

化粧品のナノテクノロジー安全性情報

【調査対象期間:2016.8.22-2016.10.10】

1. 国内行政動向

1-1. 厚生労働省

特に動きなし

1-2. 経済産業省

2016年9月28日(水) 14時から、第1回ナノ材料の安全・安心確保のための国際先導的安全性評価技術の開発事後評価検討会が開催された。議題は、①プロジェクトの事後評価検討会の実施方法等について、②プロジェクト(平成23年度～平成27年度実施)の概要説明。議事録は掲載されておらず、詳細は不明。

経済産業省委託事業「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」が、2011年度から2015年度までの5年間で実施されていた。プロジェクト参加期間は、慶應義塾大学、産総研、産業医大、化学物質評価研究機構(CERI)、日本バイオアッセイ研究センター、信州大学、広島大学、東京大学であり、多様なナノ材料の安全・安心確保のため、合理的かつ効率的な有害性評価技術を構築することを目標としていた。具体的には、ナノ材料の同等性評価、気管内投与試験について検討された。

<https://metinanojp.aist-riss.jp/>

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)

前回の部会で報告済であるが、一般演題の演題名が追加で公開された。ナノマテリアル関連の演題は、前回報告分も含めて以下の通り。

・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)

・一般演題:「銀ナノ粒子によるA549細胞障害とリソソームpH破綻」(宮山貴光・東京女子医大)他

・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)

一般演題の演題名が追加で公開された。ナノマテリアルの安全性関連演題は以下の通り。

・J-3007「多層カーボンナノチューブ(MWCNT)を経気管反復投与したラットに見られた肺胞過形成病変に関する病理組織学的解析」坂本義光(東京都健康安全研究センター)他

・J-3017「酸化鉄ナノ粒子の細胞毒性について:セルビジョンと表面修飾の観点から」橋本紗歩(横浜国大院・工研院・医工学)他

<http://www.congre.co.jp/jca2016/>

2-2. 文献情報(主として、粧工連HP「技術情報」より)

1) 金属ナノ粒子が引き金となり、金属アレルギーを発症することを示した論文がNature Nanotechnology誌に掲載された(大阪大学薬学部 堤グループ)

Hirai T et al. Metal nanoparticles in the presence of lipopolysaccharides trigger the onset of metal allergy in mice. Nat Nanotech 11:808-816, 2016. (9月号)

内容については、6月17日の安全性部会にて報告済。

<http://www.nature.com/nnano/journal/v11/n9/full/nnano.2016.88.html>

大阪大学プレスリリース: http://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2016/20160610_1

2) 銀ナノ粒子を用いた*in vitro*試験における標準物質としての硝酸銀の使用に関する考察

Hansen U et al. Toxicol in Vitro 34:120-122, 2016. (ドイツ連邦材料試験研究所[BAM])

要約:「緒言・目的」ナノ粒子金属の細胞毒性に関するほとんどの*in vitro*試験では粒子と、粒子に結合している金属イオンのそれぞれに対する曝露を比較する。一方、例えば銀イオンは糖類によって還元されるか、細胞培養培地に豊富に含まれる成分である塩化物塩によって塩化銀に転換される。これらの反応により複雑な、あるいはイオンと粒子の効果の比較を無意味にする結果を招いてしまう。本論文では非破壊 X 線小角散乱法(SAXS)を用い、異なる細胞培養培地における粒子形成及びその数を求める迅速な定量的方法を示している。

「方法・結果」濃度 25 $\mu\text{g Ag/mL}$ の硝酸銀を、10%ウシ胎児血清(FBS)存在下及び非存在下のダルベッコ 改変イーグル培地あるいはD-グルコース溶液(4.5 $\mu\text{g/mL}$)中に37°Cで最長24時間溶解した。すべての溶液で、5分後に銀ナノ粒子が認められた。FBSを含まない細胞培養培地では、形成された粒子径の分布は狭い範囲に収束した。FBSを含む培地では生成された粒子径分布は広がったものの、5分後にはFBS添加及びFBS無添加培地とも、全体的な粒子径の平均値はほぼ等しくなった(FBS添加;5.6nm、FBS無添加;5.1nm)。還元剤としてのD-グルコースの影響を見るために、硝酸銀溶液とD-グルコース

溶液を混合すると、10 分後に粒子が沈殿した。銀粒子濃度は、FBS を含まないいずれの細胞培養培地においても、3～4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲にあった。

「結論・考察」これらの結果は、銀イオンの毒性試験の際に培地についても考慮すべきであることを示している、としている。

3) 酸化チタン複合材料製造時のナノ中間体のヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B) における表面反応性及び *in vitro* 毒性

Vergaro V et al. Toxicol in Vitro 34:171-178, 2016. (Salento大学 [イタリア])

要約:「緒言・目的」酸化チタン(TiO_2)ナノ粒子(NP)は、幅広い用途で使用されるため、世界的に大量に製造されている。 TiO_2 NP に関連する危険有害性を評価することは、ヒト及び環境曝露に関するリスク評価を可能とするため、極めて重要である。本論文では、将来の合成スケールアップ時の危険有害性を評価するため、酢酸、オレイン酸及びホウ酸で修飾した一連の TiO_2 NP がヒトの健康に与える影響を *in vitro* で評価した。「方法」人工太陽光照射下及び暗所における粉末の表面反応性を EPR 分光法により評価している。ヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B) を肺上皮のモデルとして用いている。乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)アッセイにより細胞膜統合性を測定することで細胞毒性を評価し、酸化窒素(NO)及び $\text{TNF-}\alpha$ の産生で炎症反応を評価し、細胞内還元型グルタチオン(GSH)レベル及び脂質過酸化の誘発により酸化ストレスを測定している。比較対照のために表面反応性の高いナノ酸化チタンであるアナターゼ型とルチル型の混合物製品を用いている。

「結論」表面に酸性部分が存在していることにより、対照物質より低い光反応性及び TiO_2 NP 粉末の毒性作用が示されたのであろう、と結論している。

4) 非晶質シリカ粒子の皮膚透過性及び毒性学的性質の解析

Matsuo K et al. Biol Pharm Bull 39:1201-1205, 2016. (大阪大学・薬・薬剤学)

要約:「緒言・目的」ナノ物質(NM)は直径 100 nm 未満のナノ構造成分を持つ物質として定義されている。それらは医薬品、化粧品、食品産業のような様々な分野で広く使われている。しかしながら、NM の毒性学的作用は十分に理解されていない。特に、皮膚は常に環境に曝されており、容易に NM の影響を受ける。NM の安全適用性における一助のため、本研究において筆者らは直径 70～1,000 nm の、よく分散させた非晶質シリカ粒子の皮膚透過性及び毒性学的性質を調べている。

「方法・結果」代用皮膚を用いた *in vitro* 皮膚透過試験では、直径 70nm、300nm 及び 1,000nm のシリカ試料塗布 3～9 時間後において、70 nm の非晶質シリカ粒子 (nSP70) のみが皮膚透過性を示した。皮膚透過性を向上させるためにアセトン/ジエチルエーテルで前処理した ICR マウス皮膚を対象に、それぞれのサンプルを 3 日間塗布すると、70nm 直径のシリカのみが表皮を透過していた。非修飾 nSP70、カルボキシル基修飾 nSP70、若しくはアミノ基修飾 nSP70 を 28 日間、未処理及びアセトン/ジエチルエーテルで前処理した ICR マウス皮膚に塗布しても、塗布部位でほとんど皮膚刺激が起らなかった。本実験条件下において、血液検査及び病理組織学的検査からは全身の副作用は全く認められなかった。

「結論・考察」これらの結果は、粒子サイズの低下が NM の皮膚透過性を増加させるが、明らかな皮膚刺激性との相関が認められないことを示唆している。

5) ナノ物質の母体投与は、非人類霊長類新生児の脳内ヘモグロビンのアップレギュレーションを誘発する

Mitsunaga F et al. J Toxicol Sci 41:265-271, 2016. (NPO法人 プライメイト・アゴラ)

要約:「緒言・目的」胎児の発生期間中における、ナノ物質への曝露の影響を調査した。

「方法・結果」ディーゼル排気粒子(DEP)、カーボンブラック及び二酸化チタンを、妊娠中のアカゲザルに皮内注射した。出生後4日以内の仔の海馬と小脳について、ヘモグロビン遺伝子であるHbA、HbB及びHbGの発現を測定するためにDNAマイクロアレイ、定量的リアルタイムRT-PCR、ウェスタンブロット及び、免疫組織化学的分析を行った。

その結果、テストしたナノ物質のうち、DEPによる脳組織中のヘモグロビン遺伝子のmRNA及び、タンパク質レベルの増加が最大であった。HbAタンパク質の強いシグナルはDEP処理動物の錐体細胞層、多形細胞層及び、海馬白板で検出された。遺伝子発現の変化は、胎児/新生児の脳における酸化またはニトロソ化ストレス及び/又は低酸素症に対する応答による可能性が高いと考えられた。

「結論・考察」過度のヘモグロビンは、神経毒であると報告されており、ヘモグロビンの長期間のアップレギュレーションによる脳の発達における脆弱性は考慮されるべきである。ナノ物質の母体曝露は、仔における脳機能障害の危険性を増大させる可能性があることが示唆された。

6) ヒト気管支上皮細胞に対する酸化亜鉛の細胞毒性及び遺伝毒性における粒径及び分散状態の影響 Roszak J et al. Mutat Res 805:7-18, 2016. (フィンランド労働衛生研究所)

要約:「緒言・目的」酸化亜鉛(ZnO)ナノ粒子(NP)の遺伝毒性に関する利用可能なデータには議論の余地がある。本研究では、ウシ血清アルブミン(BSA, 0.06%)の存在下及び非存在下にて、ヒト気管支上皮細胞(BEAS-2B)に対する、ナノサイズ(30-35nm)及びセミナノサイズ(150-300nm) ZnOの細胞毒性及び遺伝毒性における粒径及び分散状態の影響を調査している。

「結果」動的光散乱分析により、ナノサイズ ZnO は水中で、セミナノサイズ ZnO は BSA を含む水中で最も均一な分散を示していた。BSAの有無に関わらず48時間の処置後、両タイプのZnOは同様に狭い用量範囲(1.5-3.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)で細胞毒性を示し、接近した毒性用量範囲(1.25-1.75 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)で小核誘導が確認された。コメットアッセイにおいて、BSA非存在下ではナノサイズ ZnO (1.25-1.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)の3時間及び6時間の処置後において統計学的に有意にDNA損傷の増加を引き起こしたが、セミナノサイズ ZnO ではDNA損傷は確認されなかった。

「結論・考察」著者らの調査結果は、BSA非存在下の短時間処置(3-6時間; コメットアッセイ)についてはナノサイズ ZnOの細胞内への高い取り込み又は速い細胞内溶解によって、長時間処置(>48時間; *in vitro*小核試験)においては2種類のZnOの形状の差が少なかったことにより、説明可能である。ZnOは細胞毒性容量と部分的に重なる狭い容量範囲内で遺伝毒性があり、実験におけるわずかな相違(例えばZnO粒子の分散状態)が、細胞に添加される投与量の遺伝毒性に実質的に影響を及ぼす可能性があるとしている。

7) ポリビニルポリピロリドンは環境に優しい方法によって合成され、レンリソウ属グラスピー根バイオアッセイで評価された銀ナノ粒子の遺伝毒性を減弱させる

Panda KK et al. Mutat Res 806:11-23, 2016. (Berhampur大学 [インド])

要約:「緒言・目的」著者らは、環境に優しい方法によって銀ナノ粒子(AgNP)を合成する予備試験において数種類の植物抽出物を調査し、最も効果的かつ適切な植物材料として成熟マンゴー(*Mangifera indica* L.)核の抽出物を特定している。今回著者らは、クエン酸三ナトリウム(TSC)、ポリビニルポリピロリドン(PVPP)及びポリビニルピロリドン(PVP)の影響下、環境に優しい方法により銀ナノ粒子(AgNP)を合成し、これらの遺伝毒性調節及び酸化ストレス誘発能力に及ぼす影響について、著者らが確立したグラスピー(*Lathyrus sativus* L.)根バイオアッセイシステムで評価した結果を報告している。

「方法・結果」以下に示す合成媒質が異なる4種類の反応条件下において、AgNPは成熟マンゴー核の抽出物を用いることにより、硝酸銀(AgNO_3)から細胞外で合成された:(i)還元剤であるTSCの非存在下(AgNP I)、(ii)還元剤の存在下(AgNP II)、(iii)洗浄剤であるPVPPの存在下(AgNP III)、及び(iv)キャッピング剤であるPVPの存在下(AgNP IV)。AgNP

の合成は、UV-VIS 分光光度法でモニタリングした。AgNP はエネルギー分散型 X 線分光法、透過型電子顕微鏡、X 線回折及び小角 X 線散乱法によって特徴付けられた。AgNP の官能基は、フーリエ変換赤外分光法によって確定された。AgNP (AgNP I、AgNP II、AgNP III 及び AgNP IV) は、それぞれ 14.0 ± 5.4 、 19.2 ± 6.6 、 18.8 ± 6.6 及び 44.6 ± 13.2 nm の直径及びサイズ分布幅を有する球状であった。1~100mg/L の濃度範囲の AgNP の遺伝毒性は、グラスピー根バイオアッセイ及び活性酸素種の発生、細胞死、過酸化脂質、有糸分裂指数、染色体異常 (CA)、小核形成 (MN) 及びコメットアッセイによって決定される DNA 損傷を含むいくつかのエンドポイントアッセイによって決定された。銀イオン (Ag^+) 及び AgNP の遺伝毒性の用量依存的誘導は DNA 損傷及び酸化ストレスの誘導性の相対的効力に対応し、 $Ag^+ > AgNP II > AgNP I > AgNP IV > AgNP III$ の順であった。更に、調査結果はコメットアッセイで試験した濃度 (≥ 10 mg/L) より低い濃度 (≤ 10 mg/L) で AgNP の遺伝毒性を示した CA 及び MN のエンドポイントに基づく遺伝毒性試験結果を強調するものであった。

「結論・考察」本研究の結果は、グラスピー根バイオアッセイシステムにおいて AgNP の大きさは無関係であった AgNP III の遺伝毒性に対する PVPP の保護作用を実証した、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308~313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408~410号をもとに、安全性部会にて改変)

海外ニュース

1)【2016/08/26】Minutes of Working Group Meeting on Cosmetic Ingredients of 24 August 2016
欧州委員会SCCSは、8月24日に開催された化粧品成分に関する会合の議事録を公表した。

WGコメント:

- ・カーボンブラックの規制が7月11日付けで採用され、官報にて公開されたことが報告された。
- ・酸化チタンの規制が7月13日付けで採用され、官報にて公開されたことが報告された。

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs2016_miwg_004.pdf

(みずほケミマガより)

2)【2016/08/26】Minutes of Working Group Meeting on Nanomaterials in Cosmetic Products of 23 August 2016

欧州委員会SCCSは、8月23日に開催された化粧品中のナノマテリアルに関するワーキンググループの議事録を公表した。

WGコメント:

- ・フランス保健省(ANSES)が二酸化チタンを発がん性あり(吸入)という分類をECHAに提案したこと、カーボンブラックの規制が採用されたこと、酸化チタンの規制が採用されたことが報告された。
- ・Official Mandateが8/19付で採用された (nano - Styrene/Acrylates copolymer' (nano) CAS n. 9010-92-8, EC n. 927-710-1 and 'Sodium styrene/Acrylates copolymer' (nano) CAS n. 9010-92-8 および nano - Colloidal Silver (nano) CAS No 7440-22-4, EC No 231-131-3)。
- ・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(10/4)、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。次回(10/4)、さらに議論を行う。

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs2016_miwg_003.pdf

(みずほケミマガより)

3) 【2016/09/01】 Request for a scientific opinion on Styrene/Acrylates copolymer (nano) and Sodium styrene/Acrylates copolymer (nano)

欧州委員会SCCSは、ナノ形状の(スチレン/アクリル酸アルキル)コポリマー、(スチレン/アクリル酸アルキル)コポリマー-Naについて科学的意見を提示するよう欧州委員会から諮問を受けた。

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs2016_q_002.pdf

(みずほケミマガより)

4) 【2016/09/01】 Request for a scientific opinion on Colloidal Silver (nano)

欧州委員会SCCSは、ナノ形状のコロイド銀について科学的意見を提示するよう欧州委員会から諮問を受けた。

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs2016_q_001.pdf

(みずほケミマガより)

5) 【2016/09/14】 Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive

EFSAは、食品添加物としての二酸化チタンの再評価に関する科学的意見を公表した。

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4545>

(みずほケミマガより)

6) 【2016/09/19】 Application-safe and environmentally friendly development and use of nanomaterials and other new materials

ドイツ連邦リスク評価研究所(BfR)は、連邦職業安全健康研究所等と共同で実施している共同研究戦略「ナノテクノロジー--ナノ物質の健康環境リスク」を更新し、長期研究戦略の採択等について公表した。

http://www.bfr.bund.de/en/press_information/2016/35/application_safe_and_environmentally_friendly_development_and_use_of_nanomaterials_and_other_new_materials-198568.html

(みずほケミマガより)

7) ドイツ ナノ材料のための連邦所轄官庁による新たな共同戦略を公表 (発表日: 2016.09.19)

標記記事が掲載された。

<http://www.eic.or.jp/news/?act=view&serial=37526&oversea=1>

(NITEケミマガより)

国内ニュース

1) 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の第4版が公開されました。
標記お知らせが掲載された。

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

(NITEケミマガより)

4. 今後の動向

1) 第29回日本動物実験代替法学会

開催日時:2016年11月16～18日 (福岡)

年会長:大戸茂弘(九州大薬)

詳細プログラムは未だ公開されていないが、シンポジウムのテーマ(公開済)を見る限り、ナノマテリアル関連のシンポジウムはなさそうであった。

<http://jsaae29.umin.jp/>

以上