

## ナノ材料の有害性情報について (素案)

### 1. ナノ材料の有害性の特徴に関する一般的な知見

ナノ材料の有害性については、「サイズが小さいこと、表面積が大きいこと、及び酸素反応の活性化の能力の複合作用が、意図的に製造されたナノ物質による肺損傷の重要な要素になっている (U. S. EPA (2007))」とした報告にあるように、ナノ材料の持つ特性のためにその有害性が他の化学物質とは異なることが指摘されている。

以下に、ナノ材料の有害性に関する特徴に関連した情報を、ヒト健康影響および生態影響に区別して集約した。

#### (1) ナノ材料のヒト健康影響に関する特徴について

##### 1) サイズ及びと表面積の関係について

ナノ材料はサイズが小さく、また、サイズを小さくすることによって重量あたりの表面積が大きいことにより、特定の機能を発揮する。これらの特徴によって、他の物質とは異なる有害性を有することが懸念されている。

一般的な指摘事項は以下のとおりである。

- 超微粒子 (100nm 未満) は、同じ成分のより大きな粒子よりも、重量ベースでみれば毒性が強いことが一般に知られている。
- 経気道投与した場合、重量よりも表面積が毒性あるいは病理学的な反応に対する良い指標になるとされている。
- ナノスケールの二酸化チタンの毒性は、粒子のサイズや表面積には関連がなく、特異な結晶構造及び酸化活性の能力が重要であるとした報告がある。

(以上、U. S. EPA (2007))

- 類似の性質を持つナノ粒子では、同じ投与量でも粒子径の低下、即ち表面積の増大によって毒性が大きくなることが示されている。しかし、用量-作用関係は粒子の種類及び化学特性によって異なる。
- ラットの実験からは、同じ重量でも同じ化学組成のより大きな粒子よりナノ粒子が肺の炎症や組織の損傷及び肺炎の誘発といった影響が大きく、難溶性で毒性の低い物質では、用量-作用関係は粒子の表面積で表された粒子サイズと一定の関係があった。
- 吸入毒性が小さいと思われる粒子 (例えば二酸化チタン) でも、粒子の表面の用量に応じて、肺の炎症、組織の損傷、繊維化を示す。
- ヒトにおける研究では、大きな粒子に比べて、吸入されたナノ粒子は呼吸器に沈着する率が高い。

(以上、U. S. NIOSH(2006))

- 用量反応関係の決定については、ナノ粒子ばく露量の用量メトリクス（重量、表面積等）の表現に細心の注意を払うべきである。重量濃度は、これらの物質に関するばく露量の最適な記述であるようには見えない。個数濃度及び表面積は、用量反応関係のより適正な記述である可能性がある。
- 必ずしもすべてのナノ粒子形態が同じ物質のバルク形態より顕著な毒性を誘発させるとは明確になっていない。

(以上、EC. SCENIHR<sup>1</sup> (2007))

- 可溶性の物質についてはこれまでの重量ベースのリスク評価方法が適用できる。一方、不溶性で生物分解のないものについては、表面積といった異なる目安を用いる必要性が考えられる。
- ナノ材料はサイズの大きなものよりも大きな酸化作用を持っている。したがって、ナノ材料は標的器官において健康影響を与える可能性がある。

(以上、EC. SCCP<sup>2</sup> (2007))

## 2) 表面活性等

ナノ材料表面の荷電状況等の表面特性がナノ材料の有害性に関係しているという指摘もなされている。

- ナノ粒子の毒性は非常に複雑で多種類の要素が関与しており、サイズや形状、荷電状況といった表面特性等の種々の物理化学的特性に左右されていることが幾つかの報告で示されている。
- ナノスケールの二酸化チタンの毒性は、粒子のサイズや表面積には関連がなく、特異な結晶構造及び酸化活性の能力が重要であるとした報告がある。(再掲)

(以上、U. S. EPA(2007))

- 動物実験によれば、ナノ物質は単位重量あたりの表面積の増大のため、同じ化学組成のより大きな粒子よりも生物学的活性が大きい (U. S. NIOSH(2006))
- ナノ粒子の荷電は、皮膚透過性の決定因子であり、樹状細胞やリンパ節を経て血流に到達することが報告されている。
- ナノ粒子の材料自体が毒性の低いものであっても、その毒性及び酸化ストレスや炎

---

<sup>1</sup> Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (新規及び新たに特定された健康リスクに関する科学委員会)

<sup>2</sup> Scientific Committee on Consumer Products (消費者製品科学委員会)

症を引き起こす能力は、ナノ粒子の表面積及び反応性に由来する可能性があることが示唆されている

(以上、EC. SCENIHR (2007))

### 3) 形状等

ナノ材料の有害性に対しては形状（特に繊維状か否か）も関与すると指摘されている。

- カーボンナノチューブ類の肺への影響に関する試験では、意図的に製造されたナノ物質はそれぞれ特異な毒性を示し、粒子の大きさのみでは説明できなかった。また、ナノスケールの二酸化チタンの毒性は粒子の大きさや表面積に関連がなく、特異な結晶構造及び酸化活性の能力が重要であるとした報告がある。(U. S. EPA(2007))
- 多層カーボンナノチューブ（以下、MWCNT）といった繊維状のナノ材料については、ラットの腹腔内注射により中皮腫の発現が確認されており、さらにその発現には繊維の長さが関与する（一定の長さのものが短いものよりも中皮腫の発現性が高い）といった報告がある。(Polland et. al. (2008)、Takagi et. al. (2008))
- 単層カーボンナノチューブ（以下、SWCNT）のマウスへのばく露により、一時的な肺の炎症、酸化ストレス、肺機能の低下、細菌の排除機能の低下、及び初期の間質の線維化が生じた。凝集物の沈着によって肉芽腫の形成が認められたが、より分散したナノチューブの沈着では間質の急速な線維化が認められ（7日以内）、ばく露後60日間以上も進行した。(U. S. NIOSH (2006))

### 4) 皮膚の透過性

ナノ材料のばく露経路の一つとして想定される経皮ばく露に関連し、ナノ材料の皮膚の透過性を示す報告がある。

- 皮膚に塗布したサブミクロン粒子が人の皮膚の角質層を透過することが認められ、そのことからナノ粒子の皮膚接触によって人の免疫系も影響を受ける可能性が認められた。
- 表皮の硬くなった細胞に生じた割れ目を通してのナノ粒子の吸収が考えられるとした報告がある。隙間に侵入したナノ粒子はより深部に進み、ついには皮膚の下に到達し、血流にのって吸収されるおそれもある。  
(以上、U. S. EPA(2007))
- ある種のナノ粒子はまた皮膚を通して体内に入り込むことが知られている。  
(U. S. NIOSH (2006))
- ナノ材料の皮膚の透過については現状では明確な考察結果はないが、その可能性はある（ここでは、量子ドット(CdSe)、デキストラン、フラーレンの皮膚透過の報告例

を示している)。(EC. SCCP (2007))

なお、消化管からのナノ材料の侵入については、下記のような記載がある。

- 経口ばく露に関する情報はない。食品、添加物、薬品、土壌ダストといったものを考慮すると、質量ベースでは少ないと思われる。(U.S.EPA(2007))
- 摂食はナノ粒子が体内に入り込む別の経路で、非意図的にナノ粒子を含む物質の取り扱い中に生じると想定することは科学的に合理的である。
- 気管支に吸入されたナノ粒子は粘膜の活動で排除されることから、摂食は吸入と同時に生じる。
- 摂食されたナノ粒子の悪影響についてはほとんど知られていない。  
(以上、U.S.NIOSH (2006))
- 消化管のパイエル板細胞及びリンパ小胞、消化管上皮から、ナノ粒子が取り込まれる可能性がある。
- 消化管から血液へ摂取された粒子の移動は、ラット及び人間において示唆されている。これらの報告によれば摂取された二酸化チタン粒子 (150-500 の範囲 nm) が、血液へ移動し肝臓及び脾臓で濃縮されることが示されている  
(以上、EC. SCENIHR (2007))

## 5) 体内での分布、移動

ナノ材料の体内での分布及び移動についても以下のような点が注目されている。

- 粒子の健康影響に関する衝撃的な発見の一つは、最初の沈着部位ばかりでなく、より広い範囲で毒性反応を生じさせることである。ポリスチレンのナノ粒子の肺の沈着は、肺の炎症だけでなく血管の血栓を引き起こした。カーボンブラックのナノ粒子の肺の沈着は、ラットの心拍数の変動性を低下させ、若く健康な個体の心筋の細分極を長引かせることが最近の研究で認められている。肺に沈着したカーボンブラックのナノ粒子の肺の外部への転移が報告されている。
- ナノ粒子の模擬ワックスを用いた薬物送達に関する試験では、ナノ粒子の荷電が血液脳関門の完全性及び透過性を変化させることが認められている。  
(以上、U.S.EPA(2007))
- ヒト及び動物実験によれば、大気中に浮遊したナノ粒子は吸入され、気管支に沈着する。そして動物実験によれば、ナノ粒子は血流によって他の器官に移行する。
- 鼻部に沈着したナノ粒子 (中央粒径は 35-37nm) は嗅覚神経に沿った輸送で脳に入り込むことが、近年のラットによる実験で観察されている。

(以上、U.S. NIOSH (2006))

- 浮遊粒子の主要な侵入経路は呼吸気管である。非溶解性粒子が沈着する気道内の部位は、粒子の空力学的挙動及びそれらの粒径に依存し、マクロファージ及び粘膜繊毛系による排出によって消化管へ排出される可能性がある。
- しかし、特定の粒子は肺の間質へ侵入しリンパ節へ移動する可能性がある。
- ナノ粒子の上気道から脳への移動が確認されている。また、同位体で標識されたナノ粒子を用いたラットにおける研究では、ナノ粒子が高い効率で鼻に沈着した後、嗅覚細胞へ移動し脳の嗅球へ侵入することが示唆されている。

(以上、EC. SCENIHR (2007))

- ナノ粒子の呼吸器を介した取込みについては、下図のような経路が推定されている。即ち、10-100nm の粒子は肺胞に沈着しやすく (1nm と非常に小さい粒子は鼻部への沈着が多い)、その後は繊毛活動で喉頭に送られ排出されるか、マクロファージにより排除されるが、血管内に移行するものもあると推定されている。

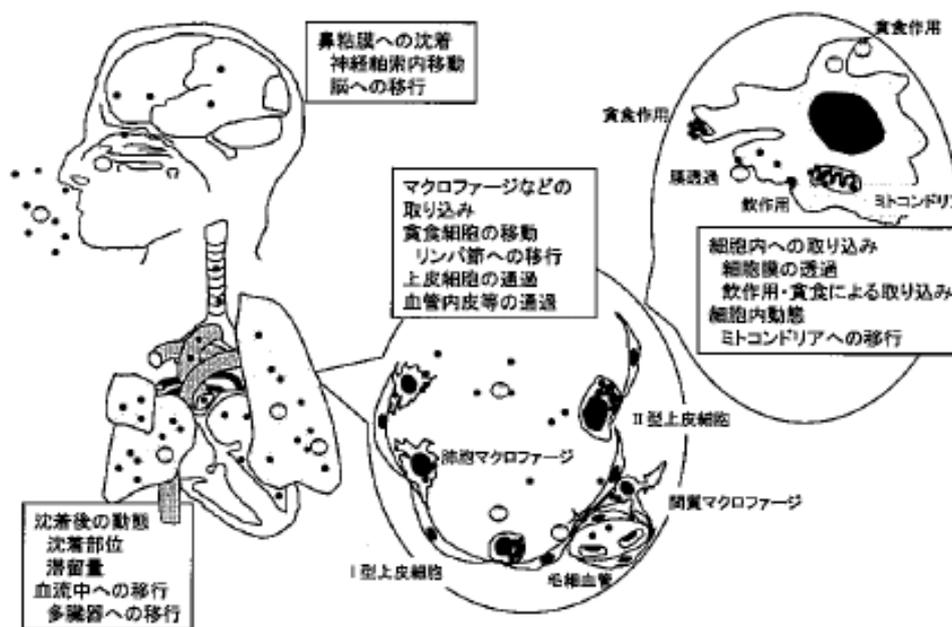


図1 粒子の物理・化学的性状と体内動態に係わる課題 呼吸器を解した取り込みの場合 (小林(2007)から引用)

#### 6) ナノ材料の毒性の発現機序

ナノ材料の毒性の発現機序としては、酸化ストレス及び細胞の障害（炎症）を引き起こすという指摘がなされている。

- 培養された人の上皮の角質細胞に対する SWCNT のばく露により、酸化ストレス及び

生細胞の消失を含む皮膚に対する毒性がもたらされる。(U. S. EPA (2007))

○呼吸器系に関する毒性学的研究により、肺においてナノ粒子は酸化ストレス及び炎症を引き起こし、呼吸器へ影響を及ぼす可能性が示されている。

○ ナノ粒子に関する in vitro 試験からは、活性酸素種及び酸化ストレスの生成を引き起こす可能性が示されている。ただし、結果として生じる疾患については未知である。

(以上、EC. SCENIHR (2007))

○ 下図は、皮膚ばく露を想定した体内での懸念される影響の模式図であるが、個々の組織において、沈着⇒酸化ストレスといった影響が懸念されている。(厚生労働省 (2008))

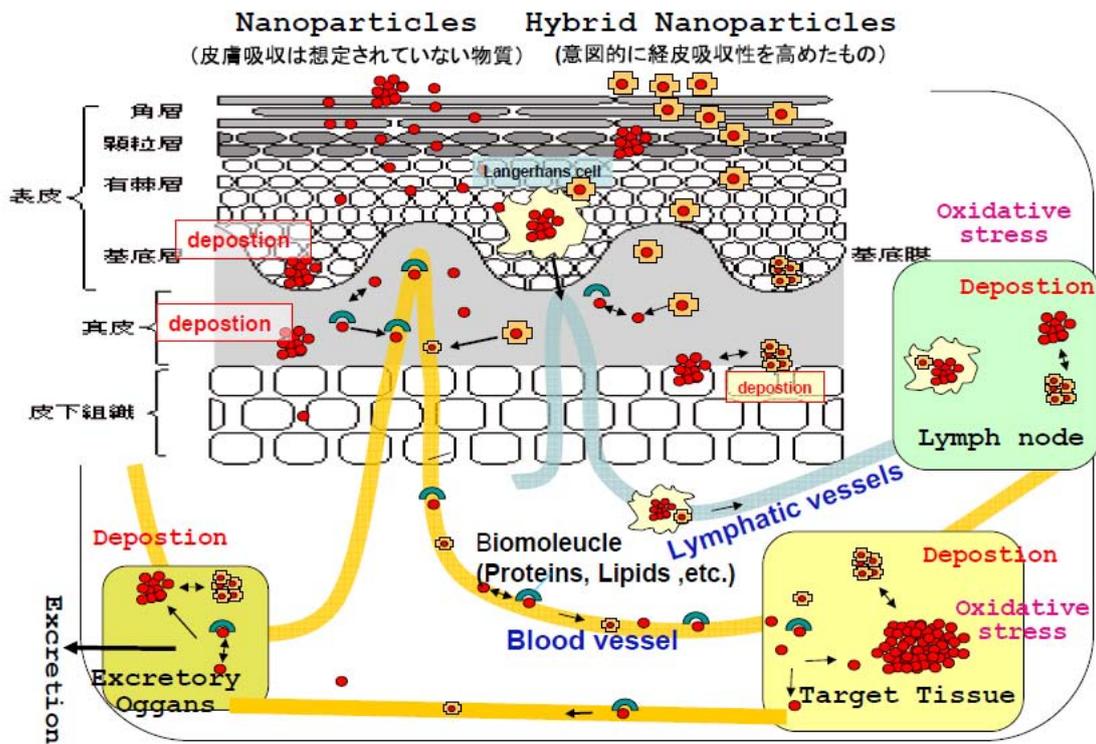


図2 懸念されるナノマテリアルの皮膚吸収—分布—蓄積

(図2の出典)

厚生労働省 第3回ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会、第3回ナノマテリアルの安全対策に関する検討会(第3回合同会合)資料「ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害性評価及び体内動態評価に関する基盤研究」から引用

一方、繊維状のナノ材料については、中皮腫等の発がん性を示す報告がある。

○ MWCNT といった繊維状のナノ材料については、ラットの腹腔内注射により中皮腫の出現が確認されており、さらにその発現には繊維の長さに関与する(一定の長さのも

のが短いものよりも中皮腫の発現性が高い) といった報告がある。(Polland et. al. (2008)、Takagi et. al. (2008))

○ SWCNTs のマウスへのばく露により、一時的な肺の炎症、酸化ストレス、肺機能の低下、細菌の排除機能の低下、及び初期の間質の線維化が生じた。凝集物の沈着によって肉芽腫の形成が認められたが、より分散したナノチューブの沈着では間質の急速な線維化が認められ(7日以内)、ばく露後60日間以上も進行した。(U. S. NIOSH (2006))

○ なお、ナノ材料の発がん性に関連し、第1回検討会資料4に示した各物質に関するIARCによる評価を表1に示す。ただし、IARCの評価は当該物質に対するものであり、サイズに着目したものではないことに留意する必要がある。

表1 各物質の発がん性に関する情報 (IARCによる評価結果(※))

種類	発がん性の評価	種類	発がん性の評価
カーボンブラック	2 (B)	鉄	—
ポリスチレン	3	酸化亜鉛	—
アクリル	3	モンモリロナイト	—
フラーレン	—	酸化セリウム	—
多層カーボン ナノチューブ	—	ニッケル	2 (B)
単層カーボン ナノチューブ	—	酸化イットリウム	—
銀	—	酸化アルミニウム	—
二酸化チタン	2 (B)	二酸化ケイ素	3

※ 2 (B) : ヒトに対する発がん性が疑われる、3 : ヒトに対する発がん性が分類できない  
— : 記載なし

(なお、デンドリマー、顔料微粒子は化学組成が同定されないことから、この表からは削除した)

## (2) ナノ材料の生態系への影響に関する特徴について

次に、生態系への影響に関する記述を以下に抽出した。

### 1) 生態系全般について

○ 人の健康に関する知見から哺乳類についてはある程度想像ができて、他の生物では状況が異なることから(例えば、水生生物の鰓呼吸、鳥類の気嚢及び一定方向の空気の流れ)、想像されないような経路が存在するかもしれない。(U. S. EPA (2007))

○ いくつかの種は、抗酸化機能が乏しく、活性酸素の生成を促進するナノ粒子に対して特別に脆弱である可能性がある。

- いったん生物がばく露すると、短期あるいは長期の毒性影響が生じる可能性がある。長期の毒性影響には、生態系内のバランスの擾乱を引き起こす生物濃縮を含む。特に、非分解性のナノ粒子の残留性あるいは濃縮性の評価は、慢性試験において重要である。
- 環境中のナノ粒子の挙動及び分布を決定することに加えて、多くの種に対する毒性を評価することは不可欠でありこれらに関する報告がある  
(以上、EC. SCENIHR (2007))

## 2) 水生生物への影響について

水生生物に対する影響については、近年のレビュー資料 (Handy et. al (2008a)、Handy et. al (2008b)) では下記のように取りまとめられている。

- コロイド粒子の水中での挙動から推測して、イオン強度の大きな水中では凝集しやすくなる。
- したがって、海水中では淡水中よりも凝集が起こり易い。pHも同様に影響する。ただし、有機物がナノ粒子の表面を覆っていると凝集は起こりにくくなる。
- 水生生物については、その表面に存在する粘液層（物質交換の主体となる鰓においても粘液層が存在する）が、ナノ材料に対する保護膜となると推測する報告がある。
- 粘液層内では、粒子はイオンに比べれば粘液層にトラップされ易いうえ、粘液層内のプラスイオンと作用して凝集し易くなり、膜を通過することは難しくなる（次頁図参照）。
- したがって、水生生物については、取り込みによる毒性だけでなく、鰓や体表の表面付着による影響も考慮する必要がある。
- ナノ材料は凝集後には沈降し易くなることから、海底の表面に生息する生物は影響を受け易いと考えられる。
- また、海洋表面においては、粘性がナノ粒子に影響することでトラップされ易いとされており、海洋表面に存在する生物、卵、動物プランクトンの初期ステージ等の生物は特に影響を受け易いと考えられる。

また、水生生物に関するナノ材料の取り込みや体内挙動については、下記の報告がある。

- 蛍光ポリスチレンのシースルーメダカにおける体内分布に関する試験では、卵に接触させた場合は、卵膜、油球、卵黄、胆のうに付着・蓄積した。また、孵化し魚では鰓、消化管に分布し、さらに脳、精巣、肝臓、血液中にも観察された (Kashiwada (2006))。
- 11.6nm の銀ナノ粒子をゼブラフィッシュの卵にばく露させ、暗視野顕微鏡で観察した結果では、卵膜の孔を通じて胚に侵入することが確認された。(Lee et. al. (2007))

なお、US. EPA (2007)は天然のナノ粒子との関連について、下記のように述べている。

- (カーボンブラック及び粘土の粒子を用いた試験から) 天然のナノ粒子は水生生物にとって毒性は小さく、閾値は 10-1000ppm の範囲とされた。この結論はナノ粒子にもあてはまるものと推測される予備試験結果がある。
- しかし、天然由来のナノ粒子と工業的に製造されたナノ粒子との相違には留意が必要である。ある種のナノ粒子は特異なメカニズムで器官を損傷する可能性が示唆される。

(以上、U. S. EPA (2007))

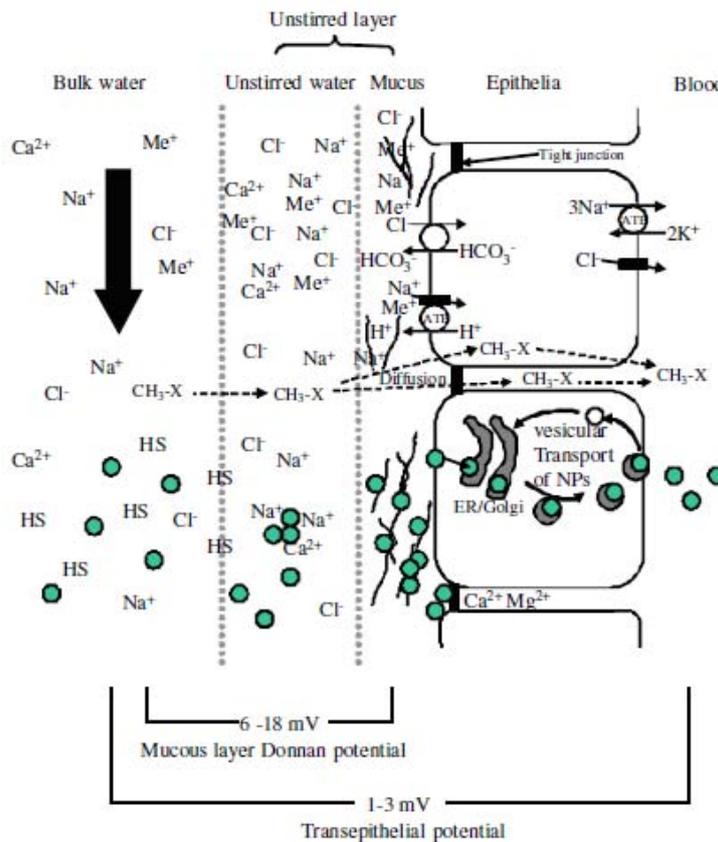


図3 水生生物の鰓表面、粘液層等でのナノ材料の移送の模式図

((Handy et. al. (2008b)から引用))

### 3) その他の生態系への影響について

その他の生態系への影響については、下記のような情報がある。

- 抗菌性物質として開発されてきた金属酸化物及び銀のナノ粒子の、環境中の生物化学的循環を含む(抗菌剤の)非標的生物に関するナノ粒子の影響は重要である。
- アルミニウムのナノ粒子は、植物の根の成長を阻害することが認められている。

(以上、EC. SCENIHR (2007))

## 2. ナノ材料の有害性に関する毒性試験結果等の情報

ナノ材料の有害性に関する毒性試験結果等の情報を集約した。なお、別添では細胞系を用いた in vitro 試験は省略している。

以下にナノ材料ごとの有害性情報の概要を整理した。

### (1) フラーレン (C60) 及びその関連物質 (別添 1~3/9)

#### ◆ ヒト健康影響に関連した情報

- フラーレンを遺伝子変異マウス (P53+/-) の腹腔に 3mg/匹の量を腹腔内投与 (単回) した結果、10 日後でも腫瘍の発生及び途中死亡は認められなかった (同様に実施した MWCNT では中皮腫の形成が確認された)。(Takagi et. al. (2008))。
- また、マウスの肺にフラレンを滴下した試験では、0.2~3.0mg/kg の投与のいずれにおいてもばく露後 1 日で炎症及び細胞の損傷が確認されたが、その他の所見では顕著な影響は確認されなかった。(Sayes et. al. (2007))

#### ◆ 生態影響に関連した情報

- ミジンコの急性遊泳阻害試験では、EC50 は 7.9mg/L 以上とされた (下表参照)。
- フラーレンの Fatheadminnow に対する影響では、LC50 は 0.5ppm 以上とされたが (Oberdorster et. al (2006))、別の試験では 0.5ppm で脳及び鰓の過酸化脂質濃度の上昇及び肝臓中の CYP2 関連酵素<sup>3</sup>の有意な増加が確認された。(Zhu et. al. (2006))
- 水溶性のフラレン (フレロール) のゼブラフィッシュ受精卵の LC50 は 96 時間後でも 50mg/L 以上であった (直径：分散後約 100nm)。(Zhu et. al. (2007))

なお、フラレンについては、その分散方法に有機溶媒 (THF) を用いた場合、水で分散した場合よりも毒性が高くなることが知られていることから (Oberdorster et. al. (2006)等) (下表参照)、ここでは分散方法の相違も含めて結果を整理した。

表 2 フラーレンの分散方法の相違によるミジンコ急性遊泳阻害試験結果の比較  
(単位：mg/L)

物質	大きさ等	分散方法	EC50	NOEC	出典
フラレン (C60)	93 nm	THF を用	0.46	0.18	Lovern & Klaper(2006)
	10-200 nm	いた分散	0.8		Zhu et. al. (2006)
	20-100 nm	水への 直接分散	7.9	0.2	Lovern & Klaper(2006)
	10-200 nm		35 以上		Zhu et. al. (2006)
	10-200 nm		35 以上		Overdorster et. al. (2006)

<sup>3</sup> 水酸化酵素であるシトクロム P450 の一種。シトクロム P450 は肝臓において解毒を行うほか、脂肪酸の代謝や植物の二次代謝などの多くの働きを持つ。その増加は化学物質に対する解毒作用の増加反応の増加の指標となる。

(2) ポリスチレン (別添 3/9)

◆ 生態影響に関連した情報

- 蛍光ポリスチレン (直径 39.4nm) のシースルーメダカにおける体内分布に関する試験では、卵に接触させた場合は、卵膜、油球、卵黄、胆のうに付着・蓄積した。また、孵化し魚では鰓、消化管に分布し、さらに脳、精巢、肝臓、血液中にも観察された (Kashiwada(2006))。
- 蛍光ポリスチレン (39.4nm) のシースルーメダカに対する毒性 (1mg/L の濃度) は塩分依存的に大きくなることが認められた (Kashiwada(2006))。

(3) MWCNT 及び SWCNT (別添 4~5/9)

◆ ヒト健康影響に関連した情報

- マウス及びラットを用いた MWCNT 及び SWCNT の試験では、気管内注入、肺滴下、口咽頭部吸入、によるばく露は炎症を生じさせたとする複数の試験結果がある。(Sato et.al.(2005)、Miller et.al.(2005)、Lo et.al.(2007)、Nmmar et.al.(2007))
- MWCNT 及び SWCNT のマウスの気管内注入で 2 ヶ月後 (MWCNT) 及び 3 ヶ月後 (SWCNT) に肺に肉芽腫が形成された (Miller et.al.(2005)、Lam et.al.(2004))。
- MWCNT をマウスの腹腔内注射した試験では (単回)、クロシドライトでの発症率 (14/18) を上回る中皮腫の形成が確認された (14/16)。(Takagi et.al.(2008))
- 長さ (及び太さ) が異なる MWCNT をマウスの腹腔内に注射した試験では、長い (太い) MWCNT とアモサイトで巨大異型細胞及び病変部面積の増加が確認された。(Poland et.al.(2008))

◆ 生態影響に関連した情報

- <sup>14</sup>C でラベルした MWCNT (直径 30-70nm、最大 0.37mg/g 乾泥) 及び SWCNT (直径 1-2nm 最大 0.03mg/g 乾泥) を含む底泥で 28 日間飼育したオヨギゴカイでは、ばく露後 3 日後には 80% が排泄され、濃縮率は MWCNT : 0.40±0.1、SWCNT : 0.28±0.03 であった。また、その間の死亡は確認されなかった (陽性対照としたピレンでは濃縮率は 3.6 であった)。(Petersen et.al.(2008))。
- 微小なコペポダを使用した 28-35 日間の飼育試験では、最大 10mg/L の SWCNT は死亡及び生長に影響は与えなかった。(Templeton et.al.(2006))
- SWCNT 懸濁液中 (直径 1.1nm、0.1~0.5mg/L) でニジマスの未成魚を飼育した試験では (最大 10 日間)、鰓の水腫、粘液の増加、鰓蓋活動の増加が確認された。また、Na+K+ATPase 及びグルタチオンの増加が鰓及び消化管で確認されたが、脳及び肝臓では確認されなかった (直径 : 分散前は 1.1nm (メーカー値) ⇒ 分散後 5nm 未満)。(Smith et.al.(2007))
- 表面を脂質でコーティングして分散性を増大させた SWCNT (直径 1.2nm) によるミジンコの 96hrEC50 は、餌を与えた場合は 10-20mg/L であった。一方、餌を与え

なかった場合は約 2.5mg/L で約 60%の死亡が確認されたが、それ以下の濃度で死亡率が増加した。(Roberts et.al. (2007))

- 表面を酸化して分散性を高めた SWCNT (直径 2-10nm) は繊毛虫の凝集、運動の消失、死亡を招くが、6.8  $\mu$ g/mL では一時的な運動の消失のみが生じ、11.9  $\mu$ g/mL では全ての個体の死亡が確認された。(Ghafari et.al. (2008))

#### (4) 二酸化チタン (別添 6~7/9)

##### ◆ ヒト健康影響に関連した情報

- 二酸化チタン (直径 136-150nm) の復帰突然変異試験 (OECD テストガイドライン 471) 及び染色体異常試験 (同 473) では両者とも陰性であった。(Warheit et.al. (2007))。
- 二酸化チタン (直径 136-150nm) を用いた、急性毒性 (局所リンパ節検定) : OECD ガイドライン 429、皮膚刺激性 : 同 404、目刺激性 : 同 405、急性経口毒性 : 同 425 では、急性毒性 (局所リンパ節検定) : 低い (EC3 が算出できなかった)、皮膚刺激性 : 少ない、眼刺激性 : 発赤、急性毒性 (経口) : 低い (5000mg/kg 以上) といった結果が得られている。(Warheit et.al. (2007))
- 29nm と 250nm の二酸化チタンをマウスに鼻腔投与 (1 回/日  $\times$  3 日) した試験では小さい粒子でアジュバンド効果が確認された。(de Haar et.al. (2006))
- マウスの気管内注入 (19-21nm, 0.1mg/匹) により肺気腫、マクロファージ湿潤、肺胞隔壁破壊、上皮細胞アポトーシス等の影響が確認された。(Chen et.al. (2006))
- 3nm の二酸化チタンの肺注入試験では、急性毒性は 0.4mg/kg では出現せず、4mg/kg でわずかに毒性が認められた。(Li et.al. (2007))
- 5nm の二酸化チタンの全身ばく露試験 (4 時間/日、10 日間) では、8.88mg/m<sup>3</sup> のばく露で、ばく露後 1-2 週間で肺胞マクロファージ数の増加が確認され、3 週間で回復した。(Grassian et.al. (2007))
- 25nm 及び 80nm の二酸化チタンの経口ばく露試験 (単回) では、5g/kg のばく露で腎臓影響 (BUN)、血清 LDH、 $\alpha$ HBDH (心筋障害)、肝臓の病理 (中心性静脈部の肝細胞ネクロシス) が確認されたが、心臓、肺、睾丸 (卵巣)、及び脾臓組織には病理学的異常はなかった。(Wang et.al. (2007))

##### ◆ 生態影響に関連した情報

- 藻類の成長阻害試験 (OECD テストガイドライン 201 等) では EC50 は 44mg/L (直径 25nm) 及び 50mg/L 以上 (直径 100nm) であった (Hunde-Rinke & Simon (2006))。また、直径 136-150nm のものでは中程度の影響があるとされた。(Warheit et.al. (2007))
- ミジンコの急性遊泳阻害試験 (OECD テストガイドライン 202、U. S. EPA プロトコル) では、影響は小さいとした報告がある。(直径 136-150nm、Warheit

et. al. (2007))、500ppm 以上 (直径 100-500nm、Lovern & Klaper (2006))

- 直径 25nm 及び 100nm の二酸化チタンを用いたミジンコの急性遊泳阻害試験 (OECD テストガイドライン 202 等) では (作用濃度最大 50mg/L)、照明をした場合に影響が大きくなったとした報告がある。(Hunde-Rinke & Simon (2006))
  - ミジンコの遊泳活動の観察事例では、最大濃度 2.0ppm (直径 10-20nm) で Hopping、拍動数、付属肢の活動、尾爪等で影響は認められなかった。(Lovern et. al. (2007))
  - ニジマスを用いた魚類急性毒性試験 (OECD テストガイドライン 203) (直径 136-150nm) では影響は小さいとされた。(Warheit et. al. (2007))。
  - ニジマス未成魚に 0.1-1.0mg/L の二酸化チタン (直径 21nm) 懸濁液中で飼育したところ (14 日間)、粘液の放出、鰓の水腫・肥厚が見られ、1.0mg/L では試験後半に位置の喪失 (縦に泳ぐ) ものが観察されたが、それ以外の異常は見られず、血液性状等でも大きな変化はなかった (粒子直径: 21nm⇒24.1±2.8nm、一部 160nm サイズの凝集物も認められた)。(Federici et. al. (2007))
- (二酸化チタンに関する水生生物を用いた有害性試験結果を表 3 にまとめた。)

#### (5) 銀ナノ粒子 (別添 8/9)

##### ◆ ヒト健康影響に関連した情報

- 最大 61  $\mu$ g/m<sup>3</sup> を噴霧してラットにばく露させた試験では (28 日間反復、6 時間/日、5 日/週)、肺組織中の銀濃度はばく露量に依存したが、体重や血液性状に優位な影響は確認されなかった。(Ji et. al. (2007))

##### ◆ 生態影響に関連した情報

- 銀ナノ粒子 (でんぷんあるいは BSE<sup>4</sup> でコーティングしたもの、直径 5-20nm) をゼブラフィッシュの胚にばく露させた試験では (濃度 5-100  $\mu$ g/mL)、濃度の増加につれて茶色に着色し、粘膜で覆われるようになった。また、LC50 は 25-50  $\mu$ g/mL の間にあった。(Asharani et. al. (2008))
- 11.6nm の銀ナノ粒子 (試験の最終時の直径は 5-46nm) をゼブラフィッシュの卵にばく露させ、暗視野顕微鏡で観察した結果では、卵膜の孔を通じて胚に侵入することが確認された。(Lee et. al. (2007))

---

<sup>4</sup> bovine serum albumin

表3 二酸化チタンに関する水生生物への影響試験結果

136.0-149.4	・水分散 ・PBS分散	遺伝子毒性試験(復帰突然変異試験)(OECDテストガイドライン471)	陰性	Warheit et.al.(2007)
136.0-149.4	・水分散 ・PBS分散	遺伝子毒性試験(染色体異常試験)(OECDテストガイドライン473)	陰性	Warheit et.al.(2007)
136.0-149.4	・水分散 ・PBS分散	藻類成長阻害試験(OECDテストガイドライン201) EC50	中程度の影響	Warheit et.al.(2007)
25nm (主にアナターゼ)	水分散	藻類成長阻害試験(ISO8692、OECD201、DIN38412-33) EC50	50%影響濃度は44mg/L	Hund-Rinke & Simon(2006)
100 (100%アナターゼ)	水分散	藻類成長阻害試験(ISO8692、OECD201、DIN38412-33) EC50	50mg/L以上	Hund-Rinke & Simon(2006)
136.0-149.4	・水分散 ・PBS分散	ミジンコ急性遊泳阻害試験(OECDテストガイドライン202) EC50	影響は小さい	Warheit et.al.(2007)
100-500	水分散 (超音波)	ミジンコ急性遊泳阻害試験(USEPAプロトコル(EPA(1994))) EC50	500ppm以上	Lovern & Klaper(2006)
25nm (主にアナターゼ)	水分散	ミジンコ急性遊泳阻害試験(OECD202他) 48hrEC50	最大作用濃度50ppm 短時間の強い照明(250W、30分)では、照明なしの場合よりも影響が大きくなった	Hund-Rinke & Simon(2006)
100 (100%アナターゼ)	水分散	ミジンコ急性遊泳阻害試験(OECD202他) 48hrEC50	同上	Hund-Rinke & Simon(2006)
10-20nm	THF分散	行動観察:hopping、心臓拍動数、付属肢、尾爪等	Hopping: -、拍動数: -、付属肢の活動: -、尾爪: -、回復状況: -	Lovern et.al.(2007)
136.0-149.4	・水分散 ・PBS分散	魚類急性毒性試験(OECDテストガイドライン203) LC50	影響は小さい	Warheit et.al.(2007)

平均直径: 21nm、比表面積 50±15m <sup>2</sup> /g	水分散 (超音波)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・血液性状</li> <li>・組織中金属等の濃度</li> <li>・行動観察</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・鰓の膜の水腫及び肥厚。</li> <li>・ヘマトクリット等の血液性状や組織のNa+K+濃度、金属濃度(Na, K, Ca, Mn)は変化はないが、CuとZnは特に脳で濃度依存的に増加した。</li> <li>・Na+K+ATPase活性は、鰓及び消化管では顕著に減少し、脳では減少したが、肝臓では変化は無かった。</li> <li>・鰓のグルタチオン濃度は有意に増加したが、脳及び消化管では変化は無かった。</li> <li>・試験後半に粘液を放出するものが多かった。</li> <li>・1.0mg/Lの試験区では試験の後半で位置を喪失した(水中で縦になる)以外は異常行動はなかった。</li> </ul>	Federici et.al.(2007)
--	--------------	--	---	-----------------------

(6) その他の金属及び金属酸化物 (別添 8/9)

◆ ヒト健康影響に関連した情報

- 酸化マンガン (MnO、Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>、Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、MnO<sub>2</sub> の混合物、直径 30nm) をラットに鼻腔注入 (5-7 μg/匹、6 時間/日、5 日/週、12 日間) した試験では、11 日目でも肺の炎症はみられなかったが、ばく露 12 日後に嗅球、肺、線条体、前頭皮質、小脳で Mn 量が増加していた。(Elder et. al. (2006))
- 酸化亜鉛 (直径 50-70nm) をラットの気管内に点滴した試験では (1.5mg/kg)、TNF-α はほとんど活性していないが、IL-6 が産生した。(Sayes et. al. (2007))
- 銅ナノ粒子 (平均直径 23.5nm) を用いた急性毒性試験 (OECD テストガイドライン 425) では、LD50 は 413mg/kg であった。また、腎臓及び脾臓の形態学的変化、血清 BUN、Cr、TBR、ALP に対する影響が認められた。(Chen et. al. (2006))

(7) 量子ドット (別添 9/9)

◆ ヒト健康影響に関連した情報

- ラットに対する CdTe の量子ドットのばく露試験 (静脈注射、2 μmol/kg) では、投与後 2 時間で自発運動の低下が確認されたが、24 時間後には増加し、その他の事項では影響は認められなかった。(Zhang et. al. (2007))
- CdSe の量子ドット (37nm) をヘアレスマウスに皮膚注射した試験では、皮膚への沈着以外に、流入領域リンパ節や肝臓、その他の臓器に分布することが確認された。(Gopee et. al. (2007))

◆ 生態影響に関連した情報

- 淡水産の二枚貝を用いた CdTe の量子ドット (直径 100nm 未満は全体の 15%) のばく露試験では (1.6-8mg/L)、CdTe 濃度の増加により、K542 細胞による免疫機能 (細胞殺傷能) の増加、脂質過酸化酵素活性 (鰓) の上昇、DNA の損傷 (鰓) 等の結果が確認され、免疫系及び鰓・消化管に対して酸化ストレスを与えるとした報告がある。(Gangne et. al. (2008))

(8) シリカ (別添 9/9)

◆ ヒト健康影響に関連した情報

- シリカ (10nm) を用いたラットに対するばく露試験では、20mg の気管内滴下で、ばく露後 1, 2 か月で細胞小結節 Stage I で、ナノ粒子のほうが線維の形成が軽度とした報告があり (Chen et. al. (2004))、同様に 12, 50, 300-2000nm のシリカ粒子をラットに気管内滴下した試験では、肺毒性は粒子の大きさよりも界面の活性状況に影響されるとした報告がある。(Warheit et. al. (2007))