

工業用ナノ材料に関する 環境影響防止ガイドライン

平成21年3月

ナノ材料環境影響基礎調査検討会

目 次

| | | |
|-------|--------------------------------------|----|
| 第1章 | はじめに | 1 |
| 1. 1 | 背景及び目的 | 1 |
| 1. 2 | 本ガイドラインの位置付け | 2 |
| 第2章 | 当面の対応の基本的考え方 | 4 |
| 第1節 | 本ガイドラインで対象とするナノ材料とは | 4 |
| 第2節 | ナノ材料の使用の実態と環境放出の可能性 | 5 |
| 第3節 | 管理方策 | 7 |
| 3. 1 | 管理の方針 | 7 |
| 3. 2 | 当面採るべき対策 | 8 |
| 第3章 | 今後の課題 | 12 |
| | 「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」の検討委員及び開催状況 | 14 |
| | (参考1) ナノ材料の定義・用途等 | 15 |
| | (参考2) ナノ物質に関する用語 | 18 |
| | (参考3) ナノ材料がヒトの健康、動植物へ影響をもたらす可能性 | 19 |
| | (参考4) ナノスケールの粒子の測定方法及び環境中挙動の現状 | 25 |
| | (参考5) ナノスケールの粒子の測定事例 | 31 |
| | (参考6) ナノ材料の環境中挙動に関する情報 | 33 |
| | (参考7) ナノ材料の試験方法及び今後の課題 | 35 |
| | (参考8) 既存技術によるナノ材料の除去の可能性 | 38 |
| | (参考9) 排ガス中のナノ材料の除去のためのフィルター | 40 |
| | (参考10) ナノ材料の管理方策に関する既存指針等における廃棄物の取扱い | 41 |
| 参考資料1 | 生物影響に関する試験結果 | 42 |
| 参考資料2 | 測定方法の原理・特徴（主に作業環境の測定方法） | 46 |
| 参考資料3 | 環境中への放出の可能性（整理集約表） | 47 |
| 参考資料4 | 国内外の取組の現状と動向（整理集約表） | 50 |
| | 参考資料リスト | 51 |

第1章 はじめに

1. 1 背景及び目的

ナノテクノロジーは、微小な大きさ及び特殊な形態や化学構造等の特性を持ち、従来の素材にはない物性を示す新素材の開発・利用に関する技術分野である。

現在、世界各国で研究開発が推進されているところであり、日本でも第3期科学技術基本計画（平成18～22年度）において、第2期基本計画に引き続いて重点推進4分野の一つに取り上げられている。また、環境省においてもナノテクノロジーによる環境制御、環境計測、汚染の除去・修復等の応用研究を平成15年度以降実施しているところである。

ナノテクノロジーは、革新的な機能や用途、雇用拡大といった側面も含めて、エネルギー・環境、医学、通信、運輸等の様々な分野において今後の国民生活に便益をもたらすことが期待されているが、その利用を我々が享受するためには、利用面での研究開発とともに社会受容性の向上を図ること、特にヒト及び動植物へのばく露が懸念される工業的使用を目的にして意図的に製造されるナノ材料（ナノマテリアル）（以下、「ナノ材料」という。）がヒト及び動植物に影響を及ぼすことのないよう、管理が適切に行われることが必要である。

一方、我が国において、法的な枠組みによるナノ材料に対する管理・規制措置は、現時点では講じられていない。その背景として、その管理措置の前提となるべきナノ材料のヒトや動植物への影響についての知見が必ずしも十分ではないこと、新たに開発されたナノ材料は利用の拡大が見込まれているものの、その見通しについても先端技術として取り扱われていることから情報公開が必ずしも十分ではなく、また将来的には新たな特徴を有するナノ材料の開発が考えられるなど、現時点で将来にわたるばく露経路を同定することが困難であること等が挙げられる。これらに関する評価手法については、国際的に検討・評価されている現状であり、各ナノ材料の詳細なリスク評価の実施にはまだ時間を要するものと考えられる。

（参照：参考資料4－国内外の取組の現状と動向）

現状では、ナノ材料のヒトや動植物への影響に関しては特定の評価はなされていない。しかしながら、ナノ材料の中には、ヒト健康被害が発生した物質と形状が似通っている物質や、従来から流通しており、粒子サイズに関わらず物質としての発がん性について一定の評価がなされているものもある。これらの物質が環境中に放出された後にその有害性が明らかになった場合に、当該物質を回収し、かつ環境を回復するために多大なコストを必要とするであろうことは想像に難くない。また、環境経由のばく露がおこれば、有害性の評価が確定される前に、ヒトや動植物への被害が顕在化するおそれもある。

我が国及び世界においては、有害性の同定がなされないままに使用が拡大し環境中への放出が起こった結果生じた深刻な健康被害を経験している。同じ過ちを重ねることはできない。アジェンダ21の第15原則でも予防的な取組が求められているが、これは被害が発生した際に、

原因事業者に求められる多大な負担を軽減する意味でも重要な取組である。このため、ナノ材料の利用にあたっては、そのような被害を発生させるべく露の防止を未然に図ることが肝要である。

過去の経験を踏まえ、環境政策においては、ヒトの健康や生活環境に影響を及ぼす汚染物質について、規制等に基づいた環境への排出抑制等の対応が取られているが、ナノ材料の特徴については社会が普遍的な知見を共有するに至っていない。

その一方で、ナノ材料の物理化学特性・ヒトや動植物への影響及び用途については、それを取り扱う事業者等（製造する事業者、使用し製品として利用する事業者、運搬あるいは廃棄物として処理する事業者等）が最も多くの知見を有することに鑑みれば、ナノ材料の利用が現に拡大しつつある現時点においては、ナノ材料を取り扱う事業者等によって、環境中への放出を防止するための自主的な管理が行われることが期待される。

本ガイドラインは、このような背景を踏まえ、ナノ材料を取り扱う事業者等が適切な管理措置を講じることで、環境経路でヒトや動植物がナノ材料にばく露されることによって生ずる影響を未然に防止することを目的として策定し、あわせて現時点で得られている知見及び今後の課題についても整理したものである。

1. 2 本ガイドラインの位置付け

本ガイドラインは、事業者等が環境保全上の適切な管理方策を選択するための情報についてまとめたものである。これらの情報を以下に示す3つの観点から整理した。

(1) 現時点での情報及び知見

現時点で得られる情報及び知見を収集・整理し、それらを広く公開し、事業者等、国、及び市民が情報を共有することにより、不正確な情報による漠然とした不安を解消するとともに、現時点で可能な対策を検討するための基礎情報や知見を提供する（情報は主に参考及び参考資料として添付した）。

(2) 当面の対応の基本的考え方の提示

ナノテクノロジーの責任ある開発を推進する観点から、環境保全に係る予防的取組の必要性に鑑み、国や事業者等が取り組むべき事項、留意すべき点等を提示する。

(3) 今後の課題

事業者等の自らによる適切な管理の促進のため、未だ解明されていない問題を整理し、環境経路のヒトあるいは動植物に与える影響防止の観点から、今後優先的に知見やデータの収集あるいは技術開発等に取り組むべき課題及び方法を明確化し、国等と連携すべき内容を呈示する。

なお、ナノ材料がヒト及び動植物に影響をもたらす可能性は、本ガイドラインが対象とする

環境経由のばく露以外にも、事業場内で作業従事者が受けるばく露及びナノ材料を含んだ製品の使用時に消費者等が受けるばく露が想定される。これらについても未然防止の取組が必要であるが、このための対応については厚生労働省において検討され、通知あるいは報告書が公表されているところである¹ ²。また、経済産業省においても、事業者等の自主的取組の観点からの対策について検討が行われている³。

本ガイドラインは、現状で確認できたナノ材料の使用状況を前提としたもので、新素材や新製品の開発によって環境中への新たな放出が生じる可能性がある。また、それらの中には現時点では予想されないような環境挙動や生物影響を示すものも考えられる。このような場合についても、本ガイドラインに示した基本的考え方に沿って、事業者等により適切な管理手法が選択されることが期待される。

※本ガイドラインの作成に当たっては、有識者、学識経験者からなる「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」を開催し、5回にわたる検討会等を通じ、委員より御意見、御助言等を得つつ取りまとめた（参照：巻末－「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」の検討委員及び開催状況）。

¹ 「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（ナノマテリアルについて）報告書」（平成20年11月）

<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/11/dl/s1126-6a.pdf>

² ナノマテリアルの安全対策に関する検討会 報告書

³ 「ナノマテリアル製造事業者等における安全対策のあり方研究会 報告書（案）」（平成21年2月）

第2章 当面の対応の基本的考え方

化学物質による環境リスクを管理する場合、その有害性の程度を確認し、その程度に応じて放出量を一定のレベルに抑制することで、ヒトや動植物へのばく露の程度を影響のおそれの低いレベルに制御するといったような管理方策を採ることが必要とされる。しかし、ナノ材料の場合、前章で整理したとおり、生物影響に関する評価が定まっておらず、環境影響を防止するために必要なばく露管理レベルが設定できない状況である。

(参照：参考3－ナノ材料がヒトの健康、動植物への影響をもたらす可能性、参考4－ナノ材料の測定方法及び環境中ばく露の現状、参考5－ナノ材料の測定事例、参考6－ナノ材料の環境中挙動に関する情報、参考7－ナノ材料の試験方法及び今後の課題、参考資料1－生物影響に関する試験結果、参考資料2－測定方法の原理・特徴)

しかし、ナノ材料については、生物影響の懸念を示す試験結果等が報告され、また、一旦環境中に放出されれば環境浄化が困難なことに鑑みれば、環境中への放出を可能な限り防止する対策を講じることで、それらが及ぼし得る影響を未然防止する観点が必要である。

本章では、ナノ材料が環境経路でヒト健康や動植物に及ぼす影響を未然防止するための当面の基本的考え方として、使用実態と環境放出の可能性を考慮し、それらを抑制するために講ずべき管理方策についてまとめる。

第1節 本ガイドラインで対象とするナノ材料とは

ナノとは、10のマイナス9乗（ 10^{-9} ）を表す言葉であり、長さの単位として用いられる場合、1ナノメートル（1nm（ 10^{-9} m））とは1メートルの10億分の1である。人や生物を構成している細胞の大きさがマイクロメートル（1メートルの100万分の1）というオーダーのサイズであるのに比べ、ナノメートルは分子の大きさのオーダーのサイズであり、生体内への取り込まれやすさ、取り込まれた後の挙動や反応が、従来扱われてきた物質とは異なる可能性がある。

本ガイドラインで対象にする物質は、その大きさ（一次粒径あるいは少なくとも1辺の長さ）がナノスケール（1nm～100nm）で表されるものである。これらの起源には、①自然界に元々存在するもの、②人間活動による燃焼や摩擦により非意図的に発生するもの、③人工的にある用途のため意図的に製造されるもの、が挙げられる。環境中への放出を管理するという観点からは、主に②及び③が対象となるが、②についてはその発生源等が多様であり、また、環境中への放出の実態や挙動等の把握が現時点の技術では容易でない。一方、③については、事業者等の選択により今後様々な用途でその利用の拡大が見込まれるものの、その管理方法あるいは利用方法によっては環境中への放出の結果生じるばく露を低減しヒト健康や動植物へ与える影響の未然防止が可能であると考えられるため、本ガイドラインでは、③の工業的に製造・使用されるナノスケールの物質（ナノ物質）及びそれらにより構成される構造体（ナノスケールの構造体を持つ物体、ナノ物質が凝集したものを含む）を「ナノ材料」と呼び、扱うこととする。

(参照：参考1－ナノ材料の定義・用途等、参考2－ナノ物質に関する用語)

第2節 ナノ材料の使用の実態と環境放出の可能性

ここでは、ナノ材料の使用の実態とそれに伴う環境放出の可能性について、文献調査及び事業者等からのヒアリング等により得られた知見を取りまとめた。

ナノ材料の製造、使用、廃棄といったライフサイクル、及びその過程で一般環境にナノ材料が放出される全般的な経路を次頁の図に示す。ここでは、特定のナノ材料に着目せず、一般的に想定される経路を抽出した。

ナノ材料の製造や加工する際には、ナノ材料の取扱方法や種類に応じて排ガスや廃水、廃棄物に含まれてナノ材料が排出される可能性がある。一方、ナノ材料を用いた製品の使用に際しては、ナノ材料が環境中に放出されるおそれがある。

例えば、化粧品に含まれるナノ材料は洗顔時に下水に流入し、下水処理場で一部汚泥として回収され、処理できない部分は公共用水域に流れ込む。回収されたナノ材料を含む下水汚泥は廃棄物（産業廃棄物）となり、直接又は中間処理を経た後、焼却処分あるいは埋立処分されると想定される。

また、ナノ材料を含むプラスチック製品が不用になると廃棄される。ナノ材料を含む廃棄物を焼却すると、種類によっては熱分解されるが、熱分解されない無機系のはばいじんや燃え殻に残存し、一部は大気中に放出される。これらのプラスチック廃棄物をリサイクルする場合も、リサイクル処理過程で一部は排水中に移行し、汚泥として回収されない部分は公共用水域に放出されると想定される。

このようなナノ材料の製造、使用、廃棄の状況に関する種々の情報を整理した上で、ナノ材料が環境中に放出される経路を推測した。なお、各材料の検討結果は参考資料3に集約した。

なお、現時点では知見が乏しいが、ナノ材料を大量に埋立処分を行う場合、廃棄物処分場跡地の改変及び利用の際にナノ材料を環境中に拡散させるおそれがある。

（参照：参考資料3－環境への放出の可能性）

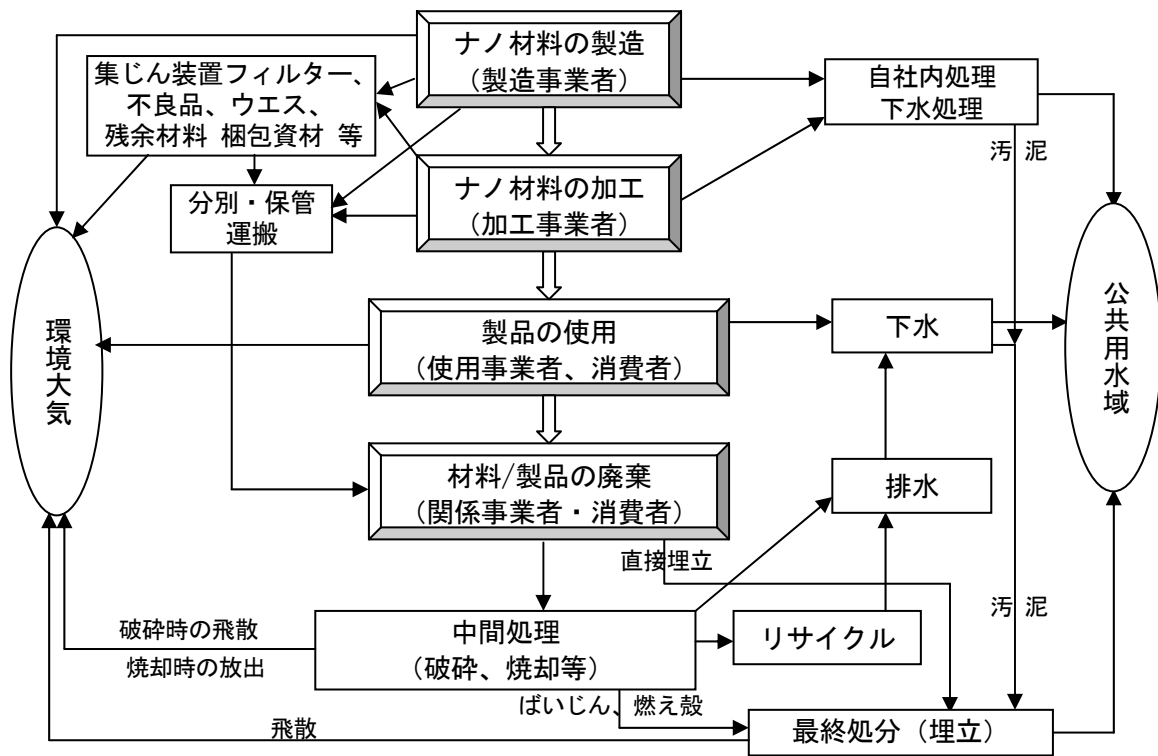


図 製造、使用、廃棄に伴うナノ材料の環境中への放出経路の概要（全体想定図）

第3節 管理方策

3. 1 管理の方針

ナノ材料は、製造・使用・廃棄に伴い適切な措置が取られない場合、環境中に放出され、ヒトあるいは動植物がばく露する可能性がある。このようなばく露を未然に防止するための管理方策としては、環境媒体への放出経路を特定し、それを踏まえたナノ材料を放出しない製造装置又は施設、製品設計、分別・管理等が行われることが基本である。また、外部放出の可能性がある場合には、それを捕捉し、除去する工程を置くことが必要となる。仮に、外部放出されたナノ材料を除去する方策を採ることができない製造装置又は施設等があった場合、事業者等により安全性が十分担保されない限り、他の候補物質の活用等を検討するべきである。

管理方策としては、これらの直接的管理技術に加えて、その効果を検証・確認するための測定、生産量や廃棄量等の記録・保管、生物影響等に関する情報の収集、ばく露量の測定、リスク評価による安全性の確認等の対応も含まれる。

個別の環境媒体への放出経路は以下のように概要される。

(1) 大気への放出の可能性

ナノ材料の大気放出の可能性としては、まず製造又は加工装置からのナノ材料の放出・飛散がある。

また、ナノ材料の輸送時の大気への飛散、梱包又は開封時の飛散の可能性もある。

光触媒機能を有する塗料及びナノ材料を含むスプレーなど、製品の使用時にもナノ材料が大気中に放出される可能性がある。光触媒機能を有する塗料（アナターズ型二酸化チタン等）では、長期間の使用による劣化及び剥離に伴い、ナノ材料が環境中に放出される可能性がある。一方、ナノ材料を含むスプレーの場合は、その使用時に環境中に直接的に放出されることになる。

(2) 水への放出の可能性

製造工程又は加工工程から排出される排水や清掃等の作業により生じた廃水に含まれるナノ材料は公共用水域に放出される可能性がある。水質汚濁防止法特定施設等から排出される排水は、一般には事業者等が排水処理施設を設置し、凝集沈殿等の処理を行い、汚染物質を除いてから排出されるが、ナノ材料については除去効率が十分かどうかは現状では不明であり、十分な効率が得られないと、公共用水域に放出される可能性がある。

化粧品や日用品に使用されているナノ材料（二酸化チタン、酸化亜鉛、銀、ポリスチレン等）は、その使用中（洗顔等を含む）に一般家庭下水に流入する。一般家庭から排出される下水は通常、下水処理場で処理され、その過程で活性汚泥への吸着や凝集沈殿で除去される割合は高いと考えられるが、それらの処理による除去効率は現状では不明であり、十分な効率が得られないと、公共用水域に放出される可能性がある。

(3) 廃棄物の排出の可能性

製造・加工や使用に伴ってナノ材料を含む様々な廃棄物が発生する。事業場で使用したフィル

ター（HEPA フィルターなど）、清掃時に使用した紙類、布類、使用済みの運搬容器や袋等が廃棄物として排出される可能性がある。また、不良品や開発用に使用したナノ材料が不要となった場合等、ナノ材料自体が直接廃棄される場合も考えられる。事業所内でナノ材料を含む排ガスや排水の処理を行う際にも、ばいじんや汚泥などの廃棄物に含まれてナノ材料が環境中に排出される可能性がある。

これらの廃棄物が、排出事業者によって自社内で処理されるにせよ、廃棄物処理業者に引き渡されて処理されるにせよ、保管・廃棄時の取扱いが適切でなかったり、その性状に応じた処理方法が採られない場合には、廃棄物処理過程を通じてナノ材料が環境中に放出される可能性がある。

中間処理として破碎処理が行われると、破碎時にナノ材料が飛散するおそれがある。

ナノ材料又はナノ材料を含む製品が適切な条件下で焼却処理された場合は、現在一般的に使用されている炭素系のナノ材料は、我が国で規定されている焼却施設の性能（800℃以上、滞留時間2秒以上）では分解される可能性が高い（参考10参照）。しかし、耐火性能の高い材料が開発された場合は、その物理化学特性に準じた処理条件を選定することが必要である。

一方、無機系のナノ材料は焼却時に分解されるとは限らず、その挙動及び焼却排ガスの集じん装置の捕集効率が不明であり、一部は集じん装置で捕集できずに大気中に直接放出される可能性がある。

焼却施設で生じたばいじん及び燃え殻で溶融等の固化処理が施されたものは環境中に再放出される可能性は少ない。そのまま埋立処分された場合は覆土等の措置により環境中への飛散は低減できるが、運搬時又は積み降ろし時の飛散の可能性がある。

廃水処理で生じた有機系の汚泥は、コンポスト化や焼却処分が実施されている。

焼却処分される場合は、汚泥に含まれるナノ材料も炭素系のものは適切な条件下では分解される可能性があるが、無機系のものは一部が集じん装置で除去できず大気中に放出される可能性がある。

コンポスト化では炭素系のナノ材料でも分解・無害化されにくいと考えられ、コンポストの施用等に伴い、一般環境中への飛散の可能性が残る。

分解・無害化されないナノ材料は最終的には埋立処分されることになる。、覆土等の措置により環境中への飛散の可能性は少ないが、埋立処分場の跡地利用等における掘り起こし等の将来的な改変時の環境への放出の可能性については今後も検討が必要である。埋立処分場からの浸出水への溶出については、土壌等による吸着の可能性も考えられるが関連情報が乏しく、現状では環境中への放出の可能性は不明である。

3. 2 当面採るべき対策

前節の整理を基に、事業者等は自らが扱うナノ材料が、その性状や形状、種類と加工工程、用途等から考えて、どの段階でどのような環境媒体への放出の可能性があるのか、考えられる放出経路を具体的に特定することが必要である。その上で、現実の放出を防止するため、特定された

放出経路ごとに、適切な管理技術を個別に検討する必要がある。

ナノ材料の環境中への放出管理のためには、各事業者がそれぞれの事情に応じた対応を取ることになるが、以下に一般的に採ることが推奨される対策をまとめた。各事業者が対応を検討する際の参考に利用されることが期待される。

なお、現在商用化されているナノ材料の具体的な対応策について記述するが、新たに開発されたものについては、それらの特性を十分勘案し、適切な措置を講じる必要がある。

(参照：参考 8－既存技術によるナノ材料の除去の可能性、参考 9－排気中のナノ材料の除去のためのフィルター、参考 10－ナノ材料の管理方策に関する既存指針等における廃棄物の取扱い)

(1) ナノ材料の製造事業場

ナノ材料の製造事業場及び加工事業場では、取り扱っているナノ材料の種類の特性と、また集中的な放出管理が可能である。これらの事業場では、ナノ材料の環境中への放出を抑制するために、可能な限り事業場外への放出が行われない措置を実施することが適当である。

- 製造、梱包、運搬等ナノ材料の取り扱う経路を確認し、閉鎖された場所や密閉容器等を使用する工程を閉鎖系に変更するなど、ナノ材料を放出しない措置を施す。

また、工程の閉鎖化又は密閉化が困難である場合には、環境中にナノ材料が放出されないよう適切な処理工程を置くことが適当である。

- 製造装置からの放出を防止するため、排気装置を外部への拡散防止に有効な箇所に設置する。ナノ材料のために設置された排気装置では、使用しているナノ材料の性状（粒子状のナノ材料は繊維状のものに比べてフィルターによる捕集が困難である）を勘案し、排気部分に環境放出を防止できるフィルターを使用する。

厚生労働省が「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報告書(2008年11月)」により推奨している局所排気装置(ナノマテリアルの粒径又は凝集の状態、フィルターの捕集能力等を調査し、対象とするナノマテリアルが捕集可能な適切なフィルターを選定するようにし、調査を行わない場合には HEPA フィルター又はこれと同等の性能を有するフィルターの使用)を使用することで、放出抑制には効果があると考えられるが、適正な頻度で交換する等、取扱い上の管理を十分に行う。

- ナノ材料を含む排水は必ず排水処理施設による処理を施すとともに、ナノ材料を含むと考えられる汚泥は、その性状に応じて焼却（炭素系ナノ材料）や固化（無機系ナノ材料）といった措置を施す。
- 取り扱っているナノ材料について、用いた高性能フィルターの除去効率や排水処理による除去効率についての情報収集を行う。

多くの場合、環境中への放出の主な経路は、ナノ材料を含む廃棄物を扱う際に生ずると推測される。特に、不良品や開発用に使用したナノ材料を廃棄する場合には、純度が高く、まとまった

量を扱うことになるため、それらを環境中に拡散させないための措置が必要となる。また、製造事業者は製造しているナノ材料の適正な処理方法を検討・確認しておくことが適当である。

- 廃棄処理においては性状に応じて焼却（炭素系ナノ材料）や固化（無機系ナノ材料）といった措置を施す。

使用済みのフィルター、清掃時の紙・布類、不要になったナノ材料、ナノ材料の運搬容器や袋等、ナノ材料が付着している廃棄物あるいはナノ材料そのものは、他の廃棄物と区別して密閉容器に保管し、性状に応じた廃棄物処理が可能なように、含まれるナノ材料の種類や適切な処理方法を表示した上で、自社で処理を行うか又は廃棄物処理事業者に引き渡す。処理を業者に委託する場合、WDS（廃棄物データシート）での明示、及びナノ材料の種類に応じた処理方法を指示する。

一方、ナノ材料を含む廃棄物を自社で処理する場合においては、ナノ材料の種類に応じて、(3)に準じた適正な処理を実施する。

- なお、炭素系のナノ材料が付着したグラスフィルター、無機系のナノ材料が付着した布類といった、そのままでは適正な処理が困難な廃棄物は、専門家に相談の上、環境中に放出しない措置を講ずる。

(2) ナノ材料を含む製品の製造事業者

ナノ材料が製品に使用される場合、製品製造事業者はナノ材料をナノ材料自体の製造事業者から購入しているケースが多い。

ナノ材料を含む製品については、使用時の放出の可能性、廃棄後の処理の必要性について、製品の企画・設計の段階において配慮し、製品を経由したばく露の防止策、表示等による利用者への注意喚起等を検討することが適当である。

- ナノ材料を用いた製品の製造を予定する場合、その使用時の放出（例：スプレー）、使用中の放出（例：塗料）、使用後の放出（例：化粧品）、廃棄時の放出の可能性について考慮する。
- 基本的には、ナノ材料を放出させない用途、設計を検討する。仮に環境への放出が避けられない場合は、他の候補物質の活用を検討する。当該ナノ材料の使用が不可避な場合、そのヒトや動植物への影響、環境残留性等について、専門家へ相談しつつ設計・販売を行う。また、それらの評価結果を利用者に明らかにすることを検討する。

(3) ナノ材料の廃棄及びナノ材料を含む製品の廃棄時

廃棄物に含まれるナノ材料の適切な処理方法が明示されているか、処理事業者に明確に伝達される場合は、中間処理施設を含めて、記載された注意事項に留意した廃棄処理が可能となる。廃棄物処理においては、性状によって焼却（炭素系ナノ材料）や固化（無機系ナノ材料）による埋立といった適切な措置を実施することが適当である。

- ばいじんや燃え殻、乾燥した汚泥などの飛散しやすい廃棄物を取り扱う時は、湿潤状態に保つ、二重梱包、密閉容器保管といった飛散防止措置の実施の上、できる限り飛散させないように丁寧に取り扱う。

- 破碎処理を行う際には製品に含まれるナノ材料が飛散することがないように、湿潤化等の適切な処理を施す。なお、不必要な破碎も避ける。

第3章 今後の課題

ナノ材料の環境影響の未然防止のためには、今後更に以下の点について検討を深める必要があると考えられる。本ガイドラインはナノ材料を製造・使用・廃棄する事業者等を対象としたものであるが、事業者等の自らの努力により情報収集等を行うのみならず、国との連携により管理方策の改良を行うことが有効であろう。例えば、現時点での知見をとりまとめた本ガイドラインについては、今後とも国及び事業者等が収集した科学的知見に基づき、適時、見直しを行う必要があるが、その際には国と事業者等の協力・連携が必要となろう。

(1) ナノ材料に関する情報の収集整理

ナノ材料については、その物理化学特性やヒトの健康及び動植物への影響等の基礎的な情報が徐々に得られつつあるが、今後の適切な利用拡大及び管理方策の検討にあたっては、これら情報を収集整理することが有効である。

海外においては企業の自主的な情報提供が実施されている。

今後、国において情報提供システムの整備がなされた場合には、ナノ材料の物理化学特性や生物影響に関する情報を有する企業や研究機関は、積極的な情報提供が望まれる。

また、ばく露評価のための基礎資料として重要である生産量や取扱量、廃棄量といった情報については、事業者等が記録し、保管することが必要である。

(2) ヒト及び動植物への影響の確認（試験方法）

ナノ材料がヒトの健康及び動植物へ及ぼす影響に関する情報は徐々に得られつつあるが、まだ、安全性を確保するために必要十分な情報が得られた状況にはない。

今後は、それらの影響に関する試験の積極的な推進が必要であるとともに、それらの結果に関する情報の交換を促進する機構・システムの構築が必要である。特に、ナノ材料が環境中で凝集されても、生体内に取り込まれると、再び分離して生体に影響を及ぼすという可能性も指摘されており、これも含めた体内での挙動についての検証が必要である。また、生体内での残留性、慢性的な影響について、ナノ材料の物理化学特性を考慮しつつ出来る限り情報収集をすることが望まれる。

また、これらの知見を得る際にも、ナノ材料の物理化学特性、目的とする性能や用途といった情報が不十分なため、有効な試験方法（試料の調製方法を含む）やエンドポイントが確立していない。試験方法等については現在 OECD 等の国際機関で検討中であり、国はその活動に積極的に参画するとともに検討結果を周知する必要があるとあり、事業者等も自らが有する情報を提供するなど、国の活動への協力が求められる。

(3) 測定方法

ナノ材料の測定では、一般環境中にはナノ材料以外にも同程度の大きさの粒子が存在するため（第2章第1節を参照）、大きさだけでは同定ができず、成分分析等によるナノ材料の特定が必要になる。また、一般環境中での微量な汚染物質の測定は容易ではないことが知られている。現状

では、ナノ材料を扱う事業場の作業環境については複数の測定技術が適用できるとされているが、実際には上記のような問題点が残されており、その測定事例は必ずしも豊富ではない。

ナノ材料の分析試料の採取方法として、繊維状のナノ材料については石綿と類似の手法が可能と考えられるが、粒子状ナノ材料については、特に水試料中のナノ材料についての分級技術等が未検討である。

また、成分分析については、金属系のナノ材料は定量下限が必ずしも十分でないという問題は残るものの、PM2.5の分析等で使用されている分析方法の活用が可能であるが、炭素系のナノ材料で有機溶媒に溶解しないもの（カーボンナノチューブ等）については分析が困難であり、更なる検討を要する。

このため、国と事業者等が協力してナノ材料の計測技術の検討や一般環境中での測定の可能性についての検討を進める必要がある。

（４）環境中での挙動、実態把握

ナノ材料の環境中での挙動については、推測情報はあるものの、実際の調査結果はない。ばく露経路の推定のためには環境中の挙動に関する情報は必須であり、また環境試料の的確な採取場所や採取方法等を計画する上でもナノ材料の環境中での挙動に関する情報の収集が必要である。

国と事業者等が協力して、測定方法の検討とあわせて、一般環境中でのナノ材料の存在状況等に関する情報の収集、蓄積を行う必要がある。

（５）管理技術

現状の排ガス処理、排水処理、廃棄物処理で用いられている技術のナノ材料の除去性能等については不明な点が多い。

特に以下のような点について、既存技術の有効性の確認及び新技術の検討をする必要がある。

- 排水処理施設におけるナノ材料の除去効率
- バグフィルター等の大型の集じん装置によるナノ材料の除去効率
- 焼却処分時のナノ材料の挙動（特に、無機系のナノ材料について、大きな粒子としてばいじんや燃え殻中に残存する可能性等）
- 埋立処分後の浸出水への移行挙動（土壌への吸着等）
- 破碎処理を実施する際の製品中のナノ材料の飛散状況及び飛散防止技術
- ナノ材料を含む塗料やスプレーからの環境中への放出実態の確認及び放出防止技術

「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」の検討委員及び開催状況

「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」検討委員

(敬称略。所属・役職は平成20年4月時点)

| | |
|---------------|--|
| 川島 昭二 | ナノテクノロジービジネス推進協議会 社会受容・標準化委員会委員 (前任 宗兼史典 ナノテクノロジービジネス推進協議会 社会受容・標準化委員会委員) |
| 菅野 純 | 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部長 |
| 貴田 晶子 | 独立行政法人国立環境研究所 循環型社会・廃棄物研究センター 廃棄物試験評価研究室長 |
| 神山 宣彦 | 東洋大学 経済学部経済学科 教授 |
| 小林 隆弘 | 東京工業大学 統合研究院 ソリューション研究機構 特任教授 |
| 櫻井 博 | 独立行政法人産業技術総合研究所 計測標準研究部門 物性統計科 応用統計研究室 室員 |
| 庄野 文章 | (社)日本化学工業協会 REACHタスクフォース事務局長 兼 化学物質管理部長 |
| 高月 峰夫 | 財団法人化学物質評価研究機構 常務理事 |
| 鷹屋 光俊 | 独立行政法人労働安全衛生総合研究所 環境計測管理研究グループ 上席研究員 |
| 鑪迫 典久 | 独立行政法人国立環境研究所 環境リスク研究センター 環境曝露計測研究室 主任研究員 |
| 谷本 憲弘 | 日本酸化チタン工業会 ナノ酸化チタン小委員会 副委員長 |
| 中杉 修身 (座長) | 上智大学大学院 地球環境研究科 教授 |
| 平野 靖史郎 | 独立行政法人国立環境研究所 環境リスク研究センター 環境ナノ生体影響研究室長 |
| 明星 敏彦 | 産業医科大学 産業生態科学研究所 准教授 |

「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」の開催状況

- ・第1回検討会 : 平成20年 6月 16日
- ・第2回検討会 : 平成20年 8月 6日
- ・第3回検討会 : 平成20年 12月 24日
- ・第4回検討会 : 平成21年 1月 27日
- ・第5回検討会 : 平成21年 3月 3日

(参考1) ナノ材料の定義・用途等

1 ナノ材料の定義

2008年9月に発行されたISO資料によれば、ナノ物質とは、3つの次元（縦、横、高さ）のいずれかがナノスケール（1nm～100nm）⁴の物質を示すものとされている（参考2参照）。

本ガイドラインでは、ナノ物質のうち、工業的使用を目的に意図的に製造されたもの（OECDに設置されたWPMN（Working party on manufactured nanomaterials）が定義する「特殊な特性あるいは特殊な構造を持つように意図的に作成されたナノ物質」とほぼ同趣旨）及びその凝集物を「ナノ材料」と定義し、火山灰等自然現象で生じるものや自動車排ガス中等に含まれる人間活動によって非意図的に生じるナノスケールの粒子は含まないものとする。

2 ナノ材料の種類及び用途、使用状況

ナノ材料の使用状況等の情報を表A（17頁）に集約した。

現在我が国において、1トン／年以上が使用されているナノ材料は下記のものである。

- ・ 1000トン／年以上：カーボンブラック、シリカ、酸化チタン、ニッケル
- ・ 100～1000トン／年：顔料微粒子、酸化アルミニウム、酸化亜鉛、モンモリロナイト、アクリル微粒子
- ・ 10～100トン／年：カーボンナノファイバー、多層カーボンナノチューブ、 dendrimer、銀＋無機粒子、ポリスチレン、
- ・ 1～10トン／年：酸化セリウム、フラーレン
- ・ 国内情報はないが1トン／年以上の使用の可能性のある物質⁵：酸化イットリウム

3 OECDにおける優先取組物質

OECDのWPMNが優先的に検討を進める対象として選定したナノ材料は次頁の14物質である⁶。これらは2007年時点での国際的な商業的利用状況を勘案して選定されている。

これらのナノ材料については、我が国においても、現在、あるいは将来幅広く利用される可能性がある物質として参照することが適当である。

⁴ nmとは 10^{-9} mの大きさの単位であり、 $1\text{nm}=0.001\mu\text{m}$ である。なお、髪の毛の直径は $10\mu\text{m}$ 程度、細胞の大きさは数 μm 程度、ウィルスの大きさは数十～数百nmである。

⁵ UNEP GEO Year Book 2007によれば、酸化イットリウムの2006-2007年の全世界での使用量は2500トン／年、2011-2014年の使用量は7500トン／年と予想されている。

⁶ LIST OF MANUFACTURED NANOMATERIALS AND LIST OF ENDPOINTS FOR PHASE ONE OF THE OECD TESTING PROGRAMME. ENV/JM/MONO(2008)13/REV 07-Jul-2008

[http://www.olis.oecd.org/olis/2008doc.nsf/LinkTo/NT000034C6/\\$FILE/JT03248749.PDF](http://www.olis.oecd.org/olis/2008doc.nsf/LinkTo/NT000034C6/$FILE/JT03248749.PDF)

- 1) フラーレン (C60)
- 2) 単層カーボンナノチューブ (SWCNTs)
- 3) 多層カーボンナノチューブ (MWCNTs)
- 4) 銀ナノ粒子
- 5) 鉄ナノ粒子
- 6) カーボンブラック
- 7) 二酸化チタン
- 8) 酸化アルミニウム
- 9) 酸化セリウム
- 10) 酸化亜鉛
- 11) 二酸化ケイ素
- 12) ポリスチレン
- 13) 樹状高分子 (dendrimers)
- 14) ナノクレイ

表A ナノ材料の種類、使用状況、用途等

| ナノ材料の種類 | 国内使用量 (2006年) | 主な用途 | 将来用途 |
|---|------------------|---|--------------------------------|
| フラーレン | 約2トン | スポーツ用品：100% | 燃料電池、太陽電池、バイオ医療、化粧品 |
| 単層カーボンナノチューブ (SWCNTs) | 約100kg | 研究開発中：100% | 高速動作トランジスタ、燃料電池、水素ガス吸蔵等 |
| 多層カーボンナノチューブ (MWCNTs) | 約60トン | 半導体トレイ：90%、 その他：10% | 導電ペースト、蓄電デバイス、燃料電池、医療等 |
| 銀＋無機微粒子 | 約50トン | 日用品、キッチン回り、 食品密封容器等 | — |
| 鉄 | 200～300トン | 家電・電気電子製品 | — |
| カーボンブラック | 約83万トン | タイヤ：95%、 顔料：4%等 | 燃料電池・化粧品・高品質 タイヤ |
| 二酸化チタン (ルチル型の使用が多いが、 光触媒塗料にはアナターズ型の 使用が多い) | 約1,250トン | 化粧品：60%、 トナー：33%、 自動車用塗料：5% | 化粧品拡大、トナー・ディスプレイ用、 反射防止フィルム |
| 酸化アルミニウム | 約700トン | 家電・電気電子製品 | — |
| 酸化セリウム | 2～3トン | 半導体関連の研磨剤 | — |
| 酸化亜鉛 | 約480トン | 化粧品：80%、 その他：20% | 透明導電膜利用(酸化インジウム スズの代替) |
| 二酸化ケイ素(シリカ) | 約13,500トン | シリコンゴム：57%、 FRP：11%、塗料：10%、 その他：22% | 既存用途の成熟化 |
| ポリスチレン | 約10トン | ディスプレイの反射防止 光拡散用途、化粧品 | — |
| ナノクレイ | 約250トン | 塗料、化粧品、医薬品、 食品添加物、触媒等 | — |
| 樹状高分子 (デンドリマ) | 約50トン | 紙用途：95%、 その他：5% | 紙用途の拡大、医療、燃料電池 |
| 顔料微粒子 | 約800トン | インクジェット等 | — |
| アクリル微粒子 | 約225トン | 化粧品、インクジェット | — |
| カーボンナノファイバー | 60～70トン | リチウムイオン電池：50%、 その他：50% | スポーツ、風力発電用ブレード、 燃料電池 |
| 白金 | 約0.09トン | 食品・パッケージ、 化粧品、触媒 | 家電・電気電子製品 |
| 量子ドット | 数kg | 研究用試薬 | 医薬品、電気電子製品 |
| ニッケル | 約1,200トン | 家電・電気電子製品 | — |
| 酸化イットリウム | — | 蛍光膜 | — |

参考資料：

- ・「第2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2回ナノマテリアルの安全対策に関する検討会(第2回合同会合)、資料3：ナノマテリアルの用途・生産量調査結果報告」
- ・中部経済産業局資料 (<http://www.chubu.meti.go.jp/technology/hp/pdf/283.pdf>)

「—」は明確な情報がないことを示す

(参考2) ナノ物質に関する用語

ナノ物質に関する用語はISO資料 (ISO/TS 27687)⁷では下記のように定義されている(仮訳)。また、いくつかの用語の階層的構造は下図のように示されている。

- ナノスケール (nanoscale) : およそ1nmから100nmまでの大きさの範囲
- ナノ物質 (nano-object) : 1, 2あるいは3次元のサイズがナノスケールである物質
- ナノ粒子 (nanoparticle) : 3つの次元のサイズがナノスケールであるナノ物質
- ナノファイバー (nanofibre) : 2つの次元のサイズがあまり変わらず、かつナノスケールであり、残る1つの次元のサイズがそれらより著しく大きいナノ物質
- ナノプレート (nanoplate) : 1つの次元のサイズがナノスケールであり、他の2つの次元のサイズがそれより著しく大きいナノ物質
- ナノロッド (nanorod) : 中空でないナノファイバー
- ナノチューブ (nanotube) : 中空のナノファイバー
- ナノワイヤー (nanowire) : 導電性又は半導電性のナノファイバー
- アグリゲート (aggregate) : 強く結合した又は溶融した粒子からなるもので、その表面積が個々の構成物の表面積の合計よりもかなり小さな粒子(共有結合や焼結、複雑な物理的絡み合い等の強い力)
- アグロメレート (agglomerate) : 粒子及びアグリゲートあるいは両者が弱く集合したもので、その表面積が個々の構成物の表面積の合計とほぼ同じもの(ファンデルワールスカやそれと同様の単純な物理的絡み合いなどの弱い力)

(アグリゲートやアグロメレートは2次粒子とも呼ばれる)

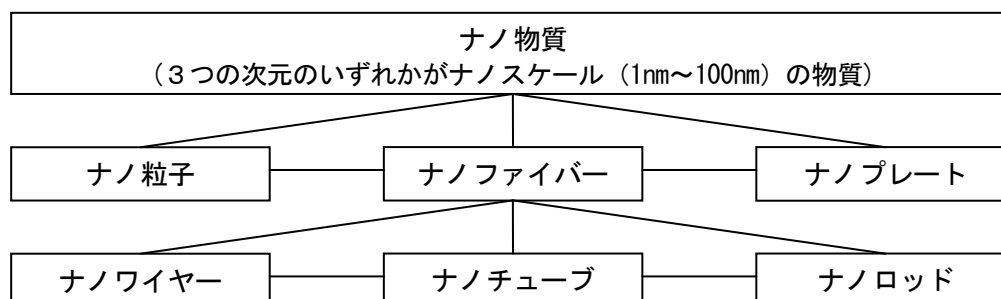


図 ナノ物質に関連した用語の階層構造 (ISO/TS 27687 から作成)

⁷ ISO/TS 27687 Nanotechnologies — Terminology and definitions for nano-objects — Nanoparticle, nanofibre and nanoplate (2008-08-11)

(参考3) ナノ材料がヒトの健康、動植物へ影響をもたらす可能性

ナノ材料については、ヒトや動植物に対する影響について一定の条件の下で実施された試験結果が数多く報告されているものの、有害性評価が実施あるいは確定されるまでは至っていない。そのため、ナノ材料の有害性については、OECD等によりその評価手法が検討されているところである。

本稿では、関連する既存文献について調査し、その報告をまとめた。ただし、本稿は個別の調査及び論文について独自に科学的レビューを行ったものではなく、U. S. EPA等の機関がレビューした結果に基づいて知見を整理したものである。

1 ヒトの健康への影響

ナノ材料のヒトへの影響に関しては、ヒト細胞等を用いた *in vitro* 試験と哺乳類（げっ歯類）を用いた *in vivo* 試験の様々な結果が報告されている。これらの結果の概要については後述の詳細参考及び参考資料1に示した。なお、ナノ材料に特化した疫学調査は報告されていない。社会的注目も集めているのは、多層カーボンナノチューブを遺伝子変異マウス（アスベストに感受性が高く中皮腫の発生が早いマウス）の腹腔内に注入した試験の事例であり、一定期間にわたる観察により、クロシドライト（青石綿）での発症率を上回る中皮腫の発現が報告されている。ヒトが多層カーボンナノチューブを吸入した場合に、実際に中皮腫を引き起こすリスクについては、この知見からは明らかではなく、更なる検討が必要であるが、この試験事例を含めて、仮に十分なばく露とその後の体内への吸収があった場合には、ナノ材料が何らかの影響を及ぼす可能性を持っていることは否定できない。

現状は、試験方法や評価方法については国際的に検討されている状況であるため、本ガイドラインでは、有害性に関する評価についてこれ以上の結論は見いだせない。そのため、詳細参考及び参考資料1で整理した各情報についても、それぞれの試験結果を評価する場合には留意が必要である。

2 動植物への影響

ナノ材料の動植物への影響に関しては、主に、水生生物を用いた試験の事例がある。動植物へ与える影響については、ヒト影響の研究以上に、得られる情報が少ないのが現状である。ナノ材料を被験生物にばく露する方法についても、そのサイズをどう設定すべきか、それをどう制御すべきか、標準となる試験方法が固まっていない。

よって、詳細参照及び参考資料1では、魚類へ影響を与える可能性を示唆する結果等が整理されているが、信頼性の確認、他の試験との比較が困難であり、ヒト健康への影響と同様に、一定の評価を与えることはできない。

3 ナノ材料の特徴と影響メカニズム

ナノ材料は、ヒトの健康あるいは動植物へ影響を及ぼす可能性を示唆する試験結果が報告されている。一般に化学物質がそれらに影響を及ぼす場合、化学物質そのものが本質的に持つ有害性（個別の物質が固有に持つ化学的性状）の他、分子の形状・サイズや酸性度等の物理的な特徴が

生物に影響を及ぼし得ることが知られている。ナノ材料についても、それぞれの化学的組成（炭素、チタン・銀等の金属等）の違いによって影響の種類や程度が決まるだけでなく、「サイズが小さいこと、表面積が大きいこと、及び活性酸素の生成能力の複合作用が、肺損傷の重要な要素になっている（U. S. EPA (2007)）」とした報告があるように、ナノ材料がナノスケールであるが故に持つ特性に起因する影響が懸念されることが指摘されている。

以下に、ナノ材料の形状・サイズが生物影響に及ぼす特徴に関連した情報を集約した。

なお、これらについても、十分な成果の蓄積があるものではなく、まだ一定の評価に至っていない状況ではない。ナノ材料は物理化学特性、生物影響等の面で多様であり、特定のナノ材料にみられた特徴と影響メカニズムが他のナノ材料にもあてまるとは限らないことにも留意が必要である。ナノ材料及びその使用製品の開発、それらの利用、取扱いにおいて、これらの情報を考慮に入れることで、可能な対策を取ることが期待される。

（１）サイズ及び表面積の関係

ナノ材料は（一次）粒子のサイズが小さいために重量あたりの表面積が大きくなる。一般に同じ成分のより大きな粒子よりも、重量ベースで見れば影響の程度が強いことが知られている。（U. S. EPA (2007) 他）

（２）表面特性等

ナノ材料表面の結晶構造や活性酸素種の形成能力、荷電状況等の表面特性がナノ材料の生物影響に関係しているという指摘がある。（U. S. EPA (2007) 他）

（３）形状等

ナノ材料の中で、特にカーボンナノチューブのように繊維状のものは、その形状が生物影響に関与する可能性があるとした指摘がある。

なお、多層カーボンナノチューブでは、マウスの腹腔内注入及びラットの陰嚢内注入による中皮腫の発現が報告されている。（Takagi et. al. (2008)、Sakamoto et. al. (2009)）

（４）ヒトへのばく露経路

ヒトへのばく露経路としては、吸入によるばく露（経気道ばく露）が最も懸念されている。

また、ヒトへのばく露経路の一つとしてナノ材料が皮膚を透過する可能性（経皮ばく露）を示す報告があるが、否定する事例も報告されている。（U. S. EPA (2007)、Nanoderm(2007)）

なお、食品、添加物、薬品、土壌ダスト、吸入した粒子の摂食ばく露（経口ばく露）も考えられるが、質量ベースでは少ないと推測した情報がある。しかし、現状ではナノ材料の経口毒性に関する情報はない。（U. S. EPA (2007)）

（５）体内での分布、移動

ナノ材料が生体内に取り込まれた際の体内における分布や移動に関しては、現状では一定の評価はされていないが、大気中で発生したナノスケールの粒子の体内挙動に関して以下のような情

報がある。

- ナノスケールの粒子の健康影響に関する発見の一つは、最初の沈着部位ばかりでなく、より広い範囲で影響する可能性があることである。(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スケールの粒子が吸入されると、肺に沈着する。(U. S. NIOSH (2006))
- 動物実験によれば、ナノスケールの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スケールの粒子（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可能性が、近年のラットの実験で報告されている。(U. S. NIOSH (2006))

(6) ナノ材料の影響の発現機序

ナノ材料の影響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。(U. S. EPA (2007)、EC. SCENIHR (2007))

(7) ナノ材料の動植物への影響に関する特徴

動植物へのナノ材料の影響については、ナノ材料の水中での挙動状況から、以下のような影響を懸念する資料がある。

- ヒトの健康に関する知見から哺乳類についてはある程度推測可能である一方、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）、想定外の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スケールの粒子に対して特別に脆弱である可能性がある。(EC. SCENIHR (2007))
- 魚類については、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）にトラップされやすいため、粘液層がナノ材料に対する保護膜になると推測される。一方で、取り込みによる影響だけでなく、鰓や体表の表面付着による影響も考慮する必要がある。また、ナノ材料は凝集後には沈降し易くなることから、海底に生息する生物は影響を受け易いと考えられるが、海洋表面にもトラップされ易いと考えられ、卵、動物プランクトン等の海洋表面に存在する生物も影響を受け易いと考えられる。(Handy et. al (2008a)、Handy et. al (2008b))

(詳細参考)

ヒト健康及び動植物に及ぼす影響の観点からいくつかの試験結果を参考として紹介する。

なお、下記の情報は生物影響に関する情報の一例である。ここで紹介した試験結果を含めた哺乳類についての in vivo 試験結果、及び動植物への影響に関する試験に関する情報は参考資料 1 に集約した。

1 ヒトへの影響

ナノ材料の哺乳類（げっ歯類）を用いた in vivo 試験の事例を以下に示す。

- 3mg/匹の多層カーボンナノチューブを遺伝子変異マウス (P53+/-)⁸の腹腔内に注入(単回)した試験で、25 週後の観察でクロシドライト (青石綿)での発症率 (14/18)を上回る中皮腫の発現が報告されている (14/16)。同様に実施したフラーレン (C60)では152 日後でも腫瘍の発生及び途中死亡は認められなかった。(Takagi et. al. (2008))。
- 多層カーボンナノチューブを Fischer 344 系雄性ラット⁹の陰嚢内に単回注入した試験で、26 週までに発がん過程が始まり、52 週以内に高頻度の中皮腫の発現が報告されている (Sakamoto et. al. (2009))。
- マウス及びラットを用いた多層カーボンナノチューブ及び単層カーボンナノチューブの試験では、気管内注入、肺注入、口咽頭部吸入によるばく露が炎症を生じさせたとする複数の試験結果が報告されている。(Sato et. al. (2005)、Miller et. al. (2005)、Li et. al. (2007)、Nemmar et. al. (2007))
- マウスの肺にフラーレン (C60)を注入した試験では、0.2~3.0mg/kg の注入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、その他は水を注入したものと差はなかった。(Sayes et. al. (2007))
- 二酸化チタン (直径 136-150nm)については OECD テストガイドライン等に準じた以下の試験結果が報告されている。復帰突然変異試験¹⁰ (OECD テストガイドライン 471) 及び染色体異常試験¹¹ (同 473) : いずれも陰性。皮膚感作性 (局所リンパ節検定¹²) (同 429) : 低い (EC3 が算出できなかった)、皮膚刺激性 (同 404) : 少ない、目刺激性 (同 405) : 発赤、急性経口毒性 (同 425) : 低い (5000mg/kg 以上)。(Warheit et. al. (2007))
- 最大 61 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の濃度で銀ナノ粒子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て増加したが、体重や血液性状に有意な影響は確認されなかった。(Ji et. al. (2007))
- 酸化亜鉛 (直径 50-70nm) をラットの気管内に注入した試験では (1.5mg/kg)、TNF- α はほとんど活性化しなかったが、IL-6¹³ が産生した。(Sayes et. al. (2007))
- シリカ (10nm) 20mg をラットに気管内注入した試験では、ばく露後 1, 2 か月での細胞小結節 Stage I で、ナノスケールの粒子のほうが繊維の形成が軽度であったと報告されており (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注入した試験では、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報告されている。(Warheit et. al. (2007))

ナノ材料の素材に関する IARC による発がん性評価の状況を次頁の表に示すが、IARC の評価は粒子のサイズを考慮して行ったものではない。

⁸アスベストに感受性が高く、中皮腫の発生が早いマウス。

⁹ 自然発生がんのモデル動物として開発されたラット

¹⁰ アミノ酸の代謝能力を失った細菌が突然変異で代謝能力を回復することで、被験物質の DNA の損傷性や突然変異誘発能を確認する試験。

¹¹ 染色体の形態又は数に異常を起こすか調べる試験で、ほ乳類の培養細胞を用いることが多い。

¹² アレルギー反応に関する試験で、リンパ節中のリンパ球の増殖状況を確認するもの。

¹³ インターロイキン-6。種々の生理活性を持つが、ここでは炎症反応の目安に用いられている。

表 各物質の発がん性に関する情報（IARCによる評価結果（※））

（粒子のサイズを考慮したものではない）

| 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） | 酸化亜鉛 | — |
| ポリスチレン | 3 | モンモリロナイト | — |
| アクリル | 3 | 酸化セリウム | — |
| フラーレン（C60） | — | ニッケル（金属） | 2（B） |
| 多層カーボンナノチューブ | — | 酸化イットリウム | — |
| 単層カーボンナノチューブ | — | 酸化アルミニウム | — |
| 銀 | — | 二酸化ケイ素 | 1（結晶質シリカ） |
| 二酸化チタン | 2（B） | | 3（非晶質シリカ） |
| 鉄 | — | | |

※ 1：ヒトに対する発癌性が認められる、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

2 動植物への影響

ナノ材料の動植物への影響に関する試験事例を以下に示す。

- フラーレン（C60）によるミジンコの遊泳阻害を調べた試験（急性遊泳阻害試験）では、分散剤に有機溶媒（THF：テトラヒドロフラン）を用いた場合と水中へ直接分散させた場合とでは、ばく露の際の粒子の大きさが異なり、それぞれの条件により異なった結果が報告されている（下表参照）（Oberdorster et. al. (2006)等）。

表 フラーレン（C60）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 | 凝集した粒子の 大きさ | 分散方法 | EC50 （※1） | NOEC （※2） | 出典 |
|----------------|----------------|-------------------|--------------|--------------|----------------------------|
| フラーレン （C60） | 93 nm | THF（※3）を 用いた分散 | 0.46 | 0.18 | Lovern & Klaper (2006) |
| | 10-200 nm | | 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 | | Oberdorster et. al. (2006) |

※1：試験生物の50%が影響を受ける濃度（50% effect concentration）。

※2：影響が見られない濃度（No observed effect concentration）。

※3：テトラヒドロフラン。有機化合物を溶解しかつ水と混和するため、そのままでは水に溶解しない有機化合物の分散剤として利用される。

- 単層カーボンナノチューブによる微小なコペポダ（微小な甲殻類の一種で実験に用いられたものは海底泥中の孔に生息する）への影響をみるために実施した28-35日間の飼育試験では、最大10mg/Lの単層カーボンナノチューブ濃度でも、死亡及び成長に影響は見られなかった。（Templeton et. al. (2006)）
- 単層カーボンナノチューブによるニジマス未成魚への影響を調べた試験（0.1～

0.5mg/L の濃度) では、鰓の水腫、粘液の増加、鰓蓋活動の増加、及び鰓と消化管での $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ ¹⁴ とグルタミン酸¹⁵ の増加が確認されたが、脳と肝臓への影響は確認されなかった。(Smith et. al. (2007))

- 二酸化チタンについては、OECD テストガイドライン¹⁶等に準じた複数の試験結果が報告されており、藻類の成長阻害試験の EC50 は 44mg/L 以上、ミジンコの遊泳阻害影響試験の EC50 は 50ppm 以上と、影響は比較的小さかった。魚類の急性毒性(死亡)試験でも影響は小さいと報告されている。[Warheit et. al. (2007)、Lovern & Klaper (2006)、Hund-Rinke & Simon(2006)]。

¹⁴ Na^+ , K^+ -ATPase は動物細胞に広く存在する酵素で、細胞の体積や浸透圧の調節に関与するほか、神経や筋肉細胞の興奮性の維持等に関与する。

¹⁵ 細菌からヒトまで普遍的に存在する細胞内物質で、抗酸化作用及び毒物などの細胞外への排出に関与し、細胞を内外の変化から守る役割を持っている。

¹⁶ 化学物質の安全性評価のための試験方法を国際的に共通なものとして集めたもので、国を越えて別々の試験所でも同じように試験が実施できるようになっている。

（参考4） ナノスケールの粒子の測定方法及び環境中挙動の現状

ナノスケールの粒子の環境を経由したヒトの健康あるいは動植物へ及ぼす影響を考える場合、ナノスケールの粒子がどの程度環境中に存在しているのか、又は環境中に放出される可能性があるのか（例えばナノスケールの粒子が使用された製品が使用されている間や廃棄の後に）について検討する必要がある。ここでは、ナノスケールの粒子の測定技術、環境中のナノスケールの粒子の濃度の程度について、現状を整理した。

1 測定技術

（1） ナノスケールの粒子の測定技術

ナノスケールの粒子は、ナノスケールという大きさの特徴から、測定に通常用いられる技術の多くが原理的に適用できない。粒子サイズの分離、粒子の数や重量の特定のため、特殊な装置を用いる必要がある。例えば、作業環境中で使用可能な技術として参考資料2に示す技術がある。これらは、ナノスケールの粒子の測定への適用が可能な技術であるが、後に述べるように、環境中の測定にそのまま利用できる訳ではないことに留意が必要である。

（2） 一般環境大気中におけるナノスケールの粒子の測定技術

一般環境大気中におけるナノスケールの粒子の測定技術について、まだ現状では確立されたものはない。次章に示すように、SMPS（走査型移動度粒径測定器）等を用いた一般環境大気中でのナノスケールの粒子の測定事例はいくつか存在するが、ナノ材料だけを対象とした測定事例は見当たらない。SMPS等を用いた測定事例が報告されている作業環境中（参考5参照）と異なり、一般環境大気中では測定対象とするナノ材料以外のナノスケールの粒子が多く存在するため、成分分析等も同時に要するといった点に困難さがあるためと考えられる。

ナノスケールの粒子の大きさ別の測定事例で用いられた SMPS には分級機能が組み込まれているが、その他の装置では分級装置と組み合わせが必要であり、成分分析のためには分級装置によるサイズ別の粒子の捕集が必要になる。

ナノスケールの粒子の分級は、参考資料2に記載した ELPI 及び DMA (Differential Mobility Analyzer : SMPS の分級装置部分) や多段インパクトといった装置を用いることで可能となる。ただし、「多段インパクトでは分級能が十分ではない」、「DMA は捕集量が少ないため濃度レベルが低い場合には成分分析が困難である」等の問題がある。

分級した粒子（フィルター上に捕捉）については、その後に成分分析に供することになるが、目的とするナノスケールの粒子によって難易度は異なる。

金属系のナノスケールの粒子の場合はPM2.5に適用される酸分解と ICP-MS法を組み合わせた方法が適用可能である（「大気中微小粒子状物質（PM2.5）測定方法暫定マニュアル（改定版）」（環境省、2007年7月））。

しかし、金属系以外のナノスケールの粒子（例えば炭素系のフラーレン）では分解して分析する方法は適しておらず、粒子を溶媒等に溶解させた上で測定するといった手法が必要になる。

フラーレンは有機溶媒に溶解することから、生体中のものについて有機溶媒を用いた HPLC 及び GC/MS 等による分析事例が報告されており（国立環境研究所資料¹⁷）、同様の方法で分析が可能と考えられる。

一方、カーボンナノチューブについては水や有機溶媒に溶解しないことから分析は容易ではなく、石綿分析のように形状を電子顕微鏡で確認しつつ EDX（エネルギー分散型 X 線分光法）による X 線分析法を用いた手法で測定できる可能性がある。

なお、オンラインでの成分分析装置としてはエアロゾル化学組成成分装置（ATOFMS）のような装置が開発されているが、大型かつ高価である等、通常の一般環境大気中での測定に用いるには課題が残されている。

（3）一般環境水中でのナノスケールの粒子の測定の可能性

ナノスケールの粒子の水生生物影響試験等では分光吸光度計等を用いた測定事例が報告されているが、いずれも対象とするナノスケールの粒子が予め分かっている実験系での測定であり、一般の水環境中でのナノ材料の測定事例は見当たらない（参考5参照）。

一般環境水中のナノ材料を測定するためには、一般環境大気中での測定と同様に分級した後に成分分析を行う必要がある。水中の微小粒子の成分分析は上述の大気中のナノスケールの粒子の分析と同様にして分析可能である。

即ち、水中あるいはフィルターに捕捉された金属粒子は酸で溶解した後に ICP-MS 法を用いて分析可能であり、フラーレンについても有機溶媒に溶解させた後に HPLC 及び GC/MS 等での分析が可能である。また、大気環境での分析と同様に、電子顕微鏡と EDX による X 線分析法を用いることで、カーボンナノチューブを含む多くのナノスケールの粒子も分析可能である。

水中の粒子の分級は現状では 1 μ m で行われており（水質の SS（懸濁物質）の計測方法）、これより細かな分級は実施されていない。ただ、実験室や特殊な用途では 0.1 μ m 以下の粒子のろ過技術が用いられており、これが水中のナノスケールの粒子の分級に適用できる可能性がある。そのような技術には詳細参考に示すものがある。

ただし、これらのろ過技術を組み合わせて環境水中の微小粒子の化学分析を実施した事例はなく、フィルターの目詰まりや分離性能に関する検討も含め、今後の十分な検討が必要である。

2 環境中での測定事例

（1）環境大気中のナノスケールの粒子の測定事例

一般環境大気中でのナノスケールの粒子状物質の測定事例はいくつか報告されている（参考5参照）。ただし、既存事例の測定対象は自動車排ガス中等に含まれると考えられるナノスケールの粒子であり、ナノ材料そのものの測定事例は確認できなかった。

これは、3.（1）に記載したように、ナノスケールの粒子の分級等には既存の技術が適用でき

¹⁷ 生体試料中分析および皮膚透過性について。（www.nihs.go.jp/center/nanotech_pdf/6.pdf）

るものの、一般環境中の他の起源のナノスケールの粒子との区別が困難であるためと考えられる。

(2) ナノスケールの粒子の作業環境における測定事例

ナノスケールの粒子の作業環境中での測定事例もいくつか報告されている（参考5参照）。

しかし、バックグラウンド濃度¹⁸が高いため、複数の測定方法を用いてもナノスケールの粒子に起因する明瞭な濃度増加は確認できなかつたと報告されている。

対象とするナノスケールの粒子が特定されていても、このようなバックグラウンドの存在など、今後の検討課題が残されている。

(3) 水中のナノスケールの粒子の測定事例

水中でのナノスケールの粒子の測定事例については、前述のように、室内実験等において単一のナノスケールの粒子を分散させた場合の測定事例はあるものの、組成が不明な粒子を含む環境試料についての測定事例は確認できなかった。大気環境と同様に他の起源のナノスケールの粒子との区別もさることながら、ナノスケールの粒子の分級技術といった基礎的な技術の適用性の検討が必要である。

3 環境中における挙動

(1) 大気中でのナノスケールの粒子の挙動に関する知見

大気中でのナノスケールの粒子の挙動については、粒子径が似ている非意図的に生成された超微粒子との類似性が高いと推定されており（参考6参照）、ナノスケールの粒子の多くが含まれる大きさの範囲（80nm未満）では、速やかに凝集して大きな粒子になるとされているが、現状では炭素系又は無機系といったナノスケールの粒子の組成による大気中での挙動の相違に関する情報は無い。

(2) 水中でのナノスケールの粒子の挙動に関する知見

水中におけるナノスケールの粒子の挙動については、水のイオン強度（イオンの含まれる量。海水は淡水に比べイオン強度が大きい）や自然由来の界面活性剤等の影響を受けるものの、一般にはコロイド粒子と類似の挙動を示すと推測されており（参考6参照）、5nm～100nmの範囲では主に凝集作用が生じると考えられる。

このため、ナノスケールの粒子の生物影響等に関する試験などでは、安定した試験懸濁液の作成のために特殊な分散剤や分散方法を用いられることが一般的であるが、環境中に放出されたナノスケールの粒子の凝集の程度や、凝集後の挙動に関する科学的知見については現段階では得られておらず、また、炭素系又は無機系といったナノスケールの粒子の組成による水中での挙動の相違に関する情報も得られていない。

¹⁸ 参考5に示した報告では、ナノ材料の放出がない始業時の粒子濃度をバックグラウンド濃度と想定している。

4 環境中挙動及び測定技術に関するまとめ及び課題

(1) 環境中でのナノスケールの粒子の挙動

ナノスケールの粒子に顕著な性質の一つに凝集し易いということが挙げられるが、環境中に放出されたナノスケールの粒子の凝集の程度や、凝集後の挙動については科学的知見が得られていないのが現状であり、大気あるいは水環境中にナノスケールの粒子が放出された場合、どのように挙動するのかについては、明確な情報が得られていない。

(2) ナノスケールの粒子の成分分析及び非意図的発生粒子等との区別

一般環境大気中あるいは一般環境水中には種々の起源やサイズを持つ物質が含まれている。カーボンナノチューブについては自然界での存在についての情報は無いが、無機系のナノスケールの粒子はもちろん、フラーレンも自然界に微量に存在することが知られている（北海道のブラックシリカ石や中国の高級墨等）。

サイズについては分級等の方法を採用することでナノスケールに特定することは可能であるが、定量と定性の両方を同時に分析できる技術の導入にはまだ課題がある。なお、一旦分級し補足した粒子について、更に成分を特定することは金属系のナノスケールの粒子であれば比較的容易であるものの炭素系では困難であることが知られている。仮に特定されたとしても、同一の化学成分の粒子について、工業的に製造されたナノスケールの粒子と自然起源など他の起源の粒子との区別については容易ではないものと推測される。

(3) 測定技術の実現性、汎用性

上記のように、現状の技術の組み合わせでナノスケールの粒子の分級や成分分析については、限定的な内容であれば測定が可能な場合がある。

一般環境大気については、作業環境測定に用いられる手法が応用できる可能性はあるものの、大気環境中には種々の粒子が存在すること、測定対象とするナノ材料の一般環境中濃度レベルが非常に低いと想定されること等を勘案すると、各装置の適用性について十分な予備検討が必要である。

また、現状では一般環境水中のナノスケールの粒子の測定事例はなく、分級技術（例えば、水のろ過ではフィルターの性能（目詰まり、ろ過能力等）によってろ過に多大の時間を要する可能性がある）や各分析技術の検出濃度レベル等について十分な予備検討が必要であり、使用の容易さや汎用性も加味した検討が必要である。

(詳細参考)

既存の計測・分析手法のうち、ナノスケールの粒子の環境中での計測・分析に応用可能と考えられる技術は以下の通りである。

1 粒子の大きさ別の個数の測定器

- ・凝縮式粒子計数器（CPC：Condensation Particle Counter）（以下、「CPC」）

※アルコール等で粒子を拡大して計数するので、大きさを区別するには分級装置と併用することが必要。

- ・ 走査型移動度粒径測定器 (SMPS : Scanning Mobility Particle Sizer)
※分級装置が組み込まれている。
※DMAS (Differential Mobility Analyzing System) の名称も用いられる。
- ・ 電子式低圧インパクト (ELPI : Electrical Low Pressure Impactor)
※分級装置が組み込まれている。
- ・ 電子顕微鏡 (走査型、透過型) (Electron Microscopy (SEM, TEM))

2 粒子の大きさごとの重量の測定器

- ・ フィルター振動法測定器 (TEOM: Tapered element oscillating microbalance)
※分級装置は組み込まれていないので、分級装置を併用することが必要。
- ・ 走査型移動度粒径測定器 (SMPS)
※個数を計測するもので、密度が分からないと重量換算はできない。
- ・ 電子式低圧インパクト (ELPI)
※個数を計測するもので、密度が分からないと重量換算はできない。

3 粒子の表面積の測定器

- ・ 走査型移動度粒径測定器 (SMPS)
※個数を計測するもので、形状が分からないと表面積換算はできない。
- ・ 電子式低圧インパクト (ELPI)
※個数を計測するもので、形状が分からないと表面積換算はできない。
- ・ 拡散荷電装置 (Diffusion Charger)
- ・ (走査型、透過型) 電子顕微鏡 (Electron Microscopy (SEM, TEM))

4 成分の分析器

- ・ エアロゾル化学組成成分装置 (ATOFMS) (30-300nm の分級が可能なモデルがある)
- ・ エアロゾル質量分析計 (AMS) (10nm 程度以上の分級が可能)

5 水生生物影響試験等において用いられたことがある計測方法

- ・ 透過型電子顕微鏡 (TEM) 及び走査型電子顕微鏡 (SEM)
- ・ 分光吸光度計、紫外線分光光度計、ICP-OES (ICP 発光分光分析)
※供試試料で予め有効な波長及び検量線を作成した上で計測する。
- ・ 動的光散乱光度計 (dynamic light scattering device)
※ブラウン運動によって生じる散乱光のゆらぎを計測する方法。
- ・ 液体シンチレーションによる C^{14} でラベルしたカーボンナノチューブの計測
※放射性同位体である C^{14} を計測することで対象の物質を計測する方法。
- ・ 微分干渉顕微鏡、蛍光解剖顕微鏡、暗視野光学顕微鏡分光装置を用いた挙動観察

※特定のナノスケールの粒子の蛍光発色や光学的特性を利用し、その存在場所を把握する手法。

6 ナノスケールの粒子のろ過技術

- ・メンブレンフィルター（孔径 $0.1\mu\text{m}$ 以上）
- ・限外ろ過膜あるいは精密ろ過膜（孔径 $1\sim 100\text{nm}$ のものがある）
- ・セラミックフィルター（数 $\text{nm}\sim\mu\text{m}$ の孔径のものがある）
- ・逆浸透膜（ nm 以下のレベルでの分離が可能）

(参考5) ナノスケールの粒子の測定事例

1. 環境大気中のナノスケールの粒子の測定事例

下図はイギリスのロンドン市内及び郊外での一般大気中の微小粒子を SMPS (走査型移動度粒径測定器) で測定した事例である。

ロンドン市内では 100nm 以下の粒子が 800-1000 個/cm³¹⁹であるのに対し、郊外では 100-200 個/cm³程度であった。また粒子サイズはロンドン市内では 20-30nm 程度のものが多いのに対し、郊外では 80-100nm 程度のものが多いことが認められている。

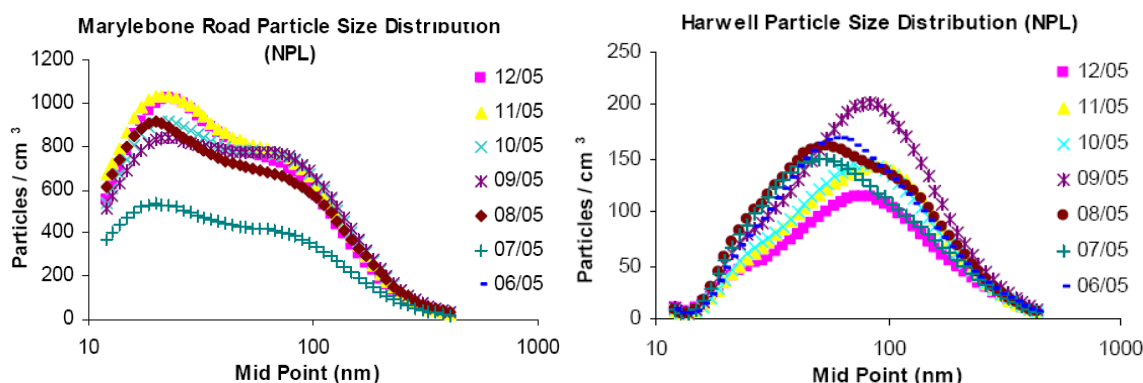


図 ロンドン市内 (左) 及び郊外 (右 : ロンドンから西約 70km) での大気中の微小粒子の分布 (2006 年)
(測定機材 : SMPS (走査型移動度粒径測定器))

(イギリス DEFRA web site 資料から引用)

また、東京都内の 304 箇所の沿道での微小粒子を走査型移動度粒径測定器で測定した結果では (2002 年)、直径 30-40nm の粒子の濃度として $0.5 \times 10^5 \sim 2.5 \times 10^5$ 個/cm³ と、上記のロンドン市内と同程度の濃度の測定結果が報告されている ((財) 石油産業活性化センター資料)。

2. ナノ材料の作業環境における測定事例

ナノ材料の取扱事業場での測定事例として、フラーレンを用いた加工工場における測定事例を次頁の図に示す (「ナノテク取り扱い職場の現場例その1 フラーレン加工 2008 年 10 月 28 日、独立行政法人 労働安全衛生総合研究所」)。測定には SMPS (走査型移動度粒径測定器) が用いられている。

反応容器からの掻き出し作業が 12 : 20 頃に実施され、その直後に <20nm、20~50nm の大きさの粒子がわずかに増加するものの、全体にバックグラウンド濃度が高く、ナノ材料の明瞭な濃度増加は確認できなかったとされている。

¹⁹ 各分画での値。分画数が約 30 あるので、市内では $10^4 \sim 10^5$ 個/cm³ のレベル、郊外では 10^3 個/cm³ のレベルとなる。

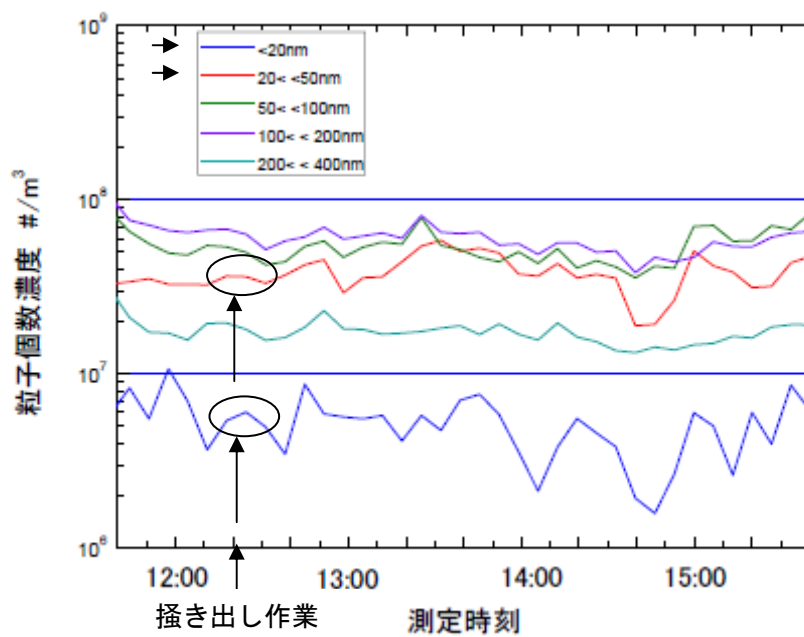


図 フラーレン加工工場における作業環境中のナノスケールの粒子の測定事例

(測定方法：SMPS (走査型移動度粒径測定器))

(「ナノテク取り扱い職場の現場例その1 フラーレン加工 2008年10月28日、
独立行政法人 労働安全衛生総合研究所」から引用)

(参考6) ナノ材料の環境中挙動に関する情報

1. 大気中でのナノ材料の挙動に関する知見

大気中でのナノ材料の挙動は、下記のように、粒子径の類似する非意図的に生成された超微粒子との類似性が高いと推定されている。(U. S. EPA White paper (2007))

なお、現状では炭素系又は無機系といったナノ材料の組成による大気中での挙動の相違についての情報はない。

- 粒子の大気中での輸送を考える際に、分散、凝集 (agglomeration)、湿性/乾性降下及び重力沈降を考慮することが重要である。超微粒子についてのこれらの特性は比較的良好に知られており、ナノ物質にもほぼ適用できると考えられる。
- 大気中の粒子の挙動は大きさによって3グループに大別される。
 - ・ 小さい粒子 (80nm未満) : これらは凝集モード (agglomeration mode) と呼ばれ、短命で、すぐに凝集して大きな粒子になってしまう。
 - ・ 中間の粒子 (80~2000nm) : これらは集合モード (accumulation mode) と呼ばれ、大気中に数日から数週間の長期間浮遊し、乾性及び湿性降下により大気中から除去される。
 - ・ 大きな粒子 (2000nm以上) : これらは粗粒モード (coarse mode) と呼ばれ、重力沈降の作用が大きい。
- 沈降した粒子が再び粒子として浮遊することは少ない。
- 多くのナノスケールの粒子は光学活性を持っているとされているが、大気中での光分解についてはほとんど知られていない。また、大気中の他の化学物質との相互作用といった点についてはほとんど知られていない。

2. 水中でのナノ材料の挙動に関する知見

水中におけるナノスケールの粒子の挙動については、コロイド粒子と類似の挙動を示すと推測されている (Chrostian et. al (2008))。

なお、現状では炭素系又は無機系といったナノ材料の組成による水中での挙動の相違についての情報はない。

- 水中での微小な粒子に関する理論では、ナノスケールの粒子には次頁の図のように2種類のカ (ファンデアワールスカ、静電反発力) が作用し、両者の関係で凝集、分散の容易さが異なり、離隔する距離が5nm~100nmの範囲では主に凝集作用が生じる。
- 水中の粒子には同一荷電の層が生じる (多くは表面にマイナス荷電が集積する) ため、粒子間には反発力が作用し、凝集しにくくなる。
- ただし、静電的安定性は溶媒のイオン強度で変化し、イオン強度が増加すると急激に粒子間の電荷による反発力は小さくなる (即ち、海水などのイオン強度の大きな水中では凝集が生じやすくなる)。
- また、界面活性作用を持つ天然由来の有機物により、凝集が抑制されるといった報告

がある。

- 表流水等から淡水域に流入したナノ材料は、条件によって安定あるいは凝集した状態となり、一部は底泥に沈降する。また海水中では凝集・沈降の程度が大きくなる。
- 水生生物には、分散及び凝集の両方の状態でばく露するものと考えられる。

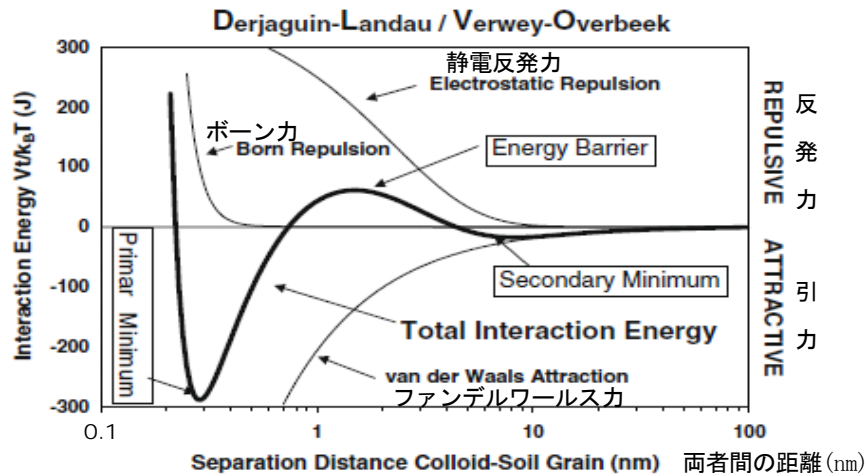


図 ナノ粒子に作用する力（ナノ粒子と平板との間の力）
(Chroastian et. al (2008) から引用)

(参考7) ナノ材料の試験方法及び今後の課題

1 試験方法

(1) 諸外国等における有害性試験方法に関する議論

ナノ材料の生物に対する影響については、既に複数の報告があるが、ナノ材料の物理化学特性（凝集性等）を踏まえた試験方法あるいはエンドポイントについては定まったものがない。

現在、OECD 化学物質委員会の下に設置された工業用ナノ材料作業部会（WPMN: Working Party on Manufactured Nanomaterials）において、ナノ材料の厳格な安全性評価の開発を促進するため、8つのステアリンググループ（SG）の基で、工業ナノ材料のヒト健康及び環境の安全性に関する国際協力が進められている。

試験方法の詳細についても検討されており、現状での結論を集約すると、下記の点で課題は残されているが、健康影響に関する試験では現状の OECD テストガイドライン（以下「TG」と呼ぶ。）がおおむね適用可能であり²⁰、動植物への影響試験も基本的な枠組みは適用できるとされている²¹。

- ・ 媒体中（特に水中）での分散性
- ・ ナノ材料の物理化学特性に適した指標（表面積、ゼータ電位等）
- ・ 計測方法

一方、分解試験及び濃縮試験については現状の試験方法の適用は困難とされている²²。

(2) ナノ材料の分散方法に関する議論

ナノ材料の水中における分散方法については、主に有機溶媒を用いる方法、超音波処理により分散させる方法、攪拌程度の操作で直接水に分散させる方法の3種類があり、それぞれの問題点は下記に集約できるが、現状でも標準となる分散方法についての結論は得られていない。

- 溶媒等の利用は、使用する溶媒の影響が付加される危険性がある。

（フラーレンについて有機溶媒（THF：テトラヒドロフラン）を用いた場合に水で分散し

²⁰ 急性毒性：TG 420, 423, 425、皮膚ばく露：TG 402

皮膚、眼の炎症、腐食及び皮膚の感作性：TG 404, 405, 406, 429

（ただし、TG 430, 431, 435 の MTT アッセイ等の細胞活性測定は適当でない可能性がある）

反復投与試験：TG 407, 409（経口ばく露）

（TG 412, 413（経気道ばく露）は神経毒性や免疫毒性を扱っていない等のことから注意）

遺伝毒性についての in vitro 試験：TG 471, 473, 476、同 in vivo 試験：TG 474, 475, 486

生殖毒性：TG 421, 422, 415, 416, (414)

²¹ 藻類生長阻害試験：TG 201

ミジンコ急性遊泳阻害試験：TG 202

魚類急性毒性試験：TG 203

²² 分解性試験：TG 310、生物蓄積性（BCF）試験：TG 305、ミミズを用いた試験（準備中）

た場合よりも影響の程度が大きくなったという報告がある。(Oberdorster ら(2006))

- 超音波や攪拌ではナノ材料の破壊や表面構造の変化等の問題が生じる可能性がある。
- 加えて、超音波処理では活性酸素の発生による問題が生じる可能性が高い。

2 今後の課題

以上で集約した情報に基づけば、ナノ材料の有害性試験に関する今後の課題と考えられる点は以下の通りである。なお、この項は、有害性試験方法そのものの課題をまとめたものであり、今後、化学物質管理に関する既存法制度等においてナノ材料に関する有害性試験の手法を検討する必要が生じた場合には、更に内容や課題について精査する必要がある。

(1) 既存の有害性試験方法のナノ材料への適用性

OECD TG 等の従来の試験方法は、試験液の調製等のいくつかの問題を除いては、ナノ材料の有害性試験方法として有効であると指摘されているが、実際にナノ材料を用いて有害性試験を実施するに当たっては、これら既存の有害性試験方法が適用可能か、検討する必要がある。

反復投与試験のうち経口ばく露に関しては OECD TG が有効であるとの見解が示されているが、経気道ばく露については神経毒性や免疫毒性を扱っていないため、ナノ材料の生物影響（酸化ストレス）を考慮した適切な検査項目の追加実施も検討する必要がある。

一方、分解性試験及び濃縮試験については、ナノ材料には不溶性のものが多く、金属は分解試験を実施する対象として不相当であること等から、現状の OECD テストガイドラインをそのまま適用することは困難であるとの指摘がある。これらの試験を実施する上では、先行研究を参照し、適切な試験方法を選択・検討する必要がある。

(2) 水中での分散、凝集性

ナノ材料の有害性試験の実施に当たっては、ナノ材料の媒体（水、底泥、土壌）中での分散、凝集及び均一性をどのように整理するかを検討する必要がある。特に、水生生物を用いた動植物への影響試験については水中でのナノ材料の凝集をどのように判断するかを整理する必要がある。

ナノ材料に関する既存の有害性試験においては、分散剤の使用、超音波処理、攪拌などによって試験媒体中のナノ材料の分散を図っているが、それぞれの方法に長所及び短所が存在する。このため、試験実施に当たってはこれら長所及び短所を理解した上で分散方法を検討する必要がある。なお、ナノ材料については、一般環境水中での実態に関する知見がなく、実環境を想定すれば特に分散といった操作を講じる必要はない（いわゆる「有り姿」での試験をするべきである）という意見もある。

更に、一般環境水中では凝集するとの知見もある一方、凝集したナノ材料が体内では分散するといった指摘もあり、摂取後の体内挙動（マクロファージの関与等）についても留意する必要がある。

(3) ナノ材料の測定項目、測定方法

有害性試験の実施に当たっては、ナノ材料の試験媒体中の濃度等の測定が必要である。

しかしながら、環境中での測定はもちろん試験系での測定も微量かつ微小な粒子の測定であり、既存の測定法の適用性を含め、測定方法に関する検討を進める必要がある。

なお、水中での分散状態を示す項目として、従来の試験では試験項目として挙げられていないゼータ電位の測定が適当との指摘もあり、これらの項目の測定の必要性についても検討が必要であろう。

（参考 8）既存技術によるナノ材料の除去の可能性

（1）排ガス処理技術

ナノ材料を使用する事業場で使用される局所排気装置等の排ガスを HEPA フィルター等の高性能フィルターに通すことで、一般大気環境中へのナノ材料の放出をある程度防止することは可能である。ただし、その場合でもナノ材料の性状や高性能フィルター等の取扱方法（取替頻度等）によっては十分な効果が期待できない可能性がある。

なお、HEPA フィルター以外の除去装置（例えばバグフィルター等）によるナノ材料の除去効率についての情報は現段階ではない。

（2）排水処理技術

現状では、排水中のナノ材料に対する特別な水処理技術は報告されていないが、ナノ材料は水中で凝集しやすいとされることから、排水中のナノ材料も凝集する可能性が高く、凝集沈殿といった処理技術で除去される可能性が高い。特に繊維状のナノ材料ではその形状からして凝集除去される可能性が高いと考えられる。

ただし、その除去効果については十分なデータが現状では得られておらず²³、また、ナノ材料の用途や環境媒体中の濃度によっても異なることから、ナノ材料を扱う事業者等が測定等により除去効果を確認することが望まれる。

なお、下水の処理についても同様の状況である。

（3）製品使用時のナノ材料の放出防止技術

現状では、スプレー等のように使用時に環境中に直接放出されるナノ材料について、その使用時の環境中への放出を防止することは難しい。

また、塗料については、二酸化チタンが本来持つ光触媒効果により、二酸化チタン粒子を中心に基材が劣化し、ナノスケールの粒子として放出される可能性もあるが、使用中の劣化の程度及びその防止技術は確認できていない。なお、化粧品についても、使用後の洗顔により水系に放出されることは避けられず、浄化槽あるいは下水道による凝集沈殿処理等により確実に除去することが必要となる。

（4）廃棄処理時のナノ材料の放出防止技術

1) 破碎処理時

破碎処理時に製品中に含まれるナノ材料が飛散する程度については不明であるが、粗大ゴミ等の廃棄物の中間処理過程で実施される破碎時のナノ材料の飛散は無視し得ない。

このような飛散を防止する技術としては、既に非飛散性の石綿製品の扱いに関して湿潤化等の措置が実施されており、ナノ材料にも適用が可能であろう。このためには、ナノ材料及びその製品が、分別され、その情報とともに廃棄物処理事業者に引き渡されることが必要である。

²³ スイスの研究者によれば、実験室でのモデル排水処理過程で最大 6%程度の酸化セリウム (200nm 未満) が処理後の排水中に含まれていたとする報告がある (Limbach et. al. (2008))

2) 焼却処分時

現在、用いられている炭素系のナノ材料については、我が国で使用されている焼却施設の性能(800℃以上、滞留時間2秒以上)を維持すれば分解される可能性が高い。

このため、炭素系のナノ材料の処理については、確実に焼却処理が行われるよう措置する必要がある。

一方、無機系のナノ材料では熱分解は期待できず、一部はばいじんや燃え殻中に残存し、それら以外は大気中に放出すると考えられ、ナノ材料を除いてから大気中に排気する必要がある。排ガス中の粒子を除去するには集じん装置が用いられるが、現在用いられている装置の捕集効率は現状では不明である。

焼却時の無機系のナノ材料の挙動(大きな粒子への焼結等)及び現状の集じん装置での除去の可能性についての検討が必要である。

3) ばいじん、燃え殻、排水処理汚泥、下水処理汚泥

焼却施設から発生するばいじん及び燃え殻や、排水処理施設で発生する汚泥は、そのまま埋立処分すると、埋立処分地やその跡地からナノ粒子が周辺環境に漏出する恐れが残る。このため、埋立処分する前に熔融やセメント固化等の措置を施せば、埋立処分された廃棄物からナノ材料が周辺環境中に放出される可能性は少ないと考えられる。

また、下水処理汚泥の一部は焼却処理されるが、その場合上記の焼却処分時の未確認事項(無機系のナノ材料の挙動及び集じん装置での捕集効率)を検討する必要がある。

4) 廃棄物の運搬時

ばいじんや燃え殻といった飛散しやすい廃棄物はもちろん、乾燥汚泥や不要となったナノ材料、使用済みフィルター、清掃に用いられた紙類や布類及び輸送に用いた袋類等では、運搬等の取扱方法によってはナノ材料が大気中に飛散する可能性がある。

これらの廃棄物の取扱いについては、飛散性の廃石綿の運搬における措置(密閉化等)が有効と考えられ、そのためにも、他の廃棄物と区別してナノ材料を含む廃棄物であることを表示することが必要である。

5) 埋立処分時

埋立処分時には一般に覆土等の措置が実施されることから、適切な飛散防止策が取られる限りにおいて、大気中への再飛散はほとんどないと考えられる。

一方、ナノ材料の土壌中での挙動についてはほとんど知見がなく、埋立処分場からの浸出水に含まれてナノ材料が漏出する可能性については現状では不明である。この点について、実態確認を含めた検討が必要である。

(参考9) 排ガス中のナノ材料の除去のためのフィルター

現状では、ナノ材料の除去に対応したフィルターの規格はないが、粒子状のナノ材料に関するフィルターの除去効率等については、以下のような情報がある。

表及び図に示すように「現状のHEPAフィルターはナノスケールの粒子の捕集に有効である」とした複数の報告がある(米国NIOSH(2006)、ドイツBAuA(2007)等)。

厚生労働省が2008年11月にとりまとめた「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報告書」でも、「通常のナノマテリアルに対してはHEPAフィルターの捕集効率は十分であると思われる」とし、排ガス処理装置のフィルターについては、「排気からナノマテリアルが放出されないよう、ナノマテリアルを保守できる高性能フィルターを局所排気装置等に設けることが必要である」とされている。

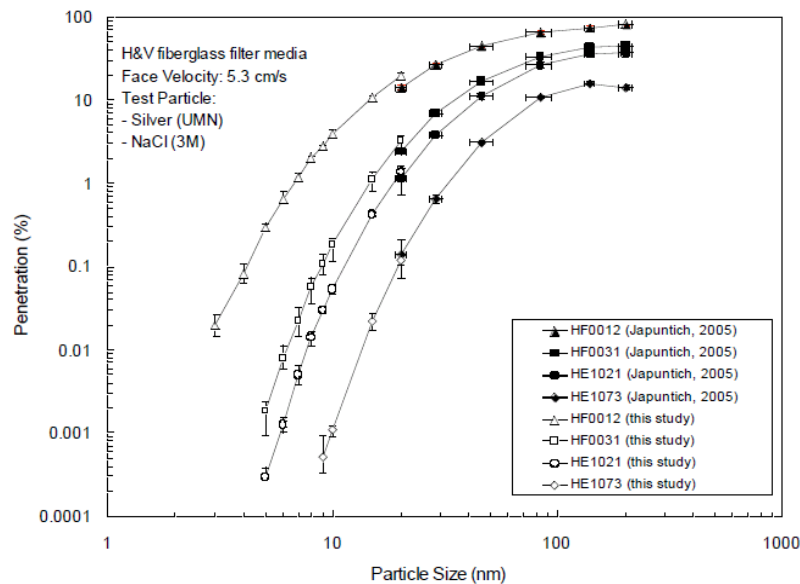


図 各種のフィルターの粒径別の透過率
(Pui and Kim(2006)から引用)

表 試験に使用されたフィルターの種類 (Pui and Kim(2006)から作成)

| フィルター (※) | HE1073 | HE1021 | HF0031 | HF0012 |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| DOP 透過率 (平均%) (0.3 μm at 5.3 cm/s) | 12.8 | 39 | 45.8 | 79.9 |
| 有効繊維径 (μm) | 1.9 | 2.9 | 3.3 | 4.9 |
| 有効孔径 (μm) | 8.8 | 13.4 | 16.1 | 26.2 |

※: HE、HFはある会社のろ紙の規格記号で、HEは小さい粒子サイズに対応するHEPA領域に近いものであり、HFは標準的なHVACシステムと同程度のものである。

(参考10) ナノ材料の管理方策に関する既存指針等における廃棄物の取扱い

ナノ材料の取扱事業場での廃棄物の扱いについての国外の複数の指針(米国DOE(2007年6月)、イギリス規格協会(BSI)(2007年12月)、ドイツBAuA(2007年8月))が示されており、それらの中では、下記のような措置の実施が推奨されている(OECDを含む国内外での検討状況については参考資料4を参照)。

- ナノ材料を含む廃棄物の区分
- ナノ材料を含む廃棄物の密封容器での保管
- ナノ材料を含む廃棄物の保管容器へのラベルの添付

また、日本では、厚生労働省が2008年2月に示した「ナノマテリアル製造・取扱作業現場における当面のばく露防止のための予防的対応について(基発第0207004号)」で、事業場からの廃棄物の扱いについて下記のように記載されている。

- 清掃に用いた布は袋に封入し適切に廃棄すること
- 使用した保護手袋を廃棄する場合は袋に封入し適切に廃棄すること
- ナノ材料の付着した保護衣は事業場外に持ち出さないこと

なお、廃棄物の燃焼については以下の知見がある。

- 多層カーボンナノチューブの廃棄物は850℃での最低2秒間の燃焼、あるいは物質の生物影響に関与するナノ次元の構造を破壊するような化学的措置で無害化される。(イギリス(2008年5月))。
- 多層カーボンナノチューブ及び単層カーボンナノチューブは約500℃以上では空気中で容易に酸化する((独)物質・材料研究機構 web site 資料)。

参考資料 1 生物影響に関する試験結果

| 対象物質 | 試薬の外形等 | 試薬の調製方法 | 試験生物 | 試験方法等 | 試験結果 | 出典 |
|-------------------------------------|-------------------------------------|---|--|--|--|--------------------------|
| フラーレン(C60) | | Tween80(界面活性剤、最終濃度1.0%)で分散 | P53+/-マウス(9-11week) | ・1×10 ⁹ 個/匹(3mg/匹)(溶液として1mL)をマウスの腹腔内に注入(単回)。 | フラーレン注入群及び対照群では腫瘍発生及び途中死亡は認められなかった。 | Takagi et al.(2008) |
| フラーレン(C60,C60(OH) ₂₄) | C60(160±50nm)、C60(OH) ₂₄ | 水分散 | ラット(CD(SD)IGSBR) | 0.2, 0.4, 1.5, 3.0mg/kgを肺に注入(単回)。 | どちらのフラーレンもばく露後1日で一過性の炎症と、細胞傷害を示したが、その他は水を注入したものと差は無かった。C60を1.5, 3 mg/kg ばく露したラットのBAL の過酸化脂質がばく露1日、3ヶ月で増加。 | Sayes et al. (2007) |
| フラーレン派生物(C60HxC70Hx) | 30nm | THFを用いて分散 | ミジンコ(<i>Daphnia magna</i>) | ・17°C、12L:12D ・260ppbと2.0ppm | Hopping: 増加、拍動数: 変化なし、付属肢の活動: 増加、尾爪: 変化なし、回復状況: 左記の有意に増加したものは全て回復した。 | Lovern et al.(2007) |
| フラーレン(C60) | 直径50-200nmで、平均直径95nm | 同上 | <i>Bacillus Subtilis</i> (グラム陽性菌)のCB310 | 低濃度: 0.01mg/L、高濃度: 0.75mg/L | 低濃度(0.01mg/L)ばく露群で、iso-及び δ -anteiso-分枝脂肪酸が有意に増加し、高濃度(0.75mg/L)ばく露群では1価不飽和脂肪酸が増加した。また、 <i>P. putida</i> とは異なり、相輸送温度は低下し、膜の流動性は低下した。 | Fang et al.(2007) |
| フラーレン(C60) | 同上 | 同上 | <i>Pseudomonas putida</i> (グラム陰性菌)のF1 | 低濃度: 0.01mg/L、高濃度: 0.5mg/L | 不飽和脂質の減少、シクロプロパン脂肪酸の増加が認められた。また、高濃度(0.5mg/L)ばく露群で、相輸送温度の若干の上昇と増殖のための膜の流動性が増加した。 | Fang et al.(2007) |
| フラーレン(C60) | | 同上 | グラム陽性菌(<i>Bacillus subtilis</i> CB315) | 作用濃度: 0.04-4mg/L | 0.4及び4mg/Lで増殖が見られず、4mg/LでCO ₂ 発生量が低下した | Fortner et al.(2005) |
| フラーレン(C60) | | 同上 | グラム陰性菌(<i>Escherichia coli</i> DH5 α) | 同上 | 0.4及び4mg/Lで増殖が見られず、4mg/LでCO ₂ 発生量が低下した | Fortner et al.(2005) |
| フラーレン(C60) | 水中の粒子サイズ: 85nm | 同上 | 大学内の土壌(きょう雑物を除去、4mmで篩) | ・C60: 1 μ g/mL/g soil | 細菌及び細菌群集の呼吸量、酵素活性等に対してほとんど影響はない。 | Tong et al.(2007) |
| フラーレン C60 | | 同上及び水分散 | ミジンコ(<i>Daphnia magna</i>) | ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) | 0.8ppm(THF分散、48hrEC50)、35ppm以上(水分散48hrEC50) | Zhu et al.(2006) |
| フラーレン(C60) | 93nm | THFを用いて分散(20mgのC60) | 同上 | ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) 作用濃度: 40, 180, 260, 350, 440, 510, 700, 880ppb | 0.46ppm(EC50)、0.880ppm(EC100)、0.260ppm(LOEC)、0.180ppm(NOEC) | Lovern & Klaper(2006) |
| フラーレン(C60) | 20-100nm | 水中で30分以上超音波 | 同上 | ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) 作用濃度: 0.2, 0.45, 0.9, 2.25, 4.5, 5.4, 7.2, 9ppm | 7.9ppm(EC50)、NA(9ppm以上)(EC100)、0.5ppm(LOEC)、0.2ppm(NOEC) | Lovern & Klaper(2006) |
| フラーレン(C60) | 直径10-200nmの凝集物 | 水分散法(2ヶ月間以上スターラーで攪拌) | 同上 | ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) | 35ppm以上(48hrEC50)、35ppm以上(96hrEC50)、5ppm以上(21日間の遊泳阻害) | Oberdorster et al.(2006) |
| フラーレン(C60) | 10-20nm | THFを用いて分散 | 同上 | ・17°C、12L:12D ・260ppbと2.0ppm | Hopping: 増加、拍動数: 増加、付属肢の活動: 増加、尾爪: 変化なし、回復状況: 左記の有意に増加したものは全て回復しなかった。 | Lovern et al.(2007) |
| フラーレン(C60) | 直径10-200nmの凝集物 | 水分散法(2ヶ月間以上スターラーで攪拌) | Copepods(海底匍匐製の <i>Harpacticoid</i>) | 作用濃度等: 96hrLC50、3.75, 7.5, 15, 22.5ppm | 22.5ppm以上(96hrEC50) | Oberdorster et al.(2006) |
| フラーレン(C60) | 同上 | 同上 | ヨコエビ(<i>Hyalella</i>) | ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) | 7ppm以上(48hrEC50)、7ppm以上(96hrEC50) | Oberdorster et al.(2006) |
| フラーレン(C60) | 同上 | 同上 | メダカ | 作用濃度: 0.5ppmで96hr、投餌 | 0.5ppm以上(mRNAの損傷) | Oberdorster et al.(2006) |
| フラーレン(C60) | 同上 | 同上 | Fatheadminnow | 作用濃度等: 試験前96hr無投餌、0.5ppmで96hrばく露、試験中は無投餌、24hr及び72hrに半量ずつ換水 | 0.5ppm以上(mRNAの損傷) | Oberdorster et al.(2006) |
| フラーレン(C60) | | 同上 | 同上 | 作用濃度: 0.5ppm | 脳の過酸化脂質濃度を上昇させ、鯉中の過酸化脂質濃度は有意に増加した。また、肝臓中のCYP2の一群の酵素はコントロールに比べて有意に増加した | Zhu et al.(2006) |
| フラーレン(nC60) | 不定形、平均サイズ約100nm | ベンゼンに溶解⇒THF溶液へ⇒200mLのアセトン(スターラーで攪拌)に滴下⇒蒸留水をゆっくり添加⇒75°Cで加熱濃縮 | ゼブラフィッシュ(実験室で産卵した二世代目)の受精卵(受精後1.5時間以内) | 作用濃度: 1.5mg/L、ばく露時間: 最大96hr | nC60 1.5mg/Lは生残率を低下させた。また卵の孵化率を低下させた。影響は抗酸化剤で緩和された | Zhu et al.(2007) |
| フラーレン(C60) | 溶液中で30-100nmの安定した凝集物 | THFを用いて分散 | オオクチバス幼魚(体重5.3±2.0g) | 0.5mg/L 48時間 | 脳の過酸化脂質濃度、鯉の過酸化脂質濃度及び鯉の総グルタチオンで有意な差が確認された。 | Oberdorster (2004) |
| 水溶性フラーレン(C60(OH) ₂₂₋₂₄) | | THFを用いて分散 | グラム陰性菌(<i>Escherichia coli</i> DH5 α) | 作用濃度: 5mg/L | 顕著な影響は認められなかった。 | Fortner et al.(2005) |
| 水溶性フラーレン(C60(OH) ₂₂₋₂₄) | | 同上 | グラム陽性菌(<i>Bacillus subtilis</i> CB315) | 作用濃度: 5mg/L | 顕著な影響は認められなかった。 | Fortner et al.(2005) |
| 水溶性フラーレン(C60(OH) ₂₂₋₂₄) | 不定形、平均サイズ約100nm | 10mgを100mLの精製水(Milli-Q)に溶解(100mg/L) | ゼブラフィッシュ(実験室で産卵した二世代目)の受精卵(受精後1.5時間以内) | 作用濃度: 50mg/L、ばく露時間: 最大96hr | 50mg/L以上 | Zhu et al.(2007) |

参考資料 1 生物影響に関する試験結果 (続き)

| 対象物質 | 試薬の外形態 | 試薬の調製方法 | 試験生物 | 試験方法等 | 試験結果 | 出典 |
|------------------------|--|--|--|---|---|------------------------------|
| MWCNT | MWCNT(20~40nm×220、825nm) | 20mgMWCNTを400mLエタノールで1時間超音波処理 | ラット(Wistar、雄、6週齢) | in vivo 0.1mg/匹、4週間皮下埋め込み。 | ラット皮下組織では、長さ220nmの方が炎症反応が弱かった。 | Sato et al.(2005) |
| MWCNT | MWCNT(精製品、粉砕物) | Tween80を1%添加0.9%生理食塩水、超音波処理 | ラット(SD、雌、200~250g) | MWCNTを0.5、2、5 mg、1回気管注入。 | MWCNTの毒性は濃度依存性を示し、炎症反応と肉芽腫形成を示した。60日後にも肺に残存し、2ヶ月後肺にコラーゲンリッチな肉芽腫瘍が発生した。 | Miller et al. (2005) |
| MWCNT | MWCNT(平均50nm×10μm、95%純度、表面積280m ² /g) | 生理食塩水(Tween80 1%添加)、超音波処理 | マウス(kunming マウス、雌、30g、10週齢) | 加水注入。MWCNT エタノールを吸入マウスで6時間/日ばく露を5日間、10日間、15日間ばく露 | MWCNTの肺胞における凝集は気管支より少ない。注入16日後まで肺胞壁にMWCNT沈着があるが炎症はない。24日目には炎症が引き起こされていた。 | Li et al.(2007) |
| MWCNT | 15層、平均内径5.1±2.1nm、5.2±1.5nm、平均外径11.3±3.9nm、9.7±2.1nm | 15分超音波処理、1分以下のポルテックス | スイスマウス(雄、雌、40~45g) | 200~400μgをシリンジで気管注入後、空気を50μL注入。 | CNTによって引き起こされる肺の炎症は弱く一過性だが、速やかなP-セレクチン依存的な全身性炎症が認められた。 | Nemmar et al.(2007) |
| MWCNT | MWCNTの粒子密度: 3.55×1011個/g | Tween80(界面活性剤、最終濃度1.0%)で分散 | P53+/-マウス(9-11week) | ・1×109個/匹(3mg/匹)(溶液として1mL)をマウスの腹腔内に注入(単回)。 ・上記の操作を、MWCNT及びブラーレン、クロシドライトについて実施 | p53(+/-)マウスにおいてMWCNTの腹腔内注入により25週後までに中皮腫が惹起された。中皮腫の発生は、MWCNT注入群においては、全体を通じての発生率は14/16(87.5%)で、クロシドライト注入群では14/18。大きな線維性痼疽/肉芽(granulation)の中に、凝集塊が包み込まれているのが認められた。また、MWCNT及びクロシドライトの分散した繊維が線維化病変部の細胞外に、又は食細胞によって貪食された像として認められた。 | Takagi et al.(2008) |
| MWCNT | | 2%CMC(カルボキシメチルセルロース溶液)に懸濁(0.5mg/mL、1.0mg/mL) | Fischer 344系雄性ラット(12週齢、体重250-300g) | ・陰嚢内に単回注入 一実験1: MWCNT=1.0mg/kg×7尾、クロシドライト=2.0mg/kg×10尾、52週間後までに解剖、観察 一実験2: MWCNT=2.0mg/kg×7尾、30週間までに解剖、観察 | クロシドライト群では52週まで無死亡、中皮腫の発生はなし。MWCNTでは、26週間までに発がん過程が開始され、52週までに6/7例で死亡。血性腹水、大小の白色結節が腹腔に播種状に分布、一部腹腔内にも観察。中皮細胞の肥大及び随所に大小の結節性ないし乳頭状の中皮腫が観察された。 | Sakamoto et al.(2009) |
| MWCNT、N-dopedMWCNT | MWCNT(長径50nm以下)、N-dopedMWCNT(30~50nm×100~300μm) | PBS | マウス(CD1系C.129S2-Cd1tm1Gru)、雄、4週齢 | 単回、1、2.5、5mg/kg、鼻腔、経口、気管、腹腔注入。注入後24、48、72時間、7日後に解剖 | N-dopedMWCNTよりMWCNTの方が毒性が高かった。 | Carrero-Sanchez et al.(2006) |
| MWCNT | 直径30-70nm | 溶媒に分散させたMWCNTを底泥に混入 | オヨギゴカイ(Lumbriculus variegatus) | 作用濃度: 0.37mg/g乾泥、0.037mg/g乾泥(泥に混入前に超音波で分散) 底泥(有機炭素含有率0.66%): ピート(有機炭素含有率45.1%)=9:1で混合したものを底泥として水槽に敷く | 試験生物の有意な死亡率の増加はなかった 濃縮率: 0.40±0.1 | Petersen et al.(2008) |
| SWCNT | SWCNT(1.4nm×1μm)、陽性対照にquartz、陰性対象にcarbonyl iron粒子 | PBS+1%Tween 80 | ラット(Crl:CD(SD)IGS BR、雄、8週齢、240~255g) | 0、1、5mg/kg、24時間、1週間、1ヶ月、3ヶ月肺に注入。BAL検査及び病理組織学的検査 | 5mg/kgばく露群は24時間以内の死亡率は~15%であったが、これは上部気道の閉塞によるもので、SWCNTの毒性に起因するものではなかった。Quartzは有意な肺の炎症等の影響が認められたが、SWCNTの注入による細胞の炎症は一過性であった。SWCNTの注入で異物性肉芽腫が発現したが、用量依存性はなく、分布は不均一で、1ヵ月後も進行性は認められなかった。この肉芽腫については、BAL検査及び病理組織学検査で肺毒性が認められなかったこと、用量依存性がないこと、分布が不均一であること、粉じんによる肺毒性の事例、時間経過で症状が軽減する可能性といった点で、矛盾した結果となっている。 | Warheit et al.(2004) |
| SWCNT | SWCNT(2nm×0.5~40μm) | 生体適合性非イオン性界面活性剤(PluronicF-68(BASF Corp)とPBS)作濁。ウェットミル5分 | ラット(CDF(F344)/CrBR、雌、6週齢) | 2mg/kgを口咽頭に注入 | ばく露後1日、21日後はBALでは明確な炎症反応はみられなかったが、21日後の肺に局所的な小さな間質性線維性病変があった。 | Mangum et al.(2006) |
| SWCNT | SWCNT(CNI社) | PBS、3分超音波処理 | マウス(C57Bl/6、雄、2、3ヶ月齢) | 10~40μg/匹、咽頭に注入(単回)。 | 大動脈ミトコンドリアアグルタチオン量、蛋白カルボニル活性の変化に伴うmtDNAダメージ有り。ApoE-/-トランスジェニックマウスで、アテローム性動脈硬化症の進行を増強する。しかしマウスの脂質組成は変化しなかった。 | Li et al.(2007) |
| SWCNT | SWCNT(長径1~4nm、表面積1040m ² /g) | PBS | マウス(C27Bl/6、雌、7~8週齢) | SWCNTを0~40μg/匹咽頭経由で肺に注入。 SWCNTは5mg/m ³ 、8時間/日。 | BALの炎症細胞、炎症サイトカイン、蛋白質の迅速な増加により、SWCNTが急性炎症反応を起こすことを示した。SWCNTのマクロファージとの反応性の低さから、炎症は一過性と考えられた。 | Shvedova et al.(2005) |
| SWCNT | 未精製・精製CNT(Rice大学) | 剪断2分、超音波処理0.5分。熱処理したマウス血清に懸濁 | マウス(B6C3F1、雄、2ヶ月齢) | 2mg/mL(0.1mg)、10mg/mL(0.5mg)気管内へカテーテル挿入により注入、ばく露後7日、90日に解剖 | 肺に用量依存性の間質性肉芽腫が認められた。CNTが肺に到達した場合カーボンブラックより有害性が強い。 | Lam et al.(2004) |
| SWCNT | | | 微小コペボダ(Amphiscus tenuiremis) | ASTM E-2317-04 作用濃度: 0.058、0.97、1.6、10 mg/L | 最大10mg/Lまで生残率に影響はなかった。精製しなかったSWCNTではやや影響が認められた | Templeton et al.(2006) |
| SWCNT | | | 同上 | 同上 | 純粋化したSWCNTは成長には影響がなかった。精製しなかったSWCNTではやや影響が認められた | Templeton et al.(2006) |
| SWCNT | SWCNT | 溶媒に分散させたSWCNTを底泥に混入 | オヨギゴカイ(Lumbriculus variegatus) | 作用濃度: 0.03mg/g乾泥、0.003mg/g乾泥(泥に混入前に超音波で分散) 底泥(有機炭素含有率0.66%): ピート(有機炭素含有率45.1%)=9:1で混合したものを底泥として水槽に敷く | 有意な死亡率の増加はなかった 濃縮率: 0.28±0.03 | Petersen et al.(2008) |
| SWCNT | 1.1nmφ外径、5-30μmL | 3g/L SDS(Sodium dodecyl sulphate)⇒超音波(2時間、35kHz) | ニジマス未成魚(30.0±5.0g) 試験前1日及び試験期間中は無投餌 | 作用濃度: 0.1、0.25、0.5 | 鰓の病理(水腫、粘液細胞の変化・過形成)が確認された。鰓、消化管でのNa ⁺ K ⁺ ATPaseの有意な増大(ただし、脳、肝臓では変化はない)。鰓と肝臓でのグルタチオンレベルの増加(脳と消化管のグルタチオンは変化なし) | Smith et al.(2007) |
| SWCNT | 同上 | 同上 | 同上 | 同上 | 粘液の排泄及びびりいら状態(irritation)。鰓の活動量は投与量に比例して増大。鰓の病理(水腫、粘液細胞の変化・過形成)が確認された。SWCNTの混じった粘液の排泄の確認。 | Smith et al.(2007) |
| SWCNT(酸化) SWCNT=水溶性 | 直径2-10nm、長さ500nm未満 分離(22000g,5hr)により大きな粒子を除去 | 100nmのフィルターでろ過し、精製水に再懸濁させて1hr超音波。遠心分離(22000g,5hr)により大きな粒子を除去 | 織毛虫(原生動物) (Tetrahymena thermophyla) | 作用濃度: 0-17.2μg/mL(ばく露濃度は明記されていないが、文中から0、1.6、6.8、11.9、17.2μg/mLの5段階はある) | 11.9μg/mLで、試験直後に全ての生物が凝集、運動の消失が観察され、その後再活動個体もあるが徐々に死亡も確認され、液が暗くなっていく。6.8μg/mLでは、当初の凝集は生じるが、3日後でも運動の消失は生じない。凝集の程度、運動消失の程度、死亡は1.6-11.9μg/mLの範囲で濃度の上昇とともに増加する。CB試験で見た摂餌能力では、3.6μg/mL以上で摂餌能力が確認できなかった(1.8μg/mL以下では対照と同等の摂餌能力が確認された) | Ghafari et al.(2008) |
| SWCNT(脂質でコーティングしたもの) | 直径: 約1.2nm 平均分子量: 106 Da | CNTを脂質(Lysophosphatidylcholine)でコートした | ミジンコ(Daphnia magna) | ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA1993)) (毎日投餌、水交換) | 5mg/L以下では死亡率0%、10mg/Lで死亡率20%、20mg/Lで死亡率100%。ミジンコは脂質でコーティングしたSWCNTを摂食し、脂質部分を消化した。 | Roberts et al.(2007) |
| 同上 | 同上 | 同上 | 同上 | 同上 | 0.5mg/L以上で死亡率が増大したが(2.5mg/Lで約60%死亡)、0.5mg/L以下でも濃度が低下するほど死亡率が増大した。ミジンコは脂質でコートしたSWCNTを摂食し、脂質部分を消化した。 | Roberts et al.(2007) |

参考資料 1 生物影響に関する試験結果 (続き)

| 対象物質 | 試薬の外形等 | 試薬の調製方法 | 試験生物 | 試験方法等 | 試験結果 | 出典 |
|------------------|--|--|--|---|---|--------------------------|
| TiO ₂ | uf-A: 136.0nm, uf-B: 149.4nm, uf-C: 140.0nm, 対照超微粒子: 129.4nm, 微粒子TiO ₂ : 約380nm | 水分散及びPBS(phosphate buffered saline)分散 | Salmonella typhimurium strains TA98, TA100, TA1535, and TA1537 and Escherichia coli strain | 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) |
| TiO ₂ | 同上 | 同上 | Chinese hamster ovary (CHO) cells (Aroclor-induced rat liver S9の有無の両者) | 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) |
| TiO ₂ | 29nm, 250nm | PBS, 超音波処理 | マウス(BALB/cANNCrl, 雌, 6~8週齢) | 鼻腔に0日目, 1日目, 2日目の3回, 総注入量ナノ粒子200µg及びオポアルブミン30µgを注入(オポアルブミン, オポアルブミン+ナノ粒子)。 | 小さくて, 表面積の大きい粒子は, アジュバンド効果を示した | de Haar et al.(2006) |
| TiO ₂ | 粒子サイズ5nm, 表面積210 ± 10 m ² /g | 噴霧チャンバー使用 | マウス(C57Bl/6, 雄, 6週齢, 22~25g) | 急性毒性4時間/1回, 亜急性毒性4時間/日を10日チャンバーで全身ばく露(2.5mg/Lを25L/minばく露)。LDH, BAL 検査 | 8.88 mg/m ³ ばく露後1~2週間でBALの肺胞マクロファージ数増加。ばく露後3週間で回復。その他の毒性指標に影響は認められなかった。 | Grassian et al.(2007) |
| TiO ₂ | 80, 25 nm | HPMC 溶液, 15~20分超音波処理 | マウス(CD-1, 雌雄4匹ずつ, 19 ± 2g) | TiO ₂ を5g/kg体重, 1回口から経管投与。2週間観察。対象に155nm TiO ₂ を投与 | BUN(腎臓影響有り), 血清LDH, αHBDH(心筋障害)。肝臓の病理学(中心性静脈部の肝細胞ネクロシス)。心臓, 肺, 睪丸(卵巣), 及び脾臓組織には病理学的異常なし。肝臓に一着蓄積。脾臓, 腎臓, 肺組織に蓄積。 | Wang et al.(2007) |
| TiO ₂ | Rutile crystal phase, 19~21nm, 表面積50 ± 15m ² /g | 生理食塩水, 培養液, 超音波処理 | マウス(ICR, 雄, 2ヶ月齢, 30g) | 0.1, 0.5mg/匹。単回, マウス気管注入, 注入後3日, 1週間, 2週間の肺検査。 | 肺気腫, マクロファージ浸潤, 肺胞隔壁破壊, タイプII肺胞細胞の肥厚化, 上皮細胞アポトーシスなどが0.1mg注入で見られた。100以上の遺伝子発現に変化があった。 | Chen et al.(2006) |
| TiO ₂ | 3nm, 20nm | 水, 15分超音波処理 | マウス(Kunming マウス, 雄, 7週齢) | ナノ粒子0.4, 4, 40mg/kg, 肺に注入, 注入後3日目にBAL試験 | 急性毒性は3nmのTiO ₂ では0.4mg/kgの注入では現れず, 4mg/kgでわずかに影響が現れ, 40mg/kgで肺に負荷がかかった。 | Li et al.(2007) |
| TiO ₂ | 平均粒径0.29µm, BSAコートTiO ₂ | | ラット(SD, 雄, 7週齢) | ラットに4mgのTiO ₂ を気管注入し, 肺組織解析。 | TiO ₂ 注入群は, マクロファージ遊走阻止因子(MIF)に関連するmRNAを増加させた。MIFはTiO ₂ 注入後48時間で気管支上皮細胞に発現し, 肺全体で発現増加した。 | Cha et al.(2007) |
| TiO ₂ | uf-A: 136.0nm, uf-B: 149.4nm, uf-C: 140.0nm, 対照超微粒子: 129.4nm, 微粒子TiO ₂ : 約380nm | PBS, 15分超音波処理 | ラット, ウサギ | 皮膚感作性: OECDガイドライン429(局所リンパ節検定) 皮膚刺激性: 同404, 目刺激性: 同405 | 皮膚感作性(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 | Warheit et al.(2007) |
| TiO ₂ | 同上 | 同上 | ラット, ウサギ | 急性経口毒性: OECDガイドライン425(急性経口毒性) | 急性毒性(経口): 低い(5000mg/kg以上) | Warheit et al.(2007) |
| TiO ₂ | 同上 | 水分散及びPBS(phosphate buffered saline)分散 | 藻類 | 藻類生長阻害試験(OECDテストガイドライン201) | 中程度の影響 | Warheit et al.(2007) |
| TiO ₂ | 粒子径: 25nm(主にアナターゼ) | 500mLの脱イオン水に10gのTiO ₂ を添加し, 19hr室温で攪拌(スターラーによる) | 藻類(<i>Desmodesmus subspicatus</i>) | 藻類生長阻害試験(ISO8692, OECD201, DIN38412-33) 作用濃度: 0, 3.1, 12.5, 25, 50 mg/L | 50%影響濃度は44mg/L | Hund-Rinke & Simon(2006) |
| TiO ₂ | 同上 | 2000gを1hr遠心分離⇒沈殿物を500mLの脱イオン水に再分散⇒24hr攪拌⇒遠心分離して55°Cで乾燥。 | 同上 | 藻類生長阻害試験(ISO 8692の改法) 作用濃度: 0, 3.1, 12.5, 25, 50 mg/L | 50mg/L以上 | Hund-Rinke & Simon(2006) |
| TiO ₂ | 同上 | 同上 | ミジンコ(<i>Daphnia magna</i>) | 同上 | 短時間の強い照明(250W, 30分)をした実験では, 照明をしなかった場合よりも影響が大きくなった(図からは)短時間の強い照明をしなかった実験では3mg/Lまでは影響は認められなかった。(図からは)粒子径25nmのものが100nmのものよりも影響が大きい | Hund-Rinke & Simon(2006) |
| TiO ₂ | 同上 | 500mLの脱イオン水に10gのTiO ₂ を添加し, 19hr室温で攪拌(スターラーによる) | 同上 | ミジンコ急性遊泳阻害試験(ISO6341, OECD202, DIN38412-30) 作用濃度: 0, 3.1, 12.5, 25, 50 mg/L | 短時間の強い照明(250W, 30分)をした実験では, 照明をしなかった場合よりも影響が大きくなった。(図からは)粒子径25nmのものが100nmのものよりも影響が大きい | Hund-Rinke & Simon(2006) |
| TiO ₂ | 100~500nm | 水分散: 水中で30分以上超音波 | 同上 | ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) 作用濃度: 50, 200, 250, 300, 400, 500ppm | 500ppm以上(EC50), 500ppm以上(EC100), 500ppm以上(LOEC), 500ppm以上(NOEC) | Lovern & Klaper(2006) |
| TiO ₂ | 10~20nm | THFを用いて分散 | 同上 | ・17°C, 12L:12D ・260ppbと2.0ppm | Hopping: 変化なし, 拍動数: 変化なし, 付属肢の活動: 変化なし, 尾爪: 変化なし | Lovern et al.(2007) |
| TiO ₂ | uf-A: 136.0nm, uf-B: 149.4nm, uf-C: 140.0nm, 対照超微粒子: 129.4nm, 微粒子TiO ₂ : 約380nm | 水分散及びPBS(phosphate buffered saline)分散 | 同上 | ミジンコ急性遊泳阻害試験(OECDテストガイドライン202) | 影響は小さい | Warheit et al.(2007) |
| TiO ₂ | 同上 | 同上 | ニジマス | 魚類急性毒性試験(OECDテストガイドライン203) | 影響は小さい | Warheit et al.(2007) |
| TiO ₂ | 平均の直径: 21nm, 比表面積 50 ± 15m ² /g | 超音波(6時間, 35kHz, 毎日の投与前に30分の超音波) | ニジマス未成魚(28.1 ± 0.4g) 試験前1日及び試験期間中は無投餌 | 作用濃度(mg/L): 0.1, 0.5, 1.0 | 鰓の膜の水腫及び肥厚が認められた。ヘマトクリト等の血液性状や組織のNa ⁺ /K ⁺ 濃度では変化がなかった。組織の金属濃度(Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Mn)は変化がなかった。ただ, CuとZnについては特に脳において濃度依存の傾向が見られた。Na ⁺ /K ⁺ ATPase活性は, 鰓及び消化管では顕著に減少し, 脳においては減少の傾向が認められたが, 肝臓ではそのような傾向はなかった。鰓のグルタチオン濃度は有意に増加したが, 脳及び消化管ではそのような変化はなかった。 | Federici et al.(2007) |
| TiO ₂ | 同上 | 同上 | 同上 | 同上 | ・試験後半では粘液を放出するものが多かった。 ・1.0mg/Lの試験区では試験の後半で位置を喪失する(水中で縦になる)ものがあり, 浮力調節に異常をきたしていた。が, それ以外の異常な行動はなかった。 | Federici et al.(2007) |

参考資料 1 生物影響に関する試験結果 (続き)

| 対象物質 | 試薬の外形等 | 試薬の調製方法 | 試験生物 | 試験方法等 | 試験結果 | 出典 |
|-------------|---|---|--------------------------------------|--|---|----------------------|
| 銀ナノ粒子 | 平均長径(nm) 低ばく露量群 11.93±0.22、中ばく露量群 12.4±0.15、高ばく露量群 14.77±0.11 | ドライパウダー | ラット(SD、8週齢、雄283g、雌192g) | 28日間(4週間)、6時間/日で5日/週、噴霧チャンバーでばく露。ばく露量1.73×104個/cm ³ 、1.27×105個/cm ³ 、1.32×106個/cm ³ (61μg/m ³)。 | 28日ばく露後、肺組織中の銀の量は、ばく露量に比例していた。体重、血液生化学指標に有意差は認められなかった。 | Ji et.al.(2007) |
| 銀ナノ粒子 | 直径11.6±3.5nmの球形の粒子(試験時の観察では最終的に5-46nm) | | 同上 | 不明(右の記載から最低でも20.52ng/Lの用量はある) | 銀ナノ粒子は胚のchorion pore canals(絨毛膜の裂孔)通して胚に入り込む。その運動はブラウン運動のような動きで能動的なものではない。chorion pore canalsの拡散係数は大きいのが、胚の内部では小さくなり拡散は抑制される。銀ナノ粒子は正常に発達した胚や死亡した胚等にすべて見られ、影響の出現は濃度依存であると思われ、その限界は0.19nMであった(20.52ng/L)。他の粒子と異なり、銀ナノ粒子は光学的に確認できるので、生体内の影響検討等に有用である。 | Lee et.al.(2007) |
| MnO | MnO、Mn ₃ O ₄ 、Mn ₂ O ₃ 、MnO ₂ 混合物(30nm、~500μg/m ³) | 生理食塩水、超音波処理 | ラット(Fischer344、雄、200-250g、3ヶ月齢) | 鼻腔に5-7μgを6時間/日、5日/週で12日目まで注入し、12日目に全身組織中のMn測定、11日目にジーン及びブロテインアッセイを実施 | 注入12日後、嗅球のMn量が増加していた。肺のMn量も倍増していた。線条体、前頭皮質、小脳でもMnが増加していた。11日目のBALでは肺の炎症はみられなかったが、TNFα-mRNAと蛋白が検出された。 | Elder et.al.(2006) |
| 酸化亜鉛 | 酸化亜鉛(50~70nm)、酸化亜鉛(<1000nm) | PBS、培養液、30分超音波処理 | ラット(Crl:CD(SD)IGS BR、雄、8週齢、240~255g) | 1、5mg/kg(PBS懸濁液)を気管注入。注入後24時間、1週間、1ヶ月、3ヶ月にBAL検査。 | TNF-αはほとんど活性していないが、IL-6がZnO(ナノ)で産生した。in vivoとin vitroの結果は相関しなかった。 | Sayes et.al.(2007) |
| 銅(ナノ) | Cu(25nmタイプ、平均粒径23.5nm)、ミクロン銅(17μm)、イオン(0.072nm) | 1%w/vHPMC溶液、10分超音波処理、2分ボルテックス | マウス(ICR、雌雄、8週齢、20~22g、5匹ずつ) | 急性経口毒性試験(OECDテストガイドライン425)ナノ(108~1080mg/kg投与)、ミクロン(500~5000mg/kg投与)、イオン(24~237mg/kg) | 経口投与によるLD50はナノ銅:413mg/kg、銅イオン:110mg/kg、ミクロン銅:5000mg/kg以上。ナノ、ミクロンともに腎臓形態学的変化を示した。脾臓はナノで強い形態学的変化を示した。血清BUN、Cr、TBR、ALPは高用量(736mg/kg)ナノ銅群で影響が認められた | Chen et. Al.(2006) |
| 量子ドット(CdTe) | CdTe | PBS、脱イオン水、超音波処理 | ラット(SD、雄、1ヶ月齢) | CdTe2mM/1mL/kgを静脈注入し、注入後0、0.5、1、2、4時間後測定、24時間後解剖 | ラットへ注入後2時間で自発運動が一過性に低下し、24時間後には増加したが、その他の毒性指標に影響は見られない。 | Zhang et.al.(2007) |
| 量子ドット(CdSe) | 水溶性量子ドット(コアCdSe、キャッピングCdS、poly[ethyleneglycol]被覆の量子ドット、37nm) | 0.2μmフィルター濾過 | ヘアレスマウス(Crl: SKH-1(hr/hr)、雌、9週齢) | 皮膚注射。4、8、12、24時間後に解剖し、各臓器のCd、Se分析 | 皮膚注射により皮膚沈着。量子ドット(QD)は流入領域リンパ節や肝臓、その他の臓器に分布した。 | Gopee et.al.(2007) |
| 量子ドット(CdTe) | 粒子の85%が100nm以上、15%が100nm未満 | ストック溶液を遠心分離して(2000rpm、5分)0.1% Na-thioglycolateで透析(10kDa membrane dialysis pores)(pH10、4hr、20°C) | 淡水の二枚貝: <i>Elliptio complanata</i> | 1.6、4 and 8 mg/L | 免疫系の検査では、CdTe濃度の増加により、血球密度の増加と活性の低下が確認された。食細胞の活性の低下も確認されたが濃度依存性は明確ではなかった。K542細胞による免疫機能(細胞殺傷能)は濃度依存的に増加した。脂質過酸化酵素活性は鰓では濃度依存的に上昇し、逆に消化管では濃度依存的に低下した。DNAの損傷は鰓ではわずかに濃度依存的に上昇した(ものの明瞭な変化はなく図からの読み取り)、消化管ではむしろ対照区よりも少なくなった。全体を通して、CdTeは淡水二枚貝の免疫系に影響を及ぼし、鰓及び消化管に酸化ストレスを与えDNAに損傷を与えた(消化管のDNA損傷は明瞭ではない)。 | Gagne et.al.(2008) |
| シリカ | ナノSiO ₂ (10±5nm、表面積640±50m ² /g)、マイクロSiO ₂ (0.5~10μm) | 生理食塩水、ボルテックス混合 | ラット(Wistar、雌、7週齢、180~200g) | 40mg/mL(SiO ₂ 総量20mg)気管注入。ばく露後1ヶ月、2ヶ月で解剖 | 注入1ヶ月後ナノSiO ₂ は細胞小結節Stage I、マイクロ群はStage II、II+、2ヶ月後ナノSiO ₂ はStage Iのまま、マイクロSiO ₂ 群はStage II+、IIIを示した。IL-4、TGF-β1の発現はナノSiO ₂ の方が低い。線維形成はナノSiO ₂ の方が軽度であった。 | Chen et.al.(2004) |
| シリカ | Min-U-Sil a-quartz particles(300nm~2μm)、Nanoscale quartz particles I(50nm)、nanoscale quartz particles II(12nm)、fine quartz(300nm) | PBS | ラット(Crl:CD(SD)IGS BR、雄、8週齢、240~310g) | 5mg/kg、1mg/kg 気管注入し、24時間、1週、1ヶ月、3ヶ月にBAL検査 | α-シリカの肺毒性は、粒子大きさや表面積よりも界面活性が影響している。 | Warheit et.al.(2007) |

※ 参考資料 1 に紹介した生物影響試験の事例は、近年の研究の状況を示す参考として示すものであり、内容について精査されたものではない。

参考資料2 測定方法の原理・特徴（主に作業環境の測定方法）

| 測定方法等 | 測定の対象 | | | 原理 | 特徴等 |
|--|-------|----|-----|---|--|
| | 個数 | 質量 | 表面積 | | |
| CPC : Condensaiton Particle Counter 凝縮式粒子計数数器 | ○ | | | 気化させたアルコールや水を粒子に凝縮させて粒径を大きく揃えて光学的に計数する方法。 | 原理的に個数の測定のみが可能 |
| SMPS : Scanning Mobility Particle Sizer 走査型移動度粒径測定器 | ○ | ○ | ○ | 帯電させた粒子を電場内で移動させ、その到達距離等で粒子サイズ別の個数をカウントする方法。 | リアルタイムのサイズ別の個数の測定装置。 測定可能範囲：10nm～1000nm。 粒子の形状や密度から重量、表面積に換算。 |
| PCS : Photon Correlation Spectroscopy 光子相関分光法 | ○ | | | ブラウン運動による散乱光を測定することで粒子サイズを測定する方法。 | 3nm以上の粒子に適用できる。 ナノ材料の品質管理に利用される。 |
| Optical Particle Counter 粒径別粒子数計測装置 | ○ | | | 光束中に吸引空気を流し空気に含まれる粒子による散乱光により粒子の大きさと数を測定する方法。 | 100-300nmの粒子に適しており、ナノには適していない。 |
| Electron Microscopy (SEM, TEM) (走査型、透過型) 電子顕微鏡 | ○ | | ○ | 光学顕微鏡で光の代わりに電子線を用いた顕微鏡。 | 電子顕微鏡試料の計測により、サイズ別のエアロゾルの個数濃度に関する情報が得られる。 |
| Size-selective personal sampler 個人用多段分級装置 | | ○ | | 多段の分級装置を個人用に小型化した装置。 | 現状では100nmを区切った装置はない。オフラインでの重量分析か化学分析が必要である。質量はサイズ分布計測から得られる。 |
| Size-selective static sampler 水平重力式多段分級装置 | | ○ | | 水平に気流を流し、重力で沈降する粒子をその到達する水平位置の差で区分する分級装置。 | 100nmに区切りのあるカスケードを持つ唯一の装置。 |
| TEOM: Tapered element oscillating microbalance フィルター振動法測定器 | | ○ | | 固有の振動が与えられたフィルター上に粒子を捕集し、振動数の減衰量より質量濃度をリアルタイムに計測する。 | ナノスケールの粒子に適した粒径区分での質量測定が可能である。 |
| ELPI : Electrical Low Pressure Impactor 電子式低圧インパクトター | ○ | ○ | ○ | 特定の大きさ以上の粒子を捕集し小さいものは透過させる多段のノズルを重ねることで粒子の大きさ別の計測ができる装置。 | リアルタイムのサイズ別個数の測定装置。 粒子の形状や密度から重量、表面積に換算。 |
| Diffusion Charger 拡散荷電装置 | | | ○ | コロナ放電によるイオンの粒子への拡散荷電が粒子表面の化学的性質とは無関係に表面積に比例することから粒子の表面積を測定する方法。 | リアルタイムのエアロゾル表面積の測定。100nm以上には不適で、100nm以下に有効な方法。100nm以上を分級できるならば、ナノスケールの粒子にも適している。 |

ISO/TR 27628(2007-02-01)、BSI PD6699-2(2007-12)等の資料から作成

参考資料3 環境中への放出の可能性（整理集約表）

<製品の製造時（一次製造場及び二次製品製造場を含む）> （○：環境中に放出される可能性がある。 ×：環境中への放出の可能性は少ない）
（空白は主要な放出経路ではないことを示す）

| ナノ材料 | 検討した製品の種類 | 除じん装置からの大気への放出 | 残余材料や使用済みフィルター、ウエス、運搬容器等の廃棄処理時の取扱いによる再飛散 | | 排水処理施設からの公共用水域への放出 | 製造・運搬時の大気への放出 | 備考 |
|--------------|-----------|----------------|--|--------|--------------------|---------------|----|
| | | | 焼却処理 | その他の扱い | | | |
| カーボンブラック | タイヤ等 | ○ | ×（※1） | ○ | ○ | ○ | |
| ポリスチレン | 化粧品 | ○ | ×（※1） | ○ | ○ | ○ | |
| | ディスプレイ表面 | | | | | | |
| アクリル微粒子 | 化粧品 | ○ | ×（※1） | ○ | ○ | ○ | |
| | インクジェット | | | | | | |
| フラーレン | スポーツ用品 | ○ | ×（※1） | ○ | ○ | ○ | |
| 多層カーボンナノチューブ | 半導体トレイ | ○ | ×（※1） | ○ | ○ | ○ | |
| カーボンナノファイバー | リチウム二次電池 | ○ | ×（※1） | ○ | ○ | ○ | |
| 二酸化チタン | 化粧品 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| | トナー | | | | | | |
| | 塗料 | | | | | | |
| 酸化亜鉛 | 化粧品 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| 銀 | 繊維製品 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| | 家電製品 | | | | | | |
| 酸化セリウム | 研磨剤 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| 備考 | | ※2 | | | ※3 | | |

※1：現在日本で使用されている焼却施設（800℃以上、滞留時間2秒以上）では分解すると考えられる。

※2：HEPA フィルターは効果があると考えられるが、取扱方法によってはナノ材料を十分に除去できない可能性がある。
また、集じん装置のナノ材料の除去効率についてはデータがなく、除去できない可能性がある。

※3：排水処理で除去できなかったナノ材料が公共用水域に放出される可能性がある。排水処理汚泥は固化等の措置により環境中への放出の可能性は少ないと考えられる。

参考資料3 環境中への放出の可能性（整理集約表）（続き）

<製品の使用時>

（○：環境中に放出される可能性がある。 ×：環境中への放出の可能性は少ない）

（空白は主要な放出経路ではないことを示す）

| ナノ材料 | 検討した製品の種類 | 下水処理施設から公共用水域への放出 | 使用中の劣化に伴う環境中への放出 | 使用時に直接大気中に放出 | 備考 |
|--------------|-----------|-------------------|------------------|--------------|----|
| カーボンブラック | タイヤ等 | | ○ | | |
| ポリスチレン | 化粧品 | ○ | ○ | ○ | |
| | ディスプレイ表面 | | | | |
| アクリル微粒子 | 化粧品 | ○ | ○ | ○ | |
| | インクジェット | | | | |
| フラーレン | スポーツ用品 | | | | |
| 多層カーボンナノチューブ | 半導体トレイ | | | | |
| カーボンナノファイバー | リチウム二次電池 | | | | |
| 二酸化チタン | 化粧品 | ○ | ○ | ○ | |
| | トナー | | | | |
| | 塗料 | | ○ | ○ | |
| 酸化亜鉛 | 化粧品 | ○ | ○ | ○ | |
| 銀 | 繊維製品 | ○ | ○ | | |
| | 家電製品 | ○ | ○ | | |
| 酸化セリウム | 研磨剤 | | | | |
| 備考 | | ※1 | ※2 | ※3 | |

- ※1：凝集処理、活性汚泥処理でナノ材料が吸着される可能性があるが、ナノ材料の除去効率についてはデータがない。
 ※2：大気環境に粉じんとして放出されるが、又は雨水排水を通じて下水処理施設を通じて公共用水域に放出される。
 ※3：スプレーとしての使用を想定した。

参考資料3 環境中への放出の可能性（整理集約表）（続き）

<製品の廃棄処理時>

（○：環境中に放出される可能性がある。 ×：環境中への放出の可能性は少ない）

（空白は主要な放出経路ではないことを示す）

| ナノ材料 | 検討した製品の種類 | 破碎処理時の飛散 | 焼却処理 | | 下水処理汚泥の焼却処理に伴う環境中への放出 | 埋立処分場からの浸出水による環境中への放出 | 備考 |
|--------------|-----------|----------|---------|---------------|-----------------------|-----------------------|----|
| | | | 大気中への放出 | ばいじん・燃え殻からの飛散 | | | |
| カーボンブラック | タイヤ等 | ○ | ×（※1） | ×（※1） | ×（※1） | ○ | |
| ポリスチレン | 化粧品 | | | | ×（※1） | | |
| | ディスプレイ表面 | ○ | ×（※1） | ×（※1） | ×（※1） | ○ | |
| アクリル微粒子 | 化粧品 | | | | ×（※1） | | |
| | インクジェット | | ×（※1） | ×（※1） | ×（※1） | | |
| フラーレン | スポーツ用品 | ○ | ×（※1） | ×（※1） | ×（※1） | ○ | |
| 多層カーボンナノチューブ | 半導体トレイ | ○ | ×（※1） | ×（※1） | ×（※1） | ○ | |
| カーボンナノファイバー | リチウム二次電池 | ○ | ×（※1） | ×（※1） | ×（※1） | ○ | |
| 二酸化チタン | 化粧品 | | | | ○ | | |
| | トナー | | ○ | × | ○ | ○ | |
| | 塗料 | ○ | ○ | × | ○ | ○ | |
| 酸化亜鉛 | 化粧品 | | | | ○ | | |
| 銀 | 繊維製品 | | ○ | × | ○ | | |
| | 家電製品 | ○ | ○ | × | ○ | ○ | |
| 酸化セリウム | 研磨剤 | | | × | | | |
| 備考 | | ※2 | | ※3 | | ※4 | |

※1：現在日本で使用されている焼却施設（800℃以上、滞留時間2秒以上）では分解すると考えられる。

※2：材料中に含まれるナノ材料の破碎時の飛散を想定している。

※3：ばいじん・燃え殻は固化等の措置により環境中への放出の可能性は少ないと考えられる。

※4：埋立処分場からの浸出水中のナノ材料については、土壌吸着等に関する十分な情報がないことから、環境中への放出の可能性があったとした。

参考資料4 国内外の取組の現状と動向（整理集約表）

| 米国 | EC | 英国、ヨーロッパ諸国 | 日本 | OECD | その他 |
|--|---|--|--|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ・21世紀ナノテク研究開発法（2004） ・国家ナノテク戦略（NNI：2004/12、2007/12） ・EPA：White Paper（2007/2） ・EPA：Stewardship programによる情報の収集（2008/1～） ・EPA：同中間報告（2009/1） ・NIOSH：TiO2作業環境に関するガイドライン（draft）（2005/11） ・DOE：配下の研究所での取扱ガイドライン（2007/6） ・EPA：カーボンナノチューブ及びナノシリカ、ナノ酸化アルミニウムを新規化学物質と考えられることを公表（2008/10、2008/11） ・EPA：5月にNGOから提出された銀ナノ粒子を殺虫剤と扱う嘆願書の扱いをパブコメに公表（2008/11） | <ul style="list-style-type: none"> ・Framework Programmeを中心とした種々の活動 ・「Towards a European Strategy for Nanotechnology」（2004/5） ・EFSAによる食品中のナノ材料に関する情報の募集（～2008/3） ・SCCPによる化粧品中のナノ材料に関する意見募集（2007/12に結果報告） ・予防原則に基づく事業者の責任ある開発をうたった行動規範（Code of Conduct）の公表（2008/2） ・その他、Nanosafe2等のweb siteでの情報開示、収集等を広く実施。 ・専門家会合（CASG）でREACHにおけるナノ材料の扱いの検討を開始（2009/2～） | <ul style="list-style-type: none"> 〔英国〕 ・The Royal Societyのレポート（2004/7） ・DEFRAからのレポート（2005/12、2007/12） ・自主的情報提供システムを開始（2006/9～） ・BSIによる種々の規格（一般仕様書等）の発行（2007/12） ・英国環境汚染委員会からナノ材料の安全問題に関するレポートが公表（2008/11） 〔ドイツ〕労働安全衛生研究所による労働安全に関するガイドライン（2008/4） 〔アイルランド〕食品部門官庁からの予防的原則に基づいたレポート（2008/9） 〔フランス〕労働安全部局から予防原則を主とした提言を報告（2008/11） 〔スイス〕アクションプランの公表（2008/5） ナノ材料チェック表の公表（2008/12） | <ul style="list-style-type: none"> ・内閣府 科学技術連携施策「ナノテクノロジーの研究開発推進と社会受容に関する基盤開発」（2007～）等 ・文部科学省 科学技術振興調整費「ナノテクノロジーの社会受容促進に関する調査研究」（2005～）等 ・経済産業省「ナノ粒子特性評価手法の研究開発」（2006～）等 ・厚生労働省「ナノマテリアル安全対策調査業務」 <p><検討会></p> <ul style="list-style-type: none"> ・経済産業省「ナノマテリアル製造時業者等における安全対策のあり方研究会」（2008/11～） ・厚生労働省「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」（2008/3～） 「ナノマテリアルの安全対策に関する検討会」（2008/3～） ・環境省「ナノ材料環境影響基礎調査」（2008/6～）等 | <ul style="list-style-type: none"> ・WPMN(Working Party on Manufactured Nanomaterials)がChemical Committeeの下に設置（2006/9） ・8つのSG(Steering Group)に分かれて論議 ・これまでに4回の会合（～2008/6） ・第5回会合は2009/3予定（SG3で優先検討物質のデータセット作成のためのSponsorship Programが始動。日本はフラーレン、SWCNT、MWCNTの研究に参画） | <ul style="list-style-type: none"> 〔ISO TC229〕定義情報等を検討（定義情報は2008/10に公表） 〔WWI〕PENシリーズで多くの政策提言を公表 その他、EPAやOECDの活動と協働 〔デュポン他〕Environmental defenseとの協働による情報集約作業（Nano Risk Framework）（2007/7～） 〔オーストラリア ニューサウスウェールズ州〕ナノ材料の扱いに関する提言レポート（2008/11） 〔生活保護団体等〕CTIやFoE等の非政府団体によるU.S.EPAに対する銀ナノ粒子規制の嘆願書（2008/5） |

参考資料リスト

- BAUA (Federal institute for occupational safety and health) (2007) Guidance for Handling and Use of Nanomaterials at the Workplace.
- BSI (British Standards Institution) (2007) Terminology for nanoscale measurement and instrumentation. PAS 133:2007
- BSI (British Standards Institution) (2008) Nanotechnologies- Part 2: Guide to safe handling and disposal of manufactured nanomaterials. PD 6699-2
- Carrero-Sánchez, J. C., A. L. Elías, R. Mancilla, G. Arrellín, H. Terrones, J. P. Laclette, and M. Terrones (2006) Biocompatibility and toxicological studies of carbon nanotubes doped with nitrogen. *Nano letters*, 6(8), 1609-1916.
- Cha, M.-H., T. Rhim, K. H. Kim, A.-S. Jang, Y.-K. Paik and C.-S. Park (2007) Proteomic identification of macrophage migration-inhibitory factor upon exposure to TiO₂ particles. *Molecular & cellular proteomics: MCP*, 6(1), 56-63.
- Chen, S. Su, C. Chien, W. Lin, S. Yu, C. Chou, J. Chen and P. Yang (2006) Titanium dioxide nanoparticles induce emphysema-like lung injury in mice. *The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20(13), 2393-2395.
- Chen, Y., J. Chen, J. Dong and Y. Jin (2004) Comparing study of the effect of nanosized silicon dioxide and microsized silicon dioxide on fibrogenesis in rats. *Toxicology and industrial health*, 20(1-5), 21-27.
- Chen, Z., H. Meng, G. Xing, C. Chen and Y. Zhao, (2006) Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology letters*, 163(2), 109-120.
- Chrostan, P., F. Kammer, M. Baalpusha, T. Hofmann. (2008) Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology*, 17, 326-343.
- de Haar, C. I. Hassing, M. Bol, R. Bleumink and R. Pieters (2006) Ultrafine but not fine particulate matter causes airway inflammation and allergic airway sensitization to co-administered antigen in mice. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 36(11), 1469-1479.
- EC Scientific Committee on emerging and new-identified health risks (2007) Opinion on the appropriateness of risk assessment methodology in accordance with the technical guidance documents for new and existing substances for assessing the risks of Nanomaterials.
- Elder, A., R. Gelein, V. Silva, T. Feikert, L. Opanashuk, J. Carter, R. Potter, A. Maynard, Y. Ito, J. Finkelstein and G. Oberdörster (2006) Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environmental health perspectives*, 114(8), 1172-1178.
- Fang J., D. Y. Lyon, M. R. Wiesner, J. Dong, P. J. J. Alvarez (2007) Effect of a Fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior. *Environmental Science and Technology*, 41, 2336-2642.
- Federici, G., B. J. Shaw, R. D. Handy (2007) Toxicity of Titanium dioxide nanoparticles

to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, Oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, 84, 415–430.

- Fortner, J. D., D. Y. Lyon, C. M. Sayes, A. M. Boyd, J. C. Falkner, E. M. Hotze, L. B. Alemany, Y. J. Tao, W. Guo, K. D. Ausman, V. L. Colvin, J. B. Hughes. (2005) C60 in water: Nanocrystal formation and microbial response. *Environmental Science and Technology*, 39, 4307–4316.
- Gagne, F., J. Auclair, P. Turcotte, M. Fournier, C. Gagnon, S. Sauve, C. Blaise (2008) Ecotoxicity of CdTe quantum dots to freshwater mussels: Impacts on immune system, oxidative stress and genotoxicity. *Aquatic Toxicology*, 86, 333–340.
- Ghafari, P., C. H. ST-Denis, M. E. Power, X. Jin, V. Tsou, H. S. Mandal, N. C. Bols, X. Tang (2008) Impact of carbon nanotubes on the ongestion and digestion of bacteria by ciliated protozoa. *Nature nanotechnology*, 3, on-line published 5/11.
- Goppe, N. V., D. W. Roberts, P. Webb, C. R. Cozart, P. H. Siitonen, A. R. Warbritton, W. W. Yu, V. L. Colvin, N. J. Walker, P. C. Howard (2007) Migration of intradermally injected quantum dots to sentinel organs in mice. *Toxicological Sciences*, (Advance access published April 2, 2007).
- Grassian, V. H., P. T. O’Shaughnessy, A. Adamcakova-Dodd, J. M. Pettibone and P. S. Thorne (2007) Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environmental health perspectives*, 115(3), 397–402.
- Handy, R. D., R. Owen, E. Valsami-Jones. (2008a) The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge, challenges, and future needs. *Ecotoxicology*, 17, 315–325.
- Handy, R. D., T. B. Henry, T. M. Scown, B. D. Johnston, C. R. Tyler. (2008b) Manufactured nanoparticles: their uptake and effects on fish– a mechanistic analysis. *Ecotoxicology*, 17, 396–409.
- Hund-Rinke, K. and M. Simon (2006) Ecotoxic effect of photocatalytic active Nanoparticles (TiO₂) on Algae and Daphnids. *Environmenta Science & Pollution Research*, , 1–8.
- ISO (2006) Workplace atmospheres – Ultrafine, nanoparticle and nano-structured aerosols – Inhalation exposure characterization and assessment. ISO-TR 27628
- ISO (2008) Nanotechnologies– Terminology and definitions for nanoparticles. ISO-TS 27687.
- Ji, J. H., J. H. Jung, S. S. Kim, J. Yoon, J. D. Park, B. S. Choi and Y. H. Chung (2007) Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation toxicology*, 19(10), 857–871.
- Lam, C., J. T. James, R. McCluskey and R. L. Hunter (2004) Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, 77(1), 126–134.
- Li, J., W. Li, J. Xu, X. Gai, R. Liu, Y. Li, Q. Zhao and Q. Li (2007) Comparative study of pathological lesions induced by multiwalled carbon nanotubes in lungs of mice by intratracheal instillation and inhalation. *Environmental toxicology*, 22(4), 415–421.
- Limbach, L. K., P. Wick, P. Manser, R. N. Grass, A. Bruinink, W. J. Stark (2007) Exposure

of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: Influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress. *Environmental Science and Technology* (Published on web 0 /25/2007).

- Lovern, S. B. and R. Klaper (2006) *Daphnia magna* Mortality when exposed to Titanium Dioxide and Fullerene (C60) Nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 4, 1132-1137.
- Lovern, S. B., J. R. Strickler, R. Klaper (2007) Behavioral and physiological changes in *Daphnia magna* when exposed to Nanoparticle suspensions (Titanium Dioxide, Nano-C60, and C60HxC70Hx). *Environmental Science and Technology*, 41, 4465-4470.
- Mangum, J. B., E. A. Turpin, A. Antao-Menezes, M. F. Cesta, E. Bermudez and J. C. Bonner (2006) Single-walled carbon nanotube (SWCNT)-induced interstitial fibrosis in the lungs of rats is associated with increased levels of PDGF mRNA and the formation of unique intercellular carbon structures that bridge alveolar macrophages in situ. *Particle and fibre toxicology*, 3, 15-27.
- Mullera, J., F. Huauxa, N. Moreaub, P. Missona, J. Heiliera, M. Delosc, M. Arrasa, A. Fonseca, J. B. Nagy and D. Lisona (2005) Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicology and applied pharmacology*, 207(3), 221-231.
- Nanoderm (2007) Quality of Skin as a Barrier to ultra-fine Particles. QLK4-Ct-2002-02678. Final Report-Summary.
- Nemmar, A., P. H. Hoet, P. Vandervoort, D. Dinsdale, B. Nemery and M. F. Hoylaerts (2007) Enhanced peripheral thrombogenicity after lung inflammation is mediated by platelet-leukocyte activation: role of P-selectin. *Journal of thrombosis and haemostasis*: JTH, 5(6), 1217-1226.
- NIOSH (2006) Approaches to Safe Nanotechnology: An information exchange with NIOSH (Draft for Public Comment).
- Oberdorster, E. (2004) Manufactured Nanomaterials (Fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile Largemouth bass. *Environmental Health Perspectives*, 112, 10, 1058-1062.
- Oberdorster, E., S. Zhu, T. M. Blickley, P. McClellan-Green, M. L. Haasch (2006) Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: Effects of fullerene (C60) on aquatic organisms. *Carbon*, 44, 1112-1120.
- OECD WPMN (2008) LIST OF MANUFACTURED NANOMATERIALS AND LIST OF ENDPOINTS FOR PHASE ONE OF THE OECD TESTING PROGRAMME. ENV/JM/MONO(2008)13/REV 07-Jul-2008
- Petersen, E. J., Q. Huang, W. J. Weber Jr (2008) Ecological uptake and depuration of Carbon Nanotubes by *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Health Perspectives*, 116, 496-500.
- Pui, D. Y. H. and S. C. Kim (2006) Penetration of Nanoparticles through respirator filter media. Niosh Contract 254-2005-M-11698.
- Roberts, A. P., A. S. Mount, B. Seda, J. Souther, R. Qiao, S. Lin, P. C. Ke, A. M. Rao, S. J. Klaine (2007) In vivo biomodification of lipid-coated carbon nanotubes by *Daphnia magna*. *Environmental Science and Technology*, 41, 3025-3029.
- Sakamoto, Y., D. Nakae, N. Fukumori, K. Tayama, A. Maekawa, K. Imai, A. Hirose, T. Nishimura, N. Ohashi and A. Ogata (2009) Induction of mesothelioma by a single

intrascrotal administration of multi-wall carbon nanotube in intact male Fischer 344 rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 34, 1, 65-76.

- Sato, Y., A. Yokoyama, K. Shibata, Y. Akimoto, S. Ogino, Y. Nosasaka, T. Kohgo, K. Tamura, T. Akasaka, M. Uo, K. Motomiya, B. Jeyadevan, M. Ishiguro, R. Hatakeyama, F. Watari and K. Tohji (2005) Influence of length on cytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes against human acute monocytic leukemia cell line THP-1 in vitro and subcutaneous issue of rats in vivo. *Molecular bioSystems*, 1(2), 176-182.
- Sayes, C. M., K. L. Reed, D. B. Warheit (2007) Assessing toxicity of fine and nanoparticles: Comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. *Toxicological Sciences*, 97, 1, 163-180.
- Shvedova, A. A., E. R. Kisin, R. Mercer, A. R. Murray, V. J. Johnson, A. I. Potapovich, Y. Y. Tyurina, O. Gorelik, S. Arepalli, D. Schwegler-Berry, A. F. Hubbs, J. Antonini, D. E. Evans, B. Ku, D. Ramsey, A. Maynard, V. E. Kagan, V. Castranova and P. Baron (2005) Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 289(5), L698-708.
- Smith, C. J., B. J. Shaw, R. D. Handy (2007) Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, 82, 94-109.
- Takagi, A., A. Hirose, T. Nishimura, N. Fukumori, A. Ogata, N. Ohashi, S. Kitajima, J. Kanno (2008) Induction of mesothelioma in p53+/- by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J. Toxicological Sciences*, 33, 1, 105-116.
- Templeton, R., P.L. Ferguson, K. M. Washburn, W. A. Scrivens, G. T. Chandler (2006) Life-cycle effects of single-walled carbon nanotubes (SWNTs) on an estuarine meiobenthic copepod. *Environmental Science and Technology*, 40, 7387-7393.
- Tong, Z., M. Bischoff, L. Nies, B. Applegate, R. F. Turco (2007) Impact of Fullerene (C60) on a soil microbial community. *Environmental Science and Technology*, 41, 2985-2991.
- U. S. DOE Nanoscale Science Research Centers (2007) Approach to Nanomaterial ES&H. NSRC Revision 2
- U. S. EPA (2007) Nanotechnology White Paper.
- Wanga, J., G. Zhou, C. Chen, H. Yu, T. Wang, Y. Ma, G. Jia, Y. Gao, B. Li, J. Suna, Y. Li, F. Jiao, Y. Zhao and Z. Chai (2007) Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology letters*, 168(2), 176-185.
- Warheit, D. B., B. R. Laurence, K. L. Reed, D. H. Roach, G. A. M. Reynolds and T. R. Webb (2004) Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, 77(1), 117-125.
- Warheit, D. B., R. A. Hoke, C. Finlay, E. M. Donner, K. L. Reed, C. M. Sayes (2007) Development of a base set of toxicity tests, using ultrafine TiO2 particles as a component of nanoparticle risk management. *Toxicology Letters*, 171, 99-110.
- Zhang, Y., W. Chen, J. Zhang, J. Liu, G. Chen, C. Pope (2007) In vitro and in vivo toxicity of CdTe nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 7(2), 497-503.

- Zhu, S., E. Oberdorster, M. L. Haash (2006) Toxicity of an engineered nanoparticle (Fullerene, C60) in two aquatic species, Daphnia and fathead minnow. *Marine Environmental Research*, 62, S5-S9.
- Zhu, X., Y. Li, Z. Duan, W. Chen, P.J.J. Alvarez (2007) Developmental toxicity in Zebrafish (*Danio rerio*) embryos after exposure to manufactured nanomaterials: BuckminsterFullerene aggregates (nC60) and Fullerol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26, 5, 976-979.