

「ナノ材料の評価の現状とOECD等の動向」

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
総合評価研究室 広瀬明彦

100ナノメートル以下になると重量(あるいは一粒子)あたりの表面積が格段に大きくなり、従来の微粒子であるマイクロメートルレベルの粒子よりも表面活性が高くなり、光学・電気学に異なった、物理特性を持った物質になる

新たな物質・材料としてその応用発展が期待される

ナノマテリアル(含有)製品

塗料・コーティング剤(ガラスや外壁など)、化粧品
(紫外線遮断、抗菌、抗酸化などの目的)

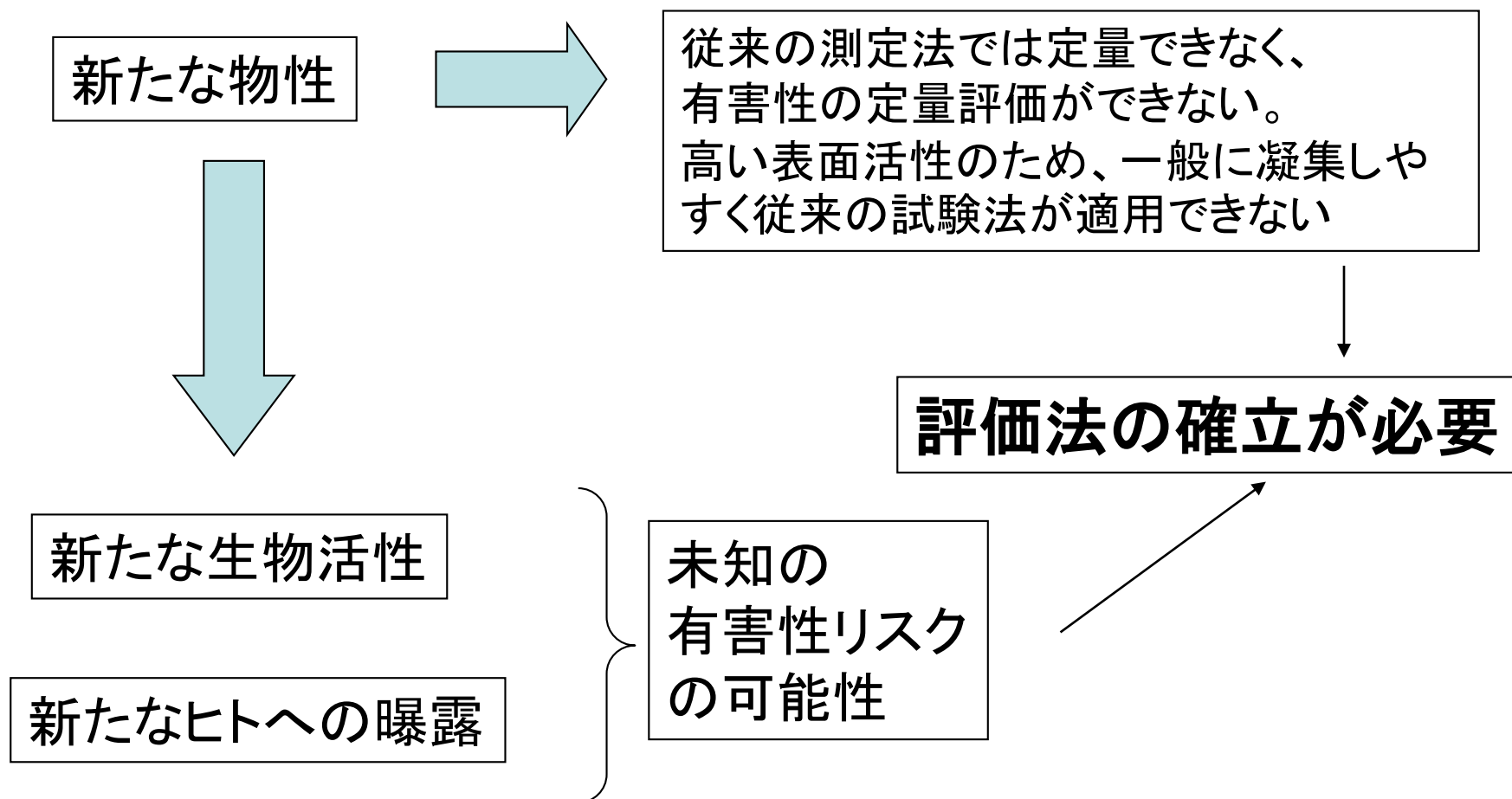
車体部品やその他のプラスチック等への練り込み
(通電性の向上や、耐久性の向上の目的)

半導体材料

医薬品や診断薬への応用

その他、多くの分野(構造材料や電池、電磁波吸収、環境浄化など)への適用開発が進行中

100ナノメートル以下になると重量(あるいは一粒子)あたりの表面積が格段に大きくなり、従来の微粒子であるマイクロメートルレベルの粒子よりも表面活性が高くなり、光学・電気学に異なった、物理特性を持った物質になる



これまでの化学物質管理システムで管理可能か？

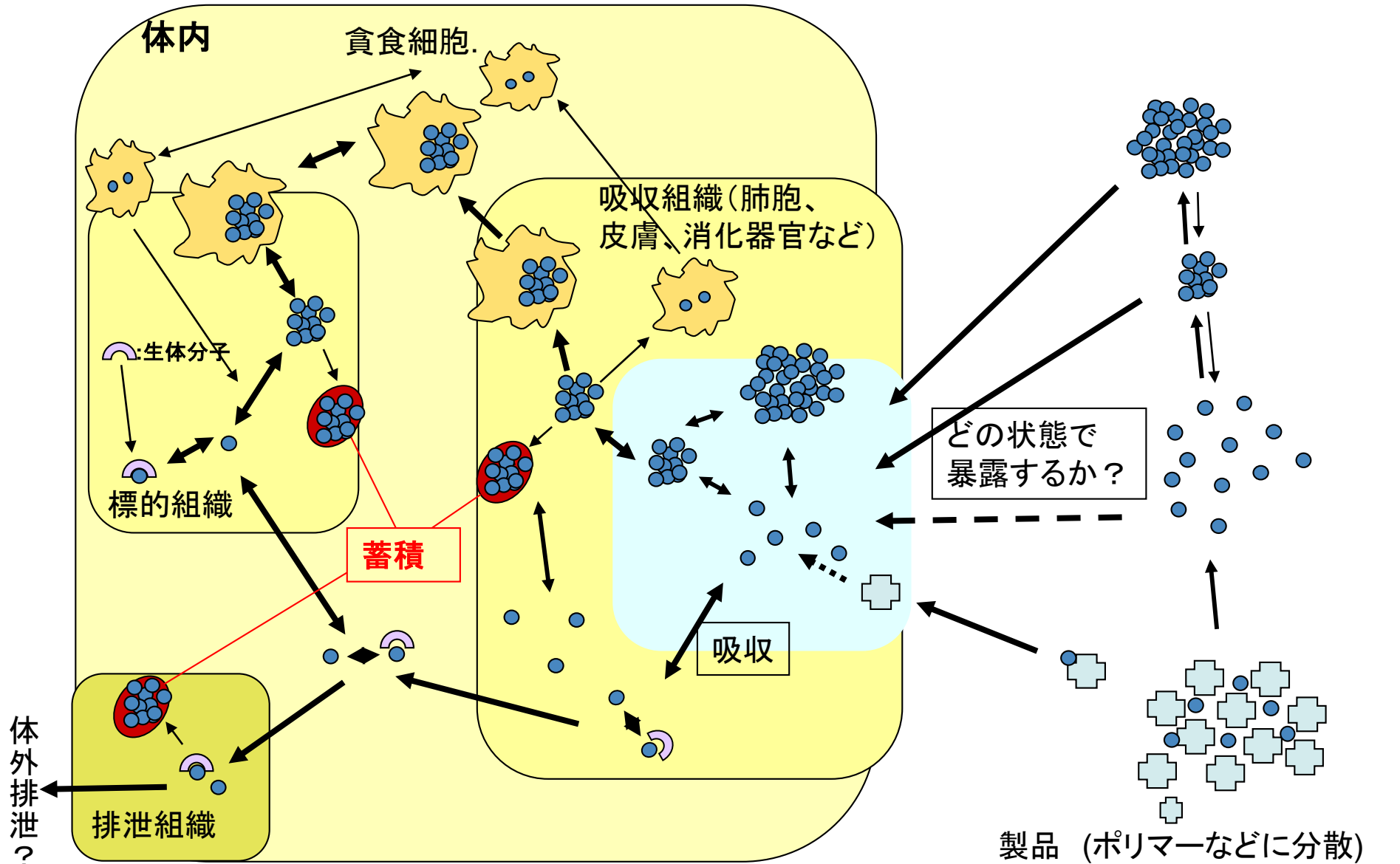
- 多くの規制・法律は、化学物質名称(化学組成)で管理(主に重量を単位として)されている。→粒子としての大きさの違いに対してほとんど考慮されていない

元素のみの物質は、重金属を除いて対象外(化審法)

(ex.炭素だけからなるカーボンナノマテリアル)

- 既存の枠組みで許可されている物質が超微粒子化して新たな(それまでの利用法とは異なる)機能を持つ
(顔料としての酸化チタン→光触媒作用)
- 既存の試験法で適切に毒性強度を評価できるか？
- 既存の短期スクリーニング試験系で、慢性的影響を捕捉することが可能か？

想定される暴露状態と吸収後の体内動態



生体内での代謝・分布・排泄、
生体高分子との相互作用

暴露局所での粒子径変化
分散／凝集、吸収・貪食作用

環境 (製品) 中での変化

体内動態および分析法の必要性

ADME（吸収、分布、排泄）情報は、通常の化学物質の安全性評価よりも重要度が高い

有害性評価

吸収-同じ物質でも粒子径、形状、凝集/集合化能、
暴露媒体によって異なる

分布-体内・細胞内での存在状態（単分散or凝集）に依存する
蓄積の可能性→慢性影響

代謝-粒子表面との相互作用→活性酸素生成、炎症

排泄-凝集体の再形成等による排泄組織での蓄積の可能性？

同じ化学組成の物質でも体内挙動が異なると、標的組織や生物学的反応に違いを生じさせる可能性がある。

その為に、生体組織中での検出法・定量法を確立する必要があるが、生体内でもナノであることを実質的に証明することは困難でもある

リスク評価を行う上で考慮すべきこと

毒性試験

暴露・投与(分散)方法のコントロール

(生物試験用の媒体にほとんど溶けず且つ凝集してうまく分散しない)

投与時の粒子の大きさ (*in vivo*)、培地への溶解・分散性(*in vitro*)は結果に重要な影響を与える

ナノサイズでの分散は必ず必要か？

現実的にあり得る状況での暴露条件、体内に存在している状態に近い *in vitro* 試験条件も重要

ADME実験の結果あるいは物質の性状から明らかに蓄積する可能性が疑われ、且つある程度の量が暴露される可能性のある場合には、*in vivo*の慢性試験が必要になるであろう

Risk = Hazard X Exposure (dose X duration)

国衛研の連携活動

- **ナノテクノロジーと社会** (産総研)、**討論会** (2004/08～)
シンポジウム「ナノテクノロジーと社会」(2005/02)
(産総研、物質材料研、国環研、**国衛研**)
- **学術会議&ナノテクノロジー総合支援プロジェクトセンター**
日本学術会議－英国王立協会共同プロジェクト
「ナノテクノロジーの健康、環境、社会的影響に関するワークショップ」
第一回ロンドン(2005/7)、第2回東京(2006/2)
- **科学技術振興調整費**
ナノテクノロジーの社会受容促進に関する調査研究(17年度)
(産総研、物質材料研、国環研、**国衛研**)
第3回ワークショップ－ナノマテリアルの健康影響に関する調査研究(**国衛研**)－(2005/12)

ナノテクノロジー影響の多領域専門家パネル (18年度)
(物質材料研、名古屋大学、**国衛研**、環境研 その他約25の機関・大学の研究者委員)

〔**社会受容に向けたナノ材料開発支援知識基盤**〕の調査研究(平成19～21年度)
社会受容促進のための情報の利用及び伝達に関する研究に関する分科会に参加
- (国際的な連携の必要性)
OECD WPMN SG3,SG4,SG7
(ILSI-HESI multi-laboratory consortium project)
The International Alliance for NanoEHS Harmonization (IANH)
(<http://www.nanoehsalliance.org>)

最近の国内動向

- **経済産業省**

平成20年11月以降、「ナノマテリアル製造事業者等における安全対策のあり方研究会」を開催（平成21年3月報告書公表）。

同研究会の報告を受けて、平成21年7月に、製造産業局長通知「ナノマテリアルに関する安全対策について」を関係団体に発出し、会員企業への周知を依頼。通知の内容は以下の3項目。

- 1) 自主的な安全対策の取組と安全性情報の収集・把握
- 2) 使用事業者等とのコミュニケーションの促進
- 3) 情報発信と経済産業省への情報提供等

「ナノマテリアル情報収集・発信プログラム」を実施し、ナノマテリアル6物質の製造事業者31社から有害性情報や自主的安全対策の取組状況等について、平成22年3月に経済産業省のホームページで公開。

平成23年度12月より、「ナノ物質の管理に関する検討会」を開催。

- **NEDOプロジェクト**

平成18～22年度に、NEDOでは「ナノ粒子特性評価手法の研究開発」プロジェクトを実施。平成23年度に、カーボンナノチューブ、フラーレン及び二酸化チタンについてのリスク評価書を公表。

OECDの工業ナノ材料作業部会(WPMN)のスポンサーシッププログラムとも連携

最近の国内動向

- **厚生労働省(労働基準局)**

平成20年2月:「ナノマテリアル製造・取扱い作業現場における当面の曝露防止のための予防的対応について」通知を発出。平成20年11月:「ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会」の報告書を公表。

平成21年3月:「ナノマテリアルに対する曝露防止等のための予防的対応について」通知を発出(上記通知は廃止)。同通知は、作業現場におけるばく露防止の観点から、作業者への周知、作業環境の改善、適切な保護具(防塵マスクの性能等)を記載。

平成23年度は「化学物質のリスク評価に係る企画検討会」等を開催。

- **厚生労働省(医薬食品局)**

平成20年3月に「ナノマテリアルの安全対策に関する検討会」を設置し、平成21年3月にその報告書を公表。平成21年度以降もナノ材料の安全性に係る情報の収集を継続。**厚生労働科学研究費**の下で、ナノマテリアルの健康影響評価手法の開発、体内動態等に係る研究を実施。

- **環境省**

平成20年度:「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」を設置。平成21年3月:「工業用ナノ材料に関する環境影響防止ガイドライン」を策定・公表。その後、ガイドラインで今後の課題とした項目のうち、特に放出管理技術についての検討を実施



Food and Agriculture
Organization of the
United Nations



World Health
Organization

**FAO/WHO Expert Meeting on the Application of
Nanotechnologies in the Food and Agriculture Sectors:
Potential Food Safety Implications**

Food and Agriculture
Organization of the United Nations
and World Health Organization
Rome 2010

MEETING REPORT

REPORT FOR INTERNATIONAL COOPERATION ON COSMETICS REGULATION

Report of the Joint Regulator - Industry Working Group

SAFETY APPROACHES TO NANOMATERIALS IN COSMETICS

Report is:

Prepared For ICCR **ICCR Report** ICCR Guidance

Authors:

Daisuke Araki (1), Ratna Bose (2), Qasim Chaudhry (3), Kapal Dewan (4), Eric Dufour (5), Akihiko Hirose (6), Mark Lafranconi (7), Beta Montemayor (8), Deborah Ratzlaff (9), Hubert Rauscher (10), Takahiko Suwa (11)



EFSA Journal 2011;9(5):2140

SCIENTIFIC OPINION

Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain¹

EFSA Scientific Committee^{2,3}

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

ABSTRACT

The European Food Safety Authority has developed a practical approach for assessing potential risks arising from applications of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. Guidance is provided on: (i) the physico-chemical characterisation requirements of engineered nanomaterials used e.g. as food additives, enzymes, flavourings, food contact materials, novel foods, feed additives and pesticides and; (ii) testing approaches to identify and characterise hazards arising from the nanoproperties which, in general, should include information from *in vitro* genotoxicity, absorption, distribution, metabolism and excretion and repeated-dose 90-day oral toxicity studies in rodents. The guidance allows for reduced information to be provided when no exposure to the engineered nanomaterial is verified by data indicating no migration from food contact materials or when complete degradation/dissolution is demonstrated with no absorption of engineered nanomaterials as such. The guidance indicates uncertainties that should be considered to perform a risk assessment. As this sector is under fast development, this guidance document will be revised as appropriate. ©European Food Safety Authority 2011.

KEY WORDS

Engineered Nanomaterials, Food, Feed, Guidance, Nanoscience, Nanotechnology, Risk Assessment.



[Home](#) > [Regulatory Information](#) > [Guidances](#)

Regulatory Information

Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology

Guidance for Industry

DRAFT GUIDANCE

This guidance document is being distributed for comment purposes only.

Comments and suggestions regarding this draft document should be submitted within 60 days of publication in the *Federal Register* of the notice announcing the availability of the draft guidance. Submit written comments to the Division of Dockets Management (HFA-305), Food and Drug Administration, 5630 Fishers Lane, 1061, Rockville, MD 20852. Submit electronic comments to <http://www.regulations.gov>¹. All comments should be identified with the docket number (FDA-2010-0530) listed in the notice of availability that publishes in the *Federal Register*.

**U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Office of the Commissioner**

June 2011

健康影響評価手法に関する海外動向(1)

<USA>

- EPA: ナノマテリアルスチュワードシッププログラム(NMSP) (2007年～2009年)

環境保護庁(EPA)は有害物質管理法(TSCA)のもとナノマテリアルを取り扱う企業等に自主的なデータの提出を促す情報収集を開始したが、期待したほどの情報を得られず

- EPA: TSCA (2010年～)

EPAはCNT、フラーレン等について製造前届出(PMN)を必要とする官報を通知。

(90日間吸入試験等を要求)。CNTのSNUR(重要新規利用ルール)の最終ルールを公布

- NIOSH(2010年)

CNTカーボンファイバーのOEL(共用職業暴露)についてドラフトを発表 (7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (REL): 大気EC(元素状炭素)として定量

- FDA(2011年)

FDAは2011年6月に業界向けのドラフトガイダンスを公表。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言及。規制措置は科学的根拠に基づくべきとしている。2012年4月には、食品成分・容器や化粧品を対象としたドラフトガイダンスを公表

健康影響評価手法に関する海外動向(2)

<EU>

- **食品添加物指令(2008年) 新化粧品指令(2009年)**
2008年12月ナノサイズの食品添加物は再評価が必要、
2009年12月化粧品中にナノ材料の安全性データの届出と表示の義務化(施行は2013年7月)
- **REACH Implementation Project on Nanomaterials(2011年)**
2011年7月にナノ材料の場合にREACHに記載すべき情報の要件(試験方法の適切さ等)や化学的安全評価について詳細に明示したガイダンス報告書公開
- **EFSA(欧州食品安全機関)(2009年)(2011年)**
2009年2月食品及び飼料へのナノテクノロジー使用による潜在的リスクに関する意見書
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
- **SCCS(消費者安全科学委員会)(2012年)**
2012年6月化粧品中のナノマテリアルの安全性評価に関するガイダンスを公表

<WHO/FAO> (WHO/FAO合同専門家会議)(2009年)

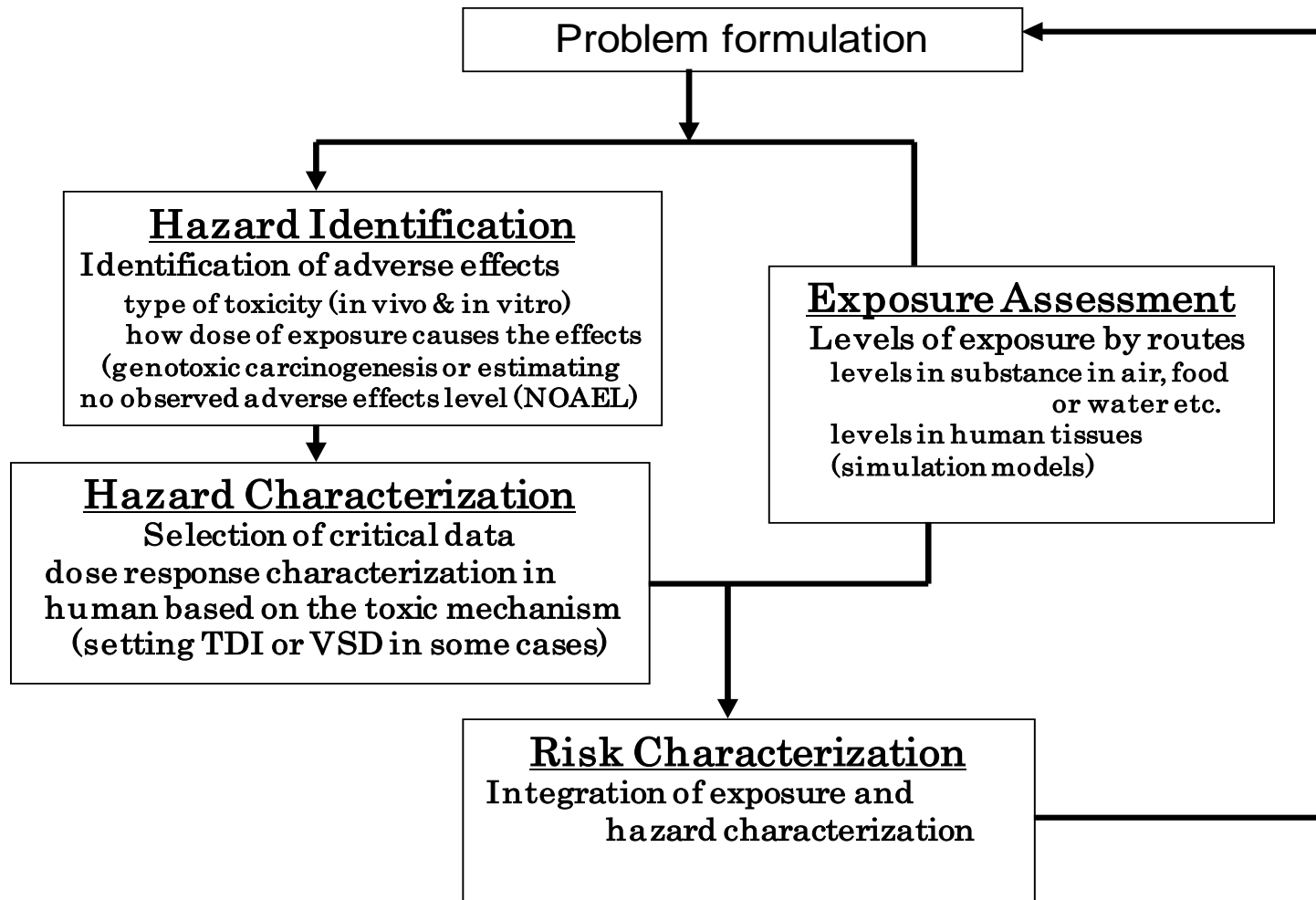
食品及び農業分野へのナノテクノロジーの適用に関する食品の安全性への意義付けに関する
FAO/WHO専門家会議レポートを公表

<ICCR> (化粧品規制協力国際会議)(2011-2012年)

INTERNATIONAL COOPERATION ON COSMETICS REGULATIONにて、化粧品におけるナノマテリアルの安全性評価指針に関する作業WGが活動中(2012年7月にドラフト提出)

WG of Assessment of human health risks

Joint FAO/WHO Expert Meeting on the Application of Nanotechnologies in the Food and Agriculture Sectors: Potential Food Safety Implications, 1-5 June 2009



Traditional Risk Assessment paradigm is appropriate.

Hazard identification

- 物理化学的特性のキャラクタリゼーション

サイズ、形状(球状、針状、立方体等)、化学組成、表面活性、コーティング化学反応性、不純物などについて確認すべき。たとえ一種類のナノマテリアルであったとしても物理化学的特性は異なる。

- ナノマテリアルと生体との相互作用

特異な物理化学的特性は、曝露後の吸収、分布、代謝、排泄に影響を与える。しかし、生体内に取り込まれた後の特性解析が困難であるため、経口曝露後の情報は殆ど知られていない。

- In vitro と in vivo 試験における毒性学的影響

医薬品関連では膨大な試験データが存在するが、不溶性のナノマテリアルに関する適切な情報は殆どない。現状の試験プロトコルは妥当であるか？集合体化する性質を考慮すべき。生体内分解性と生体内残留性は重要である。

Hazard characterization

- **用量反応性の考察**

いくつかの相関関係のある用量単位を考慮する必要がある。例：重量、個数、表面積など

- **不確実性**

経口暴露による疫学データは存在しない。種差に関する体内動態と体内動力学的な情報も殆ど知られていない

Exposure assessment

食事からのナノマテリアルの暴露は以前から知られている。食品や他の媒体における自然界に存在するナノマテリアルと人工的なナノマテリアルを区別することは困難な課題である。複雑な基質中に存在するナノマテリアルを検出することは困難である。意図しない暴露やライフサイクルアセスメント、動物を原料とする食品・動物組織中での残留性を考慮した(家畜)動物への健康影響も考慮する必要がある

Risk characterization

• リスクアセスメントパラダイムの適用性

ナノマテリアルのリスクアセスメントにおいて、新規のデータやリスク評価手法を開発するための作業リソースに優先順設定を行う目的として、段階的リスクアセスメントアプローチは有用であるかも知れない。

ナノマテリアルに関して既に利用可能なデータが評価に十分であるかどうか、より詳細な評価必要かどうかを判定するために予備的なスクリーニング評価が有用かも知れない。

Indicators: Physicochemical	Indicators: Biological/ toxicological
Solubility	Biopersistence
Particle size/size distribution	Bioavailability
Complexity of composition	Biocorona
Surface reactivity	Potential for “Trojan horse”

Future needs

- **データベース**

品質管理された製品の目録、比較可能な特性、毒性、暴露評価に関する検索性の高い記録、リスク評価手法と試験法、安全設備とその特性

- **暴露評価**

外部暴露や体内暴露を評価することが可能な分析手法と装置。
さらに、解析、検出、トレースをハイスループットで行うことを可能とする。

- **有害性確認と特性解析**

ナノマテリアルのヒト体内への生物学的アベイラビリティに関する資料の収集、解析、予測

コーティングやその他の機能性化が体内動態に及ぼす影響

ナノマテリアルの使用法に基づく食品・飼料への移行(汚染)

in vitro, *in vivo*, and *in silico*手法により、ナノマテリアルの毒性を評価、理解、予測する手法、食品や飼料中での安定性の推測

Recommendations

- FAO/WHO はリスクアセスメントアプローチのレビューを継続すべきである。特に段階的アプローチの使用を検討する
- FAO/WHO は、食品・飼料へのナノテクノロジーの利用に対する段階的リスクアセスメントアプローチの利用に関して、より科学的な勧告を模索することを検討すべきである。このアプローチは、初期的なスクリーニング評価レベルから構成されるべきで、このアプローチの導入によって物理化学的特性と生体との相互作用に関する知識をますことに繋がるだろう。
- この段階的リスクアセスメントアプローチの適用により、FAO/WHO はナノマテリアルの一連のカテゴリーに対して適切なリスクアセスメントアプローチを同定するための決定手法を開発することが推奨される。
- 本専門家会議は、FAO/WHO に対して革新的で学際的な研究を推奨するように勧告する。
- 革新的アプローチの適用は同時に動物実験の削減、代替および改良に繋がるものである。

Recommendations

- 有効性が確認されるべき試験法やガイダンスの開発は、以下の分野におけるデータギャップを扱うべきである
 - ・ 食品・飼料中のナノマテリアルの物理化学的特性を適切に解析する手法
 - ・ 食品、試料、農産物の基質中に存在するナノマテリアルの特性
 - ・ 生体試料中に存在するナノ粒子の確認法
 - ・ *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* and *in silico*試験法
 - ・ ナノマテリアルの体内動態、特に生物学バリアー(粘膜、脳血液関門、血液胎盤関門など)を通り抜けることによる知られていない体内分布や作用メカニズム
 - ・ 実際の使用用量におけるナノマテリアルの特性
- 国際機関 (FAO/WHO)は 以下に示すタイプのデータを要求、照合し普及することを検討すべきである
 - ・ 食品・飼料の基質中に含まれるナノマテリアルの背景レベル
 - ・ 食品・飼料の商品中に含まれるナノマテリアルの量と形状
- 本専門会議は FAO/WHOに対して、リスクアセスメントにおける他分野からの知識の利用を促進することを推奨し、それは同時に主要事業であることを認識している
- その分野は疫学研究や臨床研究であるだろう (医薬品、材料科学など)

SCIENTIFIC OPINION

Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain¹

EFSA Scientific Committee^{2,3}

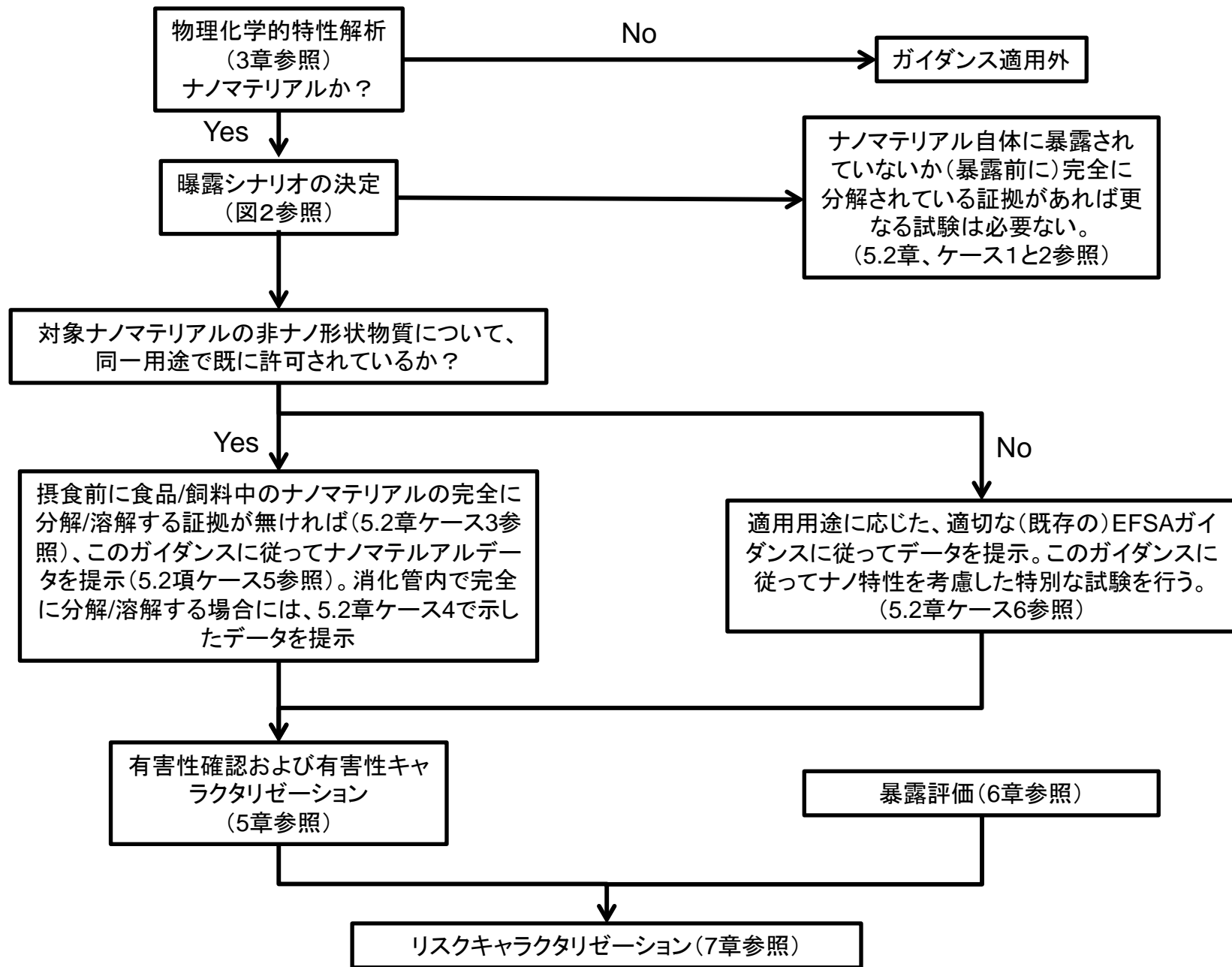
European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

ABSTRACT

The European Food Safety Authority has developed a practical approach for assessing potential risks arising from applications of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. Guidance is provided on: (i) the physico-chemical characterisation requirements of engineered nanomaterials used e.g. as food additives, enzymes, flavourings, food contact materials, novel foods, feed additives and pesticides and; (ii) testing approaches to identify and characterise hazards arising from the nanoproperties which, in general, should include information from *in vitro* genotoxicity, absorption, distribution, metabolism and excretion and repeated-dose 90-day oral toxicity studies in rodents. The guidance allows for reduced information to be provided when no exposure to the engineered nanomaterial is verified by data indicating no migration from food contact materials or when complete degradation/dissolution is demonstrated with no absorption of engineered nanomaterials as such. The guidance indicates uncertainties that should be considered to perform a risk assessment. As this sector is under fast development, this guidance document will be revised as appropriate. ©European Food Safety Authority 2011.

KEY WORDS

Engineered Nanomaterials, Food, Feed, Guidance, Nanoscience, Nanotechnology, Risk Assessment.



ナノマテリアルの試験とリスクアセスメントの概略図

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	ケース4で通常必須。ケース5と6では必須(5.3.2参照)
ADME	ケース4で通常必須。ケース5と6では必須(5.4.1及び5.4.2参照)
90日間反復経口投与 毒性試験(げっ歯類)	ケース4で通常必須。ケース5と6では必須(5.4.3参照)
In vitro 消化試験	ケース3、4、5と6で通常必須(5.4.1参照)
その他のin vitro試験	スクリーニングとメカニズム情報のために必須かも知れない(5.3.3参照)
生殖毒性試験	特定分野の規制又はEFSAガイダンスにより必須あるいは要求されるかも知れない(5.4.4参照)
発生毒性試験	特定分野の規制又はEFSAガイダンスにより必須あるいは要求されるかも知れない(5.4.4参照)
In vivo 遺伝毒性試験	特定分野の規制又はEFSAガイダンスにより必須あるいは要求されるかも知れない(5.4.5参照)
慢性・発がん性試験	特定分野の規制又はEFSAガイダンスにより必須あるいは要求されるかも知れない(5.4.4参照)
特殊毒性試験	特定分野の規制又はEFSAガイダンスにより必須あるいは要求されるかも知れない(5.4.4参照)

食品/飼料中にナノ材料は存在するか？

No

Yes

さらなる追加試験の必要性を検討

例:

食品接触材料からの溶出無し

・EFSA食品接触材料ガイダンスを適用

摂食前に摂取前に食品/飼料中の非ナノ形状に転換

・非ナノ形状にたいする適切なEFSAガイダンスを適用

ナノ材料は消化管から吸収するか？

(例: 消化液中での安定性やADMEデータを評価)

No

Yes

ナノ材料は消化管内で非ナノ形状に完全に転換されるか？

Yes

No

消化管内での局所の影響と非ナノ形状への転換前にナノ材料が弱さる可能性を評価

非ナノ形状に対する適切なEFSAガイダンスに従って試験を行うか、既存のデータを参照する*

ナノ材料は(部分的にしか)非ナノ形状に転換しない

In vitro試験

遺伝毒性試験

・哺乳動物細胞を用いた変異原性試験

・In vitro小核試験

In vivo試験**

ADME試験

90日間反復経口投与毒性試験

In vivo遺伝毒性試験(In vitro試験が陽性又は、In vitro試験ができない場合)

*: 既に評価・許可された製品から情報が得られる。

** : 現在の食品摂取物質のEFSAガイダンスは、溶出量に応じて限定された試験のみが要求されているが、ナノ材料の溶出形態や影響に関する知識が限られるため、現状の手法は現時点で適切で無いと考えられる。その為、ナノ材料の溶出が検出された場合は、遺伝毒性、ADMEおよび90日間反復与毒性試験が要求される。

The OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials

subsidiary body of the Chemicals Committee (established in 2006)

<Steering Groups>

SG1: Development of a Database on Human Health and Environmental Safety Research;

SG2: Research Strategies on Manufactured Nanomaterials;

 **SG3: Safety Testing of a Representative Set of Manufactured Nanomaterials;**

 **SG4: Manufactured Nanomaterials and Test Guidelines;**

SG5: Co-operation on Voluntary Schemes and Regulatory Programmes;

SG6: Co-operation on Risk Assessment;

 **SG 7: The role of Alternative Methods in Nanotoxicology;**

SG 8: Exposure Measurement and Exposure Mitigation.

SG 9: Environmentally Sustainable Use of Manufactured Nanomaterials

Table 1. Sponsorship Arrangements at the WPMN Sponsorship Program

Manufactured Nanomaterial	Lead sponsor(s)	Co-sponsor(s)	Contributors
Fullerenes(C60)	Japan, US	Dossiers by JP & US	Denmark, China
SWCNTs	Japan, US		Canada , France, Germany, EC, China, BIAC
MWCNTs	Japan , US		Korea, BIAC
Silver nanoparticles	Korea US	Australia, Canada, Germany, Nordic Council of Ministers	France , Netherlands, EC, China, BIAC
Iron nanoparticles	China	BIAC	Canada, US Nordic Council of Ministers
Titanium dioxide	France Germany	Austria, Canada, Korea Spain, US , EC, BIAC	Denmark, Japan, United Kingdom, China
Aluminium oxide			Germany, Japan, US
Cerium oxide	US UK/BIAC	Australia, Netherlands, Spain	Denmark, Germany, Japan Switzerland, EC
Zinc oxide	UK/BIAC	Australia, US, BIAC	Canada, Denmark, Germany Japan , Netherlands, Spain, EC
Silicon dioxide	France, EC	Belgium, Korea, BIAC	Denmark, Japan
Dendrimers		Spain, US	Austria, Korea
Nanoclays	BIAC		Denmark, US, EC
Gold nanoparticles	South Africa	US	Korea, EC

各物質のDDPの中には、以下の健康影響に関するエンドポイントについて、そのデータ収集の観点から、既存データの有無、試験の計画や実行状況、試験方法について、計画書として記載することとなっている。Mammalian Toxicologyの必須項目としては、

Pharmacokinetics/Toxicokinetics (ADME)

Acute toxicity

- a) Skin Corrosion
- b) Skin Irritation
- c) Skin sensitization
- d) Acute Eye Irritation
- e) Phototoxicity

Repeated dose toxicity (28 and 90 days study)

- a) Oral
- b) Dermal
- c) Inhalation

さらに、利用可能な場合は、以下の項目についても記載することになっている。

Chronic toxicity

Reproductive toxicity

Developmental toxicity

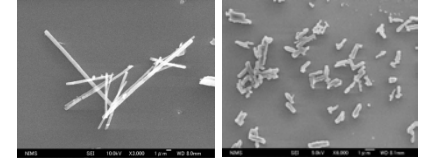
Genetic toxicity

- a) In vitro Genotoxicity
- b) In vivo Somatic Cell Genotoxicity
- c) In vivo Germ Cell Mutagenicity

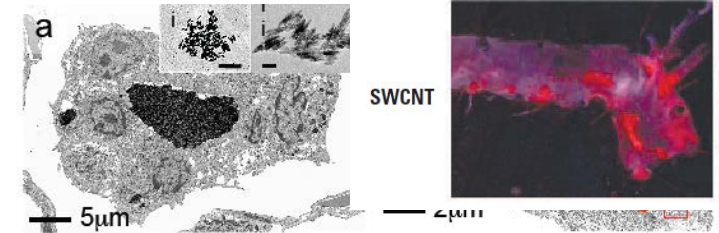
Experience with human exposure

Other relevant test data

慢性影響評価のための検討:



- ① 繊維状粒子によるアスベスト様影響
長さの違うフラーレンウィスカーの検討発がんマーカー(メソセリン)の発現解析
- ② 長期間の体内滞留性に関する影響の検討
C60の腎臓等への影響、多層CNTで動脈硬化促進作用
- ③ 発がんプロモーション作用に対する研究
気管内投与及び初代培養細胞への影響

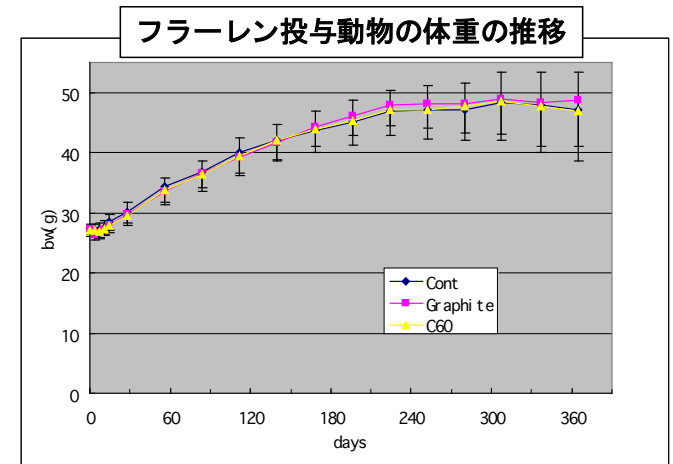


基礎的有害性情報の収集:

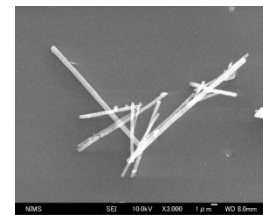
- ④ OECD対応 刺激性試験と感作性試験および体内動態解
(多層及び単層CNT、C60)
- ⑤ 遺伝毒性試験(本間)
CNTを用いたAmes及び染色体異常試験、細胞形質転換試験
長期間in vivo遺伝毒性評価(Pig-A遺伝子突然変異)モニター
- ⑥ 長期間の体内に貯留による標的組織の評価指標の検出(in vitro)
マクロファージ、神経系細胞に対する酸化ストレスやサイトカイン

慢性影響評価①～③

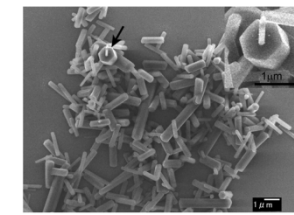
- MWCNT(Mitsui)のip用量依存性実験①
最低用量(0.003mg/kg)群から用量依存性の中皮腫発生を確認。
- C60のip投与による腎障害メカニズム解析研究②
C60を3mg/headで、マウスip投与、一年間経過観察
【進捗】2011年1月20日に解剖。
体重変化に有意差なく、肉眼的な毒性兆候を認めず。
病理組織作成中。血清等測定準備中



- 焼結型フラーレンウィスカー(FNW)の作成①
→単回ip投与 (p53+/-マウス)、
6ヶ月～一年間慢性試験の開始
投与分散液の調整法の検討中



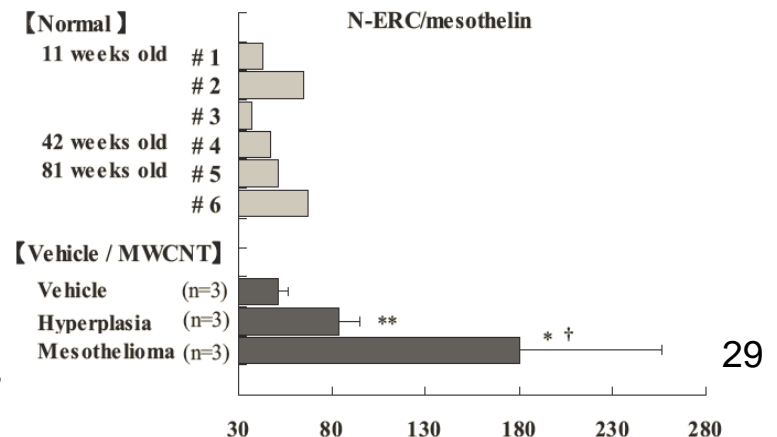
長いFNWの焼成後
7.6±4.5 μm



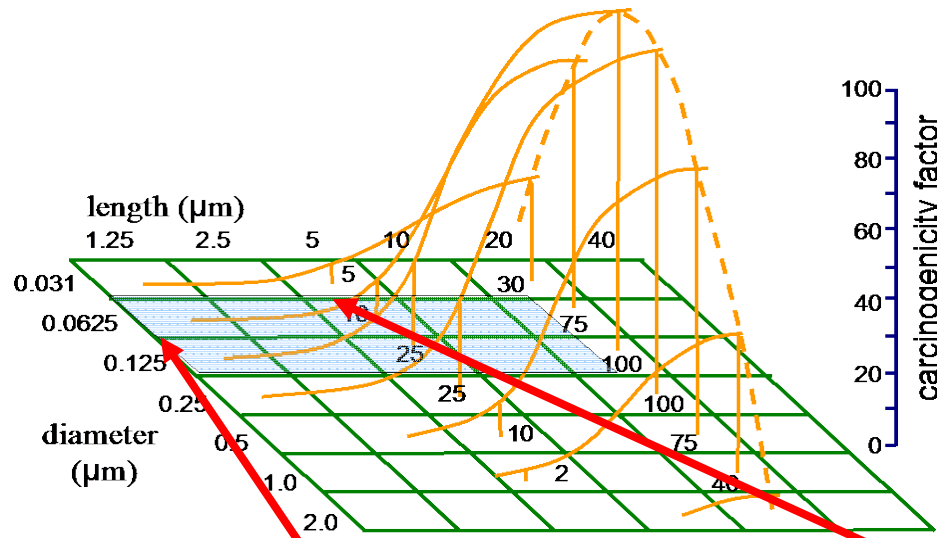
短いFNWの焼成後
1.8±0.8 μm

- マウス メソセリン抗体 (N-ERC、C-ERC) ELISA系の開発①
&ラット (ラットN-ERC) の検証

- 発がんプロモーション作用に対する研究③
c-Ha-ras TGラット、DHPN (2週間)
ナノ酸化亜鉛を16週まで気管内噴霧 (計7回)
肺発がん促進作用は認められなかったが、
間質性肺炎が発生、長期での肺線維症の可能性

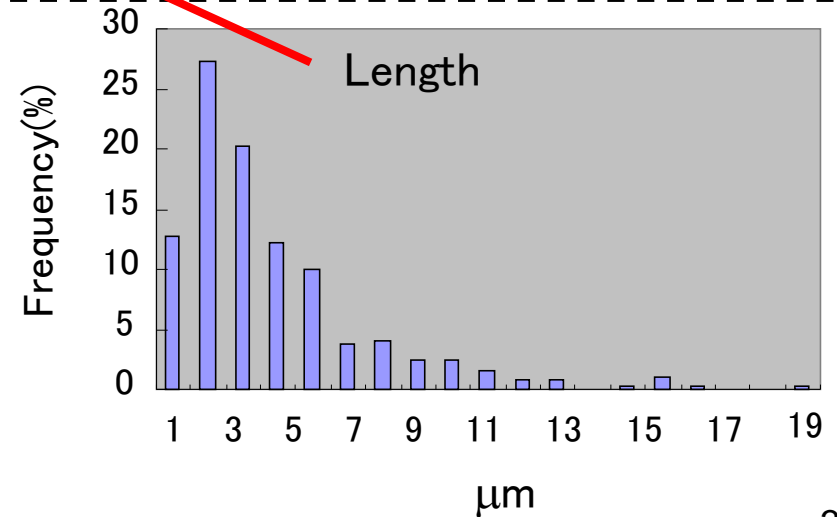
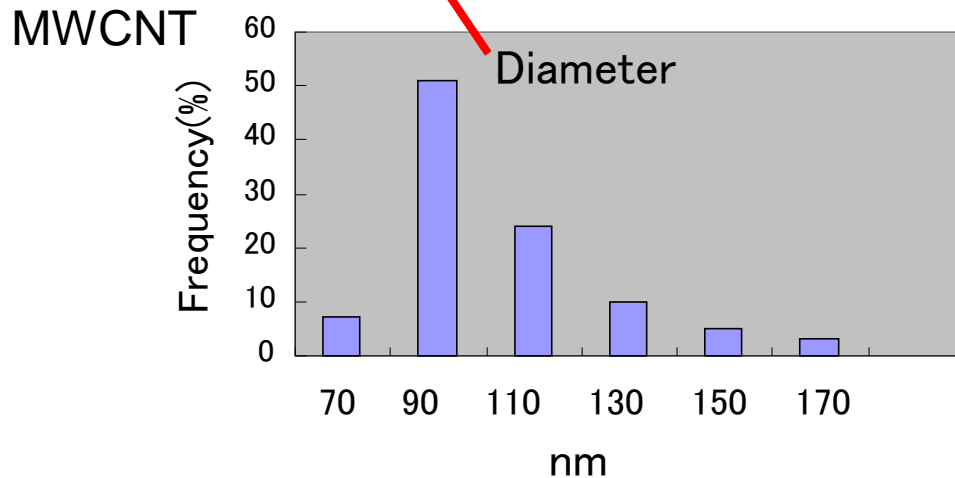
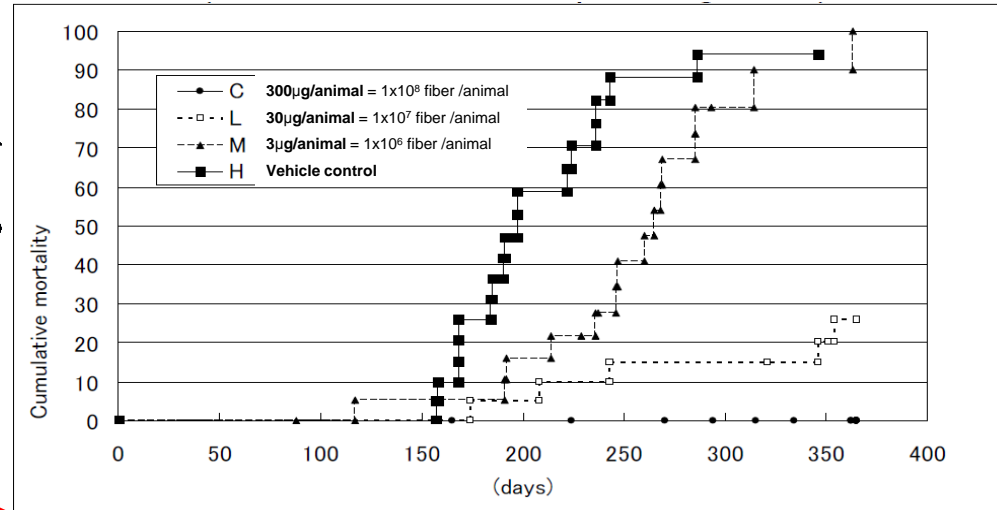


腹腔内投与による中皮腫誘発作用の検討



Hypothesis on the carcinogenic potency of a fibre as a function of its size with some data on "carcinogenicity factors". From: Pott (1978).

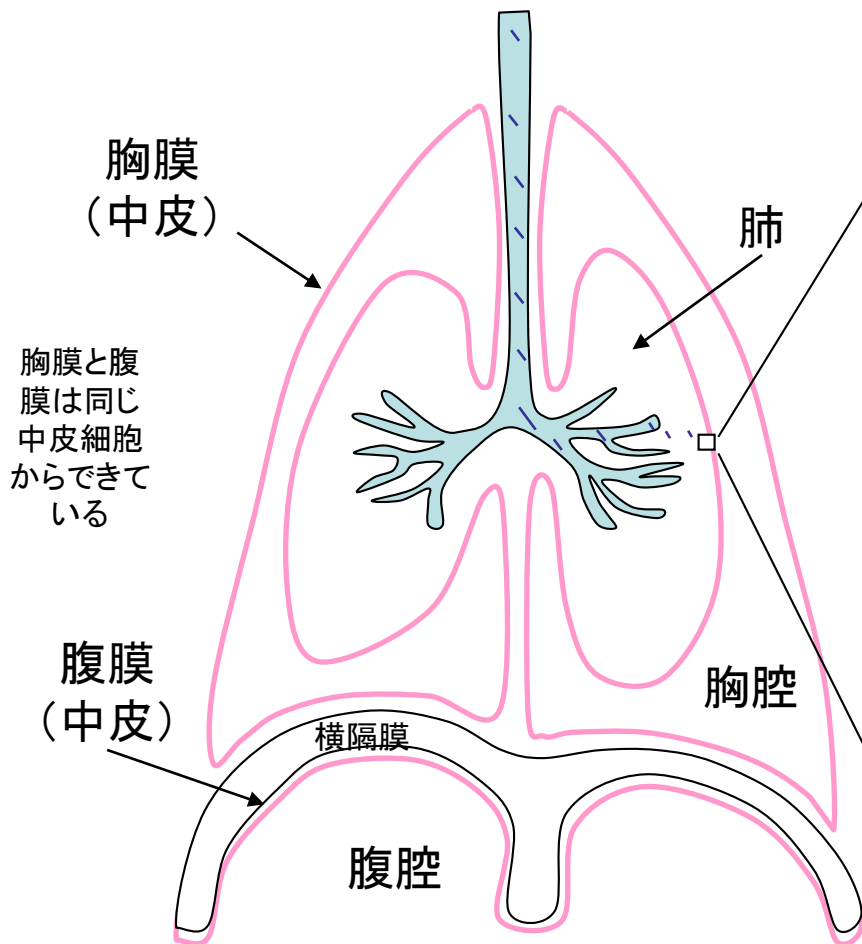
Tentative mortality data (based on macroscopic diagnosis)



MWCNT: 3mg/animal
= 1.06 X10⁹ fiber/mouse = 0.293 X10⁹ WHO fiber/mouse)

繊維状粒子における吸入暴露と腹腔内暴露の関係

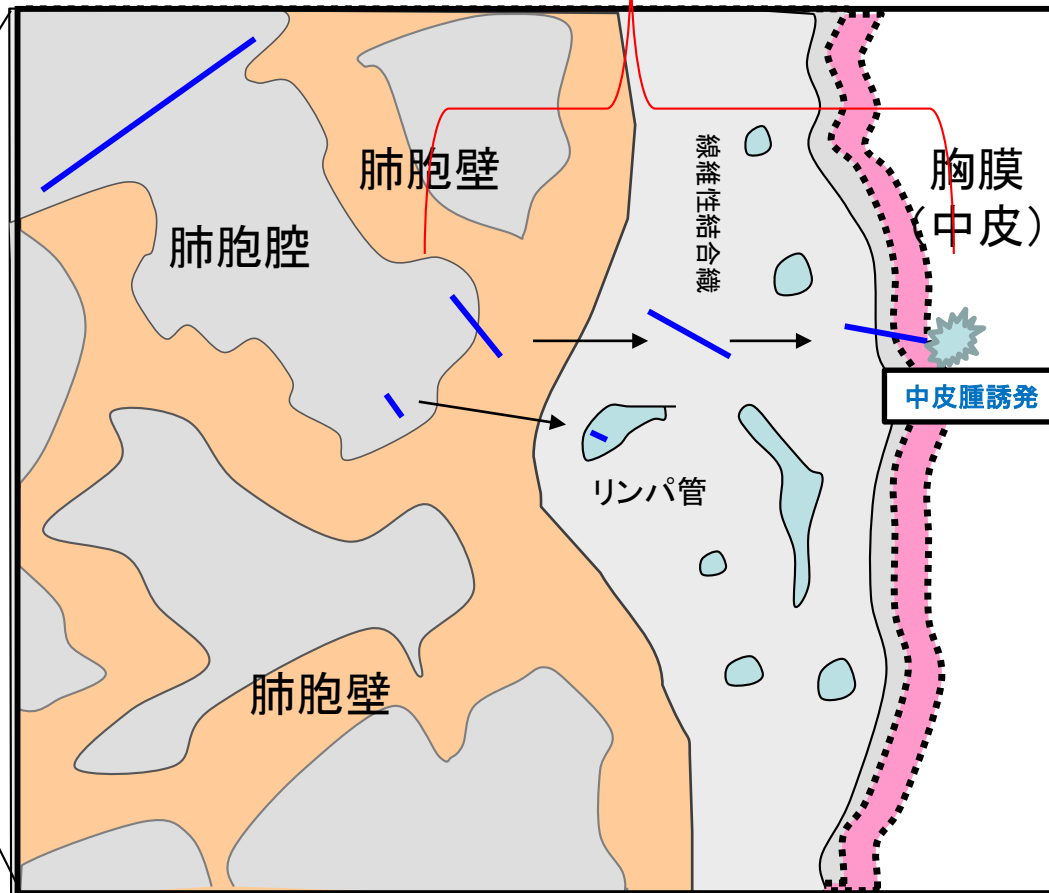
気管



胸膜と腹膜は同じ中皮細胞からできている

腹腔内投与は、繊維が肺胞腔から胸膜に到達する(何年もかかる)時間をスキップして、直接中皮細胞と接触させることにより、中皮腫誘発性を検証する

胸膜に到達するか、胸膜に到達して癌腫瘍性引き起こすのに数年~数十年の時間を要する



∴意図しない組織への蓄積(分解や排泄が起きないで)を見極めることがスクリーニングとして重要

慢性実験や、体内組織での残留性を検出する技術の 31 開発が必要

生殖発生毒性に関する知見

- Shimizu M et.al., Maternal exposure to nanoparticulate **titanium dioxide** during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. Part. Fibre Toxicol. 29:20 (2009).
- Wise JP et.al., Barrier capacity of human placenta for **nanosized metals**.
Environmental Health Perspectives 118:432(2010)
- Pietroiusti A et.al., Low dose of pristine and oxidized **single-wall carbon nanotubes** affect mammalian embryonic development. ACS Nano. 5: 4624-4633 (2011)
- Lim J-H et.al., Maternal exposure to **multi-wall carbon nanotubes** does not induce embryo-fetal developmental toxicity in rats. Birth Defects Research 92: 69-76 (2011)
- Philbrook NA et.al., Investigating the effects of **functionalized carbon nanotubes** on reproduction and development in Drosophila melanogaster and CD-1 mice. Repro.Tox. 32:442-448 (2011)
- Tamashita K et.al., **Silica and titanium dioxide** nanoparticles cause pregnancy complications in mice. Nature Nanotechnology 6:321–328(2011)
- Fujitani T et.al., Teratogenicity of **Multi-Wall Carbon Nanotube (MWCNT)** in ICR Mice. J. Tox. Sci. 37: 81-89 (2012)

腹腔内投与試験

実験動物: Crj:CD-1(ICR)マウス

被検物質: 多層カーボンナノチューブ (MWCNT), 三井製
0, 2, 3, 4, 5mg/kg 2%CMC懸濁

投与・観察: 妊娠9日1回投与、妊娠18日開腹、胎児観察

気管内投与試験

実験動物: Crj:CD-1(ICR)マウス

被検物質: 多層カーボンナノチューブ (MWCNT), 三井製
0, 3, 4, 5mg/kg 2%CMC懸濁

投与・観察: 妊娠9日1回投与、妊娠18日開腹、胎児観察



<東京都健康安全研究センター 提供>

同じナノ材料でも曝露経路の違いで有害性は異なる→用途によってリスクは異なる

ナノ材料	経口曝露		経皮暴露		吸入曝露		
	急性あるいは亜急性	慢性影響	急性あるいは亜急性	慢性影響	急性あるいは亜急性	慢性影響	腹腔内曝露 (中皮腫)
フラーレン	影響なし	?	影響なし	?	大量吸入による急性炎症	?	陰性()
多層カーボンナノチューブ (長い線維)	影響なし	?	影響なし	?	大量吸入による急性炎症 催奇形性有り	少量でも中皮腫の可能性	陽性 催奇形性有り(*)
多層カーボンナノチューブ (短い線維)	?	?	?	?	大量吸入による急性炎症	中皮腫の可能性低い	陰性(*)
単層カーボンナノチューブ	影響なし	?	影響なし	?	大量吸入による急性炎症	?	?
酸化チタン	影響なし	?	経皮吸収無し	おそらく影響なし	大量吸入による急性炎症	発がん性の可能性	形状によっては陽性
酸化亜鉛	影響なし	?	?	?	大量吸入による急性炎症	可逆的な慢性影響	?
二酸化ケイ素	影響なし	?	サイズと表面活性に依存して吸収()	?	大量吸入による急性炎症	?	?
ナノクレイ	影響なし	?	?	?	?	?	?

?: まだ、安全性研究が行われていない領域

(*): 顕微鏡レベルで生体組織に粒子が入っていることは確認した報告はあるが、どの程度取り込まれたかについて量的には全く情報が無い。

評価をさらに推し進めるには

新たな測定手法・機器の開発が必要 → single particle ICP-MSなど

スクリーニング試験法及び確定試験法の開発手順

