

3. ナノマテリアル等の安全対策に係る国際動向調査

3.1. ナノマテリアル等利用製品の国際規制動向

(1) 概要

ナノマテリアル及びナノマテリアルを含有する利用製品の規制は、国別に提案されたり、一部開始されたりしているが、国際的な規制は存在しない。国別、地域別に規制が行われている現状は(3)で詳述する。また、規制のためには、規制対象を明確にしなければならないので、定義が必要であるが、その点については(2)で取り上げる。本節では全体的な動向を概観する。

ナノマテリアルの規制は、先ず規制当局による生産・使用の実態の把握から始まる。ナノマテリアルの企業からの報告/通知の制度である。先ず米国の EPA が 2008 年にスタートさせた「ナノマテリアルスチュワードシッププログラム」がある。企業から自主的な報告を求めたものであったが、参加する企業が少ないため 2 年後には中止された。しかし EPA はその後も意思を変えず、2017 年 8 月に一回限りのナノマテリアル報告規則が発効するに至っている。今後このデータをもとにどのように EPA が規制を考えるか注目される。

欧州ではかねてより NGO から、ナノマテリアルの生産・使用実態を EU 当局が把握し公開するよう求めてきたが、議論が長引いていた状況の中で、各国は独自に国内で実施し始めた。これは EU 加盟国にとどまらない動きである。EU としては、制度ではなく、ECHA が独自に収集したデータを公開するウェブサイトを立ち上げることで、EU 市場での情報の透明性を高めることとした。以上の動向の詳細は(2)で紹介する。

化学物質の規制は、それぞれの国で独自の法律が定められており、新規物質については、その認可の際にいろいろな規制(有害性を調査する実験を課する、生産量を制限する、生産・取り扱い時・環境放出時の安全対策を求める等)がある。ナノマテリアルはその多くが新規化合物でなく、既存物質の粒径が小さくなっただけのものであるため、すでに対応が決まっており、規制はできない。

米国ではカーボンナノマテリアルは新規物質であるために TSCA が適用されており、2017 年度においても多層カーボンナノチューブへの SNUR 適用などの動きがあったが、既存物質には適用されない。多くの国が米国と似た状況である。我が国は化審法が元素に適用されないため、カーボンナノマテリアルは新規物質であっても届け出が必要ではない。

EU では、2006 年からすべての化学物質は REACH によって新たに登録、評価、認可、制限が生産量・輸入量によって段階的に行われており、2018 年 5 月末が最終期限である。当局は既存物質のナノマテリアルもこの中で規制できるとしている。さらに既存物質のナノ形態の物質には、登録文書をアップデートしなければならないとしている。しかし現在、ナノマテリアルに対して実施しなければならない安全性試験等については提案中である。

ナノマテリアルを含む製品の規制では、EU が先行し、2009 年に化粧品規則が改訂され 2013 年から施行されている。ナノマテリアル条項が含まれ、安全性報告書の作成等とともに成分リストへの明記が規定されている。そのほかに医療機器、食品、殺生物剤規則にも及んでいる。本年度では、化粧品チェックリストやインベントリーの発表や食品接触材料での動きがあった。米国では、FDA や CPSC がナノマテリアルに関して活動している。

ナノマテリアルを扱う労働者のナノマテリアルへのばく露からの保護も当局の規制が関係している。米国では NIOSH がこの分野に注力しており、研究も含めて活発な活動を展開している。

(2) 規制のためのナノマテリアルの定義

ナノマテリアルを規制するには、規制上の厳密な定義が必須である。。ここではナノマテリアルの定義をめぐる各国・地域の動向を述べる。

既に、2008年に国際標準化機構(ISO)は、ナノテクノロジーの用語について標準化を検討し、ナノマテリアルについては「何らかの外径寸法がナノスケールであるか、又はナノスケールにある内部構造若しくは表面構造を有する材料」と定義し、ナノスケールとは概ね1 nmから100 nmの範囲とした。しかしこの定義は個々の粒子がナノマテリアルかどうかを決めるものであって、現実の材料はサイズや形状の異なる粒子の集合体であり、サイズの分布がある。また粒子同士がいろいろな結合/凝集状態にある場合も多い。従って規制においてナノマテリアルを特定するには、その定義を明確に規定しておかなければならない。

欧州委員会は、さらに規制に用いる定義として含有量や起源の要素を加味し、以下の定義を策定した。『ナノマテリアル』とは、非結合の状態にあるか、又は強凝集体(アグリゲート)若しくは弱凝集体(アグロメレート)であり、かつ、個数基準サイズ分布で50%以上の粒子が、一つ以上の外径が1nmから100 nmのサイズ範囲にある粒子を含有する、天然産、又は偶然にできた、又は製造された材料(マテリアル)をいう。欧州委員会は、本定義を欧州連合(EU)の法令その他で、共通に用いるべきナノマテリアルの定義として勧告した。

その後制定されたEUの殺生物製品規則、EU加盟国であるフランスが制定した年次報告制度、またベルギー、デンマークで制定を予定している登録、報告制度では、起源について製造されたものに限定するか、天然産や偶成物を含めるかの点では各様であるが、その他はこの勧告に基づいた定義を採用している。

また、米国連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法(FIFRA)でも今後の規制案の中で、同様のサイズに基づく定義を示している。

一方、カナダ、米国食品医薬品局(FDA)(ナノマテリアルへのアプローチ draft)、米国環境庁(EPA)、中国では、サイズとともに、ナノスケールで発現する特異な特性も定義の要素とし、100 nm以下のサイズ又はサイズ故に特別な性質を有するものとしてナノマテリアルを定義している。

なお、欧州委員会が策定した定義に対して、欧州委員会の共同研究センター(JRC)が、ナノマテリアル定義に関する欧州委員会の勧告についての評価報告書第3弾を2015年10月19日に発表した。JRCはこれまで、この評価報告書の第1弾を2014年3月に、第2弾を2014年8月に発表している。

欧州委員会は2011年に発効した「ナノマテリアル」の定義に関する勧告(2011/696/EU)の中で、その定義を用いた経験や科学技術の発展に鑑みて2014年12月までに同定義の見直しを行うとしていた。これに基づき、JRCは3段階に分けて本報告書を発表する予定となっていた。その最終章となる第3弾では、これまでの2本の報告書で示した課題や専門家意見を反映し、ナノマテリアルの定義をより明確にして実施するための科学技術的根拠に基づく具体的な措置を提案している。即ち、粒子(Particle)、粒径(Particle Size)、外部次元(External Dimension)、構成粒子(Constituent Particle)等の用語をもっと厳格に、あるいはより良く定義すべきだとしている。

さらに、2017年に入って、欧州委員会環境総局(EC DG Environment)は、ナノ物質の定義に関する勧告の改訂について、長い間待たれていた公開協議を9月15日に開始し、コメントは10月13日に締め切られた。今後は、上記で回収されたコメントを集約し、ナノ物質の定義に関する勧告の改訂作業が進むものと予想される。

表 3.1-1に各国・地域又は特定法令における定義全文を示し、表 3.1-2に定義を要素に分解して比較を行った。

表 3.1-1 定義一覧

国・地域/規則	定義	備考
EU	<p>「ナノマテリアル」とは、非結合の状態にあるか、又は強凝集体（アグリゲート）若しくは弱凝集体（アグロメレート）であり、かつ、個数基準サイズ分布で 50%以上の粒子が、一つ以上の外径が 1 nm から 100 nm のサイズ範囲にある粒子を含有する、天然産、又は偶然にできた、又は製造された材料（マテリアル）をいう。</p> <p>特定のケース、及び環境、健康、安全又は競争力に関する懸念が正当である場合には、個数基準サイズ分布の閾値である 50%を、1%~50%の間の閾値に変更してもよい。</p> <p>上記の例外として、一つ以上の外径が 1 nm 未満のフラーレン、グラフェンフレーク及び単層カーボンナノチューブはナノマテリアルと見なすべきである。</p>	
	化粧品規則	
	殺生物製品規則	殺生物製品に関連する「活性物質又は不活性物質」という語が含まれている他は、委員会勧告と同内容である。
	REACH 規則	
	RoHS 指令	前文における記載より。
欧州	フランス	「ある比率」は別途省令により、50%に設定されている。

国・地域/規則		定義	備考
	ベルギー	ナノスケールで製造された物質：非結合の状態にある粒子か、又は強凝集体（アグリゲート）若しくは弱凝集体（アグロメレート）の形態をとる粒子であり、かつ、個数基準サイズ分布で最低限 50%の粒子が、一つ以上の外径が 1 nm から 100 nm のサイズ範囲にある粒子を含有する物質。化学修飾を受けていない天然物質、偶成物及び 1 nm から 10 nm 間の区分が何らかの人的活動の副生成物である物質は除く。 一つ以上の外径が 1 nm 未満のフラーレン、グラフェンフレーク及び単層カーボンナノチューブはナノスケールで製造された物質として取り扱う。	
	デンマーク	非結合の状態にあるか、又は強凝集体（アグリゲート）若しくは弱凝集体（アグロメレート）であり、かつ、個数基準サイズ分布で 50%以上の粒子が、一つ以上の外径が 1 nm から 100 nm のサイズ範囲にある粒子を含有する、天然産、又は偶然にできた、又は製造された材料。本定義はナノマテリアルの定義に関する委員会勧告 2011/696/EU に従っている。	
	ノルウェー	欧州委員会勧告定義	
カナダ		以下に該当する製造された物質・製品、部材、成分、デバイス、構造物はすべてナノマテリアルとみなす。 1~100 nm の外径、内部構造若しくは表面構造のいずれかを有するもの、又はサイズはナノスケールではないがナノスケールに特有の特性／現象を示すものの、いずれかに該当する製造された物質等。	
米国	TSCA	TSCA はナノマテリアルを特別視していない。TSCA において、ある物質が他の物質と同一かどうかの判定基準は「分子アイデンティティ」が同一かどうかにより、粒子サイズは「分子アイデンティティ」の要素とはなっていない。「分子アイデンティティ」とは「分子中の原子の種類と数、化学結合の種類と数、分子中の原子の結合性、及び分子中の原子の空間配置といった、構造的・組成的な特徴に基づくもの」と説明されている。 (一回限りの報告制度) 少なくとも 1 つの次元が 1nm から 100nm のサイズの範囲内にある一次粒子、強凝集体 (agregate)、弱凝集体 (agglomerate) を含む化学物質で、そのサイズゆえにユニークで新しい特性や性質を示すような形態 (form) で製造又は加工されている、25℃及び大気圧で固体である化学物質。なお、サイズ故にユニークで新しい特性や性質を示さない、又は 1nm から 100nm のサイズ範囲にある 1 次粒子、強凝集体、弱凝集体が 1 重量%以下の化学物質には適用しない。	定義とは関連しないが、「カーボンナノチューブは、TSCA インベントリに記載されているグラファイトその他の炭素同素体とは異なる化学物質であるとみなす」とされている。
	FIFRA (現状)	現状の FIFRA は、ナノマテリアルを特別視していない。	
	FIFRA (提案)	活性又は不活性成分、又はその構成成分の一部が、最終的に強凝集又は弱凝集状態であるうとなかろうと、1~100 nm の範囲にある次元を少なくとも一つ有するように意図的に製造された場合はナノマテリアルとして検討の対象とする。	情報収集ルールの提案、及びナノ形態品審査へのアプローチにおける説明

国・地域/規則		定義	備考
	FDA ナノマテリアルへの該否判定検討のためのガイダンス（案）	(a) 加工された材料（engineered material）又は最終製品は、少なくとも一つのナノスケール範囲（約 1nm から 100nm）の寸法を有しているかどうか；又は (b) 加工された材料又は最終製品は、たとえ寸法がナノスケールの範囲外にあっても（1 マイクロメートルまで）、その寸法に起因する物理化学的特性又は生物学的作用などの特性や現象を示すかどうか。	ナノマテリアル含有製品又はナノテクノロジー応用製品に該当するか否かの検討の際に考慮すべき項目
	NIOSH 二酸化チタンの許容ばく露濃度	呼吸性粒子のサンプリングで捕捉された粒子サイズの中で、一次粒子径が 100 nm 未満の部分。	本定義は超微粉（ultrafine）に対して与えられた定義であるが、「100 nm 未満の粒子はナノ粒子とも定義されている」。
オーストラリア 工業化学品（届出・審査）法に基づき、国家工業化学品届出・審査機構（NICNAS）が審査を行う際の定義		ナノスケールでの特異な特性を有するように、又は特定の組成を持つように、意図的に生産、製造又は加工された材料であって、代表的なサイズ範囲が 1 nm から 100 nm であり、ナノ物体（すなわち一、二、又は三次元がナノスケールである）、又はナノ構造体（ナノスケールの内部又は表面構造を有する）のいずれかである工業材料。	10%以上の左記定義（サイズ、特異な特性、意図的生産）を満たす粒子を個数基準で 10%以上含有する材料は、NICNAS はナノマテリアルとみなすこととする。
中国 国家標準 GB/T 19619-2004 「ナノマテリアルの用語」		この規格は、一般的な概念と技術固有の概念によるナノマテリアルの用語を規定する。ただしナノマテリアルで製造された製品は含まない。本規格は、ナノマテリアルとその関連分野における標準文書及び技術文書に使用される一般的な用語の定義に適用される。 ナノスケール： 1 nm から 100 nm（1 nm=10 ⁻⁹ m）の範囲の幾何学的寸法。 ナノ構造材料単位： ナノスケール構造の特性を有する物質単位であり、安定したクラスタ又は人工原子クラスタ、ナノ結晶、ナノ粒子、ナノチューブ、ナノロッド、ナノワイヤ、単層膜及びナノポア等を含む。 ナノマテリアル： 3次元空間において少なくとも一つの次元がナノスケールである物質、又はナノ構造単位から成りかつ特別な性質を有する材料。	
台湾	ナノ物質の安全衛生管理マニュアル	ナノマテリアルとは、1つあるいはそれ以上の次元が 1~100nm の間の粒子を含む材料で、被覆ナノ粒子、ナノ繊維、ナノ粉末、カーボンナノチューブ、ナノワイヤ、等である。一般的な超微細ナノ粒子（ultrafine particle）は、直径が 100nm 以下のものであるが、本管理マニュアルでは、自然界に存在する微粒子または意図せずに生成されるナノ粒子は含まない。	
	国家標準「CNS 14975 H1010」 (Terminology for nanomaterials)	3次元空間における材料構造の少なくとも 1次元がナノスケールで、又はナノ構造によって、材料の特殊な性質を有するユニット。	

国・地域/規則	定義	備考
韓国 ナノ製品の安全管理に関するガイドライン KS A 6203	ナノ物体及びナノ構造材料（内部ナノ構造やナノ粒子凝集材料を含む）であって、固体状であり、何らかの次元が 100 nm より小さいものを意味する。	ガイダンスには、ナノマテリアルの例として、フラーレン、カーボンナノチューブ、ナノワイヤ及び量子ドットが列挙されている。
作業場／研究室でのナノマテリアルの安全な取扱いに関するガイドライン KS A 6202	ナノ物体及びナノ構造材料（内部にナノ構造やナノ粒子凝集材料を含む）であって、固体状で、3次元のうち少なくとも1つの次元が 100nm より小さいものをいう。	
ナノテクーナノ物体に関するお用語と定義ーナノ粒子、ナノ繊維、ナノプレート KS A ISO TS 27687	何らかの外形寸法がナノスケール（概ね 1nm～100nm までのサイズ範囲）であるか、又はナノスケールにある内部構造もしくは表面構造を有する材料。 ナノ物体とは、1つ、2つ又は3つの外形寸法がナノスケールである材料。	
ナノマテリアルの製造、取扱、労働者安全衛生に関する技術ガイドライン	(a)「ナノ粒子 (Nanoparticles)」とは、1～100 nm の範囲の直径を有する粒子をいう。 (b)「ナノ構造材料 (Nanostructured material)」とは、ナノサイズの粒子を含んでいる構造の物質又はナノ粒子が凝集したものをいう。 (c)「ナノマテリアル (Nanomaterials)」とは、粒子の大きさが3次元のうち少なくとも一つの次元の長さが 100 nm よりも小さいナノ粒子とナノ構造材料をいう。 (d)「ナノエアロゾル (Nanoaerosol)」とは、空気中に浮遊するナノマテリアルの集合体をいう。 (e)「極微細粒子 (Ultrafine particles)」とは、意図的に製造されたものではなく、燃焼、溶接又はディーゼルエンジンの作動等の過程で非意図的に製造されたナノサイズの粒子をいう。	
化学物質の登録、評価等に関する法律施行令	「ナノ物質」とは、次の各項目のいずれかに該当する物質をいう。 ア) 3次元の外径寸法のうち少なくとも1次元の大きさが 1～100 ナノメートルの粒子分布 50%以上である物質 イ) 3次元の外形寸法のうち少なくとも1次元の大きさが 1 ナノメートル以下であるフラーレン、グラフェンフレーク、又は単層カーボンナノチューブ。	

国・地域/規則	定義	備考
ISO ISO/TS 80004-1: 2010	<p>ナノマテリアル：何らかの外径寸法がナノスケールであるか、又はナノスケールにある内部構造若しくは表面構造を有する材料 (原注 この用語にはナノ物体及びナノ構造材料を包含する)</p> <p>ナノ物体：一つ、二つ又は三つの外径寸法がナノスケールである材料</p> <p>ナノ構造材料：内部ナノ構造又は表面ナノ構造を有する材料</p> <p>ナノスケール：概ね 1 nm から 100 nm までのサイズ範囲</p> <p>ナノ構造：相互に関連した (inter-related) 構成要素の組み合わせであり、これら要素の一つ又は複数ナノスケール域にあるもの</p>	

表 3.1-2 定義の要素

国・地域/規則		要素							備考	
		サイズ	含有量	含有量の基準	状態	比表面積	固有特性	起源		対象
EU	委員会勧告	一つ以上の外径が 1 nm から 100 nm	50%以上	個数基準サイズ分布	非結合の状態にあるか、又は強凝集体若しくは弱凝集体			天然産、又は偶然にできた、又は製造された材料		
	(特定のケース、妥当な場合は変更してもよい)		1~50%							含有量の閾値変更を認めている
	(サイズの特例)	一つ又は複数の外径が 1 nm 未満							フラーレン、グラフェンフレーク及び単層カーボンナノチューブ	勧告における下限値の特例
	化粧品規則	一つ又は複数の外径又は内部構造が 1~100nm					非溶解性又は生体内残留性	意図的に製造された物質		
	殺生物製品規則	一つ又は複数の外径が 1-100 nm	50%以上	個数基準サイズ分布	非結合の状態、又は強凝集体若しくは弱凝集体			天然又は人工	活性物質又は不活性物質	委員会勧告を採用
	(サイズの特例)	一つ又は複数の外径が 1 nm 未満							フラーレン、グラフェンフレーク及び単層カーボンナノチューブ	定義における下限値の特例
	REACH									委員会勧告を採用か？
	RoHS 指令	微小サイズ				微小内部表面構造を有する				サイズと構造要件は「又は」

国・地域/規則		要素							備考	
		サイズ	含有量	含有量の基準	状態	比表面積	固有特性	起源		対象
フランス	年次申告制度	一つ以上の外径が1 nm から100 nm のサイズ範囲	ある比率(50%)以上	個数基準サイズ分布	非結合の状態にあるか、又は強凝集体若しくは弱凝集体			意図的に製造された物質		起源を除き、委員会勧告どおり
ベルギー	ナノスケールで製造された物質の上市に関する王令	一つ以上の外径が1 nm から100 nm	最低限50%	個数基準サイズ分布	非結合の状態にある粒子か、又は強凝集体若しくは弱凝集体の形態			ナノスケールで製造された物質		起源を除き、委員会勧告どおり
	(サイズの特例)	一つ以上の外径が1 nm 未満						フラーレン、グラフェンフレーク及び単層カーボンナノチューブ		定義における下限値の特例
デンマーク	ナノマテリアル含有品の登録と報告制度	一つ以上の外径が1 nm から100 nm	50%以上	個数基準サイズ分布	非結合の状態にあるか、又は強凝集体若しくは弱凝集体			天然産、又は偶然にできた、又は製造された材料		委員会勧告どおり
カナダ	作業定義に関するステートメント	1~100 nm の外径、内部構造若しくは表面構造のいずれか						製造された物質・製品、部材、成分、デバイス、構造物		サイズ又は特性のいずれかが合致すれば、ナノマテリアルとみなす
		(非ナノスケール)					ナノスケールに特有の特性/現象を示す			
米国	EPA TSCA	一つ以上の次元が1 nm から100 nm	1%以上	重量	1次粒子、強凝集体、弱凝集体			ナノスケールに特有の特性/現象を示す		25℃及び大気圧で固体である化学物質

国・地域/規則		要素							備考	
		サイズ	含有量	含有量の基準	状態	比表面積	固有特性	起源		対象
	EPA FIFRA (ルール提 案)	1~100 nmの範 囲にある次元 を少なくとも 一つ有する			強凝集又は弱凝 集状態であらう となかろうと			意図的に製造さ れた場合	活性若しくは 不活性成分、又 はその構成成 分の一部	
	FDA ナノマテリア ルへの該否判 定検討のため のガイダンス (案)	少なくとも一つ のナノスケ ール範囲(約 1nm から 100nm)の 寸法						加工された材料 又は最終製品		サイズ又は特 性のいずれか が合致すれば、 ナノマテリア ルとして検討 対象とする
		1 μm まで					寸法に起因 する物理化 学的特性、 生物学的作 用などの特 性や現象			
	NIOSH 二酸化チタン の許容ばく露 濃度	一次粒子径が 100 nm 未満						呼吸性粒子のサ ンプリングで捕 捉された粒子		
オース トラリ ア	工業化学品 (届出・審査) 法	代表的なサイズ 範囲が 1 nm か ら 100 nm			ナノ物体(すなわ ち一、二又は三次 元がナノスケ ールである)、又は ナノ構造体(ナノ スケールの内部 又は表面構造を 有する)		ナノスケ ールでの特異 な特性を有 するよう に、又は特 定の組成を 持つよう に、意図的 に生産、製 造又は加工 された材料			
中国	GB/T 19619-2004	1 nm から 100 nm の範囲								「サイズ」又は 「特性」のい ずれ

国・地域/規則		要素							備考	
		サイズ	含有量	含有量の基準	状態	比表面積	固有特性	起源		対象
							特別な性質を有する	ナノ構造単位	ナノ構造単位等：安定したクラスター又は人工原子クラスター、ナノ結晶、ナノ粒子、ナノチューブ、ナノロッド、ナノワイヤ、単層膜及びナノポア等	れかが合致すればナノマテリアル
台湾	ナノ物質の安全衛生管理マニュアル	一つ以上の次元が1 nm から100 nm							被覆ナノ粒子、ナノ繊維、ナノ粉末、カーボンナノチューブ、ナノワイヤ、等	自然界に存在する微粒子または意図せずに生成されるナノ粒子は含まない。
	国家標準「CNS 14975 H1010」Terminology for nanomaterials	一つ以上の次元が1 nm から100 nm					特別な性質を有する	ナノ構造単位		
韓国	ナノ製品の安全管理に関するガイドライン KS A 6203	何らかの次元が100 nm 以下			ナノ物体又はナノ構造材料（内部ナノ構造やナノ粒子凝集材料を含む）		固体状			

国・地域/規則	要素							備考	
	サイズ	含有量	含有量の基準	状態	比表面積	固有特性	起源		対象
作業場／研究室でのナノマテリアルの安全な取扱いに関するガイドライン KS A 6202	3次元のうち少なくとも1つの次元が 100nm 以下			ナノ物体及びナノ構造材料（内部にナノ構造やナノ粒子凝集材料を含む）					
ナノテク－ナノ物体に関するお用語と定義－ナノ粒子、ナノ繊維、ナノプレート KS A ISO TS 27687	何らかの次元が 100 nm 以下			ナノスケールにある内部構造もしくは表面構造を有する材料					
ナノマテリアルの製造、取扱、労働者安全衛生に関する技術ガイドライン	3次元のうち少なくとも一つの次元の長さが 100 nm よりも小さい			ナノ粒子又はナノ構造材料（ナノサイズの粒子を含んでいる構造の物質又はナノ粒子が凝集したもの）					
化学物質の登録、評価等に関する法律施行令の一部改正令	3次元の外形寸法のうち少なくとも1次元の大きさが 1～100nm	50%以上	粒子分布						
（サイズの特例）	1次元の大きさが 1 nm 以下							フラーレン、グラフェン、フレキとカーボンナノチューブ	定義における下限値の特例

国・地域/規則		要素							備考	
		サイズ	含有量	含有量の基準	状態	比表面積	固有特性	起源		対象
ISO	ISO/TS 80004-1: 2010	約 1 nm から 100 nm までの サイズ範囲			何らかの外径寸法がナノスケール、又はナノスケールにある内部構造若しくは表面構造					

(3) 各国等における規制動向

1) 米国

(ア) EPA (環境保護庁)

(i) ナノマテリアルの報告／規則保管に関する規則

EPA では、10年以上の議論の末に、2017年1月12日に、ナノマテリアルの報告/記録保管に関する最終規則を発表した。この発行された最終規則は、既存のナノスケール材料の1回限りの報告を要求するものであった。また、製造業者または加工業者に、報告対象化学物質の別個の形態については、製造または加工を開始する少なくとも135日前までに、同様の報告要件を課していた。米国EPAは、5月8日の連邦官報で、このナノスケール報告規則の発効日を5月12日から8月14日に延期した。その後、無事に、2017年8月14日、TSCA8(a)の下で、最終のナノマテリアル報告規則が発効した。同時にEPAは、5月に発表されたガイダンス草案に関する公開意見募集を受けて、ナノマテリアル情報収集規則に関する最新ガイダンスを発表した。質問と回答の形式で提示されたこの文書では、以下の点について説明している。

- ・報告対象物質を構成するもの
- ・誰が報告する必要があるか
- ・いつ、どんな情報を報告しなければならないか
- ・機密性
- ・免除やナノマテリアル利用製品に関する規則などの追加的事項

このガイダンスは、規則が発効した8月14日に発表された。この規則は、5月12日に発効する予定だったが、業界からガイダンスを増やす要請が繰り返されて、3ヶ月以上遅れた。EPAは、この文書に対して質問と回答がなされると、さらに追加すると述べている。

10年以上の議論の末に決まった最終的な規則は、1月12日に発行され、2017年8月14日より前の3年間に報告すべき化学物質を製造または加工した者は、制定日から1年以内にEPAに一回報告しなければならない。また、ナノ形態の報告対象化学物質をこれから製造または加工する業者は、その活動を開始する少なくとも135日前までに、報告しなければならない。

(ii) ナノマテリアル、ナノ製品の認可

(a) SNUR

a) 2017年6月に2種類のカーボンナノチューブ混合物のSNUR提案

EPAは、製造前通知(PMN)の対象となったカーボンナノチューブ(PMN Number ;P-11-482)に重要新規利用規則(Snur)を提案した。この多層カーボンナノチューブと他の種類のカーボンナノチューブ(一般)からなる物質・バイモーダル(2種物質)混合物・は、PMNによると、特殊添加物として使用されることを意図している。EPAは、類似の吸入可能で難溶性の微粒子およびナノカーボン材料の試験データに基づいて、その物質の肺毒性および発癌性に関する懸念を確認し、以下の条件で同意命令を課した。

- ・特定の個人用保護具(PPE)の使用。

- ・製造開始通知 (NOC) から 6 ヶ月以内にダスティネス試験を提出する。
- ・特定の物理化学的特性の提出。
- ・蒸気、ミスト、またはエアロゾルを発生させる使用方法 (使用方法が密閉されたプロセスで行われている場合を除く) を含む、同意書に記載された以外の物質の不使用。
- ・PMN に記載されている範囲を超えて水に放出しない。廃棄は埋め立てまたは燃焼による。
- ・記録保持
 - ・特定の試験データの開発。

コメントは 7 月 10 日まで受け付ける。

b) 2017 年 9 月にカーボンナノチューブ及びナノカーボンを含む 6 物質の最終 SNUR 公表

米国環境保護庁 (EPA) は、9 月 21 日に、製造前通知 (PMN) の対象となった 37 の化学物質に関する重要新規利用規則 (SNUR) を公布した。これらのうち、カーボンナノチューブ (一般) およびナノカーボン (一般) を含む 6 つの化学物質は、毒物管理法 (TSCA) 第 4 条の下で EPA によって発行された同意命令の対象となる。重要新規利用として指定された活動のために、37 種の化学物質のいずれかを (輸入を含む法令によって定める) 製造または加工しようとする者に、その活動を開始する少なくとも 90 日前に EPA に通知することを要求する。要求された通知により、意図された利用の EPA 評価が開始される。重要新規利用のための製造および加工は、EPA が通知の審査を行い、通知を適切に決定し、その決定に必要な措置をとるまで開始することができない。公表された SNUR は、以下を含む。

カーボンナノチューブ (一般名) (PMN 番号 P-15-672) : PMN 物質の一般的な (機密ではない) 利用はる過媒体中にある。EPA は、環境毒性のみならず肺毒性および発がん性に対する懸念を確認した。同意命令は次のものを要求している。

- ① 不浸透性手袋および防護服 (皮膚ばく露の可能性がある場合) 及び 国立労働衛生研究所 (NIOSH) 認定の N-100、P-100、または R-100 カートリッジを使用した呼吸器 (吸入ばく露の可能性がある場合) を含む個人用保護具の使用。
- ② 同意命令に記載されている利用のためだけの PMN 物質の加工と利用。
- ③ PMN に記載されているように、水性スラリー、湿潤形態、または乾燥形態では密閉された状態での、PMN 物質の加工および利用。
- ④ PMN 物質の表層水への放出を招く利用をしないこと及び埋立または焼却のみによる PMN 物質の処分。

ナノカーボン (一般名) (PMN 番号 P-16-170) : この物質は複合材料の添加物として使用される。EPA は、肺毒性および発がん性ならびに環境毒性に対する懸念を確認したため、同意命令には次のものを要求している。ナノカーボン (一般名) (PMN 番号 P-16-170) : この物質は複合材料の添加物として使用される。EPA は、肺毒性および発がん性ならびに環境毒性に対する懸念を確

認した。同意命令には次のものを要求している。

- ① 不浸透性の手袋と防護服(皮膚ばく露の可能性がある場合)および N-100、P-100、または R-100 カートリッジを備えた NIOSH 認証呼吸器(レスピレーター)を使用した個人用保護具の使用(吸入ばく露の可能性がある場合)
- ② 開始の通知を受けてから 6 ヶ月以内にダスティネス試験結果を提出する。
- ③ 同意命令で指定された機密の生産量限度を超える前に、90 日間の慢性吸入試験結果を提出する。
- ④ 適用方法が密閉されたプロセスで行われない場合、蒸気、ミスト、またはエアロゾルを発生させる適用方法を含まない、同意命令で指定された使用のみのための、PMN 物質の加工と利用。
- ⑤ PMN 物質の表層水への放出がない利用及び埋立処分または焼却による PMN 物質の処分。

どちらの SNUR も、指定された保護措置がない場合、「重要新規利用」と指定される。通知には、各物質の推奨試験が含まれている。これらの SNUR は 2017 年 11 月 20 日に発効する。

c) MWCNT と他のクラスの CNT からなる二峰性混合物の最終 SNUR 公表

10 月 3 日、米国環境保護庁(EPA)は、(PMN)P-11-482 の対象である多層カーボンナノチューブ(MWCNT)および他のクラスのカーボンナノチューブ(CNT)からなる混合物を含む、バイモーダル(二峰性)として一般的に特定された化学物質について、有害物質管理法(TSCA)第 5 条(a)(2)に基づき最終的に重要新規使用規則を公布した。この決定は、化学物質を製造する意思がある者(輸入を含む法令で定める者)またはこの最終規則により重要新規利用と指定された利用のために化学物質を処理して、少なくともその活動を開始する 90 日前に EPA に通知することが必要である。

重要な新規利用のための製造および処理は、EPA が通知の審査を行い、通知を適切に審査し、その決定に必要な措置をとるまで開始することができない。2017年6月8日に提案された SNUR によれば、PMN 物質の一般的な利用は特殊添加物である。

類似の吸入可能で難溶性の微粒子およびナノカーボン材料に関する試験データに基づいて、EPA は肺毒性および発癌性に対する懸念を確認した。また、他のナノカーボン材料の試験データに基づいて、EPA は環境毒性への懸念を特定した。SNUR のもとで、重要新規利用は、

- ① 職場における保護:40 CFR に規定された要件。第 721.63 項(1)、(a)(2)(i)、(a)(2)(ii)、(a)(3)、(a)(4)、(a)(6)(微粒子)、および(c)。第 721.63 項(a)(1)および(a)(4)で要求されるように合理的にばく露される可能性のある人物を決定する際には、工学的管理措置(例えば、操作の包囲または閉じ込め、一般および局所換気)あるいは、実現可能であれば、ばく露を防止するための措置(例えば、職場の方針と手順)を検討し、実施しなければならない。国立労働衛生研究所(NIOSH)が保証した N-100、P-100、または

R-100 カートリッジを装備した空気清浄、密着型フルフェイス式呼吸器、または少なくとも 50 の割り当てられた保護係数 (APF) を備えたパティキュレート空気呼吸器が第 721.63 項 (a) (4) 項の要件を満たしていること。

- ② 産業、商業、消費者活動: 第 721.80 (k) 項および (q) 項に規定された要件。重要な新規利用は、蒸気、霧、またはエアロゾルを生成する応用方法を伴う利用である。
- ③ 処分: セクション 721.85 (a) (1)、(a) (2)、(b) (1)、(b) (2)、(c) (1)、および (c) において特定された要件
- ④ 水への放出: セクション 721.90 (b) (1) および (c) (1) に規定されている要件。PMN P-11-482 の製造プロセスに記載されている水の放出以外に、どのサイトからであってもその物質の使用に関連する製造ストリームからの予測可能または意図的な放出は、重要新規利用である。

この最終規則は、2017 年 11 月 2 日に発効する。

d) MWCNT の SNUR

EPA は、10 月 19 日に、製造前通知の対象となった 29 の化学物質について、重要新規利用規則 (SNUR) を公布する直接最終規則を発行した。29 の化学物質は、EPA 毒性物質管理法 (TSCA) セクション 5 (e) によって同意命令の下にある。直接最終規則には、多層カーボンナノチューブ (MWCNT) (一般名) の SNUR (PMN 番号 P-15-487、P-15-488、P-15-489、P-15-490 および P-15-491) が含まれている。連邦公報によると、PMN 物質は、電子デバイス、エレクトロニクス、および材料における静電放電のための添加物; 材料の減量のための添加剤; 機械的特性または電気伝導性を改善するための添加剤; 加熱装置および材料中の発熱素子; 電子デバイスおよび材料における熱伝達および熱放出のための添加剤; 電子回路およびデバイス内の半導体、導電性、または抵抗素子; 電子回路、エネルギー貯蔵システム、およびデバイスの導電性を改善するための添加剤; 照明および X 線源のための電子エミッタ; 電子デバイスにおける電磁界遮蔽のための添加剤; 電子材料および電子デバイスにおける電極のための添加剤; 化学的製造における触媒担体; 耐食性または導電性を改善するためのコーティング添加剤; 構造用及び電気用の繊維用添加剤; 織物および繊維製品の繊維用添加剤; ナノスケールの材料を除去するための濾過材添加物; 高電圧ケーブル用半導電性配合添加剤; 超疎水性のための添加剤 として使用される。The consent order requires: 同意命令は以下を要求している。

- ① 皮膚ばく露を防止する個人保護装備の使用、及び (吸入ばく露の可能性がある場合) 国立労働安全衛生研究所保証の、少なくとも 50 の保護係数が設定された N-100、P-100、または R-100 カートリッジを使用した空気呼吸器の使用。
- ② PMN 物質の使用は、同意命令で指定された用途にのみ使用すること。
- ③ ダスト、ミスト、またはエアロゾルを発生させる施工方法では、その施工方法が閉鎖されたプロセスで行われない限り使用しない。
- ④ PMN 物質を表層水への放出を招く用途に使用しない。PMN 物質の処分は埋立または焼

却のみによる。

重要新規利用とは、ダスト、ミスト、またはエアロゾルを生成する施工方法を使用するあらゆる用途である。機械的処理以外の処理を施工される意図がなく、永久固体ポリマー中に反応(硬化)または埋め込まれた形で、PMN 物質がポリマーマトリックス中に組み込まれている場合、SNUR 要件は適用されない。EPA は、亜慢性 90 日吸入毒性試験(DEPPP 870.3465 または OECD 413)、2 年吸入バイオアッセイ(OPPTS 870.4200)、魚の早期生存段階毒性試験(OCSPP 試験ガイドライン 850.1400)、ミジンコ慢性毒性試験(OCSPP 試験ガイドライン 850.1300)、および藻類毒性試験(OCSPP 試験ガイドライン 850.4500)は、物質の健康および環境への影響の可能性を特徴づけるのに役立つだろうと述べている。EPA は、同意命令はこれらの試験を要求しないが、製造または加工、商業流通および廃棄に関する同意命令の制限は、これらのまたは他の関連情報の提出に基づいて、EPA によって同意命令が変更または取り消されるまで有効であると述べている。

(iii) ガイドライン、ガイダンス

EPA は、2017 年 5 月 16 日に「上市されているナノ物質に関する EPA の第 8 章(a)情報収集規則に関するガイダンス」と題したガイダンス文書が入手可能でコメントを求めているとする連邦官報を公布した。公表されたガイダンスは、2017 年 1 月 12 日付の TSCA 第 8 条(a)最終規則に記載されているように、ナノスケールで製造または加工されている場合に製造(輸入を含む)および加工業者から受けた質問への回答を与えている。特定のナノスケール材料の新しい区分された形態に関する 1 回限りの報告要件が必要となる。EPA は、ガイダンスのドラフトに関するコメントを受け入れるが、既に確定されているルール自体については言及しないと述べていた。

EPA は、その後 2017 年 8 月 14 日に、ナノマテリアル報告に関する最終規則を発表するとともに、5 月に発表されたガイダンス草案に関する公開意見募集を受けて、ナノマテリアル情報収集規則に関する最新ガイダンスを発表した。質問と回答の形式で提示されたこの文書では、以下の点について説明している；

- 報告対象物質を構成するもの
- 誰が報告する必要があるか
- いつ、どんな情報を報告しなければならないか
- 機密性
- 免除やナノマテリアル利用製品に関する規則などの追加的事項

(イ) FDA (食品医薬品局)

米国 FDA は、2017 年 12 月に『Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials Guidance for Industry (Draft Guidance)』(ナノマテリアルを含有する、生物学的製剤を含む医薬品に係る産業界向けガイダンス(ドラフト版))と題する産業界向けガイダンスのドラフト版の可用性を発表する、連邦官報を発表した。

官報によると、FDA は、ナノマテリアルが最終的な投与形態に存在する生物製剤を含むヒト医薬品の開発のための現在の考え方を業界に提供するためのガイダンスを開発した。ガイダンス・ドラフト版は、ナノマテリアルを含有する医薬品の開発に関する一般原則と具体的な考慮事項の両方について検討し、そのような製品と他の医薬品との同等性を確立するための考慮事項を含む。ガイダンス・ドラフト版は、製品の開発および生産を通じてナノマテリアルを含む医薬品に関連する品質、非臨床、および臨床研究に関する考慮事項について論じている。ガイダンス・ドラフト版は、医薬品に使用できるナノマテリアルの種類を制限または分類していない。その代わりに、安全性、有効性、性能、および品質に関してさらなる評価を保証する「特定の物理化学的特性を生み出すための、意図的かつ、次元の意図的操作と制御」に焦点を当てている。FDA は、ガイダンス・ドラフト版が、「ナノマテリアルを含む特定の医薬品に、最終的に規制上の結果がどうなるかについては言及しておらず、また前提もしていない」と述べている。FDA は現在、既存のレビュープロセスを使用して、ケースバイケースでナノマテリアルを含む医薬品の安全性、有効性、公衆衛生上の影響、または規制状態などの問題に取り組んでいる。FDA は、「特定の一般的に使用されるタイプのナノマテリアル、例えば、いくつかのリポソーム、を取り入れた医薬品の品質と性能を評価し、評価する際の課題に取り組むためのガイダンス」を策定し続けると述べている。ガイダンスには、これらの製品の調査、販売前および納品後の提出者の応募者およびスポンサーに対する推奨事項が含まれている。FDA は、ガイダンス・ドラフト版で使用されている用語「ナノマテリアル」を含む用語についてコメントを求めている。コメントは 2018 年 3 月 19 日に終了する予定である。

(ウ) その他

(i) AIHA

American Industrial Hygiene Association(米国産業衛生協会;AIHA)は、3月29日、同協会のナノテクノロジーワーキンググループが作成したナノマテリアルスチュワードシップのガイダンスを承認し公開した。ナノマテリアルスチュワードシップとは、ナノマテリアルの製造から、それを使用した製品の使用、廃棄に至るライフサイクル全般にわたってナノマテリアルを管理し、その有害性とヒトと環境へのばく露を抑制する営為をいう。ガイダンスによると、全体のライフサイクル・アプローチは、潜在的な環境、健康、安全(EHS)、および規制の影響について、1) 製品およびプロセスの設計と開発の早期段階から考慮する。2) 製品設計、原材料選択、製造(流通作業を含む)、使用(保守を含む)、再使用、リサイクル、廃棄を扱う。そして3) 定期的に新しい情報が入手可能になったときに再評価する、よう図るものである。

またガイダンスは、製品スチュワードシップおよび他の EHS 専門家に、1) 州、地方、および国の規制を含む、責任を負うナノマテリアルおよびナノ製品に適用される規制を特定する 2) 要件を詳細に理解する 3) 商業化に影響を及ぼす可能性のある変化と新たな要求について、規制環境を注意深く監視する、よう勧める。そして、このガイダンスは、一貫した有意義な有害性の伝達とばく露可能性の理解への挑戦を行わなければならないと記述している。

ガイダンスは、以下のような点について研究すれば、ナノ物質安全性データシートの品質と完全

性に関する改善の余地があることを示していると述べている。

- 1) どの成分がナノスケールであるかを特定する。サイズ/サイズ範囲情報を含む。
- 2) ナノ粒子の形状、密度、溶解度などの既知の物理化学的性質。
- 3) ハザード分類、毒性データ、または職業ばく露限界がナノスケールの材料に由来しない場合の示唆。

ガイダンスには、著者らが集めたナノ材料スチュワードシップに関連する参考文献およびリンクが含まれる。

(ii) NIOSH

(a) 「セルロース混合エステル・フィルター上に捕捉されたカーボンナノチューブおよびナノファイバーの透過型電子顕微鏡による解析」への意見募集

2017年2月27日、米国立労働安全衛生研究所(NIOSH)は、「セルロース混合エステル・フィルター上に捕捉されたカーボンナノチューブおよびナノファイバーの透過型電子顕微鏡による解析」ドラフトについての一般からの意見募集開始を告知した。このドラフトは、NIOSH解析手法マニュアル(NIOSH Manual of Analytical Methods, NMAM)に収められて公開されることを予定している。NMAMは1974年に最初に公開されて以来、現在では300以上の解析手法が収められており、これらの解析手法は職業安全衛生専門家によって化学物質や微生物への労働者のばく露を評価するために用いられている。Transmission Electron Microscope(TEM)ドラフトでは、カーボンナノ粒子解析のための標準化された取り組みが紹介されている。これらの標準化された取り組みは、解析手法の調和を図り、研究間の結果の比較を可能とし、データの質を高めることを目指している。ここでは、職場環境から採取されたカーボンナノチューブとナノファイバーについてのTEM解析をおこなう上での効果的な方法についての詳細なガイダンスが述べられている。手順が図解されていて理解しやすく、多くの事例のTEM像が掲載されている。

科学的なピアレビューを経て、現在、NIOSH はカーボンナノ粒子の解析について関心を持つ一般に向けた公開と意見募集を実施している。コメントの締め切りは2017年4月28日であり、詳しい情報は連邦官報で公開されている。

(b) 10年間の研究業務のハイライトを報告

2017年8月10日、国立労働安全衛生研究所(NIOSH)は、「National Occupational Research Agenda: Second decade in Review/ 2006-2016」という報告書(同時に Supplement report も)を発表した。報告書は、国家労働衛生研究アジェンダ(NORA)の第二の十年間にわたる労働安全衛生研究のニーズに取り組んだ際に得られた進捗とその影響を概説している。

報告書の内容はNIOSHの多岐にわたる活動を反映したものであるが、含まれている21のセクター間プログラムには、「100 ナノメートル以下の長さの構造を含む材料のばく露による悪影響を軽減するための研究の実施とアプローチの採用を促進するナノテクノロジープログラム」が含まれている。ナノ関連の成果として以下が挙げられている。

- カーボンナノチューブと二酸化チタンのNIOSH推奨ばく露限度(REL)は、EPAに工業ナノマテリアルを扱う労働者を保護するための規制を作成するための情報を提供した。
- 保護服のナノ粒子に対する耐性を測定するためのNIOSH法は、他の政府機関、組織、および製造業者からの新しいガイダンス文書、要件、および試験方法の作成に貢献した。
- NIOSHの研究は、労働安全衛生局(OSHA)とEPAが多層カーボンナノチューブの使用に関する勧告を作成することにつながった。
- NIOSH 仮想ナノテクノロジー研究センター(NTRC)は、ナノテクノロジー産業における潜在的な労働安全衛生リスクをよりよく理解し、産業が成長するにつれて効果的な予防措置を組み込むために、先駆的研究で90人以上の研究者を支援または影響力を及ぼしてきた。
- 呼吸器を貫通するナノ粒子を測定するためのNIOSHの研究は、研究者および機関に、この分野における新規または改訂された標準の開発を知らしめた。
- NIOSHの科学者は、空気中のカーボンナノチューブを懸濁させ、粒子の濃度を制御する方法を発明した。「カーボンナノチューブの制御されたエアロゾルが初めて生成されたのは真のブレイクスルーであった。それは性質と特性が十分に理解されていない微小粒子の研究のためのリソースを提供した。」

(c) ナノマテリアル製造に関わる研究課題公表

2017年8月23日、米国国立労働安全衛生研究所(NIOSH)は、パブリックコメントのために職業衛生上の研究課題(NORA)の制定に関するコメントを求める連邦官報を発表した。NORAの製造セクターの評議会は、「次の10年間(2016-2026)の最も重要な労働安全衛生の研究ニーズを特定する」アジェンダについて述べた。NIOSHによれば、アジェンダは、その中で最も関連の深い事項、ギャップ、およびセクターの安全衛生の必要性を記述するための手段を提供している。

その後、2018年1月31日に製造業のための利用可能な最終的国家労働衛生研究アジェンダを発表した連邦登録通知(Registernotice)を発行した。

NIOSHは、製造業の国家労働衛生研究アジェンダが労働者の健康への悪影響を回避するために、労働リスク要因を特定する最も緊急に必要な知識と行動を特定することを意図していると述べている。「アジェンダ」は、ステークホルダーが製造部門の最も関連性の高い問題、研究ギャップ、安全衛生のニーズを説明する手段を提供している」と述べた。2017年8月24日の「製造業向け国家労働衛生研究アジェンダ」はナノマテリアルに言及している。最終のアジェンダには、以下のナノマテリアルの目標と言及が含まれる。

- ✓ 目標1: 製造業における急性および慢性の職業病、負傷、および死亡事故の負担を軽減するには、(a)労働安全衛生上の危険性およびその影響に関する知識を強化する。(b)既知の労働安全衛生上の災害へのばく露を減らすための効果的な処置の開発。最終アジェンダは、「繰返し手作業、人手による材料の組み立てと取り扱い、ナノマテリアル、過度の騒音、および化学物質に関連する危険へのばく露は、製造業における急性および慢性条件の弱

体化に大きく貢献する」と述べている。

- ✓ 目標 2: 製造業における労働関連の危険、ばく露、および病気の監視を改善する。
- ✓ 目標 3: 新技術による新たなリスクを調査し、新技術が製造上の労働安全衛生を向上させる方法を模索する。最終アジェンダによれば、製造業を再編している新技術には、ナノテクノロジーが含まれる。
- ✓ 目標 4: 非伝統的雇用契約の労働者の労働安全衛生を改善する。
- ✓ 目標 5: 製造における能力強化と教育努力を進める。
- ✓ 目標 6: 製造業における研究の実践への効果的な移行のためのメカニズムを開発する。

(d) ナノマテリアルから労働者を守るための WHO ガイドラインの実行サポート計画

2017年12月15日、NIOSHは『ナノマテリアルから労働者を守るための WHO ガイドライン』を題するブログアイテムを掲載した。2017年12月13日のブログアイテムに報告されたように、WHOは最近、『WHO Guidelines on Protecting Workers from Potential Risks of Manufactured Nanomaterials』（人工ナノマテリアルの潜在的リスクからの労働者保護に関する WHO ガイドライン）を公表した。NIOSHのディレクター、John Howard, MDは、WHOガイドラインを、「人工ナノマテリアルの潜在的リスクから広く労働者を保護する重要なステップ」と表現している。NIOSH事務局長で、シニア・サイエンティストである、Vladimir Murashov, Ph.D.は、ガイドライン開発グループのチェアを務めた。NIOSHはまた、11の系統的レビューの1つ（Eastlake Aa, Zumwalde R, Geraci C. “Can Control Banding be Useful for the Safe Handling of Nanomaterials? A Systematic Review.” J Nanoparticle Res.）に貢献し、外部専門家レビューに参加した。プラグアイテムは、NIOSHが「ガイドライン実行段階で、WHOの取り組みを引き続きサポートする予定である。それはこれらガイドラインを実践することに重点を置くものとなるであろう」と述べた。

(iii) 消費者製品安全委員会

(a) ナノマテリアルの EHS に重点を置き、他機関との協力を継続

2018年2月12日、米国消費者製品安全委員会(CPSC)は、2017年度の業績報告書を発表した。報告書によると、2017年度のCPSCは、ナノマテリアルの環境健康および安全(EHS)に関する7つの研究協力を確立して、当初5つとした協力の目標を上回ったという。研究協力は、「ナノマテリアルを含む製品からの消費者へのばく露の可能性に関する知識を高め、消費者製品からの放出を測定する方法を探求する」ことである。報告書によれば、ナノテクノロジーの研究開発を進める上で、CPSCは、2017年に国立標準技術研究所(NIST)、国立ナノテクノロジー調整局(NNCO)、および国立職業安全衛生研究所(NIOSH)との研究協力を継続した:

- CPSCとNISTとの協力:NISTは、ナノマテリアルのための試験方法を検証するのみならず、米国住宅都市開発(HUD)健康住宅調査から集められた粉塵サンプル中のナノマテリアルの放出および消費者製品からの放出を評価するための方法を評価することで、CPSC

と協力している。

- CPSC と NNCO との協力:2017 年度に CPSC は NNCO との間で、製造された製品からのナノマテリアルの放出可能性を評価するための科学と測定の課題に焦点を当てるワークショップを開催する協定を結んだ。ワークショップの主な焦点は、製品中のナノマテリアルの存在、その放出の可能性、および人口ばく露の可能性を特徴づけ、定量化するために利用できる科学の水準、ツールおよび方法を決定することである。そして
- NIOSH は、CPSC との共同研究で、最近ナノ粒子の次の側面を研究するための第 1 段階の研究を実施した。粒子生成、特徴付け、および分画; *in vitro* の用量測定; 複数の細胞株における *in vitro* 毒性調査; 吸入によるポジティブな呼吸圧力誘発性心血管作用の *in vivo* 評価に関する。2017 年度に NIOSH は、ターゲットとされた研究分野での消費者の使用中にナノ製品から放出された工業ナノマテリアルの環境健康と安全への影響を調査するフォローアップ第 2 段階研究を実施した。

報告書は、パフォーマンス向上のための計画について、2018 年度に CPSC は「ナノマテリアルのための活動の資源が少なくなっている状況で、他の連邦機関との協力を通じて環境健康安全問題に引き続き焦点を当てる」と述べた。

(iv) ACGIH

(a) ACGIH®TLV®-CS 委員会がカーボンナノチューブに関する情報を求める

米国政府産業衛生学者会議 (ACGIH®) の化学物質の閾値限界値 (TLV®-CS) 委員会は、2018 年の化学物質リストおよび調査中のその他の問題にカーボンナノチューブを含めた。調査対象リストに載せられていることは、TLV®-CS 委員会が限界値 (TLV®) の開発のためにカーボンナノチューブを選択したことを示している。ACGIH®は、TLV®のレベル以下のばく露が疾患や傷害の不合理なリスクを生じさせないという、科学界の意見を表す健康基準値として TLVs®を定めている。TLV®-CS 委員会は、実質的なデータおよびコメントを求めるが、経済的または技術的実現可能性ではなく、健康およびばく露の問題に関連するもののみを対象とする。ACGIH®は、2018 年 7 月 31 日までに調査対象リストを 2 段階リストに情報を記載する:

- 第 1 段階へのエントリーは、開発プロセスの現状に基づいて、今後の年の経過とともに、意図的な変更 (NIC) または確立の意向 (NIE) の通知として進む可能性のある化学物質および物理的傷害源 (騒音、振動など) を示す。そして
- Tier 2 は、それ以上議論が進まない化学物質と物理的傷害源で構成されるが、翌年の調査対象リストに残るか、または削除される。

委員会がカーボンナノチューブの提案 TLV®を進めることを決定した場合、ACGIH®理事会は最初に提案された値を批准し、TLV®-CS 委員会の 2018 年次報告書で NIEとして公表される。

(v) ニューヨーク州

2017年4月25日、ニューヨーク州知事 Andrew Cuomo は、「California and New York は、洗剤の成分を製造者に開示することを要求した。提案されている家庭用クレンジング製品情報開示プログラム(案)では、ニューヨークで販売される家庭用クレンジング製品の製造業者に、ウェブサイト上に化学成分を開示することが求められる。ニューヨークは、製造業者が洗剤製品における化学成分を開示することを要求する米国の最初の州になるとしている。なお、最大の標的はドライクリーニングに使用されるパークロロエチレンである。このプログラムでは、ナノマテリアルを含む特定の成分に関する情報を開示する必要がある。ガイダンス草案では、「ナノマテリアルである各成分について、ナノマテリアルを記述する用語を開示すべきである」としている。ガイダンス草案に関するコメントは、2017年7月14日に期限が来た。

草案には、ナノマテリアルについては以下の記述がある；

- ナノマテリアルは、特性および機能がサイズ依存性を達成するために意図的に設計された物質であり、1 つ以上の外形寸法または内部構造が、100 ナノメートル未満であると測定される。ナノ材料である各成分について、ナノマテリアルを記述する用語を開示すべきである。例えば、ナノマテリアルが炭素であるならば、ナノ材料開示は、用語「ナノ」炭素を使用すべきである。

2) 欧州

(ア) 欧州委員会 (EC)

(i) 環境総局

EC 環境総局 (EC DG Environment) は、ナノ物質の定義に関する勧告の改訂について、長い間待たれていた公開協議 (コンサルテーション) を開始した (9 月 15 日)。2011 年に合意した定義では、1nm~100nm の間に 50% 以上の粒子を有する物質とした。EC が共同研究センター (JRC) からの第 3 の最終報告を待つ間、2014 年 12 月の元の改訂締め切りは延期された。最初の改訂は 2015 年 7 月に発表され、レビューのために考慮されるべき技術的および科学的勧告事項を含んでいた。この遅れは、多くのステークホルダーの間で不満を募らせた。2017 年 3 月 14-15 日に開催された最後のナノマテリアル所管官庁サブグループ (CASG-Nano) 会議では、NGO、加盟国、および Echa は、定義を取り巻く明確さの欠如に「失望した」と NGO the European Environmental Bureau の Tatiana Santos は言った。会合では、委員会の関係者は、定義のレビューに関する公開コンサルテーションが「1 ヶ月以内に」開始されると述べた。欧州委員会は最近発表された改訂のロードマップで、次のような問題に取り組むことを目標としていると述べている。

- 殺生物剤製品の場合のように、勧告の EU 規制への「取り込み」が開始されたが、「予想されたように包括的ではなかった」。これは、定義に含める予定のプロセスの遅延によるものである。
- 法律で直接適用することは困難である。たとえば、事前に完全に定義されていないデフォ

ルト値であるしきい値が含まれており、その値を決定するために追加のプロセスが必要な場合がある。これは規制間の矛盾を引き起こす可能性がある。

- いくつかの用語の使用法と基準の適用方法を明確にする必要がある。
- 普遍的な適用可能な測定方法はなく、材料がナノマテリアルであるかを迅速に判断するための「容易な」実行ルートもない。

(ii) ECHA

(a) ナノ物質登録のための REACH 附属書の改訂

EC は、ナノ物質登録のための REACH 附属書 I、III、VI、VII、VIII、IX、X、XI および XII の改訂に関する公開協議を 2017 年 10 月 9 日に開始したことを発表した。この改訂は、ナノ形態を REACH の下に登録する際の法的要件が何であるかをさらに明確にし、ECHA のナノ物質に対する REACH をより効果的に実施する能力を向上させるものである。パブリックコメントは 2017 年 11 月 6 日までとし、改訂案が承認されれば、2020 年 1 月 1 日より適用される。規則案の概要は以下の通りである；

- ナノ形態を有する物質の登録要件および関連する下流ユーザーの義務に関する明確化は、附属書 I、III および VI～XII に含まれるべきである。
- 製造業者と輸入業者は、ナノ形態を有する物質の特定された用途から生じるリスクが適切に管理されていることを化学物質安全性報告書で評価し、関連する場合は必要な情報と文書を作成する必要がある。
- ナノ物質の大部分はナノ形態の段階的導入物質であると予想されているため、低生産量の段階的導入物質に関する新しい毒性学および生態毒性情報の生成の要件の条件は、評価基準が ナノ形態の予測される特性に基づくものであるということを保証するようなものでなければならない。
- すべての異なるナノ形態およびナノ形態のセットは、安全性の実証において登録者によって考慮されるべきである。
- 吸入可能なナノ形態の、特に作業場での潜在的なばく露を効率的に評価するために、異なるナノ形態またはナノ形態のセットについて、ダスティネスに関する情報を提供する必要がある。
- 最小生産量の急性毒性試験は経口経路を介した試験が必要とされるが、ナノ形態については、吸入、または非常に特殊な場合には、皮膚経路がより適切なばく露経路と考えられる。
- 異なるナノ形態またはナノ形態のセットを特定するために使用されるものに加えて、多くの特定の物理化学的特性が、個々の場合に応じて必要なパラメータについてのナノマテリアルの特性の科学的理解に適切であるとみなすことができる。作業性およびつり合いの理由から、他の粒子特性が、これらのナノ形態のハザードあるいはばく露に有意に影響を及ぼす場合には、100 トン以上の高生産量物質の登録者のみが明示的に

そのような情報を考慮する必要がある。

- 提案された改訂の規定の遵守は、すべての登録者および川下のユーザーがナノ形態を有する物質のより具体的な要件に適応するのに十分な時間を与えるために、直ちに要求される必要はない。

上記のパブリックコンサルテーションで EC に寄せられたコメントが、EC によりオンラインに掲載された。コメントは全部で 36 件提出され、受け取ったコメントは以下のカテゴリーに分類される；

- 米国化学協議会 (ACC) のナノテクノロジーパネルを含むビジネス協会。Fachverband der Chemischen Industrie (FCIO) ; 合成アモルファスシリカ生産者協会 (ASASP) ; ヨーロッパの日本ビジネス協議会 (JBCE) ; 塗料、印刷インク、アーティストの色彩産業 (CEPE) の欧州評議会 ; ナノテクノロジー産業協会 (NIA) ; ドイツの塗料および印刷インク協会 (VdL) ; 日本化学工業協会 ; ドイツ化学工業協会 (VCI) ; 欧州化学工業協議会 (Cefic) 等
- フランスの食品、環境および労働安全衛生機関 (ANSES) を含む公的機関。連邦公共サービス (FPS) の健康、食品連鎖安全と環境、DG 環境・化学物質のリスク管理
- ナノテクノロジーとナノテクノロジー (アビシエン) を含む、非政府組織。ヨーロッパ環境局 (EEB)。動物のためのユーログループ ; ZERO-Associação Sistema Terrestre Sustentavel ; および Peta 国際科学コンソーシアム Ltd
- Evonik Industries AG などの会社/ビジネス組織。BASF SE ; SwedNano Tech ; Eckart GmbH ; Merck KGaA ; 欧州中小企業連盟 (UEAPME) および DaneColor UK Ltd
- GRACE GmbH を含む環境団体。インターエンバイロメント・ワロニー (IEW) ; ヨーロッパ環境市民組織 (ECOS) ; 国際環境法センター (CIEL)
- その他。Society for Institutional Analysis (sofia) ; グラフェン旗艦 ; Wirtschaftskammer Österreich (WKÖ) など

(b) 各種ガイダンス文書の更新・発表

ECHA では、REACH 規則に係るガイダンス文書の更新作業を行っており、REACH 規則の下で、2018 年の登録〆切前にナノ形態をカバーするドシエを準備する登録者を支援するための以下の文書を 2017 年 5 月～7 月にかけて発表した；

- ① 『How to prepare registration dossiers that cover nanoforms – best practices』
(ナノ形態をカバーする登録ドシエの準備方法に関するベストプラクティス)
- ② 『Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment』
関連
 - ✓ 『Appendix R.6-1 for nanomaterials applicable to the Guidance on QSARs and Grouping of Chemicals』(化学物質の QSARs とグルーピングに関するガイダンスへのナノマテリアルの適用に関する付録 R.6 章、2017 年 5 月、

version 1.0)

- ✓ 『Chapter R.7a:Endpoint specific guidance』(第 R.7a 章:エンドポイント固有のガイダンス、2017 年 7 月、version 6.0)
- ✓ 『Appendix R7-1 for nanomaterials applicable to Chapter R7a Endpoint specific guidance』(第 R7a 章エンドポイント固有のガイダンスに適用するナノマテリアルに関する付録 R7-1、2017 年 5 月、version 2.0)
- ✓ 『Appendix R7-1 for nanomaterials applicable to Chapter R7b Endpoint specific guidance』(第 R7b 章エンドポイント固有のガイダンスに適用するナノマテリアルに関する付録 R7-1、2017 年 5 月、version 2.0)
- ✓ 『Appendix R7-2 for nanomaterials applicable to Chapter R7c Endpoint specific guidance』(第 R7c 章エンドポイント固有のガイダンスに適用するナノマテリアルに関する付録 R7-2、2017 年 5 月、version 2.0)
- ✓ 『Chapter R.7b:Endpoint specific guidance』(第 R. 7b 章:エンドポイント固有のガイダンス、2017 年 6 月、version 4.0)
- ✓ 『Chapter R.7c:Endpoint specific guidance』(第 R. 7c 章:エンドポイント固有のガイダンス、2017 年 6 月、version 3.0)
- ✓ 『Part C:PBT/vPvB assessment』(Chapter R.11) (パート C:PBT/vPvB 評価、2017 年 6 月、Version 3.0)

上記のように ECHA では、REACH 規則に係るガイダンス文書の更新作業を随時進めているが、ガイダンス文書については、ドラフト文書についても、2018 年の登録期限までの登録に際して、その内容を踏まえることが有益であろう、との見解を示している。

a) ナノ形態をカバーする登録ドシエの準備方法に関するベストプラクティス

ECHA では、REACH 及び CLP 規則に関する解説書を公表しており、その 1 つに、ナノマテリアルに関する解説書として、『How to prepare registration dossiers that cover nanoforms: best practices』(ナノ形態をカバーする登録ドシエの準備の仕方:ベストプラクティス、2017 年 5 月、version 1.0)がある。

本文書は、1 つの物質の異なる形態を区別するための推奨事項と、ナノ形態に関する情報を一貫してドシエに報告する方法を提供している。また、ナノ形態を網羅する登録ドシエを準備する登録者への助言を与えるために作成されたもので、本文書で提供される助言は、登録者のためのものであり、ベストプラクティスあるいは推奨事項を示す。ここで示されるベストプラクティスは、ナノマテリアルの定義に関する委員会勧告を満たす物質を登録する際に、最低限推奨される要素を特定するもので、これらの特定された要素は、登録ドシエの対象となる物質の性質を理解する上で重要であると考えられている。なお、ナノ形態を含む登録が対象とするすべての可能性のある物質の有害性は、登録ドシエに記載されている毒性学および生態毒性学的情報により解決されなければ

ならない。また、本文書は、ナノマテリアルに特有の助言を提供することを目的としたものであり、登録に関するガイダンスに示された一般原則の適用を排除するものではない。なお、ECHA は当初ガイダンス文書を意図していたが、ケース A-011-2014 における審議会(BoA)の決定の結果、勧告ベストプラクティス文書として発行することとなった。

本文書で、どんなナノマテリアルであっても、以下の 3 つの共通要素については区別することができるため、潜在的な登録者は、最低限以下の 3 つの要素の影響について考慮する必要がある、としている；

- ✓ 粒子サイズ(ナノマテリアルの定義を満たすかどうか)
- ✓ 粒子の形状
- ✓ 表面化学(例:粒子表面の化学的性質)

上記は、登録ドシエに登録されたナノ形態の特徴づけを行うために推奨される最小限の要素であり、登録された物質により、これら 3 つの要素に、要素を追加したり、又はこれらの要素を修正して報告することは、情報要件を満たすために収集あるいは生成されたデータで決定されるように、特性に対する影響に応じて、必要とされている。

粒子サイズは、ナノマテリアルの定義に関する欧州委員会勧告にもみられるように、ナノマテリアルの用語を定義する上で中心的な役割を果たしている。したがって、サイズは、ナノ形態を報告するための最小限の要素として推奨されている。

粒子形状は、粒子の挙動に影響を与え、毒性に影響を与える可能性があることが、推奨される最小限の要素の 1 つとして、粒子形状を考慮する根拠とされている。

表面化学は、ナノマテリアルは比表面積が大きいため、粒子表面の化学的性質が、その物質の性質に大きな影響を与える可能性があり、表面化学は、表面処理剤による処理により表面に導入された構造及び化学的官能基を生成するために使用されるプロセス条件に依存する。表面化学が粒子特性に及ぼす影響を考慮すると、登録により網羅される物質の全ての可能性のある形態により引き起こされる有害性を決定するための義務を果たす際に、物質の表面化学の変動性は、常に潜在的な登録者により考慮される必要があり、登録者が、表面処理したナノ形態の物質により引き起こされる有害性を決定する際に、表面化学の変化をどのように考慮したかを示す必要がある場合に、表面処理剤の化学的同一性を最小限考慮する必要があるためである。

b) Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment 関連の付録

① Appendix R.6-1 for nanomaterials applicable to the Guidance on QSARs and Grouping of Chemicals

『Appendix R.6-1 for nanomaterials applicable to the Guidance on QSARs and Grouping of Chemicals』(化学物質の QSARs とグルーピングに関するガイダンスへのナノマテリアルの適用に関する付録 R.6 章、2017 年 5 月、version 1.0)は、『Guidance on information

requirements and chemical safety assessment』のうち、化学物質の QSARs とグルーピングに関するガイダンスのナノマテリアル固有の付録として発表されたもので、登録者にナノ形態間(及び非ナノ形態間)と、同じ物質のナノ形態のグループ内で、有害性データの使用を正当化する方法に関するアプローチを提供することを目的としている。ただし、ナノマテリアルに関する QSARs に関しての具体的な助言は、現時点の最先端技術では推奨事項を提供することができないことから、本バージョンでは提供されていない。

表面化学のような物理化学パラメータが異なることで、同じ物質のナノ形態が、潜在的に異なる有害性プロファイルを有する可能性がある。したがって、登録者にとって重要なことは、ナノ形態(及び非ナノ形態)の(生態)毒性学的特性に違いがあるかどうか、すなわち特定のエンドポイントについて追加の有害性データを生成する必要があるかどうかを決定する方法である。本文書では、登録によりカバーされるナノ形態(及び非ナノ形態)の(生態)毒性学的特性及び運命に違いがあるかどうかを評価する方法に関する体系的かつ実用的なアプローチを提供している。ここで示すアプローチは、関連する物理化学パラメータ(考慮するエンドポイントにより異なる可能性がある)に基づいてナノ形態をグループ化する 3 段階からなるアプローチである。なお、本文書で説明しているアプローチは、『the updated OECD 2014 Guidance on Grouping of Chemicals』で概説されている原則に従っている。本文書で推奨する段階的アプローチを図 3.1-1 に示す。

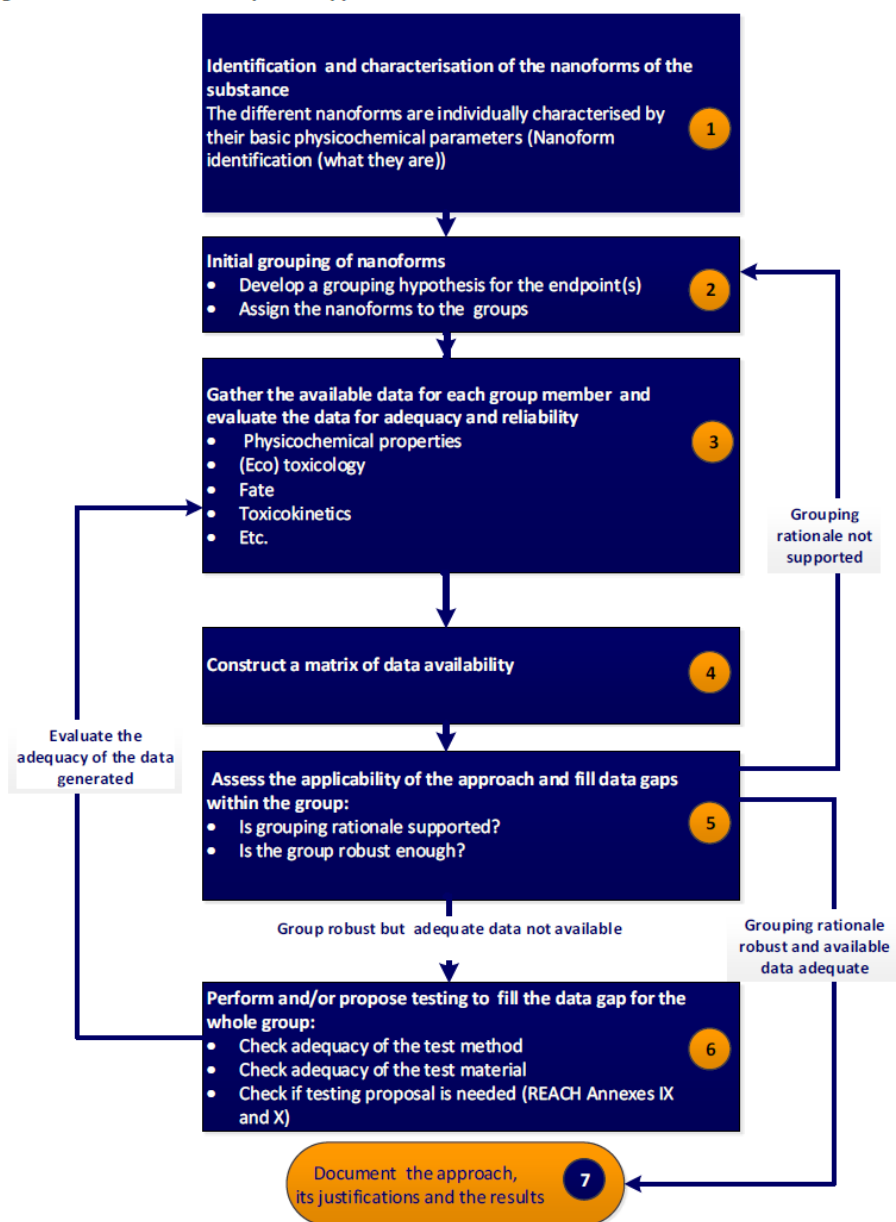


図 3.1-1 化学物質の QSARs とグルーピングに関するガイダンスへのナノマテリアルの適用に関する付録 R.6 章で推奨する段階的アプローチ (同文書 Figure 1)

② Appendix R7-1 for nanomaterials applicable to Chapter R7b Endpoint specific guidance

『Appendix R7-1 for nanomaterials applicable to Chapter R7b Endpoint specific guidance』(第 R7a 章エンドポイント固有のガイダンスに適用するナノマテリアルに関する付録 R7-1、2017 年 5 月、version 2.0) は、『Guidance on information requirements and chemical safety assessment』のうち、R7a 章に適用するナノマテリアルに関する付録 R7-1 の更

新版として発表されたもので、バージョン 1 は 2012 年 4 月に公表されている。本文書は、ナノマテリアルである試験材料に対する特定の推奨事項に焦点を当てている。

本文書は、「第 2 章 物理化学パラメータに関する推奨事項」と「第 3 章 ナノマテリアルに対する毒性学的情報要件に関する推奨事項」の 2 つからなる。

「第 2 章 物理化学パラメータに関する推奨事項」では、「2.1.1 試料調整」で、ナノマテリアルの特徴づけ及びその後の試験に向けた最も重要なステップの 1 つが試料調整であり、試料調整の方法を検討する際に考慮すべき多くの変数があり、かつナノマテリアルについては、強凝集体や弱凝集体が分散したり、粉末になったり、エアロゾルの形態で存在する可能性があるため、それらの形態の存在が、合成、貯蔵、取扱いの方法を含む多くの要因によって影響を受けることに留意する必要がある。強凝集や弱凝集の状態は、ナノマテリアルの特徴づけと試験の解釈に影響を与える重要なパラメータであると認識されているため、試料調整中も考慮する必要がある。また、液体媒体中の粒子の挙動は、溶液中での分散時期と溶解時期を区別することが困難であり、認識に当たっていくつかの追加の重要な側面と課題がある。また、関連する試料調整を開始するためには、『Guidance on Sample Preparation and Dosimetry for the Safety Testing of Manufactured Nanomaterials, OECD No. 36, ENV/JM/MONO (2012) 40』(製造されたナノマテリアルの安全性試験のための試料調整及び投与量測定ガイドランス)を考慮する必要がある。例えば、試料調整に当たって、以下の側面は重要であると考えられている；

- ナノマテリアルの物理化学的特性(例えば、粒度分布、形状、比表面積、組成、不純物、表面化学)と、試験媒体中に存在する状態(凝集/沈殿の程度)の特徴づけ
- ナノマテリアルの試験項目の調整と分散は、試験媒体の特徴を考慮すべきである。(生態)毒性試験媒体におけるその特性により、ナノマテリアルの物理化学的特性は、生物学的な(生態)毒性学的影響と同様に、これらの媒体における生物-物理化学的条件との相互作用による影響を大きく受ける。したがって、試験では、ばく露濃度を監視するための分析を同時に実施すべきである。
- 粉末の使用及び/又はエンドポイントに依存した分散などの試験段階を含む可能性があるため、試料調整もまた、管理、一貫性、関連性、信頼性、堅牢性が必要であり、試験項目は多段階の調整プロセスを受ける可能性がある。
- 選択された試料調整手順(及び、適用されている場合は、管理)は正当化され、研究の要約で十分に報告されるべきである。
- 最適な投与量測定基準(dose metrics)は知られていない可能性があるため、利用可能な場合には、質量測定基準に加えて、質量ベースのものよりも、表面積や粒子数などの他の投与量測定基準を使用する。

「2.2 エンドポイントに関する具体的な助言」では、「2.2.1 水溶性」、「2.2.2 n-オクタノール/水分係数」、「2.2.3 粒度分布」、「2.2.4 吸着/脱着」について記載し、それぞれについて、その他のガイドラインやプロトコルも紹介/参照している。

「第 3 章 ナノマテリアルに対する毒性学的情報要件に関する推奨事項」では、「3.1 一般的な注意書き」と「3.2 個別エンドポイントに関する特定の助言」を記載している。「3.1 一般的な注意書き」では、「3.1.1 ヒト健康のエンドポイントに関する試験実施とサンプリング戦略、及び試料調整に関する一般的な注意書き」として、試験材料の特徴と報告、生物学的サンプリング、非動物試験アプローチの使用、*in-vitro* 試験、について記載している。「3.1.2 試験妨害の考慮に関する注意書き」では、選択する試験法による妨害効果について記載している。「3.2 個別エンドポイントに関する特定の助言」では、「3.2.1 反復投与毒性」、「3.2.2 変異原性と発がん性」について、試験実施時に考慮すべき点等の助言を記している。

③ Appendix R7-1 for nanomaterials applicable to Chapter R7b Endpoint specific guidance

『Appendix R7-1 for nanomaterials applicable to Chapter R7b Endpoint specific guidance』(第 R7b 章エンドポイント固有のガイダンスに適用するナノマテリアルに関する付録 R7-1、2017 年 5 月、version 2.0)は、『Guidance on information requirements and chemical safety assessment』のうち、R7b 章に適用するナノマテリアルに関する付録 R7-1 の更新版として発表されたもので、バージョン 1 は 2012 年 4 月に公表されている。

本文書は、ナノマテリアルである試験材料に対する特定の推奨事項に焦点を当て、ナノマテリアルに関する生態毒性学的なエンドポイントに対する推奨事項と、ナノマテリアルの生態毒性と運命に関する試験実施方法に関する一般的助言と、水生生物や堆積物に関する試験ガイドライン、分解/生分解/輸送、といった個別のエンドポイントに関する具体的な助言を記している。

④ Appendix R7-2 for nanomaterials applicable to Chapter R7c Endpoint specific guidance

『Appendix R7-2 for nanomaterials applicable to Chapter R7c Endpoint specific guidance』(第 R7c 章エンドポイント固有のガイダンスに適用するナノマテリアルに関する付録 R7-2、2017 年 5 月、version 2.0)は、『Guidance on information requirements and chemical safety assessment』のうち、R7c 章に適用するナノマテリアルに関する付録 R7-2 の更新版として発表されたもので、バージョン 1 は 2012 年 4 月に公表されている。

本文書は、ナノマテリアルに関する生態毒性学的なエンドポイントに対する推奨事項と、水中での生物蓄積性や陸上生物への影響、といった個別エンドポイントに対する具体的な助言を記している。

(c) ナノマテリアルの EU オブザーバトリ (EUON)

2017 年 6 月 14 日に、ECHA は、EU 市場でのナノマテリアルに関する情報の透明性を高めることを目的とした公開ウェブサイトである、European Observatory for Nanomaterials (ナノマテ

リアル EU オブザーバトリ (EUON)¹ を立ち上げた²。ECHA は、2016 年に欧州委員会との間で、オブザーバトリを開発し主催することに関する合意に調印した。

EUON は 3 段階で開発される予定である。最初に、EHCA は使用されている用途や潜在的な安全衛生上の問題など、ナノマテリアルに関する EU 市場での既存データを収集する。プラットフォームはまた、EU やその他の管轄区域でどのように規制されているか、また関連する進行中の研究プロジェクトに関する情報を提供する。次の 2 段階では、それぞれ 2018 年と 2019 年のリリースが予定されており、様々な情報源からのデータの統合と、オブザーバトリ ウェブサイト上の検索機能の改善に取り組むとしている。同時に、欧州の研究データや消費者の選択に関する研究など、より多くの情報を外部情報源から検索する予定である。新しいデータは、1 つ 1 つ次の年または 2 年間でオブザーバトリに追加される予定である。

また、次のフェーズに貢献する 2 つの研究を開始する予定である。その 1 つは、よく知られている、消費者製品のナノ顔料の潜在的な使用リスクと労働者のための文献レビュー、である。第 2 の研究では、市場のナノマテリアルに関するより多くの情報を収集するために、市場調査と関連性と信頼性を生み出すために使用されるパラメータに焦点を当てる。

a) ステークホルダー・ダイアログ会合³

ECHA は、認可されたステークホルダーと加盟国に対し、6 月 30 日、EUON (EU Union of Observatory Nanomaterials) の傘下にあるステークホルダー・ダイアログ会合に参加するよう招待した。この会合の目的は、EUON の将来の発展に関する招待された締約国からの意見を集めることでした。詳細な議題は附属書 I に、参加者のリストは附属書 II に記載されている。

イベントに先立って、最初の打ち上げ時のフィードバックを収集するための調査が開始された。これを受けて、このイベントは、受け取ったコメントを明確にするとともに、ステークホルダー間の共通の見解に向けて議論を進める機会となった。

一般的に、この会合では、オブザーバトリをさらに発展させる方法の見解やアイデアを取り上げることに焦点を絞った。ユーザーの多様なニーズに対応するためにウェブサイトのコンテンツを拡大し、外部のデータベースや出版物を利用して研究成果や既存のデータを配布したり、EUON に対する新たな研究を実施したりする。これは、3 つのテーマに基づいた世界的なカフェ・アプローチを通じて行われた；

① コンテンツに関する将来のアイデア

オブザーバトリのコンテンツは、多くの異なる視聴者をターゲットにする必要がある。本セッションでは、将来の可能性のあるコンテンツに関するブレインストーミングが行われた。参加者には、コンテンツを提案する際に、以下のターゲットオーディエンスを念頭に置くように求められた；

¹ <https://euon.echa.europa.eu/>

² <https://echa.europa.eu/-/eu-observatory-for-nanomaterials-launched>

³

https://euon.echa.europa.eu/documents/23168237/23372605/workshop_report_en.pdf/4fddb2d-bc12-244d-d997-29d855c2cadd

- ✓ 一般市民／消費者
- ✓ 規制者
- ✓ 科学者
- ✓ 労働者
- ✓ 産業

この議論の結果、以下に要約されるいくつかの重要な提案が得られた。

● 一般的な提案

参加者は、EUONの将来の発展についてECHAが検討するための、多くの一般的な提案やコメントを提出した。これらには、

- 野心の正しいレベルの設定:いくつかの参加者は、相当量の情報が利用可能である一方、情報の収集、検証、および審査は膨大な作業であると指摘した。タスクのサイズは、対象となるさまざまな視聴者の数によってさらに複雑になる。一部の参加者は、この野望を達成するためのコストは法外なものになるかもしれないと警告した。いくつかの参加者は、特定の視聴者および/または情報源に焦点を当てることを提案した。
- データを収集するための機関を設置する:参加者は、EUONに必要なデータ/情報を収集する責任者を設置することを提案した。そのような機関は、1)ステークホルダーにデータ提出を促すために異なるステークホルダー/組織と連絡をとること、および2)天文台を通して伝えられる情報/データの品質を管理するためのシステムを提供すること。

● 推奨されるコンテンツ／データベース

参加者は、EUONは以下の情報源を考慮すべきであると示唆した:

- ナノ材料関連研究プロジェクトの要約:少なくとも1つの加盟国は、その加盟国が資金を提供する研究プロジェクト(例えば、英国研究評議会が主催するResearch Fish)の概要を持っている。他の加盟国も同様の制度を有する可能性がある。
- DaNa
- SRI ビジネスインテリジェンストラッカー

さらに、EUONは、ナノマテリアルに関する会議出席者の要約をEUONに提供するために、ナノマテリアルに関する会議/会議主催者との調整を検討することが提案された。

● EUONのための提案された機能

参加者は、今後のEUONの立ち上げに向けて以下の機能を提案した。

- ライフサイクルベースのエントリーポイント:物質への一般的なアプローチは、物質中心のアプローチで情報を構造化し、それによって問題の物質に基づいて情報を見つける。

ライフサイクルのさまざまな段階(物質、労働者/製造、製品/消費者、ライフサイクル/廃棄物の終わり)に異なるエントリーポイントがあることが示唆された。これにより、さまざまな視聴者が最も興味のある分野を選択することが可能になる。

- ▶ 参加者は、個々の製品に関する情報を収集し、それらを含むナノマテリアルにリンクすることが可能かどうかについて議論したが、これは不可能ではないにしても難しいと見なされた。代わりに、EUON は製品データベースの構築を試みるのではなく、製品カテゴリに焦点を当てるべきであると提案された。カテゴリ内の個々のナノマテリアルと、特定の製品カテゴリ内のナノマテリアルの機能の説明を提供することができる。
- ▶ 国の法律を含む立法に関するより包括的な情報が必要と考えられた。

● 推奨される研究

参加者は、ナノマテリアルに関する将来の外部研究のためのいくつかの潜在的トピックを提案した。これらには、

- ▶ 職場におけるナノ物質の規制:異なる加盟国のナノマテリアルに対してどのように労働安全衛生が実施されているか? この結果はハンドブック/ガイドラインになる可能性がある。
- ▶ 異なる研究プロジェクトの成果はどのようにしてさらに活用できるのか。

② 促進、マルチプレイヤー、他のプラットフォームへの接続

ECHA は、EUON の目標と目的を説明するためのいくつかの重要なメッセージを開発している。グループは、EUON のマルチプレイヤーとして誰が行動できるのかと同様に、これらを反映するように求められた。

- ▶ ナノ物質は、それらを有用にする特定の特性を有するが、場合によっては、それらが人の健康および環境に有害になる可能性もある
- ▶ ナノマテリアルは他の化学物質と同じ規制によって規制されている
- ▶ ナノマテリアルは他の物質と似ており、一部は有害であり、一部は有害ではなく、その危険性や危険性はケースバイケースで評価されなければならない
- ▶ 現在、リスクアセスメントを防止する多くの場合に使用されるナノマテリアルの潜在的な危険性に関する情報が不足している

業界を代表する多数の参加者とのディスカッションにより、以下に列挙された主要メッセージに関するいくつかの有用なアイデアやフィードバックが得られた;

- ▶ 聴衆にアプローチする
- ▶ 重要なメッセージのフィードバック
- ▶ コンテンツに関する一般的なコメント

③ 3年後の成功要因の特定

成功はさまざまな方法で測定できる。これには、成功の定量的測定(例えば、研究または物質の数、EUON ウェブサイトのヒット数)、ならびに定性的指標が含まれる。参加者は、成功の定量的および定性的尺度の両方の提案を提供するよう求められた。

成功要因と関連したいくつかの有用な点が議論で提起された:

- 定量的成功要因
- 定性的成功要因
- 広義での潜在的なリスク

b) 登録データに化粧品に使用されるナノマテリアルをリンク

欧州委員会(EC)は、欧州連合(EU)市場で化粧品に使用されるナノマテリアルのカタログを発表しているが、2018年2月5日、EUON(European Union Observatory for Nanomaterials)は、欧州化学物質庁(ECHA)のデータベースにある登録、評価、認可、制限(REACH)の登録データカタログ中のナノマテリアルにリンクしている表を公表した。EUONによると、ECHA データベース内の化学物質をケミカルアブストラクトサービス(Chemical Abstracts Service: CAS)番号および/またはカタログ内のナノマテリアル名と照合することによってリンクしている。EUON は、化粧品規制の下でのナノマテリアルの登録と REACH 下の化学物質の登録は異なる範囲を有するので、常に完璧に一致をすることはできないと注意している。

いくつかのカタログエントリは、REACH の下で登録された化学物質よりも範囲がより具体的である。EUON は、REACH 登録が、化粧品に使用される化学物質のナノ形態のものを特別にカバーしていない可能性があるかと警告している。

(d) EU の化学物質“ファインダー”

2017年3月末に、ECHA は EU 内で物質がどのように規制されているかを概観する「EU 化学物質規制ファインダー」データベースを導入すべきかどうかを決定するためのフィージビリティ・スタディの作業を開始した。ファインダーは、ECHA が化学物質についてのさまざまな法律や規制プロセスに関する情報を統合するために使用する、普及用のポータルサイトの継続的な機能強化である。このスタディは11月までに終了する予定で、来年にそれを先に進めることに決ったら、ECHA は2019年の第1四半期に向けての開発を開始することになる。これは ECHA が進めてきた「透明性(Transparency)を向上させる」努力の一環である。

(e) ナノマテリアル専門家グループのための web ページ

ECHA は2012年10月に創設されたナノマテリアル専門家グループ(NMEP)のウェブページを作成した。NMEP は、ナノマテリアルについての化学物質の登録、評価、認可および制限(REACH)規制、分類、表示、包装(CLP)規制、および殺生物製品規制(BPR)の実施に関する科学技術上の問題についての専門家間の共通の基盤を求めることを目的としている。ECHA によ

れば、このページには、NMEP の任務や活動に関する情報、メンバーリスト、会議のスケジュールが含まれており、将来は会議の議事録も含まれる。

(f) 二酸化チタンの分類と表示のための RAC の結論

ECHA は、2017 年 9 月 27 日に、リスク評価委員会 (RAC) が、調和分類・表示 (CLH) に関する、二酸化チタンを含む 10 件の意見をまとめたと発表した。2016 年 5 月、フランスは二酸化チタンは、吸入すると人に発がん性を示す可能性があるとのみならず、カテゴリー 1B-H350i に分類されるべきであるという CLH 提案を提出した。フランスは、この分類は、「形態、結晶相および表面処理の点で区別することなく、」二酸化チタンの微粒子およびナノ物質の両方に適用することを提案した。

2017 年 5 月 29 日～6 月 2 日および 6 月 8 日～9 日に開催された RAC-41 で、RAC は、「利用可能な科学的証拠が[分類、表示および包装 (CLP)]規制において、二酸化チタンを吸入経路で癌の疑いのある物質とする基準に合致すると結論した。」

ECHA のプレスリリースの附属書には、RAC が 2017 年 9 月 18-22 日に開催された RAC-42 の前に書面による手続きで最終意見を採択したことが記載されている。RAC は二酸化チタンをヒトの発癌物質である可能性があるカテゴリー 1B と分類する提案に同意しなかったが、「ヒト発がんが疑われるカテゴリー 2, Carc.2; H350(吸入)、すなわち口腔または経皮経路ではない、として分類することに同意した。」 ECHA は、この意見は RAC のウェブページで「近い将来に」利用可能であると述べている。

(iii) 欧州委員会共同研究センター (JRC)

(a) ナノマテリアルの安全性評価のための NANoREG フレームワーク報告書

EC の共同研究センター (JRC) は、『JRC Science for policy report: NANoREG framework for the safety assessment of nanomaterials』(ナノマテリアルの安全性評価のための NANoREG フレームワーク、2017 年 4 月)と題する政策科学報告書を発表した。報告書は、NANoREG プロジェクト「ナノマテリアルの規制試験に関する欧州共通の取組み」の中で開発された。

NANoREG フレームワークは、現在の欧州の規制枠組み下で、REACH 規則に焦点を当て、ナノマテリアルの環境健康安全 (EHS) 評価の分野における共通理解のためのプロジェクトの提案を表している。この報告書はまた、ナノマテリアルのための REACH の実施を促進する必要性に関する進行中の議論に貢献することを意図している。

主要な結論は、EC、ECHA、OECD、科学界が、「近年、ナノマテリアルの EHS に関する知識を改善し、障害を除去し、ナノマテリアルの規制要件に取り組んでいるステークホルダーを具体的に支援するために緊密に協力してきた」という指摘である。フレームワークは、safe-by-design、ナノマテリアル特有の優先順位づけとリスク評価、ライフサイクルアセスメント、という将来を見据えた戦略を提供しており、科学専門家、規制当局、業界を対象としたものである。

(b) Nanocomput プロジェクト報告書

2017年7月に、JRCがNanocomputプロジェクトの最終報告書「ナノマテリアルの安全性評価における計算手法(computational approach)の有用性と適用性の評価」を公表した。

Nanocomput プロジェクトの主目的は、工業ナノ粒子の性質を予測するのに有用である可能性のある計算手法の現状をレビューし、評価することにより、これらのアプローチが、REACH 規制の目的のために役立つかどうかの助言を提供することである。このプロジェクトは、定量的構造・物性関係(QSPR)と定量的構造・活性関係(QSAR)モデル、およびそれらのナノマテリアルの特性を予測する潜在的役割を強調した。さらに、Nanocomput プロジェクトは、多様な配列のコンパートメントベースの数学モデルの状態を評価した。これらのモデルは、毒物動学的、毒物動態学的、インビトロおよびインビボの用量決定、ならびに環境運命モデルを含んでいた。このレポートには、Nanocomput プロジェクトの全体的な結論が含まれている。これには、文献レビューやグループピングとリードアクロスに関する研究ベースの事例研究からの教訓が含まれている。ナノ材料の挙動の知識やツール(データベースや予測モデルなど)の適用性における現状の知識の欠点を克服することを意図した勧告およびナノマテリアルの規制査定にそのようなツールを使用する実践的なガイダンスを提供している。

(c) ナノマテリアル安全性評価のための NANoREG Toolbox

JRCは、2017年10月に、ナノマテリアルの安全性評価のための NANoREG ツールボックスを発行した。JRCはこれまで、ナノマテリアルの安全性評価のための NANoREG フレームワークと名付けられた科学政策の報告書を発表した。報告書は、NANoREG プロジェクト「ナノマテリアルの規制試験に関する欧州共通の取り組み」の中で開発された。NANoREG フレームワークは、化学物質の登録、評価、認可および規制(REACH)に焦点を当て、現在の欧州の規制枠組みのもとでのナノマテリアルの環境健康安全評価の分野における共通理解のためのプロジェクトの提案を提示したものである。

ツールボックスは、欧州 REACH の文脈における規制当局やその他の利害関係者にとって有用な利用可能なツール(試験方法、データセット、モデル、ガイダンス文書、デシジョンツリー)の概要を提供することによって、フレームワークの実行を支援する。これらのツールは、NANoREG の科学的成果物で公開されたものだけでなく、安全性評価において1つ以上の「ナノに特異的なハードル」に取り組んできたヨーロッパレベルおよび他のイニシアチブからのものも含んでいる。ツールボックスは、現在の(現在利用可能なツールとアクセス可能な)ツールと将来の(約束された)ツールを区別する。結果として得られる2つの Excel®ワークブックは、1つのファイルに圧縮され、詳細な情報とメタデータが添付されたカテゴリ化されたツールの幅広いレビューを含んでいる。このデータセットは、「拡張または活用のために、規制当局や産業界のグローバルナノ EHS コミュニティが自由に入手できる。」

(iv) 消費者安全科学委員会 (SCCS)

(a) 紫外線遮蔽用の皮膚に塗布する化粧品の二酸化チタンナノ粒子のコーティングに関する最終オピニオン

2017年3月7日、SCCSは、リン酸セチル、二酸化マンガンあるいはトリエトキシカプリルシランで被覆された二酸化チタン(ナノ形態)の、紫外線遮蔽用の皮膚に塗布する化粧品としての使用に関する最終的なオピニオンを発表した。

この3種類のコーティングをしたナノ二酸化チタンについて、皮膚吸収や一般的な毒性データは充分ではないが、健康で、無傷の、あるいは日焼けした皮膚への塗布という化粧品としての使用は安全であるとした。ただ、経口吸収の可能性のあるような使い方には注意が必要であると指摘した。また、肺からの吸収はないものとし、環境影響も考慮していない。

(b) 紫外線遮蔽用途の二酸化チタンナノ粒子を使用したスプレーについてのオピニオン

2015年7月にECは、紫外線遮蔽用途の二酸化チタンナノ粒子と5.5%の濃度までの個人用のスプレー製品の安全性を支持するデータを産業界から提出されていた。ECはSCCSにそのデータの検討を依頼していたが、3月10日、このデータでは、安全性を保証するには不十分であるとの結論を出した。提出されたデータには、スプレー製品からのばく露や吸入による毒性実験が含まれておらず、皮膚への塗布の実験結果のみであったからである。このオピニオンに関して5月14日までコメントを受け付けた。

二酸化チタンを含む噴霧可能な日焼け止めのいくつかの製品は、安全ではない可能性がある、とECの科学委員会が結論づけた。SCCS(消費者安全科学委員会)からの意見書では、UVフィルターとして濃度上限5.5%で二酸化チタンを含む噴霧可能なパーソナルケア製品に限定されている。委員会は、産業界から提供された情報は、安全性評価を行うには不十分であった、と述べている。特に、産業界のドシエには、EUの噴霧可能な日焼け止め市場の20%を占める非水系ベースで形成されたもののばく露データは含まれていなかった。また、吸入に関連する適切な毒性評価も提供しなかった。提供された情報によれば、SCCSは、ナノスケールの二酸化チタンを含む市場では既に噴霧可能な製品が存在する。「消費者の吸入による肺のばく露による有害な影響を避けるために、このような使用法は慎重に評価する必要がある」と付け加えている。意見書では、だれがドシエを提供したかは明らかにしていない。対応する「SCCS要求に対する要求」は、オランダ企業DSM Nutritional Productsが噴霧可能なパーソナルケア製品におけるUVフィルターとしての二酸化チタンの使用を支援するためのドシエを提出した、と述べている。

(v) 欧州食品安全機関 (EFSA)

(a) Efsa パネルは2つの食品接触材料を許可

欧州食品安全局(Efsa)の科学パネルは、2つの公表された意見書で、食品接触材料(FCM)への使用に関して、セレンナノ粒子とイソブタンを通過させた。

セレンナノ粒子は、参加の影響を受けやすい FCMs の酸化防止剤として使用される。EFSA の食品接触材・酵素・香料・加工助剤 (CEF) パネルは、ポリオレフィン層によって食品から分離された多層フィルムに使用される際に、食品中へのセレンの移行を検出しなかった。このようにして、ナノ粒子は消費者に安全上のリスクをもたらさない、と結論づけた。

イソブタンは果実、野菜、肉、魚及びチーズなどの食品を包装するために使用される発泡ポリスチレン (EPS) を製造するための発泡剤として使用される。

CEF は、この物質の使用に対して安全性の懸念がなかった。移行データに基づいて、ばく露は「極めて低い」と推定された。

(b) 活性な食品接触材料に使用するためのセレンナノ粒子の安全性評価を発表

上記に関連して、欧州食品安全局 (EFSA) の、食品接触材料、酵素、香料、および加工助剤に関するパネルは、(PET) 層と内部ポリオレフィン (食品接触) 層とを含む多層ラミネートの接着中間層にセレンナノ粒子を組み込んだ食品接触材料 (FCM) 物質番号 1070 を評価した。パネルの評価結果は、EFSA ジャーナルの 2018 年 1 月号に「活性な食物接触材料に使用するための活性物質セレンナノ粒子の安全性評価」と題する論文に掲載されている。要約によると、すべての試験において、セレンの移動は検出できなかった。この論文では、ポリマー中のナノ粒子の拡散特性に関する現在の知識を考慮して、パネルは以下のように結論している。「セレンナノ粒子を多層フィルムに用い、ポリオレフィン食品接触層によって食品から分離した場合、どんなタイプの食べ物でも、どんな食べ物の接触状態でも消費者にとって安全性の懸念はない。」用いられた活性セレンナノ粒子は 50–90nm のサイズ範囲である。

(c) ナノリスク評価ガイダンスに関するコンサルティングを開始

Efsa は、ナノマテリアルのリスク評価のためのガイダンス文書のパブリックコンサルテーションを開始した。この文書は、食品接触材料及び農薬を含む、食品及び飼料連鎖におけるそれらの使用を包含している。コンサルテーションは 3 月 4 日まで開かれている。

Efsa は、「特に、ナノマテリアルを開発する人々及び安全性試験を行う人々」からの科学的コメントを期待している、と述べている。3 月と 4 月に回答を検討した後、夏までに最終文書を発表する予定である。

これは、2011 年にガイダンスが作成されて以来、Efsa のナノマテリアルガイダンスの最初の改訂である。Efsa は、それ以来行われている関連する科学的発展を含む、と述べている。

例えば、ナノマテリアルが消化管間にある状態で迅速かつ完全に分解するかどうかに重点が置かれている、ということがある。Efsa はこれを段階的提案の重要な第一歩として含めた。

また、ばく露評価へのアプローチが再設計された、と述べている。文書には、ハザードの特徴づけのための新しい階層化された方法 (tiered method) を含んでいる。最初の階層結果に応じて、以下を調査する研究を依頼する:

- ✓ 生殖発生毒性;

- ✓ 免疫毒性;
- ✓ アレルギー誘発性;
- ✓ 神経毒性;
- ✓ 腸内微生物に対する影響;そして
- ✓ 内分泌活動

2011年のガイダンスと同様に、Efsaは、経口摂取によるナノマテリアルへの経口ばく露に焦点を当てている。しかし、飼料添加物や農薬の存在を評価するために、皮膚ばく露と吸入の要素を新たに追加した。

● 定義

古いガイダンスのもう1つの重要な違いは、最新の文書がナノマテリアルをどのように定義しているか、であり、化合物がナノマテリアルか否かを決定する方法に関わる最近公表された定義及び法的枠組みを考慮している。

化粧品規則、利生物性製品規則(BPR)、食品に関する規制の枠組みなどのEUの部門別規制には、様々な法的定義を有する同様のナノ固有の規定が含まれている。

これらの多くは、ある材料がEfsaのガイダンスの範囲内にあるかどうかを決定する検討することができる。例えば、BPRにおける定義は、ナノ農薬を特定するためのガイドとして用いられるべきである。

しかし、食品の法律で定義が確定するまで、どの材料がガイダンスの範囲にあるべきかは不明である、とEfsaは述べている。大まかな指針としてEC勧告により、1nm~100nmの粒子の50%以上の物質を含む物質として定義することができる。

しかし、長期延期された勧告は未だ採択されていない。現在、ステークホルダー・グループによりレビューが行われている。

(vi) EU Nano セーフティークラスタ

2017年12月30日に、EUナノセーフティークラスタ(NanoSafety Cluster : NSC)は、『EU US Roadmap Nanoinformatics 2030』(version for final commenting to 2017-12-30)と題するロードマップ報告書を発表した。

ナノインフォマティクス2030ロードマップは、ナノマテリアル(NM)のリスクアセスメントとガバナンスに関する問題と相まって、複数の相互接続する科学分野の最先端の解説をまとめたものである。ナノインフォマティクスロードマップでは、正式な環境、安全衛生(EHS)データの要件を取込むという別の検討事項が追加されている。例えば、規制当局の評価とガバナンスに関連する優れた実験室慣行、プログラムの方向性ではなく、今後の研究努力と共有ビジョンの調整が、ロードマップの役割である。

(vii) 化粧品関連

(a) 化粧品成分チェックリスト

EC は、消費者安全科学委員会 (SCCS) によって評価される化粧品成分に関するドシエを提出する申請者のためのチェックリストを発行した。(SCCS/1588/17; 3月7日付) チェックリストの中には、ナノマテリアルのチェックリストがある。化粧品規制では、ナノマテリアルを含む化粧品は上市の6ヶ月前に EC に通知し、そのナノスケール成分をラベルに表示することが義務付けられている。チェックリストの主な目的は、申請者とSCCSの両方が、書類が完全であるかどうかを迅速に評価し、不完全であるか不適当な/関連のないデータを含むドシエの提出を防止することである。これにより、安全性評価プロセスが合理化され、両方の時間とリソースが節約される。EC は、化粧品規制によって要求されるナノ物質のインベントリーの公開が遅れていると批判されていた。EC は、これに対し業界からの情報の品質の低さを非難している。

ナノマテリアルについては、それ以外の成分とは別に示されている。

(b) 化粧品のナノインベントリー

EC は6月15日、EU市場における化粧品中のナノ物質のインベントリの最初のバージョンを発行した。EC は当初、およそ3年半前にインベントリをリリースする予定であった。この遅れは、製造業者と輸入業者が不正確で一貫性のないデータを化粧品通知ポータル (CPNP) に提出し、それらにナノ物質が含まれているかどうかを知らせないためであった。さらに加盟国が市場監視を行うよう求められたため、準備に時間がかかった。このカタログには、着色剤、防腐剤、UV フィルターなどとして使用される43の物質が含まれている。各物質について、それが使用されている化粧品のカテゴリー、ならびに予測可能なばく露条件が含まれる。委員会は、インベントリは情報提供のみを目的としており、許可されたナノ物質のリストではないと述べている。カタログは変更されたまま作業中であり、定期的に更新される」とメンバー国の援助を得て述べている。2016年未までに、CPNP で通知された化粧品の1%未満がナノ物質を含むと特定されたと委員会は付け加えた。

3) 欧州各国

(ア) ドイツ

(i) 「ナノマテリアルのグルーピングのための物理化学的性質と水生毒性との関係の考察」報告書を発表

ドイツ環境保護庁 (UBA) は、2017年11月7日に、藻類、ダニ類及び魚類の胚に対する生態毒性作用による人工ナノ物質のグループ分けのコンセプトを開発することを目指した報告書『Considerations about the relationship of nanomaterial's physical-chemical properties and aquatic toxicity for the purpose of grouping』を発表した。

報告書は、1つの物理化学的性質だけに基づいて有意義なグループ化仮説を構築することは不可能であることを見出した。それは、パラメータのセット及び追加の物理化学的特性を考慮する必要があることを提案する。

この報告書では、規制試験のグループ化のコンセプトをさらに進歩させるために、以下の点を調査する必要があると述べている;

- 表面改質
- 低感度であることが明らかな魚の胚試験の代替
- 反応性の測定法の適応
- 凝集挙動、ゼータ電位、反応性及び溶解度などの試験中の選択された物理化学的パラメータの動態の詳細分析
- 統計解析用のより堅牢なデータセットを実現するために、ナノマテリアル及び試験生物当たりの効果値の数を増やす

(ii) 自動車分野のナノテクノロジーに関する専門家対話

2017年9月26-27日、連邦環境・自然保護・建設・原子力安全省(BMUB)は、自動車分野におけるナノテクノロジーの適用の機会とリスクに関する専門家との対話(エキスパート・ダイアログ)を開催した。そこでは、自動車にナノ材料の現在および将来の適用の概要が示された。プレゼンテーションの多くはドイツ語だがオンラインで入手できる。2006年以来、ナノダイアログ(NanoDialogue)はドイツ政府のNano Action Planの一環として実施されており、BMUBはその責任を主導している。目標は、ナノマテリアルの責任ある持続可能な利用を促進するために、ナノテクノロジーの機会とリスクに関するステークホルダー間のアイデアの交換を支援することである。

(イ) スウェーデン

2016年4月、スウェーデン化学物質庁(Kemi)は、2019年2月28日までに化学物質のナノ物質に関する情報を国の製品登録簿に提供するための企業向け規則を作成していると報じられた。2017年6月7日、スウェーデンの貿易委員会(Board of Trade)は、EU委員会に対し、ナノマテリアルに関する化学物質検査官規則の変更計画を通知した。

新規則は、同国の化学物質検査官製品登録簿への通知者は、品目内のナノ物質に関する情報を含まなければならないということである。これには、ナノマテリアルの濃度にかかわらず、製品に注意深く加えられたものも含まれる。

委員会の技術規制情報システム(Tris)への通知には、以下を含むいくつかの免除事項が記載されている;

- 天然に存在するか、または偶発的に生成されたナノ物質。
- 年間売上高が、500万スウェーデンクローナ未満の企業の場合。
- 顔料ナノ材料。

免除は、評価が行われている間、3年間続く。免除された者は、製品の構成要素がナノマテリアルであるかどうかに関する情報を提供すればよい。

貿易委員会は、スウェーデンで使用されるナノマテリアルの概観を作成することを目標としていると述べた。収集されたデータは、それらを識別し、その使用に関する統計を提供するのに役立つとしている。また、これらは、「健康、環境、および職場環境における将来の規制開発の基礎となる監督」にためにも使用することができるという。

上記規則は、2018年1月1日に発効した。スウェーデンの企業は、2019年2月28日までに、化学製品中のナノ物質に関するデータを、その化学物質当局の製品登録簿に通知することが求められる。製品の製造と輸入に適用される義務は、スウェーデン化学物質庁(Kemi)が国内で使用されるナノ物質の種類と量に関する情報を得ることを可能にする。このデータは、今後の健康、環境、職場における規制の進展の基盤となる可能性がある」と当局は述べている。

(ウ) スイス

(i) 市場に出ている繊維状ナノマテリアルの通知を求める

スイスは、2017年9月29日に、欧州委員会(EC)に、危険物質と調製品からの保護に関する条例の改正案を通知した。この告知は、危険物質および調製品からの保護に関する条例が、化学物質のリスク評価と、人の健康または環境を危険にさらす可能性のある化学物質が市場を使用し、それを市場に出すための要件を規定していると述べている。この通知によれば、改正案は、とりわけ、製造業者/輸入業者が伝達するためのリスクに基づく義務を導入している。

- ① スイスで取引されている化学品中間体
- ② 市販されている繊維状ナノ材料

義務は、市場に最初に出されてから3ヶ月以内に遂行されなければならない。この通知には、繊維状ナノ材料の要件に関する以下の根拠が含まれている。「新たな義務として、市場に置かれた繊維状ナノマテリアルに関して、当局および一般に全体像を与えるべきである。特別なリスクが認識されれば、規制上のリスク軽減措置が可能である。」

(ii) 合成ナノマテリアルの新規開示規則を採択

スイスは、いくつかの合成繊維質または管状のナノマテリアルおよび中間化学製品に新しい開示義務を採用した。しかし、業界からの否定的なフィードバックの後、ナノマテリアルの定義に向けて提案された更新が削除された。スイスの化学物質条例(ChemO)の改訂版は、昨年、ステークホルダーとの協議を受けている。これにより、連邦公衆衛生局(BAG)は、ナノマテリアルの通知のための規制を改正する提案を修正した。最終的な変更は1月31日に連邦理事会で採択された。したがって、以下の物質は、3月1日から製品登録簿に報告され、3ヵ月間のリマーケティングの移行期間となる。それらは、以下のとおりである；

- そのまま市販されている5 μm よりも長い繊維またはチューブの形態の生体内残留ナノマテリアル。これらは吸入すると肺に病変を引き起こすことがある。

- 100 kg /年以上の量でスイスで商品化されている中間体。BAGの消費者保護局の Olivier Depallens は、「報告は、市場に初めて出されてから 3 カ月以内に電子的に履行されなければならない簡単な義務である」と述べた。中間生成物は、化学変換プロセスのためののみ製造され使用される物質であり、1 つ以上の他の物質に変換されるもの。スイスでの報告は免除されていたが、REACH の下で登録されなければならない。公衆衛生局は、「スイス当局は少なくとも、中間体としてのアイデンティティーを知っておくべきだ」と述べている。これにより、中毒相談サービスの Tox Info Switzerland が「中毒の場合の適切な措置」を提案することができるようになる。コンサルテーション・ペーパーの草案には、すべてのナノマテリアルのコミュニケーション要件も含まれていたが、定義と並んでこれも廃止された。現在、危険なナノ物質のみが開示される。昨年の協議は、企業や業界から激しい批判を受けた。スイスの基準を EU の基準と整合させるために、通知要件の削減とナノ物質の定義の先送りが求められた。欧州委員会は最近、2020 年に発効する定義の改訂について協議した。スイスで採択された変更は、連邦議会の合成ナノマテリアルの行動計画の第 1 段階に対応している。第 2 段階は 2019 年から 2020 年にかけて予定されており、REACH (スイス市場では 1t / y 以上) に登録されていない物質の通知を含む。国の化学物質条例は、新規物質の届出; SVHC の同定; 物質および混合物の分類、表示および安全性データシート; を規制している。

(iii) 殺生物剤規制の改正

連邦公衆衛生局は、殺菌剤の規制のための 3 つの条例を 2017 年 9 月に改訂した。これは、EU との調和とそのような認可の相互承認を確保するためである。その他の変更には、OPBio の内分泌かく乱物質の EU 基準の導入、インターネットを通じた有効物質リストの新しい発行方法などがある。同時に、連邦内務省 (DFI) は、BAG によると、EU 内の開発に沿って「同じ殺菌製品」プロセスをもたらすために、殺菌製品に関する施行令を改正した。EU と同じ殺生物剤製品規制により、殺菌製品の「ファミリー製品」の認可手続きが簡単になる。「改正の目的は、人間と環境に対する高いレベルの保護と貿易障壁の回避を保証することである」とオリビエ・デパレンズ氏は述べた。スイス当局は、今後数ヶ月以内に改正条例の非公式英語版を公表する、と付け加えた。

(エ) ベルギー

ベルギーでは、ナノマテリアルを含有する混合物をベルギー当局に登録するよう企業に要求する法律を発効し、ナノ登録を改正する法律は、ベルギー公式ジャーナル (Moniteur Belge) に 1 月 15 日に掲載された。ベルギーは、締切を 1 年遅らせて、2018 年 1 月 1 日としていた。ベルギーのナノ登録は、2014 年の Royal Decree で制定された。このデクレでは、ナノマテリアルを上市した企業に、ナノマテリアルの登録を要求しているが、殺生物剤、医薬品、食品接触材等の製品に対する免除を含んでいる。

ナノテクノロジー産業協会 (NIA) の公的・規制業務担当官である **Guillaume Flament** 氏は、ナノマテリアルを含む混合物の登録は複雑なプロセスであり、長い時間を要した、と業界が述べた後に、延長することが合意された、と **Chemical Watch** 誌に伝えた。

ベルギーの規制は3か月間の移行期間が提供される、と **Flament** 氏は追加し、そのため、企業は、登録を3月31日までに修正することになる。化粧品はまた、ナノ登録から免除されていて、その後、EUの化粧品中のナノマテリアルのカタログが発行される。

(オ) フランス

(a) フランスによる検査で化粧品にナノに関するラベルの間違いを確認

フランス市場監視団である **DGCCRF** (競争・消費者問題・詐欺防止総局) は、2017年中に、40個のマスカラとアイライナーのサンプルのナノのラベルをチェックし、化粧品中にナノ形態でしばしば使用される着色剤であるカーボンブラックについて、8個の製品が正しく言及していないことを確認した。**DGCCRF** は、2つの製品については、カーボンブラックが検出されたが、物質(カーボンブラック)を表示しておらず、6つの製品は何も確認されなかったが、着色剤にカーボンブラックを含んでいた、と報告書で述べている。

EU は、製品に正しく表示されていれば、特定の用途でのナノ形態のカーボンブラックの使用を認可している。これはスプレーを除く EU が認可している4つのナノ物質のうちの1つである。その他の物質は、UV フィルターのトリスービフェニルトリアジン、二酸化チタン、酸化亜鉛、である。別の UV フィルターの、**MBBT** (メチレンビスーベンジドリアゾリステトラメチルブチルフェノール) が認可プロセス中である。

EU 化粧品規則では、企業に、化粧品届出ポータル (**the Cosmetic Product Notification Portal; CPNP**) に全てのナノ材料を宣言することを要求している。また、EC は昨年6月に、化粧品のナノマテリアルカタログを公開した。

検査活動は、8つの NGO からの圧力により促された。これらの NGO は、7月にフランスの首相とその他の大臣に宛ててレターを書き、全ての消費財のナノラベリングの強制と、「緊急の課題として」ナノマテリアルの制限を呼びかけた。**DGCCRF** は、3つの NGO に対してナノラベルに関する予備調査結果を1月中旬に提示し、それら NGO に対して、2018年中も市場調査と「規制に違反する制裁措置」を継続する予定である、と述べた。

2017年の調査ではまた、33の化粧品サンプルに、カーボンブラック以外のナノ粒子が含まれることが明らかとなった。これらのために、**DGCCRF** は、「これらの存在理由を確認するために製造者と調査を継続している」と述べた。

フランスのナノ監視団である NGO **Avicenn** - 1月の会合に出席した NGO の1つである **Mathilde Detcheverry** 氏によれば、**DGCCRF** は「全てではないにしても、それらの一部は認可されていないことを疑っている」。

フランスは、化粧品のナノ表示を強化するように欧州で努力を続けている。食品のナノ表示を監視している、フランスの監視団は、欧州レベルでの作業を継続し、「規制の実施を促し、規制を明

確化して改善する」ことを目標としている、と語っている。少なくとも1つのナノマテリアルを含むEU市場の化粧品サンプルは全部で9,000あり、それらはフランスの研究所から押収された、と言う。

DGCCRFは、「テストプロトコルで非常に精力的に作業しており、政府はこの作業をEUレベルで共有したいと考えている」と、NGO Agir pour l'EnvironnementのMagali Ringoot氏は述べている。「我々は、ナノラベルが2018年に、フランスと全てのEU諸国で優先されることを願っている」と述べた。

(カ) その他

(i) 材料技術の革新を加速するエコシステム報告書

EU加盟国の高水準グループ及びナノ科学、ナノテクノロジー、及び高度材料に関連する国々により、2017年10月31日に『材料技術の革新を加速するエコシステム』と題する報告書が発表され、その中で、ナノテクノロジーや先端材料の産業への取込みを加速するために取組む必要のある障壁について検討している。

(ii) ドイツ語圏環境大臣会合

2017年6月19日に開催されたEUの環境大臣会合において、2020年までにREACHの法的枠組みのナノ特有の適応の要請が発表された。ドイツ、オーストリア、スイス、ルクセンブルク、リヒテンシュタインの要請は、最近のナノ当局のダイアログ(Nano-Authorities Dialogue; NAD)の年次会合で採択された「ウィーン宣言」の中で提言されたものであった。これらは、ルクセンブルクで開かれたEU環境審議会の閣僚によって「注目された」ものであった。3年前、ドイツ、オーストリア、ルクセンブルクの環境大臣は、欧州委員会に対し、早急にREACHを更新してナノ物質の詳細を説明するよう促す大きなグループに入った。しかし、欧州委員会の正式な提案はまだ出ていない。

5カ国は、「ナノマテリアルによってもたらされる潜在的な健康および環境リスクを評価するためには、統一された健全な試験および検出技術、測定方法および基準が不可欠である」とし、「OECDがすでに対象としている要素を、法的拘束力のある方法で早急に適用する」。

4) カナダ

2017年は、ナノマテリアルの安全性に係る規制関連の活動は特になかった。

5) オーストラリア

2017年は、ナノマテリアルの安全性に係る規制関連の活動は特になかった。

6) 韓国

韓国 K-REACH(化評法)では、改正案の検討が進められており、上記したナノマテリアルに関

する記載のある施行令が改正され、ナノ物質に関して、以下の条文が新たに追記された⁴。

化学物質の登録、評価等に関する法律施行令(施行 2017.12.26、大統領令大 28502 号、一部改正)

第 2 条第 7 号を次のように新設する。

7.「ナノ物質」とは、次の各項目のいずれかに該当する物質をいう。

- ア) 3 次元の外径寸法のうち少なくとも 1 次元の大きさが 1~100 ナノメートルの粒子分布 50%以上である物質
- イ) 3 次元の外形寸法のうち少なくとも 1 次元の大きさが 1 ナノメートル以下であるフラーレン、グラフェンフレーク、又は単層カーボンナノチューブ

7) その他

(ア) OECD

OECD は、2017 年 10 月 9 日に、ナノマテリアル向けに特別に開発された 3 つのテストガイドラインを発表した;

- Test Guideline 318 : Dispersion Stability of Nnomaterials in Simulated Environmental Media (環境をシミュレーションした媒体におけるナノ物質の分散安定性)
- Test Guideline 412 : Subacute Inhalation Toxicity: 28-Day Study (亜急性吸入毒性試験:28 日間)
- Test Guideline 413 : Subchronic Inhalation Toxicity : 90-day Study (亜急性吸入毒性試験:90 日間)

OECD は、これらの新しいエンドポイントを通じて収集される情報が、ナノマテリアルの潜在的吸入ハザードを評価するためにテストガイドラインを適用できると同時に、ナノマテリアルが作用する可能性のある作用機序 (mode of action) についての理解を高めるであろうと述べている。

また、2017 年に上記以外に以下の 4 文書を公開した;

- No.84 - Consumer and Eivironmental Exposure to Manufactured Nanomaterials – Information Used to Characterize Exposures : Analysis of a Survey (2017/11/7)
- No.83 – Silver Nanoparticles : Summary of the Dossier (2017/10/16)
- No.82 – Strategies, Techniques and Sampling Protocols for Determining the Concentrations of Manufactures Nanomaterials in Air at the Workplace (2017/10/30)
- No.81 – Developments in Delegations on the safety of manufactured nanomaterials (March 2017 – August 2017) (2017/9/26)

(イ) ISO

ISO では、2017 年に新たに以下の文書が公開された。

⁴ <http://www.law.go.kr/lsInfoP.do?lsiSeq=200258&viewCls=lsRvsDocInfoR#0000>

- ISO/TS 10868:2017; Nanotechnologies –Characterization of single-wall carbon nanotubes using ultraviolet-visible-near infrared (UV-Vis-NIR) absorption spectroscopy (ナノテクノロジー—紫外可視近赤外(UV-Vis-NIR)吸収分光法を用いた単層カーボンナノチューブ(SWCNT)の特徴づけ)
ISO/TS 11888:2017; Nanotechnologies—Characterization of multiwall carbon nanotubes—Mesoscopic shape factor (ナノテクノロジー—多層カーボンナノチューブの特徴づけ—メゾスコピック形状因子)
- ISO/TS 13278:2017; Nanotechnologies -- Determination of elemental impurities in samples of carbon nanotubes using inductively coupled plasma mass spectrometry (ナノテクノロジー—誘導結合プラズマ質量分析法を用いたカーボンナノチューブ試料中の元素不純物の定量)
- ISO/TR 18401:2017; Nanotechnologies -- Plain language explanation of selected terms from the ISO/IEC 80004 series (ナノテクノロジー—ISO/IEC 80004 シリーズから選択された用語の平易な言語説明)
- ISO/TS 18827:2017; Nanotechnologies -- Electron spin resonance (ESR) as a method for measuring reactive oxygen species (ROS) generated by metal oxide nanomaterials (ナノテクノロジー—金属酸化物ナノマテリアルによって生成される活性酸素種(ROS)を測定する方法としての電子スピン共鳴(ESR))
- ISO/TR 19057:2017; Nanotechnologies -- Use and application of acellular *in vitro* tests and methodologies to assess nanomaterial biodurability (ナノテクノロジー—ナノ物質の生体耐性を評価するための無細胞インビトロ試験及び方法論の使用と適用)
- ISO/TS 19590:2017; Nanotechnologies -- Size distribution and concentration of inorganic nanoparticles in aqueous media via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (ナノテクノロジー—単粒子誘導結合プラズマ質量分析法による水性媒体中の無機ナノ粒子のサイズ分布と濃度)
- ISO/TR 19601:2017; Nanotechnologies -- Aerosol generation for air exposure studies of nano-objects and their aggregates and agglomerates (NOAA) (ナノテクノロジー—ナノ物体及びその強弱凝集体(NOAA)の空気ばく露研究のためのエアロゾル生成)
- ISO/TS 20477:2017; Nanotechnologies -- Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial (ナノテクノロジー—セルロースナノマテリアルの標準用語とその定義)
- ISO/TS 80004-11:2017; Nanotechnologies -- Vocabulary -- Part 11: Nanolayer, nanocoating, nanofilm, and related terms (ナノテクノロジー—用語集 - 第11部: ナノレイヤー、ナノコーティング、ナノフィルム、及び関連用語)

- ISO/TS 80004-13:2017; Nanotechnologies -- Vocabulary -- Part 13: Graphene and related two-dimensional (2D) materials (ナノテクノロジー用語集 - 第 13 部: グラフェン及び関連する 2 次元 (2D) 材料)

(ウ) IARC

国際がん研究機関 (IARC) は、2017 年 6 月、カーボンナノチューブ、フルオロエデナイト、シリコンカーバイドに関するモノグラフを発行した。本報告書の内容については、本報告書「4. 海外行政機関等の報告書の分析と翻訳」に記載した。

8) 各国・地域の規制動向まとめ

2017 年の各国・地域の主要な規制動向を一覧にして、表 3.1-3～表 3.1-5 に示す。

表 3.1-3 各国のナノマテリアル上市規制

国	法律・規則	内容
EU	REACH	行 REACH でナノマテリアルに対応。REACH 付属文書改訂で安全性試験を強化していく方針。付属文書の改訂を提案し、公開討議中。
	殺生物製品規則	ナノマテリアルが使用されている場合は、ヒト健康、動物健康、環境へのリスクが評価されていること (2013 年 9 月施行)
	改正化粧品規則	ナノマテリアルを含む成分の事前登録、化粧品安全報告書の提出が義務化 (2013 年 7 月施行)
	新規食品規則改正案	人工ナノマテリアルを含む新規食品の上市は認可が必要 (2018 年 1 月 1 日施行)
米国	TSCA (有害物質管理法)	現行 TSCA でナノマテリアルにも対応。CNT 等を新規化学物質としている。懸念物質には SNUR を出し使用条件等に制限を付ける。
	FIFRA (連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法)	ナノ銀製品に適用 (時限で認可)、但しナノマテリアル故ではない。
カナダ	CEPA (カナダ環境保護法)	現行環境保護法でナノマテリアルに対応。多層 CNT を有害性が疑われる新規化学物質として届出義務化
その他の国		現行化学物質管理の枠組みでナノマテリアルに対応

表 3.1-4 各国のナノマテリアル利用製品の表示規制

国等	法律・規則	内容
EU	改正化粧品規則	成分にナノマテリアルが含まれる場合、製品の成分名称において (nano) と表記しなければならない (2013 年 7 月施行)
	殺生物製品規則	同様な表示規制 (2013 年 9 月施行)
	食品情報の提供に関する規則	同様な表示規制 (2014 年 12 月施行)
	乳幼児食品	同様な表示規制 (2016 年以降)
ニュージーランド	化粧品グループ規準	ナノマテリアル使用化粧品の表示義務 (2016 年～)

国等	法律・規則	内容
その他の国		表示義務なし

表 3.1-5 各国のナノマテリアルの強制報告制度

国等	ナノマテリアルの報告	
EU 加盟国	フランス	年次報告制度（2013年1月施行）
	デンマーク	2014年6月施行
	ベルギー	2015年9月運用開始、ナノ材料を含む製品の報告（2016年1月までに）、複合材料の報告（2017年1月までに）
	スウェーデン	2018年1月1日発効。データ登録×切 2019年2月28日
ノルウェー	2013年1月施行	
米国	1回限りのナノマテリアルの報告・記録保管を義務付ける規則、2017年8月14日発効。	
カナダ	206種類のナノマテリアルについて情報提供を義務化	
その他の国	表示義務なし	

3.2. 主要学会等におけるナノマテリアル等の安全性、ばく露、試験法等に関する動向

(1) 第44回日本毒性学会学術年会

1) 概要

- 期間:2017年7月10日~12日
- 場所:パシフィコ横浜 会議センター

今回の学術年会のテーマは「トランスボーダー:学問領域の枠を超えた毒性学」であった。本学会では、一般公演に加えて、多数のシンポジウムも開催された。一般公演のセッション一覧とシンポジウムのプログラムの一覧を表 3.2-1 に示す。今回、表 3.2-1 の網掛け(太字)で示した「Nanotoxicology」に関する一般公演のセッション9と、シンポジウム S2 に参加し、国内の最新の研究動向を確認した。

表 3.2-1 第44回日本毒性学会学術年会プログラム

カテゴリー	No.	表題	一般公演/ シンポジウム
Genetic Toxicology / Developmental Toxicology	1	セッション1	一般公演
Pharmacotoxicology	2	セッション2	一般公演
Clinical Toxicology / Human Toxicology	3	セッション3	一般公演
Food Toxicology	4	セッション4	一般公演
Drug Toxicology	5	セッション5	一般公演
Organelle Toxicology / Agricultural Toxicology	6	セッション6	一般公演
Environmental Toxicology (1)	7	セッション7	一般公演
Environmental Toxicology (2)	8	セッション8	一般公演
Nanotoxicology	9	セッション9	一般公演
Redox Toxicology	10	セッション10	一般公演
Omics Toxicology / Immunotoxicology	11	セッション11	一般公演
Neurotoxicology	12	セッション12	一般公演
Molecular Toxicology	13	セッション13	一般公演
Organ Toxicology (1)	14	セッション14	一般公演
Organ Toxicology (2)	15	セッション15	一般公演
In Silico Toxicology	S1	インビトロ・インシリコ手法による 全身毒性予測評価の現状と課題	シンポジウム
Nanotoxicology	S2	カーボンナノチューブの「剛性」と 発がん性(アスベストとの比較)	シンポジウム
Redox Toxicology	S3	日本中毒学会合同シンポジウム: 低 分子量ガス体の基礎と臨床	シンポジウム
Agricultural Toxicology	S4	ケミカルエコロジーと毒性学	シンポジウム
Drug Toxicology	S5	毒性解明に向けた薬物代謝・動態研 究の融合 / Collaboration of drug metabolism/pharmacokinetic and toxicological researchers for understanding of toxicity	シンポジウム
Transgenerational Toxicology	S6	継世代影響広域企画: 環境要因によ る多世代・継世代影響	シンポジウム

カテゴリー	No.	表題	一般公演/ シンポジウム
		そのメカニズムと考察	
Molecular Toxicology	S7	ストレスバイオロジーから分子毒性学への展望	シンポジウム
Analytical Toxicology	S8	メタルトキシコロジーを牽引する最先端分析法の現状と展望	シンポジウム
Pharmacotoxicology	S9	医薬品開発における探索安全性評価の戦略について	シンポジウム
Redox Toxicology	S10	抗酸化レドックスと活性イオウによる解毒代謝機構の新展開	シンポジウム
Omics Toxicology	S11	エピジェネティクス機構を考慮したトキシコゲノミクスの展開	シンポジウム
Clinical Toxicology	S12	非臨床安全性評価から臨床へのトランスレーショナル臨床化学 - 副作用を回避する従来型検査法に加わる新規バイオマーカの有用性 -	シンポジウム
Chronotoxicology	S13	「時間毒性学」～古くて新しい毒性学～	シンポジウム
Human Toxicology	S14	大気汚染物質に関する健康影響評価研究の最新動向：越境大気汚染から国内起源まで	シンポジウム
Immunotoxicology	S15	環境汚染物質と免疫・アレルギー～基礎免疫学、疫学、毒性学の視点から～	シンポジウム
Organ Toxicology	S16	日本薬理学会合同シンポジウム：細胞内小器官シグナルネットワークを介する臓器毒性制御	シンポジウム
Food Toxicology	S17	食品汚染と毒性影響：恒常性機能の攪乱による毒性発現メカニズム	シンポジウム
Organ Toxicology	S18	SOT-JSOT Exchange Promotion Program - Insights into mechanisms of drug-induced liver injury - / 日米毒性学会の交流促進プログラム - 薬剤性肝障害メカニズムに対する洞察 -	シンポジウム
-	S19	企業研究者のキャリア形成支援プログラム - トキシコロジストのキャリア形成 -	シンポジウム
Environmental Toxicology	S20	A new era: Exposome and toxicology	シンポジウム
Genetic Toxicology	S21	遺伝毒性発がん物質の‘閾値’とリスク評価	シンポジウム
Neurotoxicology	S22	子ども期への低用量化学物質ばく露が誘発する情動認知行動影響の定量的解析法の開発状況と評価法確立への未来	シンポジウム
Clinical Toxicology	S23	毒作用発現におけるエピジェネティック毒性とその臨床展開	シンポジウム
Organelle Toxicology	S24	オートファジーによる細胞死の制御	シンポジウム
Clinical Toxicology	S25	臨床フェーズ1 試験の安全性を考える - BIA 10-2474 事件から何を	シンポジウム

カテゴリー	No.	表題	一般公演／シンポジウム
		学ぶかー	
Applied Toxicology	S26	応用トキシコロジー：トキシコロジストに求められる新たなチャレンジ	シンポジウム
Environmental Toxicology	S27	日本毒性病理学会合同シンポジウム：環境中の微量元素の毒性学	シンポジウム
-	S28	次世代研究者セミナー：人工知能やBig Data で広がる創薬とトキシコロジー	シンポジウム
Environmental Toxicology	S29	重金属の細胞毒性に対する新しい防御分子と防御	シンポジウム

2) 発表内容

(ア) S2-1：イントロダクション：カーボンナノチューブの発がん性—各種アスベストの比較知識からわかること

- 講演者: 菅野 純
- 所属機関: 独立行政法人労働省健康安全機構日本バイオアッセイ研究センター

多層カーボンナノチューブの発がん性については、アスベストで明らかとなった線維性発がんの知見に基づきいくつかのモデル試験を含む動物試験が行われ、中皮腫に加えて肺腺癌も誘発することが明らかにされた。アスベストは中皮腫が有名であるが、ヒトにおける主な標的は、肺がんであり、タバコなどの交絡因子の問題が常にあるものの、中皮腫症例の2～数倍と言われている。また、肺がんの病理組織型は、肺がんに限定されず、扁平上皮癌を含むあらゆる上皮系腫瘍を含むことがヒトでは報告されている。大きく肺がんと中皮腫を分けて考えた場合でも、その誘発機構は、違いがあるのか否かも含め、明確にされてきてはいなかった。特に、太さや硬さが異なる蛇紋石族 (serpentine) の白アスベスト (crisotile) と、角閃石族 (amphibole) の青アスベスト (crocidolite) や茶アスベスト (amosite) などの発がん性の差異について、発がん標的、異物肉芽腫や繊維痕跡の有無、用量相関性の差異、など、不明な点が多い。そのような状況でも、演者が問合せたヒト・アスベスト症例に経験のある医師や病理学者、毒性学者は、押し並べて、硬い太い、太い細いにかかわらず、「繊維は吸入した場合、危ない」との意見であった。それにもかかわらず、一部で「白アスベストのように細く柔軟な CNT は発がん性が低い」という論議を生んだ背景には、アスベストによる繊維発がん機構の解明が、残念ながら多種にわたる CNT の評価に利用できるほどには進んでいなかったことが考えられる。

今般の多種の CNT にわかる毒性研究を概説すると、繊維状粒子の形状と剛性、投与経路に依存した発がんメカニズムが存在する可能性が示されつつある。

講演では、アスベストの臨床病理から得られる知識を最大限利用し、様々な分野で市場化が進みつつある CNT をもいた製品の市場動向を配慮し、様々な形状を持つ繊維状粒子の総合的なリスクの検証や今後必要となる研究分野について討論され、特にアスベストについて以下の点が示された；

- アスベストばく露は、石綿肺、胸膜プラーク、中皮腫、肺腺癌を引き起こす。
- アスベストと同様、MWCNT は中皮腫、肺腺癌を起こす。メカニズムに共通な部分と違う部分がある。
- アスベストによる肺がんの中皮腫の誘発機構は、違いがあるかも知れ、明確になっていない。
- アスベストでは、太さや硬さの差異による発がん性の差異に関して、未だ不明な点が多い。
- 「白アスベスト(クリソタイル)のように細く柔軟な CNT は発がん性が低い」という議論を生んだ背景には、(残念ながら)アスベストの機構解明不足が影響していた。
- アスベストの使用から 37 年で中皮腫発症(経年カーブに 37 年のタイムラグあり)。
- シングル1本ずつだけでは肉芽腫を作らない、繊維化だけ起こる。シングルプラス分岐だと、2 年後には肉芽腫が起こる。
- (マクロファージに貪食された)剛直 CNT は肺胞膜を通過するが、(マクロファージに貪食された)tangled(もつれ) CNT は通過しない。
- 閾値の議論がある(閾値無しは、CNT1本でも問題「有害」ということを意味する)。
- 敏感な遺伝子の問題があり、結果の解釈を難しくしている。

(イ) S2-2 人体病理学にみたクリソタイルによる発がんの特徴と推測される発がんメカニズム

- 講演者:井内 康輝
- 所属機関:株式会社病理診断センター、NPO 法人総合遠隔医療支援機構

アスベストは、IARC により発がん物質とされているが、繊維状ケイ酸塩鉱物の総称であり、蛇紋石族(クリソタイル)と角閃行族(クロシドライトなど)に分かれる。繊維状とは、顕微鏡レベルでアスペクト比が3:1以上の粒子として確認された場合である。そのうち、クリソタイルの化学組成は、ほぼ等量 noSiO_2 と MgO からなり、Fe を含まない。光学顕微鏡や低倍率の電位顕微鏡での観察では、クリソタイルはしなやかにカールしているように見える。また、クリソタイルは、体内で溶解する、あるいはマクロファージによって貪食される、また、表面がプラスに帯電しているため鉄蛋白を吸着しにくいなどの脂性質から、石綿小体(アスベスト小体)を形成しにくく、石綿繊維あるいは石綿小体の計測では、石綿へのばく露状態を評価しにくいとされている。

1980 年代から疫学的調査では、クリソタイルばく露者のがんによる死亡リスクの上昇は明らかでなく、クリソタイルの肺の発がん離 s 九は亜もサイトの 1/10、クロシドライトの 1/50 とされてきた。しかし、2000 年代に入って、10 μm 以上の長くて細いクリソタイルは、肺がんあるいは石綿肺のみならず、中皮腫についても発がんリスクを上げるとの指摘がみられ、発がん性に関する見解は一定であるとはいいがたい。クリソタイルによる発がん機序としては、マクロファージによる不完全な貪食採用 (frustrated phagocytosis) がもたらす活性酸素種 (ROS) の産生による DNA 損傷などが考えられている。実験的には、ラット腹腔内へのクリソタイルの投与によって肉腫型中皮腫が生じると報告

されるが、その要因としてはクリソタイルが局所に体内鉄を集めることが重視されている。

ナノマテリアルによる発がんは、クリソタイルによる発がんと同様の機序によるかもしれない。

講演では、アスベストばく露による発がん性等について概説された；

- アスベストばく露による中皮腫と肺がんの発生について、太さ、硬さの違い(Stanton 仮説、等)、化学組成(Feの有無:クリソタイルは無)、喫煙の相乗効果、など。
- クリソタイルによる発がんに関する文献中の議論の推移;クリソタイルは「溶ける」が、用量依存でもある。クリソタイルは、長くて細い(10 μm 以上、幅 0.25 μm 未満)。クリソタイルの発がん性については、①体内移動経路、②中皮細胞が標的になる理由、③中皮がん発生:量・反応関係(アスベストの沈着量)、④敏感な遺伝子の影響)、について説明し、それらの結果から、クリソタイルは、「肺がんを発生させない」とは言えない(長さ、喫煙、遺伝子、用量、などの因子あり)、と説明。
- 発がん性に関するまとめとして、長さ、溶解性、フリーラジカル発生(クリソタイルは低い)、などがあり、*in vitro* でよく見直す必要がある、と指摘。代替繊維(セラミック繊維、炭化ケイ素ウイスキー、等)に、危ないものがある、と指摘した。

(ウ) S2-3 長さの違いによる単層カーボンナノチューブの慢性呼吸器毒性の比較

- 講演者:藤田 克英
- 所属機関:国立研究開発法人産業技術総合研究所安全科学研究部門、技術研究組合単層 CNT 融合新材料研究開発機構

単層カーボンナノチューブの平均長が異なる分散液を F344 雄性ラットの気管内に単回投与し、投与後 104 週までの慢性呼吸器毒性を比較した。平均長 8.6 μm (長尺)試料について、0.2 または 1.0mg/kg、及び平均長 0.55 μm (短尺)試料について 1.0mg/kg を投与し、26、52、104 週後の呼吸器の反応を病理組織学的検査により評価した。104 週観察用には各群 50 隻を使用した。いずれの剖検時点においても書く CNT 投与群に共通して肺の黒色、褐色及び灰色斑点がほぼ全例に観察された。短尺投与群にのみリンパ節の黒色化または灰色かが、傍胸腺リンパ節、肺リンパ節及び縦隔リンパ節において散見された。短尺投与群では 52 週及び 104 週時点においてほぼ全例に被験物質沈着を伴う炎症性変化、マクロファージの被験物質貪食像及び肺胞の線維化が観察された。これらの頻度は長尺投与群で低かった。長尺投与群ではほぼ全例に被験物質の沈着を伴う終末細気管支の繊維の腫瘍が 104 週経過後の媒体投与群、長尺高用量投与群、短尺投与群でそれぞれ 2、1、9 齢に認められたが、いずれも統計学的有意差はなかった。以上の結果から、長尺 CNT の大部分は細気管支部で沈着し炎症性変化を起こすのに対し、短尺 CNT は相当量が肺胞まで到達し持続的炎症を引き起こすものと考えられる。投与後 26 週の肺細胞を用いて *in vivo* コメット試験を実施したところ、各 CNT 投与群に % tail DNA の増加は認められず、肺に対する遺伝毒性を示さないことが示唆された。

講演では、単層カーボンナノチューブアスベストについて以下の点が示された；

- 粒子病原性仮説(小さいものは危ない)、繊維病原性仮説((真つすぐで、長いもの危ない)(リンパ節への排泄規制、マクロファージの貪食失敗)がある。
- 投与試料: 日機装単層 CNT(eDIPS)分散液

試料	投与濃度	長さ(SD) μm	太さ(SD) μm
SWCNT-1(長尺)	0.2 mg/mL	8.6(4.3)	2.4(2.0)
SWCNT-2(長尺)	0.1 mg/mL		
SWCNT-3(短尺)	0.1 mg/mL	0.55(0.36)	1.4(0.7)

なお、投与液は、絡まっていない(TEM 像)。Fe、Al は残っているが、低い(製法由来)。

- 結果；
 - ・ 長尺: 終末細気管支変化あり。
 - ・ 短尺: 炎症性の変化あり。
 - ・ 短尺: リンパ節マクロファージの集しゆく。
 - ・ 細気管支/肺胞上上皮癌が、長短で 1~3 例あり。
 - ・ 剖検・病理所見は「発がん性は認められない」。
 - ・ CNT(肺実質中)；
 - ✓ 長尺は絡まっていない。
 - ✓ 短尺は凝集あるが、絡まっていない(国武仮説「短いものは絡まりやすい」とは違った結果)。
 - ✓ 短尺は、肺から縦隔リンパ節に移動している。
 - ✓ DNA 損傷なし(コメットアッセイ)
 - ・ 「長い CAT は危ない」は、単層 CNT においては成立しない、という結果になった。

(E) S2-4 気管内噴霧投与方法による各種の MWCNT の毒性と発がん性試験結果の比較

- 講演者: 津田 洋幸
- 所属機関: 名古屋市立大学津田特任教授研究室

(i) 背景等

多層カーボンナノチューブの発がん性試験には吸入ばく露法がすすめられているが、専用施設と高額な稼働費用が必要であるために、現状では MWCNT-7 について実施されたのみである(肺発がん性あり)。MWCNT は世界で 300 トン以上(日本では 60 トン程度)生産されているが、慢性毒性・肺がん性試験は未実施である。本研究では吸入ばく露装置を使わない低予算で実施できる経気管はいない噴霧投与(TIPS)法を開発してきた。

(ii) 方法

- 1) *in vivo in vitro* マクロファージ(M ϕ) 負荷試験

10 週齢ラット MWCNT を投与後に肺より採取した Mφ を初代培養に移して得られた上澄みは、ヒト由来の A549(肺がん細胞)Met5A(中皮細胞)、MESO-1/2(上皮型/肉腫型悪性中皮腫細胞)に対して増殖活性を示すことを明らかにした。

2) 肺内噴霧投与 (TIPS 法) 試験

MWCNT-N(Nikkiso)、MWCNT-7(Hodogaya, IARC Group 2B・動物発がん物質)、crocidolite (UICC grade, IARC Group 1・ヒト発がん物質)について、2週間に8回(計 1.0 ~ 1.5mg/ラット)投与後の肺と胸膜の短期・長期毒性・発がん性について解析した。

(iii) 結果

短期(投与終了後)屠殺群では肺胞と臓側胸膜の持続炎症と中皮の増殖が観察され、胸腔洗浄液中には MWCNT と炎症細胞(Mφ、好中球、リンパ球、等)がみられた。肺組織と胸腔洗浄液には主として Mφ 由来の CCL 種が高値であり、活性化 Mφ の関与が考えられた。投与終了後2年間冊では MWCNT-N(Nikkiso)と MWCNT-7(投与量 1.5mg/ラット)ではいずれも肺または胸膜中皮に発がんが認められた。

本法は短気管内投与後に観察するのみであり、MWCNT の発がん性試験法として勘弁にして安価な方法と考える。

(オ) O-31 工業用ナノ材料の有害性評価システムの検討

- 講演者: 森本 泰夫
- 所属機関: 産業医科大学産業生態科学研究所

(i) 目的

工業用ナノ材料の有害性評価システムを開発するために、既知の肺毒性のナノ材料を吸入および注入試験を行い、炎症をエンドポイントとして、有害性評価の有用性を検討した。

(ii) 方法

肺毒性の低いナノ材料として酸化亜鉛ナノ粒子(ZnO)、二酸化チタン(TiO₂)、肺毒性が高い材料として酸化ニッケルナノ粒子(NiO)、参加セリウムナノ粒子(CeO₂)の計4種類を用いた。

吸入ばく露試験では、4材料とも約 2mg/m³の重量濃度にて4週間(6時間/日、5日/週)の吸入ばく露を行い、ばく露終了3日、1ヶ月、3か月後に、気管支肺胞洗浄液(BALF)の好中球数、抗伸縮比率、好中球遊走因子である cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 (CINC-1)濃度、酸化ストレスマーカーである heme oxygenase-1(HO-1)濃度の測定を行った。気管内注入試験では、4材料ともラットに 0.2mg/rat、1mg/rat を気管内投与し、3日、1週間、1ヶ月、3か月、6か月後に同じ評価項目にて測定を行った。

(iii) 結果

吸入ばく露試験においては、毒性の高い NiO、CeO₂ では BALF の好中球数、好中球比率、CINC-1、HO-1濃度の上昇を認めたが、毒性の低い TiO₂ と ZnO では、上昇を認めなかった。

気管内注入試験では、NiO、CeO₂ において BALF の好中球数、好中球比率、CINC-1、HO-1 濃度が、3 か月後まで持続的増加を認めたが、TiO₂、ZnO では一過性の増加を認めたのみであった。

(iv) 結論

吸入ばく露試験、気管内注入試験とも、肺毒性の差異を炎症の評価項目が反映した。したがって、吸入ばく露試験と気管内注入試験による工業用ナノ材料の有害性評価システムは有用であることが示唆された。

(カ) O-32 N-SHOt Cyclone による多層カーボンナノチューブの浮遊係数の比較

- 講演者: 大藪 誠
- 所属機関: 独立行政法人労働省健康安全機構日本バイオアッセイ研究センター

微粉末の飛散は、労働現場等での呼吸器系へリスクとなる。従来、その「飛散しやすさ」の計測方法として、粉体に物体を落とす、回転ドラムや試験管内の粉体の挙動を見る方法などがあった。しかし、これらは飛散粒子を定量的に測定することが困難であった。そこで、本研究では、呼吸器(肺泡領域まで)に侵入するリスクの評価指標としての「浮遊係数」を考案した。円筒チャンバーの同軸底面にファンを設置し、同軸天井に吸引捕集フィルタ(径 37mm)を設置、少量の原体粉末を投入度、ファンを回転し、フィルタへ吸引される粒子の量、形状等を測定する機器 N-SHOt Cyclone を開発した。そして、その中の肺泡腔に到達する可能性のある微粉末文庫を捕集・秤量し、対照物質として設定したカーボンブラック(日本粉体鋳業技術協会: JIS 試験用粉体)と比較した係数を、浮遊係数とした。本発表では、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の形状と浮遊係数との関係について報告した。

(i) 方法

MWCNT は、NT-5(71nm、7.7 μ m)、MWCNT-7(85nm、7.5 μ m)、CT-12(127nm、4.2 μ m)、CT-15(144nm、3.6 μ m)(平均径、平均長、いずれも保土ヶ谷化学工業(株)製)を用いた。N-SHOt Cyclone(内容積 10L)に、試料 0.1g を投入し、ファン 1400rpm、サンプリングは 2.75L/min により 60 分間、飼料をフィルタに捕集した。サンプリング終了後、試料秤量値から、下記の計算式を用いてサイクロン内中心点の濃度を算出し、比較対照物質の値と比較して浮遊係数を求めた。

- 捕集点の濃度(mg/m³) = 秤量値(mg) ÷ (捕集流量(L/min) × 捕集時間(min)) ÷ 1000
- 浮遊係数 = 被験物質の濃度 ÷ 対照物質の濃度

(ii) 結果

浮遊係数は、NT-5=6.50、MWCNT-7=2.81、CT-12=1.44、CT-5=0.44、であった。捕集した SEM 観察の形状はいずれも繊維状であった。

細く長い NT-5 は、浮遊係数が最大で、太く短い CT-15 は最小の傾向であった。このことは、MWCNT の繊維径及び繊維長が浮遊係数に反映することが考えられた。したがって、繊維状の MWCNT の形状によって対照物質よりも浮遊性が高いことから、労働現場でのリスク対策を強化する必要がある。

なお、繊維状以外の毛玉上の MWCNT の浮遊係数についても現在、検討中である。

(キ) O-33 チタン酸ナノシートのヒト免疫細胞への毒性影響

- 講演者: 西村 泰光
- 所属機関: 川崎医科大学衛生学

チタン酸ナノシート(TNS)は厚さが 1nm のシート形状を示す 2D 家豪物であり、その物理化学的特徴から防汚素材や半導体素材としての開発が進められている。一方、従来よりチタン酸化物は毒性の低い安全な化合物として幅広く利用されてきたが、近年そのナノ粒子の毒性が器具される状況にある。そこで、ヒト末梢血単核球(PBMC)および単離した細胞文革を TNS ばく露下で培養し、TNS の与える毒性影響について調べた。

(i) 方法

PBMC 又は磁気分離により単離した細胞を $10\mu\text{g/ml}$ の TNS 存在下で 2 又は 7 日間培養した。凡カスパーゼ阻害剤として $10\mu\text{M}$ Q-VD-OPh を用いた。FITC 標識 Annexin V (Anx) / PI 染色で同定されるアポトーシス細胞比率をフローサイトメーターで測定した。固定した細胞の超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡で解析した。パラフィン包埋切片を作成し、走査型電子顕微鏡で空胞内部を解析し、エネルギー分散型 X 線分析でチタンの有無を確認した。PBMC を 1 日培養し接着細胞として単球を得て、3 日間の予備培養土 Alexa 568 Dextran で標識し、TNS を加え 12 時間培養し空胞形成とエンドソーム構造を蛍光顕微鏡(BZ-9000)で解析した。

(ii) 結果

PBMC 培養時に TNS は早期に特徴的な空胞形成を誘導し、7 日後にはアポトーシスが観察され、濃度依存性はアスベストと同程度であった。アポトーシスは Q-VD-OPh で阻害され、CD14+ 単球だけでなく CD4+T 細胞もアポトーシスを示したが、空胞形成は単球のみであった。TEM により空胞内に TNS 様物質が確認し、SEM・EDX 分析により空胞内壁にチタンのピークが確認された。蛍光エキストラでエンドソームを標識した細胞を TNS ばく露下で培養し空胞への蛍光の局在を

確認した。

以上より、①TNS がカスパーゼ依存性アポトーシスを誘導すること、②単球内に取り込まれた TNS は空胞内部に存在すること、③TNS ばく露による空胞形成がエンドソーム経路と関連することが明らかとなった。

TNS の毒性機序と正保内膜機能との関連が示唆される。

(ク) O-34 Potassium octatitanate (K₂O·8TiO₂) fiber is a potent inducer of lung and pleural injury – A comparative study to titanium dioxide nano particles

● 講演者: Mohamed A. M. ABDELGIED

● 所属機関:

Nanotoxicology project, Nagoya city university, Nagoya, Japan

Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University

Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan

オクタチタン酸カリウム繊維 (K₂O·8TiO₂, POT) は摩擦性能が良好であることから、アスベスト繊維の代替品として様々な産業で一般的に使用されている。本研究では、非繊維及び短繊維 TiO₂ ナノ粒子を参照して、POT の肺及び胸膜毒性を研究した。使用したのは、アナターゼ型 (anTiO₂) とルチル型 (ruTiO₂) である。

(i) 方法

雄 F344 ラットに、POT、anTiO₂、ruTiO₂ の 250µg/ml 懸濁液 0.5ml を 8 回 (1mg/rat)、2 週間の期間、経気管内肺内噴霧 (TIPS) 法により投与し、最後の投与後、6 時間及び 4 週間後に屠殺した。

(ii) 結果

- 肺: 肺胞マクロファージの数の有意な増加が全投与群で観察された。4 週では、CCL2 の mRNA とタンパク質のレベルは、POT が他の群よりも著しく高くなった。全投与群の 4 週のケモカイン CCL2、CCL3、CCL4 の mRNA レベルは、6 時間のものの約半分に減少した。
- 内臓胸膜炎: 全処置群の内臓中皮腫の PCNA ラベルは、6 時間及び 4 週の対照群よりも有意に高かった。
- 胸腔洗浄液: LHD タンパク質と全タンパク質のレベルは、第 4 週に全投与群において、対照群よりも有意に増加した。

本研究の結果から、POT 繊維は anTiO₂ や ruTiO₂ よりも肺及び胸膜腔の炎症性病変及び中皮細胞増殖の強力な誘発剤であることを示唆した。これらの値は、6 時間よりも 4 週目で高かった。

(2) Inhaled Particles XII

1) 概要

- 期間:2017年9月25日～27日
- 場所:グラスゴー(英国)マリオットホテル

本コンファレンスは、粒子の吸入に関するコンファレンス・シリーズの第12回に当たるもので、一連の粒子吸入に関するコンファレンスは、57年前から行われている。これまでのコンファレンス・シリーズでは、幅広い粒子エアロゾルへのばく露に起因する健康影響と、ばく露と病気のモニタリング、測定、予見のための継続的開発について議論が行われてきた。

本コンファレンスは、粒子吸入による健康への影響について、ばく露科学、疫学及び毒物学における最新研究に基づき、議論を促進することを目的として小規模で先見的な議論を行うことを目的としている。本コンファレンスでは、肺や他の標的組織への粒子による悪影響に関する研究者が集まり、この分野で現在直面している課題や新たな課題に対する解決策が議論された。

参加者は120人程度で、ホテルの大ホールで3日間にかけて行われた。小規模ではあるが、全日ともに、各発表に対して活発な議論が行われた。セッションは、表3.2-2に示したように、全部で15から構成された。

表 3.2-2 IPXII のセッション一覧

セッション No.	表題
Session 1	Looking to the Future of Particle Inhalation & Health
Session 2	New Approaches in Inhaled Particles: Exposure & Hazard Assessment
Session 3	New Approaches in Inhaled Particles: Exposure & Hazard Assessment (Cont)
Session 4	Low Toxicity Particles - Exposures, Health Impact & Regulation
Session 5	Debate on the Classification of TiO ₂ as a Human Carcinogen
Session 6	Outdoor Air Pollution
Session 7	Traffic-related Particulates
Session 8	Particle Toxicology: Pathways to Disease
Session 9	Mineral Fibers
Session 10	Posters
Session 11	Lung Exposure and Beyond
Session 12	Respiratory Protection
Session 13	Nanotoxicology
Session 14	Indoor Air Pollution
Session 15	Future Priorities in Inhaled Particles

表 3.2-2 から本調査と関連性が高く、興味深い研究発表について以下に概略を報告する。

2) 発表内容

(ア) Welcome プレゼンテーション

ウェルカムプレゼンテーションは、本大会のチェアである Vicki Stone と Craig Poland より発表があった。

(イ) Session 1: Looking to the Future of Particle Inhalation & Health

(i) **Inhaled ultrafine particles matter affects microglial morphology and learning and memory behavior in an Alzheimer's disease mouse model**

- 講演者: Alison Elder
- 所属機関: Department of Environmental Medicine, University of Rochester, Rochester, USA

本発表は、アルツハイマー疾患と大気汚染との関係について研究した結果についての研究結果であった。

- 背景: アルツハイマー病 (AD) は、大気汚染などの環境因子との因果関係を仮定した進行性の神経変性疾患である。周辺超微粒子 (UFPs、直径 100nm 未満) は、気道に効率的に堆積し、脳のような二次標的器官に転位し、炎症を誘発する。
- 仮定: 本研究では、繰り返し周辺の UFP にばく露することで、脳における炎症プロセスを増強することにより、アルツハイマーの進行と認知低下を促進する、と仮定した。
- 実験方法: 2 グループのコホート研究。HUCAPS (Harvard Ultrafine Concentration of Ambient Particle System; ハーバード周辺超微粒子濃度システム) を使用した。質量濃度範囲は、13.9~84.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均直径は 70-90 nm。

若齢および老齢のトランスジェニック雄性 AD マウス (3xTgAD; 2.5-3 または 12.5-13mos) のコホートを、濃縮周辺 UFPs (HUCAPS) またはろ過した空気に 2 週間 (4 時間/日、4 日間/週) ばく露した。ばく露後数ヶ月にわたって、若いマウスは、放射状腕迷路 (RAM)、新規物体認識 (NOR)、および運動機能検査を行った。

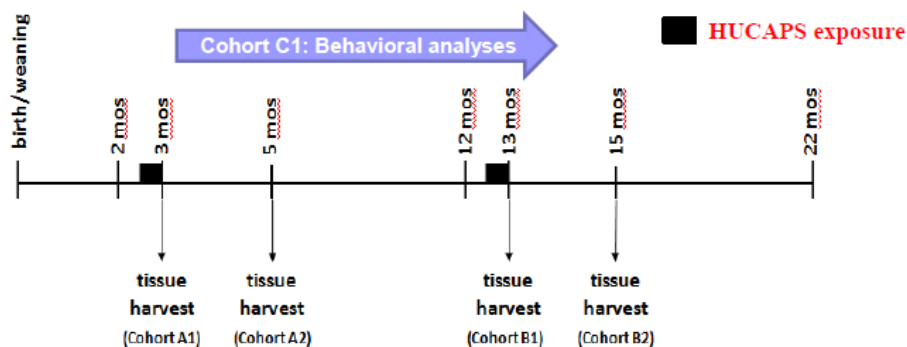


図 3.2-1 実験パラダイム

- 結論:
 - HUCAPS ばく露マウスは、海馬依存性参照記憶を欠損する。
 - HUCAPS ばく露は、3xTgAD マウスからのプラーク関連海馬ミクログリアの形態変化を引き起こす。
 - これらの影響は、明白な肺の炎症がない場合に生じる。

(ウ) Session 2: New Approached in Inhaled Particles: Exposure & Hazard Assessment

(i) Development of samplers for aerosol fractions deposited in two regions of the respiratory tract – gas – exchange region and posterior head airways

- 講演者: Göran Lidén
- 所属機関: Stockholm University, Stockholm, Sweden

本発表は、Mn の溶接作業における Mn 粒子へのばく露の可能性について調査するために開発した、肺胞領域および鼻の後部に配置された浮遊粒子用の 2 つのサンプラーを用いて測定した結果を報告したものである。

- 背景: Mn は主に脳の大脳基底核に蓄積し、血液脳関門を介して侵入することで、神経毒性を示すことが知られている。溶接作業中の Mn へのばく露について測定したところ、2 つの領域で重要な沈着を確認した。ガス交換領域に続いて、溶解と血液への輸送が起こった。嗅上嗅粘膜では、嗅神経経由で嗅球に移動するほか、脳内神経節へのさらなる脳内輸送が可能となる。そのほか、他の領域に沈着した Mn は胃腸管に移動する。
- 実験方法:
 - 沈着効率の測定: EN ISO 13138:2012 を用いて測定
 - サンプラーの設計原則: 小さくて軽い。使用可能なフィルタ(13mm)、拡散スクリーン(25mm)使用。2 段階捕集。
 - 空気力学および拡散によって堆積した画分は、2 つの異なるカスケード基材上に集められる。保護インパクターは、2 つの基板を分離する。衝突および拡散段階の捕集効率は、空気力学的直径が 1 μ m を超える粒子については APS を用い、小粒子については SMPS または DMPS のいずれかとして DMA を用いて試験した。
- まとめ:
 - 神経毒性の Mn は、主に、ガス交換領域と胸腔外領域の 2 領域に蓄積することを確認した。
 - 上記の 2 つの領域に浮遊粒子を堆積させるための 2 つのサンプラーを設計し試験した。サンプラーは、2 つの収集段階(空力及び拡散による捕集)から構成され、拡散メッシュネットの空気力学的堆積を防ぐための保護インパクターを設置した。
 - 空力分離では、サンプラー分離曲線とサンプリングコンベンションは定性的に一致し

た。

- 拡散分離については、サンプラー分離曲線とサンプリング規則との間の良好な一致が確認できた。

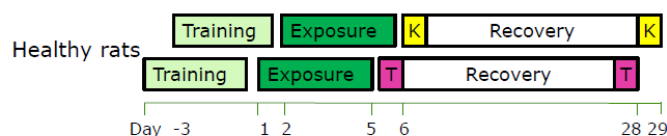
(ii) **Pulmonary toxicity of surface modified copper oxide nanoparticles**

- 講演者: Ilse Gosens
- 所属機関: National Institute for Public health and the Environment, Bilthoven, Netherlands

本発表は、EU プロジェクトの 1 つである SUN プロジェクトに一貫として行われた研究成果である。また、CuO ナノ粒子の毒性を安全な設計により軽減できるかについても調べた。

- 背景: 酸化銅ナノ粒子 (CuO NP) は、様々な工業的用途を有し、食品包装における抗菌製品およびコーティングに使用されている。これまで、講演者らは、CuO NP の吸入がラットにおいて用量依存性の肺毒性をもたらすことを示した。この研究では、10nm の CuO NP を正に帯電したポリエチレンイミン (PEI) または負に帯電したアスコルビン酸コーティング (ASC) で修飾した。
- 仮定: 本研究では、RAW264.7 細胞マクロファージ様細胞を用いたインビトロの研究結果に基づいて、ASC コーティングは PEI コーティング CuO NP と比較して肺毒性を誘導し得ないと仮定した。
- 実験①【未修飾 CuO】: ラットは、5 日間連続して、ASC および PEI 被覆 CuO NP の固定ばく露濃度にのみ鼻にばく露した。ばく露期間を変えることにより、ASC については 0, 0.8, 2.3, 7.5 および 21.9 mg / m³, PEI については 0.6, 1.8, 6 および 17.3 mg / m³ の 3 時間濃度当量が生成された。ばく露後、6 日目、および 27 日目に、気管支肺胞洗浄液中の肺毒性マーカーを分析し、ベンチマーク用量応答分析を行った。(図 3.2-2)

Short term inhalation study CuO



Training for adaptation to nose-only tubes

Exposure to CuO or filtered air during 5 days

The dose is expressed as 6 h-concentration equivalents of 0, 0.6, 2.4, 3.3, 6.3, and 13.2 mg/m³

Recovery period of three weeks

K is kinetic analysis

T is toxicological assessment

図 3.2-2 CuO の短期吸入試験の実験概要

- 結果①;

- 肺の炎症と細胞損傷:肺炎と細胞損傷が確認された(図 3.2-3)。

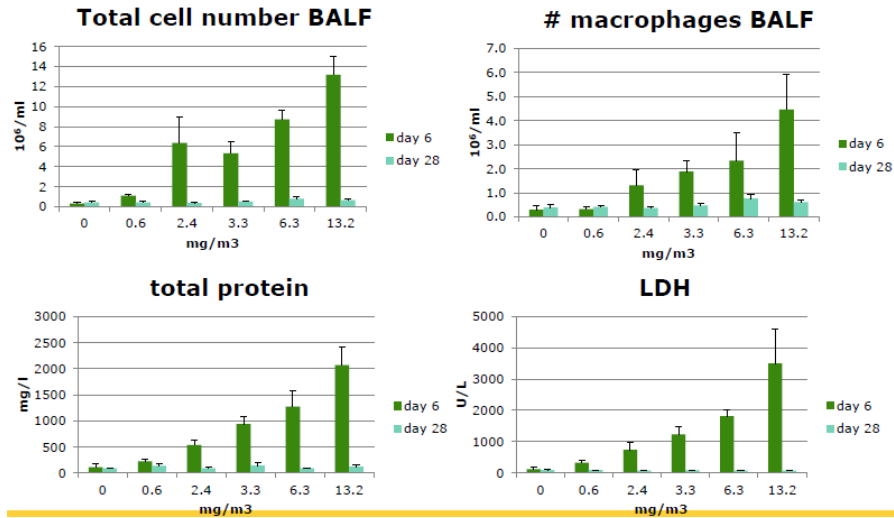


図 3.2-3 肺の炎症と細胞損傷結果

- 肺の負荷:Cu 濃度が高くなるほど、肺への Cu の負荷も大きくなり、Cu 濃度と肺負荷との間には 1 次相関が確認された(図 3.2-4)。

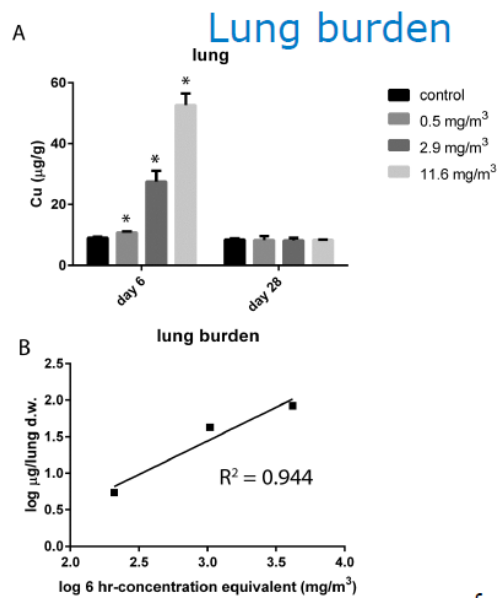


図 3.2-4 肺への負荷結果

- リスク評価に関するベンチマーク用量: 確実な影響を誘発するのに必要な用量があることが確認された(エラー! 参照元が見つかりません。)。細胞損傷は完全に可逆的であったが、炎症反応はばく露 3 週間後に完全に可逆的ではなかった。
- 未修飾 CuO の結果のまとめ;
 - 6 日目の肺において、細胞損傷を伴う用量依存性炎症反応が確認された。
 - 肺負荷は、6 日目には、ばく露濃度が高いほど、肺負荷が高くなり、肺負荷とばく露濃度の関係は線形増加を示したが、検出限界を超える Cu レベルは、回復期後には確

認められなかった。

- 28日目には Cu レベルは検出されず、肺には炎症に関わる残存物が確認された。
- 予想通り、流入リンパ節の活性化が確認された。
- 嗅上皮の変性は完全に回復した。
- 他の器官の炎症や変性は確認されず、他の器官では Cu レベルは検出されなかった。

● 実験②【修飾 CuO】:

- 背景: CuO NP の毒性を低減できるような安全な設計の可能性について検討した。正に荷電した NP は、マクロファージの認識が増強されることで、部分的に負に帯電した NP と比較してより毒性が高いことが示されている (Bhattacharjee et al 2010)。また、10 nm CuO NP は、ポリエチレンイミン (PEI、正電荷) またはアスコルビン酸 (ASC、負電荷) コーティングのいずれかで修飾されている。アスコルビン酸塩は、炎症反応中に生成されるフリーラジカルを保護する可能性がある。
- 仮定: マイナスに帯電した CuO-ASC NP は、その後帯電した CuO-PEI NP と比較してより低い肺毒性を誘導することにより、より安全な設計に寄与すると仮定した。
- 実験概要: 5 日間吸入、3 週間回復期間を設けて、肺への負荷を調べた。

● 実験②の結果;

- 肺への負荷: PEI コーティングの場合も、ASC コーティングの場合もともに、6 日目の肺中の Cu は、ばく露濃度が高いほど多くなり、肺負荷は濃度と相関関係を示した (図 3.2-5)。

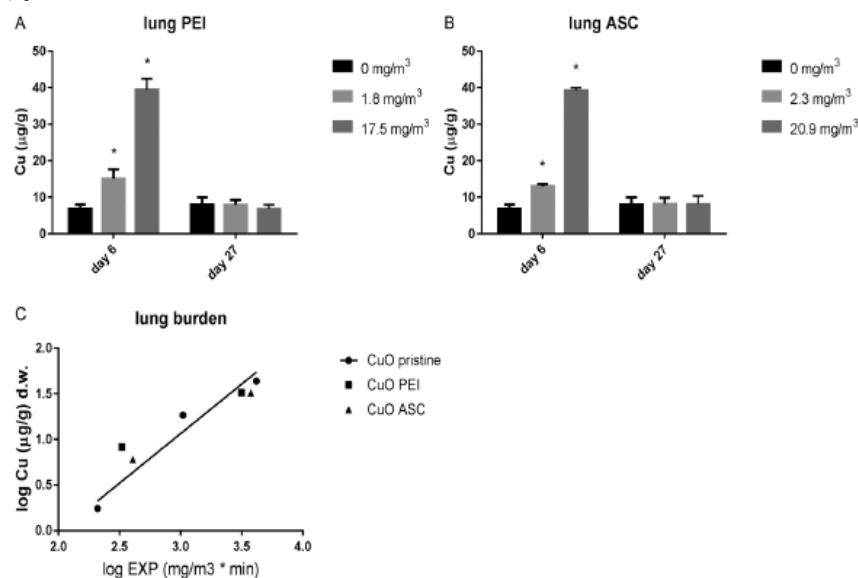


図 3.2-5 PEI/ASC コーティング Cu の肺負荷

- 肺への LDH の放出: ばく露後 3 週間で、LDH 放出はベースラインレベルに回復した (図 3.2-6)。

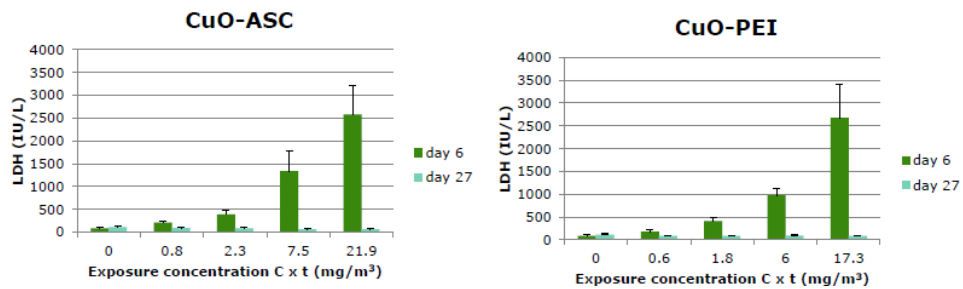


図 3.2-6 肺への LDH 放出状況

- 未修飾 CuO と修飾した CuO の比較: 修飾した CuO は、未修飾の CuO よりも、わずかに強力な炎症誘導を示すようであった(図 3.2-7)。

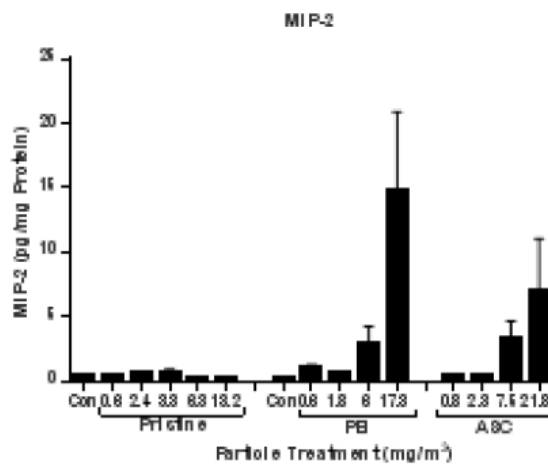


図 3.2-7 炎症誘発性の比較

- 正に帯電した CuO および負に帯電した CuO の NP の両方が、肺の炎症および細胞の損傷をもたらした。
- 組織病理学的マーカーである気管支および肺胞肥大を除いて、CuO-ASC および CuO-PEI へのばく露後に差異は見られなかった。
- 実験②の結論: 実験仮説とは対照的に、アスコルビン酸塩コーティング(ASC)は肺の影響を防御しなかった。

(Ⅰ) Session 3: New Approaches in Inhaled Particles: Exposure & Hazard Assessment (Cont)

(i) Comparing nanomaterial toxicity with lung cells cultured under air-liquid interface and submerged conditions

- 講演者: Yaobo Ding
- 所属機関: Institute of Lung Biology and Disease, Helmholtz Zentrum München, Munich, Germany

本発表は、気液界面での細胞ばく露に関する研究結果である。

- 背景: 伝統的なインビトロ細胞ばく露研究では、ENM (人工ナノマテリアル) と細胞培養培地との相互作用は、事実上ナノ粒子の特性を改変し、現実的な肺-ナノ粒子相互作用の代表性を低下させる可能性がある。結果として、より生理学的な気液界面 (ALI) 培養条件下での ENM 細胞ばく露が代替法としてますます採用されている (Lenz et al. 2014)。異なる培養条件下で得られた ENM 毒性の定量的比較は、典型的には、細胞送達 ENM 用量に関する信頼できる情報の欠如によって妨げられる。
- 目的: 本研究は、VITROCELLCLOUD (登録商標) システムを用いて、用量制御された ENM 細胞ばく露を行い、水中および ALI ばく露条件下で細胞応答を比較することを目的とした。
- ZnO および TiO₂ ナノ粒子は、ヒトおよびマウスの肺上皮細胞 (A549 および LA4) をばく露するために使用した。細胞生存度 (WST-1)、膜損傷 (LDH) およびサイトカイン放出 (IL-8) は、毒物学的エンドポイントとして特徴付けられる。細胞送達 ENM 用量は、水晶微量天秤および ALI および水中培養条件のための粒子動力学モデルを用いてそれぞれ決定した。
- 実験方法: 実験は、物理化学的に現実的な試験を行うことを目的として、図 3.2-8 のようなチャンバーを設計して実験を行った。

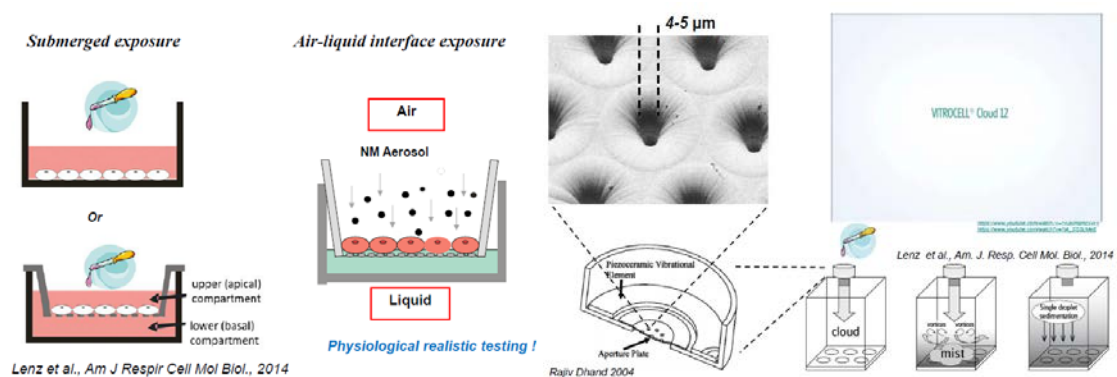


図 3.2-8 チャンバーの概要

- チャンバーの特徴: ナノマテリアルエアロゾルは、均一で早く輸送可能 (200 秒で沈着量が最大)。
- 懸濁液の調整方法: ナノ粉末を純水に懸濁 → (NaCl を添加) → ボルテックスシェーカー → 超音波処理 → 動的散乱。
- 細胞成長とばく露条件: 以下表に示す条件で行った。

表 3.2-3 細胞成長とばく露条件

	Submerged	Sub-Insert	ALI
Plate type	6-well plate	6-well insert	6-well insert
Cell type	A549 IL-8	A549 IL-8	A549 IL-8
Seeding surface	9.6 cm ²	4.2 cm ²	4.2 cm ²
Seeding Nr.	1 mil.	1 mil.	1 mil.
Growth time	3 day	4 day	4d+1d (in air)
Apical Med.vol.exp.	1 ml	1 ml	0 ml
Med. Height	ca. 1 mm	ca. 2.4 mm	0.01 mm (ZnO suspension)
	Type	Size, TEM	BET SA
Nanomaterial	ZnO NM110	50-150 nm	12 m ² /g

● 結果:

- 細胞生存率[24 時間] (WST-1 アッセイ)、細胞毒性[24 時間] (LDH 放出)、IL-8 誘導[24 時間]: 細胞数が増加すると細胞生存率が低下し、LDH 放出と IL-8 誘導が増加した(
- 図 3.2-9)。

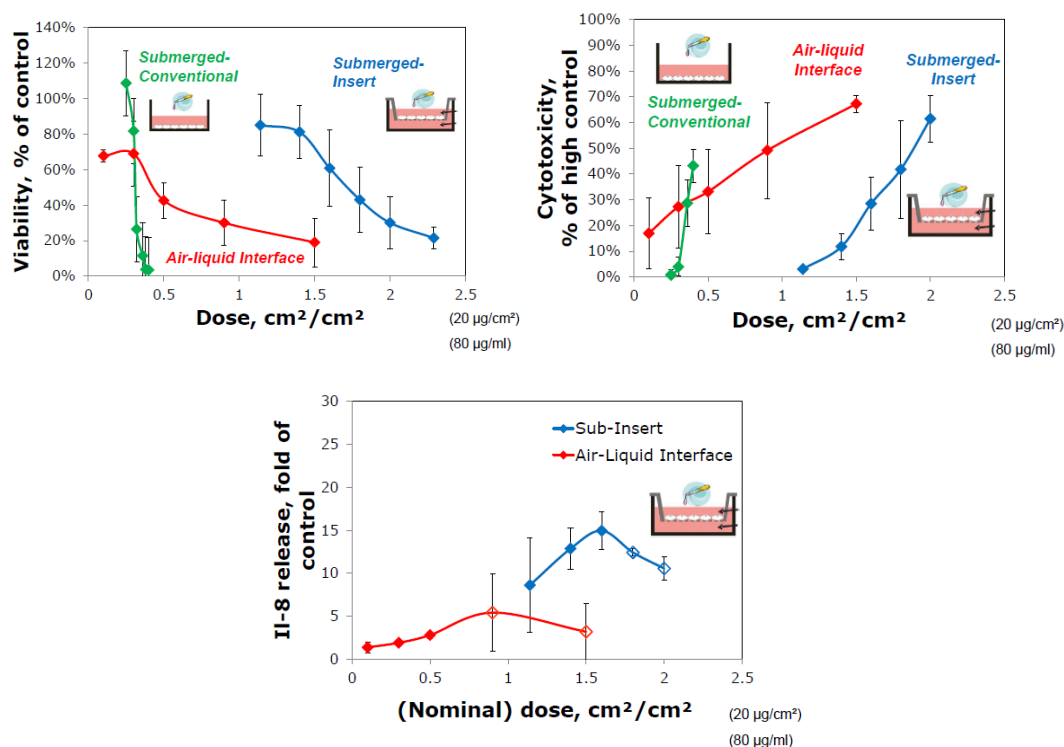


図 3.2-9 細胞生存率・細胞毒性・IL-8 誘導に関する結果

- 沈着量の計算: 図 3.2-10

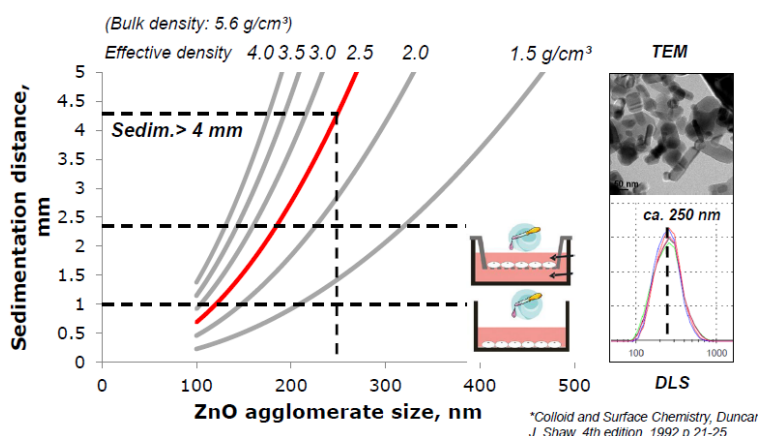


図 3.2-10 沈着量の計算結果

- まとめ;
 - VITROCELL-CLOUD (ALICE-CLOUD)を用いて、5 分間のばく露時間で均一で効率的なエアロゾル送達を達成した。懸濁液の品質を、エアロゾル化のために制御した。
 - 細胞数が増加すると細胞生存率が低下し、LDH / IL-8 誘導が増加した。
 - ZnO ナノ粒子の肺上皮細胞の用量応答曲線は、水中(狭い)及び気液界面(広い)ばく露で異なった。
 - プラスチック表面(ウェル)および多孔質インサート表面で増殖した細胞は、用量濃度、プラスチックウェルに対する細胞の感受性が高い、その両方等の、異なる挙動を示した。

(オ) Session 4: Low Toxicity Particles – Exposures, Health Impact & Regulation

(i) **Significance of Agglomerate Aerosol and Particle Densities for Effects and Mechanisms of Inhaled Particles**

- 講演者: Günter Oberdörster
- 所属機関: University of Rochester, Rochester, NY, USA

本発表は SiO₂ と TiO₂ 粒子の凝集体の吸入影響に関する研究結果の報告である。

- 背景:凝集粒子を用いたげっ歯類の吸入試験では、線量測定モデル化のために有効なエアロゾル密度の知識が必要である。AM のファゴリソーム中の粒子は、肺負荷を保持するのに有用な用量である。そうした凝集体密度はどの程度で、生体内溶解の程度はどうか、は不明である。
- 目的:ラット吸入を用いた有効エアロゾル密度 (ρ_{eff})とインビボ溶解の推定値、および(ii)ファゴリソーム流体擬似体 (PFS)の凝集体密度を決定することを目的として、*in vivo*および非生物学的 *in vitro* 試験を設計した。
- *In vivo*による有効エアロゾル密度 (ρ_{eff})の算出試験;

- 目的: vivo での peffin 値の算出。
- 方法: ナノシリカ(アモルファス型、1次粒子サイズ: 31.2±7.1nm)を4時間ラット(4匹、BW216g)に吸入。ラットへの吸入濃度は 5mg/m³、平均粒子径 0.4μm、幾何学標準偏差 2.0。肺負荷 a を測定するために、ばく露後すぐに殺傷。a は以下の式により算出;

$$a = TV \times BF \times \text{expos.conc.} \times \text{expos.time} \times \text{Deposition Fraction (DF)}$$

上記で a 算出後、再度、DF を以下の式により計算;

$$DF = a / (TV \times BF \times \text{expos.conc.} \times \text{expos.time})$$

相対成長的にインプットを調整した BW を用いて、相ラット MPPD モデル(バージョン 3.04)を実行し、計算された DF に適合するまで繰り返し入力値を ρ に対して変更する。これが、*in vivo* での有効密度 peff、になる。

- 算出結果: 4 時間ラット吸入試験のデータを用いて、SiO₂ スラリーエアロゾルに MPPD モデルを適用すると、peff は 0.165g/cm³、となり、SiO₂ 材料密度 2.65g/cm³ とは大きく異なった。
- *In vitro* による TiO₂ 凝集密度の算出試験;
 - 方法: 大気及び生理学的液体を模擬。ファゴリソーム(PFS、pH4.5)、細胞外(EFS、pH7.4)
 - ✓ 大気: 容積充填 1-5,000gn、50ml コニカルチューブ内で 10 分間遠心分離
 - ✓ 生理学的液体: 容積充填 50-5,000gn、1gn で 1~7 日間沈殿。
 - 材料: NanoTiO₂ (P-25 アナターゼ/ルチル)、micro-TiO₂ (~250nm、アナターゼ)
 - 結果;
 - ✓ 大気での TiO₂ 遠心分離結果: 注入密度 ナノ 0.108g/cm³、マイクロ 0.619 g/cm³。充填密度 5,000g ナノ 0.348 g/cm³、マイクロ 1.211 g/cm³。
 - ✓ 生理学的液体の充填密度 5,000g での充填密度: ファゴリソーム 微粒子 1.431 g/cm³、超微粒子 0.433 g/cm³。水 微粒子、超微粒子ともに決定不可。
 - ✓ TiO₂ の沈殿密度: ファゴリソームでも細胞外液体でもナノ TiO₂ とマイクロ TiO₂ の日数による沈殿密度の違いはほとんど見られなかった。
 - ✓ TiO₂ 凝集体密度:
 - TiO₂ 凝集体の密度; Micro-TiO₂ と Nano-TiO₂ で、空気、ファゴリソーム液、細胞外液、表 3.2-4 の結果のようになった。

表 3.2-4 Micro-TiO₂ と Nano-TiO₂ の凝集体密度

Medium	Method	MicroTiO ₂	NanoTiO ₂
Air, powder	Pouring 1 g _n (m/s ²)	0.619	0.108
	Tapping	0.753	0.122
	Packing 5000 g _n (m/s ²)	1.211	0.348
Phagolysosomal Fluid ph 4.5	Packing 50 g _n (m/s ²)	0.577	0.120
	Packing 5000 g _n (m/s ²)	1.431	0.433
	Settling 1 day	0.352	0.085
	Settling 7 days	0.396	0.102
Extracellular Fluid ph 7.4	Packing 50 g _n (m/s ²)	0.555	0.118
	Packing 5000 g _n (m/s ²)	1.337	0.432
	Settling 1 day	0.391	0.090
	Settling 7 days	0.414	0.108

- *In vivo* 肺溶解速度算出試験；
 - 材料: ナノシリカ(アモルファス、1次粒子径 20-40nm)
 - 方法: 亜急性 4 週間ラット吸収試験(4 匹、BW250g)。1 日 4 時間ばく露。濃度 4.6mg/m³、平均粒子径 0.49μm。幾何学標準偏差 1.91。肺負荷を 1 日目と 28 日目に測定し、ビルドアップ曲線を作成。全体での肺クリアランス速度 $btot$ を MPPD モデルを用いて推定。
 - 結果；
 - ✓ 吸入した SiO₂ のナノ粒子及び PSPs のラット肺への蓄積を確認し、肺負荷は、ナノ粒子よりも PSPs の方が多く、したがって計算された半減期も PSPs の方が長くなった(図 3.2-11)。

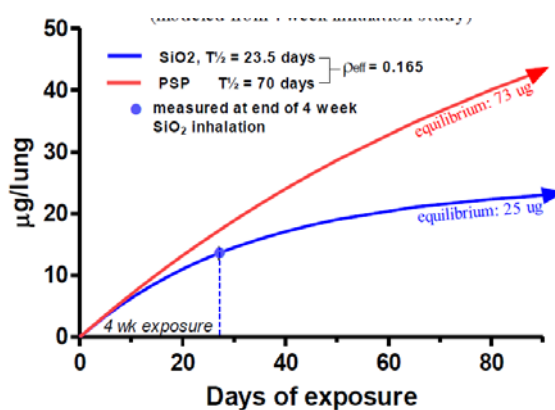


図 3.2-11 ばく露中/後の日数による肺負荷量

- ✓ ラット肺でのクリアランス速度は、 $btot = 0.0295 \text{ day}^{-1}$ 、 $T1/2tot = 23.5 \text{ day}$ 、と計算された。これを用いて、 $b_{diss} (=btot - b_{mech} = 0.0295 - 0.01)$ を計算すると、 $T1/2 = 32.5 \text{ day}$ $b_{diss} = 0.0195 \text{ day}^{-1}$ 、 $T1/2diss = 35.5 \text{ day}$ 、となった。

- HR-TEM/STEM/EELS 分析による SiO₂ NPS の *in vivo* 溶解の検証
 - 実験: 前駆体 SiO₂ NP の溶解の近傍における超微小 (<4nm) Si-NP の生体内形成について、27 日間ばく露により検証した。
 - 結果: 27 日ばく露では、前駆体 SiO₂ NP が溶解した Zone1 の周辺の Zone2 に、超微小シリカ粒子 (<4nm) が確認された (図 3.2-12)。

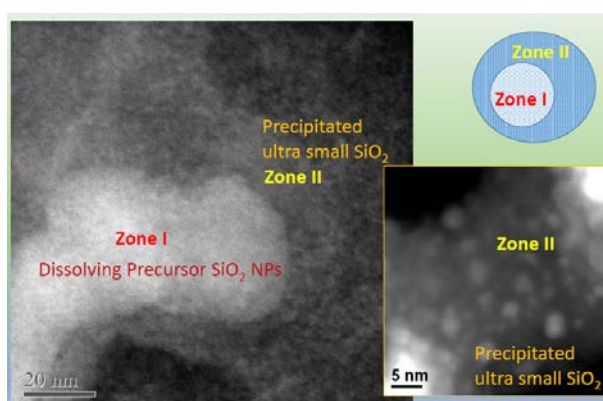


図 3.2-12 前駆体 SiO₂ NP の溶解の近傍における超微小 (<4nm) Si-NP の生体内形成

- 結論;
 - 大気と液体中の粒子の凝集密度は異なることが確認された。
 - 粒子サイズ(ナノ/マイクロ)は、凝集密度に影響を与え、ナノ粒子のほうが低くなることが確認できた。
 - 大気中で乾燥粉末について決定された凝集密度(ナノ/マイクロ)は、*in vivo* 実験に用いるべきではない。
 - 肺における *In vivo* 粒子溶解速度の結果の解釈には、生物プロセス/生物学的輸送、に関する知識が要求される。

(ii) **Exposure assessment in a factory of barium sulfate particles**

- 講演者: Gaku Ichihara
- 所属機関: Tokyo University of Science, Noda, Japan

本発表は BaSO₄ を扱う作業場内での BaSO₄ のばく露評価に関する報告である。

- 背景: 硫酸バリウム (BaSO₄) は、油井掘削液、放射線造影剤、顔料または紙の増白剤の成分として広く使用されている。最近では、プラスチックの充填剤として使用されており、ポリマーの密度を高め、酸およびアルカリの耐性および不透明度を増加させる。なお、BaSO₄ は TiO₂ よりも安価であるため、TiO₂ から代替することが可能である。
- 目的: 工場で硫酸バリウム粒子を破碎して梱包するプロセスがあり、作業領域別の BaSO₄ 粒子へのばく露状況を調査した。

- 方法:施設内に、サイズ選択性個人サンプラーを設置(>2.5 μ m、1.0-2.5 μ m、0.5-1.0 μ m、0.25-0.5 μ m、<0.25 μ m)して、作業種類によるばく露の違いを測定した。各作業領域の作業員には、個人カスケードインパクトサンプラー(PCIS)を取り付けた。光学粒子計数器(OPC)、凝縮粒子計数器(CPC)、および走査型移動度粒子サイザー分光計(SMPS)を用いて、粒子の数濃度を測定した。1次粒子径はSEMより計算した。X線による微量分析により元素濃度を特定した。製品BaSO₄の粒子サイズは200nmと、中間体製品である。また、製品は金でコーティングされている。
- 結果;
 - 粒子の質量濃度は破砕区域で0.4~1.9 mg / m³、パッキング領域で78~98 mg / m³、メンテナンス領域で0.03 mg / m³、倉庫で0.004 mg / m³、ストック領域で0.99 mg / m³、工場外では0.05mg / m³、となった。パッキング領域(50mg/cm³以上)で高く、特に>2.5 μ m粒子数の割合が高くなった。
 - 総数濃度(CPC)では、破砕領域とパッキング領域で濃度が高くなった。
 - 粒子サイズ範囲は、パッキング領域で大きく、またサイズ範囲も広がった。
- 結論:硫酸バリウム粒子の数および質量濃度は、破砕領域よりもパッキング領域が高くなることを確認した。この研究は、パッキング作業が、硫酸バリウム粒子のより高いレベルのばく露及びより大きな凝集をもたらすことを示唆した。また、パッキング作業領域で測定された総数濃度は50mg/cm³を超えていた。最近の動物実験によれば、90日間の硫酸バリウムナノ粒子の吸入では、50mg/m³レベルで肺の炎症反応が誘発されることが示されている。パッキング領域の硫酸バリウム粒子の質量濃度は、実験動物において炎症反応を誘導するレベルである50mg/m³以上であった。したがって、硫酸バリウムにばく露された労働者の健康状態に焦点を当てて、さらなる研究が必要である。

(iii) First Results of a lung-term Inhalation Study with nano Barium sulfate

- 講演者:Lan Ma-Hock
- 所属機関:Experimental Toxicology and Ecology, BASF SE, Ludwigshafen / Rhein, Germany

本発表は、BaSO₄ ナノ粒子を用いた肺への吸入試験結果を報告したものである。

- 実験方法:CeO₂ および BaSO₄ はいずれも粒状難溶性粒子である。このうち、BaSO₄ を用いてラットにおける吸入試験を行った。BaSO₄ (NM-220)を雌のラットに、50mg/m²濃度で2011-2013年の2年間(24か月)ばく露した。試験ラットは、1、3、12、24か月ばく露後に検査した。また、追加の群について、6か月ばく露後に検査を行った。試験方法は、OECD TG453(全身ばく露)とした。
- 結果;
 - 高いエアロゾル濃度にもかかわらず、BaSO₄ ばく露動物の肺負荷は、3ヶ月ばく露

(肺あたり 1.7mg) 後には比較的 low、12 ヶ月後には 10mg に急激に増加し、肺への負荷は、13 週 < 104 週 < 52 週、であった。

- 気管支肺胞洗浄は、1 ヶ月ばく露後の肺の変化は明確ではなかった。ばく露 3 ヶ月後に好中球の増加が観察され、肺胞/間質性炎症細胞浸潤、間質性線維症及び肺胞性リポタンパク症を含むいくつかの有害な知見が 12 及び 24 ヶ月ばく露後に進行した。
- 本研究は、BaSO₄ の最初の速い肺クリアランスと 1 年後の減速を明らかにした。
- 肺の影響は肺の負荷と相関したが、CeO₂ の場合と比較して、相関は低かった。

- 結論;

- BaSO₄ は、ばく露初期に非常に早くクリアランスされた。
- 肺への負荷は、3-12 か月で著しく増加したが、24 か月後には増加しなかった。
- BALF の変化は肺負荷とよく一致した。
- 慢性炎症は、12 か月から起こった。
- 全体として、BaSO₄ は低毒性であるが、部分的に生体溶解性の粒子であることが判明した。

(iv) Long-term Inhalation Study with Nano Ceria – Histopathology of the Lung

- 講演者: Dirk Schaudien
- 所属機関: Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine ITEM, Hannover, Germany

本発表は (iii) と同様の実験条件で CeO₂ ナノ粒子による吸入試験を行った結果を報告したものである。

- 目的: 長期の CeO₂ ナノ粒子の吸入により可能性のある慢性毒性及びまたは発癌性の影響を調べることを目的とした。
- 試験物質: CeO₂ ナノ粒子
- 実験条件・方法: 雌の Wistar ラット [CrI : WI (Han)] 使用。1 群当たり 100 匹の動物に、4 つの異なる用量群 (0.1; 0.3; 1; 3mg / m³) の酸化セリウム (CeO₂, NM-212) を用いた。清浄な空気吸入は陰性対照として用いた。OECD ガイドライン No.453。肺負荷 (13, 52, 104 週) 後、24 又は 30 か月後に、殺傷。非常に小さな腫瘍および前腫瘍性病変を検出するために、肺の拡大組織病理学的検査を行った。肺は 500µm の間隔で段階的に切開され、肺あたり 60~70 切片が得られた。肺病変は、ラットおよびマウス (INHAND) の命名法の国際調和および病変の診断基準に従って診断された。
- 結果;
 - 予備的結果から、粒子を含むマクロファージの用量依存的蓄積、合胞体巨細胞の発生、間質線維症および肺胞間質肉芽腫性炎症を示した。炎症性変化は、最低用量群 (0.1mg / m³) において既に見られた。さらに、高用量群 (1mg / m³ および 3mg / m³)

の両方においてのみ、肺胞のリポタンパク質症および骨の化生が増加した。さらに、気管支喘息 - 肺胞過形成は、すべての粒子ばく露群で上昇した。しかし、CeO₂ の 12 および 24 ヶ月の吸入は、いずれの群の肺においても腫瘍発生率を増加させなかった。

- 結論;粒子を過剰ばく露することで、慢性炎症が生じる。ただし、0.1mgCeO₂ の過剰ばく露でなくても慢性炎症は起こる。

(カ) Session 8: Particle Toxicology: Pathways to Disease

(i) **Development of an adverse outcome pathway based on toxicogenomic data for ENM-induced risk of developing atherosclerotic plaques**

- 講演者: Ulla Vogel
- 所属機関: National Research Centre for the Working Environment, Copenhagen, Denmark

本発表は、マウスを用いた吸入試験による肺の遺伝子発現について調べた結果を報告したものである。

- 背景と目的: 人工ナノ物質 (ENM) への肺ばく露後の有害な肺の影響は、げっ歯類で十分に立証されている。これらの影響の原因となる分子変化を理解する目的で、多層壁カーボンナノチューブ、カーボンブラック、TiO₂ またはグラフェンに気管内点滴注入したマウスの肺における全面的な転写変化を調べた。
- 試験物質: TiO₂、カーボンブラック、MWCNT
- 試験方法: マウスへの 5 日間吸入試験。吸入量 40mg。
- 結果;
 - 試験した ENM の物理化学的特性の大きな差異にもかかわらず、それらはすべて強く持続的な肺急性期応答を誘発した。すべてのばく露タイプで最も差別的に調節される遺伝子は、急性期タンパク質血清アミロイド A アイソフォーム 3 (Saa3) であり、他のアイソフォーム (Saa1 および Saa2) も強く誘発された。
 - さらに、ばく露後の肺 Saa3 mRNA レベル、血漿 SAA3 タンパク質レベル及び肺好中球流入と強い相関を確立した。これは、血漿タンパク質レベルに対する肺由来 Saa 発現の有意な影響を示した。
- まとめ: SAA タンパク質の血漿レベルの上昇は、疫学研究における心血管疾患の予測因子である。提案されたメカニズムは、ApoA-1 を HDL リポタンパク質上の SAA で置換することによるものであり、マクロファージからのコレステロール流出を媒介する HDL の能力を損なう。これにより、逆コレステロール輸送の低下、末梢コレステロールの封鎖、および HDL からマクロファージへのコレステロールの輸送がもたらされ、それによってマクロファージの泡沫細胞への変換が促進される。本研究では、上記の仮説を示す AOP を開発した。

この AOP は、2017 年 6 月に OECD AOP プログラムに受理された。

(ii) **Long-fibre Carbon Nanotubes and Asbestos induce Pleural Pathology with a Common Molecular Signature**

- 講演者: Tatyana Chernova
- 所属機関: MRC Toxicology Unit, Leicester, United Kingdom

本発表は、マウスに CNT を吸入ばく露した際の影響を調べた結果を報告したものである。

- 背景: 最近の研究では、中皮腫を含む胸膜におけるカーボンナノチューブ (CNT) の潜在的な病原性が強調されている。アスベストも CNT も、共通した長さ依存的な分子変化を誘発することが報告されている。観察された組織学的変化は、アスベストばく露および複製中皮腫によって誘発されたものと類似しているが、関与する分子メカニズム及びこれらがアスベスト誘発疾患とどのように比較されるかについては未だ調査されていない。
- 実験方法; 胸膜腔への直接注入モデルを用いて、短期及び長期のアスベストばく露後の胸膜および 20 ヶ月での短い/長い CNT の分子変化を比較した。
 - 試験動物: Wild type C57/Bl6 マウス
 - 試験材料と濃度;
 - ✓ SFA (short-fiber amosite) / LFA (long-fiber amosite) : 25 µg/mouse
 - ✓ SNT (short nanotubes) / LNT (long nanotubes) : 0.5、1.0、2.5、5 µg/mouse
 - ばく露期間: 1 週間、12 週間、6 か月、最大 20 か月。
- 結果;
 - 長い CNT に誘導された炎症性病変は、悪性中皮腫に進行した。
 - 長い CNT に誘導された腫瘍は、腫瘍抑制遺伝子 *CdKn2a* の喪失を示した。
 - 長い CNT に誘導された炎症性病変は、腫瘍抑制遺伝子 *CdKn2a* のタンパク質 p16 と p19 の喪失を示した。
 - 長い CNT に誘導された中皮腫および長い繊維状アモサイト (アスベスト) に誘導された炎症性病変における *CdKn2a* (p16^{ink4a} / p19^{Arf}) 遺伝子座の過剰メチル化が観察された。
 - 共通の分子変化が、長繊維アモサイトと長い CNT に誘導された炎症病変で起こった。
 - 短いものではなく長いアスベストや CNT へのばく露は、Akt、mTOR、ERK1 / 2 および Src ファミリーキナーゼを含む発がん性シグナル伝達経路の活性化をもたらし、ばく露 1 週間後に検出され、それは研究機関全体にわたって持続した。
 - 異常な細胞シグナル伝達に対する中皮細胞および間質の差異の寄与は、病変発生の間に明らかであり、重要なことに、ヒト患者の末期中皮腫で検出されたものと同様で

あった。

- 酸化的 DNA 損傷、有糸分裂および増殖の増加は、長いアスベスト及び長い CNT が誘発する病変が進行するにつれて明らかになった。
 - 中皮細胞層の増殖及び「反応性」中皮細胞の発生は、活性化前発癌経路を有する間質細胞と標的中皮細胞との間のクロストークを示唆する。併せて、これらのデータは、長い CNT へのばく露は、ヒトの病気の病因を複製し、長いアスベストおよび長い CNT 誘発病変の共通の分子サインを強調する胸膜病変の発生を誘導することを実証した。
- 結論;
 - 中皮腫に進行する LFA および LNT 誘発胸膜病変には、共通の分子変化が起こった。
 - LNT 誘発腫瘍における異常なシグナル伝達経路の活性化、Cdkn2a の過剰メチル化、および p19Arf の欠失は、ヒト中皮腫の共通の特徴を再現した。
 - LFA および LNT 誘発性病変の共通の分子徴候は、悪性中皮腫を含む胸膜疾患に至る類似の危険メカニズムを示した。

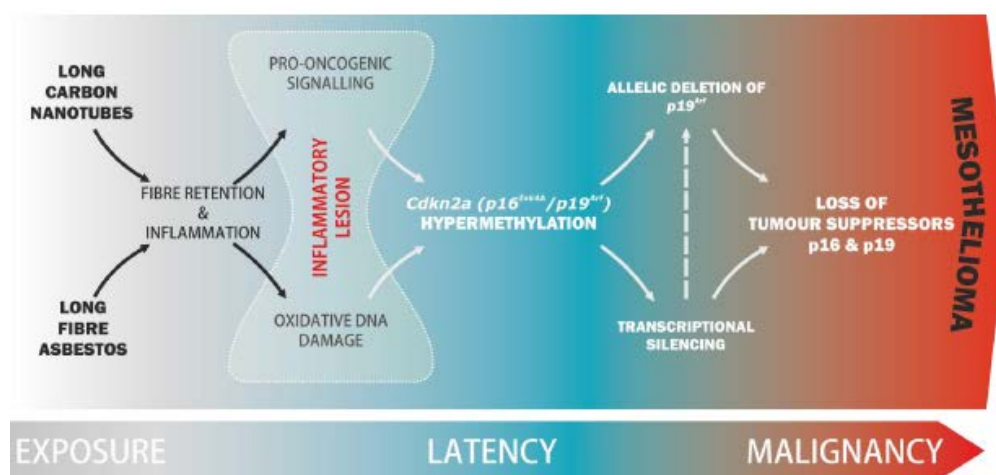


図 3.2-13 まとめ図

(iii) **Inhaled multi-walled carbon nanotubes-induced gene expression profile in rat lung**

- 講演者: Carole Seidel
- 所属機関: INRS, Vandoeuvre les Nancy, France

本発表は、職業ばく露の主な経路である吸入による毒性学的影響を調べるために、MWCNTを用いたラット鼻のみの亜急性吸入試験の結果を報告したものである。

- 実験プロトコル;
 - 試験材料: NM-401 (MMAD; 790nm)、NM-403 (MMAD; 1940nm)

- 試験動物:ラット
 - エアロゾル濃度:0.5 および 1.5mg / m³
 - ばく露条件:2×3 時間/日、5 日間/1 週間、4 週間。その後、短期間(3 日、30 日)と、長期間(90 日、180 日)後に組織採取。転写分析実施。
 - 遺伝子発現プロファイル:Agilent 技術を用いた転写物実験によって行い、データは GeneSpring ソフトウェアで分析した。
- 結果;
- 観察された CNT によるばく露終了後の炎症反応の誘発に従って、いくつかのケモカインおよび炎症に関与する他の因子をコードする遺伝子の調節が観察された。
 - 炎症応答を誘導しなかった最低用量の NM-401 でさえ、遺伝子発現を調節した。
 - 遺伝子発現プロファイル:3 日後の NM401 と NM403 の遺伝子発現は図 3.2-14 のようであり、NM-403 の遺伝子発現はクラスタリングに対して十分な遺伝子がなかった。

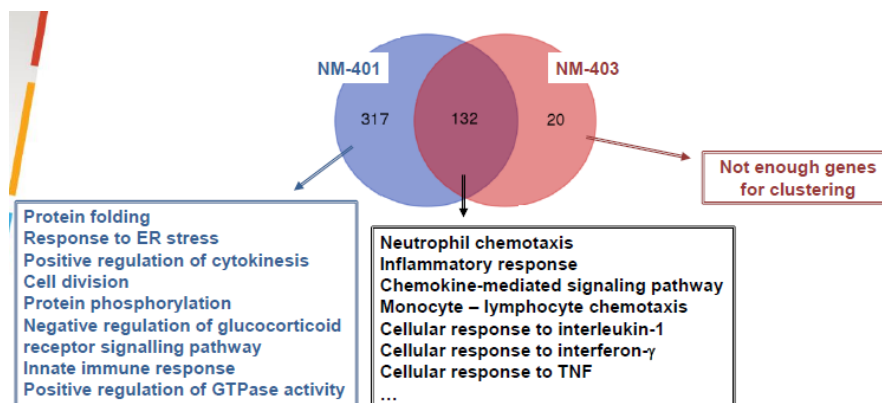


図 3.2-14 3 日後の遺伝子発現プロファイル

- NM-401 の長期/短期影響は図 3.2-15 のようであり、遺伝子発現は短期 > 長期、であった。

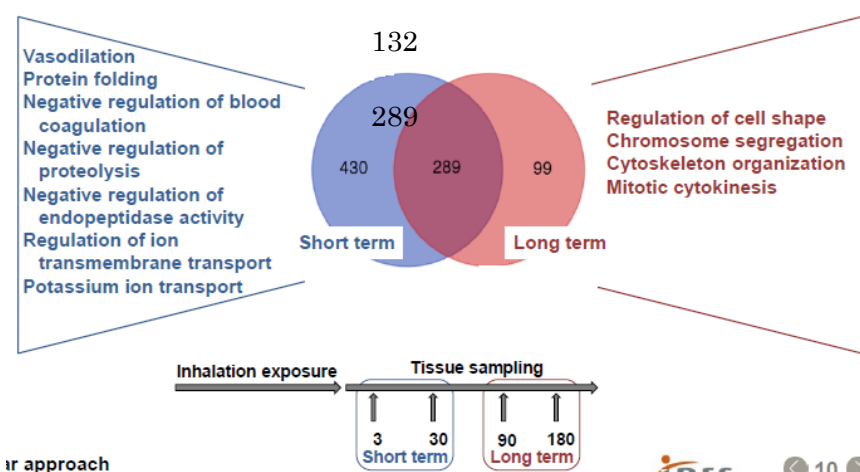


図 3.2-15 短期と長期の遺伝子発現の影響 (NM-401)

- 結論;
 - 3日後の NM401/403:
 - ✓ どちらも調節された遺伝子発現で、炎症反応を伴った。
 - ✓ 両方の CNT が、炎症応答に関与する遺伝子の発現を調節した。
 - ✓ NM401:タンパク質の折り畳み、細胞分裂、タンパク質リン酸化、が観察された。
 - ✓ NM-403:一部の遺伝子はクラスター化されなかった。
 - NM-401 の短期と長期の影響:
 - ✓ NM-401 は、低用量でさえ、ばく露期間の終了後 3 日から 180 日までの炎症応答に関与する遺伝子の発現を調節した。
 - ✓ 短期影響:血管拡張、タンパク質折り畳み、イオン輸送。
 - ✓ 長期影響:細胞サイクルの促進、細胞骨格構成。
 - まとめ:
 - ✓ NM-403 をばく露したラット肺における短期および長期の影響による遺伝子発現プロファイルを比較した。長期間に特異的に調節される遺伝子のさらなる解析が必要である。

(キ) Session11: Lung Exposure and Beyond

(i) **Nanomaterial dosimetry in inhalation toxicology: Bridging the gaps between *in-vitro* and *in-vivo* models as well as real world exposure**

- 講演者:Otmar Schmid
- 所属機関 : Comprehensive Pneumology Center, 81377 Munich, Germany; Helmholtz Zentrum Munchen, 85764 Neuherberg / Munich, Germany

本発表は、28 日間の肺炎症から健康への悪影響の予測可能性について検討した結果を報告したものである。

- 実験の背景
 - ばく露レベル:これまで一般的に行われてきたばく露レベルの設定は、動物／細胞モデルからばく露レベルを決定し、設定したばく露レベルでの送達濃度を確認することで、組織に送達された用量－反応関係を調査していた。送達濃度は、モデルから得られたばく露レベルから、エアロゾルサイズでの分布・組成により変化する。また、送達濃度は、組織に投与される濃度と関連性がある。そこで、組織に送達された用量－反応関係からは、組織送達用量[用量／cm²－組織]と毒性反応／健康影響との関係を確認することができ、得られた毒性反応／健康影響から、モデル生物における最大許容組織特異用量である NOAEL／LOAEL が算出される。この NOAEL／LOAEL からヒト健康における NOAEL／LOAEL を推定し、この値を基に、ヒトでのばく露レベルが計算される。しかし、ここで算出されるばく露レベルは、最初にモデルから算出される

ばく露レベルとは一致しない。

- *In vitro*での粒子導体は、細胞投与量に影響する。
- ナノ毒性試験に関する粒子濃度測定には根本的な欠陥がある。1 つは、重要な組織送達用量の測定は、ほとんど無視されている。2 つ目は、組織送達用量のパラダイムは、投与割合を含めるように拡大されなければならいかもしれない。
- 表面積は、*In vitro* 用量測定と最も関連性が高い。生存率と表面積は反比例の関係を示す。
- 組織送達線量を、例えば直接的に測定することができない場合、誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)または水晶振動子微量天秤(QCM)実効密度アプローチを用いた非球形の粒子形状効果のための信頼性のある組織線量推定のために、公的に利用可能な肺播種/粒子動態モデルを使用すべきである。
- 実験概要: ENM の用量制御されたインビトロおよびインビボ試験のための様々な方法を、組織送達用量に特に重点を置いて検討した。ラットの *in vivo* での慢性吸入試験では、難溶解性粒子を用い、毒性開始用量と現実世界での粒子負荷をばく露種類別に調べた。
- 結果; 実験条件別の結果は以下表のとおりであった。

実験種類	投与方法	観察結果	濃度
【<i>In vivo</i>】			
Acute	点滴/注射	PMN (多形核好中球) influx at 1d	0.02 cm ² /cm ²
Sub acute	点滴/注射	PMN influx at 28 d	1 cm ² /cm ²
chronic	吸入	腫瘍の拡大	1 cm ² /cm ²
【<i>In vitro</i>】	—	IL-8 遺伝子発現 WST-1	-1~10 cm ² /cm ²

- 結論: 現在観察されているインビトロおよびインビボの用量-反応曲線は、現在使用されている肺のインビトロモデルにおいて驚くほど高い組織用量が毒性を誘発することが必要であることを明らかにする現実のばく露シナリオでの視点に置かれる。これらのギャップを橋渡しする可能性は、より多くの生体模倣的および臨床的に関連する肺のモデルの使用、および現実的なばく露シナリオの間に遭遇する生理学的用量の理解におそらく関係している。

(ii) **Translocation and fate of inhaled gold nanoparticles in mice and man**

- 講演者: Jennifer Raftis
- 所属機関: University of Edinburgh., Edinburgh, United Kingdom

本発表は、金ナノ粒子へのばく露後の挙動について研究した結果を報告したものである。

- 背景・目的: 吸入された燃焼由来のナノ粒子は、心血管疾患と関連している。肺ばく露と心血管効果を結ぶ経路は不明なままである。吸入されたナノ粒子は肺から人の血液に移行するのか、という根本的な疑問が残る。本研究では、金ナノ粒子が肺から血液に移行し、血管病変の発生部位に蓄積するかどうかを調べることを目的とした。

- 実験;
 - ナノ材料: 金ナノ粒子。1 次粒径 3.8nm。平均空気力学的直径 18nm。金ナノ粒子を用いた理由は、排気ガス中の粒子サイズが類似していること、大部分が不活性であること、非常に低レベルまで測定可能な特殊な技術があること、体内の金の濃度が非常に低いこと、ということである。
 - ヒトでの実験: 14 人の健康な男性に、運動中に 2 時間、金ナノ粒子を吸入ばく露。血液サンプルを、15 分~24 時間、3 か月後、に採取。24 時間の全尿を収集。
 - マウスでの実験: western diet マウスに、生理食塩水を対照群として、金ナノ粒子を吸入させた。
- 結果;
 - ヒトでの実験:
 - ✓ 金は、ばく露から 15 分後に最初に血液中に検出され、その後 6 時間にわたってゆっくりと増加した。24 時間までに、すべての被験者の血中に、金を検出することができた。
 - ✓ 尿中にも金が検出され、これがナノ粒子が身体から排除された方法の 1 つであることが示唆された。
 - ✓ 3 ヶ月後でも、血液や尿中に金が検出され、これらの粒子が長時間体内に留まっていることが示唆された。
 - ✓ 血中及び尿中の金濃度は、吸入したナノ粒子のサイズが小さいほど高くなった。

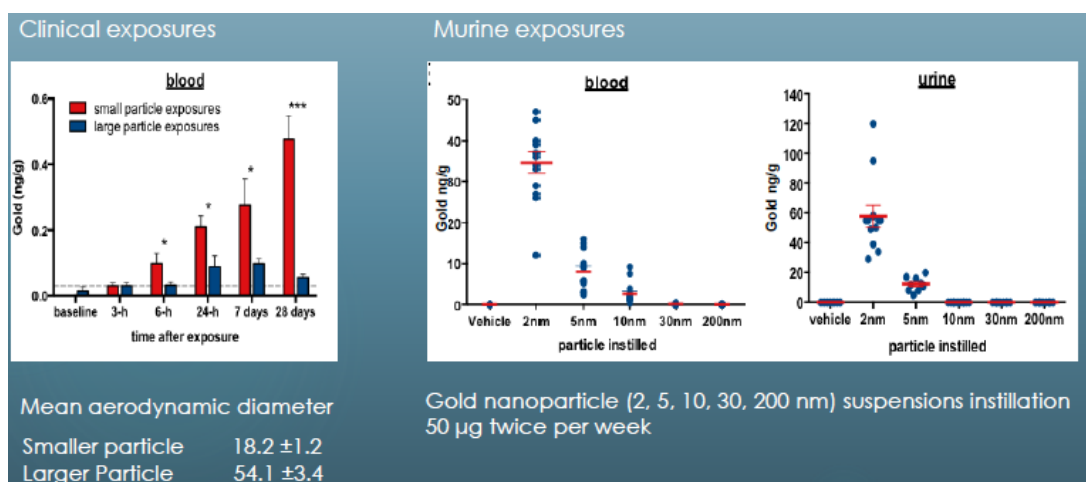


図 3.2-16 血中及び尿中で検出された金ナノ粒子のサイズ分布

- マウスでの実験:
 - ✓ 金ナノ粒子(2~200nm)のより広いサイズ範囲への肺ばく露後の血液および肝臓における蓄積を実証し、10nm 未満の粒子の転位がより大きかった。
 - ✓ 高脂肪摂食アポリポタンパク質-E 欠損マウスでは、病変発生に関連する脈管構造の領域において、より高い濃度で金ナノ粒子が検出された。

- ✓ 外科手術 24 時間前に金ナノ粒子を吸入した内膜切除患者から切除された頸動脈病変において、ラマン分光法を用いて金が検出された。

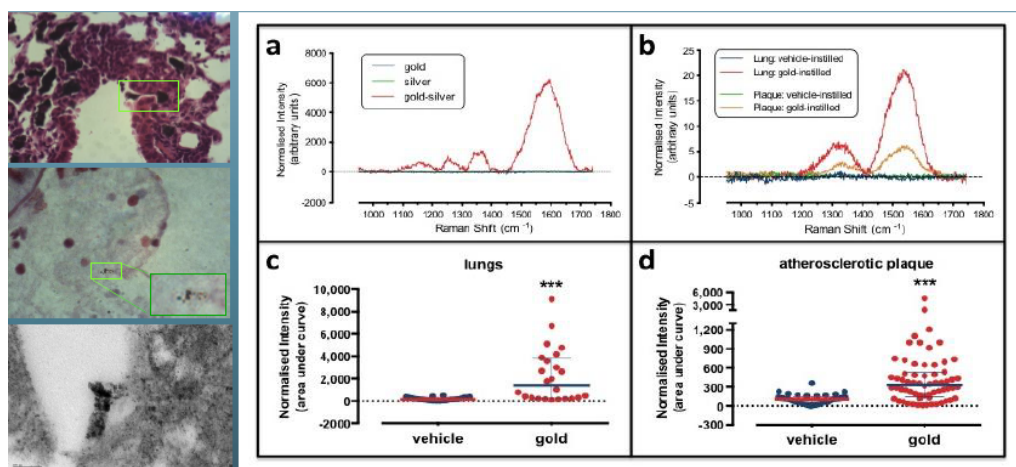


図 3.2-17 マウス組織での金の検出状況

- 金ナノ粒子の、ヒトでの血管疾患領域への蓄積の検討: 包含基準を“CEA を受けるために頸動脈狭窄を有する患者”、除外基準を“最新のボディピアスまたは金歯充填の歴史”、“貿易によるジュエラー”、“研究要件への遵守を制限する精神病/社会的状況”、“新しい脳卒中とランキンスコアが 3 以上の患者”、“妊娠中の女性”、“研究への参加が手術を遅らせる結果となる”、“元素金または金を含む分子に起因するアレルギー反応の歴史”と設定すると、金ナノ粒子は、ヒトの血液疾患領域に蓄積することが確認できた。

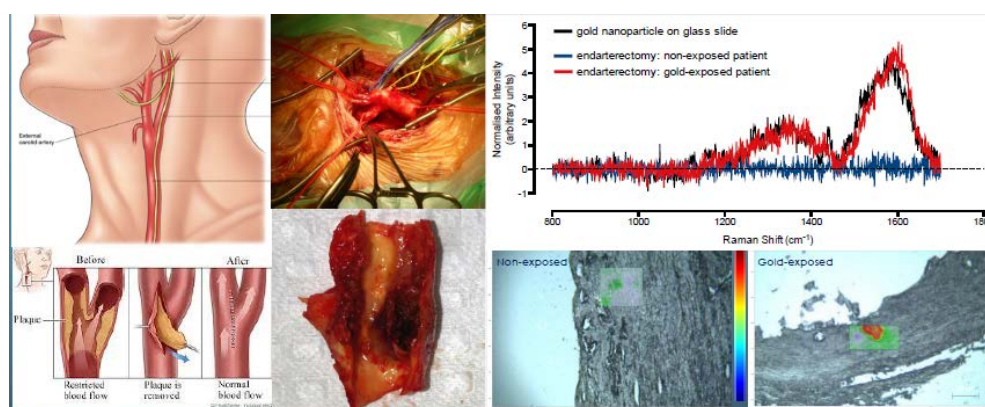


図 3.2-18 ヒトの血液疾患領域への金ナノ粒子の蓄積

- まとめ;
 - マウスへの金ナノ粒子吸入後、15 分～24 時間以内に、血液中と尿中に金ナノ粒子が検出された。
 - 移行は、30nm 粒子と比較して 5nm 粒子(一次粒子)の吸入後に検出された金のレベ

ルがより高かった。

- マウス研究から、サイズ依存性移行が直径<10nm の粒子について顕著に大きな移行を伴って確認された。
- 金ナノ粒子は、脈管構造の非罹患領域とは対照的に ApoE - / - マウスの炎症性血管病変に優先的に蓄積した。吸入後、脳卒中リスクのある患者の頸動脈疾患の外科標本において金粒子が検出された。
- 吸入されたナノ粒子の全身循環への移行と血管炎症部位への集積は、環境ナノ粒子と心臓血管疾患との間に直接的な機械的関係をもたらし、人工ナノ材料の使用におけるリスク管理に大きな影響を及ぼす。
- 結論:吸入されたナノ粒子の移動および血管炎症部位における蓄積は、環境ナノ粒子と心臓血管疾患との間の関係を説明することができる直接的なメカニズムを提供する。疾患部位でナノ粒子がどのように移行および蓄積するかをより深く理解することは、環境および人工ナノ粒子両方のリスク評価にとって最も重要である。

(ク) Session 13: Nanotoxicology

(i) Toxicity of different types of layered silicates

- 講演者: Krystyna Maciaszek
- 所属機関: Heriot-Watt University, Edinburgh, United Kingdom

本発表は、シリカナノ粒子の種類の違いによる細胞への影響を調べた結果を報告したものである。

- 背景:層状ケイ酸塩(例えば粘土)の非常に魅力的な特性から、シリカナノ粒子は広範囲の用途で利用されているが、ヒトの健康に対する潜在的な毒物学的影響は十分に調査されていない。層状ケイ酸塩に関する健康上の懸念は、(i) ナノスケールサイズ、(ii) 高アスペクト比(約 1nm の厚さおよび数ミクロンまでの長さおよび/または幅)及び(iii) 化学組成、があげられる。
- SiO₂ の種類;

種類	流体力学的サイズ[nm]	
	T=0	T=24 時間
S-ヘクトライト (SLS)	88±0.43	77±0.6
N-ヘクトライト (NLS)	318±13	325±2

- 実験方法:24 時間のばく露後に、マウス単球マクロファージ細胞株 (J774A.1) およびヒト初代マクロファージを用いた *in vitro* 毒物学的研究により、広範囲の合成層状ケイ酸塩 (SLS) および天然層状ケイ酸塩 (NLS) の潜在的危険性を調べた。細胞毒性、サイトカインの分泌および SLS および NLS 粒子の細胞形態への影響などの異なる終点を調べた。試験された粒子のパネルは、大きさ、電荷、化学組成などの異なる物理化学的性質において変化する

SLS および NLS からなる。

- 結果;細胞毒性:
 - J774 細胞(マウス由来マクロファージ細胞)では、NLS のほうが SLS よりも大きな細胞毒性を引き起こした。
- 結果;TNF(腫瘍壊死因子)- α 分泌:
 - J774 細胞の TNF- α 分泌は、SLS あるいは NLS の濃度が増加するにつれて増加した。
 - J774 細胞の TNF- α 分泌は、同じ濃度では、SLS よりも NLS のほうが大きかった。
 - ヒト 1 次 MDM(ヒト単球由来マクロファージ)は、24 時間後に細胞を取り込んだ。
 - J774 細胞も、24 時間後に細胞を取り込んだ。
 - 細胞形態に関して、J774 細胞は、細胞空胞化が確認された。
- まとめ;
 - J774 細胞(マウス由来マクロファージ細胞)では、NLS のほうが SLS よりも大きな細胞毒性を引き起こした。NLS は、J774 細胞で、高いレベルの前炎症反応を引き起こした。
 - NLS および SLS のすべてのタイプは、用量依存的な細胞毒性効果および炎症促進性サイトカインの分泌を誘発したが、誘発される程度は層状ケイ酸塩のタイプによって異なった。
 - 光学顕微鏡、SEM および TEM 検査により、層状ケイ酸塩でのマクロファージの処理が、広範囲の空胞の形成を引き起こすことが明らかになった。
 - バキューム形成および液胞サイズ分布は、時間および用量の両方に依存した。
 - これらの結果は、SLS および NLS のマクロファージ毒性を介したヒトの健康への潜在的危険性を示している。

(ii) **Nanoparticles and persistent virus infection – a dangerous liaison for the development of chronic lung disease (s) ?**

- 講演者:Tobias Stoeger
- 所属機関:Helmholtz Zentrum München, Comprehensive Pneumology Center, Institute of Lung Biology and Disease, Munich, Germany

本発表は、ヘルペスウイルスと肺疾患について研究した結果を報告したものである。

- 背景と目的:周囲ナノ粒子(NP)の吸入および持続性ヘルペスウイルス感染の両方が、慢性肺疾患の発症に寄与することが示唆されている。本研究では、潜在的ウイルス感染中の NP ばく露が抗ウイルス免疫制御を妨げ、ウイルス再活性化を誘発するかどうか、を調べた。
- 仮定:ナノ粒子へのばく露が、ウイルス潜伏の制御を混乱させる可能性があり、ウイルスの再活性化を誘発する可能性がある。

- 実験;
 - ナノ材料:カーボンブラック(Printex90;Ptx90、14nm)、CNT(二層カーボンナノチューブ;DWCNT、4nm×1-10µm)
 - 一過性の炎症は、二重壁カーボンナノチューブ(CNT)ではなく球状 NP(CNP)にばく露した際に生じたことから、ネズミガンヘルペスウイルス 68(MHV-68)モデル系を用いて、潜在的に感染した細胞系を用いたインビトロ研究およびマウスを用いたインビボ研究を行った。MH-S 細胞(マウス)を MHV-68 に感染させた。
 - MH-S 細胞を用いた肺胞マクロファージ細胞株試験:MH-S 細胞を MHV-68 で一晚感染させ、50µg/ml の NP で処理し、さらに 2 時間培養。遊離溶解ウイルスは、クエン酸緩衝液(pH = 3.0)との培養により不活性化。指標細胞上にプレーティングした後、細胞変性効果(CPE)の量を決定。感染細胞のゲノム負荷に対して標準化した相対値として示した。
 - ウイルス再活性化に対する NP の影響実験:細胞は S11(潜伏性 MHV-68 感染 B 細胞リンパ腫株)と ANA-1/MHV-68(BMDM/マクロファージ系、潜在的に MHV-68 感染)を用いた。潜伏感染細胞を、50µgNP に 72 時間ばく露。上清中の溶菌性ウイルスの量の決定(プラークアッセイ)と、RT-PCR によるウイルス遺伝子発現の分析(ORF50 =溶菌対 ORF73 =溶菌および潜伏)、を実施。
 - TiO₂ NP または DEP への持続感染細胞のばく露は、*in vitro* でのウイルス再活性化に異なる効果を有することを確認する実験:S11 および ANA-1 / MHV-68 細胞を 50µg/ml の TiO₂ NP または DEP と共に培養し、72 時間後にプラークアッセイによって上清中に溶解ウイルスを決定(パネル a および b)。ORF50 / ORF73 比(パネル c および d)として示されるウイルス遺伝子 ORF50(溶解相に特異的)及び ORF73(溶解相および潜伏相中に発現される)の発現を、S11 および ANA-1 / MHV-68 細胞に NP をばく露後 72 時間後に、RT-PCR によって分析。未処理細胞の値を「1」とし、NP 処理後の細胞の値を対照と比較して算出。示されたデータは、3 つの独立した実験からの平均+ SD とした。アスタリスクは、未処置コントロール(*:P <0.05)と統計的に有意な差を示す。
 - *In vivo* 試験:マウスに MVH-68 を用いて鼻腔内感染後、28 日間待機。DWCNT または Ptx90 を 50µg 注入。24 時間後に、肺組織を回収して分析。
- 結果(*in vitro* マウス細胞);
 - マウス細胞:*in vitro* 実験で、96 時間までばく露したところ、約 50µg/ml の投与で NP の細胞毒性はごくわずかであった。
 - NP 細胞は AM(肺胞マクロファージ)細胞株において溶解性の MHV-68 複製を増強した。
 - インビトロにおけるウイルス再活性化に対する NP の影響:図 3.2-19

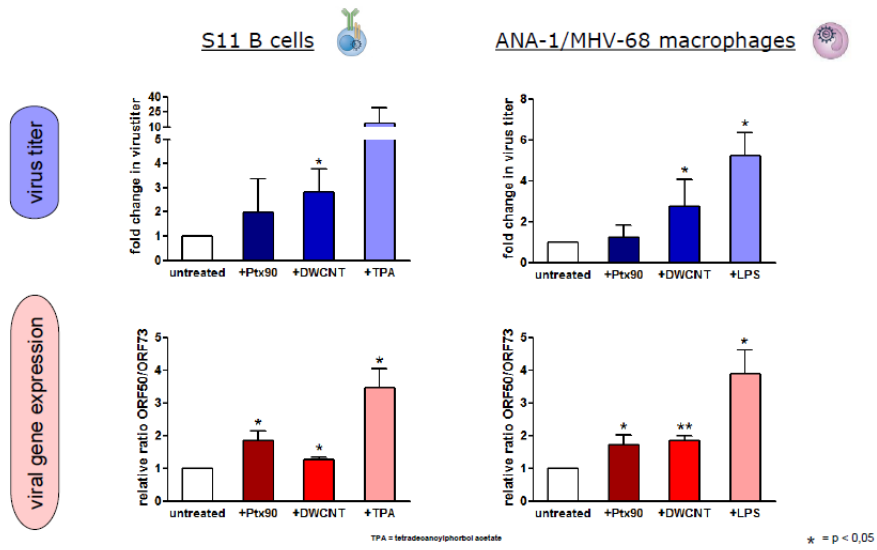


図 3.2-19 インビトロにおけるウイルス再活性化に対する NP の影響

➤ TiO₂ NP または DEP への持続感染細胞のばく露: 図 3.2-20

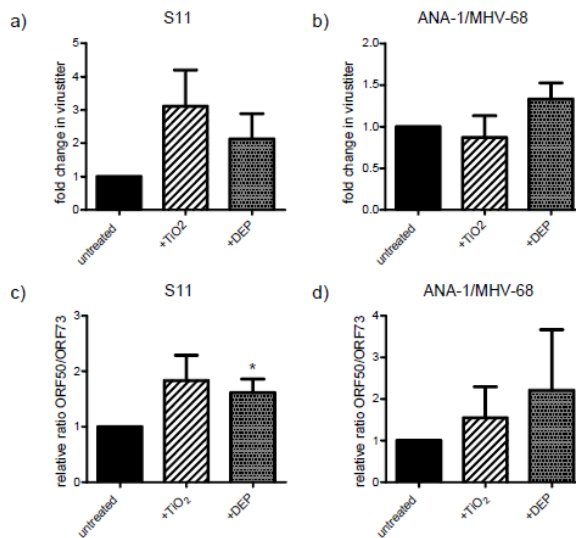


図 3.2-20 TiO₂ NP または DEP への持続感染細胞のばく露結果

- 潜伏感染した細胞または動物のナノ粒子へのばく露は、潜伏的ウイルスを再活性化し、しばしば急性ウイルス感染を回復させる可能性がある。これは、特に慢性肺炎症を患う個体に重要である可能性がある。
- 結果 (*in vitro* ヒト細胞);
 - ヒト細胞におけるウイルス再活性化: 図 3.2-21

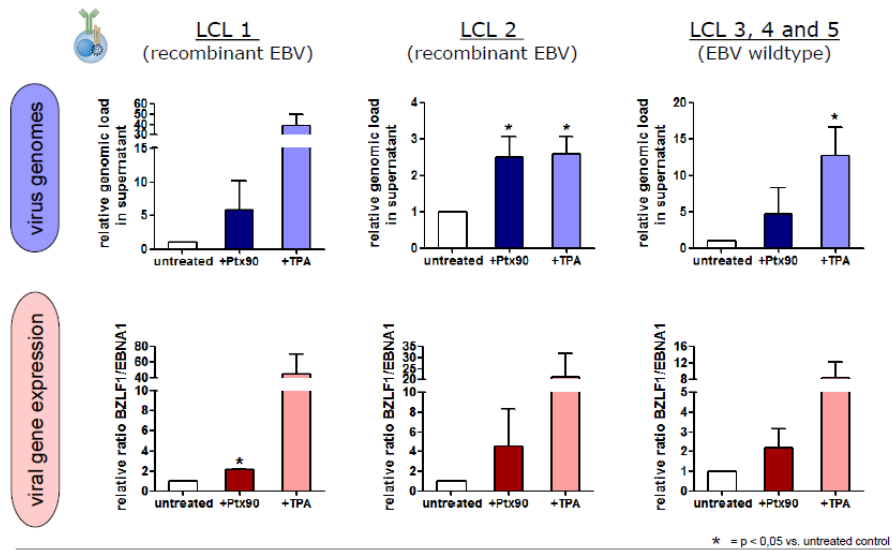


図 3.2-21 *in vitro* ヒト細胞におけるウイルス再活性化試験の結果

● 結果 (*in vivo*);

- 組織学的結果: 溶解相の MHV-68 タンパク質に対する IHC 染色を確認。

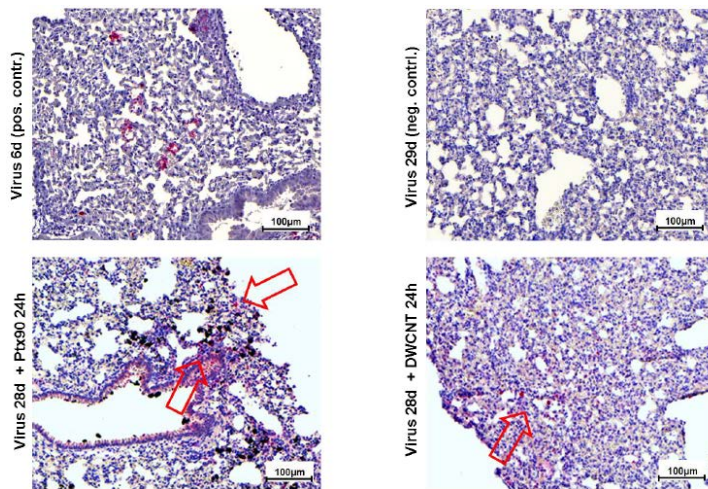


図 3.2-22 マウス組織学的結果

- トランスクリプトーム解析: 急性感染(ウイルス 6d)と潜伏性ウイルス+ NP との間に調節された遺伝子の重複が確認された。

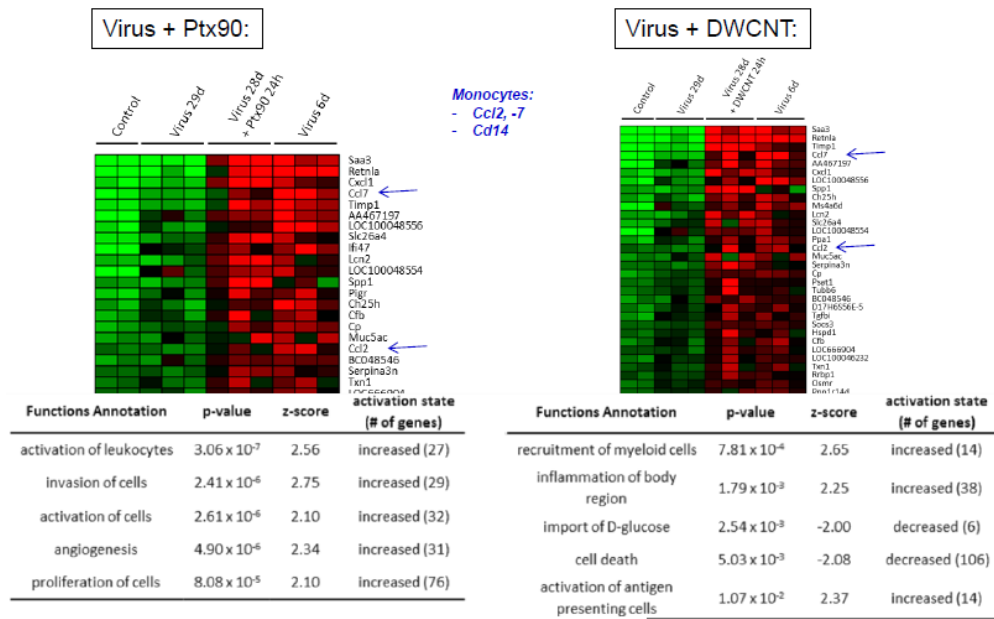


図 3.2-23 トランスクリプトーム解析結果

➤ ICR-FT MS によるメタボローム解析: CNP ばく露後の潜伏感染マウスの肺において、リン脂質の濃縮が確認された。

● まとめ;

- 潜伏感染細胞(マウスまたはヒト)の NP による処理により、ウイルストランスアクチベーター遺伝子(ORF50 または BZLF1)の発現を誘発した。また、感染性ウイルスまたはウイルスゲノムの量を増加させた。
- NP への潜伏感染マウスのばく露により、溶解性ウイルスタンパク質(単球/マクロファージ)の産生を増強した。また、急性感染と実質的に類似したトランスクリプトームのサインを導いた。さらに、急性感染中のものと同様の代謝物組成物が生成された。
- 潜伏感染細胞(マウスまたはヒト)の NP による処理により、ウイルストランスアクチベーター遺伝子(ORF50 または BZLF1)の発現が誘発された。また、感染性ウイルスまたはウイルスゲノムの量が増加した。このことは、潜伏感染した細胞または動物の NP へのばく露は潜伏性ウイルスを再活性化し、急性ウイルス感染の特徴を回復させることを示している。急性感染中のものと同様の代謝物組成物を生成した。

(iii) **Nanomaterial-induced Pulmonary Acute Phase Response Constitutes a Casual Link between Inhalation of Nanomaterials and Risk of Cardiovascular Disease**

- 講演者: Ulla Vogel
- 所属機関: National Research Centre for the Working Environment, Copenhagen, Denmark

本発表は、急性期タンパク質 CRP と SAA は、CDC (補体依存性細胞傷害; Complement-Dependent Cytotoxicity) のリスクと関係するか、を既存の研究結果に基づき検討した結果を報告したものである。

- 背景: 粒子の吸入は、疫学研究における心血管疾患のリスク増加と関連している。ナノ物質の吸入は、吸入されたナノ物質の総表面積に比例する肺の炎症を誘発することが知られている。安全設計に関する規制を行うために、ナノマテリアルについては、グルーピングとランキングが行われている。講演者らは、最近、カーボンブラック、二酸化チタン粒子、カーボンナノチューブおよびディーゼル排気粒子を含むナノ材料への肺へのばく露が、mRNA およびタンパク質レベルの両方で時間および用量依存性の急性期応答を誘導することを示した。急性期反応は全身性のアラーム反応であり、急性期タンパク質 CRP および SAA の血中レベルは、将来の疫学研究において心血管疾患のリスクと関連している。マウスでは、ナノマテリアルへの用量依存による肺急性期反応が、ディーゼル排ガス粒子やバイオ燃料ダストなどで観察されている。
- 既存研究結果;
 - AOP に関してサポートする証拠がある。
 - 前炎症性サイトカイン及び急性期タンパク質レベルは、気道に続いて肺組織で増加する。
 - Saa3 mRNA レベルと好中球の流入との間には密接な相関がある。
 - 肺沈着表面積 (lung deposited surface area; LDSA) も肺の Saa3 発現を予測する。
 - 肺の Saa3 mRNA レベルと好中球流入は、マウスの SAA3 の血漿レベルの予測因子である。
 - 肺に投与された Saa1 は、ADOE -/マウスにおいてプラークの発達を促進する。
 - 吸入粒子が、肺急性期反応を引き起こす。
 - ヒトでの証拠として、Madsen et al., 2016 や Li et al., 2015 がある。
 - サポートする証拠として、CNTs が強い炎症反応に並行して、強い肺急性期反応を誘発するほか、CNTs はアスベスト様特性を示し、アスベストも CNTs 様特性を有する。
- まとめ: 気道への輸送由来粒子へのばく露が、マウスで肺急性期応答を引き起こす。Saa3 mRNA レベルとして測定される肺急性期応答は、好中球の流入と沈着したナノ材料の全表面積と密接に相関する。これは、ナノサイズの粒子の吸入が、より大きな粒子の吸入よりも質量単位当たりのはるかに強い急性期応答を誘発し、付随する心血管疾患のリスクは、付着した全表面積に比例することを意味する。これは、特にナノ粒子特異的な職業ばく露レベルの検討に関連し、心血管疾患の危険因子としての職業ばく露の重要性を強調している。

(3) Nanosafety2017

1) 概要

- 期間:2017年10月11日～13日
- 場所:ザールブリュッケン(ドイツ)ザールブリュッケン城

Nanosafety2017 はドイツ ライプニッツ研究所アライアンス ナノセーフティーの主催で行われた。このアライアンスでは、ナノマテリアルとナノ製品に関する安全性とセキュリティの問題を扱っており、中心的な目的はナノ粒子に起因する効果を理解し、安全なナノ材料を開発し、ナノ関連の問題を説明することです。アライアンスには、材料科学、健康と毒物学、気圧学、労働安全衛生、科学的データベースと知識コミュニケーションを研究する6つの研究所からなる協会である。

本コンファレンスでは、設計上の安全、神経毒性、ナノマテリアルの効果とメカニズム、ナノオブジェクトの定量化と検出、規制上の問題と長期的な研究、環境ばく露経路に関する研究報告があった。

参加者は80人程度で、ザールブリュッケン城の会議場で3日間にかけて行われた。各発表に対して活発な議論が行われた。セッションは、表3.2-5に示したように全部で6から構成された。

表3.2-5から本調査と関連性が高く、興味深い研究発表について、以下概略を報告する。

表 3.2-5 Nanosafety2017 セッション一覧

セッションNo.	表題	座長
SESSION 1	Environmental Exposure Pathways	Christoph van Thriel
SESSION 2	Safe by Design	Annette Kraegeloh
SESSION 3	Regulatory Issues and Long Term Effects	Heinz Fehrenbach
SESSION 4.1	Quantification and Detection of Nanoobjects	Annette Kraegeloh
SESSION 4.2	Quantification and Detection of Nanoobjects	Eduard Arzt
SESSION 4.3	Quantification and Detection of Nanoobjects	Annette Kraegeloh
SESSION 5.1	Neurotoxicity	Klaus Unfried
SESSION 5.2	Neurotoxicity	Christoph van Thriel
SESSION 6.1	Nanomaterials: Effects and Mechanisms	Heinz Fehrenbach
SESSION 6.2	Nanomaterials: Effects and Mechanisms	Klaus Unfried

2) 発表内容

(ア) Session 3: Regulatory Issues and Long Term Effects

(i) **Risk, Regulation and Responsible Innovation**

- 講演者: Maurice Brennan
- 所属機関: University of Birmingham, UK

本発表は、EUでの規制評価とリスクマネジメントに関するものである。

EUの戦略的、科学的、規制上の枠組みをナノ物質のために採用することは、人や環境の健康と安全を保護する上で重要な役割を担っている。「イノベーションプロセスの中心に責任ある研究

とイノベーションを設定するという政策(RRI)の推進で、より望ましい将来であろうとも、ナノ革命の全面的な利益を実現することは、EU内で野心的なものである。このプレゼンテーションは、EUのリスクガバナンスの方針と手段が、ナノマテリアルの安全で責任ある発展のための戦略的目標をどの程度達成したかに挑戦している。結果は、上記の戦略目標を達成するための進展と欧州委員会(EC)ナノマテリアルリスクガバナンス戦略に示された重要な目的について、部門横断的な専門家の評価を評価するために実施された定性的研究から提示される。主要な知見は、EUの水平的化学物質安全規制とリスク評価試験プロトコルでナノ特異性が欠如しているため、現在ナノ物質が規制境界を超えていることを示している。RRIの分野横断的な認識がある一方、その解釈上の柔軟性は、責任あるイノベーションのコンセプトの実施が、効果的な業界の参画、特に中小企業の参画がみられない兆候がと一致しないことを意味する。その結果、ECの戦略目標と目標はまだ満たされていないと評価される。しかし、緊急の科学的リスクアセスメントプロトコルが規制試験制度を支えるためにナノ特異性を提供することができる道標があり、設計プロセスのコンセプトによるECの推進は、ナノ材料のイノベーションバリューチェーン内でRRIを運用することができる。

- 結論:
 - ECの戦略的目標は達成されていない。
 - REACHはナノマテリアルに適用されておらず、ナノ特有の試験法も出現していない。
 - 毒物学のテストに対する新たな対応策が一つの回答として促進されているが、「実証という概念」が欠けている。
 - RRIは今やEU中央の政策手段として公式に支持されているが、運用する方法に欠ける。
 - 設計による安全は、RRIを「安全な」ナノマテリアルを製造するためのイノベーションペースに統合するためのリンクを提供する可能性がある。
 - 設計による安全は産業と規制安全の意思決定の土台と成りうる。

(ii) **European Standardization in Nanotechnologies and Relation with International Work. How Standardization Can Help Industry and Regulators in Developing Safe Products?**

- 講演者: Patrice Conner
- 所属機関: AFNOR, La Plaine Saint-Denis, France

ナノ技術は、責任ある持続可能な方法で人間の繁栄に貢献する巨大な可能性を秘めている科学技術、技術革新の分野を急速に発展させている。技術を可能にするため、アプリケーションの全範囲が潜在的に非常に広い。主な意味合いは、多くの分野で期待されている。エネルギー生産と貯蔵、材料科学/化学工学、製造、環境保護、消費者製品などが含まれますが、これらに関連する社会的および倫理的問題が適切に行われなければ、ナノテクノロジーはその潜在力を十分に発揮することはできない。つまり、ナノテクノロジーやナノ粒子は、ヒトや環境に新たな健康リスクをもたら

し、おそらくは人間や環境種の生理との干渉のメカニズムがかなり異なる可能性がある。

「安全で統合された責任ある」アプローチまたは「安全な設計による」アプローチの構築物の 1 つは、標準化である。経済社会委員会と欧州議会は共に、ナノテクノロジー市場とナノマテリアルの市場導入に伴う標準化と、規制の実施を促進する手段としての標準化に付随する重要性を強調した。ISO および CEN は、2005 年および 2006 年に、この新興かつ可能性のある技術に関連する選択されたテーマに対処を開始した。

2010 年の初めに、EC DG「企業と産業」(現 EC DG 成長、国内市場、産業、起業家精神および中小企業)は、ナノテクノロジーおよびナノマテリアルに関する標準化活動のために CEN、CENELEC および ETSI に M / 461 を任命した。このように、CEN / TC 352「ナノテクノロジー」は、M / 461 (標準化されるべき 46 のトピック)の実施における調整のためのリーダーシップをとり、適切な欧州および国際技術委員会および関係するステークホルダーに連絡するよう求められている同定された)。M / 461 の事前の要請は、ナノマテリアルの特性評価およびばく露、ならびに健康、安全および環境に関連する事項を扱う。

(iii) **Nano Valid: Developing Reference Methods for Risk Assessment of Engineered Nanomaterials**

- 講演者: Rudolf Reuther
- 所属機関: NordMiljö AB, Arvika, Sweden

工業化されたナノ材料(EN)の生産と製品化の成長は、これら新規物質への人間と環境のばく露を増加させる。これらの大きな革新の可能性は、ナノスケール(1~100nm)で起こる基本的に新しい特性にあり、生物学および環境的挙動において観察される変化を引き起こす可能性がある。世界中の激しい研究の10年にもかかわらず、ENが生態系システムに入るときに何が起こっているのかについての明確で一貫した認識が未だ不十分である。これは、従来の化学物質用に開発された電流測定および試験ツールが、粒子サイズ依存特性および関連する可能性のある影響を反映しないことが多いからである。得られたデータの不確実性は、既存の材料および知識のデータベースとを改善するのに役立つ有効な方法の開発、ナノ粒子と生体系との相互作用を制御する重要な物質特性およびメカニズムに関する現在の理解を深めるのに有用であり得、ENに規制上のリスクアプローチを適用することに役立つ有効な方法を開発することを至急必要であることを提唱している。

Nano Valid は、大きさに関連する特性、危険性および EN のばく露を信頼性をもって特徴付けるために必要とされる検証された参照方法および材料の開発に完全に専念した最初のヨーロッパの「旗艦」プロジェクトであった。業界および規制機関のリスクアセスメント担当者がナノマテリアルから生じる可能性のあるリスクを認識し管理できるようにする、厳密に検証された標準操作手順(SOP)や認定基準資料(CRM)など、Nano Valid は、人間や自然界におけるこれらの新物質の挙動に関する膨大な数の新しい科学的知見を生み出した。重要な用量・反応関係、毒性(有害

な)経路およびエンドポイント、ならびに様々なライフサイクル段階に沿った生物学的システムにおけるナノ粒子の放出、分布、バイオアベイラビリティおよび取り込みを支配するプロセスに関する新しい洞察が得られた。

これらの新しい科学的知見に基づいて、Nano Valid はまた、実用的で商業的に利用可能なサンプリング、測定および試験装置を新たに生み出しました。特に、浮遊粒子の物理的および生物学的分析検査と新しいホットガスナノサンプラーとを組み合わせた新規のオンライン露光装置が開発されている。CEN / TC 352 "ナノテクノロジー"、ISO / TC 229 "ナノテクノロジー"、ISO / TC 24 / SC 4 "粒子などの標準化活動には、CEN や ISO などの標準化団体と協力して、メソッド標準化のための新しい作業項目 (NWI) を提案することによって、「特徴付け」を行う。プロジェクトのもう一つのハイライトで直接的な実績は、ナノ物質の安全な取り扱いのためのガイダンス文書と訓練マニュアルの作成であった。これは、調査会社、機器メーカー、施工研究所などの小規模な産業で、労働安全衛生上のリスクを低減し、最小化する。

新しく開発された方法論、特にサイズ分布または表面電荷測定、分散制御、ラベリングおよびインビトロ/インビボ試験に関する標準操作手順は、他の関連プロジェクトで今後行われる方法バリエーションの取り組みを強化し、現在のリスクおよびライフサイクルアセスメントツールのパフォーマンスを改善し、それゆえに REACH などの関連する法律の施行を緊急に必要とする、信頼性の高いデータベースである。これらの検証された方法の使用は、重要なプロセス、材料の特性およびライフサイクルの段階を早期に特定し、安全なナノ材料の設計を促進し、最終的に人間または環境への害(「設計による安全」)を防止する助けとなる。

(iv) **Tuball™ Single Wall Carbon Nanotubes: Health, Safety & Environmental Issues**

- 講演者: Gunther van Kerckhove
- 所属機関: OCSiAl Europe S.a.r.l., Leudelange, Luxembourg

OCSiAl は、2009 年に世界規模で設立された。SWCNT の最初のメーカーは、2013 年から特許取得済みの拡張可能な製造プロセスを採用しており、2015 年以来、10 トン/年を製造する世界最大の SWCNT 製造者である。Tuball™ を含むさまざまな製品ラインは、@ OCSiAl またはそのパートナーが利用できる。0.02% (質量%) で始まる Tuball™ SWCNT の極端に低い負荷では、必要な電気伝導度を提供し、同時にこの Tuball™ 製品の機械的特性を保持することができる。

OCSiAl はまた、最大 10 トン単位の EU-REACH 登録を完了した最初の SWCNT メーカーである。Tuball™ は世界中で多くの関心を集めており、継続的にさまざまなアプリケーションで使用され、テストされている。OCSiAl が世界中の必要な規制および品質基準を確立しているのはこれ故である。

このプレゼンテーションの最初の部分は、Tuball™ 物質とその製品ラインの簡単な紹介を目的としている。プレゼンテーションの第 2 部は、進行中の登録の状況と計画の概要であり、3 番目と最後の部分では、Tuball™ 物質とさまざまなアプリケーションの健康、安全、環境の側面に焦点を当てる。SWCNT の製造元として、OCSiAl は、(新しい) Tuball 製品の理解を向上させ、ライフサイク

ル全体を通じて潜在的な危険を改善するための投資を継続しています。私たちは、追加のテストデータを作成し、業界団体やネットワークと協力して作業している。

このプレゼンテーションでは、当社のカーボンナノチューブ (SWCNT) の規制状況を成功裏に導入するために、H&S のリードマネージャー Van Kerckhove Gunther が講じているステップについて説明する。数多くの研究のための (将来の) 計画を概説し、異なる種類の組成物を含む当社の Tuball (商標) 物質の適格性を証明する。

(イ) Session 4: Quantification and Detection of Nanoobjects

(i) **Cryo Electron Tomography: Imaging Cells at the Nanoscale**

- 講演者: Wolfgang Baumeister
- 所属機関: Max Planck Institute of Biochemistry, Planegg, Germany

基調講演である。

伝統的に、構造生物学者は、単離され精製された分子成分を特徴づけることによって還元的に細胞の複雑性に近づいてきた。この「分裂と征服」アプローチは、PDB の驚くべき数のエントリーによって証明されているように、非常に成功している。しかしながら、近年、生物学的機能が個々の巨大分子に起因することは稀であるという認識が高まっている。ほとんどの細胞機能は、彼らが一斉に行動することから生じる。したがって、インサイチュで、すなわち摂動のない細胞環境において行われる研究を可能にする方法の開発が必要とされている。「構造生物学」という用語は、細胞環境が完全に保存されているシナリオにのみ適用されるべきである。クライオ電子トモグラフィーは、細胞の超分子構造または「分子社会学」を研究するユニークな可能性を秘めている。それは物理的に可能な最良の構造保存と 3 次元イメージングの力を組み合わせる。相関 LM / EM、集束イオンビームミリング (cryo FIB) または位相プレートイメージングなどの主要な方法開発について、構造生物学に対するこの還元的アプローチの潜在的な可能性を強調する用途と同様に議論された。

(ii) **Uptake Monitoring and Quantification of Nanomaterials at Single Cell Level by Means of Element- and Molecule Based Imaging and Dosimetric Techniques**

- 講演者: Irina Estrela-Lopis
- 所属機関: Institute of Medical Physics and Biophysics, University Leipzig, Germany
- 背景: 細胞および器官におけるナノ物質 (NM) の取り込み、局在および分布の程度および機構は、NM の新規製品の毒性およびリスク評価に関する主要な問題である。さらに、診断および治療目的のためのデバイスとしての NM の適用は、細胞とのそれらの相互作用のモニタリングを必要とする。したがって、ラベルフリーのイメージング技術が必要とされる。
- 実験方法: 原形質膜を横切る NM の転位は、インビトロでの癌培養細胞とエレメントおよび分子分析に基づくラベルフリーイメージング法 (図 3.2-33) を用いたインビボでばく露された

ラットの肺組織で研究された。プロトン誘導 X 線放射 (μ PIXE) およびラザフォード後方散乱 (μ RBS) の 2 つのイオンビーム技術を、細胞分析のためにライブチヒイオンナプローブ LIPSION で同時に使用した。インビトロでの NM 取り込みの結果を、インビボ予測と比較してインビトロデータの関連性を推定するためのツールを提供するインビボ研究と比較した。単細胞レベルでの NP 負荷による微量元素および微量元素の定量分析を行い、細胞性有害反応と関連させた。

さらに、共焦点ラマン顕微分光法 (CRM) を使用して、NM 亜細胞局在および細胞コンパートメントおよび生体分子との共局在を調べた。

- まとめ;ラベルフリーイメージング法はナノテクノロジー、ナノ薬剤、および診断において有力な手段である。
 - NM のサブミクロンオーダーでの生物学環境における 3D 可視化と共局在
 - 細胞内の薬剂量の定量化と NM ばく露に基づく新陳代謝に関連する要素
 - インビトロとインビボの妥当性:細胞内の効果的薬剂量の知識に基づくインビトロとインビボの毒性効果の比較
 - ハイコンテンツスクリーニング手法としての CRM
 - ✓ スペクトル組織学への展開
 - ✓ NM または病気によりもたらされる悪影響の診断および予測

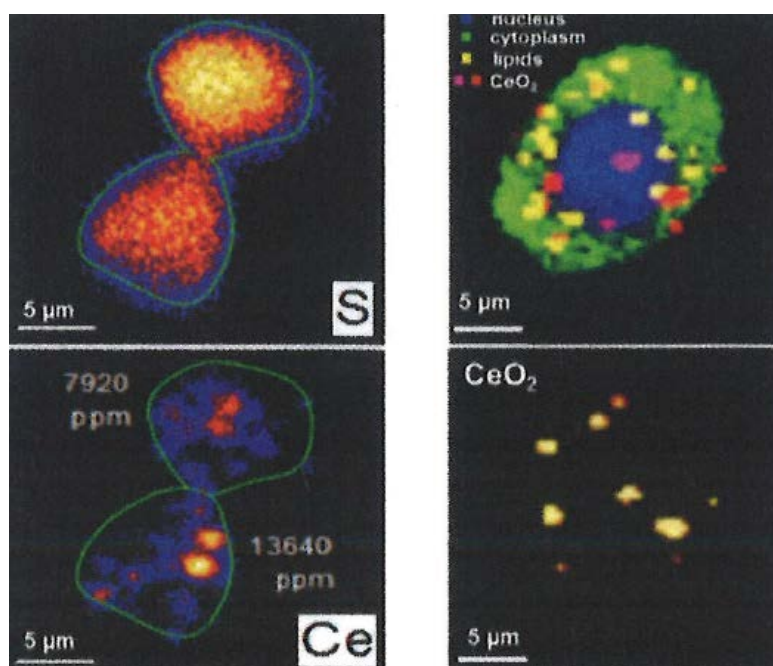


図 3.2-33 肺癌細胞における CeO_2 ナノ粒子の分布のラベルフリーイメージング
 μ PIXE : 左、CRM : 右

(iii) **Ultrasensitive Detection, Quantification and Identification of Engineered and Natural Nanoparticles Using Wide-Field Surface Plasmon Microscopy**

- 講演者: Vladimir Mirsky
- 所属機関: Institute of Biotechnology / Nanobiotechnology, Brandenburg University of Technology, Senftenberg, Germany

- 背景: 工業的なナノ粒子の製造量の増加は、潜在的に危険な物質との人間の接触の危険性を増加させる。このため、液体および気体媒体中のナノ粒子の定量化および同定のための高感度分析法の開発が求められている。この目的のために、単一ナノ粒子の吸着による表面プラズモン共鳴 (SPR) 画像の微小信号の検出および分析に基づく方法が開発された。
- 新たな分析技術;
 - 抽出不要のリアルタイム、その場測定
 - 高感度: 目視表面上の単一ナノ粒子
 - 高ダイナミックレンジ (1~1000000/flame)
 - ノイズに対する安定性 (複合培地での測定が可能)
 - 吸着したナノ粒子のトラッキング及びマッピング
 - ナノ粒子の特徴的なイメージ像
 - 電気化学溶解による物質の同定
 - ウィルス、エクソソーム、リポソーム、バクテリアに適用可能

(ウ) **Session 5: Neurotoxicity**

(i) **Air Pollution, Microglia, and the Lung-Brain Axis**

- 講演者: Michelle L. Block
- 所属機関: The Stark Neuroscience Research Institute, Indianapolis, Indiana, USA

- 背景: 都市の大気汚染ばく露は、最近、認識低下およびアルツハイマー病 (AD) を含むいくつかの中樞神経系 (CNS) 疾患および状態のリスクの増加と関連している。これらの影響を媒介するメカニズムはほとんど理解されていない。最近の知見は、脳の先天性免疫細胞であるミクログリアが吸入された汚染物質を検出し、それに応答することを示しており、肺損傷は循環因子 (Lung Brain Axis) を介して脳に伝達される可能性がある。ここでは、ディーゼル排気粒子に対するミクログリア応答における損傷関連分子パターン (DAMP) の役割を明らかにし、3x-TG マウス AD モデルにおける循環因子の影響を検討し、老化がこのプロセスにどのように影響するかを調べる。これらの知見は、大気汚染が小膠細胞を活性化させ、中樞神経系の健康に有害な影響を与えるメカニズムの根底にある洞察を提供する。
- まとめ①;

- ミクログリアの反応が共通点。炎症誘発は極めて一般的である
 - ミクログリアは DEP の神経炎症の原因の一つである。
 - 遺伝的背景が大気粒子 (DEP) との反応に影響がある。
- まとめ: 肺-脳軸 吸入粒子との反応において
 - 肺: 肺の免疫反応が神経炎症と関連がある可能性がある
 - 血液: 脳由来神経栄養因子が循環する
 - 脳: 血清因子が信号を送り、ミクログリアに検出され、プライミングをもたらす。
 - ナノ粒子安全に対する示唆;
 - 神経病理学は、必ずしも末梢毒性を模倣するとは限らない。
 - NP は CNS 効果を得るために脳に転位する必要はないかもしれない。
 - CNS 生物活性循環ファクトおよび神経炎症は、
 - A. 末梢と脳間のコミュニケーション。
 - B. 神経毒性プライミングの可能性
 を示唆しうる。
- (ii) **Investigation of Neurotoxic Effects of Manganese Nanoparticles in 3D Neural Microtissue**
- 講演者: Christoph van Thriel
 - 所属機関: Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors (IfADo), Dortmund, Germany
 - 背景: 溶接ヒュームは、金属酸化物 (例えば、酸化マンガンまたは二酸化マンガンの) のナノ粒子 (NP) を含む様々な化合物の複雑な混合物である。特にマンガン (Mn) 含有粒子 (MnxOx) は、この必須元素によって引き起こされる神経毒性と関連していると考えられている。吸入により Mn にばく露された溶接者に見られるように、胃腸管 (GT) における恒常性調節を回避すると、神経行動障害が起こる可能性がある。気道にマンガン NP を沈着させた後、Mn は嗅覚系を介して脳に直接移行するか、または肺泡領域から血液蒸気に流入し、全 Mn 質量の約 14% が可溶性で生体利用可能である。これらの経路を経て、Mn は脳に入り、そこでは主に大脳基底核 (BG) ならびに前頭皮質領域に蓄積される。近年、Mn の PBPK モデルが開発され、BG の 0.55 ng / g Mn の濃度が神経行動障害のリスクの 10% 増加と関連しているとの分類的回帰モデリングと結びついている。これらの行動障害を引き起こす根底にある機構は完全には理解されていないが、様々な神経細胞型および神経伝達物質が関与しているようである。
 - 研究内容;
 - (a) PBPK モデルからのインビボ濃度および (b) ラット皮質調製物 (PND1-2; ニューロン、

星状細胞およびミクログリアからなる)由来の三次元神経組織(MT)を、*in vitro* モデル。平均 MT 量に基づいて、5.3ng の Mn / MT がヒト脳濃度と同等であると計算した。

- MTs を Mn²⁺ ナノ粒子(直径 50-80nm)および可溶性塩 MnCl₂ を 50~500μM の範囲の濃度(135μM はインビボ濃度に等しい)で培養し、24 時間および 48 時間後に、ミクログリアおよび星状細胞およびニューロンの微細構造(免疫細胞化学)の活性化である細胞毒性(ATP アッセイ)を測定した。予備的結果は、MnO₂ も MnCl₂ も選択された濃度で細胞傷害性ではないことを示した。最初の生物学的複製の分析は、MnCl₂ に 48 時間ばく露した後のミクログリアの活性化を示しているが、135μM の条件では MnO₂ は活性化していない。

(iii) Development of an *in vitro* Model of NanoNeurotoxicity Using Human 3D Neural Tissues

- 講演者: Luc Stoppini
- 所属機関: Hepia/HES-SO, Univ. of Appl. Sciences Western Switzerland, Geneva
- 背景: 神経行動/神経変性疾患の多くは環境に起因する可能性があることを考えると、NPに関連する神経炎症および神経変性に至る様々な機構の誘導を含むノ粒子(NP)の潜在的な神経毒性効果に関するさらなる研究が急務である。このニーズに答えるために、幹細胞由来のヒトインビトロモデルを使用して、脳実質に浸透し得る神経グリアネットワークに対する NP の効果を調べることで、中枢神経系(CNS)における NP によって誘導される生物学的小および毒物学的効果を研究する。
- 材料および方法: 誘導性多能性幹細胞(MTI GlobalStem, ThermoFisher)由来の神経幹細胞は、組織学的研究によって確認されるように、異なるタイプのニューロンおよびグリア細胞を含む異種の神経組織を生成するために使用される。ニューロスフェア(NS)は、ニューロジェネゲーターの回転によって 24 ウェルプレートに凝集することによって生成される。NPs は、凝集プロセス中または NSs の形成後に添加される。Au-NP またはシリカ-FITC ナノ粒子を第 1 の一連の実験で試験した。蛍光顕微鏡および透過電子顕微鏡(TEM)を使用して、神経実質内の NP を視覚化した。ニューラルネットワークの活動の電気生理学的記録を行って、NP にばく露されたときの神経組織の機能性を評価した。
- 結果(図 3.2-24): 予期されたように、集成プロセス中のシリカ-FITC NP (200nm; 10μg/ml)の含有は、NSS 全体(A1 は 4 日後)に分布し、それらは組織の外層に位置したままである(4 日後の A2)。別の一連の実験では、NSS 形成中に AuNP (50nm)を加えた(D1 対照、D2 0.5ppm、D3 5ppm および TEM 挿入)。1 ヶ月培養後のこれらの培養物からの電気生理学的記録は、NP の封入物の用量に依存して、活性の明らかな減少を示す(スパイク: B1 対照、B2 0.5ppm、B3 5ppm)タイムスタンプ(C1 =対照、C2 = 0.5ppm、C3 = 5ppm)。

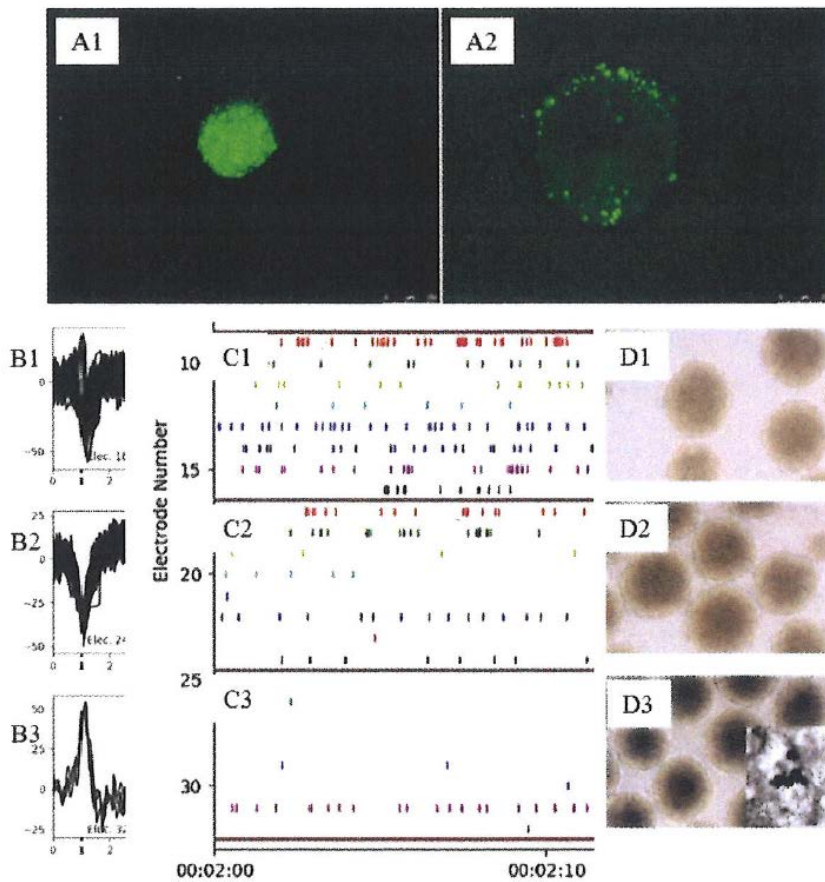


図 3.2-24 実験結果

(iv) **A Daily Exposure of Rabbit Dams to Diesel Exhaust Nanoparticles during Gestation Impairs the Brain and Olfactory Dopaminergic Pathways of Offspring**

- 講演者: Estefania Bernal-Meléndez
- 所属機関: URAFPA, INRA UC340, University of Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France
- 背景: 大気汚染、特にディーゼル排気 (DE) からの汚染は、全身または気道のいずれかを介して、ばく露されたヒト集団の神経系 (NS) に悪影響を与えることが知られている。しかし、NS 上の DE に対する妊娠ばく露の結果は、未だに調査されていないままである。したがって、開発中の NS に対する短期および長期の影響を研究するために、妊娠したウサギダム (ヒトの血液凝固胎盤モデル) をヒトの都市部におけるばく露条件を模擬する DE ナノ粒子に曝す実験モデルを開発した。
- 実験方法および結果;
 - 妊娠したメスは、浄化された空気または妊娠 3 日目 (GD3) から GD27, 2h / d, 5d / w ままで希釈された (1mg / m³) 濾過 DE にばく露された。GD28 では、嗅覚細胞 (OB) の嗅覚

ニューロンおよび糸球体層に、ナノサイズ粒子(20~48nm)の存在が細胞および軸索肥大とともに観察された。特にドーパミン作動系に影響を及ぼすバルバルモノアミン作動性ホメオスタシス擾乱が観察された。

- ドーパミン作動系に焦点を当てた DE ばく露の影響をさらに調べるために、GD28(8匹の対照; 8匹のばく露)および成人(8匹の対照; 10匹のばく露)ウサギの OB および脳を採取した。これらの2つの状態で、嗅覚系と脳の他の中心構造との間の解剖学のおよび機能的連続体を評価するために、免疫組織化学およびクロマトグラフィー分析を用いてモノアミン作動性経路を分析した。
- GD28 では、OB の組織学的分析は、ドーパミン作動性ニューロンの数を増加させることなく、ばく露された胎児における細胞あたりの TH 標識強度の増加を示した。成体段階では、ばく露された動物のうち 08 頭がドーパミンおよびその代謝産物(DOPAC および HVA)のレベルが高かった。同じウサギの脳内では、シトクロムオキシダーゼ活性、活発な代謝のマーカー、および TH 標識強度は、脳の報酬回路に関与する重要な領域である腹側被蓋領域(VTA)において増加し、両方のマーカーは細かい運動制御の調節において役割を果たす黒質のドーパミン作動性塊状コンパートメントにおいて変化しないままであった。
- これらのすべての知見は、妊娠末期の露出した胎児の嗅球に見られるドーパミン作動系の不均衡が成人期に持続するようであり、より中心的な構造の変化に関連していることを示唆している。

(v) **Effects of Nanoparticles in the 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease**

- 講演者: Catrin Albrecht
- 所属機関: IUF – Leibniz Research Institute for Environmental Medicine, Düsseldorf, Germany
- 背景: 周囲の超微粒子への長期間のばく露が、アルツハイマー病(AD)のような加齢に関連する神経変性疾患の発症および進行に寄与し得るという懸念が高まっている。この仮説を扱うために、私たちは、作業記憶および運動機能ならびに海馬および皮質アミロイドプラーク負荷に対する効果の評価を伴うトランスジェニック SX 家族性アルツハイマー病モデル(SXFAD)マウスモデルを使用した。我々は以前に、ディーゼルエンジン排気(DEE)への吸入ばく露は、これらのマウスにおけるプラーク形成および運動機能障害の加速を引き起こすことを示した。DEE は、都市環境における超微粒子の主要な供給源であり、製造されたナノ粒子へのばく露もまた、AD 発病に寄与し得ることを示唆している。しかしながら、(吸入または経口ばく露による)CeO₂ および SiO₂ ナノ粒子による長期ばく露研究では、我々は 5XFAD マウスモデルにおいて AD 様特徴の有意な悪化を観察しなかった。観察された差異は、ナノサイズの粒子の物理化学的性質ならびにばく露の用量および経路を対照するこ

とによって説明することができる。さらに、DEE 吸入試験の結果は、この汚染物質混合物の微粒子成分対非微粒子成分の特定の寄与についてのさらなる調査を保証する。

- まとめと結論

- DEE 吸入は、5xFAD トランスジェニックマウスにおいて、A β プラークおよび運動機能障害の形成を促進する。
- (ZR ドープ) CeO₂ NP の吸入は、プラークの形成を促進せず、行動に悪影響を及ぼさない(5xFAD および WT 同腹仔)。
- CeO₂ および SiO₂ NP への長期経口ばく露は、5xFAD および WT マウスに有害作用を及ぼさない。1%CeO₂ への13週間の経口ばく露は、5xFAD マウスの脳におけるA β プラーク形成の減少をもたらす。
- 結果は、以前の研究と一致している。
 - (1) ヒト大気汚染およびA β プラーク病理
 - (2) 交通ばく露(道路接近)および認知障害/認知症→DEEの(非微粒子の)構成成分の役割?
- これまでに設計されたNPを用いた研究は、ADの5xFADモデルにおける有害作用を示していない。CeO₂の有益な効果は、さらなる研究を保証する。

(E) Session 6: Nanomaterials: Effects and Mechanisms

(i) The Effect of Gold Nanoparticles in Asthma Mouse Model

- 講演者: Thai Dinh
- 所属機関: Universitätsklinikum des Saarlandes, Saarbrücken, Germany
- 要約: ナノ粒子は医学療法にもますます使用されるようになってきている。健常者および喘息患者におけるナノ粒子の効果は依然として調査中である。ここでは、BALB/cオボアルブミン(OVA)喘息マウスモデルにおけるナノ粒子の効果、取り込みおよび分布を調べる。ポリエチレングリコール被覆(PEG化)およびクエン酸塩/タンニン酸被覆(クエン酸塩化)5nm金ナノ粒子の分散液を、喘息および対照群に鼻腔内投与する。アレルギー性気道炎症および気道抵抗を測定する。非経口器官へのナノ粒子の取り込みは、誘導結合プラズマ質量分析法によって定量化される。喘息前提条件は、ナノ粒子の取り込みを増加させる。さらに、全身摂取は、クエン酸処理したナノ粒子と比較してPEG化金ナノ粒子の方が高い。ナノ粒子は、炎症性浸潤および気道過敏性、特にクエン酸処理された金ナノ粒子の両方を阻害する。アレルギー性喘息マウスにおけるクエン酸処理およびPEG化NP処理は、マクロファージ集団の強い上昇を有意に防止する。マクロファージをより正確に見ると、NPの両方の種類がM1およびM2マクロファージの分極にいかなる変化も生じないことがわかった。金ナノ粒子は、喘息マウスにおいて抗炎症効果を有し得る。喘息状態は、金ナノ粒子の全身摂取を増加させる。その結果、ナノ粒子を設計および試験する際に悪影響を考慮する必要がある。

ある。

- まとめ;
 - 喘息の前提条件を有するマウス、特に心臓、腎臓および脾臓に対するナノ粒子取り込みの増加があった。
 - これは、潜在的なナノ粒子の毒性を評価する際に気道炎症の宿主因子を考慮する必要があることを示唆している。
 - 呼吸適用後、クエン酸処理されたナノ粒子よりも PEG 化金ナノ粒子の全身的取り込みがより大きくなり、喘息のコートニングよりも大きな影響が金ナノ粒子の取り込みに及んだ。
 - 本発明者らは、OVA 誘発気道炎症に対する金ナノ粒子 (特にクエン酸塩) の抗炎症効果を実証した。
 - 我々の結果は、金ナノ粒子ベースの喘息薬が治療可能性を有することを示唆している。
 - しかし、気道を通した金ナノ粒子の体系的摂取は喘息によって増加し、潜在的な副作用を避けるために考慮されなければならない。

(ii) **The Impact of CuO and TiO₂ Nanoparticles on Gene Expression Following Air-Liquid Interface Exposure**

- 講演者: Matthias Hufnagel
- 所属機関: Karlsruhe Institute of Technology, Germany

- 背景: 異なる産業におけるナノマテリアルの使用の増加は、ナノ毒性研究の重要性を強化する。今まで、空気中のナノ粒子 (NP) のほとんどのインビトロ毒性試験は、水中条件下で実施されている。しかし、このばく露方法は吸入毒性を調べるためのかなり人工的な試験システムである。より現実的なばく露シナリオを達成するために、空気 - 液体界面 (ALI) で細胞を培養することが有効である。ここで、細胞はトランスウェル系で培養され、基底側から細胞培養培地が供給され、頂端側の空気にばく露される。さらに、適切な ALI 露光システム、例えば、VITROCELL®Cloud は、水晶振動子微量天びんが装備されている場合、実際の粒子の堆積を定量化する。
- 実験方法および結果: この研究では、A549 細胞を ALI で培養し、VITROCELL®Cloud の CuO または TiO₂ NP にばく露した。続いて、コロニー形成アッセイを用いて細胞毒性効果を測定した。さらに、高スループット RT-qPCR による遺伝子発現プロファイリングが行われた。CuO NP は用量関連の細胞毒性効果を示したが、TiO₂ NP は細胞毒性を示さなかった。同じパターンが、遺伝子発現プロファイリングで観察され、TiO₂ NP による遺伝子発現との干渉を示さなかった。対照的に、CuO NP ばく露は、酸化ストレスマーカー、酸化還元感受性転写因子、DNA 修復に関与する遺伝子、アポトーシス因子および細胞周期調節遺伝子の発現を誘導した。
- 結論;

- CuO および TiO₂ NP を使用して、空中 NP の新しいばく露システムが確立された。
- 高レベルの ROS によって誘発されるいくつかの遺伝子の発現に CuO NP が影響した。
- しかし、機能レベルで転写結果を確認するためにはさらなる研究が必要である。

(iii) **How the Protein Corona Evolves on a Nanoparticle**

- 講演者: Giancarlo Franzese
- 所属機関: Física de la Matèria Condensada, Universitat de Barcelona, Spain
- 背景: 元来のナノ粒子 (NP) が生体液中に遭遇すると、生体分子は NP の周りに自発的に「プロテインコロナ」と呼ばれる吸着層を形成する。コロナ組成は、時間依存環境条件に依存し、生物内の NP の運命を決定する。コロナがどのように進化するかを理解することは、ナノ毒物学だけでなく医療応用においても基本的なことであるが、コロナ形成のプロセスは、関与する分子の数が多く、関連する時間スケールが 100 μ 秒 (実験では検出困難) から数時間 (全原子シミュレーションの到達時間) に及ぶため、課題が多い。
- 実験方法と結果: 以下の 2 つの研究のための実験、シミュレーション、および理論を組み合わせた。(i) コロナ動態及び(ii) 3 つの血液タンパク質で作られたモデルの血漿中のシリカの NP のためのその最終組成物 (ヒト血清アルブミン、トランスフェリン、およびフィブリノーゲン)。単一タンパク質溶液中で測定した実験的タンパク質-N 結合親和性によってコンピュータシミュレーションを校正すると、理論モデルは、独立した実験によって証明された競合タンパク質置換を正確に再現する。3 つのタンパク質の投与順序を変えると、私たちのモデルで説明できる最終コロナ組成の記憶効果が観察された。我々の実験的および計算的手法を組み合わせることは、平衡タンパク質結合定数の階層に基づいたタンパク質-NP コロナ組成の系統的予測および制御の開発への一歩である

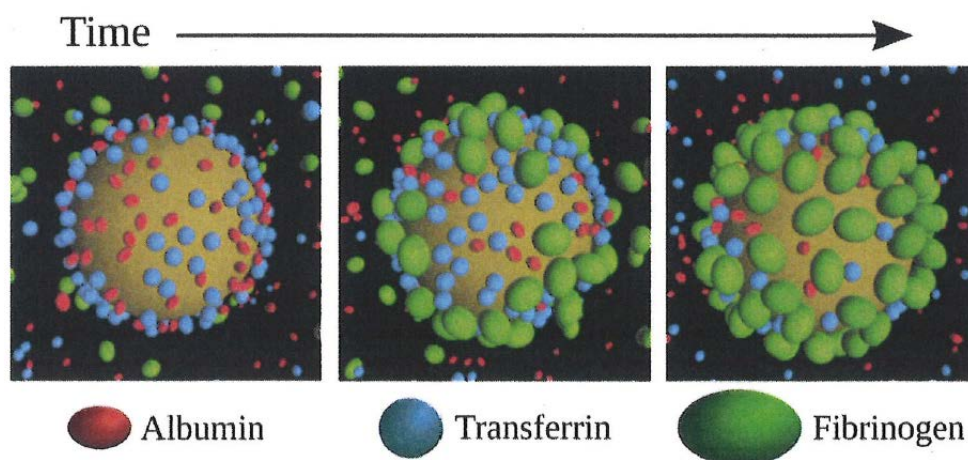


図 3.2-25 直径 100nm のシリカ NP 上に集まる競合タンパク質 (ヒト血清アルブミン、トランスフェリンおよびフィブリノーゲン) の動態。

3つの異なる時点でのシミュレーションスナップショット：1回目アルブミンを導入、2
番目トランスフェリン添加、3番目フィブリノゲン添加

(iv) **Low-Dose Carbon Black Nanoparticles Exposure of the Lung Does Not Aggravate Allergic Airway Inflammation in Mice**

- 講演者: Heinz Fehrenbach
- 所属機関: Priority Area Asthma & Allergy, Research Centre Borstel, Germany
- 背景: 喘息は気道過敏症 (AHR) および炎症によって定義される多因子性疾患である。それは、増加した粘液分泌、上皮傷害、平滑筋細胞の過形成、および過剰細胞外マトリックスの沈着に関連する。吸入されたナノ粒子による「炎症」上皮のさらなる刺激は、喘息反応を悪化させ、最悪の場合、喘息発作を誘発すると考えられている。
- 実験方法: カーボンブラックナノ粒子 (CBNP) がオボアルブミン誘発アレルギー性気道炎症をマウスにおいて悪化させるか否かを試験した。参照粒子として Printex®90 (P90) を使用し、表面に Benzo [a] pyren (P90-BaP) または 9-Nitroanthracen (P90-9NA) で P90 をコーティングした。さらに、表面に多環芳香族炭化水素 (AS-PAH) の混合物を示すアセチレン燃焼 (AS) からのすすを分析した。野生型マウスをオボアルブミン (OVA) に対して感作させ、3日間連続して OVA エアロゾルでチャレンジした。CBNP は、3回目のチャレンジ前および 24 時間後に口腔咽頭吸引 (70µl, 100ng /µl) によって適用した。気管内の繊毛駆動粒子輸送、細胞死および粘液放出、およびエキスビボで解析し、気管上皮および遠位気道における PAH 代謝 (Cyp1a1, Cyp1b1)、遠位気道の酸化ストレス (Gr, Gpx3) とムチン Muc5ac のマーカーの mRNA 発現を分析した。さらに、BAL 液および AHR 中の免疫細胞および TH2-サイトカインレベルの量を分析した。
- 実験結果: すべての CBNP は、最近、懸濁液中で同様の流体力学的直径およびゼータ電位を示すことが示された。急性アレルギー性気道炎症マウスでは、CBNP ばく露が AHR、BAL サイトカインレベルまたは白血球の気道への浸潤に影響しないことを示した。気管内では、粒子輸送速度および壊死上皮細胞の数は、OVA 対照群で見出された結果と類似していた。P90 のみが、OVA コントロール群と比較して Muc5ac mRNA 発現の増加によって示された粘液放出の増加により、毛様体ビート周波数をおそらく低下させた。いずれの CBNP 種も気管上皮における Cyp1a1, Cyp1b1, Grand Gpx-3 の mRNA 発現に影響を及ぼさなかった。末梢気道では、Cyp1a1, Cyp1b1, Grand Gpx-3 の mRNA 発現は OVA 対照群と比較して P90-BAP および AS-PAH によってわずかに増加した。本結果は、低濃度の CBNP (表面修飾とは独立して) がアレルギー性気道炎症を悪化させないことを示す。P90 のみが毛様体ビート頻度を低下させ、ムチン mRNA を増加させ、おそらく粘液クリアランスを減少させた。

(v) **Understanding Nanosafety – The Importance of Assay Performance *in vitro***

- 講演者: Cordula Hirsch
- 所属機関: Empa, St. Gallen, Switzerland

- 背景: ナノテクノロジーは 21 世紀の実現可能な技術とみなされている。しかし、過去数十年の間に作られた多くの発明と比較して、最終的に少数のナノ可能な製品しか最終的に市場に進出していない。この理由の一つとして新しい材料の安全性評価の不確実性がある。ナノ材料がインビトロ研究で偽陽性または偽陰性結果を生成することによって科学者を欺いた多くの例が存在する。このような誤った結果を防止し、信頼できるインビトロ安全性評価を保証するためには、以下のパラメータが重要である。(1) 材料特性、(2) 異なる分析成分との干渉反応、(3) 線量測定、(4) ベンチマーキングと一般的な分析性能。特に、新しいスマート(ナノ)材料の初期開発段階では、技術的に適切な多数の候補者の安全性が評価されなければならない。潜在的な有害生物学的影響は、最も有望な物質を選択するために「設計」する必要がある。技術的有効性の観点だけでなく、安全性の点でも重要である。したがって、迅速なインビトロツール/方法が必要とされる。一方、スピード以上に信頼性、堅牢性、再現性(代替 3R)の成果が求められる。このプレゼンテーションでは、先に詳述したナノ関連のインビトロ課題に厳密に取り組む進行中のスイスプロジェクト(NanoScreen.ch)の研究に焦点を当てる。
- まとめと結論;
 - 非常に単純なインビトロアッセイ(MTS)でさえ、潜在的な変動性の原因は多様であり、原因と結果の図で視覚化される。
 - 忍容性と信頼性の高い結果を得るには、一般的にアッセイの性能を制御し、ナノ粒子間界面を制御することが重要である。
 - 偽陽性/陰性の結果: 線量測定の考慮事項と同様にインターフェースを念頭に置くこと。
 - 数学的モデルは、送達された線量の推定値を与えるが、実験的に検証されなければならない。
 - 好ましい用量 - 測定基準: 送達された質量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)。
 - 線量測定モデルに不可欠な材料特性(サイズ分布、凝集体密度)、形状)は、線量メトリック($\#/ \text{cm}^2$ 、表面積/ cm^2)の再計算と結果の合理的な解釈。

(vi) **Exposure to Nanoparticles Specifically Extends Neutrophilic Life Span: A Toxicologically Relevant Endpoint for Nanoparticle Safety**

- 講演者: Tamara Hornstein
- 所属機関: IUF – Leibniz Research Institute for Environmental Medicine, Düsseldorf, Germany

- 背景、目的:吸入されたナノ粒子は、好中球性肺炎症を誘発すると記載されている。しかしながら、好中球自体との相互作用による進行中の炎症の間のこれらの粒子の効果は、よく理解されていない。好中球アポトーシスは、好中球誘導性炎症反応の主要調節因子であると考えられている。現在の研究では、好中球寿命に及ぼすナノ粒子の影響、およびインビボで肺炎症に対するこれらの影響の影響を調べることを目的とした。
- 実験方法:ボランティアからの血液好中球だけでなく、好中球アポトーシスおよびシグナル伝達事象を調べる COPD 患者からの機械的エクスピロ研究も実施した。さらに、肺炎症 (BAL) の炎症パラメータの強さと好中球アポトーシス率を相関させるために、フィッシャー 344 ラットにおけるナノ粒子の気管内適用によって肺炎症を誘発した。我々は以前に、ナノ粒子誘導シグナル伝達を妨害する化合物の新しいグループを記載したので、これらの物質 (適合溶質) が好中球における抗アポトーシスシグナル伝達に対して予防効果を有するかどうかを調べた。
- 結果:血中好中球をカーボンナノ粒子にばく露すると、自然発生のアポトーシス率が有意に低下した。この効果は、Akt の活性化、続いて Mcl-1 の活性化によって媒介された。さらなる機能的実験は、酸化ストレスの誘発および膜構造の変化が、これらのナノ粒子特異的有害転帰の原因であることを示している。興味深いことに、適合性溶質エクトインによるこれらのシグナル伝達事象の活性化の防止は、自然アポトーシス速度の非常に効果的な回復をもたらした。このアプローチの *in vivo* 関連性は、動物実験で実証されたエクトイン介入後の著しく減少した好中球の炎症により、肺およびヒトにおける好中球のアポトーシス率の回復と関連し、28 日間毎日エクトインを吸入した後の炎症性痰のパラメータが低下した。データは、ナノ粒子の前炎症効果のメカニズムとして、好中球顆粒球の自然アポトーシスの減少を同定する。さらに、適合する溶質はヒトに十分耐えられるので、COPD のような慢性好中性炎症の治療に治療的に使用することができる。
- 結論;
 - ナノ粒子 - 好中球相互作用は、エクスピロおよびインビボでのアポトーシスの減少を引き起こす。
 - このメカニズムは、ROS の生成および細胞膜の変化に依存する。
 - 好中球のアポトーシスに関連するナノ物質の毒性学的エンドポイントの仲介か？

