 辰也/日本バイオアッセイ研究センター)

【はじめに】アナターゼ型ナノ酸化チタン(ANN-TiO₂)は、そのすぐれた光触媒機能、抗菌作用及び紫外線遮蔽能により、工業用触媒担体(太陽電池)、食品包装材、内装材(タイル、壁紙)等に既に使用されている。粒子は、大きさがナノサイズになることで物理的・化学的性質が変わり、毒性が強くなることが知られており、労働者への健康影響が懸念されている。今回、ANN-TiO₂の実際のヒトへのばく露経路を考慮して、乾式で雌雄ラットに2週間吸入ばく露し、その毒性を検索した。【方法】全身ばく露型吸入チャンパー(容積1m³)に收容した雌雄F344ラット(6週齢)に、平均一次粒径30nmのANN-TiO₂(テイカ株)をエアロゾル化し、0、0.2、1、5、及び25mg/m³の濃度で2週間ばく露した。ばく露中は、(1)光散乱式粒子測定装置を用いた濃度制御と濃度測定、(2)カスケードインパクターによる粒度分布の測定、(3)走査電子顕微鏡による形態観察、(4)症状観察、体重及び摂餌量測定を行い、2週間のばく露期間終了後に動物を解剖して、気管支肺胞洗浄液(BALF)検査、病理

学的検査、肺中のANN-TiO₂量の測定を行った。【結果】(1)濃度測定の結果、全ばく露群で変動係数は11.4%以下で設定値どおりの濃度でばく露が行えた。(2)空気力学的質量中位径は0.8~0.9 μm、幾何標準偏差は全て2.1でばく露群間の粒度分布に差はみられなかった。(3)形態観察では、凝集した粒子が多数みられたが、ばく露群間に差はみられなかった。(4)動物に死亡はみられず、一般状態、体重、摂餌量、BALF検査、肉眼的観察及び臓器重量では、特記すべき変化はみられなかった。病理組織学的検査で、25 mg/m³群の鼻腔及び鼻咽頭に反応性変化と考えられる杯細胞過形成が認められた。肺中のANN-TiO₂量は濃度相関的に増加し、肺1 gあたりの量は、各群とも雌雄間でほぼ同程度であった。【まとめ】ANN-TiO₂25mg/m³群で鼻腔及び鼻咽頭に反応性変化が認められた。(本試験は厚労省委託研究として行った)

P-218 抗原感作に対する酸化チタンナノマテリアルの影響(安達 玲子/国立医薬品食品衛生研究所)

【目的】酸化チタンナノマテリアルは多くの日焼け止め製品に配合されており、ヒト皮膚と接触する頻度が非常に高い。一方、タンパク質が皮膚から取り込まれ抗原となる経皮感作経路が、アレルギー性疾患発症の重要な要因として最近注目されている。本研究では、酸化チタンナノマテリアルに関して、タンパク質の経皮感作に与える影響、及びアジュバント活性について検討した。【方法】酸化チタンは平均一次粒子径15nm、35nm、6nmの3種(それぞれA、B、Cとする)を用いた。経皮感作は、BALB/cマウス(雌性、8週齢)の背部に、モデル抗原である卵白アルブミン(OVA)のPBS溶液またはOVAと酸化チタンの混合懸濁液をマウス皮膚に貼付して行った(OVA:1~2 μg/匹/回、酸化チタン:12.5ng~1.25mg/匹/回、3日間連続貼付/週×4週)。経時的に採血し、OVA特異的IgE及びIgG1抗体の産生を検討した。感作終了後にOVAの腹腔内投与(1mg/匹)によりアレルギー反応を惹起し、直腸温測定や症状スコアリング等を行った。またアジュバント活性に強く関わるNLRP3インフラマソーム活性化・炎症性サイトカイン産生を酸化チタンが誘導するか、THP-1マクロファージを用いて検討した。【結果及び考察】酸化チタンA(15nm)ではOVA貼付時に12.5 μgを添加した群、酸化チタンC(6nm)では125ngを添加した群において、抗原特異的抗体産生及びアレルギー反応とも、OVAのみの群と比較してより強い応答が見られた。一方、酸化チタンは濃度依存的にマクロファージのインフラマソーム活性化、IL-1β等の産生を促進することが示され、酸化チタンCでは貪食によらない直接的な活性化が示された。以上より、酸化チタンナノマテリアルは経皮感作を増強すること、またその際アジュバントとして作用している可能性があることが示された。

P-220 酸化チタンナノ粒子による血管内皮細胞への単球の接着能に対する影響(市原 佐保子/三重大学大学院地域イノベーション学研究所)

【目的】酸化チタンナノ粒子は、塗料・化粧品・食品包装材や食品添加物などの用途として広く用いられている。これまでに、酸化チタンナノ粒子は肺胞上皮細胞やマクロファージなどに炎症反応を引き起こす可能性が報告されている。空气中に浮遊するナノ粒子は、吸入により取り込まれた後、肺胞にまで達し、肺循環により心血管系に移行すると考えられているが、酸化チタンナノ粒子の心血管系に対する影響は未だ不明である。本研究では、酸化チタンナノ粒子の結晶構造および表面の性質の違いによる動脈硬化形成に対する影響の検討を行った。

【方法】アテローム性動脈硬化の形成には、血管内皮細胞の炎症反応と炎症部位への単球の遊走および接着が大きく関与している。本研究では、3種類の酸化チタンナノ粒子(アナターゼ型・疎水性ルチル型・親水性ルチル型)を超音波破碎装置で分散後、正常ヒト臍帯静脈内皮細胞およびヒト単球細胞に投与し、その生存率を検討した。また、サイトカインや接着因子の発現量を解析した。

【結果・考察】ナノサイズのアナターゼ型酸化チタン粒子の投与は、正常ヒト臍帯静脈内皮細胞およびヒト単球細胞の生存率を濃度依存的に減少させた。疎水性ルチル型・親水性ルチル型では高濃度(100 μg/ml)で生存率の低下が認められた。また、10 μg/mlのアナターゼ型酸化チタンナノ粒子は、ヒト単球細胞において、インテグリン(lymphocyte function-associated antigen-1: LFA-1)の発現を増加させ、血管内皮細胞と結合しやすくなることが確認された。以上の結果より、アナターゼ型酸

化チタンナノ粒子は、より細胞毒性作用を有し、単球の血管内皮細胞への接着能を促進し、動脈硬化の形成を誘発する可能性があることが示唆された。

2-2. 文献情報(粧工連HP「技術情報」より)

1) ナノマテリアル曝露によるヒトへの遺伝毒性的影響のバイオモニタリング — 今後の課題

Gonzalez L et al. *Mutat Res* 768:14-26, 2016. (Vrije大学[ベルギー])

要約:特異的物理化学的特性を持つナノマテリアル(NM)の曝露は、工業的生産、消費者製品及び医学的応用への着実な増加により、今後数年間にわたって増大するおそれがある。労働者及び一般集団に対する安全の確保及び監視のため、NM曝露後のヒトの遺伝毒性影響についてバイオモニタリング研究の実施が急務である。著者らはNM曝露後の妥当性を確認するために、汎用される初期の遺伝的影響のバイオマーカーを分析した。リンパ球を用いた*ex vivo/in vitro*小核試験についてさらに詳細な分析が行われたが、この試験を用いたNM曝露研究に関する文献は見当たらない。NMの組織内/細胞内標的を決定する既知のファクター及びNMの作用機序の多様性について著者らは述べている。口腔細胞は直接的に曝露される可能性があるため、(1)リンパ球がNMの標的又は適切な代用組織であるか、(2)口腔小核試験が吸入若しくは摂取によるNM曝露に適しているかが主な懸案となる。現時点での最新技術は確固たる結論を出すことはできないが、研究のギャップが確認され、慎重な勧告を出すことができる。*in vitro*及び*in vivo*研究は、同じ被験者及び異なる種類のNMについて並べて比較し、管理されるべきである。大規模なコホートと直接的及び間接的遺伝毒性の検出の客観的な分析を可能にするため、*ex vivo/in vitro*小核試験はNM曝露におけるヒトのバイオモニタリングのための重要な候補である。NM曝露による発がんリスク及び類似物質(例えばアスベスト)の職業上曝露の監視が遅すぎたことを考慮すると、NM曝露について適切な科学的バイオモニタリング方法及びプログラムを定義し、実施することが急務であるとしている。

2) *gpt*デルタトランスジェニックマウスに静脈内投与した酸化チタンナノ粒子の遺伝毒性評価

Suzuki T et al. *Mutat Res* 802:30-37, 2016. (労働安全衛生総合研究所 [川崎])

要約:「緒言・目的」酸化チタンナノ粒子(TiO_2 NP)は化粧品、顔料、食品及び光触媒等の産業用途目的のために生産量が増大している。 TiO_2 ナノマテリアルの遺伝毒性について多数の*in vitro*研究が実施され、そのいくつかは TiO_2 NPは遺伝毒性があると示唆している。近年*in vivo*研究の報告も見られるが、結果は矛盾している。本研究で著者らはいくつかの遺伝毒性エンドポイントを用い、マウスに TiO_2 を分散させた懸濁液を静脈内投与させた影響について調査している。

「方法・結果」雄性 *gpt*デルタ C57BL/6J マウスに4週連続で毎週2、10又は50mg/kg体重の TiO_2 NPを投与した。遺伝毒性影響を末梢血で *Pig-a* 変異原性試験及び小核試験により解析し、肝臓でアルカリコメットアッセイ、*gpt* 変異試験及び *Spi*-変異試験により解析した。また、透過型電子顕微鏡により肝臓における TiO_2 NPの局在化を評価した。 TiO_2 NPの投与は次に示すエンドポイントのいずれも有意な増加を示さなかった:*Pig-a* 変異原性(赤血球)の頻度、小核(網状赤血球)の頻度、DNA損傷(肝臓)のレベル、*gpt* 及び *Spi*-変異原性(肝臓)の頻度。肝臓の多くの TiO_2 NPが鼻腔内及びクッパー細胞において観察されたが、肝臓の実質細胞で観察されることもあった。

「結論・考察」著者らの結果は、 TiO_2 NPはマウスの肝臓又は骨髄で遺伝毒性が無かったことを示していた。

3) 肺胞毛細血管関門を構成する細胞に対する *in vitro* での酸化チタンナノ粒子の細胞毒性及び遺伝毒性に関する酸化ストレス経路

Hanot-Roy M et al. *Toxicol In Vitro* 33:125-135, 2016. (フランス国立産業環境・リスク研究所)

要約:「緒言・目的」ナノ粒子による健康リスクは、それらが産業及び家庭用品において使用されて普及していることを考慮す

ると依然として重大な懸念事項であり、酸化チタンナノ粒子の主要な曝露経路は吸入である。ナノ粒子は酸化ストレスの誘導により細胞毒性を示すと考えられている。本論文ではこの問題をさらに検討するために、肺胞毛細血管閉鎖を代表する細胞株に対する酸化チタンナノ粒子の影響を検討した結果を報告している。

「方法・結果」本論文では、ナノ粒子に曝露されたすべての細胞株が ROS を発生したとしている。マクロファージ様 THP-1 及び HPMEC-ST1.6R 微小血管細胞は内因性酸化還元変化に対する感受性を示し、アポトーシスを起こしたが、肺胞上皮 A549 細胞は示さなかったとしている。γH2AX の活性化、DNA 修復タンパク質の活性化及び細胞周期停止を用いて酸化チタンナノ粒子の遺伝毒性を検討した結果、DNA 損傷が持続し、DNA 修復経路の活性化が認められたとしている。さらに、ウエスタンブロット分析で、細胞ストレス応答に関連する特異的経路が DNA 修復又はアポトーシスと同時に活性化したことが示されたとしている。

「結論・考察」ナノ粒子による誘導酸化ストレスは、最終的に遺伝毒性及び細胞毒性を含むさらなる生理学的作用のシグナル伝達因子であったとしている。活性化経路内で、HSP27 及び SAPK/JNK タンパク質はそれぞれ細胞内ストレス及び内因性酸化還元変化に対する感受性の潜在的バイオマーカーであると考えられ、細胞の挙動を予測することを可能にするとしている。

4) マクロファージ及び上皮細胞における代表的な銀ナノ粒子の毒性学的評価

Nguyen KC et al. *Toxicol In Vitro* 33:163–173, 2016. (Health Canada)

要約:「緒言・目的」銀ナノ粒子 (AgNP) は、消費者製品及び医療用品並びに様々な用途に広範囲に使用されていることからヒト及び環境への曝露に高い関連性がある。したがって、これらの NP の毒性を評価する必要があることから、本論文ではマルチエンドポイントアッセイを用いて、マウスマクロファージ J774A.1 及びヒト結腸上皮 HT29 細胞における OECD の WG で評価された代表的 AgNP である NM300K の毒性作用を検討している。

「方法・結果」種々の濃度 (1~250 µg/mL; 総銀含量) の NM300K を試験細胞に対して 24 時間曝露したところ、細胞生存率の用量依存的低下が示されたとしている。共焦点及び電子顕微鏡法により観察すると、高用量の NM300K は細胞の形状を変化させ、空胞構造の形成を誘発したとしている。さらに NM300K は、炎症性サイトカインのレベルを上昇させ、炎症を誘発した。高用量の NM300K は活性酸素種の産生増大及び酸化ストレスの誘導をもたらす、試験細胞における酸化的 DNA 損傷及びアポトーシスを引き起こしたとしている。等価銀濃度換算では、NM300K は AgNO₃ より低い細胞毒性を示したものの、評価した毒性学的エンドポイントでは NM300K と AgNO₃ の作用のパターンが類似していたことから、溶解によりこれらの NP から放出された Ag⁺ が毒性の主要な誘因であり得ることが示唆された。

「結論・考察」本論文は、OECD で評価された代表的 AgNP の *in vitro* での毒性の可能性を明らかにした最初の報告であり、AgNP の毒性に関連する生物学的メカニズムについての付加的な洞察をもたらすとしている。

5) ラット肺における気管内投与後の初期状態多層カーボンナノチューブの長期保持

Shinohara N et al. *Toxicol Appl Pharmacol* 36:501–509, 2016. (産総研)

要約:「緒言・目的」発展する可能性のある産業及び医学的用途で多層カーボンナノチューブ (MWCNT) が応用される結果、それらを製造する人々又は工場近隣の住民が将来、飛散した MWCNT に曝露される可能性がある。MWCNT の毒性に関する懸念のため、初期状態 MWCNT の肺からの長期的なクリアランスに関する定量的なデータが必要である。

「方法・結果・結論・考察」本研究では 0.5mg/mL の界面活性剤溶液に 0.20 又は 0.55mg の初期状態 MWCNT を分散させ、ラット気管内投与により 12 箇月以上の観察期間内での除去状況を調査している。投与後、1、3、7、28、91、175 及び 364 日目に、酸分解と加熱前処理を併用した燃焼酸化・赤外線分析法により、初期状態 MWCNT の肺への負荷を決定した。0.20 及び 0.55mg の MWCNT 投与の 1 日後にそれぞれ 0.15 及び 0.38mg の MWCNT が検出されたため、MWCNT の約 30% は 24 時間以内に気管支纖毛運動によって除去された。その後、肺の MWCNT は投与後 364 日間、減少しなかった。これ

は MWCNT が肺から完全に除去できなかったことを示唆する。透過型電子顕微鏡観察により、MWCNT が肺胞のマクロファージにより内在化され、投与後、少なくとも 364 日間、肺に保持されることが示された。MWCNT は 364 日の試験期間内に肝臓又は脳内から検出されることはなかった。

6) 酸化亜鉛ナノ粒子は活性酸素種により腎毒性を誘発する

Xiao L et al. J Appl Agric Food Chem 90:76–83, 2016. (南開大学 [中国])

要約:「緒言・目的」近年、酸化亜鉛ナノ粒子(ZnO NP)は様々な分野で汎用され、その潜在的有害性が懸念されている。本研究では有足細胞やラットを対象とした毒性評価を実施している。

「方法・結果」*in vitro* 研究では、有足細胞を種々の濃度(10、50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)の ZnO NP で処理し、MTT アッセイにより評価したところ、処理時間が長くなると細胞生存率が減少することが確認された。一方、フローサイトメトリー解析により、ZnO NP が活性酸素種(ROS)の細胞内蓄積及びアポトーシスを誘導することが示された。スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)とマロンジアルデヒド(MDA)を測定すると、ZnO NP は SOD を減少させ、MDA を増加させることが分かった。興味深いことに、ROS スカベンジャーとして知られている N-メルカプトプロピオニルグリシンで前処理すると、ZnO NP による有足細胞のアポトーシスを抑制することができた。一方、ネフリンの消失が観察された。これは、スリット膜への直接的なダメージにつながる可能性がある。*in vivo* 研究では、成体ウイスター系ラット(雄)に、3 mg/kg/日の ZnO NP を 5 日間投与したところ、体重及び腎臓インデックスが顕著に減少した。加えて、ZnO NP は *in vivo* の腎皮質におけるカタラーゼと SOD の活性を減少させた。

「結論・考察」以上のことから、ZnO NP は有足細胞とウイスター系ラットに対して酸化ストレスに関連した毒性を呈する可能性が示唆された、としている。

7) カーボンブラックナノ粒子は気管内単回投与後のC57BL/6マウスの肺における炎症反応に関連する二相性の遺伝子発現変化を引き起こす

Husain M et al. Toxicol Appl Pharmacol 289:573–588, 2015. (Health Canada)

「緒言・目的」

カーボンブラックナノ粒子(CBNP)を吸入すると肺の炎症を引き起こす。しかし、肺炎症の詳細な進展を評価するための経時的データが不足している。本研究では CBNP に対する炎症反応の時系列を調査した。

「方法・結果」雌 C57BL/6 マウスの気管内に溶媒コントロールと並行して、162 μg の CBNP を投与した。曝露後、3 時間後、1、2、3、4、5、14、及び 42 日後の肺組織を調べた。広範囲な遺伝子発現と肺の炎症を評価した。DNA 損傷は気管支肺胞洗浄(BAL)細胞及び肺組織でコメットアッセイを用いて評価された。好中球流入の増加が全ての時点で観察された。DNA 鎖切断は、曝露後 3 時間の BAL 細胞と曝露後 2–5 日後の肺組織において増加した。曝露されたマウスの肺において全ての時点で約 2,600 の遺伝子が異なる発現(± 1.5 倍、 $p < 0.05$)をしていた。変更された転写レベルは、免疫炎症反応と急性期応答経路と関連しており、それは一般的な呼吸器感染症で見られる BAL プロファイル及び発現変化と一致していた。DNA 修復、アポトーシス、細胞周期調節、筋収縮にかかわる遺伝子もまた通常と異なる発現をしていた。炎症反応に関連する遺伝子発現の変化は二相性のパターンであり、曝露後 3 時間の初期変化は 3 日後に元に戻り、14 日で再び増加し、42 日後まで持続した。「結論・考察」現在のデンマークの職業曝露限界での 9 日分(1 日 8 時間労働)にあたる 162 μg の CBNP の単回曝露は、曝露後 42 日後まで続く遺伝子発現の二相性炎症反応を誘導したため、CBNP 曝露の慢性影響の懸念が高まった。

8) 官能基化多層カーボンナノチューブ及びグラフェン酸化物上に吸着したDNAにおける脱塩基部位損傷病変の修復障害

「緒言・目的」 工業的カーボンナノマテリアル(CNM)の存在下における細胞外 DNA 中の脱塩基部位 DNA 損傷部位のプロセシングが明らかとなった。カルボキシル化多層カーボンナノチューブ及びグラフェン酸化物存在下で脱塩基部位の切断における脱プリン脱ピリミジン部位エンドヌクレアーゼ 1(APE1)の効果を比較した。

「方法・結果」 CNM は APE1 の切断活性を攪乱することが見出された。そのような攪乱プロセスは、CNM-DNA 複合体による CNM の自由表面上の APE1 の非特異的吸着部位、あるいは CNM-DNA 複合体による立体障害のいずれかによって起こることが予想された。したがって、ウシ血清アルブミン(BSA)は CNM-DNA ハイブリッド材料の自由表面を阻害するために選択的に利用された。CNM-DNA-BSA 複合体を APE1 でさらに処置すると APE1 の効果がわずかに増加した。これは、溶解した APE1 が CNM 上に吸着した DNA の脱塩基部位をプロセシングできないことを示している。しかし、APE1 の切断活性は、CNM 表面上で DNA の吸着を阻害する非イオン界面活性剤の存在下で回復した。CNM により誘発される立体障害に加えて、DNA の立体構造の変形は、APE1 による脱塩基部位の DNA 修復阻害を引き起こした。更に、CNM 上に吸着した APE1 の二次構造における明らかな変化が、脱塩基部位の修復屈折能に寄与することが観察された。

「結論・考察」 著者らの結果は、毒物学的観点から、これらの知見は細胞内の DNA 修復プロセスにおける工業的ナノ粒子の影響に関する研究に応用することが可能であるとしている。

3. その他の動向(参考資料:【NITEケミマガ】NITE化学物質管理関連情報;第299~307号、みずほ情報総研【ケミマガ】化学物質管理関連サイト新着情報;2016/6/23特別号、第404~407号をもとに、安全性部会にて改変)

海外ニュース

1)【2016/06/09】 Drafts for three further packages of new or updated appendices to guidance on recommendations for nanomaterials sent for PEG consultations

ECHAは、REACH規則に基づくIR&CSRガイダンスのR.7a、R.7b、R.7c章付録へのナノマテリアルの追加記載に関するガイダンス案(Ver.2)をPEGに送付した。

•Appendix R7a

http://echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft_appendix_r7a_v2_peg_en.pdf

•Appendix R7b

http://echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft_appendix_r7b_v2_peg_en.pdf

•Appendix R7c

http://echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft_appendix_r7c_v2_peg_en.pdf

(みずほケミマガより)

2)【2016/06/01】 Improve regulation of Nanomaterials

ドイツ連邦環境庁(UBA)は、ナノマテリアルに関する安全性の知見や規制状況等に関する報告書を公表した。

<http://www.umweltbundesamt.de/en/topics/improve-regulation-of-nanomaterials>

(みずほケミマガより)

3) 【2016/06/09】 ANSES's proposal for titanium dioxide to be classified as carcinogenic by inhalation submitted for public consultation

フランス保健省(ANSES)は、ECHAに対し、二酸化チタンを発がん性あり(吸入)という分類結果を提案したことを公表した。

<https://www.anses.fr/en/content/anses-proposal-titanium-dioxide-be-classified-carcinogenic-inhalation-submitted-public>

(みずほケミマガより)

4) 【2016/07/04】Minutes of Working Group Meeting on Nanomaterials in Cosmetic Products of 27 June 2016

欧州委員会SCCSは、6月27日に開催された化粧品中のナノマテリアルに関する会合の議事録を公表した。

WGコメント:

Draft Mandate (Styrene/Acrylates copolymer (nano) and Sodium styrene/Acrylates copolymer (nano))について議論された。次段階は、SCCS plenary meeting(10月)にて mandateとしての採用。

サンスクリーンおよびパーソナルケアスプレー製品におけるUVフィルターとしての酸化チタン: draft opinionについて議論。次回(8/23)、さらに議論を行う。

酸化チタンの3つのコーティング剤について: draft opinionについて議論し、次回のWGにて採用予定。

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs2016_miwg_001.pdf

(みずほケミマガより)

5) 【2016/07/12】Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials (OECD)

『the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials』では、人の健康や環境安全に関するOECDの活動の最新情報を提供している。今回のドキュメントでは製造されるナノ材料に関する活動だけでなく、ナノテクノロジーに関する国際レベルでのその他の活動に関する背景情報を掲載しており、2015年11月の第15回 WPMN会議の前後のOECDの活動について取り上げている。

◇No.71 Silicon dioxide: summary of the dossier

◇No.70 Single walled carbon nanotubes (SWCNTs): summary of the dossier

◇No.69 Fullerenes (C60): summary of the dossier

<http://www.oecd.org/env/ehs/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>

(NITEケミマガより)

6) 【2016/07/12】Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials

OECDは、以下の工業用ナノマテリアルに関するドキュメントNo.63及びNo.64を公表した。(WGコメント: ドキュメント番号は、正しくはNo.69, 70, 71と思われる)

・No.69 (フラーレン)

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)21&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)21&doclanguage=en)

・No.70 (単層カーボンナノチューブ)

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)22&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)22&doclanguage=en)

・No.71 (二酸化ケイ素)

[www.oecd.org/officialdocuments/displaydocument/?cote=env/jm/mono\(2016\)23&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocument/?cote=env/jm/mono(2016)23&doclanguage=en)

(みずほケミマガより)

7) 【2016/07/11】Commission Regulation (EU) 2016/1120 of 11 July 2016 amending Annex IV to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products (Carbon Black)

欧州委員会は、カーボンブラックの化粧品成分としての使用について、ナノ形状での濃度は10%以下であることや、吸入による肺への曝露を生じない等の一定の条件を満たす場合についてのみ使用可とする委員会規則(EU) 2016/1120を公布した。

http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2016.187.01.0001.01.ENG&toc=OJ:L:2016:187:TOC

(みずほケミマガより)

8) 【2016/07/14】 Commission Regulation (EU) 2016/1143 of 13 July 2016 amending Annex VI to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products

欧州委員会は、酸化チタン(ナノ形状を含む)の化粧品成分としての使用について、ナノ形状での濃度が25%(w/w)以下であり、吸入による肺への曝露を生じない等の一定の条件を満たす場合についてのみ使用可とする委員会規則(EU) 2016/1143を公布した。

http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2016.189.01.0040.01.ENG&toc=OJ:L:2016:189:TOC

(みずほケミマガより)

9) 【2016/7/27】Proposed prioritization approach for nanoscale forms of substances on the Domestic substances list (カナダ)

カナダ政府は、国内物質リストに記載されているナノスケール物質のリスク評価に向け、優先順位付けの考え方を提案した。

WGコメント:

既存物質リスト中のナノ物質の優先順位付けアプローチに関する提案を発表。本件は Environment and Climate Change Canada (ECCC) と Health Canada (HC)がCEPA1999の下で進めている。提案されたアプローチは以下の3ステップからなる。

- 1.カナダにおける既存ナノ材料リストの作成
- 2.入手可能な情報をリスク評価のためのナノ材料の優先順位付けに使用する方法の同定
- 3.優先順位付けプロセスの提案結果の概説

コメント募集は9月25日まで

<http://www.ec.gc.ca/lcpe-cepa/default.asp?lang=En&n=FA3C8DBF-1>

(みずほケミマガより)

10) 【2016/08/02】New campaign showcases how TiO2 brightens your every day

Ceficは、二酸化チタン工業協会が設置した二酸化チタンのベネフィットについて紹介するウェブサイトが公開されたことのお知らせを掲載した。

<http://www.brilliantwhite.life/>

(みずほケミマガより)

11)【2016/08/05】Testing Programme of Manufactured Nanomaterials (OECD)

<http://www.oecd.org/env/ehs/nanosafety/testing-programme-manufactured-nanomaterials.htm>

製造されるナノマテリアルの安全性に対処するために使用されているテストの整合性と正当性を確保するため、OECDの作業部会(WPMN)は2007年11月にナノマテリアルのテストプログラムに関する後援プログラムを立ち上げた。プログラムの開始に伴い、実使用または商用利用に近い物質を基準に11のナノマテリアルの優先リストに合意している。

各物質に関する調査書類などは以下のリンクを参照。

<http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/dossiers-and-endpoints-testing-programme-manufactured-nanomaterials.htm>

(NITEケミマガより)

国内ニュース

1)【2016/06/10】ナノ炭素材料の自主安全管理支援のためのケーススタディ報告書が更新されました。(産業技術総合研究所)

標記お知らせが掲載された。

→<https://www.aist-riss.jp/assessment/21371/>

(みずほケミマガより)

2) 【2016/07/06】食品安全情報(化学物質) No.14 (国立医薬品食品衛生研究所)

標記資料が掲載された。主な内容は、

・【EC】欧州委員会ニュース 農薬:EU 加盟国がグリホサートの延長についての決定に責任をとらなかったため欧州委員会は ECHA が意見を出すまで認可を延長する

・【EFSA】2016?2018 年の EFSA の科学委員会によるリスク評価ガイダンスの開発のための優先課題

・【EFSA】食品中のマイクロプラスチックとナノプラスチック-新興問題

・【BfR】BfRは内分泌攪乱物質の同定のための欧州委員会の科学的基準を歓迎

<http://www.nihs.go.jp/hse/food-info/foodinfo/news/2016/foodinfo201614c.pdf>

(みずほケミマガより)

3) 【2016/08/01】国立医薬品食品衛生研究所

EUリスク評価書(ο-アニシジン、2,3-エポキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライド、クロロ酢酸、酸化亜鉛、ジメチルジオクタデシルアンモニウムクロリド(DODMAC)、ベンゼン)の翻訳を掲載しました。

<http://www.nihs.go.jp/hse/chem-info/euindex.html>

(NITEケミマガより)

4)【2016/08/12】第8期ナノテクノロジー・材料科学技術委員会(第7回)の開催について

8月23日に標記会合が開催される。議題は、

- 1.グリーン・ネットワーク・オブ・エクセレンス(GRENE)事業(先進環境材料分野)の事後評価について
- 2.研究開発計画(素案)について
- 3.その他

http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu2/kaisai/1375791.htm

(NITEケミマガより)

4. 今後の動向

1) 第23回日本免疫毒性学会学術年会

開催日時:2016年9月5～7日(北九州)

年会長:森本泰夫(産業医大産業生態科学研究所)

ナノマテリアル関連の演題は以下の通り。

特別講演:「Inhaled nanoparticles: Consequences of exposure and approaches for hazard identification」

Victor J Johnson (Burlison Research Technologies, Inc.)

シンポジウム:「微小粒子による肺生体影響評価とその社会実践」

「微小粒子による肺の炎症とアレルギー」 黒田悦史(大阪大学免疫学フロンティア研究センター)

「工業用ナノ材料の有害性スクリーニング法の開発:気管内注入試験」 和泉弘人(産業医大産業生態科学研究所)

市民公開講座(9/5PM)

テーマ:工業用ナノ材料の有害性評価手法の開発と労働衛生管理

<http://www.uoeh-u.ac.jp/kouza/kbyotai/jsit2016/index.html>

2) 第75回日本癌学会学術総会

開催日時:2016年10月6～8日(横浜)

学会会長:宮園浩平(東京大学大学院医学研究科)

詳細プログラムはまだアップされていない。

以上