

SD系ラットの雌に5 mg/headの用量でMWCNTの凝集塊が多い懸濁液（未粉碎群）と単離したMWCNTが比較的多い懸濁液（粉碎群）のそれぞれを投与した。陽性対照として結晶性シリカ（Min-U Sil #5）を5 mg/headの用量で投与し（陽性対照群）、陰性対照として溶媒のみを投与した（対照群）。投与日を第1日として、第2日、第8日、第29日および第91日に気管支肺胞洗浄液（BALF）を採取するとともに、解剖を行い、肺に対する影響を評価した。一般状態観察および体重測定のほか、BALFについては細胞数および細胞構成比の測定、HO-1遺伝子の発現解析、サイトカイン（IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α ）、LDHおよびタンパク量の測定を行った。解剖時に得られた肺については、光学顕微鏡およびTEMの両方で病理組織学的検査を行った。

（倫理面への配慮）
特になし

C. 研究結果

（1）投与液の状態
作製した投与液の観察結果を図1に示す。メノウ乳鉢による粉碎の効果は、光学顕微鏡およびSEMの観察では凝集塊が小さくなること、単離したMWCNT繊維が多くなること、繊維が溶媒中で均一に分散していることで確認された。TEM観察では、粉碎の結果としてMWCNT繊維が短くなることが確認された。

（2）BALFの検査結果
BALFの検査結果を図2に示す。細胞数および細胞構成比では、対照群と比較し細胞数の高値が粉碎群では第8日、陽性対照群では第92日に認められた。第2日、第8日および第92日の各検査値にMWCNT分散状態の違いによる差異は認められなかった。第29日の検査では、単離したMWCNTが多く含まれる懸濁液を投与した群にはBALF中好中球比の高値が認められた。BALF中LDHおよびタンパク量では、第8日および第29日の検査でLDHの高値が認められた。

これらの検査値について、明らかなMWCNT粉碎の影響は認められなかった。

HO-1遺伝子発現、サイトカイン測定の結果、対照群と比較して有意な差は、MWCNT投与群および要請対照群のいずれにも認められなかった。

（3）病理組織学的検査結果

電子顕微鏡による観察結果を図3、病理組織学的検査のまとめを表1に示す。MWCNT投与により、肺にはマクロファージの浸潤が認められた。MWCNTの粉碎群では、肺胞へのマクロファージ浸潤が顕著に認められ、投与後日数の経過に伴い増強が認められた。これに対し、MWCNTの未粉碎群では、間質へのマクロファージ浸潤が顕著であり、組織学的変化に差異が認められた。超微形態学的観察では、粉碎群の浸潤したマクロファージには発達したライソソームが多数認められたが、未粉碎群ではこの所見は明確ではなかった。なお、粉碎群と未粉碎群の両者において、間質にはMWCNTと思われる繊維状物質が確認された。

D. 考察

MWCNTを気管内投与するための投与液調製は、使用する媒体により単離する繊維が異なることが形態学的にも確認された。

凝集塊の多い懸濁液と単離繊維の多い懸濁液とでは、投与後すぐに発現する短期毒性については凝集塊の多い懸濁液において強く発現する傾向が認められた。これに対し、投与から4週間を経過した時点での影響は、単離繊維の多い懸濁液において強く発現する傾向が認められた。凝集塊の多い懸濁液では、凝集塊が大きいことから気道への詰まりが生じやすく、比較的単純な閉塞性の障害が急性期の変化として呼吸器に生じたものと考えられた。単離繊維の多い懸濁液で生じた変化は陽性対照物質と同等の変化であり、少なくともMin-U Sil #5と同等の大きさを有するMWCNTに起因した変化である可能性が示唆された。

肺に対するMWCNTの影響は、懸濁液の状態、すなわち、MWCNTの単離した繊維の数、MWCNTの長さにより異なることが確認された。

しかし、その機序は不明であった。

E. 結論

MWCNT を気管内投与する際の懸濁液調製において、人造肺サーファクタントであるサーファクテン®はMWCNTの易凝集性を軽減することのできる媒体であること、単離MWCNT繊維を得るためにはフィルター濾過が有用な方法であることが判明した。しかし、サーファクテン®は牛血清由来であること、単価が比較的高価であることから、異種タンパクによる免疫反応の発現や、工業用ナノマテリアルの毒性評価のための懸濁液調製法の標準化に対しては、更なる検討が必要なものと考えられた。

MWCNTの凝集塊および単離繊維のバランスが異なる懸濁液を気管内投与した結果、そのバランスが生体に対して異なる影響を及ぼすことが確認された。しかし、その機序については不明であり、今後の更なる検討が必要であることが強く示唆された。

F. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

1. Kiyoshi Wako, H. Hiratsuka, M. Sekijima, A. Hirose. Effects of the Preparation Method of MWCNT Suspension for Intratracheal Instillation to Rats for Pulmonary Toxicity Study 11th International Congress of Toxicology (2007.7)
 2. 小谷百合, 土居卓也, 佐々木啓, 涌生聖, 土谷稔, 広瀬明彦 多層カーボンナノチューブ (Multi-Wall Carbon Nanotubes, MWCNT) のラット気管内投与における投与液の懸濁状態による病理学的変化の違い 第24回日本毒性病理学会学術年会 (2008.2)
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得 (該当なし)
 2. 実用新案登録 (該当なし)
 3. その他 (該当なし)

投与液の形態観察

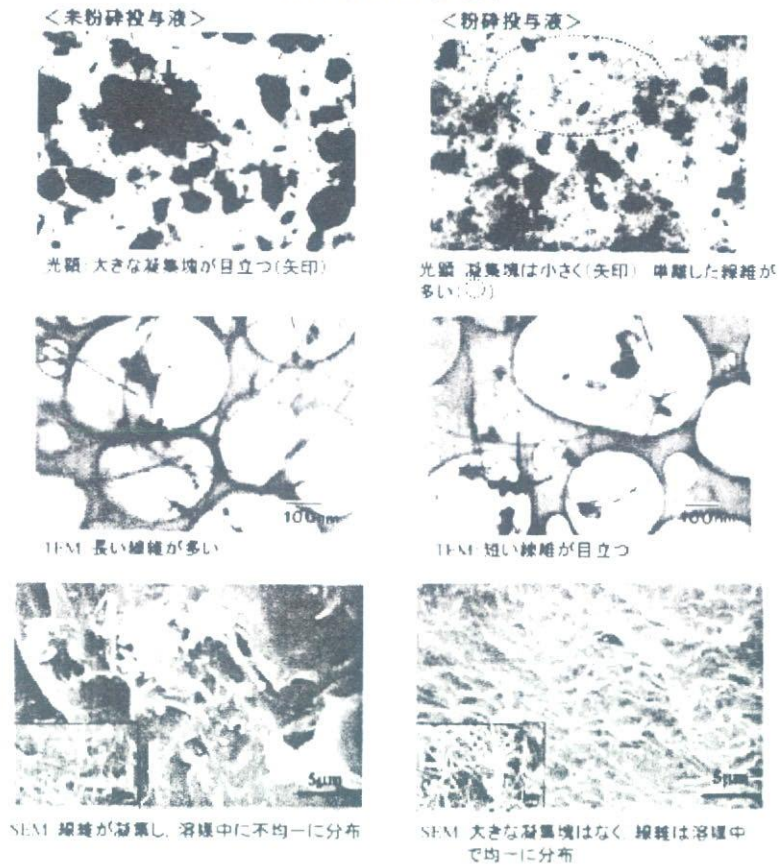


図1 投与液の状態

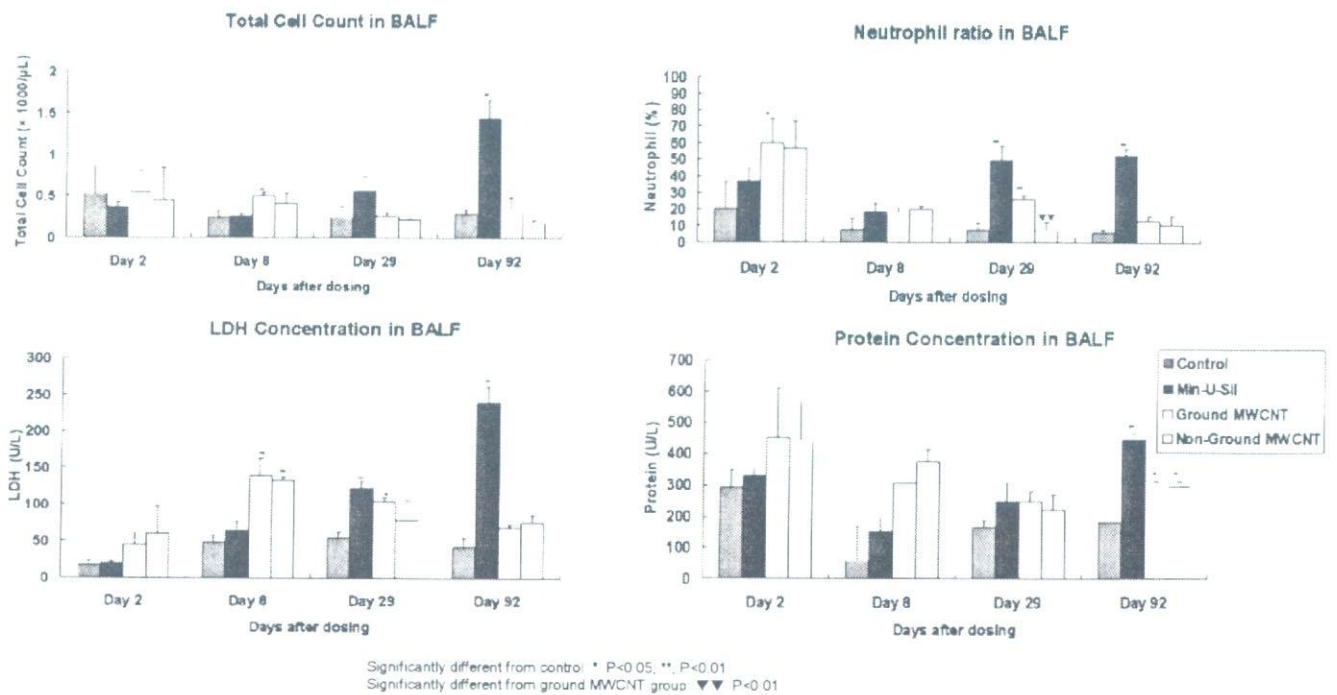


図2 BALF 中細胞数および細胞構成比

未粉碎群(肺, TEM)

<肺胞内Mφ>
発達したライソソームは少ない

<間質Mφ浸潤巣>
細胞質内にMWCNTと思われる繊維状物が認められる。

肺胞内Mφ, Day 29

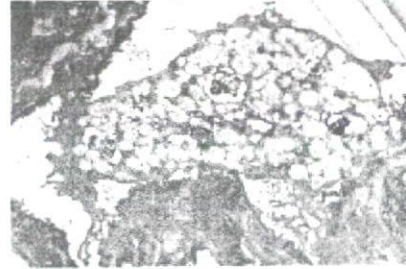


粉碎群(肺, TEM)

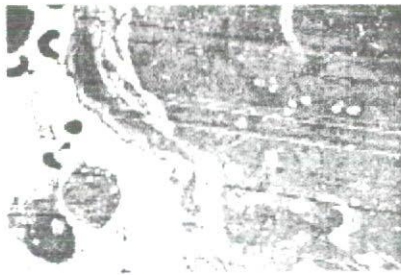
<肺胞内Mφ>
発達したライソソームが多数認められる。
細胞質内にMWCNTと思われる繊維状物が認められる。

<間質Mφ浸潤巣>
細胞質内にMWCNTと思われる繊維状物が認められる。

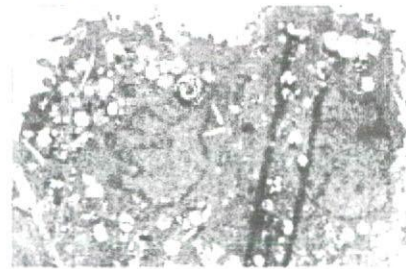
肺胞内Mφ, Day 8



肺胞内Mφ(左)と間質Mφ浸潤巣, Day 92



肺胞内Mφ, Day 8



間質Mφ浸潤巣, Day 92



間質Mφ浸潤巣, Day 92



図3 超微形態学的検査結果

平成19年度 厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)
分担研究報告書

研究課題名: 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および
体内動態評価に関する研究

分担研究課題名: 産業用ナノマテリアルのリスクに関する国内外の動向調査研究および
高生産量ナノマテリアルの健康影響評価に関する吸入・環境暴露に関する調査研究

研究分担者: 高月 峰夫 (財)化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所 所長
研究分担者: 広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 室長
研究協力者: 平田 睦子 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究員

研究要旨

国際的にみたナノ材料の総合管理についての動向を把握するために、EPA、欧州委員会及びOECD等の活動等を調査した。また、ナノ材料の生態系への影響について文献調査も行った。その結果 OECD加盟各国等では、科学的情報収集に加えて、健康影響や環境影響に関しての研究プロジェクトの公募や、米国などでは、いくつかのナノマテリアルに関しての実際の試験や計画が実行されつつあることが明らかになった。さらに、リスク評価や管理に対しての議論の枠組みなどの検討も始まっていることが示された。

A. 研究目的

21世紀の技術革新を担う新機能材料として、ナノ粒子をはじめとするナノマテリアルへの期待はどんどん大きくなっており、様々な開発が進んでいる。しかしながら、ナノマテリアルの人の健康や環境中の生物への影響については、現時点では不明な点が多い。また、ナノマテリアルは、単位表面積が大きくなることから、格段に反応性が高まり、あわせて有害性までもが高まってしまわないかという懸念が上がりつつある。

そこで、ナノマテリアルのヒトに与える健康影響のリスクを評価するに先立って、ナノマテリアルの安全性に関する科学的知見について文献調査を実施した。

B. 研究方法

国際的にみたナノ材料の総合管理についての動向を把握するために、EPAの「ナノテクノロジー白書(2007年2月)」、欧州委員会の「ナノ物質のリスクを

評価するために新規及び既存物質のための技術指針文書に従ったリスク評価方法論の適切性に関する意見(2007年6月)」及びOECDにおける6つのステアリンググループの活動等を調査した。また、ナノ材料の生態系への影響について文献検索するとともに、総説等から必要な文献を確認して収集して査読を行い、その信頼性等を評価したうえで整理を行った。

なお、意図的に製造するナノ粒子をはじめとするナノマテリアルを対象とし、非意図的に発生するジゼル排ガスのようなナノ粒子及び自然発生するものは対象外とした。

C. 研究結果

1. 国際的動向

1.1 国際機関等の対応

米国環境保護庁(U.S.Environmental Protection Agency: EPA)の科学政策委員会(Science Policy Council: SPC)は、EPA管理責任者にナノテクノロジ

一関連の科学的問題やニーズを報告し、EPA の関連プログラムオフィスのニーズを支援し、そしてナノテクノロジーの科学的問題を利害関係者や国民に知らせることを目的として、2007年2月15日に「EPA ナノテクノロジー白書 (EPA :Nanotechnology White Paper)」を公表した。この中で、ナノ材料のリスク評価に対する提言として以下の項目を挙げている。

- ①ナノ材料の識別と特性化
- ②ナノ材料の環境中運命
- ③ナノ材料の環境中検出と分析
- ④ヒトの暴露及びその測定と制御
- ⑤人体への影響評価
- ⑥生態影響評価

欧州委員会は、2005年に新規の及び新たに特定された健康リスクに関する科学委員会 (Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risk:SCENIHR)に既存のリスク評価方法論のナノ材料に対する適用性に関する意見をもとめており、2007年6月に「ナノ物質のリスクを評価するために新規及び既存物質のための技術指針文書に従ったリスク評価方法論の適切性に関する意見」が採択されており、ナノ材料のヒト及び生態系へのリスクを確認するための、次のような段階的アプローチを提案している。

- ①製造、使用、及び廃棄又はリサイクルによりヒトあるいは環境中生物に暴露が生じるかの確認
- ②考え得る暴露の性質、程度及び期間の特性化
- ③起こりうる重要な暴露におけるナノ材料の形態に対するハザードの性質の確認
- ④ハザードと最終リスクアセスメントの特性化

OECDでは、2005年6月に加盟国、オブザーバー、専門家を交えて合同会議を開催した。ここでは、非意図的に発生するナノ粒子と区別して、工業的ナノ材料による人の健康及び環境中生物への安全性への影響を特定することとし、下記の6つのステアリンググループを設置して活動を行っている。

SG1:人及び環境中生物の安全性-Human Health and Environmental Safety:EHS-に関する OECD デー

タベースの開発

SG2:工業ナノ材料に関する EHS 研究戦略

SG3:代表的工業ナノ材料の安全性試験

SG4:工業ナノ材料とテストガイドライン SG5:ボランタリースキームと規制への協力 SG6:リスク評価への協力

この中で、SG3とSG4については、本研究との関連が深いと考えられるが、SG4についてはグループ内での調整段階で具体的に公表されている資料はまだ無い。一方、SG3に関しては、代表的な産業用ナノマテリアル (MN)を決定し、加盟各国のボランタリーなプログラムとして、ナノマテリアルの種類と検討すべきエンドポイントについてのリストが公表されている。

ナノマテリアルリスト (14種類)

- ◆ Fullerenes (C60)
- ◆ Single-walled carbon nanotubes (SWCNTs)
- ◆ Multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs)
- ◆ Silver nanoparticles
- ◆ Iron nanoparticles
- ◆ Carbon black
- ◆ Titanium dioxide
- ◆ Aluminium oxide
- ◆ Cerium oxide
- ◆ Zinc oxide
- ◆ Silicon dioxide
- ◆ Polystyrene
- ◆ Dendrimers
- ◆ Nanoclays

エンドポイントリスト

- ◆ **Nanomaterial Information/Identification**
 - Nanomaterial name (from list)
 - CAS Number
 - Structural formula/molecular structure
 - Composition of nanomaterial being tested (including degree of purity, known impurities or additives)
 - Basic morphology
 - Description of surface chemistry (e.g., coating or modification)
 - Major commercial uses
 - Known catalytic activity
 - Method of production (e.g., precipitation, gas phase)
- ◆ **Physical-Chemical Properties and Material Characterization**

- Agglomeration/aggregation
- Water solubility
- Crystalline phase
- Dustiness
- Crystallite size
- Representative TEM picture(s)
- Particle size distribution
- Specific surface area
- Zeta potential (surface charge)
- Surface chemistry (where appropriate)
- Photocatalytic activity
- Pour density
- Porosity
- Octanol-water partition coefficient, where relevant
- Redox potential
- Radical formation potential
- Other relevant information (where available)
- ◆ **Environmental Fate**
- Dispersion stability in water
- Biotic degradability
- Ready biodegradability
- Simulation testing on ultimate degradation in surface water
- Soil simulation testing
- Sediment simulation testing
- Sewage treatment simulation testing
- Identification of degradation product(s)
- Further testing of degradation product(s) as required
- Abiotic degradability and fate
- Hydrolysis, for surface modified nanomaterials
- Adsorption-desorption
- Adsorption to soil or sediment
- Bioaccumulation potential
- Other relevant information (when available)
- ◆ **Environmental Toxicology**
- Effects on pelagic species (short term/long term)
- Effects on sediment species (short term/long term)
- Effects on soil species (short term/long term)
- Effects on terrestrial species
- Effects on microorganisms
- Other relevant information (when available)
- ◆ **Mammalian Toxicology**
- Pharmacokinetics (ADME)
- Acute toxicity

- Repeated dose toxicity
- If available:
 - Chronic toxicity
 - Reproductive toxicity
 - Developmental toxicity
 - Genetic toxicity
 - Experience with human exposure
 - Other relevant test data
- ◆ **Material Safety**
- Where available:
 - Flammability
 - Explosivity
 - Incompatibility

また、OECD では、加盟各国におけるナノマテリアルの安全性に関する取り組み状況を収集し、公表している。その中で、健康及び環境影響に関する研究計画や戦略については、加盟各国より以下のように報告されている。

Australia

ナノテクノロジーの健康、安全性、そして環境への影響に取り組むことに高い優先度を置いた、National Nanotechnology Strategy (NNS)を構築した。このStrategyにおける主な活動は、関係官庁を超えた、政策、規制及び研究資金提供機関からなるNanotechnology Health, Safety and Environment Working Groupを設置することにより、政府の取り組みすべてを確保することである。このWorking Groupでは、現行の規制の評価についてすべての関係機関及び非政府組織間の調整を行い、科学研究及び政策研究については、必要に応じて、研究組織と連携を取る予定である。また、NNSのPublic Awareness and Engagement programと緊密に協力しあい、事実に基づく、バランスの取れた情報を工業界や国民に提供する予定である。さらに、国際的な取り組みと連携することによって、国が他国の技術的及び政策的な進展を活用すると共に、国際的な規制ガイドライン及び規制基準に影響を与えることを可能とするだろう。

様々な省庁や組織が戦略や研究プログラムを構築している。Occupational Health and Safetyでは、Department of Employment and

Workplace RelationsがNNSの実施をサポートするためのNanotechnology Occupational Health and Safety Research and Development Programを展開した。健康影響分野では、国の医学研究資金提供機関であるNational Health and Medical Research Council (NHMRC)が、ナノテクノロジー討論会(2006年12月)を主催し、さらに、専門家の助言を提供するためのAdvisory Committee on Health and Nanotechnology (ACHN)を設立した。NHMRCは申請要請を受けた特別な研究分野を対象にすることになりそうである。研究可能分野には、ナノテクノロジーの生物医学的応用、リスクに関するエビデンスベースの増加及びライフサイクル解析などがある。さらに、主要な工業研究組織であるCSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation)が、そのNiche Manufacturing National Research Flagshipの一部として、ナノテクノロジーの健康、安全性及び環境影響に関する新しい研究プログラムを設立しようとしているところである。

Belgium

Ministry of Health, food safety and environmentにより、大学及び公的研究センターの研究者や関連官庁の代表者からなる特別ワーキンググループが設立された。このグループでは、まず、国際動向について情報収集を行い、次に、科学的な情報を収集することで、ナノマテリアルの生産及び使用に関連した、ヒト健康及び環境安全性に対する懸念に関係官庁がどのように回答するべきか決定する予定である。このグループによりナノマテリアルの安全性に関わる研究者間のコンタクトが促進される。現在国内で行われている研究プロジェクトには、「物理化学的な毒性決定因子: より安全なナノ構造物質に向けた合理的な取り組み」(Katholieke Universiteit Leuven, Department of Public Health)、「安全なナノマテリアルの生産及び使用」、「Nanotechnology Capacity Building NGOs」、「ナノ粒子のヒト健康及び環境への影響に関する理解の改善」、「空気中汚染粒子の肺及び心血管系への影響のメカニズム」、「肺上皮を介した粒子移行: *in*

vitro モデルの開発及び利用」(Idem)、「Nanotoxicology: 工業界にとって関心の高いナノ粒子の毒性評価 (*in vitro*, *in vivo*、物理的特性、化学修飾、コミュニケーション)」(University of Namur)、「ナノ粒子のヒト毒性の評価に関する *in vitro* ストラテジーの最適化及び適応」(Scientific Institute for Public Health)がある。

Canada

ヒト健康及び環境への影響に関する研究は限られているが、政府及び大学のイニシアチブを強化し、特にこれらの2つのグループの研究者間の協力に重点を置いた取り組みが進行中である。Environment Canada (EC)及びHealth Canada (HC)は、ナノマテリアルの環境運命を明らかにするための研究計画を支援している。2007年の10月には、環境影響に関する2つのプロジェクトがNatural Sciences and Engineering Research CouncilのStrategic Grants Programから資金援助を受けている。これらのプロジェクトには、多数の大学が関わっており、EC、HC及びAgriculture and Agri-Food Canadaから情報提供や資金援助を受ける予定である。Natural Sciences and Engineering Research Council及びCanadian Institutes for Health Researchはナノテクノロジーを含む研究計画に健康及び環境影響要素を含めることを推進している。National Research Council (NRC)及びBusiness Development Bank of Canadaは、特別な研究要求の中で、部分的に環境に関連性のあるナノテクノロジー研究を対象にしている。NRCは研究所/組織間の共同プロジェクトを支援するための新しい研究開発イニシアチブを開始した。ナノテクノロジーに関する研究所/組織を超えたこれらのプログラムでは、環境、健康及び安全性、といった多くの分野にわたる研究開発課題にを対象としたNRCを有効に活用している。

Denmark

特定の総合的な研究プログラムやストラテジーはないが、いくつかの政府及び大学の研究所がナノマテリアルの健康及び環境リスクに取り組むための一連のプロジェクトを公表している。これらのプロジェクトは、

特に、環境毒性試験及び毒性試験システムを用いてナノマテリアルを試験することに焦点を合わせている。職業環境に関しては、2005年にナノ粒子及びナノ粒子製品の製造及び使用に関わる健康リスクを対象とした研究グループを設立した、National Research Centre of Working Environmentが、広範かつ重要な貢献をしている。また、食品包装材中のナノマテリアルの使用及びヒト健康影響に関する研究も進行中である。Danish EPAはナノマテリアルのリスクアセスメント/マネージメントのためのネットワークを構築している。このネットワークは、国内の調整やEU及びOECDによるリスクアセスメント/マネージメントに関わる国内の取り組みを支援するために作られており、異なる部門の関係当局や化学物質の試験やリスクアセスメントの経験がある科学組織/機関が含まれる。

Finland

Finnish Institute of Occupational Healthにおいて、人工ナノ粒子やナノテクノロジーの安全性に関わる研究プログラムが開始された。その活動にはEUのプロジェクトであるNANOSH (Research - Nanotechnologies - Nanoparticles - Occupational Safety & Health)が資金提供をしている。さらに、Academy of Finlandから資金提供を受けた別のプロジェクトも2006年に始まっている。それより前には、人工ナノ粒子やナノテクノロジーの安全性に関わる小さなプロジェクトが国内の機関(New Technologies and Risks Team)によって実施された。さらに、EU加盟国12カ国とEEA加盟国1カ国が関与する、新たなプロジェクトの申請書がEUの委員会で審査されているところである。

France

ナノテクノロジーの健康への影響を監視するためのグループが2008年1月に設立される予定である。この専門家及び諮問グループは、対象範囲が多省庁にわたっており、High-Level Council for Public Health (Haut Conseil de la santé publique)の役員会の管轄下で機能するだろう。その任務は、ナノマテリアル及びナノテクノロジーの健康及び環境への影響

や社会的及び法的影響についての公表論文/出版物の科学的なモニタリングを確実に行うこと、進行中の研究の実績を評価すること、また、研究成果を基に、解析を行い、政府への提言を行うこと、である。

Germany

BAuA (Federal Institute of Occupational Safety and Health)が、労働者や消費者の健康問題及び環境問題を考慮して、BfR (Federal Institute for Risk Assessment)及びUBA (Federal Environment Agency)と共に構築した共同研究戦略について、工業、科学、政策分野及びNGOの利害関係者との議論が行われた。現在は、改定中である。

Ireland

ナノマテリアルのヒト健康及び環境への安全性に取り組むための特定の総合的研究プログラムはない。しかし、Sixth Framework Programme (FP6) search of technical development and demonstration activitiesのもとで行われているプロジェクトに関して、EUの承認及び資金提供を受けている。NanoInteractと呼ばれるこのプロジェクトは、人工ナノ粒子のリスクアセスメントを対象としており、University College Dublin (UCD)が主体となって実施されている。その他にもいくつかの大学や会社が、UCDと共にこのプロジェクトに参加している。2007年の1月1日に開始されたこのNanoInteractは2009年12月31日まで続く予定である。Irish EPAは、環境及びヒト健康分野の研究計画の募集を始めた(締め切り:2008年1月23日)。Science, Technology, Research & Innovation for the Environment (STRIVE) programme 2007-2013の解説書には、人工ナノマテリアルの健康影響(ナノ粒子の使用、処理及び廃棄中の挙動の予測を含む)、動物を用いた毒性試験の代替法の開発、そしてREACH Directiveをサポートする環境毒性研究などの研究を行う機会が提供されている。

Italy

大学、研究センターもしくは研究機関の限られた数のグループ(少人数からなる)によるものであるが、主

に数種のナノマテリアルを用いた *in vitro* 毒性実験に関する調査研究が現在進行中である。しかし、これらは、あまり意欲的に実施されたものではなく、グループ間の協力/調整はほとんど行われていない。これらの内、いくつかのグループは、Sixth Framework Program for Research, Technological Development and Demonstration (FP6)のもとで、欧州委員会から資金提供を受けている、以下の2つの研究プロジェクトに参加している。

- “Development of an Integrated Platform for Nanoparticle Analysis” (DIPNA): 毒性と環境毒性を明らかにするために University of Modena and Reggio Emilia によって組織された
- “Risk Assessment for Particle Exposure”: Venice にある二つの研究センター University of Ca’ Foscari 及び Consortium Venezia Ricerche が協力して実施している

さらに、まだ最初の研究計画の段階だが、ごく最近、National Institute for Occupational, Safety and Prevention (ISPESL)が、ナノマテリアル（対象はカーボンナノチューブ）の職業暴露に関するプロジェクトを Ministry of Health に提案している。しかし、このプロジェクトでは環境安全面については考慮されていない。

Republic of Korea

Ministry of Environment (MOE)は、環境技術の開発を促進するために 2001 年から始まった Eco-technomia21 の枠組みの中で、ナノマテリアルのヒト健康及び環境安全性に関するプロジェクトを 2007 年 4 月より開始した (2010 年まで継続予定)。この研究の最終的な目標は、ナノマテリアルの製造、輸送及び廃棄処理やナノマテリアル含有製品に由来するリスクを抑えるために必要なインフラの整備をサポートすることである。この研究プロジェクトでは、産業ナノマテリアルの環境放出、ナノマテリアルの物理化学的性状、空気及び水中のナノマテリアルのモニタリング手法、ナノマテリアルの(環境)毒性の分子生物学的評価、ライフサイクルアセスメントを含むナノマテリアルの環境暴露/運命及びナノマテリアルのリスクマネ

ージメントのためのテストガイドラインの策定などを対象としている。Ministry of Science and Technology (MOST)は、2006 年より ‘environmental implications assessment of nanomaterials’ という研究プロジェクトを実施しており、ナノマテリアルの特性、ナノマテリアルの工業的及び社会的影響、製薬業界への影響、ヒト及び環境影響に関する国内及び国際動向、ヒト健康及び環境安全性に関する研究の必要性及びナノマテリアルによる有害影響を明らかにするための新しい組織/機関の設立計画などが対象となっている。さらに、MOST はナノマテリアルの環境、健康及び安全性、そして倫理、法律及び社会的問題に関する二つのプロジェクトを実施している。これらのプロジェクトは 2006 年後半より 1 年間継続される予定である。Korea Food & Drug Administration (KFDA)は 2007 年から 2015 年まで、ナノマテリアルの毒性に関わる一連の研究プロジェクトを実施している。このプロジェクトでは、一般毒性、吸入毒性及び *in vitro* 研究などを対象としており、ナノマテリアルの毒性評価システムの開発や食品、医薬品、衣料品及び化粧品などの分野に関連したガイドラインを策定することを目指している。

Netherlands

Ministries of Agriculture (食品)、Health (一般消費者が買う商品、医薬品)、Labour (職場環境)、Economic Affairs, Environment (物質)及び Transport, Public Works and Water Management のワーキンググループはナノテクノロジー (最初はナノ粒子に焦点を当てて)に関するリスクマネジメント戦略を検討するための報告書を準備する予定である。その後、この報告書に関して利害関係者 (Business, NGO’s United Trade Unions)との議論が行われ、改定後、2008 年の春までには議会に提出されるだろう。

New Zealand

現時点では、ナノマテリアルのヒト健康及び環境安全性に関する研究プログラムは実施されていない。しかし、Foundation for Research Science and Technology (FRST)には、以下の二つの研究計画が提出されて

いる。

- 植物による量子ドットの取り込みと下流動物群への影響
- ナノテクノロジーに関連した不確実性を軽減するための環境暴露シナリオを評価するためのモデリングシステム

Norway

Norwayの研究委員会は2002年からナノテクノロジーや新種の材料/素材のためのNANOMATと呼ばれる研究プログラムを実施している。このプロジェクトでは、その健康及び環境影響に関する研究もサポートしている。2005年には報告書が公開されており、その中で、ナノテクノロジーや新種の材料/素材のヒト健康及び環境安全性、そして、倫理及び社会的側面に関する問題点が議論されている。2006年の秋には、ナノサイエンス及びナノテクノロジーに関する国の戦略が研究委員会により採択され、Minister of Education and Researchに提出された。

Spain

ナノサイエンス及びナノテクノロジーは主要な研究課題となっているものの、ナノマテリアルのヒト健康及び環境安全に関する活動はほとんど実施されていない。Ministers Councilが、昨年9月には、予算を大幅な増加すると共に、R&D+I National Plan 2008-2011を承認した。このPlanでは、より具体的なプログラムと共に、すべての分野にわたる5つの戦略目標が明示されている。ナノサイエンス/ナノテクノロジーはそれらのうちの一つであり、ヒト健康及び環境への影響に関連した課題（ナノ環境毒性など）も含まれている。Spanish REACH Center of Reference (SpRC)は、ナノマテリアルの健康、環境及び安全性に関する国内研究を助成する予定である。

Sweden

Swedish Chemicals Inspectorateは、政府の委託により、ナノテクノロジーの利用によるヒト健康及び環境へ

のリスクに関する既存の情報をまとめた。この報告書にはどのように情報のギャップを埋めていくかについての提言も含まれている。Swedish Chemicals Agencyから政府への提案事項は以下の通りである。

- ヒト健康及び環境リスクを含めたナノテクノロジー研究及び開発の戦略を策定するように Swedish Governmental Agency for Innovation Systems (VINNOVA)に指示する
- Swedish Research Council for Environment, Agricultural Sciences and Spatial Planning (Formas)に、ナノマテリアルの健康及び環境リスクに関する研究を実施するための特別研究費を計上する
- この分野に関する動向/進捗状況を見守ると共に、それが正当化された際には必ず政策を提案すること、また、OECDの協力体制の中で行われている新規もしくは改良型試験法の開発に積極的に参加することを Chemicals Agencyに指示する
- 関連した業界団体と協議した上で、化学製品及び商品へのナノマテリアルの使用状況をより詳細に解析するように Chemicals Agencyに指示する
- 現行法を補足する必要性について再検討するように関連政府機関に指示する
- 2009年にEU議長国になることに関連して、ナノテクノロジーの健康及び環境リスクが法律上どのように扱われるべきかについてのワークショップを準備する

USA

2007年8月にNational Science and Technology Councilのナノテクノロジー環境・健康影響作業グループは“産業用ナノマテリアルの環境・健康および安全性研究の優先性”に関する暫定報告を公表した。

(http://www.nano.gov/Prioritization_EHS_Research_Needs_Engineered_Nanoscale_Materials.pdf).

NIHのNIHS (National Institutes of Environmental Health Sciences) とNIBIB (National Institute of

Biomedical Imaging and Bioengineering)は、産業ナノマテリアルと生体システムの分子レベルにおける基礎的な物理化学的相互作用に関して学際的な共同研究を提案している。”NanoHealth Enterprise”イニシアチブでは、産業界や政府機関、国際的団体、公衆衛生擁護組織、学界に対して安全なナノマテリアル開発のために必要な研究に関してのパートナーシップを提案している。2007年7月にFDAナノテクノロジータスクフォースは、以下の点に関しての初期的な知見や勧告に関するレポートを提出した。

- ・ ナノマテリアルの生体との相互作用に関する最新の科学的知見の概要
- ・ 科学的観点からの解析と勧告
- ・ 政策的観点からの解析と勧告

EPAは、他の政府機関で行われている研究とのコーディネートするためのナノマテリアル研究戦略(Nanomaterial Research Strategy :NRS))を作成している。NRSは2007年11月に外部ピアレビューを行いコメントは*Federal Register*として、公表されることになっている。NRSは会計年度として2007～2012年までをカバーし、以下の4つの研究テーマにおけるEPAの計画についてフォーカスしている。

- ・ 発生源、消失、移動、暴露
- ・ リスク評価や試験法のためのヒト健康および環境影響研究
- ・ リスク評価方法、ケーススタディ
- ・ リスクの予防と軽減

National Toxicology Program (NTP) は、以下のナノマテリアルの関する試験を計画または実行中である。

- ・ カドミウム-セレン量子ドット
- ・ 二酸化チタン
- ・ フラーレンC60
- ・ 多層カーボンナノチューブ
- ・ 酸化セリウム
- ・ 金
- ・ 銀

EPA はいくつかのナノマテリアルを選択して、環境および健康影響を評価するために必要な既知見と未知

の情報についてのケーススタディを行っている。現時点では、このケーススタディはアセスメントを詳細に行うためではなく、問題点の概要をつかむことを意味している。ケーススタディのドラフトは2007年から2008年にかけて招聘査読者に対して公開される予定である。ナノ酸化チタンと単層カーボンナノチューブの2種類のナノマテリアルについて、いくつかのケーススタディを行う予定である。

EC (European Commission)

Nanosciences and Nanotechnologies (N&N)のAction Plan 中のFP7(seventh framework programm)において、ナノマテリアルの安全性に関するいくつかのプロジェクトが2008年より始まっている。

NMP-2007-1.3-1 (大規模プロジェクト)	特殊な簡易、携帯機器による計測と解析
NMP-2007-1.3-2 (小・中規模研究プロジェクト)	産業用ナノ粒子の健康と環境に対する影響
NMP-2007-1.3-3 (共同及び補助事業)	産業用ナノ粒子の健康と環境に対する影響研究やデータに関する批評作業
NMP-2007-1.3-4 (共同及び補助事業、データベース構築のみ)	産業用ナノ粒子の影響に関する批評やコメントのデータベース化
NMP-2007-1.3-5 (共同及び補助事業)	ナノ粒子や産業用ナノテクノロジー関連粒子の健康と環境に対する影響研究のコーディネート
HEALTH-2007-1.3-4 (小・中規模研究プロジェクト) NMP-2007-4.1.3-2/4.4-4 との共同	医療用ナノ粒子の毒性を評価するための代替試験法のストラテジー

さらにFP7次期のActionとして、2007年11月には、NMP-2008-1.3-1として産業用ナノ粒子のリスク評価法のバリデーションと適合、開発に関するプロジェクトとNMP-2008-1.3-2としても産業用ナノ粒子の健康と環境に対する影響のプロジェクトの公募が予告された。さらに、ECはEUと米国における政策的研究に関する相互的な情報交換や共同作業をサポートしている。

また、共同研究センター(JRC)は、EU 域内のパートナーとの共同研究を推進しており、FP7 においては、ナノマテリアルの毒性試験法、細胞培養系を用いた代表的なナノマテリアルの in vitro 試験法、ナノ測定や標準物質に関するデータベース作成を含む包括的研究、従来の QSAR を適合させるための in silico 研究に関する開発と調和化に焦点をあてている。化学物質の総合的データベースである IUCLID データベースをナノマテリアルに関する物性情報を含めたデータに適合できるように拡張することを検討している。

産業界では、デュポン社が環境保護団体である環境防衛(Environmental Defense)と協力して自主的にナノ材料とナノ製品を審査するためのガイドライン「NANO Risk Framework」を2007年6月に発表し、ナノ材料のアセスメント文書を作成することを提案している。ただしこれに対しては、天然資源保護協会(Natural Resources Defense Council)とアメリカ労働総同盟産業別労働組合会議(American Federation of Labor and Congress of Industrial Organizations : AFLCIO)を含む21の環境労働団体は、「政府の監視に民衆が広く参加する権利を・・・産業界とその仲

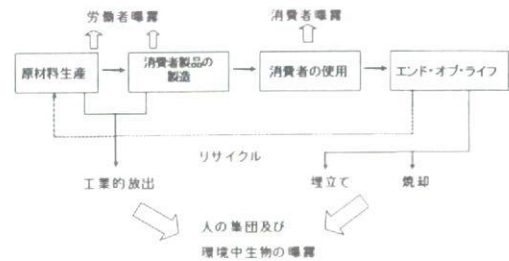


図-2 ナノ材料のライフサイクルと曝露パターン

ナノ材料を含め化学物質のハザードはそれぞれ固有のものであるが、曝露濃度はそれぞれの使用方法及び管理方法によって異なるため、それぞれの状況におけるリスク評価・管理が必要となる。また図-2に示す、ナノ材料のライフサイクルの各段階でのリスクアセスメントが重要であることが指摘されており、それぞれの段階においてナノ材料固有の問題があればそれを解決するための努力がなされているところである。

1. 2. 1 ナノ材料の識別と特性化

化学物質や化学材料の物理化学的性質を把握することは、曝露評価及びハザード評価を行う上で極めて重要であるが、大部分のナノ材料については通常の化学物質に対して必要な項目に加えて、ナノ材料の特異性を示す基となる粒子サイズ及びサイズ分布、表面積/体積比、形状、電気的性質、表面特性、分散/凝集状態、電気伝導度及び酸化還元電位に関する情報が重要となることが各方面から指摘されている。

1. 2. 2 ナノ材料の曝露評価

現時点では、工業的ナノ材料の全体的な曝露に対する寄与を評価するための作業環境曝露及び環境曝露に関するモニタリング情報が限られている。このため、工業的ナノ材料の人及び環境中生物への曝露を特異的に予測するのは困難であることから、EUの SCENIHR は、特定のナノ粒子の形態や対象となる製品に対して曝露を特徴付けるための更なる情報の必要性を明らかにするための図-3に示すアルゴリズムを提案している。

1) ライフサイクルを通して、いずれの段階においても曝露が起これないようであれば、評価は終了

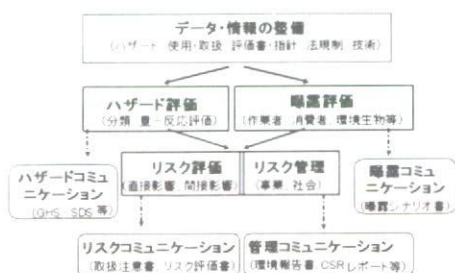
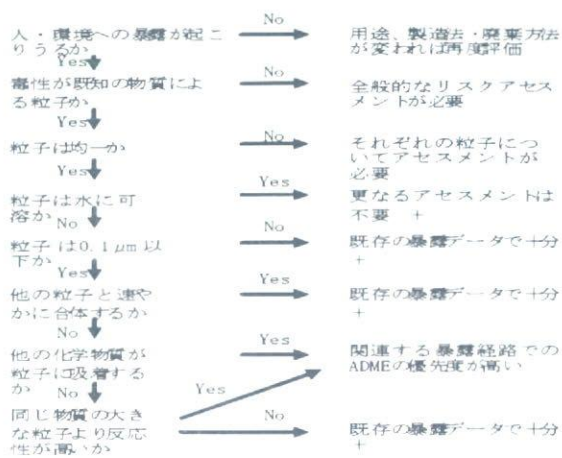


図-1 化学物質総合管理の基本体系

間に侵害された」、またその枠組みは「必要な規制を遅らせ、民衆の参加を食い止める」ものであるとして公開状を発表している。

1. 2 ナノ材料のリスク評価のために考慮すべき問題点

ナノ材料の総合管理については、基本的には一般の化学物質に対して行われている図-1に示すリスク管理のスキームが基本となっている。



+: 示されている暴露状況がカバーされているか/既存のデータベースを確認
 ADME: 吸収、分布、代謝、排泄

図-3 暴露評価のアルゴリズム

する。

- 2) 毒性学的性質が既存のデータの組み合わせで十分であれば、特異的な性質についてのみ評価を行う。ただし、水に不溶あるいは難溶で大きい粒子に対して得られた毒性結果を用いて推定できない場合は、ケースバイケースで行う。既存の毒性データが無い場合には、一般的な毒性データを取得する。
- 3) 粒子が不均一な場合には、それぞれについて評価を行う必要がある。
- 4) 対象となる製品を構成している各タイプのナノ粒子が水に(室温で)可溶であれば、ナノ粒子への特別な暴露評価は必要ない。
- 5) 水に不溶の粒子について、人及び環境中生物の体内に取り込まれる可能性を評価する必要がある。粒子が $0.1 \mu\text{m}$ 以上であれば、既存の暴露データで十分である。
- 6) 製品を構成するナノ粒子が、粒子同士あるいは他の物質と急速に結合して大きな粒子を形成する場合、ナノ粒子としての特異な評価は必要ない。
- 7) 他の化学物質が表面積の大きいナノ粒子に急速に吸着する場合、吸着体に対して適切な暴露

経路に対する体内挙動(ADME)あるいは毒性を優先的に評価する。

- 8) 同じ物質からなる大きな粒子よりも高い反応性を有する場合は、人及び環境中生物に対する十分な暴露評価が必要となる。

このようなアルゴリズムをナノ材料に適用するに際して、大気中、水中、土壌中など各環境媒体における形態を含めた検出方法及び濃度測定方法の開発と標準化が急がれている。

1.2.3 ナノ材料のハザード評価

ハザード評価は、対象となる物質と生物との相互作用において、特異な生物学的応答を試験し、毒性を定量的に把握することにある。たとえ、毒性のメカニズムが従来のものとは異なっても、既存の動物試験の実施によって毒性の結果を示すことが可能であることから、このプロセスは新しいテクノロジーを通じて生産される新規の物質に対して広く適用されるべきである。従って、ナノ材料の環境中生物や人の健康に対する初期リスク評価を実施するためには、従来の化学物質に対して要求されているハザードのベースセット(表-1参照)を入手すべきである。さらにそれぞれのナノ材料について特に注意を払うべき問題点が明らかになった時点で、より高次のハザードデータを入手しリスク評価・管理を行う必要がある。

しかしながら、ナノ材料については用量相関を求めらるにあたって、従来どおり質量を基準とすべきかあるいは表面積を基準にすべきであるかについても議論が行われているところであり、従来用いられてきた毒性試験の定量的評価方法については検討を要するところである。また、ナノ材料は幅広い物理・化学的性質を有することから、従来用いられてきている各種試験方法がナノ材料全般に適用可能かどうかを確認するために、OECD では加盟国の専門家からの意見を収集しているところである。

表ー1 デュポン社 (NANO・Risk Framework) 等の推奨するリスク評価に必要なデータセット

	物理・化学的性状データ	環境中生物に対するハザードデータ	人に対するハザードデータ
ベースセット	分子構造 分子量 融点 沸点 蒸気圧 オクタノール-水分配係数 対水溶解度 化学的活性 安定性	急性水生生物試験 ・ 魚 (メダカ、ファットヘッドミノー、ニジマス等) ・ 無脊椎動物 (ダフニア) ・ 水生植物 (藻類) 陸生生物試験 ・ 陸生無脊椎動物 (ミミズ) ・ 陸生植物	短期毒性 皮膚感受性/刺激性 皮膚透過性 変異原性・遺伝毒性
必要に応じて追加されるべきデータ	粒子サイズ及びサイズ分布 表面積/体積比 形状 電氣的性質 表面特性 分散/凝集状態 電気伝導度 酸化還元電位	水生生物でのADME 水生及び陸生生物に対する長期毒性 土壌中微生物及び底生生物に対する長期毒性試験 追加的な陸生種を用いた毒性の追加試験 鳥類毒性試験 集団/エコシステムレベルの試験	生物学的運命及び挙動 慢性 (1年以上) 吸入/経口毒性 慢性経皮刺激・感受性試験 発生及び繁殖毒性試験 神経毒性試験 より広範囲の遺伝毒性 特殊毒性 ・感受性試験 (動物モデル) ・アレルギー及び免疫毒性 ・器官・機能バイオアッセイ 内分泌かく乱作用試験

2. ナノ材料の生態影響に関する報告

2. 1 ナノ材料の環境中挙動

カーボンナノチューブ等のナノ材料が水中で速やかに凝集することは知られているが (Chen Q., et al., 2004)、Cheng らはSWNTの水中での凝集において、粒子径の分布は塩分濃度と温度の変化では影響を受けないが、pHによって影響を受けることを報告している (Cheng H, Cheng J, 2005)。環境中に放出されたナノ材料が他の物質の環境中挙動に影響を与える可能性があることを示す報告では、天然の底質粒子あるいは酸化チタンナノ粒子存在下でのカドミウムのコイへの濃縮性を調べた結果、25日間の暴露で魚体中のカ

ドミウムの濃度は酸化チタンナノ粒子存在下では天然の底質粒子存在下に比べ146%増加していた。これは、表面積が大きく吸着能力の高い酸化チタンナノ粒子にカドミウムが吸着して魚中に取り込まれたものと考えられる (Zhang W. et al., 2006)。また、環境中に放出されたナノ材料は様々な形態をとることが考えられ、Pal らは銀ナノ粒子がグラム陰性大腸菌に対して形態依存性のある影響を示すことが明らかにしている (Pal S., Kyung Y., and Song J.M., 2007)。

一方、土壌中に放出されたナノ材料も土壌中微生物に影響を与えることが考えられ、Tong らは、土壌を1μg C60/gsoilの水分散液 (nC60) 及び

1000 $\mu\text{g}/\text{gsoil}$ の顆粒で処理して 180 日間培養して、脂肪酸プロファイル、抽出 DNA、 β -グルコシダーゼ、酸-フォスファターゼ、デヒドロゲナーゼ及びウレアーゼ活性を調べて微生物コミュニティへの影響を評価したところ、C60 及び nC60 のいずれも土壤中の微生物コミュニティ及び微生物プロセスに僅かな影響を与えていることが示している (Tong Z. et al., 2007)。しかしながら、環境中に放出されたフラーレンが環境中の微生物により分解される可能性もあり、 ^{13}C でラベルした C60-C70 を白色腐朽菌で処理したところ、12 週間の培養で ^{13}C が菌に取り込まれフラーレンが代謝を受けていることが示されている (Filley, T.R. et al., 2005)。

2. 2 ナノ材料の環境中生物への影響

カーボンナノチューブは環境中で安定であることが予想されるが、カーボンナノチューブの誘導体は環境中で変化を受ける可能性がある。例えば、オオミジンコと水溶性の lysophosphatidycholine でコートした単層カーボンナノチューブとの関係を調べたところ、オオミジンコは通常の摂餌行動でカーボンナノチューブを摂取し、lysophosphatidycholine を食糧源として消化している (Roberts A.P. et al., 2007)。

凝集した単層カーボンナノチューブを受精後 4 時間からのゼブラフィッシュの胚に暴露したところ、受精後 72 時間後では無処理の胚では 80%、処理した胚では 60% が孵化し、受精後 77 時間ではすべての胚が孵化した (Cheng S.H. et al., 2005) との報告がある。しかし、未精製の単層カーボンナノチューブはゼブラフィッシュの受精卵の孵化を遅延させるが、これは不純物として含まれる Co や Ni の影響である可能性があるとの指摘がある (Cheng J. et al. 2007)。

フラーレンの環境影響を評価した初期の例では、nC60 フラーレンをオオミジンコの子虫に 5ppb~2 ppm の濃度範囲で暴露した結果、48 時間 LC₅₀ は 460ppb で、生存したミジンコでは 500 ppb 以上で脱皮と繁殖の遅延がみられたとの報告 (Oberdorster E 2004a)、テトラヒドロフラン (THF)

可溶化法で試験液を調製したコーティングを施していないフラーレンは、オオクチバスなどの水生生物に酸化的障害や GSH (グルタチオン) の減少を誘発したとの報告 (Oberdorster E. 2004b) があった。しかし、THF 可溶化法及び水中攪拌法によって nC60 の試験液を調製し、ミジンコで急性毒性の予備試験を実施して 48 h LC₅₀ を求めた結果、THF 可溶化法では 0.5ppm、水中攪拌法では 35ppm 以上であった。両方法で調製した試験液をファットヘッドミノアの成魚に 0.5ppm で暴露した結果、THF 可溶化法での 100% 致死は 6 から 18 時間の間であったが、水中攪拌法では 48 時間後でも物理的な影響は見られなかった。水中攪拌法で脳において脂質酸化を高め、鰓において脂質酸化を顕著に上昇させ、肝臓において CYP2 の発現を顕著に上昇させることが報告された (Zhu S. et al. 2006)。さらに、フラーレンを水中攪拌による試験液調製及び THF 溶解液を水中分散後溶媒置換した試験液調製によりゼブラフィッシュ稚魚の毒性評価及び遺伝子発現を測定した結果、ゼブラフィッシュに対する毒性は、THF の変化物による可能性があることが示唆されている (Henry T.B. et al. 2007)。Lovern らは、酸化チタンとフラーレンのそれぞれについて、Oberdorster や Deguchi らが用いた THF 溶液を濾過して溶媒置換を行う方法と超音波照射による方法とで試験溶液を調製し、EPA 法により毒性試験を実施し、LC₅₀、100% 致死量、LOEC、及び NOEC を求めている。超音波照射による酸化チタンでは 9 ppm まで死亡例は確認されていない (Lovern S.B. and Klaper R. 2006)。

	LC50	100% 致死量	LOEC	NOEC
超音波酸化チタン	NA*	NA	NA	NA
濾過フラーレン	460 ppb	880 ppb	260 ppb	180 ppb
濾過酸化チタン	5.5 ppm	10 ppm	2.0 ppm	1.0 ppm
超音波フラーレン	7.9 ppm	NA	0.5 ppm	0.2 ppm

NA = not applicable

雄のファットヘッドミノアにミリ Q 水中で 2 週間攪拌して溶解させた nC60 (0.5ppm) と合成へ

リカルペプチド Nano-1 を用いて水溶化した SWNT (0.2ppm) とを 48 時間暴露させたところいずれも死亡例は確認されなかったが、いずれの場合も消化管中で SWNT が検出された。Nano-1 SWNT では鰓上に SWNT の塊が見られたが、コートされていない SWNT ではそのような塊はみられなかった (Oberdorster E. et al., 2005)。また、水中で凝集して浮遊しているフラーレン (nC60) は 1.5mg/l でゼブラフィッシュの胚発生の遅延及び生存率、孵化率の低下及び心嚢浮腫を引き起こしたが、この毒性は抗酸化剤 (グルタチオン) の添加により軽減された。C60(OH)16·18 は 50mg/l でも胚に毒性を示さなかった (Zhu X. et al. 2007)。

水溶性フラーレンに関して甲殻類と魚類において急性毒性試験を行ったところ、甲殻類の *Daphnia magna* の顕著な脱皮の遅延と産仔数への影響から、個体数に影響を与える可能性が見られ、一方、魚類においては、mRNA 及びチトクローム p450 アイソザイム CYP1A, CYP2K1 並びに CYP2M1 のいずれにも変化はなかったが、ファットヘッドミノーでのみ、ペルオキシゾーマル脂質輸送タンパク質 PMP70 の顕著な減少があり、アシル CoA 経路に影響を及ぼす可能性を示していると報告されている (Oberdoerster, E., et al., 2006)。

酸化チタン、フラーレン及びフラーレンの誘導体 (C60HxC70Hx) がミジンコの行動に及ぼす影響を調べた結果、フラーレンのみが鼓動に顕著な影響を及ぼし、フラーレン及びフラーレン誘導体が跳ね上がり回数及び食肢の運動の増加を引き起こした (Lovern S.B. et al., 2007)。酸化チタンナノ粒子を溶媒を用いずに超音波処理により試験液を調製し、半止水法でニジマスに 0.1、0.5、1.0mg/L で 14 日間暴露した結果、鰓で浮腫やひだの肥厚を含む病状を引き起こしたが、大きな血液学的影響は見られなかった。呼吸困難が懸念され、準致死毒性は酸化ストレス、臓器障害及びグルタチオンなどの抗酸化抑制物質の誘起を含んでいる (Federici G. et al., 2007)。

ゼブラフィッシュに対する水溶性の銅と 80nm

の銅ナノ粒子分散液の急性毒性を調べた結果、ナノ銅の 48hLC50 は 1.5mg/L であった。銅ナノ粒子は水中に分散した後、急速に凝集し水中には 50-60%が残っていた。病理学的及び生化学的解析の結果は、ナノ銅の最初の標的器官は鰓であることを示している。ナノ銅の 100 μ g/L 液にゼブラフィッシュを暴露させたところ、溶解性の銅とは異なった形態学的変化と異なった遺伝子発現パターンが確認された。(Griffitt R.J. et al. 2007)

D. 参考文献

- Chen Q, Saltiel C, Manickavasagam S, Schadler LS, Siegel RW, Yang H. 2004, Aggregation behaviour of single-walled carbon nanotubes in dilute aqueous suspension. *J Colloid Interface Sci.*, 280, 91-97.
- Cheng H, Cheng J. 2005, The aggregation of single-walled carbon nanotubes in fresh water and sea water. 229th American Chemical Society Meeting, 84(1), 9
- Cheng Jinping, Emmanuel Flahaut, and Shuk Han Cheng, 2007, Effect of Carbon Nanotubes on Developing Zebrafish (*Danio Rerio*) Embryos. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26, 708-716.
- Cheng S.H., Cheng J., 2005 Carbonnanotubes Delay Slightly the Hatching Time of Zebrafish Embryos. 229th American Chemical Society Meeting, San Diego, CA March 2005
- Federici G, Shaw B.J., and Handy R.D., 2007, Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, Oxidative Stress, and other Physiological Effects. *Aquatic Toxicology* 84(4) 415-430.
- Filley, T.R., Ahn, M., Held, B.W., Blanchette, R.A., 2005, Investigations of Fungal Mediated (C60-C70) Fullerene Decomposition. Preprints of Extended Abstracts Presented at the ACS National Meeting, American Chemical Society,

- Division of Environmental Chemistry, 45(1), 446-450.
- Griffitt R.J., Weil R., Hyndman K.A., Denslow N.D., Powers K., Taylor D., and Barber D.S., 2007, Exposure to Copper Nanoparticles Causes Gill Injury and Acute Lethality Zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Sci. Technol.*, 41(23), 8178-8186.
- Henry T.B., Menn F., Fleming T., Wilgus J., Compton R.N. and Sayler G.S., 2007. Attributing Effects of Aqueous C60 Nano-Aggregates to Tetrahydrofuran Decomposition Products in Larval Zebrafish by Assessment of Gene. *Environmental Health Perspectives* 115, 1059-1065
- Lovern S.B. Klaper R. 2006. *Daphnia Magna* Mortality When Exposed to Titanium Dioxide and Fullerene (C60) Nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 1132-1137.
- Lovern S.B., Strickler L.R., and Klaper R., 2007 Behavioral and Physiological Change in *Daphnia magna* when Exposed to Nanoparticle Suspensions (Titanium Dioxide, Nano-C60, and C60HxC70Hx). *Environ. Sci. Technol.*, 41(12), 4465-4470.
- Oberdorster E., Toxicity of NC60 Fullerenes to Two Aquatic Species: *Daphnia* and Largemouth Bass. Abstracts of Papers, 227th ACS National Meeting, Anaheim, CA, United States, March 28-April 1, 2004, pp. IEC-021 (2004a)
- Oberdorster E., Manufactured nanomaterials (Fullerens, C60) induced oxidative stress in the brain of juvenile largemouth Bass. *Env. Health Perspectives*, 112(10) 1058-1062 (2004b)
- Oberdorster E, Ortiz-Acevedo A, Xie H, Pantano P, Baughman RH, Musselman IH, Draper R.K., and Dieckmann G.R., 2005, Exposure of fathead minnow to fullerene and single-walled carbon nanotubes. 229th American Chemical Society Meeting, San Diego., 84(S1), 325.
- Oberdorster, Eva; Zhu, Shiqian; Blickley, T. Michelle; McClellan-Green, Patricia; Haasch, Mary L. 2006 Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: Effects of fullerene (C60) on aquatic organisms. *Carbon.*, 44(6) 1112-1120
- Pal S., Kyung Y., and Song J.M., 2007. Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology.*, 73(6), 1712-1720.
- Roberts A.P., Mount A.S., Seda B., Souther J., Qiao R., Lin S., Ke P.C, Rao A.M., Klaine S.J., 2007, In vivo Biomodification of Lipid-Coated Carbon Nanotubes by *Daphnia magna*. *Environ. Sci., Technol.*, 41(8), 3025-3029.
- Tong Z., Bischoff M., Nies L., Applegate B. and Turco R.F. 2007 Impact of Fullerene (C60) on a Soil Microbial Community. *Environ. Sci. Technol.*, 41(8), 2985-2991
- Zhang W., Sun H., Zhan Z., Niu Q., Chen Y., Crittenden J.C., 2007, Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Chemosphere*, 67(1), 160-166.
- Zhu Shiqian, Oberdorster E. Haasch M.L., 2006 Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C60) in two aquatic species, *Daphnia* and fathead minnow. *Marine Env. Res.*, 62, S5-S9.
- Zhu Xiaoshan, Lin Zhu, Yan Li, Zhenghua Duan, Wei Chen, and Pedro 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, 976-979.

E. 結論

国際的にみたナノ材料の総合管理についての動向を把握するために、EPA、欧州委員会及びOECD等の活動等や、ナノ材料の生態系への影響について文献を行った結果、科学的情報収集に加えて、健康影響や環境影響に関する研究プロジェクトの公募や、いくつかのナノマテリアルに関する実際の試験や計画が実行されつつあることが明らかになると共に、リスク評価や管理に対する議論の枠組みなどの検討も始まっていることが示された

F. 研究発表

論文発表

Takagi A, Hirose A, Nishimura T, Fukumori N, Ogata A, Ohashi N, Kitajima S, Kanno J. Induction of mesothelioma in p53+/- mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J Toxicol Sci.* 2008 Feb;33(1):105-116.

学会発表

Akihiko Hirose, Hiroyuki Tsuda, Hiroshi Tokunaga, Tetsuji Nishimura, Jun Kanno: Efforts by the Japanese National Institute of Health Science to develop measures to evaluate the health effects of manufactured nanomaterials. EuroNanOSH2007 Dec. 3-5 2007, Helsinki, Finland.

菅野 純、広瀬明彦、高木篤也、ナノマテリアルの毒性試験、毒性評価、日本薬学会第128年会、2008年3月26-28日、横浜

Nishimura, T., Shimizu, K., Kubota, R., Tahara, M., Hirose, A., Tokunaga, H.: Development of dispersion method for the cell culture medium to establish in vitro screening system for fullerene. *International Congress of Toxicology*(2007.6)

西村哲治, 清水久美子, 久保田領志, 田原麻衣子, 徳永裕司, 広瀬明彦: フラーレンの生物学的影響評価のための In Vitro 試験法の検討—培養液への分散方法—, 第13回日本環境毒性学会・パオアッセイ研究会合同研究発表会 p22 (2007.9)

Nishimura, T., Shimizu, K., Kubota, R., Tahara, M., Hirose, A., Tokunaga, H.: Establishment of dispersion methods for in vitro screening system for fullerene. 44th Congress of The European Societies of Toxicology T41 (2007.10)

Kubota, R., Tahara, M., Shimizu, K., Tokunaga, H., Hirose A., Ema, M., and Nishimura, T. Quantitative determination of C₆₀ fullerene by LC-MS/MS and its tissue distribution following oral administration to rats. 47th Annual Meeting of Society of Toxicology (2008)

Kiyoshi Wako, H. Hiratsuka, M. Sekijima, A. Hirose. Effects of the Preparation Method of MWCNT Suspension for Intratracheal Instillation to Rats for Pulmonary Toxicity Study 11th International Congress of Toxicology (2007.7)

小谷百合, 土居卓也, 佐々木啓, 涌生聖, 土谷稔, 広瀬明彦 多層カーボンナノチューブ (Multi-Wall Carbon Nanotubes, MWCNT) のラット気管内投与における投与液の懸濁状態による病理学的変化の違い 第24回日本毒性病理学会学術年会 (2008.2)

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
(該当なし)
2. 実用新案登録
(該当なし)
3. その他
(該当なし)