

2. 日本国内で既に実用化されている、又は実用化の可能性のあるナノマテリアル（開発中のものも含む）の安全性等に関する情報、試験法等に関する情報の学術論文等の文献調査

平成 19 年度～平成 21 年度に実施された本事業の結果等を踏まえつつ、その後発表された学術論文を対象とし、ナノマテリアルの安全性等に関する文献調査を実施した。

本文献調査における対象物質は、フラーレン、単層カーボンナノチューブ、多層カーボンナノチューブ、水溶性のフラーレン誘導体、鉄ナノ粒子、二酸化ケイ素、カーボンブラック、デンドリマー、ポリスチレン、リポソーム及び酸化チタンとし、酸化チタンにおいては、アナターズ型及びルチル型とした。

(1) 調査方法

文献データベースとして、PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>) を用いた。

データベースにおいて使用した検索文を以下に示した。

これらの文献の一覧を作成し、重複の単一化や、明らかに不要な文献を除去した結果、69 件を抽出した。

PubMed：検索日平成 23 年 3 月 3 日

```
("nanomaterial"[All Fields] OR "nanoparticle"[All Fields] OR "nanostructure"[All Fields] OR "nanocomposit"[All Fields]) AND ("quantum dot"[All Fields] OR "Fullerene"[All Fields] OR "Nanotube"[All Fields] OR "carbon black"[All Fields] OR "Dendrimer"[All Fields] OR "nanoclay"[All Fields] OR "Silver nanoparticle"[All Fields] OR "iron nanoparticle"[All Fields] OR "titanium dioxide"[All Fields] OR "aluminium oxide"[All Fields] OR "cerium oxide"[All Fields] OR "zinc oxide"[All Fields] OR "silicon dioxide"[All Fields] OR "Polystyrene"[All Fields]) AND (English[Lang] OR Japanese[Lang]) AND ("2010.4.1"[PDAT] : "2011.3.3"[PDAT])
```

ヒット数：554件

```
("nanomaterial"[All Fields] OR "nanoparticle"[All Fields] OR "nanostructure"[All Fields] OR "nanocomposit"[All Fields]) AND ("Toxicolog"[All Fields] OR "toxic"[All Fields] OR "risk"[All Fields] OR "hazard"[All Fields] OR "carcinogen"[All Fields] OR "mutagen"[All Fields] OR "No Observed Adverse Effect Level"[All Fields] OR "Reactive Oxygen Species"[All Fields] OR "oxidative stress"[All Fields] OR "macrophage"[All Fields] OR "inflammat"[All Fields] OR "granulocyte"[All Fields] OR "bioaccumulate"[All Fields] OR "accumulate") AND (English[Lang] OR Japanese[Lang]) AND ("2010.4.1"[PDAT] : "2011.3.3"[PDAT])
```

ヒット数：258 件

(2) 文献解析結果

69 件の文献について、対象物質、試験生物、試験項目に着目して整理した。

表 2.2-1 は、ナノマテリアルの種類と、試験の種類 (in vivo 等) 別の文献の該当数である (複数のナノマテリアル、複数の実験系を実施している場合があるので、文献の総数とは一致しない)。

これからすると、試験の対象とされたナノマテリアルは、TiO₂ が最も多く、次いで、ZnO、Ag、Au、シリカといった順で、金ナノ粒子の研究例が多いことが注目された。

また、試験系では、培養細胞による in vitro 試験が多かったが、その他、哺乳類を用いた in vivo 試験とともに、水棲生物を用いた試験がかなり多いことが注目された。具体的な使用生物は魚類：6 件、二枚貝(イガイの類)：2 件、ミジンコ：3 件、藻類：4 件であった (対象ナノマテリアルが複数あるので、数は文献数と一致しない)。

表 2.2-1 対象文献(69 件)の対象ナノマテリアルの種類と実験系の内訳

	in vitro	in vivo (哺乳類)	陸棲 生物	水棲 生物	細菌	その他	合計
TiO ₂	6	4	1	4	1	0	16
Ag	1	1	4	1	0	0	7
Au	4	1	0	1	0	0	6
CeO ₂	1	2	0	1	1	0	5
ZnO	4	2	0	3	0	0	9
NiO	0	4	0	1	0	0	5
シリカ	3	1	0	2	0	0	6
Fe	2	1	0	1	0	0	4
Al ₂ O ₃	0	0	0	2	0	0	2
CNT	2	1	0	0	0	0	3
フラーレン	2	0	0	1	1	0	4
カーボンブラック	0	2	0	1	0	0	3
量子ドット	2	0	0	0	0	0	2
その他	2	2	0	3	0	0	7
合計	29	21	5	21	3	0	79

さらに、試験方法について概観すると、*in vitro*系では、細胞増殖に関する試験 (MTT¹ 試験、MTS²試験、SBR³試験等) が 13 件と最も多く、その他、DNAの損傷 (comet⁴ 試験、Ames⁵試験等)、ミトコンドリアの活性、炎症反応検査 (IL⁶-6 等)、アポトーシス⁷関連試験等の試験を並行して実施されているものが多かった。また、細胞の観察では共焦点顕微鏡の使用事例が多かった。その他、事例としては多くはないが、免疫毒性に関する試験、電気生理学的な試験 (膜の電気伝達能力等)、老化現象に着目した試験 (β -ガラクトシダーゼの検出)、免疫スピン補足という方法でラジカル化したタンパクを定量化する方法等の新しいエンドポイント・試験方法についての研究事例も散見された。

In vivo 系では、肺洗浄液についての検査 (炎症反応等)、病理組織学的検査、臓器内の分布測定等が多かったが、免疫毒性や脳の電気生理学的検査といった新しい観点での研究事例も散見された。

水棲生物を用いた試験では、死亡率・増殖率・光合成能、といった一般的な生物試験以外に、酸化ストレス反応検査や DNA の損傷についても試験項目として併行して実施する例が多かった。免疫活性に関する試験研究、魚類の尾部の血流阻害を観察して血液凝固との関連を目的とした研究事例も認められた。

(3) 文献事例紹介

69 件の科学文献の内容は下記に示すとおりであるが、その中で注目すべき科学文献のいくつかを以下に紹介する。

多くの文献で、濃度依存的な炎症反応や DNA 損傷等の傾向が認められているとともに、表面修飾や形状による相違についても、報告が多くなっている。

- Roda ら (2010)⁴ が MWCNT を Sprague-Dawley ラットの気管に、1mg/kg BW の量で投与した実験では、明らかな細胞の破壊、免疫阻害といった反応が認められた。
- Wang ら (2010)¹² が、Wister rat に、酸化鉄及び酸化亜鉛を鼻腔に注入 (FeO 8.5mg/日/kg BW、ZnO 2.5mg/日/kg BW、2 回/日×3 日) した試験では、死亡はなかったものの衰弱等の症状が見られ、両方のナノマテリアルとも肝臓への蓄積が認められた。
- Gastaffson ら (2011)¹⁸ は、慢性炎症が発症し易いラットを用いた試験で、二酸化チタンが好酸球や好中球による自然免疫を活性化させることを認め、敏感なヒトに対する免

¹ 3-(4,5-di-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, yellow tetrazole : 酵素活性により紫色を呈する色素で、細胞の生存率や増殖率の指標となる

² 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium : 上記と同様の働きを有する色素

³ Sulforhodamine B : 細胞のタンパク質に結合する色素で、細胞増殖の指標となる

⁴ 電気泳動により細胞外に移動する切断された DNA を測定する方法

⁵ 細菌を用いた催突然変異性に関する試験

⁶ インターロイキン (Interleukin)-6

⁷ プログラミングされた細胞死で外因性の細胞死と異なるもの

疫刺激リスクがあることを報告している。

- Du ら (2010)⁵⁵ は、二酸化チタンナノ粒子と酢酸鉛の相乗効果を試験し、それぞれ単独では影響を発現しない濃度（二酸化チタン濃度 0.001-0.001mg/L）で、酸化ストレス反応や遺伝子の損傷と言った影響が出現することを報告している。

- Butterworth ら (2010)⁵ が 7 種類の培養細胞に対する金ナノ粒子の影響を調べた結果、明らかな酸化ストレス反応が認められ、細胞の死亡を含む細胞毒性が認められた。
- Bertneck ら (2010)¹³ は、金ナノ粒子（球状及びロッド状、表面修飾数種）の細胞培養への影響について、形状や表面修飾で、取り込み速度や毒性は異なると報告している。
- Janet-Amsbury ら (2011)⁵³ は、nu/nu マウスを用いた金ナノ粒子の影響試験で、臓器への分布傾向が、ナノマテリアルの形状で異なることを報告している。

- Kang ら (2011)⁵³ が酸化ニッケルの毒性をApoE^{-/-}マウス⁸で試験した結果、明らかな炎症反応、DNA損傷を引き起こし、5ヶ月の長期ばく露ではアテローム性動脈硬化を進行させた。
- Kang ら (2011)⁷ は、C57BL/6 マウスを用いた、酸化ニッケルとニッケルイオンを比較した試験により、酸化ニッケル粒子のほうが大きい炎症誘発作用を生じることを認めた。また、同量の二酸化チタン、カーボンブラックでは炎症反応が認められず、ナノ粒子の種類、化学特性等で影響が異なると推測している。

- Ma ら (2010)²⁹ が実施した、酸化セリウムの Sprague-Dawley ラットに対する影響試験では、炎症、細胞毒性、空気/血液バリアーの損傷の症状が認められ、肺の炎症、線維化を招く可能性が示唆された。

- Sohaebuddin ら (2010)⁴³ は、5種類のナノマテリアルと2種類の培養細胞での影響試験から、ナノマテリアルの種類、培養細胞の種類で結果が異なることを報告している。
- Cho ら (2010)⁴⁴ は、8種類のナノマテリアルを Wister ラットにばく露させた試験から、ナノマテリアルの種類ごとに影響指標項目の程度が異なり、単一の指標では評価が困難であると報告している。
- Gao ら (2010)⁵⁰ は、老化現象（ β -ガラクトシダーゼ）への影響をみた試験で、フラレン派生物（Tris-C60 (C60[C(CO₂H)₂]₃)) で可逆的な影響があると報告している。
- Maurer-Jones ら (2010)⁵² は、培養細胞を用いた多孔性とそうでないシリカの比較試験で、多孔性のものが影響が大きいことを確認し、接触面積の関与と推測している。
- Su ら (2010)⁶² は、CdTe 量子ドットの培養細胞に対する影響試験から、認められた毒性は Cd イオンではなく量子ドットの影響が大きく、影響度は細胞に取り込まれた量

⁸ Apolipoprotein E (ApoE)欠損マウス：動脈硬化症を発症し易い種類

に依存することを報告している。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
1	Amida, M. M., A. Ray, C. M. Peterson, H. Ghandehari	Geometry and surface characteristics of gold nanoparticle influence their biodistribution and uptake by macrophage.	European J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 77(4) 417-423. (2011)	金ナノ粒子 (PEG(ポリエチレングリコール)修飾) (球状のものとロッド状のもの2種類)	nu/nu マウス (雌、6-8 週齢) RAW264.7 細胞	1) in vivo ばく露量：球状 60 μ g/尾、ロッド状 40 μ g/尾 (マウス (ヒト卵のうがんを移植した) に尾静脈注入) 2) in vitro ばく露量：10 μ g/well [取り込み状況観察]	<ul style="list-style-type: none"> 生体内で、球状のものは1日目に肝臓、7日目に脾臓に多く分布。ロッド状のものは初期は多くが血液中で、7日目に脾臓及び肝臓に分布。ロッド状のものは全体的に球状のものよりも臓器への沈着量は少ないが、腫瘍部への蓄積量は球状のものよりも大きかった。 マクロファージへは球状のものがロッド状のものよりも多く取り込まれた。
2	Abe, Y.	Safety Studies of Nanomaterials about Intracellular Distribution and Genotoxicity	YAKUGAKU ZASSHI, 131(2) 215-219. (2011)	アモルファスナノシリカ	HaCaT 細胞 (ヒト皮膚角化細胞株)	<ul style="list-style-type: none"> 細胞取り込み試験：ばく露濃度\times時間=100μg/ml\times24hr コメットアッセイ、ROS 生産：ばく露濃度\times時間=30,90μg/ml\times3hr or 0.5hr 	<ul style="list-style-type: none"> いずれの粒子を作用させた場合も粒子濃度依存的な細胞増殖抑制効果が認められた。70nm の粒子の添加群で最も強かった。 細胞膜に対する傷害性：粒子サイズの減少に伴い細胞膜に対する傷害性が増大する傾向。 ⇒以上より、非晶質シリカとサブミクロンサイズ以上の従来型シリカでは異なる細胞膜障害性を示すこと、粒子サイズが細胞に対する作用に大きく影響することが示された。 Ames 試験：非晶質シリカの粒子サイズが変異原性に影響を与えることが確認された。 コメットアッセイ：100nm 以下のサイズの粒子のみが HaCaT 細胞に対して DNA 損傷を引き起こすことが認められた。 ROS 生産：100nm 以下になると ROS 依存的な DNA 損傷作用を発揮する可能性が考えられた。 DNA 損傷発現メカニズム：抗酸化剤共存下で nSP70 依存的 DNA 損傷作用の抑制が認められたことから、70nm の粒子のによる DNA 損傷が ROS を解して生ずることが確認された。
3	Ahamed, M., Mohamed S. AISlhi, M.K.J.Siddiqui	Silver nanoparticle applications and human health	Clinica Chimica Acta, 411(4) 1841-1848. (2010)	銀ナノ粒子	[総説のため、試験生物は記載できず]	[総説のため、試験容量等は記載できず]	<p>多くの情報を精査した結果、</p> <ul style="list-style-type: none"> 銀ナノ粒子は細胞サイクルの進行とアポトーシスにおける遺伝子の発現レベルを誘発すること、 銀ナノ粒子毒性メカニズムには、ROS、酸化ストレス、DNA 損傷、アポトーシスの誘発が含まれることと考えられた。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
4	Bartneck, M., H. A. Keul, S. Singh, K. Czaja, J. Bornemann, M. Bockstaller, M. Moeller, G. Zwadlo-Klarwasser, J. Groll	Rapid uptake of Gold Nanorods by primary human blood phagocytes and immunomodulatory effects of surface chemistry.	ACS NANO, 4(6) 3073-3086. (2010)	金ナノ粒子 (CTAB (Cetyltrimethylammoniumbromide) で修飾したものと PEO (poly(ethylene oxide) で修飾したものの)	ヒトの血液から作成した初代試験細胞	最高ばく露濃度：ロッド状(15×50nm) = 1.45E7 個/mL、球状(φ 15nm) = 1.67E9 個/mL、球状(50nm) = 3.33E7 個/mL	<ul style="list-style-type: none"> 金ナノ粒子 (CTAB 修飾物) は 15 分程度の短時間にマクロファージ等に取り込まれたが、取り込み量は単核細胞よりもマクロファージでのほうで、取り込み速度は球状の金ナノ粒子よりもロッド状のもので速かった。 PEO 修飾のもの取り込み速度はやや遅延した。 CD163(抗炎症反応タンパク) や 27E10 (炎症時に出現するタンパク)等は PEO-NH2 修飾の金ナノ粒子で高いことが認められた。
5	Butterworth, K. T., J.A.Coulter, S.Jain, J.Forker, S.J.McMahon, G.Schettino, K.M.Prise, F.J.Currell, D.G.Hirst	Evaluation of cytotoxicity and radiation enhancement using 1.9nm gold particles: potential application for cancer therapy	Nanotechnology, 21(29) 295101. (2010)	1.9nm 金ナノ粒子	全細胞株：Cancer Research UK より入手。ヒト前立腺がん細胞：DU-145、PC-3、ヒト胸部がん細胞：MDA-231-B、MCF-7、ヒト肺胞上皮細胞：L-132、ヒト膠芽腫細胞：T98G、ヒト初期線維芽細胞：AGO01522B	ばく露濃度：10 または 100µg/ml ばく露時間：30 分間	<ul style="list-style-type: none"> 金粒子は、細胞のタイプ別特定細胞毒性、細胞死、酸化ストレスの増加をもたらした。 クローン原性の生残減少、アポトーシスの増加、DNA 損傷の誘導等の状態がφ 1.9nm 金粒子へのばく露により発生した。 細胞サイクルは明瞭な変化を生じなかった。 MDA-231 細胞では明らかな増加はなかったが、DU-145 細胞はばく露後 48 時間のもので明らかに増加した(subG1 について)。 酸化ストレスは、MDA-232 細胞、DU-145 細胞で減少したが、必ずしも全細胞で同様の反応を示さなかった。
6	Du, H., X. Zhu, C. Fan, S. Xu, Y. Wang, Y. Zhou	Oxidative damage and OGG1 expression induced by a combined effects of Titanium Dioxide Nanoparticles and lead acetate in human hepatocytes.	Environmental Toxicology, online (DOI 10.1002)() 1-8. (2010)	二酸化チタン (80% アナターズ、20% ルチル)	L02 (ヒト正常肝細胞)	ばく露量：0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 µg /mL	<ul style="list-style-type: none"> 二酸化チタン及び酢酸鉛単独では影響しない濃度領域 (二酸化チタン濃度：0.001mg-0.001mg/L) においても、両者が混在することで、酸化ストレス、遺伝子の損傷といった影響が認められた。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
7	Farkas, J., P. Christian, J. A. Gallego-Urrea, N. Roos, M. Hasselov, K. E. Tollefsen, K. V. Thomas	Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) gill cell.	Aquatic Toxicology, 101(1) 117-125. (2011)	銀ナノ粒子 (クエン酸修飾物及びポリビニルピロリドン (PVP)修飾物の2種類)	ニジマス (Oncorhynchus mykiss) (体重150-200g) の鰓細胞 (採取後に分離した細胞 5E5 - 1E6 細胞/mL の濃度)	取り込み試験: 10、20 mg/L 48時間ばく露	<ul style="list-style-type: none"> クエン酸修飾銀ナノ粒子の才能への取り込み速度は、PVP修飾銀ナノ粒子よりも早かった。また、多層膜よりも単層膜で速く、稠密度が影響するものと考えられた。 細胞の健全性等から、銀ナノ粒子の影響が示唆された。
8	Fent K., C. J. Weisbrod, A. Wirth-Heller, U. Pieleles	Assessment of uptake and toxicity of fluorescent silica nanoparticles in zebrafish (Danio rerio) early life stages.	Aquatic Toxicology, 100(1) 218-228. (2010)	シリカのナノ粒子 (蛍光) 2種類 (Ru@SiO ₂ : ルテニウム蛍光色素 ([Ru(bpy) ₃] ²⁺) を修飾したシリカナノ粒子、Cy5.5@SiO ₂ : Cy5.5 (シアニン蛍光色素の一種) を修飾したシリカナノ粒子)	ゼブラフィッシュの受精卵 (6時間以内)	ばく露濃度: Ru@SiO ₂ × 0.25, 2.56, 25.6 mg/L、実験2では Ru@SiO ₂ × 0.2, 2, 200 mg/L、実験3では Cy5.5@SiO ₂ × 0.0025, 0.25, 25 mg/L ばく露時間: 受精後から 96 時間	<ul style="list-style-type: none"> 生残率(最高 25.6mg/L)及び孵化率(最高 200mg/L)に影響はなかった。 ナノ粒子は卵殻に付着したが、取り込みは確認できなかった。
9	Foldbjerg, R., D.A.Dang, H. Autrup	Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549.	Arch. Toxicol., published online: 29 April 2010(). (2010)	銀ナノ粒子 (PVP(ポリビニルピロリジン)でコーティング)	A549、ヒト肺腺癌上皮細胞	ばく露濃度: 銀ナノ粒子=0-20µg/mL、銀イオン (Ag ⁺)=0-10µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> 銀ナノ粒子と銀イオンの両方で、MTT 試験及び annexin V/Pi 試験で濃度依存的な影響が認められた (A549 細胞)。 ROS は細胞毒性と関係があると思われ、DNA の損傷とも強い関係が認められた。 銀ナノ粒子は、ROS を介して生殖毒性をもたらすものと考えられた。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
10	Gao, J, H. L. Wang, A. Shreve, R. Iyer	Fullerene derivatives induce premature senescence : A new toxicity paradigm or novel biomedical applications.	Toxicology and Applied Pharmacology, 244() 130-143. (2010)	フラーレン派生物 (フラーレンにシクロヘキサデキストリンを反応させて合成した、Hexa-C60 (C60[C(CO2H)2]6) と Tris-C60 (C60[C(CO2H)2]3))	HEK 細胞 (ヒト腎臓細胞)	ばく露濃度 : 25, 50, 100 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Tris-C60 には可逆的な老化現象が確認された。 この影響は C60 の坑アポトーシスや坑活性酸素種の機能とは独立のものである。 また、HERC5 (自然免疫に関係する遺伝子) の発現レベルの顕著な減少も認められた。
11	Gustafsson, A., E. Lindstedt, L. S. Elfsmark, A. Bucht	Lung exposure of titanium dioxide nanoparticles induces innate immune activation and long-lasting lymphocyte response in the Dark Agouti rat.	J. Immunotoxicology, Early online() 1-10. (2011)	二酸化チタン (P25 Degussa) 75%アナタース、25%ルチル	Dark-Agouti 系ラット (免疫活性化アジュバンドのばく露によって慢性炎症が発症し易い株) 10-11 週齢	ばく露方法 : 気管内投与 (TiO2 溶液 200µL) 投与量 : 1, 5, 7.5 mg/kg 体重 (単回)	<ul style="list-style-type: none"> ばく露後 1-2 日後で重度の炎症誘発性が生じ、サイトカイン(IL-1α、IL-1β、IL-6 等 : T-細胞を活性化させる) が誘導された。 好中球は高レベルが 30 日間続いたが、好酸球は 8 日目大きく減少した。 これらのデータから、TiO2 のナノ粒子は、Dark-Agouti ラットの肺に対して、自然免疫を活性化させ (好中球や好酸球による)、その後もリンパ球による長期の活性を継続させるものと考えられた。したがって、免疫刺激のリスク (過敏なアレルギー反応等) についての研究が必要と思われる。
12	Heng, B. C. , X. Zhao, S.Xiong, K. W. Ng, F. Y. Boey, J. S. Loo	Toxicity of Zinc Oxide (ZnO) nanoparticles on human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) is accentuated by oxidative stress.	Food and Chemical Toxicology, 48() 1762-1766. (2010)	酸化亜鉛	BEAS-2B(ヒト気道上皮細胞 CRL-9609)	ばく露濃度 : 0,5,7.5,10,12.5,15,20,25 µg/mL (濃度変化試験で) ばく露時間 : 全て 24 時間	<ul style="list-style-type: none"> 過酸化水素水を添加しなかったものは、10µg/mL 以上の濃度で活性が低下した。 一方、過酸化水素水を添加した場合は、少量の添加では ZnO の影響は認められなかったが、10µM 過酸化水素の添加で、TiO2 のばく露濃度が 10µg/mL 以下でも活性度が大きく低下した。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
13	Heng, B. C., X. Zhao, S. Xiong, K. W. Ng, F. Y. Boey, J. S. Loo	Cytotoxicity of Zinc Oxide (ZnO) nanoparticles is influenced by cell density and culture format.	Arch. Toxicology, Published online : 12 October 2010(). (2010)	酸化亜鉛	BEAS-2B(ヒト気道上皮細胞)、L-929 (マウス線維芽細胞)、CRL-2922 (ヒト内皮ハイブリドーマ)、C2C12 (マウス筋芽細胞)	ばく露濃度： 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 µg/mL ばく露時間：24 時間	<ul style="list-style-type: none"> • 10µg/mL 以上で濃度依存的な細胞の活性が低下したが、その影響の程度は、細胞密度が低いほど、細胞数が小さいほど影響が大きいものとされた。 • また、同じ well で同じ濃度の溶液で、添加量を変化させた場合、液量が多いほど細胞活性は低下した。塩化亜鉛水溶液で行った同様の試験ではこのような現象は認められず、粒子の沈降の影響があるものと考えられた。 • 面積の異なるプレートで、添加液量を面積に比例させて変化させると、上記の現象は認められなかった。 • 培養プレートを傾けると、培養細胞が傾き、細胞密度が高くなるが、その場合の方が影響度は一般に小さくなった。 • 水溶液で行った同様の試験と比較すると、濃度と影響の程度の関係はほぼ同等であった (BEAS-2B 細胞による試験)。
14	Jhonson-Lyles, D. N., K. Peifley, S. Lockett, B. W. Neun, M. Hansen, J. Clogston, S. T. Stern, S. E. McNeil	Flrenol cytotoxicity in kidney cells is associated with cytoskeleton disruption, autophagic vacuole accumulation, and mitochondrial dysfunction.	Toxicology and Applied Pharmacology, 248() 249-258. (2010)	フラレノール	LLC-PK1 細胞(腎尿管細胞)	ばく露濃度：ATP 活性試験のみ 0.5~200µg/mL その他は 0~10µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> • フラレノールにより、細胞ミトコンドリアの膜電位の低下、ATP の放出が認められた。 • 生化学試験及び電子顕微鏡観察結果から、フラレノールの細胞毒性は、細胞骨格の破壊、ミトコンドリアの機能喪失、自己貪食細胞の集積によるものと考えられた。
15	Jiang, G., Z. Shen, J. Niu, Y. Bao, J. Chen T. He	Toxicological assessment of TiO2 nanoparticles by recombinant Escherichia coli bacteria.	J. Environmental Monitoring, 13(42) 42-48. (2010)	二酸化チタン(アナタース)	遺伝子組み換え大腸菌 (Escherichia coli) 緑色蛍光タンパク (488nm で発色) をラベル	ばく露濃度：0, 5, 10, 20, 30, 50 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> • 電気泳動では大腸菌からの TiO2 でタンパク質の放出率が影響を受けた (低下及び増大) と確認できたが、緑色蛍光タンパクでは確認できなかった。 • したがって、この評価方法は適当ではなかった。
16	Jiang, X., C. Rocker, M. Hafner, S. Brandholt, R. M. Dorlich, G. U. Nienhaus	Endo- and exocytosis of zwitterionic quantum dot nanoparticles by live Hela Cells.	ACS NANO, 4(11) 6787-3797. (2010)	量子ドット (双イオン性) D-penicillamine でコーティングしたもの	Hela 細胞	ばく露濃度：10 nM	<ul style="list-style-type: none"> • ナノ粒子は細胞膜に集積した後、細胞内に取り込まれた。 • この細胞への取り込みは クラスリン媒介のものであった (取り込みの際に形成されるタンパク質を介しての取り込み)。 • 取り込まれた量子ドットは、エンドソーム~微小管~核周囲に輸送され、リソソームに集積し、さらに細胞外に排出された (細胞内濃度の半減期は 21 分)。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
17	Jovanovic, B., L. Anastasova, E. W. Rowe, D. Palic	Hydroxylated fullerenes inhibit neutrophil function in fathead minnow (<i>Pimephales promelas</i> Rafineswue, 1820)	Aquatic Toxicology, 101(4) 474-482. (2011)	水酸化フラーレン (C60(OH)24)	ファットヘッドミノー	ばく露濃度：急性毒性試験(7日間)= 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 4mg/L、急性毒性試験(14日間) = 0.2, 0.000002 mg/L、急性毒性試験(18日間：流水式) = 0.2, 2, 20 µg/g 体重、in vitro 試験 = 0.2, 2, 20, 200 µg/mL、in vivo 試験 = 10µg/g 体重(腹腔内注入)	<ul style="list-style-type: none"> ・飼育水への添加試験では 4mg/L (最高濃度) まで死亡等の影響は認められなかった。 ・腹腔内注入では、20µg/g 体重の注入で 12%の死亡が確認されたが、それよりも低い濃度では影響は認められなかった。 ・好中球の機能試験では、酸化性的細胞の破裂、顆粒放出等が確認され(濃度依存的)、明らかな影響を受けた。 ・その他、いくつかの遺伝子座で逆転写が有意に発生していた。 ・水酸化フラーレンは免疫活性に影響を与えるものと推測された。
18	Jovanovic, B., L. Anastasova, E. W. Rowe, Y. Zhang, A. R. Clapp, D. Palic	Effects of nanosized titanium dioxide on innate immune system of fathead minnow (<i>Pimephales promelas</i> Rafineswue, 1820)	Ecotoxicology and Environmental safety, online 2010.10.017() . (2010)	二酸化チタン	ファットヘッドミノー	ばく露濃度：急性毒性試験(7日間)= 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 1000 mg/L、in vitro 試験 = 0.1, 1, 10, 100, 1000 µg/mL、in vivo 試験 = 10µg/g 体重(腹腔内注入)	<ul style="list-style-type: none"> ・7日間の毒性試験では、全ての試験区(最高濃度 1000mg/L)で死亡は確認されなかった。 ・一方、好中球は、0.1µg/mL(飼育試験の最小濃度)及び 10µg/g 体重(腹腔内投与量：1段階のみ)で、酸化性的細胞の破壊、顆粒放出が確認された。 ・二酸化チタンは免疫活性になんらかの影響を与えるものと推測された。
19	Kadar, E., G. A. Tarran, A. N. Jha, S. N. Al-Subiai	Stabilization of engineered Zero-valent Nanoiron with Na-Acrylic copolymer enhances spermiotoxicity.	Environmental Science & Technology, doi10.1021/es1029848() . (2010)	ゼロ価の鉄ナノ粒子(NANOFER 25S：アクリル酸ナトリウムの共重合体で安定化されたもの)	海産二枚貝(イガイの類)(<i>Mytilus galloprovincialis</i>)の精子	ばく露濃度：0.1, 1, 10mg/L ばく露時間：2時間	<ul style="list-style-type: none"> ・ゼロ価の鉄粒子を精子にばく露させた後の受精試験では、30%程度の精子の死亡、20%程度の受精率の低下があり、あわせて 50%程度の生殖障害があるものとされた。 ・発生後の幼生の生長は遅延し、トロコフォア幼生のままでいるものが多かった。 ・10mg/Lのばく露群ではDNAの損傷が認められた(1mg/Lのばく露では認められなかった)。 ・海産二枚貝の精子を用いた、膜の損傷試験、生殖毒性試験および発生毒性試験は、迅速な判定方法として有用である。
20	Kang, G. S., P.A. Gillespie, A. Gunnison, H. Rengifo, J. Koberstein, L. Chen	Comparative pulmonary toxicity of inhaled nickel nanoparticles; role of deposited dose and solubility.	Inhalation Toxicology, 23(2) 95-103. (2011)	水酸化ニッケル(NH：不溶性)、硫酸ニッケル(NS：水溶性)、二酸化チタン、カーボン の各ナノ粒子	C57BL/6 マウス(3月齢、雄)	ばく露濃度：吸入試験 = NS-3720µg/m3、NH-570µg/m3、1222µg/m3 ばく露時間：4時間	<ul style="list-style-type: none"> ・不溶性のNHは、水溶性のNSに比べて、炎症誘発作用が大きかったことから、ニッケルの肺への影響はナノ粒子から溶解したものの影響ではないと考えられた。 ・一方、同程度の量のTiO2やカーボンブラックのナノ粒子では、類似の炎症反応が見られなかった。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
21	Kang, G. S., Patricia Anne Gillespie, Albert Gunnison, Andre Luis Moreira, Kam-Meng Tchou-Wong, Lung-Chi Chen	Long-Term Inhalation Exposure to Nickel Nanoparticles Exacerbated Atherosclerosis in a Susceptible Mouse Model	Environmental Health Perspectives, 119(2) 176-181. (2011)	ニッケル	マウス：脂質異常症、アポたんぱく質 E 欠損 (ApoE ^{-/-})、オス、5ヶ月齢、Taconic Farm より入手	ばく露方法：全身吸入ばく露 ばく露濃度：0-79µgNi/m ³ ばく露期間：5時間/日×5日/週で1週間	<ul style="list-style-type: none"> 動脈硬化を発症し易いマウス (ApoE^{-/-}マウス) を用いた5ヶ月のばく露試験で、ニッケルのナノ粒子の吸入は、アテローム性動脈硬の進行を悪化させた。 また、肺及び肺以外の器官に対して、明確な酸化ストレス及び炎症を発生させた (これは、大動脈におけるミトコンドリア DNA 損傷の増加、気管支肺胞洗浄液の炎症、肺の病理組織の変化、等の状況から判断された)。
22	Kim, K. T., S. J. Klaine, J. Cho, S. Kim, S. D. Kim	Oxidative stress responses of Daphnia magna exposed to TiO ₂ nanoparticles according to size fraction.	Science of the Total Environment, 408() 2268-2272. (2010)	二酸化チタン (ルチル：アナタース=30：100)	ミジンコ (Daphnia magna)	ばく露濃度：急性・慢性毒性試験= 0, 1, 2, 5, 10 mg/L、抗酸化酵素試験=0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 mg/L ばく露時間：急性毒性試験=48時間、慢性毒性試験=21日間、抗酸化酵素試験=48時間	<ul style="list-style-type: none"> 48時間の急性毒性試験では、全ての試験区で死亡率は20%程度以下であった (最高濃度 10mg/L)。 21日間の慢性毒性試験では、5mg/L以上の試験区で有意な死亡率の増加が認められた (死亡率 70-80%)。 再生産率には影響は認められなかった。 一連の抗酸化酵素を測定した結果、SOD (スーパーオキシドディスムターゼ) は増加しなかったものの、CAT (カタラーゼ)、GPX (グルタチオンペルオキシダーゼ)、GST (グルタチオン S-トランスフェラーゼ) は有意な濃度依存的な増加が認められ、明らかな酸化ストレスを受けているものと推測された。
23	Kim, Y. H., F. Fazlollahi, I. M. Kennedy, N. R. Yacobi, S. F. Hamm-Alvarez, Z. Borok, K. Kim, E. D. Crandall	Alveolar epithelial cell injury due to Zinc Oxide nanoparticle exposure.	American J. Respiratory and Critical Care Medicine, 182() 1398-1409. (2010)	酸化亜鉛 (球状のものとロッド状のもの2種類)	ラットの肺胞上皮細胞 (単層膜) (RAECMs)	ばく露濃度：11µg/mL、176µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> RT(経上皮電気抵抗：上皮細胞の密着性を示す指標)及びIEQ(等短絡電流：細胞の電氣的透過性を示す指標)は、11µg/mLではほとんど影響はなかったが、176µg/mLでは100%の減少を示した。50%影響濃度は約20µg/mLであった。この影響は不可逆的であった。 176µg/mLの濃度への24時間のばく露は、ミトコンドリア活性の低下、乳酸脱水素酵素の上昇、蛍光物質の透過性の上昇、活性酸素種の増加といった点でも影響が認められた。 したがって、酸化亜鉛のナノ粒子は、ラットの肺胞上皮細胞に、濃度依存的で時間依存的な影響を与えるものとされた。
24	Kitchin, K. T., R. Y. Prasad, K. Wallace	Oxidative stress studied of six TiO ₂ and two CeO ₂ nanomaterials: immuno-spin trapping results with DNA.	Nanotoxicology, Early online() 1-11. (2011)	6種類のTiO ₂ 、2種類のCeO ₂	DNA (仔ウシ胸腺)	ばく露濃度：10-3000µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> 試験に供した全てのナノ粒子 (TiO₂及びCeO₂)は、ナノ粒子の種類による程度の差はあるものの、DNA内のラジカルタンパクを増加させた。 最も影響が大きかったのはTiO₂(25nm Alfa Aesar)で、低濃度で影響が認められたのは、Degussa P25 TiO₂(φ 31nm)、Alfa Aesar TiO₂(φ 25nm)、Nanoamor CeO₂(φ 8nm)であった。 30µg/mL以下ではいずれのナノ粒子も影響は認められなかった。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
25	Kulthong, K., Sujittra Srisung, Kanittha Boonpavanit hakul, Wiyong Kangwansup amonkon and Rawiwan Maniratanachote	Determination of silver nanoparticle release from antibacterial fabrics into artificial sweat.	Particle and Fibre Toxicology, 7(8) 1-9. (2010)	市販の抗菌性繊維 6 検体 (B、C、D、E、F、G) 対照群として実験室内で作成した抗菌繊維 (A0、A1、A2、A3、A4)	抗菌性試験：グラム陽性菌=S. aureus、グラム陰性菌=E. coli	試験時間：24 時間	<ul style="list-style-type: none"> ・抗菌活性としては、0～99%の増殖阻害を示した。 ・人工汗への銀粒子の溶出量は 0～322mg/繊維 kg であった（ただし、銀ナノ粒子を含む繊維の前後の濃度測定に基づくため、粒子としての剥離がイオンとして溶解したのかは不明）。
26	Lapied, E., E. Moudilou, J. Exbrayat, D. H. Oughton, E. J. Joner	Silver nanoparticle exposure causes apoptotic response in the earthworm Lumbricus terrestris(Oligogae ta)	Nanomedicine, 5(6) 957-984. (2010)	銀ナノ粒子 a,b	ミミズ (Lumbricus terrestris(Oligogae ta)) の成虫	<p>ばく露濃度：実験 1 (水のみでミミズを飼育) a 粒子 = 1,10,100mg/L、b 粒子 = 1,5,10,20mg/L、実験 2 (投餌試験) a 粒子 = 1,10,100mg/kg 餌、b 粒子 = 1,5,10,20mg/kg 餌、実験 3 (飼育試験) a 粒子 = 1,10,100mg/kg 土壌、b 粒子 = 1,5,10,20mg/kg 土壌</p> <p>ばく露期間：実験 1 (水のみでミミズを飼育) 24 時間、実験 2 (投餌試験) 2,4,8 週間、実験 3 (飼育試験) 4 週間</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・実験 1 (水のみでの飼育試験) では、大きいサイズのものは 10mg/L では影響はなかったが、小さいサイズの粒子では 5mg/L 以上で濃度依存的な影響が認められた。 ・実験 2 (餌に混入した試験) では、10mg/kg ではいずれのサイズのものも影響はなく、100mg/kg で両サイズとも 7 細胞/mm² 程度の細胞死であった。 ・実験 3 (土壌に混入した試験) では、いずれの粒子についても 10mg/kg 以上で濃度依存的な影響が確認された。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
27	Letts, R. E., T. C. B. Pereira, M. R. Bogo, J. M. Monserrat	Biologic responses of bacteria communities living at the mucus secretion of Common Carp(Cyprionus caprio) after exposure to the carbon nanomaterial Fullerene(C60)	Arch. Environ. Contam. Toxicol., Published online: 12 November 2010(). (2010)	フラーレン	コイの粘膜中から分離した細菌群集	ばく露濃度: 0, 0.1, 1, 10mg/L ばく露時間: 1, 2, 3 時間	<ul style="list-style-type: none"> コイの鰓から分離した細菌 (細菌群集は主にグラム陰性で、Aeromonas 属が優占株) の活性は、最高 10mg/L で 3 時間のばく露でも影響はなかった。 ROS の形成でみた場合、影響が見られた試験区とそうでない区があった。反応のない細菌群集では、反応を示した細菌群集よりも過酸化ラジカルに対する抗酸化抵抗がより高いことが認められた。
28	Li, M., K. J. Czymmek, C. P. Huang	Responses of Ceriodaphnia dubia to TiO2 and Al2O3 nanoparticles: A dynamic nano-toxicity assessment of energy budget distribution.	J. hazardous Materials, 187() 502-508. (2011)	TiO2 (Degussa P25 アナターズ: ルチル= 70:30 光触媒作用がある) 及び Al2O3 (γ- 光触媒作用がない)	ミジンコ	ばく露濃度: 10-200 mg/L ばく露時間: 24 時間	<ul style="list-style-type: none"> ミジンコの成長に対しては、いずれのナノマテリアルも影響濃度は 100mg/L 以上であった。 再生産率の EC50 は TiO2 で 42mg/L、Al2O3 で 45mg/L であった。 一方、動的エネルギー収支 (ミジンコの捕食、同化、消化等のエネルギー分布) では、ナノマテリアルの存在により、ミジンコは同化および消費のためのエネルギーを低下させる (餌の捕食等をしなくなる) ものとされた。
29	Liberda, E., N., Azita K.Cuevas, Patricia A.Gillespie, Gabriele Grunig, Qingshan Qu, Lung Chi Chen	Exposure to inhaled nickel nanoparticles causes a reduction in number and function of bone marrow endothelial progenitor cells	Inhalation Toxicology, 22(S2) 95-99. (2010)	ニッケル	10-12 週齢、24C57BL/6 マウス	ばく露方法: 全身吸入ばく露試験 ばく露濃度×ばく露時間: 86µg/m3-Ni×5days×5h/day、725µg-Ni/m3×3days×5h/day、1237µg-Ni/m3×2days×5h/day	<ul style="list-style-type: none"> 低濃度(86µg/m3)及び中濃度 (725µg/m3) ばく露により、正常に機能しない EPCs (内皮前駆細胞)が多くなり、骨髄中の細胞数が減少した。 Ni ナノ粒子にばく露したマウスから採取した培養 EPCs では、機能面での明らかな差がみられた。 試験結果からすれば、ニッケルナノ粒子の吸入ばく露は、アテローム性動脈硬化を促進させる可能性があるものと考えられた。
30	Lima, R., L. Feitosa, A. E. S. Pereira, M. R. Moura, F. A. Aouada, L. H. C. Mattoso, L. F. Fraceto	Evaluation of the Genotoxicity of Chitosan Nanoparticles for use in food packaging films.	J. Food Science, 75(6) N89-N96. (2010)	キトサン(CS) (メタアクリル酸(PMAA)と結合させたもの) (60、82、111nm の3種類の粒径)	in vitro: Allium cepa、細胞遺伝試験: ヒトの末梢血液を培養したもの	ばく露濃度: 1.8, 18, 180 mg/L	<ul style="list-style-type: none"> 82nm, 111nm × 180mg/L の試験区では細胞分裂の指数に影響が認められたが、60nm のものでは影響は認められず、いずれの粒径のものでも、18mg/L 以下では、培養細胞の増殖に影響はなかった。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
31	Ma, J. Y., H. Zhao, R. R. Merger, M. Barger, M. Rao, T. Meighan, D. Schwegler-Berry, V. Castranova, J. K. Ma	Cerium oxide nanomaterial-induced pulmonary inflammation and alveolar macrophage functional change in rats.	Nanotoxicology, Early online() 1-14. (2010)	酸化セリウム (10%溶液)	Sprague-Dawley ラット(SPF) 雄、6 週齢	ばく露方法：気管内投与 (単回) ばく露量:0.15, 0.5, 1, 3.5, 7mg/kg 体重	<ul style="list-style-type: none"> ばく露後 1 日目で肺洗浄液から分離したマクロファージでは、NO 生産の低下、IL-12 生産の増加がみられ、カスパーゼ 9 及び 3 の活性 (アポトーシスに関与する酵素) が認められた。 また、サイトカインに関する試験では、ばく露後 1 日目では signaling-1、ばく露後 28 日目では arginase-1 が増加し、osteopontin は 1 日目でも 28 日目でも顕著に増加した。 以上のことから、酸化セリウムは、肺の炎症、損傷及び線維化を招くものと考えられた。
32	Maurer-Jones, M., Y. Lin, C. L. Haynes	Functional assessment of metal oxide nanoparticle toxicity in immune cells.	ACS NANO, 4(6) 3363-3373. (2010)	SiO ₂ 、多孔性 SiO ₂ 、TiO ₂	3T3 細胞 (スイス 3T3 線維芽細胞)	ばく露濃度：0~400 µg/mL ばく露時間：24 時間	<ul style="list-style-type: none"> 試験に用いたナノ粒子は全て肥満細胞に取り込まれ、分泌顆粒に集積した。 微小電流測定によれば、肥満細胞の顆粒からの化学メッセンジャーの分布に機能変化が生じているものとされた。 2 種類の SiO₂ を比較すると、多孔性 SiO₂ の方が影響が大きかったが、接触面積が多いためと考えられた。
33	McLeish, J. A., T. J. A. Chico, H. B. Taylor, C. Tucker, K. Donaldson, S. B. Brown	Skin exposure to micro- and nano-particles can cause haemostasis in zebrafish larvae.	Thrombosis and Haemostasis, 103(4) 797-807. (2010)	10 種類のナノ粒子 (ラテックスビーズ (3 種類の電荷)、NiO、TiO ₂ (アナタース)、ZnO、SiO ₂ 、カーボンブラック、Al ₂ O ₃ (dokuseiarumono(T300)と毒性のないもの(A125))	ゼブラフィッシュ (Danio rerio) の仔魚 (受精後 3-4 日)	ばく露濃度：20-125 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> いくつかのナノ粒子 (ディーゼル排ガス粒子、carboxy-charged ラテックスビーズ、毒性のある Al₂O₃ (TM300)) により、皮膚及び腸管の損傷、好中球の表皮への浸入、尾部筋肉部の虚血及び尾部動脈での血液凝固の発生が認められたが、毒性のない Al₂O₃ (A125) では同様の影響は観察されなかった。 硫化ナトリウム等の阻害剤により、Al₂O₃ やラテックスビーズの毒性は緩和されたが、ディーゼル排ガス粒子についてはその効果はなかった。 皮膚や腸管を通して取り込まれたナノ粒子は、血液凝固の直接の原因にはならないが、組織の損傷と血液凝固に伴う皮膚のバリアー機能を阻害する可能性がある。
34	Mendonca, E., M. Diniz, L. Silva, I. Peres, L. Castro, J. B. Correia, A. Picado	Effects of diamond nanoparticle exposure on the internal structure and reproduction of Daphnia magna	J. hazardous Materials, 186(6) 265-271. (2011)	ダイヤモンド (10% 溶液)	ミジンコ (Daphnia magna)	ばく露濃度：3.1-50mg/L (予備試験)、0.31-5mg/L (本試験) ばく露期間：21 日間	<ul style="list-style-type: none"> 12.5mg/L 以上では 100% が死亡し、1.3mg/L 以上では再生産に影響があった。 粒子は外殻表面に付着するとともに、消化管内に集積したことから、消化管の餌の吸収が阻害されたと思われる。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
35	Miao, A., X. Zhang, Z. Luo, C. Chen, W. Chin, P. H. Santschi, A. Quigg	Zinc Oxide-Engineered nanoparticles: dissolution and toxicity to marine phytoplankton.	Environmental Toxicology and Chemistry, 29(12) 2814-2822. (2010)	二酸化亜鉛	海産植物プランクトン Thalassiosira pseudonana (CCMP 1335)	ばく露濃度：ナノ粒子=0~1.52E-7[M]、 ウルトラフィルター通過物=2.91E-10 ~ 6.11E-5[M]、 Zn ²⁺ 溶液 (free-Zn) = 2.73E-10~ 1.44E-5[M] ばく露時間=最大 6 日間	<ul style="list-style-type: none"> 海産植物プランクトンに対する酸化亜鉛の毒性は、溶解した Zn によって生じることが認められた。 Zn の溶解は比表面積と pH に影響され、海水中では増加する。 海水のような媒体中での影響で、ナノマテリアルの影響・挙動を検討する場合は、溶解性は無視できないものと考えられた。
36	Miao, A., Zhiping Luo, Chi-Shuo Chen, Wei-Chun Chin, Peter H.Santschi, Antonietta Quigg	Intracellular Uptake: A Possible Mechanism for Silver Engineered Nanoparticle Toxicity to a Freshwater Alga Ochromonas danica	PLoS ONE, 5(12) 1-8(e15196). (2010)	工業銀ナノ粒子 (Ag-ENs) (カルボキシで修飾した Ag-Ens)	黄藻類： Ochromonas danica(UTEX 1298)	ばく露濃度： 0~約 300 μM ばく露時間： 2 日間	<ul style="list-style-type: none"> 細胞内にかなりの量の銀ナノ粒子の取り込みが確認された。 表面に修飾基をつけた銀ナノ粒子は、溶液中では一旦は分散はするものの、時間とともに凝集体を形成する。 実験中の銀イオンの溶解はかなり多かった。 (増殖率への影響については明記無し)
37	Moon, E., G. Yi, J. Kang, J. Lim, H. Kim, S. Pyo	An increase in mouse tumor growth by an in vivo immunomodulating effect of Titanium Dioxide nanoparticles.	J. Immunotoxicology, 8(1) 56-67. (2011)	二酸化チタン (sigma Cat No. 637254 と Cat No. 634662)	<ul style="list-style-type: none"> in vitro B 1 6 F 1 0 マウス黒色腫細胞 in vivo C57BL/6J マウス (週齢等は不明) 	<ul style="list-style-type: none"> in vitro ばく露濃度： 0~100μg/mL in vivo ばく露方法：腹腔内投与 (毎回×7 日間) 28 日間 ばく露量：10mg/kgbw 	<ul style="list-style-type: none"> リンパ球増殖試験 (LPS(リボポリサッカライド) 又は ConA(concanavalin A)を指標とした) では、濃度依存的に活性が低下した。 骨髄由来マクロファージの NO 生産についても、影響を受けていところが確認された。 腹腔内への投与により脾臓細胞の数は減少した。 2 種類のリンパ球細胞 (CD4+と CD8+)は数が顕著に減少し、他のリンパ球細胞 (B-)は増殖が遅くなった。 28 日間毎日 TiO₂ を腹腔内に投与したマウスでは、皮下に移植した腫瘍は顕著に増大した。 以上のことから、TiO₂ のナノ粒子は、リンパ球活性の低下、マクロファージの活性低下、ナチュラルキラー細胞の減少といった影響を与え、結果的に腫瘍の増加を招くものと考えられた。
38	O'Brien N. J. & E. J. Cummins	A risk assessment framework for assessing metallic nanomaterials of environmental concern: Aquatic exposure and behavior.	Risk Analysis, DOI:10.1111(0). (2010)	TiO ₂ , Ag, CeO	[リスク評価に関する文献なので、実験データはない]	[リスク評価に関する文献なので、実験データはない]	<ul style="list-style-type: none"> 3 種類のナノ材料 (光触媒塗料に含まれる TiO₂、食品容器包装に含まれる Ag、燃料中に含まれる CeO) について使用量、排出量、吸着率 (土壌等) の様々なデータを用い、主にランキングの手法によって水域でのリスクの大小を判定した。 このリスク評価手法により、リスクの相互比較・優劣の明確化が可能になる。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
39	Osman, I. F., A. Baumgartner, E. Cemeli, J. N. Fletcher, D. Anderson	genotoxicity and cytotoxicity of Zinc Oxide and Titanium Dioxide in HEp-2 cells	Nanomedicine, 5(8) 1193-1203. (2010)	酸化亜鉛、二酸化チタン(アナタース)	Hep-2 細胞(ヒト喉頭癌由来培養細胞)	ばく露濃度：10, 20, 50, 100 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ・ZnO(50,100µg/mL)、TiO₂(50µg/mL)の高濃度群では、生殖毒性(Comet assay 及び MN 試験に基づく)の面で影響が認められた。 ・細胞毒性(NRU、MTT assay)、チロシンのリン酸化(悪性細胞では出現しない)についての試験では、ZnO でより大きな変化が認められた。
40	Oszlanczi, G., T. Vezer, L. Sarkozi, E. Horvath, Z. Konya, A. Papp	Functional neurotoxicity of Mn-containing nanoparticles in rats.	Ecotoxicology and Environmental safety, 73(2004-2009. (2010)	二酸化マンガン	Wister rat (9 週齢雄 体重 280-320g)	ばく露方法：気管内点滴注入 ばく露量：2.63mg/kg 体重、5.26mg/kg 体重 (1 回当たり) ばく露期間等：1 回/日、5 日/週、3-9 週間	<ul style="list-style-type: none"> ・6 週目以降で体重の増加率が低下した。 ・肺の重量が濃度依存的に増加した。 ・9 週間のばく露では、脳及び血液中のマンガンレベルが顕著に増加した。 ・歩行が少なくなり静止することが多くなった。 ・電気生理学的検査では、大脳皮質活性の低下が認められた。 ・以上から、マンガンは神経毒性を有する。
41	Patlolla, A., B. Patlolla, P. Tchounwou	Evaluation of cell viability, DNA damage, and cell death in normal human dermal fibroblast cells induced by functionalized multiwalled carbon nanotube.	Mol Cell Biochem, 338(225-232. (2010)	多層カーボンナノチューブ (-COOHで修飾されたもの)	NHDF 細胞 (正常ヒト皮膚線維芽細胞)	ばく露濃度：0,40,200,400µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> ・全ての試験区で、DNA の損傷及び細胞のアポトーシスが発生した。 ・本試験で用いられたオーソドックスな試験方法でも、MWCNT には濃度依存的な影響があることが確認された。
42	Pelletier, D. A., A. K. Suresh, G. A. Holton, C. K. McKeown, W. Wang, B. Gu, N. P. Mortensen, D. P. Allison, D. C. Joy, M. R. Allison, S. D. Brown, T. J. Phelps, M. J. Doktycz	Effects of engineered Cerium Oxide nanoparticles on bacterial growth and viability.	Applied and Environmental Microbiology, 76(24) 7981-7989. (2010)	酸化セリウム	グラム陰性細菌 2 種 (Escherichia coli、Shewanella oneidensis)、金属還元細菌、グラム陽性細菌 (Bacillus subtilis)	ばく露濃度：ディスク試験=0.5%、生菌数等の試験=50, 100, and 150 mg/L	<ul style="list-style-type: none"> ・ナノ粒子の大きさに依存した阻害は、最近の種類で異なった (Escherichia coli と Bacillus subtilis では明らかな阻害、Shewanella oneidensis では影響はなし)。 ・異なる細菌群集について検討を進めることが必要である。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
43	Roda, E., T.Coccini, D.Acerbi, S.Barni, R.Vaccarone, L.Manzo	Comparative pulmonary toxicity assessment of pristine and functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes intratracheally instilled in rats:morphohistochemical evaluations	Histol Histopathol, 26(1) 357-367. (2011)	カーボンナノチューブ(CNTs) : カルボキシル官能化した MW-COOH と、アミノコーティングした MW-NH ₂ 。	Sprague-Dawley rat : オス 25 匹、12 週齢、Charles River Italia(Calco, Italy)より購入。	ばく露方法 : 気管内投与 (単回) (European Council Directive 86/609/EEC) ばく露量: 1mg/kg b.w	<ul style="list-style-type: none"> 肺には、CNT を取り込んだとみられる、黒くて粒子状物質を含むマクロファージが認められ、その存在は肺胞や細気管支レベルまで及んだ。 肺胞の壊死、微小出血巣の存在が確認された。 アポトーシスと細胞増殖の指標である TUNEL 及び PCNA では、細気管支、肺胞、マクロファージのレベルで、明らかな影響を認めた。 一方、コラーゲンでは明確な変化は確認されなかった。
44	Rodea-Palomares, L. K. Boltes, F. Fernandez-Pinas, F. Legandes, E. Garcis-Calvo, J. Santiago, R. Rosal	Physicochemical characterization and ecotoxicological assessment of CeO ₂ Nanoparticles using two aquatic microorganisms.	Toxicological Science, 119(1) 135-145. (2011)	酸化セリウム (ナノ粒子 (N10、N25、N50、N60)及びミクロンサイズの粒子(B5000))	緑藻 : Pseudokirchneriella subcapitata、藍藻 : Anabaena CPB4337 (発光藍藻)	ばく露濃度 : 0~100mg/L ばく露時間 : 1~24 時間	<ul style="list-style-type: none"> ナノ粒子による藍藻の発光阻害(24 時間)に関する EC₅₀ は、0.27-6.3mg/L であった (ミクロンサイズでは 8.9mg/L)。 また、緑藻の増殖阻害(EC₅₀)は 2.4-29.6mg/L であった。 ナノ粒子の溶解性が乏しいことを考慮すれば、上記の影響は細胞膜への作用にあるものと考えられた。
45	Shoultz-Wilson, W. A., B. C. Reinsch, O. V. Tsyusko, P. M. Bertsch, G. V. Lowry, J. M. Urine	Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (Eisenia fetida)	Nanotoxicology, Early online() 1-13. (2010)	銀ナノ粒子 (表面コーティング 2 種: ポリビニルピロリデン (PVP)、オレイン酸 (OA))	ミミズ (Eisenia fetida) 体重 : 0.243-0.752 g (平均 0.450 ± 0.101 g)	ばく露方法 : 評価対象物質を混入した土壌で飼育したミミズの死亡、増殖 (卵のう数) 等を測定する (OECD2004) ばく露濃度 (砂中の濃度) : 約 10mg/kg、約 100mg/kg、約 1000mg/kg ばく露期間 : 28 日間	<ul style="list-style-type: none"> 実験に供した濃度 (最高 1000mg/kg)では、ミミズの死亡及び成長には影響は認められなかった。 一方、増殖 (卵のう数の調査) では、AgNO₃ : 94.21mg/kg ばく露試験区、PVP 銀ナノ粒子 : 727.6mg/kg 試験区、OA 銀ナノ粒子 : 773.3mg/kg 試験区で顕著に減少した。 ミミズは濃度依存的に銀を体内に蓄積した。BAF は AgNO₃ で高く (約 0.09)、ナノ粒子では小さかった (0.01~0.02)。 銀ナノ粒子の 2 種類のコーティングによる影響の差については、生残、成長、増殖、蓄積性で違いはなかった。
46	Su, Y., M. Hu, C. Fan, Y. He, Q. Li, W. Li, L. Wang, P. Shen, Q. Huang	The cytotoxicity of CdTe quantum dots and the relative contributions from related cadmium ions and nanoparticle properties.	Biomaterials, 31(10) 4829-4834. (2010)	CdTe 量子ドット、CSS 量子ドット (CdTe/CdS/ZnS core-shell-shell)	HEK293 細胞 (ヒト腎臓細胞)	ばく露濃度 : 3 mM~187.5 nM	<ul style="list-style-type: none"> 細胞内の Cd イオン濃度が同等でも、CdTe 量子ドットの毒性が Cd イオンのみの場合よりも影響が大きく、Cd イオン以外の影響が関与することが認められた。 影響は細胞内に取り込まれた量子ドットの総量に依存した。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
47	Tarantola, M., A.Pietuchi, D. Schneider, J. Rother, E. Sunnick, C. Rosman, S. Pierrat, C. Sonnichsen, J. Wegener, A. Janshoff	Toxicity of gold-nanoparticles: Synergistic effects of shape and surface functionalization on micromotility of epithelial cells.	Nanotoxicology, Early online() 1-15. (2010)	金ナノ粒子 (球状及びロッド状)	MDCK II 細胞	ばく露濃度: 0-40µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> 形状の違いについてみた場合、毒性: 球形のナノ粒子>ロッド状、取り込まれ易さ: ナノ粒子>ロッド状 (図からの読み取りでは、ロッド状の粒子の EC50 は約 15µg/mL で、球状のものは 1µg/mL 程度) 細胞の微細運動・変化 (基質インピーダンス感知法 (ECIS) 及び水晶振動子 (QCM: 微小な重量変化を測定する装置) による) の結果は、旧来の MTS 試験と同様の結果が得られ、測定方法として有用と考えられた。
48	Tedesco, S., Hugh Doyle, Julian Blasco, Gereth Redmond, David Sheehan	Oxidative stress and toxicity of gold nanoparticles in Mytilus edulis	Aquatic Toxicology, 100() 178-186. (2010)	金ナノ粒子 (AuNP)	Mytilus edulis (ムラサキイガイ): 殻長 5.5cm、重量約 20.3 g、軟体部湿重量 5.7g、Cork Harbour(Ireland) でサンプリング。	ばく露方法: タンク内で飼育しているイガイに金ナノ粒子液を添加 ばく露濃度: 750ppb ばく露時間: 24 時間	<ul style="list-style-type: none"> 金ナノ粒子は消化腺に蓄積し、消化腺では脂質化過酸化反応の増大と、チオール含有たんぱく質の減少が認められた。 血リンパにおけるリソソーム膜の安定性は、試験対象物質で全体に低下したが、特に金ナノ粒子で顕著であった。 全ての実験区において、NRRT (ニュートラルレッドの保持時間: 短くなると細胞が損傷を受けていることになる) の明らかな減少が確認され、特に金ナノ粒子で顕著であった。 脂質過酸化反応は消化腺、えら、外套膜で検出されたが、マロンデアルデヒド (Malondealdehyde: 過酸化脂質の生成の指標となる) レベルでみた場合には、鰓及び外套膜では、対照区、塩化カドミウム区、金ナノ粒子区での違いはみられなかったが、金ナノ粒子の試験区では、消化腺中のマロンデアルデヒドが明らかに増加した。
49	Thubagere, A., B. M. Reinhard	Nanoparticle-induced apoptosis propagates through hydrogen-peroxide-mediated bystander killing: insights from a human intestinal epithelium in vitro model	ACS NANO, 7() 3611-3622. (2010)	ポリスチレン (2種類の修飾 (カルボン酸、アミン))	Caco-2 cell (ヒト結腸癌由来の細胞株) (単層モデル)	ばく露濃度: 0.3, 0.9, 2.0, 4.0, 6.6 nM ばく露時間: 16 時間	<ul style="list-style-type: none"> 細胞の活性判定は 12 時間以内で十分であった。 ナノ粒子は細胞のアポトーシスを引き起こし、その後のバイスタンダー細胞死を誘発した。 過酸化水素を分解するカタラーゼの添加によりアポトーシスは顕著に減少した。 以上のことから、ナノ粒子はヒトの腸のバリアー機能に有害な影響を及ぼすものと推測された。
50	Thurn, K. T., H.Arora, T. Paunesku, A. Wu, E. M. B. Brown, C.Doty, J. Kremer, G. Woloschak	Endocytosis of Titanium Dioxide nanoparticles in prostate cancer PC-3M cells.	Nanomedicine, Online(). (2010)	TiO2 (ARS 蛍光物質 アリザニンレッドを修飾したもの)	前立腺がん細胞 PC-3M	ばく露濃度: TiO2 のみ=0-540 nM、TiO2+ARS=0-200 nM、ARS のみ=0-60 µM	<ul style="list-style-type: none"> TiO2 ナノ粒子の細胞内取り込み過程について、クラスリン介在、カベオリン介在 (両者とも物質の輸送に関与するタンパク質) の輸送・取り込み過程が認められた。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
51	Tiwari, D. K., Takashi Jin, J.Behari	Dose-dependent in-vivo toxicity assessment of silver nanoparticle in Wistar rats	Toxicology Mechanisms and Methods, 21(1) 13-24. (2011)	銀ナノ粒子	Wister rat : 8-10 週齢、体重 200-225gm	ばく露方法：静脈注射 ばく露濃度：4, 10, 20, 40 mg/kg ばく露時間：5 日間隔で 32 日間実施	<ul style="list-style-type: none"> 生物化学的試験からすると、銀ナノ粒子の 10mg/kg 以下の投与では安全であるが、20mg/kg 以上の高濃度投与では毒性があることが確認された。(血液の状態(白血球数、血小板数、ヘモグロビン数、赤血球数)、肺機能酵素 (ALT、AST)、ALP、GGTP、ビリルビンは増加の程度、血清中の ROS の増加、ゲル電気泳動からみた DNA らせん構造の損傷)。 体重増加についても、高濃度群で影響が認められたが、灰、腎臓、脾臓すべての器官の体重当たりの重量変化は確認されなかった。 ナノ粒子は肺及び腎臓細胞の細胞質や核膜のいたるところに存在した。肺及び腎臓の細胞は高濃度群で異常構造が認められたが、どの投与区についても、細胞の激しい損傷はみられず、細胞形態及び膜も破壊されずに残っていることがわかった。
52	Wang, L., L. Wang, W. Ding, F. Zhang	Acute toxicity of Ferric Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles in rats.	J. Nanosci. Nanotechnol., 10(12) 8617-8624. (2010)	酸化鉄、酸化亜鉛	Wister rat (雄、体重 140-160g)	ばく露方法：2 回/日、powder spray を用いて鼻腔に直接注入 ばく露量：酸化鉄＝8.5mg/日/kgBW、酸化亜鉛＝2.5mg/日/kgBW ばく露期間 3 日間	<ul style="list-style-type: none"> 酸化鉄ナノ粒子及び ZnO ナノ粒子とも、死亡は発生させなかったが、衰弱、拒食、倦怠といった症状が認められた。 臓器中の分布傾向は明瞭ではなかったが、ZnO ナノ粒子は 12, 36 時間後に肝臓に、酸化鉄ナノ粒子は 36 時間後に肝臓に蓄積する傾向があった。 血清の生化学的検査では、酸化鉄ナノ粒子及び ZnO ナノ粒子の両試験区で有意に低下が認められた。 その他、肝臓の病変、肝細胞の壊死範囲の拡大、肺組織の炎症等の状態が認められた。
53	Wu, X., Yabin Tan, Hui Mao, Minming Zhang	Toxic effects of iron oxide nanoparticles on human umbilical vein endothelial cells	International Journal of Nanomedicine, 5() 385-399. (2010)	マグネタイト (酸化鉄ナノ粒子) : デキストラン又はクエン酸コーティング	ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs) : Cascade Biologics (Portland, OR, USA) より購入	ばく露濃度：0.1～20mM ばく露時間：1,6,24 時間	<ul style="list-style-type: none"> 細胞骨格構造は大きな影響を受けた。 細胞移行/侵入は、低濃度 (0.1mM 鉄) においても抑制された。 in vitro での細胞試験 (生死) は、濃度依存的な影響を示した。 電子顕微鏡観察では、細胞質内、鉄ナノ粒子の多くが細胞内の核周 (特にリソソームのようなエンドサイトーシス小胞) に蓄積していた。吸収初期には、膜の孔部の形成、リソソームが鉄濃度とともに増加するなど、鉄ナノ粒子の存在に対する細胞反応の反応が認められた。
54	Zhu, M., Y. Wang, W. Feng, B. Wang, M. Wang, H. Ouyang, Z. Chai	Oxidative stress and apoptosis induced by iron oxide nanoparticles in cultures human umbilical endothelial cells.	J. Nanoscience and Nanotechnology, 10() 8584-8590. (2010)	酸化鉄 (Fe ₂ O ₃ 、Fe ₃ O ₄)	ECV304 細胞 (ヒト臍帯動脈内皮細胞)	ばく露濃度：2, 20, 100 µg/mL ばく露時間：最大 4 時間	<ul style="list-style-type: none"> Fe₂O₃ 及び Fe₃O₄ へのばく露により、細胞への酸化ストレス、NO 生成の増加、ミトコンドリアの膜の活性低下、アポトーシスの発現といった減少が認められた。 動脈細胞に対する影響として、心臓疾患、動脈硬化、高血圧といった疾患についても懸念された。

No	著者	論文名外国語	出典	対象物質	試験生物	試験用量、期間、投与方法	試験結果
55	Zook, J. M., R. I. MacCuspie, L. E. Locascio, M. D. Halter, J. T. Elliott	Stable nanoparticle aggregates/agglomerates of different sizes and the effect of their size on hemolytic cytotoxicity.	Nanotoxicology, Early online() 1-14. (2010)	4種類のナノ粒子 (クエン酸で安定化させた金ナノ粒子、クエン酸で安定化させた銀ナノ粒子、酸化セリウム、アミノ基で修飾されたポリスチレン)			<ul style="list-style-type: none"> • BSA (ウシ血清アルブミン) は溶液中でナノ粒子を安定化させ、均一な分散状態を形成する。 • 水中に銀ナノ粒子を分散させた後の、BSA添加のタイミングとして、0～10分後とすることで、41～1400nmの凝集物を、標準偏差10%の範囲で調整可能であった (時間がたつほど大きくなる)。 • 粒子径が安定化するまで約2日間が必要である。 • その他、攪拌速度、攪拌の間隔等によっても凝集状態 (粒子の大きさ) は異なった。

