

## 化粧品のナノテクノロジー安全性情報

【調査対象期間：2017.01.28－2017.03.31】

### 1. 国内行政動向

#### 1-1. 厚生労働省

・2016年(平成28年)12月16日に安全衛生部 化学物質対策課 化学物質評価室が公表した「平成28年度化学物質のリスク評価検討会報告書」を踏まえ、過去に酸化チタン(IV)等に係る有害物ばく露作業報告がなされた事業場に対して下記を要請する旨の労働基準局 安全衛生部長通知(基安発1220第1号)「リスク評価結果に基づく労働者の健康障害防止対策の徹底について」が、2016年(平成28年)12月20日付で都道府県労働局長宛てに発出された。また、関係事業者団体等の長に対して会員、傘下事業者等の関係者への周知等を要請する通知(基安発1220第2号)も、同日付で発出された。

#### 【酸化チタン(IV)に関する要請内容の抜粋】

##### 1 詳細リスク評価を行った物質について

###### (1)酸化チタン(IV)(ナノ粒子を除く)

詳細リスク評価の結果、酸化チタン(IV)(ナノ粒子を除く)の製造・取扱いの業務について、適切なばく露防止措置が講じられない状況では、労働者に健康障害を発生させるリスク(以下「リスク」という。)が高いことが認められた。このため、今後、既にリスク評価を実施してリスクが高いとされている「酸化チタン(IV)(ナノ粒子)」と併せて、「酸化チタン(IV)」による健康障害防止措置の検討を行うことを予定しているが、この検討結果を待たず、速やかに労働安全衛生法(昭和47年法律第57号。以下「法」という。)第57条の3の規定に基づき、当該物質に関する危険性又は有害性等の調査を行い、その結果に基づき、労働安全衛生規則(昭和47年労働省令第32号。以下「安衛則」という。)第576条、第577条、第593条、第594条等の規定に基づく措置を講ずることにより、リスクの低減に取り組むこと。

[http://www.hourei.mhlw.go.jp/cgi-bin/t\\_docframe2.cgi?MODE=tsuchi&DMODE=SEARCH&SMODE=NORMAL&KEYWORD=%83%8a%83%58%83%4e%95%5d%89%bf%8c%8b%89%ca%82%c9%8a%ee%82%c3%82%ad%98%4a%93%ad%8e%d2%82%cc%8c%92%8d%4e%8f%e1%8a%51%96%68%8e%7e%91%ce%8d%f4%82%cc%93%4f%92%ea%82%c9%82%c2%82%a2%82%c4&EFSNO=10553&FILE=FIRST&POS=0&HITSU=4](http://www.hourei.mhlw.go.jp/cgi-bin/t_docframe2.cgi?MODE=tsuchi&DMODE=SEARCH&SMODE=NORMAL&KEYWORD=%83%8a%83%58%83%4e%95%5d%89%bf%8c%8b%89%ca%82%c9%8a%ee%82%c3%82%ad%98%4a%93%ad%8e%d2%82%cc%8c%92%8d%4e%8f%e1%8a%51%96%68%8e%7e%91%ce%8d%f4%82%cc%93%4f%92%ea%82%c9%82%c2%82%a2%82%c4&EFSNO=10553&FILE=FIRST&POS=0&HITSU=4) (厚生労働省ホームページ)

・平成28年度 第6回化学物質による労働者の健康障害防止措置に係る検討会が、2016年(平成29年)3月17日、厚生労働省にて開催された。議題は「酸化チタンに係る健康障害防止措置の検討について」であった。当日の資料等は、下記のURLからダウンロード可能である。なお、議事録はまだ公開されていない。

<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi2/0000155952.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) 日本薬学会 第137年会

開催日:2017年3月23~27日(仙台市)

組織委員長:遠藤 泰之(東北医科薬科大学・薬学部)

ナノマテリアルに関連がある一般ポスター演題は前回の部会で報告済であるが、そのうち下記の演題が取り上げとなっていた。

・27PB-am173S「イオンフォレーシスを用いたナノ粒子の角層内デリバリーに関する研究」

(松本健吾/城西大薬 他)

その他の一般ポスター演題、及び一般口頭演題について、以下に要旨を記載した。

#### 【一般ポスター発表】

26PB-pm006 「ナノ粒子二酸化チタンの培養細胞における細胞死誘導について」

濱田 亮<sup>1</sup>, ○池田 梨香子<sup>1</sup>, 高木 圭子<sup>2</sup>, 古川 絢子<sup>1</sup>, 樋口 善博<sup>1</sup>(<sup>1</sup>鈴鹿医療大薬, <sup>2</sup>京都工繊大生命物質)

【目的】二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>)は口紅、顔料、紫外線対策化粧品をはじめ、我々の生活で広く利用され人体に安全な物質であるとされている。しかしその一方で環境大気中に飛散するナノ粒子としてのTiO<sub>2</sub>は、水などに反応したときに種々の活性酸素を生成するなど、生体細胞への影響(細胞毒性)も示唆されているが、その細胞死誘導の機構については未だ明らかでない。本研究ではTiO<sub>2</sub>による細胞死誘導のメカニズムを明らかにする手始めとして細胞毒性の有無について検討した。

【方法】TiO<sub>2</sub>(MPT-429 石原産業)polyacrylic acid 存在下、150℃で処理した後、アセトン、エタノールで洗浄したものを使用した。培養細胞はL1210(マウス白血病細胞)を用い0.2mg/mL、0.8mg/mLの2種類のTiO<sub>2</sub>濃度下で曝露させた。

【結果及び考察】TiO<sub>2</sub>曝露下では対照群に比して24 時間後から死細胞の検出は増加し、その後も時間に比例した増加がみられた。さらにTiO<sub>2</sub>曝露によるLDH測定法の結果は24 時間後からほぼ直線的に死細胞が増加した。染色体DNAの断片化はTiO<sub>2</sub>によって48 時間後以降において低分子量DNAへの断片化が検出された。安全な物質とされていたTiO<sub>2</sub>には細胞毒性の存在が認められた。また、この実験系において、TiO<sub>2</sub>は細胞内に取り込まれた可能性が考えられる。今後はTiO<sub>2</sub>が細胞へ作用メカニズムを追う手段としてTiO<sub>2</sub>の細胞内への取り込みを検討していく必要があると考えられる。

27PB-am154「多層型カーボンナノチューブ曝露によるRSV 感染初期応答への影響」

○渡辺 渡<sup>1</sup>, 権藤 喜貴<sup>1</sup>, 橋口 誠子<sup>1</sup>, 加藤 雄大<sup>1</sup>, 広瀬 明彦<sup>2</sup>, 宮内 亜宜<sup>3</sup>, 明石 敏<sup>3</sup>, 吉田 裕樹<sup>1</sup>, 杉田 千泰<sup>1</sup>, 黒川 昌彦<sup>1</sup> (<sup>1</sup>九州保福大院薬, <sup>2</sup>国立衛研, <sup>3</sup>九州保福大薬)

【目的】多層型カーボンナノチューブ(MWCNT)はIC 基盤の材料などに汎用されている一方、アスベスト様の

生物災害を引き起こす危険性が多方面から指摘されている。これまでに当研究室では、Respiratory syncytial virus (RSV) 感染マウスモデルを用いて、様々な化学物質の感染病態への影響を報告してきた。今回、同モデルを用いて、RSV感染初期の影響について検討を行った。

**【方法】RSVマウス感染実験** MWNT-7を0.02% Tween20/PBSで懸濁、希釈後、BALB/cマウス(♀、6週齢)に麻酔下でRSV感染5日前から1日おきに経鼻曝露した(0.025および0.25mg/kg)。RSV A2株は、 $3.0 \times 10^5$  PFUを麻酔下で経鼻感染させ、感染1日後に肺胞洗浄液(BALF)と肺組織を取得した。BALF中のサイトカインはELISA法にて定量し、肺組織はHE染色で病理組織学的に検討した。

**マクロファージ培養実験** RAW264.7細胞にMWNT-7を添加し24時間培養後、RSVをMOI:1.0で感染させて24時間培養し、上清中のサイトカイン量を測定した。

**【結果】**1) BALF中のTNF- $\alpha$ 、IL-6がMWNT-7曝露により有意な上昇が認められた。2) RSV感染非曝露群の肺組織では、局所的に単核球の細胞浸潤が認められた。一方、低用量曝露群は単核球の細胞浸潤により肺胞中隔の肥厚が見られ、肺動脈周囲にも単核球細胞浸潤が認められた。さらに高用量では著しい肥厚が見られ、マクロファージに貪食されたMWNT-7も散見された。3) RAW264.7細胞培養上清中のTNF- $\alpha$  およびIL-6量は、MWNT-7添加により顕著に増加した。

**【考察】**MWNT-7曝露によるRSV感染初期における炎症増悪化は、マクロファージが主な標的細胞である可能性が示唆された。現在、CCL3等に対する免疫組織学的な検討を実施している。

#### 27PA-pm001S「粒子径の異なるナノ白金経口曝露時の吸収性解析」

○泉 雅大<sup>1</sup>、長野 一也<sup>1</sup>、岡田 桃子<sup>1</sup>、石坂 拓也<sup>1</sup>、清水 雄貴<sup>1</sup>、桑形 麻樹子<sup>2</sup>、齋藤滋<sup>3,4</sup>、東阪 和馬<sup>1</sup>、堤 康央<sup>1,5</sup>(<sup>1</sup>阪大院薬、<sup>2</sup>食薬安全セ・秦野研、<sup>3</sup>富山大院医、<sup>4</sup>富山大病院、<sup>5</sup>阪大MEIセ)

**【背景・目的】**少なくとも一次元が100nm以下の素材であるナノマテリアル(NM)は、サイズの微小化により、従来までの100nm以上のサイズの素材と比較して、組織浸透性といった機能が向上しており、食品や医薬品など、既に幅広い領域で使用されている。これは、NMが従来までの素材とは異なる体内動態などを示してしまうことを意味しており、未知の生体影響を誘発し得ることが懸念されている。本観点から我々は、ナノ安全科学研究を推進するため、体内動態・物性・ハザードの多角的な連関を解析しており、ナノ銀を経鼻投与すると、脳へ移行したうえで、嗅覚過敏を引き起こし得ることなどを明らかにしている。その一方で、ナノ白金(nPt)は、食品・化粧品に適用されているにも関わらず、安全に利用するための情報が圧倒的に不足しており、その知見収集が喫緊の課題となっている。そこで本研究では、粒子径の異なるnPtを用い、現実的な曝露経路の一つである経口投与での吸収性を評価するとともに、その際の急性毒性の評価を試みた。

**【方法・結果・考察】**雄性BALB/cマウスに粒子径5,30,70nmのナノ白金(nPt5, 30, 70)を、10mg/kgで経口単回投与し、経時的に採血した。回収した血液の白金濃度を誘導結合プラズマ質量分析法により測定した結果、nPt5, 30, 70はいずれも血中で検出され、nPt5のAUCは、nPt30, 70の約4倍、16倍であり、粒子径が小さいほど吸収されやすいことが示唆された。また、急性毒性評価の一環として、投与後24時間の血液を用いて血球検査を行ったところ、いずれのnPt投与群でも、基準値の範囲内であり、nPt投与による各種血球成分への影響は認められなかった。今後は、各ナノ白金を尾静脈内投与することで、nPtの吸収率や血中半減期などを算出し、粒子径による違いを比較解析する予定である。

#### 27PA-pm002S「ナノ白金の安全性情報の収集を目指した、生体内組織移行性の定量的評価」

○岡田 桃子<sup>1</sup>, 長野 一也<sup>1</sup>, 泉 雅大<sup>1</sup>, 石坂 拓也<sup>1</sup>, 清水 雄貴<sup>1</sup>, 桑形 麻樹子<sup>2</sup>, 齋藤滋<sup>3,4</sup>, 東阪 和馬<sup>1</sup>, 堤 康央<sup>1,5</sup>(<sup>1</sup>阪大院薬, <sup>2</sup>食薬安全セ・秦野研, <sup>3</sup>富山大院医, <sup>4</sup>富山大病院, <sup>5</sup>阪大MEI セ)

**【背景・目的】**当研究室ではこれまで、医薬品や食品、化粧品といった分野において、先端素材として活用されているナノマテリアル(NM)の安全性を評価するため、ADME(吸収・分布・代謝・排泄)とハザードの関連解析や、ハザード発現メカニズム解析を推進してきた。例えば、ナノシリカを妊娠マウスに投与すると、胎盤や胎児にまで移行し得ること、その結果、胎児発育不全を誘発する可能性を認めている。このように、対象とするNMの吸収後の組織分布を理解することは、NMの安全性情報の収集にあたって、重要な知見となる。その点、我々は現在、食品・化粧品に汎用されているナノ白金(nPt)に着目した検討を進めており、マウスに経口投与した各粒径のnPtは、吸収されて、血液に移行していることが確認された(前演者の発表)。そこで本研究では、吸収量が最も多かった5nmのナノ白金(nPt5)を尾静脈内投与し、各組織への移行性を評価した。

**【方法・結果・考察】**雄性BALB/cマウスにnPt5を尾静脈内へ単回投与(4, 1, 0.25mg/kg)し、その24時間後に、主要な組織(脳、心臓、肺、脾臓、腎臓、肝臓、精巣、精巣上体、精嚢)を回収した。これらの組織へのnPt5の移行量を、誘導結合プラズマ質量分析法により測定したところ、肝臓に、投与したnPt5の50%ほどが集積していたものの、回収したいずれの組織においても白金が検出され、添加濃度依存的に移行量が増加していることが見出された。今後、詳細な解析が必要なものの、血液-脳関門や、血液-精巣関門のある脳や精巣で白金が検出されたことは、興味深い知見と考えている。そこで今後は、各組織における経時的な分布量や、粒子径の異なるナノ白金の関与を比較解析するとともに、精巣や脳に着目したハザード同定を試み、ナノ白金の安全性情報の収集を推進していく予定である。

27PA-pm014S「非晶質ナノシリカは、獲得免疫系を介してその急性毒性を増悪する」

○衛藤 舜一<sup>1</sup>, 東阪 和馬<sup>1</sup>, 半田 貴之<sup>1</sup>, 和泉 夏実<sup>1</sup>, 桑形 麻樹子<sup>2</sup>, 齋藤 滋<sup>3,4</sup>, 長野一也<sup>1</sup>, 堤 康央<sup>1,5</sup>(<sup>1</sup>阪大院薬, <sup>2</sup>食薬安全セ・秦野研, <sup>3</sup>富山大院医, <sup>4</sup>富山大病院, <sup>5</sup>阪大MEI セ)

**【背景・目的】**少なくとも一次元が100nm以下の微粒子であるナノマテリアル(NM)は、微小化に起因して組織浸透性や界面反応性が向上することから、衣食住の様々な製品に適用拡大されている。一方で、従来素材とは異なるハザードを呈してしまうことが危惧されており、有効かつ安全なNMの利用促進に向けては、ADME(吸収・分布・代謝・排泄)解析やハザード同定が喫緊の課題となっている。本背景のもと近年、金属アレルギーが外来微粒子により誘発されること、痛風が内在性微粒子によって誘導されることなど、微粒子の生体影響研究がホットになっており、一部、自然免疫系の関与が示唆されている。しかし、NMといった微粒子に複数回あるいは持続的に曝露する状況が想定されるものの、獲得免疫応答に着目したハザード同定は不十分である。そこで本検討では、微粒子化された非晶質ナノシリカ(nSP)を用い、当研究室で明らかとしているnSP誘導性の急性毒性(肝障害の誘導および血小板数減少)の変化を指標として、nSPに対する獲得免疫応答が誘導されるか否かを検証した。

**【方法・結果・考察】**まず、BALB/cマウスの耳介部に、PBSまたは粒子径が50nmのnSP(nSP50)を、週1回、計4週にわたり、事前に皮内投与した。その後、尾静脈内よりnSP50を過剰量投与し、nSP50の前投与による、急性毒性の変化を観察した。その結果、nSP50を前投与した群において、PBSを前投与した群と比較して、肝障害マーカーであるアラニンアミノトランスフェラーゼの上昇および血小板数減少の亢進が見出された。そこで、免疫不全マウスを用いて、このハザードの増悪における獲得免疫系の寄与を評価したところ、先ほどの検討において観察されていた急性毒性の変化が認められなくなった。以上の結果より、nSP50応答性

の急性毒性の悪化に関して、獲得免疫系の関与が示唆された。今後は、nSP50応答性の急性毒性の悪化に、獲得免疫系の機能分子として、抗体やT細胞に着目して検討を進めていく予定である。

#### 27PA-pm015S「ナノ銀粒子曝露による嗅覚過敏の誘導機序解明に向けたin vitroでの検討」

○笠原 淳平<sup>1</sup>, 東阪 和馬<sup>1</sup>, 真木 彩花<sup>1</sup>, 青山 道彦<sup>1</sup>, 桑形 麻樹子<sup>2</sup>, 齋藤 滋<sup>3,4</sup>, 長野一也<sup>1</sup>, 堤 康央<sup>1,5</sup>(<sup>1</sup>阪大院薬, <sup>2</sup>食薬安全セ・秦野研, <sup>3</sup>富山大院医, <sup>4</sup>富山大病院, <sup>5</sup>阪大MEIセ)

【背景・目的】近年のナノテクノロジーの進展に伴い、我々がナノマテリアル(NM)を吸入曝露する機会は増加している。従って、NMを吸入曝露した際の生体内動態(ADME)や生体影響(Toxicity)に関する情報を集積する必要があるが、吸入曝露後のADMETに着目した検討は、主に呼吸器系を対象としたものが多い。一方で、DDS研究の領域で、脳内デリバリーとして鼻腔投与が検討されているように、NMを吸入曝露した際には、鼻腔から脳へ直接移行し得ることがから、NMが脳神経系に対しても予期せぬ影響を及ぼしてしまうことが危惧されている。この点、昨年度の本会までに我々は、汎用性の高いナノ銀粒子(nAg10)と銀イオン(Ag<sup>+</sup>)を、マウスに連日経鼻曝露することで、銀が脳の中でも鼻腔に近い嗅球に多く移行すること、さらには嗅覚機能が過敏になることを報告した。また、嗅球内のドパミン神経は匂いの伝達を抑制的に制御しているが、ドパミン神経マーカーであるTyrosine Hydroxylase (TH)や神経伝達物質ドパミンの発現量がnAg10曝露群に比べ、Ag<sup>+</sup>曝露群で低下していることも明らかとしており、嗅覚過敏の誘導機序が各群間で異なることが示唆されている。そこで本検討では、嗅覚過敏の誘導機序の解明に向け、神経モデル細胞を用いたADMET情報の収集を試みた。

【方法・結果・考察】まず、ヒト神経芽細胞株(SH-SY5Y)をレチノイン酸で分化誘導後、細胞に障害性が認められない濃度でnAg10およびAg<sup>+</sup>を添加し、24時間後の細胞内への銀の取り込み量を誘導結合プラズマ質量分析計で測定した。その結果、nAg10曝露群、Ag<sup>+</sup>曝露群ともに濃度依存的に細胞内に銀が取り込まれることが明らかとなったが、各群間で有意な変動は認められなかった。また、THの発現変動をウェスタンブロット法で評価したところ、マウスでの検討と同様に、nAg10曝露群に比べ、Ag<sup>+</sup>曝露群でTHの発現量が低下することが認められた。今後、嗅覚過敏の誘導機序解明に向けて、本実験系を用いたさらなる検討を進める予定である。

#### 27PA-pm017S「単一粒子ICP-MS法を利用した母乳中ナノ銀粒子の存在様式に関する基礎的検討」

○石坂 拓也<sup>1</sup>, 長野一也<sup>1</sup>, 清水 雄貴<sup>1</sup>, 泉 雅大<sup>1</sup>, 岡田 桃子<sup>1</sup>, 桑形 麻樹子<sup>2</sup>, 齋藤 滋<sup>3,4</sup>, 東阪 和馬<sup>1</sup>, 堤 康央<sup>1,5</sup>(<sup>1</sup>阪大院薬, <sup>2</sup>食薬安全セ・秦野研, <sup>3</sup>富山大院医, <sup>4</sup>富山大病院, <sup>5</sup>阪大MEIセ)

【背景・目的】昨今のナノマテリアル(NM)の開発/普及に伴って、我々は、様々なNMを意図的・非意図的に摂取する機会が増している。そのため、NMを持続的に活用するためには、NMの有用性に加え、安全性確保の重要性が高まっている。本観点から、NMのハザード同定は進められつつあるものの、曝露実態に基づいたNMのリスク評価と安全性確保は、遅れているのが現状である。従って、将来的なNMのリスク評価に向けては、NM曝露後の存在量・様式(粒子/イオン状態など)を理解することが必須となっている。しかし、NMの存在量・様式を効率よく理解するための解析手法は不十分であった。その点、我々は、定量分析に汎用されているICP-MSを応用し、NMの存在量・様式の同時解析を可能とする単一粒子ICP-MS法の生体試料への応用を推進している。そこで本研究では、当研究室が明らかにした知見(ナノ銀を曝露した母マウスから母乳を介して仔に銀が移行)をもとに、マウス母乳中のナノ銀の存在量・様式を明らかにすべく、基礎情報を収集した。

【方法・結果・考察】マウス母乳に、粒子径100nm, 50nmのナノ銀粒子 (nAg100, nAg50)と、銀イオン (Ag<sup>+</sup>)を添加した(銀濃度50pg/mLにて混和)。その後、生体試料の可溶性に頻用されているテトラメチルアンモニウムを用いて、母乳中の蛋白質や脂質成分を溶解させ、単一粒子ICP-MS法による解析を試みた。その結果、Ag<sup>+</sup>添加群では、粒子は検出されなかったのに対し、nAg100・nAg50添加群では、平均粒子径104.5nmと53.2nmの粒子が、53.5pg/mL,47.7pg/mL検出され、母乳中ナノ銀の存在量・様式の解析基盤が構築できた。今後はナノ銀を曝露させた母マウスから、母乳中への銀の移行実態を評価すると共に各種臓器の前処理法を最適化することで、単一粒子ICP-MS法によるNMの曝露実態の解明を目指す。

#### 27PA-pm053「粒子径による銀ナノ粒子の傷害性と薬物相互作用に関する検討」

○青木 幸菜<sup>1</sup>, 磯田 勝広<sup>1</sup>, 上田 舞子<sup>1</sup>, 小林 直樹<sup>1</sup>, 平 郁子<sup>1</sup>, 平 裕一郎<sup>1</sup>, 石田 功<sup>1</sup>(<sup>1</sup>帝京平成大薬)

【目的】銀ナノ粒子は、他の物質には見られない特徴を持つため化粧品、日用品など様々な用途で利用されている。昨年、我々は粒径10nmの銀ナノ粒子が肝傷害を誘導することを見出した。そこで我々は、50nm以下の銀ナノ粒子を用い、粒子径による用量依存性傷害と薬物相互作用を検討した。

【方法】BALB/cマウス(8週齢、♂)に銀ナノ粒子(SnP)を粒子径5nm、20nm、30nm(1、2、3、4mg/kg)を尾静脈投与した。次に粒子径5nmの銀ナノ粒子(SnP5)の毒性域の検討のためSnP5(0.1、0.5、1、2mg/kg)を尾静脈投与した。さらに投与量による粒子径の毒性比較のためSnP5、SnP10、SnP20、SnP30(各々1、2mg/kg)を尾静脈投与した。また薬物相互作用を検討のためBALB/cマウスにSnP5、SnP10(0.5mg/kg)を尾静脈投与し、同時にシスプラチン(100 μ mol/mL)を腹腔内投与した。全ての実験において投与24時間後に血清を採取し、ALT、ASTを測定した。

【結果・考察】SnP20、SnP30 投与群の用量依存性は観察できた。SnP5 投与群では用量依存性を観察することができなかったが、低用量の1mg/kg以上よりALT、ASTが上昇し、肝傷害が観察された。SnP5、SnP10、SnP20、SnP30 投与群に比較においてALT、ASTともにSnP5 投与群がもっとも高かった。SnP5、SnP10とシスプラチン共投与群ではともにALT、ASTの上昇し相互作用が観察され、より強く相互作用が現れたのはSnP5とシスプラチン共投与群であった。本研究でSnP5は毒性、シスプラチンとの相互作用が他の粒子径よりもより強く出ることが明確となった。銀ナノ粒子による肝傷害の大きさは粒子径により異なり、薬物相互作用は粒子径が小さいほど大きくなることが示された。今後、さらに粒子径、粒子表面修飾と電荷、粒子形体など検討が必要である。

#### 25PB-am115S「ナノ粒子の表面修飾基が及ぼす皮膚透過性への影響」

○天本 宇紀<sup>1</sup>, 三田 智文<sup>1</sup>, 船津 高志<sup>1</sup>, 加藤 大<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東大院薬)

【目的】生体の皮膚は、外界からの異物の侵入を防ぐバリアとして機能しているが、医薬品などの必要な物質の侵入も防いでしまう。そのため、投与の簡便さや初回通過効果の回避など、経皮投与には多くの利点があるにもかかわらず、皮膚を投与経路として選択できる医薬品は少ない。もし、様々な医薬品の経皮投与が可能になれば、患者のQOL が格段に向上すると考えられる。我々は、これまで、可視光によって分解し、内包物質を放出する可視光応答性シリカナノ粒子を開発し、低分子から高分子まで様々な物質の放出制御に成功した。さらに、本ナノ粒子は、細胞膜と皮膚に対して高い透過性を有することが判明した。本研究では、開発したナノ粒子が皮膚から吸収される際の機構や経路を解明し、より効率的な医薬品の経皮投与を可能にするナノ粒子の開発を目的とした。

【方法】可視光で分解するBODIPY誘導体とTetraethyl orthosilicate を重合して可視光応答性シリカナノ粒子を調製した。テープストリッピングを行ったブタ皮膚組織に蛍光標識した可視光応答性シリカナノ粒子を塗布した後、その切片を共焦点蛍光顕微鏡で観察し、ナノ粒子の経皮吸収効率を評価した。また、本ナノ粒子の粒子径や表面官能基などを変更し、同様の検討を行った。

【結果】本ナノ粒子を皮膚組織に塗布したところ、粒子径60nm以下のナノ粒子は真皮まで浸透したが、それ以上のものは角質層に留まった。また、ナノ粒子表面をシラノール基に変更すると、粒子径にかかわらず角質層に留まった。これらのことから、ナノ粒子の粒子径と表面官能基が経皮吸収に大きな影響を与えていると考えられる。今後は、より詳細に表面官能基の影響を解析し、効率的に経皮吸収されるナノ粒子を開発する。

#### 25PB-am125「温度応答性ナノ粒子による細胞取り込み機構の評価」

○勝山 直哉<sup>1</sup>, 根本 遼<sup>1</sup>, 佐野 文比古<sup>1</sup>, 綾野 絵理<sup>1</sup>, 蛭田 勇樹<sup>1</sup>, 金澤 秀子<sup>1</sup>(<sup>1</sup>慶應大薬)

【目的】近年、病態組織の周辺における温度やpHなどの物理化学的性質の違いに着目した研究が盛んに行われており、細胞微小環境の違いに応答して、細胞への取り込みや薬物の放出を制御できるナノ粒子の開発が求められている。ナノ粒子の細胞への取り込み制御、細胞内挙動の可視化は、正常細胞と病態細胞の識別のためにも重要である。本研究では、水溶液中で下限臨界溶解温度(LCST)を境に低温側では親水性、高温側では疎水性となる性質を持つPoly(N-isopropylacrylamide)(PNIPAAm)をベースとして、温度依存的に細胞への取り込みを制御することができるナノ粒子を開発し、蛍光イメージングにより細胞内挙動を可視化することを目指した。

【方法】ラジカル重合により、親水性モノマーであるN,N-dimethylacrylamide(DMAAm)をPNIPAAmに共重合したコポリマーを作製し、次いでラクチドとの開環重合によりPLA とのブロックポリマーを作製した。透析法によりシェル部に温度応答性ポリマー、コア部にPLAを持つナノ粒子を作製し、物性評価を行った。また、RAW 264.7細胞及びHeLa細胞を用いて細胞取り込みを評価した。

【結果・考察】体温付近(40°C)にLCST をもつ温度応答性ポリマーの合成に成功した。このポリマーを用いて作製したナノ粒子の粒子径は約100nmとなった。この粒子サイズはEPR 効果を利用した疾患部位へのターゲティングが期待できる。さらにこのナノ粒子は、フローサイトメトリー、蛍光顕微鏡の結果から37°Cでは細胞取り込みがほぼ見られず、42°Cでのみ細胞取り込みが確認された。このことからLCST以上の温度では粒子表面が疎水性となり細胞取り込みが促進されたと考えられる。

#### 【一般口頭発表】

#### 27F-am06 「ナノ銀粒子曝露によるDNAメチル化酵素への影響」

○東阪 和馬<sup>1</sup>, 真木 彩花<sup>1</sup>, 青山 道彦<sup>1</sup>, 桑形 麻樹子<sup>2</sup>, 齋藤 滋<sup>3,4</sup>, 長野 一也<sup>1</sup>, 堤 康央<sup>1,5</sup>(<sup>1</sup>阪大院薬, <sup>2</sup>食薬安全セ・秦野研, <sup>3</sup>富山大院医, <sup>4</sup>富山大病院, <sup>5</sup>阪大MEIセ)

【背景・目的】ナノマテリアル(NM; 粒子径100nm以下)は、量子効果による電気的性質の変化や、流動性・反応性の増大、使用感の向上など、同組成からなるサブミクロンサイズ以上(粒子径100nm以上)の素材と比較し、革新的な機能を発揮する。そのため、医薬品、食品、化粧品など、我々の生活に密着した領域で広範に開発・実用化され、産業界の活性化と共に、生活の質的向上に寄与している。一方で、NMの有用機能が、予期せぬ生体影響を誘発し得ることが指摘されているものの、そのハザード解析、およびハザード発現機序の解明に向けた検討は殆ど進展していない。本観点から我々は、化学物質による毒性発

現において重要な役割を果たすことが示されつつあるエピジェネティック修飾に焦点を当て、NMの安全性評価を進めている。本研究では、最も身近なNMである銀ナノ粒子(nAg)に焦点をあて、エピジェネティック変異、特にDNAメチル化への影響を解析した。

【方法・結果・考察】まず、nAg 曝露によるDNA全体のメチル化率への影響について評価した。粒子径10 nm のnAgをヒト肺胞上皮腺癌細胞に添加し、作用24時間後のメチル化率の変化を免疫染色により解析した。その結果、対照群と比較し、nAg曝露によりメチル化率が有意に減少することが示され、nAg曝露がDNAの低メチル化を誘発し得ることが明らかとなった。次に、nAg曝露によるDNAの低メチル化誘導の分子機序の解明を図る目的で、代表的なDNAメチル化酵素であるDnmt1への影響について評価した。その結果、nAg曝露によりDnmt1の蛋白質量が減少する一方で、mRNAの発現量には対照群との有意な差は認められなかった。従って、Dnmt1の発現減少は、nAg曝露によるDnmt1の翻訳阻害または、蛋白質の分解に起因することが示唆された。現在、nAg曝露によるDNA低メチル化の誘導機序について両観点から解析を進めている。

<http://nenkai.pharm.or.jp/137/web/>

[http://nenkai.pharm.or.jp/137/web/pdf/2\\_4\\_poster.pdf](http://nenkai.pharm.or.jp/137/web/pdf/2_4_poster.pdf)

[http://nenkai.pharm.or.jp/137/web/pdf/2\\_4\\_koto.pdf](http://nenkai.pharm.or.jp/137/web/pdf/2_4_koto.pdf)

## 2-2. 文献情報(主として、粧工連HP「技術情報」より)(公表日2017/02/17~2017/02/20)

1) メソポーラスシリカナノ粒子、銀及び金ナノ粒子並びに多層カーボンナノチューブの安全性/毒性を予測するための既存細胞毒性試験利用の可能性

Marika Mannerström et al, *Toxicology in Vitro*, 37, 113-120, 2016, (タンペレ大医学部フィンランド代替法センター、フィンランド)

2) 酸化亜鉛ナノ粒子の細胞毒性及び抗菌性に対する各種表面改質剤の影響

S. C. Esparza-González et al, *Toxicology in Vitro*, 37, 134-141, 2016 (コアウイラ州自治大医学部、メキシコ)

3) アナターゼ型及びルチル型酸化チタンナノ粒子の毒性評価 - 異なるpH条件及び光曝露における分解の役割

Valeria De Matteis et al, *Toxicology in Vitro*, 37, 201-210, 2016 (サレント大数学物理学部、イタリア)

4) 銀ナノ粒子及び銀イオンのin vitroでの哺乳類及び植物細胞に対する影響

Jana Jiravova et al, *Food & Chemical Toxicology*, 96, 50-61, 2016 (国立パラツキー大医歯学部、チェコ)

5) スプレーグドリーラットにおける多層カーボンナノチューブの静脈内投与は、高脂肪食誘導性非アルコール性脂肪肝炎を悪化させる

Yu-Ying Xu et al, *International Journal of Toxicology*, 35, 6, 634-643, 2016 (浙江大公共衛生学院衛生毒理学科、中国)

6) UVA照射下でナノサイズ酸化チタンにより誘導されたHaCaT細胞における活性酸素種産生及び細胞毒



性に対するミトコンドリア呼吸鎖の評価

Chengbin Xue et al, International Journal of Toxicology, 35, 6, 644-653, 2016 (華中科技大病院、中国)

### 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;328~336号、【みずほ総研ケミマガ】化学物質管理関連サイト新着情報;第418~420号をもとに安全性部会にて改変)

#### 3-1.海外ニュース

1)【2017/01/23】Draft guidance on recommendations for nanomaterials applicable to QSARs and grouping of chemicals sent to CARACAL for consultation

ECHAは、ナノ材料に対して適用するQSARと化学物質のグループ化についての推奨ガイダンス草案を、協議のため、CARACAL(REACHおよびCLPの所管当局)に送付した。

WGコメント:

・REACH規則に基づくIR&CSRガイダンス(Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment)のR.6章「QSARS and grouping of chemicals」に対する附属書草案。同一化合物における、ナノ形態間(非ナノも含む)やナノ形態のグループ間で、ハザードデータの利用をどのように正当化するかについてのアプローチを示している。

→ <https://www.echa.europa.eu/support/guidance/consultation-procedure/ongoing-reach>

◆公表されたガイダンス草案[PDF]はこちら

[https://www.echa.europa.eu/documents/10162/13564/appendix\\_r\\_6-1\\_nano\\_caracal\\_en.pdf/a07d989c-99ec-d87f-0f4d-b198022f4744](https://www.echa.europa.eu/documents/10162/13564/appendix_r_6-1_nano_caracal_en.pdf/a07d989c-99ec-d87f-0f4d-b198022f4744)

[NITEケミマガより]

2)【2017/01/26】Minutes of Working Group Meeting on Nanomaterials in Cosmetic Products of 20 January 2017

欧州委員会SCCSは、1月20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:

・サンスクリーン製品およびパーソナルケア スプレー製品に配合するUVフィルターとしての二酸化チタン(ナノ)に対するdraft Opinionが最終化され、3月7日のplenary meetingに提示する予定。

・銀コロイド(ナノ)及び(スチレン/アクリル酸)コポリマー(ナノ)と(スチレン/アクリル酸)コポリマーNa(ナノ)に関する申請者へのdraft letter最終版を、EU CommissionのCPNP(Cosmetic Product Notification Portal)にアップロードし、申請者にはe-mailでも通知する。

・経皮適用する化粧品に配合するUVフィルターとして、リン酸セチル、二酸化マンガン又はトリエトキシカプリルシランでコーティングした二酸化チタン(ナノ)のdraft Opinionに対して3件のコメントが提出された。これらはOpinion の最終化に採用される予定で、コメント提出者への回答も準備する。

[https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs2016\\_miwg\\_011.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs2016_miwg_011.pdf)

[みずほ総研ケミマガより]

3)【2017/01/30】Human health risk assessment for nanomaterials: Feasibility and challenges  
欧州委員会JRCの科学者は、デンマークの機関と協力し、工業用ナノマテリアル人健康リスク評価に関する実行可能性と課題に関するレポートを執筆した。

WGコメント:

- ・“Engineered Nanoparticles and the Environment: Biophysicochemical Processes and Toxicity” (Baoshan Xing et al)のChapter 21: Feasibility and Challenges of Human Health Risk Assessment for Engineered Nanomaterials (p. 409–441)に該当。
- ・ナノマテリアルのハザードや曝露を予測するために用いられている代替法使用の実現可能性や、このようなツールを規制リスクアセスメントに導入するにあたっての課題を再検討している。

<https://ec.europa.eu/jrc/en/news/human-health-risk-assessment-nanomaterials-feasibility-and-challenges> [みずほ総研ケミマガより]

4)【2017/01/31】 Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials

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

OECDは、工業用ナノマテリアルに関する以下の文書を掲載した。

◇No. 80 – Alternative testing strategies in risk assessment of manufactured nanomaterials: current state of knowledge and research needs to advance their use [PDF]

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2016\)63&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2016)63&doclanguage=en)

[NITEケミマガより]

5)【2017/02/01】Draft guidance on recommendations for nanomaterials for environmental endpoints sent to CARACAL for consultation

ECHA は、IR&CSA ガイダンスのうちナノ材料の環境影響エンドポイントに関する勧告ガイドライン草案を協議のため、CARACAL (REACH および CLP の所管当局)に送付した。

WGコメント:

REACH規則に基づくIR&CSRガイダンスのR.7a, 7b, 7c章「Endpoint Specific Guidance」の中の、環境影響エンドポイントに関する附属書草案。

- ・Appendix R7-1to R7aは、「R.7a章へ適用可能なナノマテリアルのための勧告」中の、Physico-Chemical propertiesの項目に対するRecommendation。
- ・Appendix R7-1to R7bは、「R7b章へ適用可能なナノマテリアルのための勧告」中の、Ecotoxicityに関連する項目に対してのRecommendation。
- ・Appendix R7-2 for R7cは、2012Aprilに発出されたAppendix R7-2「R7c章への適用可能なナノマテリアルのための勧告」中の、環境毒性エンドポイントに対する項目の一部を修正するRecommendation

<https://www.echa.europa.eu/support/guidance/consultation-procedure/ongoing-reach?panel=r>

## [7nanos2](#)

◆公表されたガイダンス草案[PDF]はこちら

App. R.7a →

[https://www.echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft\\_appendix\\_r7a\\_caracal\\_en.pdf/1233776b-a684-c8e3-a5fd-7f279e7200b2](https://www.echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft_appendix_r7a_caracal_en.pdf/1233776b-a684-c8e3-a5fd-7f279e7200b2)

App. R.7b →

[https://www.echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft\\_appendix\\_r7b\\_caracal\\_en.pdf/ca2de51a-3068-2d4c-0eeb-a449df41bd2d](https://www.echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft_appendix_r7b_caracal_en.pdf/ca2de51a-3068-2d4c-0eeb-a449df41bd2d)

App. R.7c →

[https://www.echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft\\_appendix\\_r7c\\_caracal\\_en.pdf/f6af9bb9-2d23-9ba9-abc3-430d10ddba98](https://www.echa.europa.eu/documents/10162/22334053/draft_appendix_r7c_caracal_en.pdf/f6af9bb9-2d23-9ba9-abc3-430d10ddba98) [NITEケミマガより]

6)【2017/02/06】Comparing toxicity of dusts with and without carbon nanotubes

<https://ec.europa.eu/jrc/en/news/comparing-toxicity-dusts-and-without-carbon-nanotubes-0>

欧州委員会JRCは、欧州の様々な研究機関の研究者が実施した、ダストに含まれるカーボンナノチューブの  
人健康影響について解明するための全く新しい研究成果について公表した。

[みずほ総研ケミマガより]

7)【2017/02/13】Measure coating thickness on nanoparticles

<https://ec.europa.eu/jrc/en/news/measure-coating-thickness-nanoparticles>

欧州委員会JRCは、20の国際研究機関との協力により、X線光電子分光手法及び低エネルギーイオン散  
乱手法によるナノ粒子のコーティング膜の厚さの測定と化学的特性の評価に関する新材料と標準に関するヴ  
ェルサイユプロジェクトの研究を支援した。

[みずほ総研ケミマガより]

8)【2017/02/15】Optimised method for the analysis of titanium dioxide nanoparticles

<https://ec.europa.eu/jrc/en/news/optimised-method-analysis-titanium-dioxide-nanoparticles>

欧州委員会JRCは、フィールドフローフラクシオネーションによる二酸化チタン材料中のナノ粒子を検出するた  
めの手法を開発した。本手法は、EU市場において飼料添加物として認可されているものなど、塗装されてい  
ない市販の二酸化チタンの特定にも適用できる可能性がある。

[みずほ総研ケミマガより]

9)【2017/02/24】Draft guidance on recommendations for nanomaterials for human health endpoints sent to CARACAL for consultation

ECHAは、IR&CSAガイダンスのうちChapters R.7a及びR.7c(ヒト健康影響エンドポイント)に適用可能なナ  
ノ材料のための勧告ガイドライン草案を協議のため、CARACAL(REACHおよびCLPの所管当局)に送付した。

WGコメント:

REACH規則に基づくIR&CSRガイダンスのR.7a及び7c章「Endpoint Specific Guidance」の中の、ヒト健康

影響エンドポイントに関する附属書草案。

- ・Appendix R7-1 to R7aは、「R.7a章へ適用可能なナノマテリアルのための勧告」中の、Toxicological information requirement for nanomaterialに関する箇所の一部修正のRecommendation
- ・Appendix R7-2 to R7cは、2012Aprilに発出されたAppendix R7-2「R7c章への適用可能なナノマテリアルのための勧告」中の、Toxicokineticsに関する箇所の一部修正のRecommendation

<https://www.echa.europa.eu/support/guidance/consultation-procedure/ongoing-reach>

[https://www.echa.europa.eu/documents/10162/13643/nano\\_ir\\_human\\_health\\_caracal\\_en.pdf/dcee7ddc-fc2d-28bf-ebce-0fdf270cf878](https://www.echa.europa.eu/documents/10162/13643/nano_ir_human_health_caracal_en.pdf/dcee7ddc-fc2d-28bf-ebce-0fdf270cf878)

[NITEケミマガより]

10)【2017/02/27】Minutes of the Working Group Meeting on Nanomaterials in Cosmetic Products of 15 February 2017

欧州委員会SCCSは、2月15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:

- ・銀コロイド(ナノ)及び(スチレン/アクリル酸)コポリマー(ナノ)と(スチレン/アクリル酸)コポリマーNa(ナノ)の保留中のdraft Opinionに対する追加データ依頼が申請者に送付され、CPNPにもアップロードされた。データの提出期限はいずれも2017年9月30日。
- ・経皮適用する化粧品に配合するUVフィルターとして、リン酸セチル、二酸化マンガン又はトリエトキシカプリルシランでコーティングした二酸化チタン(ナノ)のdraft Opinionについて提出された3件のコメントに対し、提出者への回答とOpinionの最終版が会議で確定された。次回のSCCS plenary meetingに提示する予定。
- ・申請者用チェックリスト(ナノに関する部分)について議論し確定した。3月のplenary meetingとDG GROWに提示する予定。

[https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs2016\\_miwg\\_014.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs2016_miwg_014.pdf)

[みずほ総研ケミマガより]

11)【2017/03/02】Board of Appeal decision in an appeal concerning the registration requirements for nanoforms published

ECHAの裁定委員会は、酸化チタンの文書(dossier)評価に関するCase A-011-2014の決定を公表した。

WGコメント:

- ・欧州の複数の化学メーカーが2014年に提出した酸化チタンのREACH登録文書に対し、ECHAが化学物質を同定する詳細情報として結晶相、ナノ形態、ナノ形態の表面処理情報の追加提出を要求したことは提出義務範囲を超えている、と主張していたもの(2015年2月13日安全性部会で報告済)。
- 裁定委員会は、ECHAの決定を取り下げるようにとの化学メーカーの主張を認めた。

<https://www.echa.europa.eu/-/board-of-appeal-decision-in-an-appeal-concerning-the-registration-requirements-for-nanoforms-published>

◆裁定委員会の決定の内容はこちら→

<https://www.echa.europa.eu/documents/10162/a3beed31-ab30-dcf1-1f86-7467f6b09a20>

[NITEケミマガより]

12) 【2017/03/07】 Opinions open for comment: Titanium Dioxide (nano form) as UV-Filter in sprays, SCCS/1583/17 – 7 March 2017, Deadline for comments: 14 May 2017

・SCCSは、サンスクリーン製品およびパーソナルケア スプレー製品に配合するUVフィルターとしての二酸化チタン(ナノ)のPreliminary Opinionに対する意見募集を公表した。最大配合濃度5.5%の安全性を評価するには提出されたデータの情報は不十分である、と結論付けている。意見募集期限は2017年5月14日。

[https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_o\\_206.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_206.pdf)

[SCCS Website.より]

### 3-2.国内ニュース

1)【2017/02/03】 [J-NET21]REACHコラム:REACHにまつわる話(64)ーナノマテリアル登録のガイダンス案についてー

標記コラムが掲載された。

WGコメント:

ナノマテリアルの基礎が理解出来るものであるとして、2017年1月にECHA委員会へ提示されたAppendix 4、Recommendations for nanomaterials applicable to the Guidance on Registrationの概要を紹介。

・このAppendix4は、ナノマテリアルの定義に関する欧州委員会の勧告を満たす物質を登録する場合に、登録者が提出する必要がある最低限の項目を概説するもの。項目としては、1)サイズ、2)形状(球状、高アスペクト比の形状、平面状)および、3)表面に関する化学的性状の3項目。

<http://j-net21.smrj.go.jp/well/reach/column/170203.html>

[NITEケミマガより]

2)【2017/02/15】 ナノ炭素材料の安全性試験総合手順書が更新されました。

標記お知らせが掲載された。

<https://www.aist-riss.jp/assessment/41011/>

[NITEケミマガより]

3)【2017/03/09】 ナノ炭素材料(カーボンナノチューブ、グラフェン)の排出・暴露評価の手引きが更新されました。

標記お知らせが掲載された。

<https://www.aist-riss.jp/assessment/41305/>

<https://www.aist-riss.jp/wp-content/uploads/2017/02/Guide-to-exposure-assessment-of-nanocar-bon-20170309.pdf>

[NITEケミマガより]

### 4. 今後の動向

1) 第42回日本香粧品学会

開催日:2017年6月9~10日(東京)

会頭:西村 哲治(帝京平成大学)

ナノマテリアル関連の演題として、以下が報告される予定である。

R06 セルロースナノファイバーの化粧品添加効果

○近藤兼司<sup>1,2</sup>,森本裕輝<sup>2</sup>,小倉孝太<sup>2</sup>,岩坪 聡<sup>1</sup>(1 富山県工業技術センター,2 スギノマシン・新規開発)

[http://www.jcss.jp/event/42/42\\_prg.pdf](http://www.jcss.jp/event/42/42_prg.pdf)

2) 第44回日本毒性学会学術年会

開催日:2017年7月10~12日

年会長:熊谷 嘉人(筑波大学医学医療系 環境生物学分野)

3月24日に一般演題の募集が終了しているが、演題タイトルについてはまだ公開されていない。

シンポジウムに下記の仮演題が記載されていたため、本大会に向けて情報収集が必要と思われる。

・カーボンナノチューブの「剛性」と発がん性(アスベストとの比較)(仮題)

<http://jsot2017.jp/>