



安全衛生庁 NanoAlert サービス

安全衛生研究所作成 (英国・バクストン)



公報目次：

1. 測定、曝露および管理
2. 健康への影響
3. 安全衛生研究所 NanoAlert サービス・チームの連絡先

1. 測定、曝露および管理

本稿では、第1号で述べた総合的な文献調査に加えて、関連専門誌から追加調査をおこなう戦略をとった。大気中の超微粒子よりも、工学的ナノ粒子を扱う論文に高い優先度を置いた。2007年11月～2008年2月の4ヶ月間に発表されたナノ粒子の測定、曝露、管理に関する論文の主題別論文数を図1に示す。これまで発表された公報で明らかにされたとおり、大気中の浮遊ナノ粒子測定機器の開発・改善・評価、と同様にバルク状態、液体内、あるいは生物組織内におけるナノ粒子のキャラクタリゼーションに関して、著しい数の論文が発表されている。安全衛生分野の重要テーマである、ナノ粒子の毒性と機器テストに関する基準作成について確認された報告は数本ある。本稿では、保健衛生分野の専門家から強い要請がある小型モニターの設計・開発に関する報告については調べていない。また、既発表の公報と同様に、職場における工学的ナノ粒子への曝露評価研究報告もほとんどない。米国の報告書が一件、ならびにドイツとスイスの企業へのアンケート調査による職場におけるナノマテリアルの製造と取扱いに関する情報収集例二件が確認されたにすぎない。管理手法の開発についても同様のことが見てとれる。フィルターの効用について報告が数件あるものの、顔面密着型マスクに関する研究はなかった。

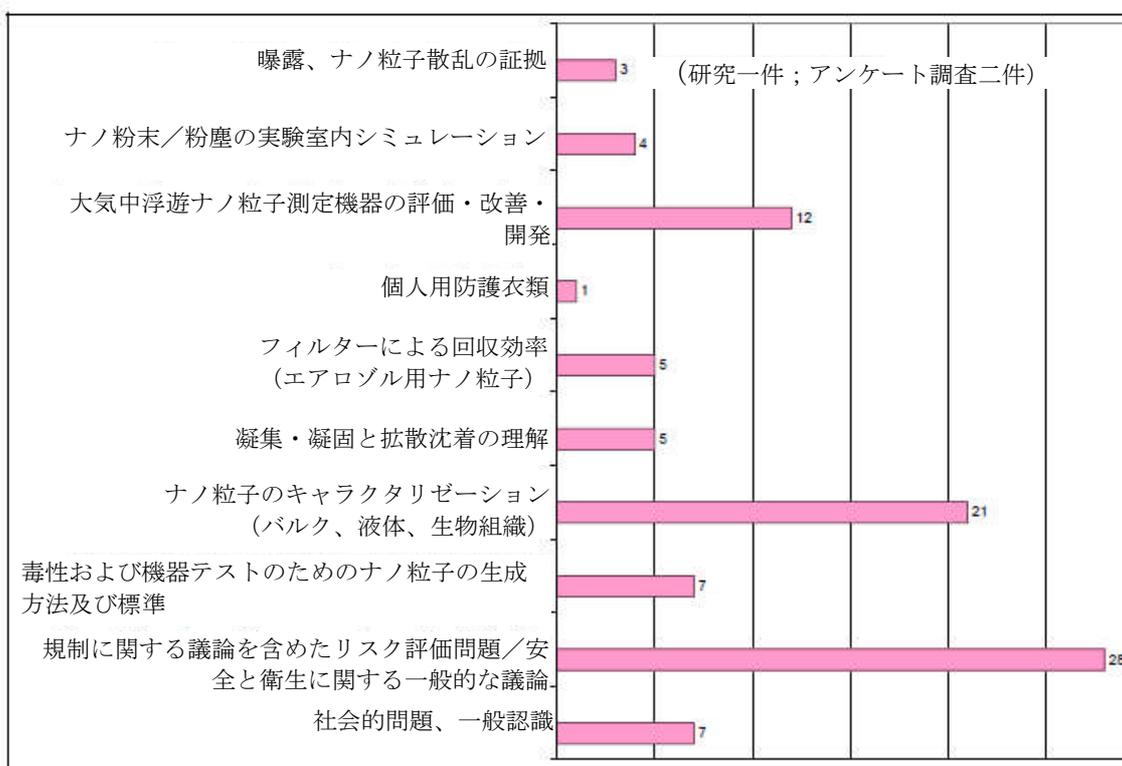


図1. 2007年11月～2008年2月の4ヶ月間に調査された研究のテーマ（測定、曝露、管理）別論文数

1.1 曝露データ

職場における曝露

毒物学研究により、ナノ粒子への曝露を質量濃度の観点のみで監視することでは不十分であり、粒子の表面積と個数濃度を測定する必要性も示唆された。最近の研究では通常三つの測定基準すべてを考慮している。

過去の公報で観察されたとおり、職場における工学的ナノ粒子への曝露評価に関して専門誌に発表された研究数は非常に少ない。米国国立労働安全衛生研究所 (NIOSH) により発表された報告が確認されている。

事例研究：実験室内での高分子複合材料取り扱い中に作業者がカーボンナノファイバーに曝露される、潜在的曝露源の特定とキャラクターゼーション

Methner ら (2007 年) [1]

NIOSH は高性能高分子複合材料を生成するために、カーボンナノファイバー (CNF) を使用する大学系研究室において測定を実施した。以下の操作について監視を行った：

- 「CNF を含む押し出し成形後の複合材料を細断する」
- 「フード内で計量するため、CNF を実験室のフード外でプラスチック容器から小型ビーカーへ移す」
- 「フード外の床上に設置された、局所排気装置 (LEV) の付いていない 5 ガロンの混合容器に CNF を移し、機器を使用してアセトンと混合する」
- 「水冷ノコギリを使用して複合材料を切断する」
- 「大塊を除去するために、オープン乾燥、エポキシコーティング済みの CNF を手動で囲いのない実験台上へ移す」

PM10 質量濃度、粒子個数濃度、活性表面積濃度、粒度分布をリアルタイムな機器を使用して監視した。サンプル採取には水晶フィルターを使用して NMAM 法 5040 でカーボン解析を実施し、また点平面電気集塵装置 (ESP) を使用してカーボン格子に採取し、透過型電子顕微鏡分析をおこなった。吸入可能粉塵および表面サンプルも採取した。煙管チューブ、LEV コントローラならびに屋上エアハンドラーの目視により換気の評価した。

知見は以下のとおりであった。

- 上記の操作において、実験室内に大きな CNF 発生源は形成されなかった。
- 二つの操作 (ケージ内の非換気エリアにおける CNF の計量・混合ならびに複合材料の水

冷ノコギリによる切断)において、質量および個数濃度について背景濃度に比較して浮遊粒子が僅かに増えた。

- ESP サンプルではファイバー束はほとんど観察されなかった。全炭素を使用した空気・表面分析では、CNFが実験室から放出されて隣接するオフィスへ移動していると考えられた(おそらく靴を介して)。

更に、ドイツおよびスイスの企業にアンケート調査を実施して、職場におけるナノマテリアルの製造と取扱いに関する情報を収集した調査報告が二件あった。

ドイツにおけるナノマテリアルへの曝露—ドイツ連邦労働安全衛生研究所 (BAuA) および化学工業協会 (VCI) による企業実態調査 Plitzko と Gierke (2007年) [2]

本報告書は、職場におけるナノマテリアルの製造と取扱いについて情報を収集するため、ドイツ企業へ実施したアンケート調査について報告した。アンケートは二部構成で、「全製品共通の一般的事項」と、吸入による曝露の可能性に焦点を置く「個別ナノマテリアルに関連する製品に限定した特殊事項」とから成る。参加した217社のうち21% (45社) がナノマテリアルを扱う活動(生産、使用または処理)をおこなっていた。同アンケートにおいてナノマテリアルの定義は「最低でも2つの寸法において $0.1\mu\text{m}$ 未満の長さである粉末として製造される粒子およびその集合体と凝集体」とされた。活動の定義は「ナノマテリアルを $10\text{kg}/\text{年}$ の量で扱う活動」であった。アンケートにより以下のことが判明した。

- 企業の40% (18社) が $10\sim 100\text{kg}/\text{年}$ の量で活動をおこなっていた。
- 企業の11% (5社) が $100\text{トン}/\text{年}$ を超える量でナノマテリアルを生産していた。
- 企業の71% (32社) においてナノマテリアルを取り扱う活動を担当する作業者が1~9人であり、16% (7社) において10~49人、2% (1社) において50~249人、9% (4社) において250人を超えた。
- 企業の31% (14社) が定期調査または実地調査で測定(吸入可能部分と呼吸可能部分の重量分析および粒子個数濃度)をおこなっていた。
- 企業の58% (26社) が健康に対する潜在的影響について情報を有すると表明した。情報を持たない企業(40%、18社)は主に $100\text{kg}/\text{年}$ 未満の量で活動をおこなう企業であった。
- 測定結果はほとんど報告されなかった。報告された吸入粉塵濃度は $0.2\sim 10\text{mg}/\text{m}^3$ であり、呼吸可能な粉塵濃度は $0.1\sim 3\text{mg}/\text{m}^3$ 、粒子個数濃度は $0.1\times 10^5\sim 6.0\times 10^5$ 個/ cm^3 であった。
- 保護手段としては技術的処理手段、換気手段、個人保護対策(呼吸保護)などがあった。

Helland ら（2008年）は2005年12月～2006年2月の期間にドイツおよびスイスにおいてナノマテリアルを生産・利用する企業40社に書面調査をおこなった[3]。アンケートは1) 材料の特性、2) 曝露および有害性評価、3) リスク評価の三部で構成されていた。ナノマテリアルは1つ以上の寸法が100nm未満の工学的材料として定義された。知見は以下のとおりであった。

- 4社（10%）がライフサイクル中の生物によるナノマテリアル摂取の可能性（対人曝露を含む）を調査していると報告した。
- 企業の3分の1がリスク評価を実施していると報告した。
- ナノマテリアルの62.5%が球体、20%が薄板状、5%がファイバー状、7.5%がその他として報告された。

凝集・ナノ粉末の挙動

ナノ粒子の粉塵挙動は重要な性状である。通常の実験操作においてナノ粒子が容易に大気中に浮遊しない場合は、吸入による関連リスクは大幅に低減される。粉塵試験により、粉末の取扱い中に大気中に浮遊する傾向があるか否かについて調査と定量化が可能となる。2006年に欧州標準化委員会（CEN/TC137/WG3）はバルク粉末の粉塵測定に関する基準を規定する文書（EN15051）を作成した。この基準では、健康に関連するバルク固体材料の破片の粉塵度を分類する方法として二種類の参照試験方法（一滴法または回転ドラム法）を設定している。

本稿ではナノ粒子の粉塵挙動に関する報告を一件確認している。Schneider と Jensen（2008年）は単一液滴法および回転ドラム法試験の両方が少量のサンプルに適応できる粉塵度試験を開発した[4]。

小型ドラムを使用した微細～ナノサイズ粉末に対する複合型単一液滴・回転ドラム粉塵試験

Schneider および Jensen（2008年）[4]

筆者たちは少量のサンプル（マテリアル 6g）を使用して単一液滴法および回転ドラム法試験の両方を実施できる粉塵試験を設計した。この試験は単一液滴法試験で始まり、EN 15051 回転ドラムの小型バージョン（シリンダー長さ 23cm、内径 16.3cm、容積流量 11L/分）を使用して回転試験を続けた。回転試験は回転速度 11rpm で実行された。粒度分布および個数濃度は高速移動度の粒度測定器と空力的粒度測定器を使用してドラム内で測定された。試験対象材料の粉塵指数は mg/kg の単位でフィルターに収集された粉塵の質量から計算された。

筆者たちは色素グレード超微細 TiO₂、コランダム（アロキサイト）の2等級、イットリウム安定化ジルコニア（Y-ジルコニア）顆粒、ヒュームド・シリカ、針鉄鉱、タルク、ベントナイトを試験した。

その結果、以下の知見が得られた。

- 再現可能な結果が得られた。
- ほとんどのサンプルにおいて 0.9 μm 以上のほぼ分離された二件の粒度モードが現れ、色素グレード TiO₂ とアロキサイトを除いて 100~200nm の粒度モードが一件現れた。
- 回転ドラム試験中、クリスタライトの大きさが増加するにつれ発生粒子の合計数が減少する傾向が見られた。
- 色素グレードの TiO₂ が粉塵について最も低く (31±21)、超微細 TiO₂ が最も高い結果となった (8338±233) (300倍)。この粉塵指数は EN 15051 に定義される、胸部粉塵と吸入可能な粉塵の間に位置する。

ナノ粉末の挙動研究の手法としては、他にも適用されてきた方法がある。

- Debrincat ら (2008年) [5] はニッケル自溶炉濃縮物および粉塵凝集体内の粒子間力の強さを、実験観察と文献から得られた数式を組み合わせることで決定した。凝集体は張力が 0.01Pa~38.7Pa で、粒子間力が $2.2 \times 10^{-12} \text{N} \sim 1.5 \times 10^{-10} \text{N}$ であった。
- Teleki ら (2008年) [6] は粒子の集合と凝集を迅速かつ定量的に把握するために、高圧分散と動的光散乱 (DLS) 利用の可能性を調査した。集合体は強い化学的な力により粒子が結合することで形成され、凝集体は弱い物理的な力により粒子が結合することで形成される。二酸化チタン粉末を高圧下でノズルから静電的に安定させた水性懸濁液中に分散させることにより、凝集体の大きさが減少することを明らかにし、一次粒子と粒子の凝集体からなる二峰性の大きさ分布を得た。

粉末の非凝集化を研究する新手法を記した報告が一件確認されている。Kurkela ら (2008年) はシステム内の粒子堆積を最低限にとどめた粉末の非凝集化研究の新手法を報告した [7]。粉末を器具内へ低速で連続的に供給し、調整可能な分散気体流と衝突させた。凝集体の下流における粒度分布を測定した。この手法はミクロンレベルの大きさのシリカおよびガラス球で試験済みであり、ナノ粉末の試験にも利用できる。

1.2 大気中に浮遊するナノ粒子の測定および監視

Moss (2008年) は、リスク推定においてナノ粒子の個数が重要であり、ナノ粒子個数と表面積の両方が関連することを最近報告した [8]。潜在的な悪影響に関して、ナノ粒子に対する曝露を評価する上で最適な尺度 (質量、個数、表面積など) につき同意が得られるまでは、職場におけるナノ粒子の放出を入念に特徴付け、監視するために幅広く機器を使用

する必要がある。そのような機器の評価・開発については数多くの報告が発表されている。

機器または手法の評価

職場において大気中に浮遊する工学的ナノ粒子への曝露を評価するための機器の性能と検知限界を調査することが重要である。

凝縮粒子カウンター（CPC）はエアロゾル粒子の個数濃度測定に使用され、サブミクロンの粒子を検知できる。超微細水性 CPC の性能についての報告が一件発表されている。

超微細水性 CPC TSI 3786 の操作と他の TSI モデルの比較（TSI 3776、TSI 3772、TSI 3025、TSI 3010、TSI 3007）

Mordas、Manninen、Petaja、Aalto、Hameri、Kulmala（2008年）[9]

筆者たちは超微細水性凝縮粒子カウンター（UWCPC TSI3786）の性能を評価した。飽和器と伸長管の温度差および粒子の化学的組成による検知効率への影響を調査した。以下の点が指摘されている。

- 銀粒子については、切断サイズ D50 が温度差 53～70℃の走査中に 2.9～4.5nm と変動した。筆者たちは「UWCPC は、非吸湿性粒子についてできえ、3nm 以下の調査に適用可能である」と結論付けている。
- 飽和器と伸長管との温度差 70℃を利用すると、D50 切断サイズは銀、硫酸アンモニウム、塩化ナトリウムについて、それぞれ 2.9、2.3、1.8nm であった。
- 15 および 30nm 銀粒子を使用した場合、濃度 3,000～50,000cm⁻³ の範囲でカウント効率が非常に良好であった。観察可能な最高個数濃度は（10%精度内で）100,000 cm⁻³ であった。
- 他の TSI モデル（TSI 3785、TSI 3776、TSI 3772、TSI 3025、TSI 3010、TSI 3007）とブタノール性 CPC（TSI 3776、TSI 3025）に比較して、UWCP は銀粒子についてブタノール性 CPC よりも切断サイズが大きかったものの、他の TSI CPC よりもサイズが小さかった。
- 銀粒子を使用した標準設定下の操作体制では、TSI 3776 が検知限界が最も低かった（D50 が 3.2nm）（例えば TSI 3025 の 3.6nm に比較）。

電気エアロゾル検知器を使用した平均粒度決定と凝縮粒子カウンター（CPC）：走査型移動度粒度計との比較

Frank、Saltiel、Hogrefe、Grygas、Garland（2008年）[10]

筆者たちは粒度 13～183nm の燃焼エアロゾルを使用して大気中に浮遊するナノ粒子の平均粒度測定について二種の手法を比較した。

● 走査型移動度粒径測定計 (SMPS) は電気型移動度相当粒径により粒度を測定するが、完全走査を実行するのに3~5分かかる。

- 電気的エアロゾル検出器 (EAD) と凝縮粒子カウンター (CPC) を組み合わせることにより迅速な測定が可能となる。EAD はエアロゾルの直径濃度または長さの合計を mm/cm^3 単位で測定する。平均粒度 (nm) は $10^6 \times \text{EAD}$ によるエアロゾル長さ合計 (mm/cm^3) / CPC 濃度 (cm^3) となる。EAD と CPC はサンプル流量が共に低い (それぞれ 2.5 および 1.5L/分)。

筆者等の知見は以下のとおりである。

- EAD/CPC と SMPS による平均粒度データの一致は低かった。
- EAD/CPC と SMPS による合計エアロゾル長さのデータは一致していた。
- 測定差異は CPC と SMPS による測定濃度の差異によると思われる。

平均粒度の差異は分散ロスとナノ粒子集合体の易動度、また粒子の形態、帯電および組成に原因があると思われる。筆者等は EAD と CPC の組み合わせは急速に変化する粒子挙動源の平均粒度測定についての単独手法として使うには見込みが低いと結論している。

低圧インパクターにより大気中浮遊粒子をサンプル採取し、粒度により分類することができる。Wang ら (2007 年) は Dekati 低圧インパクター (DLPI) により決定された石炭灰粒子の質量粒度分布を Berner 低圧インパクター (BLPI) によるものと比較した[11]。BLPI と DLPI は収集段階がそれぞれ 11、13 で粒度範囲が $30\text{nm} \sim 16\mu\text{m}$ と $30\text{nm} \sim 10\mu\text{m}$ の低圧インパクターである。知見は以下のとおりである。

- DLPI はサブミクロン粒子を BLPI よりも大きな質量分率で収集した。
- DLPI は (収集段階が2段階多いため) BLPI よりもサブミクロン粒子について分解能力が高い可能性がある。

機器および手法の開発

ナノ粒子に対する曝露測定のための機器と手法の開発または改善 (より良い分解能力、応答速度の改善、帯電性能の改善) については、多数の報告が発表されている。

分解能力と応答速度を向上させた機器の開発

職場においてランダムかつ短期間に高濃度を発生する可能性のある処理で生じる工学的ナノ粒子に対する曝露を測定する際、高速で応答する機器が非常に有用となる。ナノ粒子の粒度測定に最も一般的に使用される機器は、電気型移動度相当粒径により粒子の粒度を

測定する SMPS である。従来の SMPS では走査時間が 3~5 分であったが、近年、高速応答機器が複数開発されている。大気中浮遊ナノ粒子の粒度測定用高速応答機器の改善および性能に関する報告が確認されている。

対数正規粒度分布を示すサブミクロンのエアロゾル粒子の単極チャージャーと単極フィールド・チャージャーを同時使用したリアルタイム測定

Park, Kim, An, Hwang (2007 年) [12]

Park ら (2007 年) は、対数正規粒度分布を示すサブミクロンのエアロゾル粒子に対する高速リアルタイム測定用の単極分散チャージャーの開発と性能に関する研究を発表している。筆者たちは、電位計と凝縮粒子カウンター (CPC) を取り付けた単極分散チャージャーを使用することで、NaCl の 80.5nm とセバシン酸ジオクチル (DOS) 粒子の 427nm という推定平均幾何学的直径が SMPS で測定される数値と比較して 33% 大きいことを解明した。同研究においては、単極フィールド・チャージャーと CPC の代替電位計 1 台を使用することで測定方法を改善し、以下の知見を得た。

- NaCl (<100nm) および DOS (100~700nm) 粒子の推定結果は、SMPS により測定したデータの 10% 以内であった。
- 改善設定 (単極フィールド・チャージャーと電位計 2 台) による検知時間は先の設定 (単極フィールド・チャージャー、電位計と CPC) による 5s よりも速くなった (<3s)。

大気中に浮遊するナノ粒子の質量濃度は、職場に存在する濃度が低い場合、特に測定が難しくなる。Dohn ら (2007 年) はカンチレバーに付着した粒子の質量、位置、カンチレバーの共振周波数の変化を関連付ける分析的方法を導き出した[13]。筆者たちはこれが精度の高い粒子質量測定に応用できると主張している。

多機能機器の開発

Wake (2006 年) により示されているように、形態の異なる粒子の質量、個数、活性表面積濃度との相関は単純ではない[14]。このため、職場においては幅広い機器を配備して 3 つの測定基準すべてに基づく曝露濃度の評価が必要となるが、理想的にはすべての 3 測定基準を測定できる機器が必要である。これまでの調査では、こうした多機能機器の開発に関する報告は確認されていない。現在そのような機器は存在しないが、科学者は粒度測定から表面積情報を導き出すため、表面積と移動度粒径の間に実証的相関性を確立しようと試みている。

Cho ら (2007 年) は凝集ナノ粒子の移動度粒径と一次粒子の個数と粒度との相関を実験

的に確立した[15]。筆者たちはこの結果を利用して凝集体の表面積を測定された移動度粒径の関数として算出し、表面積と移動度粒径との間に実証的な相関関係を設定した。これは一次粒子の個数が限られていて、遷移領域にある（標準状態として）凝集体にのみ有効である。

エアロゾル粒子測定機器の荷電性能の改善

エアロゾル粒度の決定や測定に使用される拡散荷電装置（DC）、SMPS または電子式低圧インパクター（ELPI）などの機器は検知前の粒子の電荷を変化させる。粒子に荷電する性能は粒子直径により大きく異なる。粒度測定機器用のエアロゾル・チャージャーの開発と改善については二件の報告が確認されている。

- Kleefsman ら（2008年）はエアロゾル粒子が帯びる合計電荷に基づき各種エアロゾル・チャージャーを比較する数値モデルを導き出した[16]。
- Vivas ら（2008年）はサブミクロン粒子（1以上の電荷を獲得できる $>20\text{nm}$ の粒子）の多重荷電を低減するため、既存のコロナ単極チャージャー（Büscher ら、1994年）を設計しなおした[17]。このコロナ・チャージャーは微分移動度解析器（DMA）によるサブミクロン粒子の粒度選択に適していると筆者たちは主張する。両極性拡散に比較して、一般的に SMPS に関連して使用される放射エネルギーが存在しないことが利点である。

物理的、化学的キャラクタリゼーションのための機器の評価

大気中に浮遊するナノ粒子の濃度に加え、物理的および化学的キャラクタリゼーションが工学的ナノ粒子と大気中超微細粒子の区別に重要である。質量、個数、表面積濃度をリアルタイムで測定する機器は化学的または形態学的情報を提供しないため、職場において工学的ナノ粒子とバックグラウンドの微細粒子源を区別するのが難しいことが認識されている。アプローチの一つとして、オフラインの電子顕微鏡検査による物理的、化学的キャラクタリゼーションのために粒子を収集することがある。

石炭火力発電所から排出された大気中微粒子エアロゾルの半定量的キャラクタリゼーション

Hinkley、Bridgman、Buhre、Gupta、Nelson、Wall（2007年）[18]

Hinkley、他は石炭火力発電所から排出された超微細エアロゾルのサンプル採取と化学的分析の方法と結果について報告した。 $>1\mu\text{m}$ の粒子を Burkard 胞子試料採取装置により採取し、走査型電子顕微鏡（SEM）により分析した。 $0.3\sim 1.0\mu\text{m}$ の粒子はカスケードインパクターを使用して粒度による画分で採取し、イオンビーム解析および主成分分析をおこなった。 $<300\text{nm}$ 粒子は TSI ナノ粒子エアロゾルサンプラー（NAS）を使用して採取し、

NAS は更なる分析のために、帯電している粒子を基板 (TEM 格子など) に採取することができる。これは底部に電極をサンプル採取室とその中へ空中浮遊粒子を吸い込むポンプから構成される。採取室と電極の間の電界 (最高 10,000V) により帯電した粒子が基板に集められる。本研究では筆者等は NAS の前にカスケードインパクト (大きな粒子を除去するため) と電荷中和装置を使用した。粒子はホルムバール製の薄いフィルムで構成される TEM 格子に採取した。TEM 画像により粒子および凝集体の種類 (形状、大きさ) に関する情報が得られ、EDX により定性的化学分析が得られた。

Tantra ら (2008 年) は使用可能な分析手法の中で CNT 検知に適切と思われる手法を評価し、職場における CNT 測定にかかわる課題について検討した[19]。これらの手法とは、顕微鏡検査手法 (電子顕微鏡検査、走査型プローブ顕微鏡検査)、分光学的手法 (ラマン分光法、フーリエ変換赤外 (FTIR) 分光法、蛍光分光法、テラヘルツ分光法) である。

非従来型の機器開発に関する報告例も数件ある。Bogan ら (2008 年) はパルス状の X 線ビーム内に自由浮遊中の単体粒子を導入し基板を使用しない画像を得る技術について報告している[20]。単一の X 線パルスによる回析画像化 (または、レンズを使用しない画像化) により 40nm 以上の解像度が実証された。遮断された粒子は、更に、飛行時間形質量分析器 (TOFMS) を用いて化学組成のキャラクタリゼーションに適用することが出来る。

空中浮遊ナノ粒子の基準および発生

大気中に浮遊する工学的ナノ粒子の職場における曝露評価に使用する機器の性能と検知限界を調査することが重要である。大気中に浮遊するナノ粒子の測定と試験を目的として、実験室環境において安定的で再現可能なキャラクタリゼーションを備えたナノ粒子エアロゾルを発生させる必要がある。下記の興味深い報告が発表されている。

ブラウン凝集に基づく超微細エアロゾルの参照個数濃度発生器

Koch, Pohlmann, Schwarz (2008 年) [21]

筆者たちは超微細またはナノ粒子の個数濃度測定用の機器の校正と設定のために参照個数濃度 (校正源) を提供するシステムを開発した。

同システムは有機気体の均質な核生成によるエアロゾル発生とブラウン凝集による粒子成長に基づく。筆者たちは高い再現性で液体ナノ粒子の予測可能な参照個数濃度 (10^6 から 10^7 個/cm³) を発生させることが可能なシステムを設計した。これは限られた時間内 (100s ~ 1000s) で校正に使用できる。

1.3 管理

作業者の健康保護において、管理は非常に重要な役割を果たす。法律は危険やリスクを管理することを求めている。リスクを排除することが実行不可能な場合には、代替や工学的管理によりリスクを低減する必要がある。最終的な管理レベルは個人用保護具（PPE）の提供となる。過去の公報に見られるとおり、ナノ粒子に関する工学的管理の性能に関する発表論文は非常に少ない。今次調査では工学的管理に関する報告は確認されなかったが、フィルターや保護具の性能効率に関する研究が数件発表されていた。

工学的管理

今次調査において、ナノ粒子の工学的管理に関する報告は確認されなかった。

フィルター

フィルターは、空気清浄や個人の呼吸保護など、多岐にわたる管理手法に使用されている。ナノ粒子エアロゾルについてフィルター通過効率を試験することが重要である。数件の報告が確認されているが、今次調査では、マスクの「顔面装着試験」に関する研究はなかった。

NIOSH 承認済み N95 フィルター付き覆面呼吸装置のナノ粒子通過

Rengasamy, Verbofsky, King, Shaffer (2007年) [22]

筆者たちは5つのNIOSH承認済みの市販N95フィルター付き覆面呼吸装置(半マスク)について2つの試験法で通過測定をおこなった。

- 多分散エアロゾル試験法 (NIOSH 呼吸装置承認試験と同様の TSI 8130 自動フィルター試験を適用)
- 単分散 NaCl エアロゾル試験法 (TSI 3160 分別効率試験装置を使用)

単分散エアロゾル試験法については、粒度範囲 20~400nm および流量 85L/分の NaCl 粒子を使用してデータを収集した。

知見は以下のとおりである。

- 5種類の呼吸装置について多分散エアロゾル試験法で測定した初期粒子通過レベルは0.61%~1.24%であった。
- 最も通過率の高い粒度は約40nmであった。
- 40nm単分散エアロゾルに測定された平均粒子通過レベルは1.4~5.2%であった。他の報告に記された最大通過粒度はほとんどの繊維性フィルターについて100~400nm

であるが、これがフィルターのタイプと特徴、また実験条件（流量、粒子の電荷など）によっても変動することが指摘されている。

- 5種類の呼吸装置におけるフィルター性能の順位は2つの試験法の間で一致した。

Nanosafe2 (EU 助成金によるプロジェクト) は繊維性フィルターと個人用保護具のエアロゾルに対する効率に関する一般報告書を発表した[23]。その主な論旨は以下のとおりである。

- 「ナノ粒子に対して繊維性フィルターはさらに高い効率性を持つ」最大通過粒度は約150~300nm である。Wang と Kasper は温度反発効果により繊維性フィルターによるナノ粒子のフィルター効率に限界があると予測したが、2nm を超える粒径については検証されていない。
- 「HEPA フィルター、呼吸装置カートリッジ、マスク用繊維性フィルターはナノ粒子に対してさらに高い効率性を持つ」Nanosafe2 共同研究体はグラファイトナノ粒子を使用して前面風速 9.6cm/s の下で HEPA フィルターを試験した。ナノ粒子エアロゾル通過率は粒度によって大きく減少したことが明らかになった。

Boskovic ら (2007 年) は同じ電氣的移動度でも異なる形態のナノ粒子の除去について、フィルター効率が異なる可能性がある (例えば立方体状の酸化マグネシウム (MgO) に比較して球状ポリスチレンラテックス (PSL) の方がフィルター効率が高い) ことの原因を理解するために更なる研究をおこなった[24]。粒度範囲が 50~300nm の球状 PSL と立方体状の MgO の鉱油コーティング・ポリプロピレンフィルターによる 10~20cm/s のフィルター効率について調査した。形態の異なる粒子について同様のフィルター効率が得られ、フィルターに油をコーティングすることで初回衝突後のフィルター繊維に沿った粒子の動きが最低限にとどめられたことを結論付けている。

ナノファイバー製フィルター材：フィルターに関する課題と極小材料による解決法 Barhate と Ramakrishna (2008 年) [25]

筆者たちはナノファイバー製フィルター材を検討した。直径 100~1000nm の繊維から形成されるこれらのフィルター材は軽量で透過性が高く、開口部径が小さいためフィルター用途と最高の通過率を持つエアロゾル粒子 (従来のフィルターについて 100、500nm として文献に報告されている) の回収に優れている。高性能 (HEPA) フィルターまたは H タイプフィルターとして推奨されるこれらのフィルターは、直径 300nm 以上の粒子に対し 99.97% の最低除去効率を有する。

個人用保護衣と手袋

個人用保護衣と手袋は、化学物質やほこりに対する皮膚の接触から作業者を保護するために使用される。ナノ粒子エアロゾルの保護衣および手袋通過に関して試験することが重要である。

Nanosafe2 (EU 助成金によるプロジェクト) 繊維性フィルターと個人用保護具のエアロゾルに対する効率に関する一般報告書の主な論旨[23]は以下のとおりである。

- 「不織布はナノ粒子の通過に対して効率性が高く (気密製材質)、綿繊維製の保護衣の着用は避けるべき」 Nanosafe2 共同研究体は、気流の存在下と非存在下での手法を使用して保護衣の性能を試験した。透過拡散セルとグラファイトナノ粒子 (30 および 80nm) を使用し、拡散係数は綿 (80nm ナノ粒子について $>2.5 \times 10^{-6} \text{m}^2/\text{s}$)、紙 (30nm ナノ粒子について $\sim 1.8 \times 10^{-6} \text{m}^2/\text{s}$) に比較して不織 Tychem および不織 Tyvek ($<1 \sim 2 \times 10^{-7} \text{m}^2/\text{s}$) で小さい結果となった。
- 「警告：ナノ粒子は市販の手袋を通過する可能性がある！ 最低でも二重にして使用すること」ニトリル、ラテックス、ネオプレン、ビニール製手袋を数種類試験した。透過拡散法とグラファイトナノ粒子を使用して、知見は以下のとおりであった。
- 80 および 30nm の粒子は手袋を透過した。
- 80nm の粒子は 30nm の粒子よりも容易に手袋を透過した。80nm ナノ粒子の拡散係数は $<1 \times 10^{-11}$ から $\sim 4 \times 10^{-11} \text{m}^2/\text{s}$ であった。

1.4 キャラクターゼーション

バルク・ナノ粒子のキャラクターゼーション

ナノ粒子の生成

吸入毒性研究にとり、はっきりした粒度分布と濃度を有し、再現可能で安定したエアロゾルを曝露期間中に生成できることが重要である。これは非常に難しいかもしれない。この問題に対処した報告が数件発表されている。

粒度、結晶相、形態を独立管理、厳密管理による火炎エアロゾル反応炉内のナノ粒子生成 Jiang, Chen, Biswas (2007年) [26]

筆者たちは生物学的影響の研究用に、粒度、結晶、構造、形態、約 10mg/時の凝集などの物理化学的特徴を管理してナノ粒子を発生させる火炎エアロゾル反応炉 (FLAR) システムを開発した。この手法は TiO_2 について実証された。

Guo ら (2007 年) は健康影響の研究のために、 H_2 /空気拡散火炎内で酸化鉄ナノ粒子を合成した[27]。筆者たちは粒子の2つの粒度状態を測定した。大きな粒度状態には直径中心値が 45nm までの結晶性の非凝集粒子が含まれ、小さな粒度状態には主に粒度が 3~8nm の非結晶性の粒子が含まれた。ナノ粒子は TEM、X 線回析、表面積測定、誘導結合プラズマ質量分析法、分光光度法により特徴づけられた。

Smart ら (2007 年) は高分子ナノ複合材料と毒性の研究用に、高エネルギーボールミル粉砕による二層カーボン・ナノチューブ (CNT) 短縮について調査した[28]。ボールミル粉砕により非結晶性成分が増加し、処理時間が4分を越えると CNT は大幅に破壊された。キャラクターゼーションには TEM、高解像度 TEM (構造、形態、側壁の破壊を観察し、直径を推定するため)、SEM (形態のキャラクターゼーションのため)、ラマン (直径とナノチューブの種類を調べるため)、熱重量分析 (TGA) (残存金属触媒濃度を決定するため)、X 線光電子分光法 (DWCNT 側壁の酸化の決定と各種炭素質の種類を定量するため) をおこなった。

バルク形態、液体または生物組織内におけるナノ粒子のキャラクターゼーション

ナノ粒子の潜在的毒性について理解するためには、粒子のキャラクターゼーションを完全にまた正確におこなうことが不可欠である。加えて、如何なる試験においても一貫性と再現性を確認するため、ナノ粒子のキャラクターゼーションは根底を成すものである。バルク形態、液体中 (生物体または水・溶媒) または毒性評価用のナノ粒子のキャラクターゼーションに関する報告は数件発表されている。

ナノ粒子の活性は粒度と結晶相に依存するか?

Jiang、Oberdorster、Elder、Gelein、Mercer、Biswas (2008 年) [29]

筆者たちは TiO_2 ナノ粒子の物理化学的特性の活性酸素種 (ROS) 生成能力に対する依存度を調査する方法を報告している。 TiO_2 ナノ粒子は数種類の気相合成方法を使用して管理の良いエアロゾル経路で生成された。分析された物理化学的特徴は以下のとおりであった。

- SMPS を使用して合成過程に測定した粒子移動度粒度分布
- フィルター上に採取の後、TEM および SEM により測定した形態と一次粒度分布
- X 線回析で測定した結晶の大きさ、結晶構造、異なる結晶相の重量分率

Ziegler ら (2007 年) は一層カーボンナノチューブ (SWCNT) の長さの測定方法を報告

した[30]。Birch 反応によるドデシル基鎖における SWCNT の機能化では、クロロホルム中でナノチューブは高度分散した。懸濁液を超音波処理と劈開したばかりの雲母基板上に弱めにスピコーティングした。ナノチューブは原子間力顕微鏡検査 (AFM) とユーザーの介入を最小化したナノチューブ、ナノチューブ・ロープ、粒子を区別できるソフトウェアを使用して視覚化した。

顕微鏡検査はキャラクタリゼーションの重要ツールである。ナノ粒子の組織や細胞内における位置を突き止めること、また、ナノ粒子がどのように細胞内に入りその後どのような結末を辿るかを探査できる。本稿では、この分野の報告を多数選択した。

透過型電子顕微鏡検査による気道内ナノ粒子の視覚化と定量分析

Muhlfeld, Rothen-Rutishauser, Vanhecke, Blank, Gehr, Ochs (2007年) [31]

筆者たちは組織および細胞におけるナノ粒子の視覚化と定量分析用の改良型 TEM を報告している。以下の適用可能性、利点、欠点を評価した。

- 準備手順

化学的固定

物理的固定

- TEM 手法

従来型 TEM ごく少数の例外を除き、従来型 TEM はナノ粒子の特定と技術的偏向 (細胞構造とナノ粒子の混同など) を避けるため、他の手法と併用するべきである。

免疫 TEM はナノ粒子および抗原の視覚化、共局在化、定量化を可能とする。

エネルギーフィルター処理 TEM では高解像度 TEM、電子エネルギー損失分光法 (EELS) と画像化を組み合わせる。元素マッピングが可能であり、細胞構造とナノ粒子を明確に区別できると考えられる。

電子断層撮影 はナノ粒子の形態、体積、表面を 3D で分析することを可能とする新興技術である。近年ナノ粒子と細胞構造の相互作用に関する研究に応用されている。同技術はナノ粒子と高分子の間の接触位置を研究するのに有用と期待されている。

下記についても検討されている。

- 光と電子顕微鏡検査を互いに関連付けるアプローチの開発 (HRTEM との生細胞顕微鏡との組み合わせなど)
- 組織および細胞におけるナノ粒子の分布の定量分析用立体解析学的手法

今次調査では、ナノ粒子の細胞内取り込みのキャラクタリゼーションと視覚化に関する手法の報告例を他にも数件確認した。

- Porter ら (2007 年) は、エネルギーフィルター透過型電子顕微鏡検査 (EFTEM) と電子エネルギー損失 (EEL) スペクトル画像化の組み合わせによる細胞内の個々の SWCNT の視覚化につき報告した[32]。従来の画像化技術では不可能であった、染色なしの良質画像コントラストをこの手法により実現できることを明らかにした。また、表面の化学活動に荷電せずにヨウ化銀を SWCNT 中に封入し、共焦点顕微鏡法検査により視覚化することで細胞内 SWCNT を画像化する手法が紹介されている。
- Rothen-Rutishauser ら (2007 年) [33]は顕微鏡検査技術を利用してナノ粒子の細胞内位置を特定した。
 - エネルギーフィルター透過型電子顕微鏡検査 (EFTEM) と電子エネルギー損失スペクトル (EELS) の組み合わせによる銀コーティングの金粒子 (25nm)、TiO₂ (20 および 30nm) ナノ粒子の存在検知と細胞内位置の特定を行った。
 - レーザー走査型顕微鏡検査と画像復元の組み合わせによる蛍光標識ポリスチレン粒子 (1 μm および 78nm) の細胞内位置の特定。粒子は Diacount ソフトウェアを使用して数え、特定の細胞表面マーカーにより標識される細胞の種類ごとに各種粒子の定量的分布を分割表分析により比較した。
- Chiellini ら (2007) はフルオレセイン標識をおこなったヒト血清アルブミンと共沈した生体内除去が可能な高分子ナノ粒子の細胞内における末路を調査するため共焦点レーザー走査顕微鏡法を使用した[34]。
- Kwon ら (2008 年) はマウスに吸入させた 50nm の蛍光磁性ナノ粒子の分布を調査するため、磁気共鳴像 (MRI) と共焦点レーザー走査型顕微鏡検査 (CLSM) を使用した[35]。蛍光像分析には臓器の固定組織のスライドとしてナノ粒子を視覚化した。MRI 画像はマウスの脳の画像を得た。
- Choi ら (2007 年) は指紋検出用粉末としてのペリレンジミド (perylene diimide) 染料の合成とその TiO₂ ナノ粒子吸収に関して報告した[36]。この染料は生存細胞の画像化に使用可能である。

組織および細胞内の粒子分布評価のための定量的顕微鏡検査法を記した興味深い報告が一件調査で確認されている。

異なる組織間および細胞内区画間のナノ粒子分布を分析する斬新な定量的手法

Muhlfeld, Mayhew, Gehr, Rothen-Rutishauser (2007 年) [37]

筆者たちは組織および細胞の区画面像内における粒子分布を評価する定量的顕微鏡検査手法を記した。この手法は組織または細胞内区画に関連する粒子数を数えることと各区画の推定寸法に基づく。各区画における粒子数がその大きさから予測されるよりも大きい (RDI>1)、同等 (RDI=1) または小さい (RDI<1) か、を示す堆積指標が計算される。また、合計 χ^2 乗値により観察された分布がランダムか否かが示され、部分カイ二乗値により区画が粒子の選択的標的であるか否かを特定するのに資する。

他にも、ナノ粒子に対する曝露後の動物組織と臓器中の金属量子ドットを定量的に検出する誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) などの手法に関する報告が複数報告されている[38][39][40]。

Isaacson ら (2007 年) は定量的液液抽出と液体クロマトグラフィー・エレクトロスプレーイオン化質量分析を組み合わせ、水中のフラレン (C60~C98) の定量とゼブラダニオの胚による C60 を取り込んだ[41]。この手法による定量化限界は $0.4 \mu\text{g/l}$ 、検出限界は $0.02 \mu\text{g/l}$ とされた。

ナノ粒子は溶液中においては凝集し、塊を形成する傾向がある。In vivo と in vitro での実験のために液体内のナノ粒子の分散が不適切でキャラクタリゼーションが乏しい場合、毒性評価の結果が間違っただけのものとなる可能性がある。今次調査では分散媒体と溶液中ナノ粒子凝集のキャラクタリゼーションのための手法を報告した例が数件確認された。

- Deguchi ら (2007 年) は C60 粒子の模擬生理的環境における分散安定性を動的光散乱 (DLS) を使用して調査した[42]。DLS は多面的粒度分布の解像では能力に限界があることが確認された。Couteau と Roebben は DLS では直径比率が 4 未満の様態同士では分離が不可能であることを解明した[43]。DLS は C60 ナノ粒子の表面上のタンパク質分子吸収を観察する際にも使用されている。
- Liu ら (2007 年) は溶液中の金ナノ粒子の粒度 (5~60nm) 決定のためのキャピラリー電気泳道法に基づいた高速・高効率な手法を報告している[44]。
- Elgrabli ら (2007 年) は毒性調査を目的としてアルブミンを含む食塩水を使用してカーボンナノチューブ (CNT) を分散させる方法を提案した[45]。

ナノ粒子上のタンパク質吸収は細胞による取り込みに影響を及ぼす。DLS または UV 紫外・可視分光法などの手法を使用してナノ粒子の表面上のタンパク質吸収を調査する報告が数件発表されている[46][42]。

1.5 Bibliography of key papers

1. Methner MM, Birch ME, Evans DE, Ku BK, Crouch K and Hoover MD, Identification and characterization of potential sources of worker exposure to carbon nanofibers during polymer composite laboratory operations, *J Occup Environ Hyg*, 4(12), D125-130, 2007.
2. Plitzko S and Gierke E, Exposure to nanomaterials in Germany - Corporate survey of the Federal Institute for Occupational Health and Safety (BAuA) and the Association of the Chemical Industry (VCI) using questionnaires, *Gefahrstoffe Reinhaltung Der Luft*, 67(10), 419-424, 2007.
3. Helland A, Scheringer M, Siegrist M, Kastenholz HG, Wiek A and Scholz RW, Risk Assessment of Engineered Nanomaterials: A Survey of Industrial Approaches, *Environmental Science & Technology*, 42(2), 640-646, 2008.
4. Schneider T and Jensen KA, Combined single-drop and rotating drum dustiness test of fine to nanosize powders using a small drum, *Annals of Occupational Hygiene* 51(1), 23-34, 2008.
5. Debrincat DP, Solnordal CB and Van Deventer JSJ, Characterisation of inter-particle forces within agglomerated metallurgical powders, *Powder Technology*, 182(3), 388-397, 2008.
6. Teleki A, Wengeler R, Wengeler L, Nirschl H and Pratsinis SE, Distinguishing between aggregates and agglomerates of flame-made TiO₂ by high-pressure dispersion, *Powder Technology*, 181(3), 292-300, 2008.
7. Kurkela JA, Brown DP, Raula J and Kauppinen EI, New apparatus for studying powder deagglomeration, *Powder Technology*, 180(1-2), 164-171, 2008.
8. Moss OR, Insights into the health effects of nanoparticles: why numbers matter, *International Journal of Nanotechnology*, 5(1), 3-14, 2008.
9. Mordas G, Manninen HE, Petaja T, Aalto PP, Hameri K and Kulmala M, On Operation of the Ultra-Fine Water-Based CPC TSI 3786 and Comparison with Other TSI Models (TSI 3776, TSI 3772, TSI 3025, TSI 3010, TSI 3007), *Aerosol Science and Technology*, 42(2), 152-158, 2008.
10. Frank BP, Saltiel S, Hogrefe O, Grygas J and Garland Lala G, Determination of mean particle size using the electrical aerosol detector and the condensation particle counter: Comparison with the scanning mobility particle sizer, *Journal of Aerosol Science*, 39(1), 19-29, 2008.
11. Wang C, Seames WS, Gadgil M, Hrdlicka J and Fix G, Comparison of Coal Ash Particle Size Distributions from Berner and Dekati Low Pressure Impactors, *Aerosol Science and Technology*, 41(12), 1049-1062, 2007.
12. Park D, Kim S, An M and Hwang J, Real-time measurement of submicron aerosol particles having a log-normal size distribution by simultaneously using unipolar diffusion charger and unipolar field charger, *Journal of Aerosol Science*, 38(12), 1240-1245, 2007.
13. Dohn S, Svendsen W, Boisen A and Hansen O, Mass and position determination of attached particles on cantilever based mass sensors, *The Review of scientific instruments*, 78(10), 103303, 2007.
14. Wake D, Assessment of different metrics of the concentration of nano (ultrafine) particles in existing and new industries Prepared by the Health and Safety Laboratory for the Health and Safety Executive 2006. RR513.
15. Cho K, Hogan C and Biswas P, Study of the mobility, surface area, and sintering behavior of agglomerates in the transition regime by tandem differential mobility analysis, *Journal of Nanoparticle Research*, 9(6), 1003-1012, 2007.
16. Kleefsman WA and van Gulijk C, Robust method to compare aerosol chargers, *Journal of Aerosol Science*, 39(1), 1-9, 2008.
17. Vivas M, Hontanon E and Schmidt-Ott A, Reducing Multiple Charging of Submicron Aerosols in a Corona Diffusion Charger, *Aerosol Science and Technology*, 42(2), 97-109, 2008.

18. Hinkley JT, Bridgman HA, Buhre BJ, Gupta RP, Nelson PF and Wall TF, Semi-quantitative characterisation of ambient ultrafine aerosols resulting from emissions of coal fired power stations, *Sci Total Environ*, 391(1), 104-113, 2008.
19. Tantra R and Cumpson P, The detection of airborne carbon nanotubes in relation to toxicology and workplace safety, *Nanotoxicology*, 1(4), 251-265, 2007.
20. Bogan MJ, Benner WH, Boutet S, Rohner U, Frank M, Barty A, Seibert MM, Maia F, Marchesini S, Bajt S, Woods B, Riot V, Hau-Riege SP, Svenda M, Marklund E, Spiller E, Hajdu J and Chapman HN, Single Particle X-ray Diffractive Imaging, *Nano Lett.*, 8(1), 310-316, 2008.
21. Koch W, Pohlmann G and Schwarz K, A reference number concentration generator for ultrafine aerosols based on Brownian coagulation, *Journal of Aerosol Science*, 39(2), 150-155, 2008.
22. Rengasamy S, Verbofsky R, King W and Shaffer R, Nanoparticle penetration through NIOSH-approved N95 filtering facepiece respirators, *Journal of International Society for Respiratory Protection*, 24, 49-59, 2007.
23. Nanosafe, Are conventional protective devices such as fibrous filter media, respirator cartridges, protective clothing and gloves also efficient for nanoaerosols?, Dissemination report - DR-325_326-200801-1-final.pdf, 2007.
24. Boskovic L, Agranovski IE and Braddock RD, Filtration of nanosized particles with different shape on oil coated fibres, *Journal of Aerosol Science*, 38(12), 1220-1229, 2007.
25. Barhate RS and Ramakrishna-Seeram, Nanofibrous filtering media: filtration problems and solutions from tiny materials Original title: Nanofaserhaltige Filtermedien: Filtrationsprobleme und Problemlösungen durch winzige Materialien, *Journal of Membrane Science*, 296(1/2), 1-8, 2007.
26. Jiang J, Chen DR and Biswas P, Synthesis of nanoparticles in a flame aerosol reactor with independent and strict control of their size, crystal phase and morphology, *Nanotechnology* 18(28), 285603, 2007.
27. Guo B and Kennedy IM, Gas-Phase Flame Synthesis and Characterization of Iron Oxide Nanoparticles for Use in a Health Effects Study, *Aerosol Science and Technology*, 41(10), 944 - 951, 2007.
28. Smart SK, Ren WC, Cheng HM, Lu GQ and Martin DJ, Shortened double-walled carbon nanotubes by high-energy ball milling, *International Journal of Nanotechnology* 4(5), 618-633, 2007.
29. Jiang J, Oberdrster G, Elder A, Gelein R, Mercer P and Biswas P, Does nanoparticle activity depend upon size and crystal phase?, *Nanotoxicology*, 2(1), 33-42, 2008.
30. Ziegler Kirk J, Rauwald U, Gu Z, Liang F, Billups WE, Hauge Robert H and Smalley Richard E, Statistically accurate length measurements of single-walled carbon nanotubes, *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 7(8), 2917-2921, 2007.
31. Muhlfield C, Rothen-Rutishauser B, Vanhecke D, Blank F, Gehr P and Ochs M, Visualization and quantitative analysis of nanoparticles in the respiratory tract by transmission electron microscopy, *Part Fibre Toxicol*, 4, 11, 2007.
32. Porter AE, Gass M, Muller K, Skepper JN, Midgley PA and Welland M, Direct imaging of single-walled carbon nanotubes in cells, *Nat Nano*, 2(11), 713-717, 2007.
33. Rothen-Rutishauser B, Muhlfield C, Blank F, Musso C and Gehr P, Translocation of particles and inflammatory responses after exposure to fine particles and nanoparticles in an epithelial airway model, *Particle and Fibre Toxicology* 4(9), 1-9, 2007.
34. Chiellini F, Dinucci D, Bartoli C, Piras AM and Chiellini E, Intracellular fate investigation of bio-eliminable polymeric nanoparticles by confocal laser scanning microscopy, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 22(6), 667-685, 2007.
35. Jung-Taek Kwon, Soon-Kyung Hwang, Hua Jin, Dae-Seong Kim, Arash Minai-Tehrani, Hee-Jeong Yoon, Mansoo Choi, Tae-Jong Yoon, Duk-Young Han, Young-Woon Kang, Byung-Il Yoon, Jin-Kyu Lee and Cho M-H, Body Distribution of Inhaled Fluorescent Magnetic Nanoparticles in the Mice, *Journal of Occupational Health*, 50(1), 1-6, 2008.

36. Choi MJ, Smoother T, Martin AA, McDonagh AM, Maynard PJ, Lennard C and Roux C, Fluorescent TiO₂ powders prepared using a new perylene diimide dye: Applications in latent fingerprint detection, *Forensic Science International* 173, 154-160, 2007.
37. Muhlfield C, Mayhew TM, Gehr P and Rothen Rutishauser B, A novel quantitative method for analyzing the distributions of nanoparticles between different tissue and intracellular compartments, *Journal of Aerosol Medicine: Deposition, Clearance, and Effects in the Lung* 20(4), 395-407, 2007.
38. Yang RSH, W. C-L, P. W-J, H. T-M, J. W-H, C. K-Y, K. Y-T, S. Y-C and P. L-P, Persistent tissue kinetics and redistribution of nanoparticles, quantum dot 705, in mice: ICP-MS quantitative assessment, *Environmental Health Perspectives*, 115(9), 1339-1343, 2007.
39. Chu M, Wu Q, Wang J, Hou S, Miao Y, Peng J and Sun Y, In vitro and in vivo transdermal delivery capacity of quantum dots through mouse skin, *Nanotechnology*, 18(45), 455103, 2007.
40. Fischer HC, Fournier Bidoz S, Pang KS and Chan WCW, Quantitative detection of engineered nanoparticles in tissues and organs: An investigation of efficacy and linear dynamic ranges using ICP-AES, *Nanobiotechnology* 3(1), 46-54, 2007.
41. Isaacson CW, Usenko CY, Tanguay RL and Field JA, Quantification of fullerenes by LC/ESI-MS and its application to in vivo toxicity assays, *Anal Chem*, 79(23), 9091-9097, 2007.
42. Deguchi S, Yamazaki T, Mukai SA, Usami R and Horikoshi K, Stabilization of C(60) nanoparticles by protein adsorption and its implications for toxicity studies, *Chemical Research in Toxicology*, 20(6), 854-858, 2007.
43. Couteau O and Roebben G, Comparison of dynamic light scattering and centrifugal sedimentation for nanoparticle sizing, *EuroNanoForum 2007 Nanotechnology in Industrial Applications. European and International Forum on Nanotechnology. Proceedings.*, 67-68, 2007.
44. Liu FK, A high-efficiency capillary electrophoresis-based method for characterizing the sizes of Au nanoparticles, *Journal of Chromatography A*, 1167(2), 231-235, 2007.
45. Elgrabli D, Abella-Gallart S, Aguerre-Chariol O, Robidel F, Rogerieux F, Boczkowski J and Lacroix G, Effect of BSA on carbon nanotube dispersion for in vivo and in vitro studies, *Nanotoxicology*, 1(4), 266-278, 2007.
46. Patil S, Sandberg A, Heckert E, Self W and Seal S, Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential, *Biomaterials*, 28(31), 4600-4607, 2007.

2. 健康への影響

2007年11月～2008年2月の4ヶ月間に実施した健康への影響に関する調査で得られた文献では、テーマ別の分布パターンが過去の公報におけるものと近似していた。一次文献の多くは工学的ナノ粒子の *in vitro* 系での影響（合計の28%）（図2）について記し、ナノ粒子の *in vitro* で培養したヒト細胞に対する影響（13%）と動物細胞に対する影響（14%）につき言及したものがほぼ同数であった。工学的ナノ粒子の対動物影響を記した文献の割合（9%）は前回の公報よりも低かった。健康への影響に関する今次調査では概論が多かった（57%）。

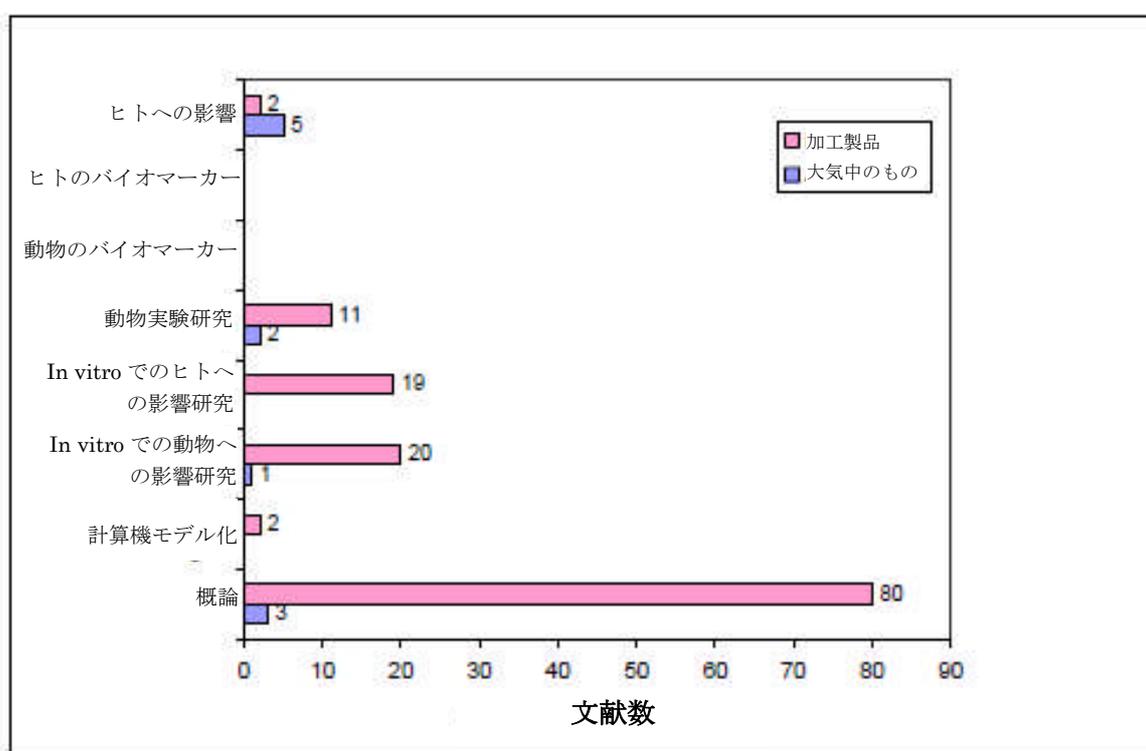


図2：2007年11月から2008年2月までの4ヶ月間に大気中および加工済みナノ粒子の人間の健康に対する影響に関して検索された文献数のテーマ別内訳

2.1 ヒトへの影響の研究と疫学

調査では、工学的ナノ粒子。大気中ナノ粒子のヒトの健康に対する潜在的影響に関する研究をそれぞれ2件、5件確認した。工学的ナノ粒子の影響を分析した2件のうち、最初の1件は本稿においては関連性の低いカーボンブラック、酸化チタン、タルクの吸入粒子による発ガン有害性に関するIARCによる結論を要約する。これらの化学物質の粒度はナノス

ケールに制限されないものの、IARC による検討は既出の NanoAlert 公報において疫学および動物実験研究の双方につきカーボンブラックと酸化チタンの潜在的発ガン性を検討しているため、いずれにしても本稿に関連している。

アスベストやアスベスト繊維を含まない吸入カーボン・ブラック、酸化チタン、タルクによる発ガン有害性：IARC モノグラフ作業グループによる最近の評価

Baan (2007 年) [1]

IARC は酸化チタンおよびカーボン・ブラック（ここでは検討しないが、タルク）への曝露による人体に対する発ガン有害性データを再評価し、その結論は IARC モノグラフ・シリーズの第 93 巻で発表される予定である。両化学物質に対する疫学研究では発ガン性について十分な証拠が得られていないが、齧歯類における実験で十分な証拠が存在する。このため、**IARC 作業グループはカーボン・ブラックと酸化チタンは人体に発ガン性を有する可能性のある第 2B 類として結論付けた。**興味深いことに、吸入粒子肺クリアランス障害はその蓄積に繋がり、実験動物と粉塵の多い職場における人体の両者に対して炎症、細胞傷害、繊維症、また/あるいはガンを発生させる可能性があり、前者は人体についても該当すると作業グループは指摘している。

工学的ナノ粒子のヒトの健康に対する潜在的影響に関する 2 件目の報告では、作業者のカーボンナノファイバー曝露源として可能性のあるものを検討し、NanoAlert 本稿の曝露部門において検討している[2]。

大気中の粒子に関する 5 件の人体影響研究は本稿とは関連性が低いため、簡潔な要約のみを記す。2 件の研究において、志願者に対して大気中ナノ粒子に対する曝露の影響を調査し、どちらも大気中の超微細粒子を吸入することが健康へ悪影響を及ぼすとの提案に一致する結果となった。Frampton (2007 年) は超微細粒子（直径 < 50nm）が効率的に気管内に堆積し、この堆積が運動や喘息の存在により拡大することを実証した。血中白血球および肺内ガス分散における変化は肺血管機能への影響を最も明快に示す[3]。Rundell らは喘息を持たない男性による運動中の大量超微細粒子吸入により肺機能低下と呼気凝縮液の変化（具体的には、硝酸塩の 43% 減少）を示した[4]。更に、Samet ら (2007 年) は高濃度の大气中粒子状物質に曝露された健康な志願者の気管支肺胞洗浄液と血液における心血管系エンドポイントおよび複数マーカーについて分析した。心血管系、肺および血液のパラメータに比較的緩やかな粒度依存性の影響を報告している[5]。心血管系、呼吸器系、肺ガンによる死亡率に対する相対的リスクは一般的に小さいものの、交通に関連する大気汚染（特に粒子状物質に限定しない）は単独で死亡率に相関付けられている[6]。同様に、Schwartz らは都市部の大気中浮遊粒子と生存率の用量反応関係の分析から、米国の環境保

護庁（EPA）による現基準未滿に粒子濃度を削減することで平均余命が延びると考えられると結論付けている[7]。

2.2 in vivo 動物研究

実験動物に対するナノ粒子の影響に関する研究が調査によって13件確認された。この内、6件がカーボンナノチューブ（CNT）による潜在的影響を検討している。これらの報告は増加しているCNTの潜在的な健康影響に関する文献に基づくものであり、これらを要約すると、新たな構造体を吸入様の曝露経路により投与すると肺の炎症、繊維症、肉芽腫形成に至ることが示唆されている。

吸入とは異なり、ナノ粒子を動物への点滴注入で得られた実験データの解釈と相関性については研究分野において議論的となっており、ここで注目する最初の報告ではこの投与経路2種類について予備的な比較をおこなっている。

多層カーボン・ナノチューブの気道内注入と吸入によりマウスの肺で誘発された病変に関する比較研究

Liら（2007年）[8]

多層カーボン・ナノチューブ（MWCNT）0.05mgをマウスに注入すると肺胞の炎症と損傷を伴うCNTの凝集塊が気管支と肺胞に蓄積した。これに対し、MWCNTのエアロゾル（32.6mg/m³、8、16、24日間で堆積用量が0.07、0.14、0.21mg）をマウスに吸入させると気管支よりも肺胞において多くのCNT凝集体が確認された。肺胞壁の増殖と厚さが増加したが、注入後に確認されたものよりも損傷の程度は低かった。

肺病変の違いは、CNT凝集体の大きさの違いと、注入または吸入の結果気道においてそれらがどのように堆積するかによるものと思われることが示唆された。

動物実験とin vitro実験の双方におけるナノ粒子分散の方法は様々であり、分散を促進するために界面活性剤（Tweenなど）、溶媒（テトラヒドロフランなど）またはタンパク質（血清など）を添加された細胞培地やリン酸緩衝生理食塩水（PBS）などの各種媒介物が現在使用されている。しかし、ナノ粒子のタンパク質吸収の問題は現在調査中であり、関連文献をNanoAlert前号で概説したが、実験結果に対する異なる媒体による影響を系統的に評価する例はほとんどない。現在のところ、この重要問題に取り組んでいるのは2件の報告のみであり、カーボンナノ粒子に関する実験結果に大きな影響を与える可能性がある。

各種加工カーボンナノ粒子の分散媒体の比較

Buford ら (2007年) [9]

各種の市販入手源から得られた様々なカーボンナノ粒子 (フラーレン、単層 (SW)、多層 (MW) CNT) を7種類の媒介物によって分散させた (5mg/ml)。

- ▶ 細胞培地+10%ウシ胎仔血清 (FCS)
- ▶ 100%FCS (±脱脂)
- ▶ リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)
- ▶ PBS+7.5%ウシ血清アルブミン (BSA)
- ▶ PBS+1%Tween 80
- ▶ 100%DMSO

分散度は光学顕微鏡検査 (400×) により評価した。それぞれの媒介物における粒子の中間粒度面積はほぼ一貫していたが、最大凝集体の面積は粒子の種類と発生源、媒介物によって大きく変動した。すべての粒子において最も分散が悪かった媒介物は PBS のみ、PBS+1%Tween 80 および 100%DMSO であった。2種類の分散剤 (PBS 対 100%FCS) についてマウスへの注入後の影響について 24h および 7日後に肺の組織学的検査により比較した。SWCNT は FCS を使用するとより良く分散され、この媒介物が *in vitro* 実験において最も効果の高いものの一つであるとされた観察結果と一致した。FCS により分散した分子は 7日後も肺組織に残っており、この時点で持続的炎症の徴候が見られた。

筆者たちは完全分散は現実的ではないと結論付けている。SWCNT および MWCNT はフラーレンよりも凝集傾向があるものの、分散に最も効果的な媒介物はタンパク質および/または脂質を含む。

In vivo および In vitro 研究のためのカーボン・ナノチューブ分散に関する BSA の影響

Elgrabli ら (2007年) [10]

2件目の報告は異なる市販入手源から得られた SWCNT と MWCNT の生理食塩水±BSA、FCS または Tween 80 における音波処理による分散を比較している。光学顕微鏡検査にて評価したところ、BSA を含む媒体において浮遊物がより均質で凝集体が小さく、分散が最も良かった。

生理食塩水±BSA に懸濁した CNT の細胞毒性を *in vitro* で (呼吸上皮細胞 A549 または骨髄性細胞 U937 を使用して) 分析すると、結果は BSA 存在下では再現性が良く (標準偏差が小さく) なった。これは懸濁物の均質性が良好なためであり、BSA の存在自体は全体的な細胞毒性に影響しなかったことが示唆された。

ラットに生理食塩水±BSAに懸濁したMWCNTを気道注入したところ、24時間後の細胞の種類と気管支肺胞洗浄(BAL)液内のタンパク質量は2種類の媒介物の間で差異を生じなかったが、BSAを含むことによりCNTにより誘発されたBAL液中の細胞数とCNTを含む細胞の割合も増え、CNTの分散が良くなると細胞の食作用が推進されることが示唆された。CNTの製品の違いによる肺構造の著しい変化は見られなかった。

両研究の筆者たちは媒介物の種類により実験結果が著しく影響されると結論付けている。酸機能化(カーボンの基幹をカルボン酸とスルホン酸基で誘導体化すること)でもSWCNTの分散を向上させることができ、Saxenaら(2007年)は通常型および酸機能化したSWCNTのin vivoとin vitroでの生物学的影響を比較している。

In vitro および in vivo における多分散酸機能化単層カーボン・ナノチューブの増幅された毒性 Saxenaら(2007年)[11]

LA4肺上皮細胞において、酸機能化SWCNT(AF-SWCNT、0~50 μ g/ml)はSWCNT(または対照群)に比較して有意に高い細胞毒性を引き起こし、4日後の生存細胞数はSWCNTの35%に比較して85%の減少を示した。これは細胞増殖の低下または細胞死の増加により説明可能と思われる。細胞周期分析ではどちらのCNTもほぼ同数のアポトーシスを誘発したが、AF-SWCNTはSWCNTよりも細胞増殖の抑制が強かった。AF-SWCNTにポリエリジンにより負の電荷を中和する(および再集合を促進する)前処理をおこなうと、2種類のCNTの差異は減少した。

咽頭呼吸によりマウスに投与するとAF-SWCNTの方が18時間後のBAL細胞数、タンパク質濃度、サイトカイン濃度から見た炎症反応が強かったが、72時間後には2種類のCNT間の差異は低下した。

In vitro 実験結果に対する異なる媒介物の影響を検討した文献は他に3件存在する。Deguchiら(2007年)はヒト血清アルブミン(HSA)を使用してC60フラーレンの安定化を調査し、PBSにおいてフラーレンは急速に凝固・沈殿するが、>1mg/mlのHSAによってこれを防げることを発見した[12]。動的光散乱によりHSAはナノ粒子周辺に保護層を形成し、食塩誘発性の凝固を防ぐことが示された。C60フラーレンへの反応によるin vitroでの活性酸素種(ROS)の発生、ミトコンドリアの消極と細胞壊死はテトラヒドロフラン>エタノール>水の順で懸濁媒体によって格付けできる[13]。同様に、無細胞系で14nmのカーボンブラック粒子を生理食塩水や1%BSAよりも0.025%のジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)に懸濁した場合、活性種の形成が増加したが、細胞内ではナノ粒子

をBSAおよび／またはDPPCを含む媒体に懸濁する場合、ROS生成が高くなった[14]。

最近確認された2件の報告では、マウスでの注射後のCNT分布を調査している。Wangら(2008年)は131ヨウ素標識水酸化SWCNTをマウスに注射し、その後1時間に渡る分布を分析した[15]。放射能は2分以内に全身(脳を除く)で検知され、最高濃度が確認されたのは肝臓、腎臓、胃と肺であった。2件目の報告では放射性標識をおこないグルコサミンにより修飾したMWCNTをマウスに注射し、その結果分布でもCNTが全身を容易に移動することが示唆された[16]。

他にも、5件の報告でCNT以外の工学的ナノ粒子の実験動物における影響を調査している。その内、2件は大気中の超微細粒子のin vivoでの影響を調査し、第一の報告では人工超微細非晶質シリカによるin vivoでの影響を検討している。

超微細非晶質シリカ粒子の気道内注入により誘発される炎症性メディエータ

Choら(2007年)[17]

結晶質シリカの肺毒性は研究されているが、非晶質シリカ、特に超微細非晶質シリカ(UFAS)の毒性に関する情報は少ない。本研究では一次粒度14nmでPBSに再懸濁したUFASを0、2、10、50mg/kgをマウスに気道内注入により投与した。24時間および1週間後、50mg/kg処理群の絶対的および相対的肺重量が有意に増加を示した。UFASの全投与量でBALにおいて24時間および1週間後に細胞数(特にマクロファージと好中球)が増加した。組織病理学的分析により重症度の用量依存性で好中球浸潤および肺胞壁の厚み増加により特徴付けられる24時間後の急性炎症が明らかとなった。1および4週間後にはマクロファージ浸潤と第II種細胞過形成、また一部繊維症を伴う慢性炎症が確認された。14週目には肺傷害の点数は対照群と同レベルに戻った。一定数のサイトカインまたはケモカインに対するメッセンジャーRNAおよびタンパク質の濃度はUFASへの反応として24時間および1週間後に上昇した(IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF α 、MCP-1、MIP-2)。

筆者たちは、UFAS注入が炎症誘発性サイトカインおよびケモカインの上流制御を伴う一過性ながら重度の肺炎を誘発すると結論付けている。超微細粒子への炎症反応の一過性の性質は粒子が沈殿場所から移動することによると示唆しているが、この最終結果と影響については最終調査を実施する必要がある。

2件の報告がナノ粒子をマウスに経口投与した影響を調査している。ChaとMyung(2007年)はマウスにおける亜鉛(300nm)、鉄(100nm)、珪素(10~20、40~50、90~110nm)のミクロン規模の粒子またはナノ粒子の経口投与後に非特異的出血、リンパ球浸潤および

脊髄鬱血を報告しており、粒度による毒性に違いがないことを示した[18]。In vitro で培養した細胞において、粒子への反応としてミトコンドリア活動と DNA 中身の低下、グルタチオン生成増加が確認されている。Meng ら (2007 年) はマウスにナノ規模、ミクロン規模の銅 (23.5nm 対 17 μ m) または銅イオンを経口投与した場合の影響を比較した[19]。ナノ銅により 24 時間後に胃の膨張が、また、24、72 時間後に腎臓において銅の蓄積が誘発された。銅イオンも同様に 24 時間後に腎臓で蓄積したが、72 時間後には腎臓濃度は対照群レベルにまで減少した。生化学的分析により、ナノ銅と銅イオンに反応して血清中および尿中銅濃度にも同様の変化が確認された。Hoshino ら (2007 年) は量子ドット (QD) の in vivo と in vitro の両方における毒性を調査し、QD の生物に対する影響は中心構成要素ではなくキャッピング材料によると示唆している[20]。最後の報告書は、インライン環状炉をエアロゾル発生器から送り出されるミクロン規模の粒子をフラッシュ蒸発に使用することで、経鼻投与用に質量濃度 2 μ g/L までのナノ粒子 (直径中央値 40~60nm) を継続的に発生させる新型動的システムを概説している[21]。

大気中の極微細粒子の動物に対する影響を調査した報告は 2 件ある。簡潔に説明すると、Nemmar と Inuwa (2008 年) は極微細ディーゼル排気粒子をラットに静脈内投与することにより肺および全身性変化の両方を報告しており[22]、Inoue ら (2007 年) はカーボンナノ粒子に対する肺の曝露が、特に抗原が存在する場合に肺の過敏反応性を増副させる可能性のあることを実証した[23]。

2.3 in vitro 研究

ナノ粒子の in vitro 培養細胞システムにおける潜在的影響を報告する文献は 40 件あり、この内 3 件は既にナノ粒子分散手法に関して既に検討した (セクション 2.2)。カーボン・ナノチューブについて 8 件、動物細胞における実験の検証について 3 件、ヒトの細胞における文献が 5 件で、in vitro での CNT のヒトの細胞への取り込みを研究したものが 4 件であった。

前回の研究 (2007 年 7 月付公報第 3 号に記載) に基づき、Porter ら (2007 年) は前述のセクション 1.4 に記したとおり、ヒトの細胞における CNT の画像化に透過電子および共焦点顕微鏡法を使用した結果を報告している[24]。CNT が細胞の細胞質と核の両方に侵入し、用量依存性の細胞死を招くことが指摘されている。CNT のヒトヒラ細胞への取り込みを検討した報告が 2 件ある。Yehia ら (2007 年) は (1) 血清を加えた細胞培養液での CNT の各種手法 (原子間力顕微鏡検査、吸収、ラマン吸光法など) を使用した分散、(2) 共焦点顕微鏡法およびマイクロラマン吸光法により時間と温度依存性の取り込みを実証した[25]。透過電子顕微鏡検査により CNT は細胞内の液胞に存在することが示されたが、細

胞形態、成長率、ミトコンドリア内の超酸化物濃度について対照群と差異が無く、CNTはヒーラ細胞内で細胞毒性を有さないことが示唆された。「nano-1」と名付けられた両親媒性の螺旋形ペプチドにより SWCNT をコーティングすることで、細胞の成長や死に影響を及ぼすことなく CNT の細胞への取り込みが高められたことを示した Chin ら (2007 年) によっても同様の結果が得られている[26]。また、CNT が他の作用物を細胞内へ送り込む役割についても研究されている。CNT を利用する「ナノスピアリング (nanospearing)」手法は生体外で B リンパ球に対し細胞活性化や死を引き起こさず、また一次的細胞情報伝達も変化させないことが判明している[27]。

過去の NanoAlert 公報において、酸化チタン、シリカ、カーボン (フラーレン) のナノ粒子が遺伝毒性を誘発する可能性が検討されてきた (また、これらの研究の内 1 件に関連する書簡と新データが発表された[28])。最近の健康影響調査ではナノ粒子の遺伝毒性や CNT と DNA の相互作用を研究した報告が 6 件確認された。エイムズ微生物復帰突然変異試験法では水溶性の水酸化テトラメチルアンモニウムでキャッピングした FePt ナノ粒子はネズミチフス菌の 1 系統 (TA100、代謝活性なし) に対して弱い陽性を示したが、他の試験 (ネズミチフス菌系統 TA98、1535、1537、大腸菌 WP2uvrA/pKM101) ではすべて陰性であった[29]。異なる酸化チタンナノ粒子の光染色体異常誘発能がチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞において紫外線不在下または存在下で試験された[30]。5mg/ml までの濃度 (細胞毒性が確認されなければ)、または 50%細胞毒性が誘発された濃度までにおいて、TiO₂ ナノ粒子のいずれも染色体異常を誘発しなかった。同様に、Jin ら (2007 年) は *in vitro* においてシリカナノ粒子による細胞毒性または遺伝毒性を確認しなかった旨報告している[31]。これらの報告は以前に TiO₂ および SiO₂ ナノ粒子によるヒトのリンパ芽球状細胞に対する遺伝毒性を示した Wang らにより報告されたもの (2007 年 5 月付第 2 号、2007 年 8 月付第 3 号で報告) に対比する。遺伝毒性は他の研究グループからも報告されている。異なる粒度のコバルトフェライトナノ粒子 (6nm 対 10 または 120 μm) に対しヒトの末梢リンパ球において 5~100 μM の用量範囲で小核試験による評価がおこなわれた[32]。ミクロン規模の粒子 (5 μM 対 50 μM) に比較してナノ粒子ではより低い用量 (質量による) で遺伝毒性 (小核数の増加および細胞質分裂の低下により阻害された増殖指数) と細胞毒性の両方が観察された。Zhu ら (2007 年) はマウスの胚幹細胞において MWCNT がアポトーシスを引き起こし、DNA 突電変異頻度と DNA 修復に関連するタンパク質数種類の発現が増加したことを示している[33]。Peng ら (2007 年) は SWCNT がヒト DNA の S1 ヌクレアーゼ切断を加速させる可能性を示している[34]。

ナノマテリアルの組織工学への応用可能性に関する発表論文は多い。これらの報告における議論は、ナノ粒子の健康への潜在的影響に関して有用な見識が得られるものを除き、本稿の範囲を超えるものである。最近の調査では CNT に関する 2 件の対比する報告が確認

された。1件目は触媒金属を微量に含むMWCNTによる皮膚繊維芽細胞、シュワン細胞およびニューロンを含む各種細胞の長期的成長と移動を裏付けたことを報告している[35]。他方、2件目の報告では単層、二層、多層CNTが細胞への取り込みの有無に拘らず初期骨芽細胞の生存能力を低下させ、骨芽細胞および含脂肪細胞の分化を阻害したとしている[36]。

多くの研究者グループが、ヒト上皮細胞株であるヒーラ細胞を潜在的ナノ毒性の研究におけるモデルシステムとして使用することを選択している。Adiliら(2008年)はシリカナノ粒子の細胞毒性と遺伝毒性に関する研究を拡張して、シリカナノワイヤーの毒性を研究している[37]。ヒト上皮細胞株であるヒーラ細胞とHEp-2の両方を使用し、低い濃度では細胞毒性は無かったものの双方の細胞株において190 μ g/ml以上の濃度で有意に細胞死が誘発されたことが報告された。細胞死は主にアポトーシスではなく壊死であった。他にも3つの研究班がナノ粒子(超常磁性酸化鉄、金またはポリ(n-ブチルシアノアクリレート)ナノ粒子)の細胞への取り込みを共焦点レーザー走査顕微鏡検査や誘導結合プラズマ発光分析法によって検証するためヒーラ細胞を使用している[38-40]。

NanoAlertの過去の公報に取り上げられた研究では表面積の方が適切であると示唆されたにも拘らず、ナノ粒子のヒトの健康への潜在的影響に関するin vivoまたはin vitro実験の多くが質量を用量記述子として使用している。最近の調査で確認された1研究例では粒度の異なる粒子(酸化チタン、カーボンブラックなど)による肺上皮細胞株A549における炎症誘発性影響を検討し、表面積が用量測定基準として最良であることを示す更なる証拠を提供している[41]。この細胞株は酸化セリウムナノ粒子のゼータ電位によるタンパク質吸収と細胞への取り込みへの影響を調査するためにも使用されている。Patilら(2007年)は正のゼータ電位によりBSA吸収が高められ、負の電位を有する粒子は細胞内に選択的に取り込まれたことを報告している[42]。金ナノ粒子は用量依存性のアポトーシスによる細胞死をA549細胞に引き起こす可能性があるが、BHK21(仔ハムスター腎臓)あるいはHepG2(ヒト肝細胞)など他の細胞株には影響しない[43]。光励起後にセリウムを含む酸化チタンナノ粒子を使用することでヒト肝臓ガン細胞株Bel 7402のアポトーシスが誘発される[44]。

蛍光QDの細胞への取り込みと細胞内での移動は顕微鏡検査により瞬時に追跡することが可能である。眼の水晶体囊および皮質へのQDの取り込みが研究されており、ナノ粒子が無傷の水晶体囊を通過しなかったことが報告されている[45]。Nabievら(2007年)はヒトの血液に由来するマクロファージにおいて非機能化QDが活性細胞輸送システムを使用して核を含む特定の細胞内位置を標的にすることを報告した[46]。Ruanら(2007年)によっても同様の報告があり、Tatペプチド共役QDが負に荷電した原形質膜に結合し、マクロピノサイトーシスにより吸収されることを示している。QDはその後分子モーターにより能動的に細胞内を微小管形成中心(MTOC)へ輸送される小胞に閉じこめられる[47]。DNA

に結合した QD の取り込みも実証されている[48]。

ナノ粒子によるヒトの健康に対する潜在的影響を分析するために *in vitro* システムを使用した報告のうち、本稿でまだ取り挙げていない報告が他に 15 件調査で確認されている。

Yacobi ら (2007 年) はナノ粒子の一部 (具体的には超微細大気中粒子、正に荷電した QD、SWCNT) が細胞先端面に添加されるとラットの初期肺胞上皮細胞の単分子層通過効力を低下させるが、ポリスチレンナノ粒子や負に荷電した QD はその効果がないことを実証した [49]。Bakashi ら (2008 年) は金のナノ粒子が肺界面活性物質リン脂質と相互作用を有し、それらを隔離する可能性があり、そのため界面活性物質の機能に影響を与える可能性を示すデータを呈示している [50]。

Degussa P25 TiO₂ の影響が齧歯類脳培養において調査されている。マウス小グリア細胞 (BV2) において TiO₂ は炎症性でアポトーシスに至る細胞周期経路を上方制御し、エネルギー代謝を下方制御することで急速かつ長期間の ROS 放出を誘発した [51]。P25 は精製神経培養においては ATP およびカスパーゼ活性の上昇にも拘らず細胞毒性を示さなかったが、ラット線条体から得られた各種細胞種の初期共培養においては神経細胞アポトーシスが観察された。これらの結果は P25 が小グリア細胞による ROS の生産を介してニューロンに損傷を与える可能性があることを示唆する。

Xiong ら (2007 年) は銀ナノ粒子と微粒子のマウス脂肪細胞株 L929 における毒性の違いを指摘している [52]。ナノ粒子が 50 μ g/ml 以上の濃度で細胞毒性を示したのに対し、微粒子の場合は $\geq 250 \mu$ g/ml でようやく有意な毒性が確認された。

その他の報告は手法に焦点を置くもので、本稿冒頭のセクション (1.4) において既に一部言及している。Jiang ら (2008 年) は TiO₂ ナノ粒子の物理化学的特性と ROS 誘発能力の相関性を研究した [53]。決まった合計表面積に対して、表面積単位当たりの ROS 生成が粒度によって S 型カーブに沿って変動し、10~30nm の間は上昇、その後 30nm の粒子に反応して発生する ROS 生成が最高値となる平坦域へ達することが明らかにされた。結晶相の ROS 生成への影響階層は非晶質 > アナターゼ > アナターゼ/ルチル混合物 > ルチルであった。

溶液中および生物組織中のナノ粒子の定量化法についてもセクション 1.4 (例えば [54-56]) において既に検討している。ナノ粒子の健康に対する影響の調査に関連するものとしては、Isacson ら (2007 年) による、C60 フラーレンが試験用バイアルに付着し、6 時間で 50% もの濃度減少に至ったことを報告する研究がある [54]。

酸化金属ナノ粒子で処理したヒト H4 神経膠腫細胞の生存能力が細胞の核を明るい、暗いまたは背景区分に分類する高含量画像分析により定量化されている[57]。この分野における最後の報告 3 件は、生物サンプル中の金ナノ粒子を定量的走査型透過電子顕微鏡検査などにより視覚化することに焦点を置いている[58-60]。

2.4 計算機モデル化

粒子の気道における堆積の数学的モデルに注目した報告が 2 件検索された。最初の 1 件では液体-粒子計算モデルを使用して各種の気道閉塞の影響を調査している[61]。閉塞、狭搾または側壁腫瘍により堆積パターンが大きく影響された。側壁および中央に腫瘍がある場合はより大きな粒子の堆積が増大したが、側壁腫瘍のみの場合はナノ粒子の堆積が減少した。気道の狭搾における堆積は健康な場合よりも高くなった。

Wang と Friedlander (2007 年) は微分型電気移動度測定装置 (DMA) から得られたナノ粒子粒度分布データを利用して気道における堆積を計算する方法を提案している[62]。

2.5 論評

調査により多数の論評 (83 件) が確認され、件数は過去の公報で取り上げたより増加している。この点は本稿では簡潔に要約するにとどめる。同分野が広い範囲で急増していることを考慮すると、ナノテクノロジー文献の技術的構造は調査済み[63]で、データ共有・連結のための機構であるナノ粒子情報ライブラリーも説明されている[64]。

QD[65,66]と水処理[67]に特化したナノ粒子の利用に関する論評は 3 件ある。ナノテクノロジー全般とその影響を検討した論評は 15 件ある[68-83]。

ナノ粒子の潜在的な健康への影響は 8 件の論評において主題となっており[84-91]、会議報告が 3 件ある[92-94]。皮膚用製品におけるナノ粒子の使用に関連する問題は Draelos (2007 年) [95]により論じられている。生物系におけるナノ粒子の潜在的な作用機序については Zabirnyk ら (2007 年) がナノ粒子の細胞への取り込みにおける自食作用を再検討し[96]、酸化ストレスによる重要な役割が 4 件の論評で検討されている[97-100]。更に、ナノ毒物学の専門家によるワークショップにおいて *in vitro* で細胞を利用する方法は酸化ストレスによる毒性をスクリーニングする上で重要な役割を果たすと結論付けている[101]。Muhlfield ら (2008 年) は燃焼で発生したナノ粒子と工学的ナノ粒子の研究における方法的相違に注目した[102]。

ナノ粒子の有害性評価に関する専門家ワークショップの結論の一つとして、妥当性検査と試験のベンチマーキングのために粒子の基準セットが必要である[103]。米国標準技術局(NIST)は最近、初のナノ粒子基準としてコロイド懸濁液中のクエン酸により安定化したナノ規模の金粒子を発表した。これは生物医学的研究を対象として、広範にわたり特徴付けられている[104]。

ナノマテリアルの有害性とリスク評価のアプローチも再評価されており[105-107]、Moore はナノ医学とそのリスクに注目している[108,109]。ナノテクノロジー研究において環境衛生と安全性に関する諸決定に対するガイドラインの原則が発表されている[110]。それぞれの科学者が新興ナノテクノロジーの開発あるいは健康への影響についての評価に関わっているか否かで、そのリスクの枠組みがどう異なるかを検証した興味深い報告があり[111]、また、他にナノマテリアルにより呈される潜在的リスクに関して科学者と世間一般の認識を比較する論評が2件ある[112,113]。

規制的アプローチは、7件の論評で主題として取り上げられている[114-119]。Roco (2008年) はナノテクノロジーのような新興技術の管理には国際的取組みが必要であると提案している[120]。

ナノテクノロジーに関連する問題を世間一般と議論するアプローチを6件の論評が考慮しており[121-126]、Wilkinson ら (2007年) はナノテクノロジーが英国のメディアからどのように描写されてきたかを取り上げた[127]。Mordini (2007年) は個人および社会がどのように新興テクノロジーに対応するかについて検討している[128]。また、10件の論評でナノテクノロジーの社会的、倫理的影響を検討している[129-138]。

ナノテクノロジー関連の案件のための助成プログラムに関する報告が3件あった[139-141]。

2.6 Bibliography

Human studies:

1. Baan RA, Carcinogenic hazards from inhaled carbon black, titanium dioxide, and talc not containing asbestos or asbestiform fibers: recent evaluations by an IARC Monographs Working Group, *Inhal Toxicol*, 19 Suppl 1, 213-228, 2007.
2. Methner MM, Birch ME, Evans DE, Ku B-K, Crouch K and Hoover MD, Identification and characterization of potential sources of worker exposure to carbon nanofibers during polymer composite laboratory operations, *J Occup Environ Hyg*, 4(12), D125-130, 2007.
3. Frampton MW, Does inhalation of ultrafine particles cause pulmonary vascular effects in humans?, *Inhalation Toxicology*, 19(SUPPL. 1), 75-79, 2007.
4. Rundell KW, Slee JB, Caviston R and Hollenbach AM, Decreased lung function after inhalation of ultrafine and fine particulate matter during exercise is related to decreased total nitrate in exhaled breath condensate, *Inhalation Toxicology*, 20(1), 1-9, 2008.
5. Samet JM, Graff D, Berntsen J, Ghio AJ, Huang YCT and Devlin RB, A comparison of studies on the effects of controlled exposure to fine, coarse and ultrafine ambient particulate matter from a single location, *Inhalation Toxicology*, 19(SUPPL. 1), 29-32, 2007.
6. Beelen R, Hoek G, van den Brandt PA, Goldbohm RA, Fischer P, Schouten LJ, Jerrett M, Hughes E, Armstrong B and Brunekreef B, Long-term effects of traffic-related air pollution on mortality in a Dutch cohort (NLCS-AIR study), *Environ Health Perspect*, 116(2), 196-202, 2008.
7. Schwartz J, Coull B, Laden F and Ryan L, The effect of dose and timing of dose on the association between airborne particles and survival, *Environ Health Perspect*, 116(1), 64-69, 2008.

Animal studies:

8. Li J-G, Li W-X, Xu J-Y, Cai X-Q, Liu R-L, Li Y-J, Zhao Q-F and Li Q-N, Comparative study of pathological lesions induced by multiwalled carbon nanotubes in lungs of mice by intratracheal instillation and inhalation, *Environ Toxicol*, 22(4), 415-421, 2007.
9. Buford MC, Hamilton JRF and Holian A, A comparison of dispersing media for various engineered carbon nanoparticles, *Particle and Fibre Toxicology*, 4, 6, 2007.
10. Elgrabli D, Abella-Gallart S, Aguerre-Chariol O, Robidel F, Rogerieux F, Boczkowski J and Lacroix G, Effect of BSA on carbon nanotube dispersion for *in vivo* and *in vitro* studies, *Nanotoxicology*, 1(4), 266 - 278, 2007.
11. Saxena RK, Williams W, McGee JK, Daniels MJ, Boykin E and Gilmour MI, Enhanced *in vitro* and *in vivo* toxicity of poly-dispersed acid-functionalized single-wall carbon nanotubes, *Nanotoxicology*, 1(4), 291 - 300, 2007.
12. Deguchi S, Yamazaki T, Mukai SA, Usami R and Horikoshi K, Stabilization of C(60) nanoparticles by protein adsorption and its implications for toxicity studies, *Chemical Research in Toxicology*, 20(6), 854-858, 2007.
13. Markovic Z, Todorovic-Markovic B, Kleut D, Nikolic N, Vranjes-Djuric S, Misirkic M, Vucicevic L, Janjetovic K, Isakovic A, Harhaji L, Babic-Stojic B, Dramicanin M and Trajkovic V, The mechanism of cell-damaging reactive oxygen generation by colloidal fullerenes, *Biomaterials*, 28(36), 5437-5448, 2007.
14. Foucaud L, Wilson MR, Brown DM and Stone V, Measurement of reactive species production by nanoparticles prepared in biologically relevant media, *Toxicol Lett*, 174(1-3), 1-9, 2007.
15. Wang J, Deng X, Yang S, Wang H, Zhao Y and Liu Y, Rapid translocation and pharmacokinetics of hydroxylated single-walled carbon nanotubes in mice, *Nanotoxicology*, 2(1), 28 - 32, 2008.
16. Guo J, Zhang X, Li Q and Li W, Biodistribution of functionalized multiwall carbon nanotubes in mice, *Nucl Med Biol*, 34(5), 579-583, 2007.

17. Cho W-S, Choi M, Han BS, Cho M, Oh JH, Park K, Kim SJ, Kim SH and Jeong J, Inflammatory mediators induced by intratracheal instillation of ultrafine amorphous silica particles., *Toxicology Letters*, 175, 24-33, 2007.
18. Cha KE and Myung H, Cytotoxic effects of nanoparticles assessed In Vitro and In Vivo, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(9), 1573-1578, 2007.
19. Meng H, Chen Z, Xing G, Yuan H, Chen C, Zhao F, Zhang C and Zhao Y, Ultrahigh reactivity provokes nanotoxicity: explanation of oral toxicity of nano-copper particles, *Toxicol Lett*, 175(1-3), 102-110, 2007.
20. Hoshino A, Manabe N, Fujioka K, Suzuki K, Yasuhara M and Yamamoto K, Use of fluorescent quantum dot bioconjugates for cellular imaging of immune cells, cell organelle labeling, and nanomedicine: surface modification regulates biological function, including cytotoxicity, *J Artif Organs*, 10(3), 149-157, 2007.
21. Gupta A, Forsythe WC, Clark ML, Dill JA and Baker GL, Generation of C(60) nanoparticle aerosol in high mass concentrations, *Journal of Aerosol Science*, 38(6), 592-603, 2007.
22. Nemmar A and Inuwa IM, Diesel exhaust particles in blood trigger systemic and pulmonary morphological alterations, *Toxicology Letters*, 176(1), 20-30, 2008.
23. Inoue K, Takano H, Yanagisawa R, Sakurai M, Abe S, Yoshino S, Yamaki K and Yoshikawa T, Effects of nanoparticles on lung physiology in the presence or absence of antigen, *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 20(4), 737-744, 2007.

In vitro studies:

24. Porter AE, Gass M, Muller K, Skepper JN, Midgley PA and Welland M, Direct imaging of single-walled carbon nanotubes in cells, *Nature Nanotechnology*, 2(11), 713-717, 2007.
25. Yehia HN, Draper RK, Mikoryak C, Walker EK, Bajaj P, Musselman IH, Daigrepoint MC, Dieckmann GR and Pantano P, Single-walled carbon nanotube interactions with HeLa cells, *Journal of Nanobiotechnology*, 5, 8, 2007.
26. Chin SF, Baughman RH, Dalton AB, Dieckmann GR, Draper RK, Mikoryak C, Musselman IH, Poenitzsch VZ, Xie H and Pantano P, Amphiphilic helical peptide enhances the uptake of single-walled carbon nanotubes by living cells, *Experimental Biology and Medicine*, 232(9), 1236-1244, 2007.
27. Cai D, Doughty CA, Potocky TB, Dufort FJ, Huang Z, Blair D, Kempa K, Ren ZF and Chiles TC, Carbon nanotube-mediated delivery of nucleic acids does not result in non-specific activation of B lymphocytes, *Nanotechnology*, 18(36), 365101, 2007.
28. Sanderson BJS, Wang JJ and Wang H, Letter and new data in response to Letter to the Editor by William P. Gullledge about article "Cyto- and genotoxicity of ultrafine TiO(2) particles in cultured human lymphoblastoid cells" by Wang et al, *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 634(1-2), 243-244, 2007.
29. Maenosono S, Suzuki T and Saita S, Mutagenicity of water-soluble FePt nanoparticles in ames test, *Journal of Toxicological Sciences*, 32(5), 575-579, 2007.
30. Theogaraj E, Riley S, Hughes L, Maier M and Kirkland D, An investigation of the photo-clastogenic potential of ultrafine titanium dioxide particles, *Mutat Res*, 634(1-2), 205-219, 2007.
31. Jin Y, Kannan S, Wu M and Zhao JX, Toxicity of luminescent silica nanoparticles to living cells, *Chemical Research in Toxicology*, 20(8), 1126-1133, 2007.
32. Colognato R, Bonelli A, Bonacchi D, Baldi G and Migliore L, Analysis of cobalt ferrite nanoparticles induced genotoxicity on human peripheral lymphocytes: comparison of size and organic grafting-dependent effects, *Nanotoxicology*, 1(4), 301 - 308, 2007.
33. Zhu L, Chang DW, Dai L and Hong Y, DNA damage induced by multiwalled carbon nanotubes in mouse embryonic stem cells, *Nano Lett*, 7(12), 3592-3597, 2007.

34. Peng Y, Li X, Ren J and Qu X, Single-walled carbon nanotubes binding to human telomeric i-motif DNA: Significant acceleration of S1 nuclease cleavage rate, *Chemical Communications*, -(48), 5176-5178, 2007.
35. Galvan-Garcia P, Keefer EW, Yang F, Zhang M, Fang S, Zakhidov AA, Baughman RH and Romero MI, Robust cell migration and neuronal growth on pristine carbon nanotube sheets and yarns, *J Biomater Sci Polym Ed*, 18(10), 1245-1261, 2007.
36. Zhang D, Yi C, Zhang J, Chen Y, Yao X and Yang M, The effects of carbon nanotubes on the proliferation and differentiation of primary osteoblasts, *Nanotechnology*, 18(47), 475102, 2007.
37. Adili A, Crowe S, Beaux MF, Cantrell T, Shapiro PJ, McIlroy DN and Gustin KE, Differential cytotoxicity exhibited by silica nanowires and nanoparticles, *Nanotoxicology*, 2(1), 1 - 8, 2008.
38. Petri FA, Steitz B, Finka A, Salaklang J and Hofmann H, Effect of cell media on polymer coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Colloidal stability, cytotoxicity, and cellular uptake studies, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(1), 129-137, 2008.
39. Ryan JA, Overton KW, Speight ME, Oldenburg CN, Loo L, Robarge W, Frenzen S and Feldheim DL, Cellular uptake of gold nanoparticles passivated with BSA-SV40 large T antigen conjugates, *Analytical Chemistry*, 79(23), 9150-9159, 2007.
40. Weiss CK, Lorenz MR, Landfester K and Mailaender V, Cellular uptake behavior of unfunctionalized and functionalized PBCA particles prepared in a miniemulsion, *Macromolecular Bioscience*, 7(7), 883-896, 2007.
41. Monteiller C, Tran L, MacNee W, Faux S, Jones A, Miller B and Donaldson K, The pro-inflammatory effects of low-toxicity low-solubility particles, nanoparticles and fine particles, on epithelial cells in vitro: The role of surface area, *Occupational and Environmental Medicine*, 64(9), 609-615, 2007.
42. Patil S, Sandberg A, Heckert E, Self W and Seal S, Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential, *Biomaterials*, 28(31), 4600-4607, 2007.
43. Patra HK, Banerjee S, Chaudhuri U, Lahiri P and Dasgupta AK, Cell selective response to gold nanoparticles, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3(2), 111-119, 2007.
44. Wang L, Mao J, Zhang GH and Tu MJ, Nano-cerium-element-doped titanium dioxide induces apoptosis of Bel 7402 human hepatoma cells in the presence of visible light, *World Journal of Gastroenterology*, 13(29), 4011-4014, 2007.
45. Schachar RA, Chen W, Woo BK, Pierscionek BK, Zhang X and Ma L, Diffusion of nanoparticles into the capsule and cortex of a crystalline lens, *Nanotechnology*, 19(2), 025102, 2008.
46. Nabiev I, Mitchell S, Davies A, Williams Y, Kelleher D, Moore R, Gun'ko YK, Byrne S, Rakovich YP, Donegan JF, Sukhanova A, Conroy J, Cottell D, Gaponik N, Rogach A and Volkov Y, Nonfunctionalized nanocrystals can exploit a cell's active transport machinery delivering them to specific nuclear and cytoplasmic compartments, *Nano Lett*, 7(11), 3452-3461, 2007.
47. Ruan G, Agrawal A, Marcus AI and Nie S, Imaging and tracking of tat peptide-conjugated quantum dots in living cells: new insights into nanoparticle uptake, intracellular transport, and vesicle shedding, *J Am Chem Soc*, 129(47), 14759-14766, 2007.
48. Ma N, Yang J, Stewart KM and Kelley SO, DNA-passivated CdS nanocrystals: luminescence, bioimaging, and toxicity profiles, *Langmuir*, 23(26), 12783-12787, 2007.
49. Yacobi NR, Phuleria HC, Demaio L, Liang CH, Peng CA, Sioutas C, Borok Z, Kim KJ and Crandall ED, Nanoparticle effects on rat alveolar epithelial cell monolayer barrier properties, *Toxicol In Vitro*, 21(8), 1373-1381, 2007.
50. Bakshi MS, Zhao L, Smith R, Possmayer F and Petersen NO, Metal nanoparticle pollutants interfere with pulmonary surfactant function in vitro, *Biophys J*, 94(3), 855-868, 2008.
51. Long TC, Tajuba J, Sama P, Saleh N, Swartz C, Parker J, Hester S, Lowry GV and Veronesi B, Nanosize titanium dioxide stimulates reactive oxygen species in brain microglia and damages neurons in vitro, *Environ Health Perspect*, 115(11), 1631-1637, 2007.

52. Xiong L, Jiang XH, Chen L, Tang JL and Xi TF, Comparison of in vitro cytotoxicity of silver particles with different sizes, *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 26(4), 600-604, 2007.
53. Jiang J, Oberdorster Gn, Elder A, Gelein R, Mercer P and Biswas P, Does nanoparticle activity depend upon size and crystal phase?, *Nanotoxicology*, 2(1), 33 - 42, 2008.
54. Isaacson CW, Usenko CY, Tanguay RL and Field JA, Quantification of fullerenes by LC/ESI-MS and its application to in vivo toxicity assays, *Anal Chem*, 79(23), 9091-9097, 2007.
55. Muehlfeld C, Mayhew TM, Gehr P and Rothen RB, A novel quantitative method for analyzing the distributions of nanoparticles between different tissue and intracellular compartments, *Journal of Aerosol Medicine: Deposition, Clearance, and Effects in the Lung*, 20, 4, 395-407, 2007.
56. Muehlfeld C, Rothen RB, Vanhecke D, Blank F, Gehr P and Ochs M, Visualization and quantitative analysis of nanoparticles in the respiratory tract by transmission electron microscopy, *Particle and Fibre Toxicology*, 4, 11, 2007.
57. Li F, Zhou X, Zhu J, Ma J, Huang X and Wong STC, High content image analysis for human H4 neuroglioma cells exposed to CuO nanoparticles, *BMC Biotechnology*, 7, 66, 2007.
58. He W, Kivork C, Machinani S, Morphew MK, Gail AM, Tesar DB, Tiangco NE, McIntosh JR and Bjorkman PJ, A freeze substitution fixation-based gold enlarging technique for EM studies of endocytosed Nanogold-labeled molecules, *J Struct Biol*, 160(1), 103-113, 2007.
59. Scheffer A, Engelhard C, Sperling M and Buscher W, ICP-MS as a new tool for the determination of gold nanoparticles in bioanalytical applications, *Anal Bioanal Chem*, 390(1), 249-252, 2008.
60. Sousa AA, Aronova MA, Kim YC, Dorward LM, Zhang G and Leapman RD, On the feasibility of visualizing ultrasmall gold labels in biological specimens by STEM tomography, *J Struct Biol*, 159(3), 507-522, 2007.

Computational modelling:

61. Farkas and Balashazy I, Simulation of the effect of local obstructions and blockage on airflow and aerosol deposition in central human airways, *Journal of Aerosol Science*, 38(8), 865-884, 2007.
62. Wang Cs and Friedlander SK, Determination of surface area and volume of nanoparticle aggregates deposited in the human respiratory tract using DMA data, *Journal of Aerosol Science*, 38(9), 980-987, 2007.

Reviews:

63. Kostoff RN, Koytcheff RG and Lau CGY, Technical structure of the global nanoscience and nanotechnology literature, *Journal of Nanoparticle Research*, 9(5), 701-724, 2007.
64. Miller AL, Hoover MD, Mitchell DM and Stapleton BP, The Nanoparticle Information Library (NIL): a prototype for linking and sharing emerging data, *J Occup Environ Hyg*, 4(12), D131-134, 2007.
65. Lee KH, Quantum dots: A quantum jump for molecular imaging?, *Journal of Nuclear Medicine*, 48(9), 1408-1410, 2007.
66. Luccardini C, Yakovlev A, Gaillard S, Van THM, Alberola AP, Mallet JM, Parak WJ, Feltz A and Oheim M, Getting across the plasma membrane and beyond: Intracellular uses of colloidal semiconductor nanocrystals, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2007.
67. Theron J, Walker JA and Cloete TE, Nanotechnology and water treatment: applications and emerging opportunities, *Crit Rev Microbiol*, 34(1), 43-69, 2008.
68. A little knowledge, *Nature Nanotechnology*, 2(12), 731, 2007.
69. Enough talk already, *Nature*, 448(7149), 1-2, 2007.
70. Meanings of 'life', *Nature*, 447(7148), 1031-1032, 2007.
71. Room for improvement, *Nature Nanotechnology*, 2(5), 257, 2007.
72. Barrera M, Closing the nanotechnology knowledge gap, *Occup Health Saf*, 76(9), 63-67, 2007.

73. Casey CP and Wong CH, Partly cloudy with a chance of showers, *ACS Chemical Biology*, 2(9), 573-576, 2007.
74. Chun AL, Carbon nanofibres: On the brain, *Nature Nanotechnology*, 2(8), 465, 2007.
75. Currall SC, King EB, Lane N, Madera J and Turner S, How fast should nanotechnology advance? (2), *Nature Nanotechnology*, 2(6), 327-328, 2007.
76. Goldston D, Small advances, *Nature*, 450(7173), 1141, 2007.
77. Helmus M, Details are important, *Nature Nanotechnology*, 2(9), 527-528, 2007.
78. Nickols-Richardson SM, Nanotechnology: implications for food and nutrition professionals, *J Am Diet Assoc*, 107(9), 1494-1497, 2007.
79. Rinaldi A, Naturally better. Science and technology are looking to nature's successful designs for inspiration, *EMBO Rep*, 8(11), 995-999, 2007.
80. Sandhu A, Setting the standard, *Nature Nanotechnology*, 3(2), 63-64, 2008.
81. Schwartz SA, Trends That Will Affect Your Future.... The Governor and The New States' Rights, *Explore: The Journal of Science and Healing*, 3(4), 362-364, 2007.
82. Wintle B, Burgman M and Fidler F, How fast should nanotechnology advance? (1), *Nature Nanotechnology*, 2(6), 327, 2007.
83. Yih TC and Moudgil VK, Nanotechnology comes of age to trigger the third industrial revolution, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3(4), 245, 2007.
84. Bonniaud P, The mega-unknown nanoparticles, *Revue des Maladies Respiratoires*, 24(ATS), 104-107, 2007.
85. Cascio WE, Cozzi E, Hazarika S, Devlin RB, Henriksen RA, Lust RM, Van SMR and Wingard CJ, Cardiac and vascular changes in mice after exposure to ultrafine particulate matter, *Inhalation Toxicology*, 19(SUPPL. 1), 67-73, 2007.
86. Drobne D, Nanotoxicology for safe and sustainable nanotechnology, *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 58(4), 471-478, 2007.
87. Hirano S, [Health effects of nanoparticles and nanomaterials (I) recent overview of health effects of nanoparticles], *Nippon Eiseigaku Zasshi*, 63(1), 36-41, 2008.
88. Izmerov NF, Tkach AV and Ivanova LA, [Nanotechnology and nanoparticles--state of the problem, objectives of industrial medicine], *Med Tr Prom Ekol*(8), 1-4, 2007.
89. Kaesser M, About risks and side-effects of nanotechnology: Can nanoparticles become dangerous to us?, *CLB Chemie in Labor und Biotechnik*, 58(5), 188-191, 2007.
90. Papp T, Schiffmann D, Weiss D, Castranova V, Vallyathan V and Rahman Q, Human health implications of nanomaterial exposure, *Nanotoxicology*, 2(1), 9 - 27, 2008.
91. Stone V, Johnston H and Clift MJD, Air pollution, ultrafine and nanoparticle toxicology: Cellular and molecular interactions, *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 6(4), 331-340, 2007.
92. Fadeel B, Kagan V, Krug H, Shvedova A, Svartengren M, Tran L and Wiklund L, There's plenty of room at the forum: Potential risks and safety assessment of engineered nanomaterials, *Nanotoxicology*, 1(2), 73-84, 2007.
93. Mandin C, Ansoborlo, Bard D, Boland S, Carriere M, Gouget B, Lanone S and Marano F, *Nanotoxicology: Second International Conference. Venice, 19-21 April 2007, Environnement, Risques et Sante*, 2007.
94. Nedellec V and Cabanes PA, *The Annual Conference of Health Effect Institute (HEI), Chicago, April 15-17, 2007, Environnement, Risques et Sante*, 2007.
95. Draelos ZD, The nanoparticle controversy, *Cosmetic Dermatology*, 20(11), 698-700, 2007.
96. Zabirnyk O, Yezhelyev M and Selevertov O, Nanoparticles as a novel class of autophagy activators, *Autophagy*, 3(3), 278-281, 2007.

97. Baeza A and Marano F, Air pollution and respiratory diseases: A central role for oxidative stress, *Medecine/Sciences*, 23(5), 497-501, 2007.
98. Mossman BT, Shukla A and Fukagawa NK, Highlight Commentary on "Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles", *Free Radical Biology and Medicine*, 43(4), 504-505, 2007.
99. Riedl MA and Nel AE, Importance of oxidative stress in the pathogenesis and treatment of asthma, *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 8(1), 49-56, 2008.
100. Heinrich U, Inhalation Toxicology: Foreword, *Inhalation Toxicology*, 19(SUPPL. 1), 1, 2007.
101. Ayres JG, Borm P, Cassee FR, Castranova V, Donaldson K, Ghio A, Harrison RM, Hider R, Kelly F, Kooter IM, Marano F, Maynard RL, Mudway I, Nel A, Sioutas C, Smith S, Baeza SA, Cho A, Duggan S and Froines J, Evaluating the toxicity of airborne particulate matter and nanoparticles by measuring oxidative stress potential - A workshop report and consensus statement, *Inhalation Toxicology*, 20(1), 75-99, 2008.
102. Muhlfield C, Rothen-Rutishauser B, Blank F, Vanhecke D, Ochs M and Gehr P, Interactions of nanoparticles with pulmonary structures and cellular responses, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 294(5), L817-829, 2008.
103. Balbus JM, Maynard AD, Colvin VL, Castranova V, Daston GP, Denison RA, Dreher KL, Goering PL, Goldberg AM, Kulinowski KM, Monteiro-Riviere NA, Oberdorster G, Omenn GS, Pinkerton KE, Ramos KS, Rest KM, Sass JB, Silbergeld EK and Wong BA, Meeting report: hazard assessment for nanoparticles--report from an interdisciplinary workshop, *Environ Health Perspect*, 115(11), 1654-1659, 2007.
104. NIST, NIST reference materials are "gold standard" for bio-nanotech research., *NIST TechBeat*, 8 January 2008, 5-6, 2008.
105. Linkov I, Satterstrom FK, Steevens J, Ferguson E and Pleus RC, Multi-criteria decision analysis and environmental risk assessment for nanomaterials, *Journal of Nanoparticle Research*, 9(4), 543-554, 2007.
106. Onishchenko GG, Archakov AI, Bessonov VV, Bokit'ko BG and Gintsburg AL, [Guidelines for evaluation of the safety of nanomaterials], *Gig Sanit*(6), 3-10, 2007.
107. Onishchenko GG and Tutel'ian VA, [On concept of toxicological studies, methodology of risk assessment, methods of identification and quantity determining of nanomaterials], *Vopr Pitan*, 76(6), 4-8, 2007.
108. Moore R, Medical nanotechnology: evolving appropriate risk tools, *Med Device Technol*, 18(5), 36-37, 2007.
109. Moore R, Nanomedicine and risk: further perspectives, *Med Device Technol*, 18(6), 28-29, 2007.
110. Overseeing nanotechnology, *Chemical Engineering News*, 85(47), 36, 2007.
111. Powell MC, New risk or old risk, high risk or no risk? How scientists' standpoints shape their nanotechnology risk frames, *Health, Risk and Society*, 9(2), 173-190, 2007.
112. Mir L, Laypeople's and experts' perception of nanotechnology hazards, *Environnement, Risques et Sante*, 6, 5, 331-2, 2007.
113. Scheufele DA, Corley EA, Dunwoody S, Shih TJ, Hillback E and Guston DH, Scientists worry about some risks more than the public, *Nature Nanotechnology*, 2(12), 732-734, 2007.
114. Bennett B, Regulating small things: genes, gametes and nanotechnology, *J Law Med*, 15(1), 153-160, 2007.
115. Bijker WE, De BID, Van DBA, Borm PJA, Oyen WJG, Robillard GT and Van DHFG, A response to 'Nanotechnology and the need for risk governance', O. Renn & M.C. Roco, 2006. *J. Nanoparticle Research* 8(2): 153-191, *Journal of Nanoparticle Research*, 9(6), 1217-1220, 2007.
116. Bowman DM and Van CG, Does REACH go too far?, *Nature Nanotechnology*, 2(9), 525-526, 2007.

117. Franco A, Hansen SF, Olsen SI and Butti L, Limits and prospects of the "incremental approach" and the European legislation on the management of risks related to nanomaterials, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 48(2), 171-183, 2007.
118. Ludlow K, One size fits all? Australian regulation of nanoparticle exposure in the workplace, *J Law Med*, 15(1), 136-152, 2007.
119. Veith M, Schubert M and Koelbel M, Regulatory instruments for nanotechnology: Worldwide search is in full swing, *CLB Chemie in Labor und Biotechnik*, 58(7), 261-267, 2007.
120. Roco MC, Possibilities for global governance of converging technologies, *Journal of Nanoparticle Research*, 10(1), 11-29, 2008.
121. Brauerhoch FO, Ewen C and Sinemus K, Talking biotech with the public, *Biotechnology Journal*, 2(9), 1076-1080, 2007.
122. Doubleday R, Risk, public engagement and reflexivity: Alternative framings of the public dimensions of nanotechnology, *Health, Risk and Society*, 9(2), 211-227, 2007.
123. Jones R, What have we learned from public engagement?, *Nature Nanotechnology*, 2(5), 262-263, 2007.
124. Pidgeon N and Rogers HT, Opening up nanotechnology dialogue with the publics: Risk communication or 'upstream engagement'?, *Health, Risk and Society*, 9(2), 191-210, 2007.
125. Wickson F, Public engagement means listening as well as talking (1), *Nature*, 448(7154), 644, 2007.
126. Toumey C, Rules of engagement, *Nature Nanotechnology*, 2(7), 386-387, 2007.
127. Wilkinson C, Allan S, Anderson A and Petersen A, From uncertainty to risk?: Scientific and news media portrayals of nanoparticle safety, *Health, Risk and Society*, 9(2), 145-157, 2007.
128. Mordini E, Technology and fear: is wonder the key?, *Trends in Biotechnology*, 25(12), 544-546, 2007.
129. Bawa R and Johnson S, The ethical dimensions of nanomedicine, *Med Clin North Am*, 91(5), 881-887, 2007.
130. Dupuy JP, Some pitfalls in the philosophical foundations of nanoethics, *Journal of Medicine and Philosophy*, 32(3), 237-261, 2007.
131. Faunce TA, Nanotechnology in global medicine and human biosecurity: private interests, policy dilemmas, and the calibration of public health law, *J Law Med Ethics*, 35(4), 629-642, 512, 2007.
132. Hoven JVD and Vermaas PE, Nano-technology and privacy: On continuous surveillance outside the panopticon, *Journal of Medicine and Philosophy*, 32(3), 283-297, 2007.
133. Khushf G, Open questions in the ethics of convergence, *Journal of Medicine and Philosophy*, 32(3), 299-310, 2007.
134. Khushf G, The ethics of NBIC convergence, *Journal of Medicine and Philosophy*, 32(3), 185-196, 2007.
135. Lupton M, Nanotechnology - Salvation or damnation for humans?, *Medicine and Law*, 26(2), 349-362, 2007.
136. Petersen A, Anderson A, Wilkinson C and Allan S, Nanotechnologies, risk and society, *Health, Risk and Society*, 9(2), 117-124, 2007.
137. Pitkethly M, Seeking a nano code, *Nano Today*, 2(6), 6, 2007.
138. White GB, The sky is falling ... or maybe not: the moral necessity of technology assessment, *Am J Bioeth*, 7(10), 20-21; discussion 21-23, 2007.
139. Lau T, Report: EuroBioFund first annual forum in Helsinki, *Biotechnology Journal*, 2(4), 406-407, 2007.
140. Mervis J, Public science: Pilot NSF program flies into stiff community headwinds, *Science*, 318(5855), 1365-1367, 2007.

141. Savage N, Thomas TA and Duncan JS, Nanotechnology applications and implications research supported by the US Environmental Protection Agency STAR grants program, Journal of Environmental Monitoring, 2007.

3. CONTACTS

For more information please contact:

Measurement, exposure and control:

Delphine Bard (Analytical Sciences Unit): Tel: 01298 218558
(delphine.bard@hsl.gov.uk)

Derrick Wake (Exposure Control & Measurement Section): Tel: 01298 218529
(derrick.wake@hsl.gov.uk)

Nick Vaughan (Personal Protection Equipment Section): Tel: 01298 218329
(nick.vaughan@hsl.gov.uk)

Health effects:

Rosemary Gibson (Health Exposures Unit): Tel: 01298 218675
(rosemary.gibson@hsl.gov.uk)

Anna Rowbotham (Health Exposures Unit): Tel: 01298 218440
(anna.rowbotham@hsl.gov.uk)

Gareth Evans (Health Exposures Unit): Tel: 01298 218410
(gareth.hsl.evans@hsl.gov.uk)