

示すが、いずれの臓器にも投与に関連した変化は認めなかった。

2) 合成および精製ナノクレイ投与ラット検体中のアルミニウム濃度測定

投与7週目の糞中のアルミニウム濃度は5%スメクトン投与群および5%クニピア群において、それぞれ対照群の23および100倍程度であったが、投与終了時の肝臓でのアルミニウム濃度は投与による影響はなく、便潜血や腸管の組織学的変化などの物理的影響も認めなかった (Figure 3)。

D. 考察

雌ラットにおいては、経過中よりスメクトンおよびクニピア投与群では、対照群よりも体重増加が亢進していたが、用量相関がない軽度の変化であり、背景データの範疇と考えられた。雌のみに見られた肺、心臓、脾臓及び肝臓の絶対重量の増加および脳と腎臓の相対重量の低下についても、いずれも用量相関性がない絶対重量と相対重量のみの変化であり、体重増加に伴う二次的な変化と考えられた。また、雌の1%以上のスメクトン群で認められたMCHCの有意な増加と雄の5%スメクトン群で認められたTGの有意な減少は、いずれも関連するパラメータの変動は伴っておらず、偶発的な変化と考えられた。

また、特にクニピア投与群については、糞中には高濃度のアルミニウムが確認されているが、13週間反復投与による肝臓への沈着は認めなかった。さらに、便潜血や腸管の組織学的変化はなく、物理的な影響も否定的であった。

E. 結論

スメクトンおよびクニピアについては、食品添加物の毒性試験として最高用量である5%を投与したラットを用いた13週間投与試験において毒性所見を示さず、また、組織へのアルミニウムの蓄積も確認されなかった。本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は雌雄ともに5.0% (スメ

クトンの雄:2.91 g/kg 体重/日、雌:3.15 g/kg 体重/日、クニピアの雄:2.89 g/kg 体重/日、雌:3.09 g/kg 体重/日) と判断した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

Ogawa, K., Onami, S., Cho, Y.-M., Toyoda, T., Akagi, J.-I., Suzuki, I., Mizuta, Y., Nishikawa, A. No significant adverse effect of nanoclay primarily consisting of Montmorillonite in a rat 13-week dietary administration study (モンモリロナイトを主成分とするナノクレイはラット13週間混餌投与試験において毒性影響を示さない) . The 13th International Congress of Toxicology ; Seoul, 2013.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし

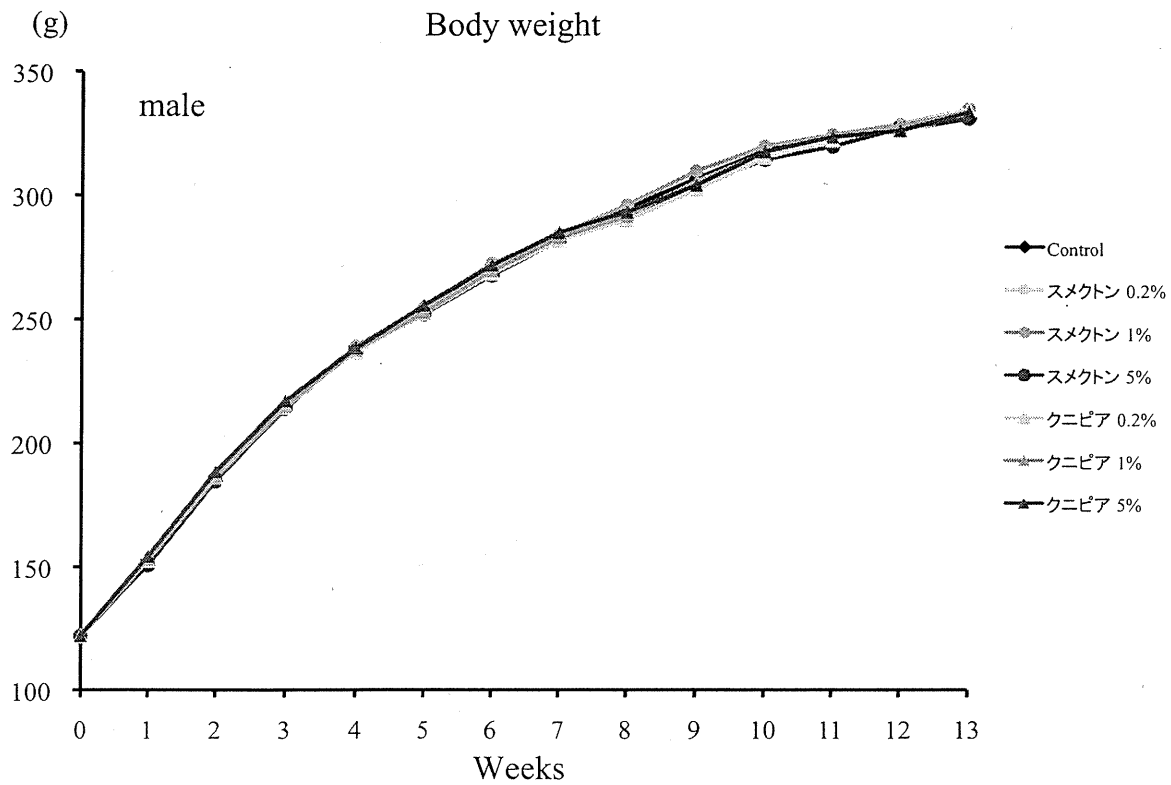


Figure 1: Mean body weights of the male F344 rats fed Sumecton or Kunipia for 13 weeks.

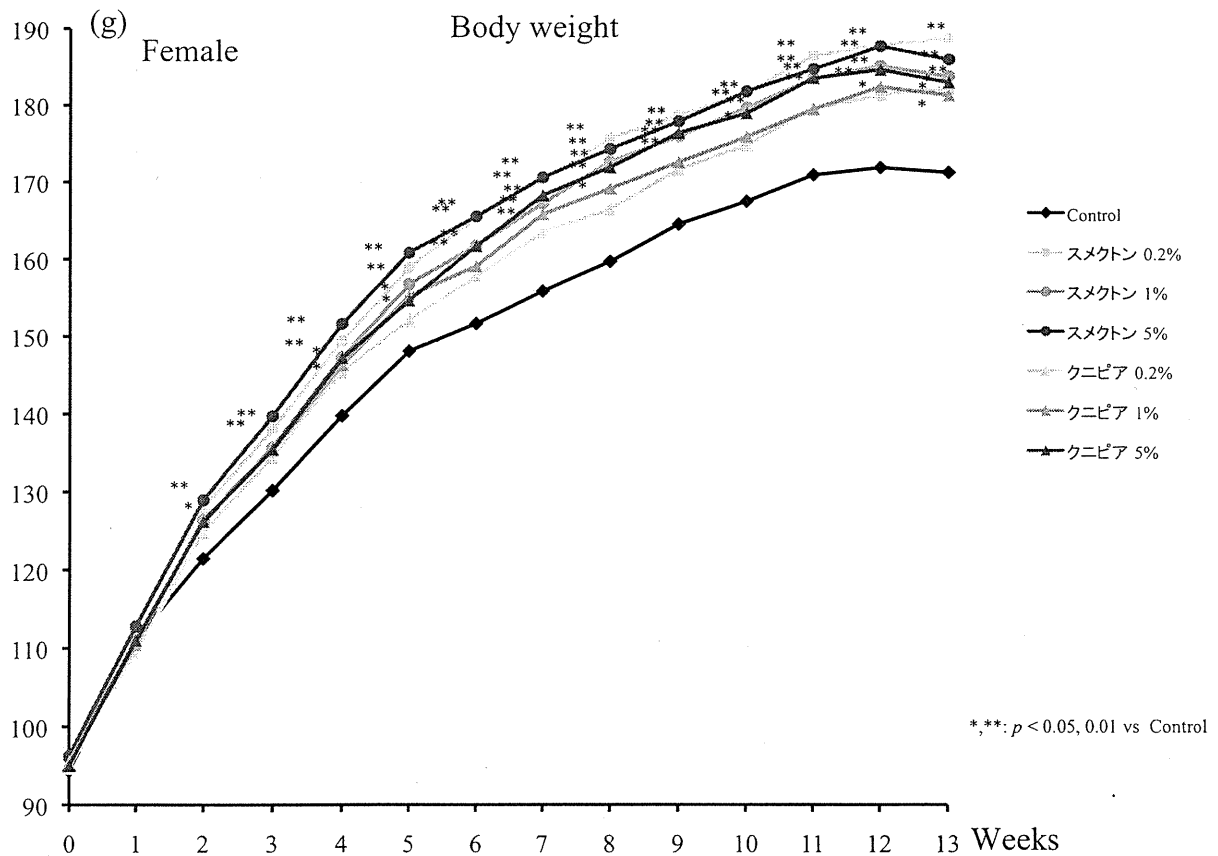


Figure 2: Mean body weights of the female F344 rats fed Sumecton or Kunipia for 13 weeks.

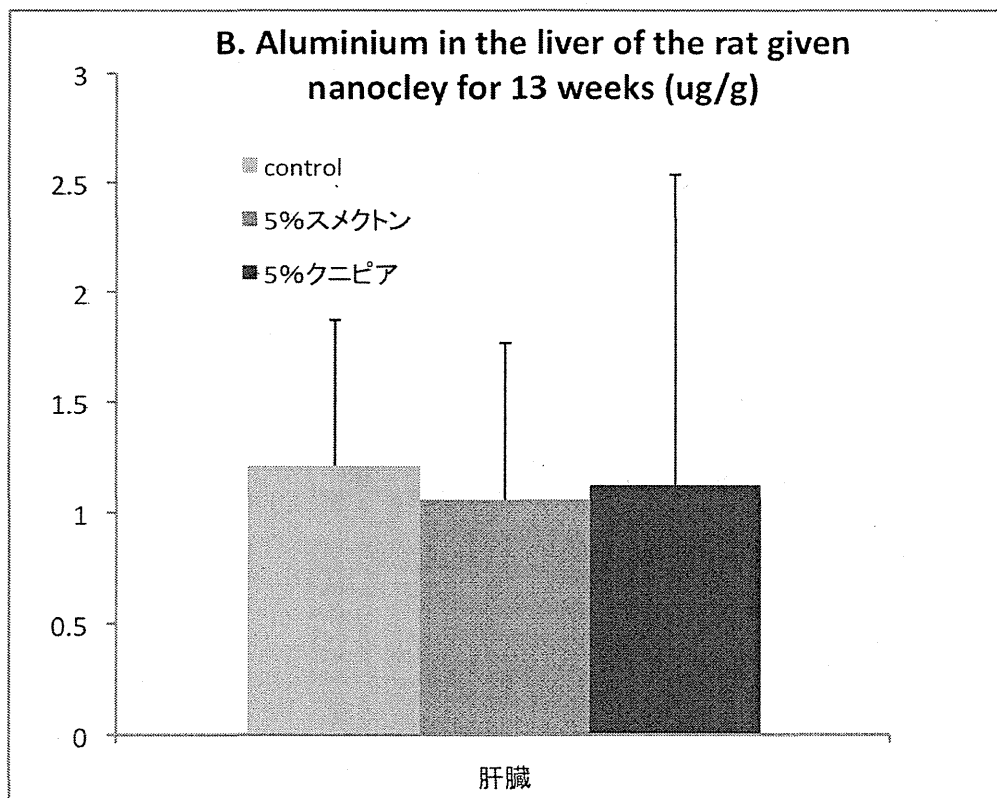
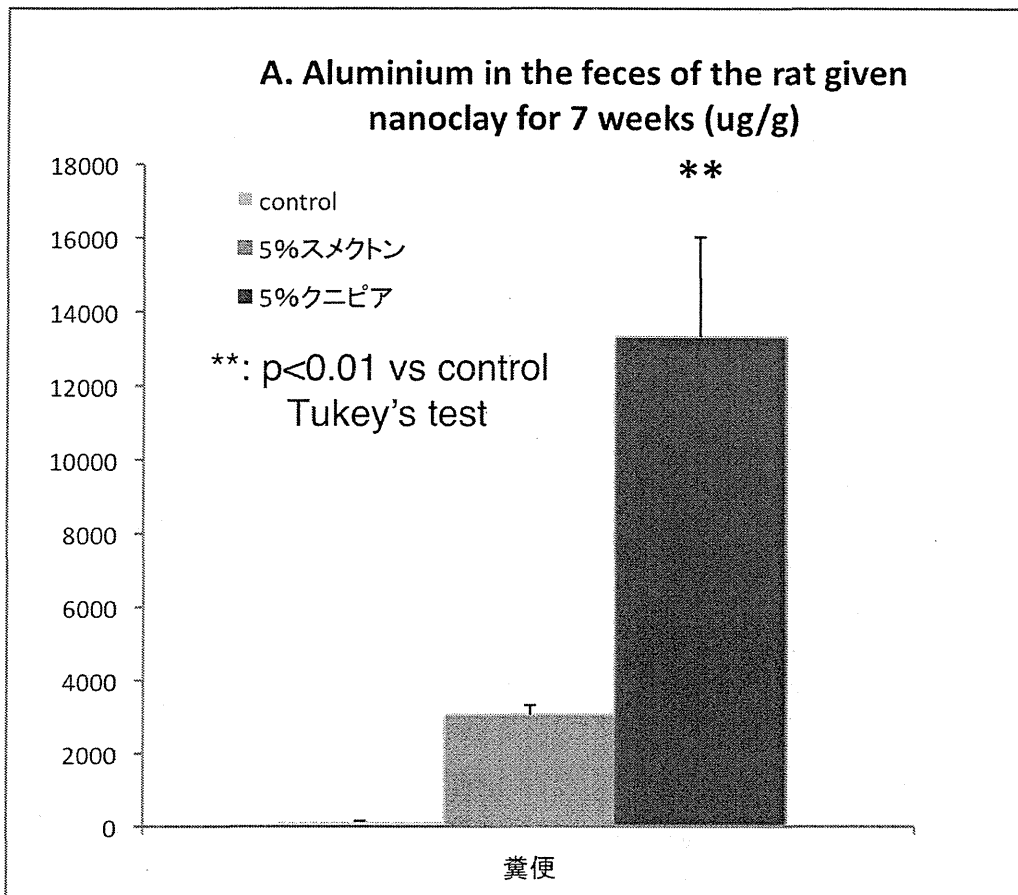


Figure 3; The aluminium concentration in the feces and liver of F344 rats fed Sumecton or Kunipia for 13 weeks.

Table 1. Food consumption and material intake of F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Sex	treatment	Dose (%)	No. of animals examined	Food consumption		Intake of Sumecton or Kunipia	
				(g/rat/day)	(g/kg BW/day)	Daily (g/kg BW/day)	Total (g/kg BW)
male	control	0	10	14.3 ± 0.8	55.9 ± 14.9	0	0
	Sumecton	0.2	10	13.8 ± 0.7	53.8 ± 12.9	0.11	9.69
		1	10	14.0 ± 0.7	54.7 ± 13.8	0.55	49.19
		5	10	14.8 ± 0.7	58.2 ± 14.3	2.91	261.68
	Kunipia	0.2	10	14.2 ± 0.5	55.7 ± 13.6	0.11	10.02
		1	10	14.1 ± 0.6	55.0 ± 13.1	0.55	49.53
5		10	14.8 ± 0.6	57.8 ± 14.5	2.89	260.09	
female	control	0	10	8.7 ± 0.3	59.0 ± 12.3	0	0
	Sumecton	0.2	10	9.2 ± 0.6	58.3 ± 12.7	0.12	10.49
		1	10	9.2 ± 0.7	59.2 ± 12.9	0.59	53.31
		5	10	10.0 ± 0.8	63.1 ± 13.5	3.15	283.91
	Kunipia	0.2	10	9.1 ± 0.6	59.5 ± 12.6	0.12	10.71
		1	10	8.9 ± 0.6	57.8 ± 12.5	0.58	52.03
5		10	9.6 ± 0.5	61.8 ± 12.8	3.09	278.27	

Table 2. Organ weights of male F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Treatment	Control	Sumecton 0.2%	Sumecton 1%	Sumecton 5%	Kunipia 0.2%	Kunipia 1%	Kunipia 5%
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10
Body weight (g)	319.0 ± 11.9	320.7 ± 14.3	323.6 ± 8.5	319.6 ± 17.1	323.7 ± 8.4	322.1 ± 16.8	320.4 ± 9.3
Absolute							
Brain (g)	2.01 ± 0.04	1.99 ± 0.04	1.99 ± 0.05	1.98 ± 0.08	1.96 ± 0.05	2.00 ± 0.04	2.02 ± 0.04
Thymus (g)	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.04	0.18 ± 0.04	0.18 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.02
Lungs (g)	1.00 ± 0.08	1.04 ± 0.15	1.00 ± 0.10	1.04 ± 0.11	1.05 ± 0.10	1.00 ± 0.10	1.02 ± 0.10
Heart (g)	0.93 ± 0.05	0.92 ± 0.04	0.93 ± 0.03	0.93 ± 0.06	0.95 ± 0.04	0.94 ± 0.04	0.96 ± 0.05
Spleen (g)	0.65 ± 0.03	0.63 ± 0.04	0.66 ± 0.04	0.63 ± 0.05	0.64 ± 0.02	0.62 ± 0.05	0.65 ± 0.03
Liver (g)	7.33 ± 0.55	7.41 ± 0.38	7.35 ± 0.24	6.80 ± 1.93	7.45 ± 0.41	7.34 ± 0.50	7.27 ± 0.39
Adrenals (g)	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.01
Kidneys (g)	1.88 ± 0.09	1.91 ± 0.11	1.90 ± 0.12	1.89 ± 0.14	1.93 ± 0.10	1.93 ± 0.14	1.90 ± 0.12
Gonads (g)	3.16 ± 0.15	3.02 ± 0.28	3.11 ± 0.08	3.13 ± 0.11	3.11 ± 0.06	3.18 ± 0.09	3.09 ± 0.12
Relative							
Brain (g%)	0.63 ± 0.02	0.62 ± 0.03	0.61 ± 0.02	0.62 ± 0.03	0.61 ± 0.01	0.62 ± 0.03	0.63 ± 0.02
Thymus (g%)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01
Lungs (g%)	0.31 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.31 ± 0.04	0.33 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.32 ± 0.03
Heart (g%)	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.02
Spleen (g%)	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.01
Liver (g%)	2.30 ± 0.11	2.31 ± 0.06	2.27 ± 0.08	2.14 ± 0.06	2.30 ± 0.10	2.28 ± 0.07	2.27 ± 0.09
Adrenals (g%)	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
Kidneys (g%)	0.59 ± 0.03	0.60 ± 0.02	0.59 ± 0.03	0.59 ± 0.04	0.59 ± 0.02	0.60 ± 0.04	0.59 ± 0.03
Gonads (g%)	0.99 ± 0.05	0.94 ± 0.09	0.96 ± 0.02	0.98 ± 0.06	0.96 ± 0.02	0.99 ± 0.05	0.97 ± 0.05

Each value represents the mean ± SD.

Table 3. Organ weights of female F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Treatment	Control	Sumecton 0.2%	Sumecton 1%	Sumecton 5%	Kunipia 0.2%	Kunipia 1%	Kunipia 5%
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10
Body weight (g)	162.6 ± 4.3	180.0 ± 8.7	** 175.3 ± 7.3	** 176.7 ± 10.2	* 173.8 ± 8.0	* 172.9 ± 10.9	* 173.4 ± 6.6
Absolute							
Brain (g)	1.82 ± 0.04	1.82 ± 0.04	1.82 ± 0.05	1.82 ± 0.04	1.80 ± 0.03	1.81 ± 0.04	1.81 ± 0.03
Thymus (g)	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02
Lungs (g)	0.62 ± 0.05	0.65 ± 0.11	0.69 ± 0.06	0.70 ± 0.06	0.67 ± 0.07	0.65 ± 0.08	0.72 ± 0.11
Heart (g)	0.55 ± 0.03	0.60 ± 0.03	** 0.58 ± 0.03	0.59 ± 0.02	* 0.59 ± 0.02	* 0.58 ± 0.03	0.59 ± 0.05
Spleen (g)	0.39 ± 0.03	0.43 ± 0.04	** 0.40 ± 0.03	0.41 ± 0.03	0.41 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.41 ± 0.02
Liver (g)	3.60 ± 0.18	3.91 ± 0.23	* 3.78 ± 0.17	3.84 ± 0.19	3.82 ± 0.22	3.82 ± 0.25	3.80 ± 0.28
Adrenals (g)	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.01
Kidneys (g)	1.05 ± 0.06	1.08 ± 0.06	1.06 ± 0.06	1.11 ± 0.05	1.08 ± 0.07	1.10 ± 0.06	1.09 ± 0.07
Gonads (g)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01
Relative							
Brain (g%)	1.12 ± 0.04	1.01 ± 0.05	** 1.04 ± 0.05	** 1.03 ± 0.06	** 1.04 ± 0.05	* 1.05 ± 0.06	* 1.04 ± 0.04
Thymus (g%)	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Lungs (g%)	0.38 ± 0.03	0.36 ± 0.05	0.39 ± 0.04	0.40 ± 0.03	0.39 ± 0.04	0.38 ± 0.05	0.42 ± 0.06
Heart (g%)	0.34 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.02
Spleen (g%)	0.24 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.01
Liver (g%)	2.21 ± 0.11	2.17 ± 0.06	2.16 ± 0.08	2.18 ± 0.08	2.20 ± 0.11	2.21 ± 0.11	2.19 ± 0.11
Adrenals (g%)	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
Kidneys (g%)	0.65 ± 0.04	0.60 ± 0.02	* 0.61 ± 0.04	0.63 ± 0.03	0.62 ± 0.04	0.64 ± 0.05	0.63 ± 0.04
Gonads (g%)	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00

Each value represents the mean ± SD.

*, **: Significantly different from control v.s. administered group at p < 0.05 and p < 0.01, respectively

Table 4. Hematology data of male F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Treatment	Control	Sumecton 0.2%	Sumecton 1%	Sumecton 5%	Kunipia 0.2%	Kunipia 1%	Kunipia 5%
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10
WBC (x10 ² /μl)	30 ± 7	26 ± 9	26 ± 9	25 ± 8	26 ± 8	26 ± 9	33 ± 5
RBC (x10 ⁴ /μl)	949 ± 80	950 ± 65	972 ± 80	930 ± 65	925 ± 49	973 ± 62	984 ± 27
HGB (g/dL)	16.0 ± 1.2	16.2 ± 1.0	16.5 ± 1.4	15.9 ± 1.1	15.9 ± 0.8	16.6 ± 1.0	16.8 ± 0.4
HCT (%)	50.7 ± 3.8	51.2 ± 2.6	51.7 ± 3.8	49.9 ± 3.2	49.8 ± 2.6	52.2 ± 3.4	52.9 ± 0.9
MCV (fL)	53.5 ± 1.2	53.9 ± 1.1	53.2 ± 0.6	53.6 ± 0.4	53.8 ± 0.4	53.6 ± 0.8	53.8 ± 0.9
MCH (pg)	16.9 ± 0.4	17.1 ± 0.3	17.0 ± 0.3	17.1 ± 0.2	17.1 ± 0.5	17.0 ± 0.3	17.1 ± 0.2
MCHC (g/dL)	31.6 ± 0.4	31.7 ± 0.5	31.9 ± 0.6	32.0 ± 0.5	31.9 ± 0.8	31.7 ± 0.4	31.8 ± 0.5
PLT (x10 ⁴ /μl)	70.8 ± 7.4	76.1 ± 8.9	77.1 ± 8.8	72.4 ± 6.2	73.5 ± 6.9	76.8 ± 4.4	75.4 ± 4.9

Each value represents the mean ± SD.

*, **: Significantly different from the control at p < 0.05 and p < 0.01, respectively

Table 5. Hematology data of female F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Treatment	Control	Sumecton 0.2%	Sumecton 1%	Sumecton 5%	Kunipia 0.2%	Kunipia 1%	Kunipia 5%
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10
WBC (x10 ² /μl)	24 ± 8	26 ± 10	23 ± 4	24 ± 7	19 ± 5	20 ± 4	21 ± 6
RBC (x10 ⁴ /μl)	834 ± 46	823 ± 40	851 ± 24	808 ± 53	840 ± 30	824 ± 27	837 ± 31
HGB (g/dL)	15.3 ± 0.7	15.4 ± 0.6	15.9 ± 0.4	15.2 ± 1.0	15.6 ± 0.6	15.4 ± 0.6	15.5 ± 0.4
HCT (%)	48.2 ± 1.6	47.6 ± 1.7	48.7 ± 1.3	46.4 ± 3.1	48.7 ± 1.6	48.0 ± 1.5	48.4 ± 1.2
MCV (fL)	57.9 ± 2.0	57.9 ± 1.6	57.2 ± 0.4	57.4 ± 0.6	58.1 ± 0.8	58.3 ± 1.2	57.8 ± 1.6
MCH (pg)	18.4 ± 0.3	18.7 ± 0.5	18.7 ± 0.2	18.8 ± 0.4	18.5 ± 0.3	18.7 ± 0.4	18.5 ± 0.5
MCHC (g/dL)	31.8 ± 0.7	32.4 ± 0.7	32.7 ± 0.3 **	32.7 ± 0.8 **	32.0 ± 0.5	32.1 ± 0.5	32.0 ± 0.4
PLT (x10 ⁴ /μl)	75.1 ± 4.6	77.9 ± 5.5	74.4 ± 5.9	68.7 ± 7.2	72.5 ± 4.8	70.6 ± 8.8	70.9 ± 2.2

Each value represents the mean ± SD.

** : Significantly different from the control at p < 0.01

Table 6. Blood biochemical changes of male F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Treatment	Control	Sumecton 0.2%	Sumecton 1%	Sumecton 5%	Kunipia 0.2%	Kunipia 1%	Kunipia 5%
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10
TP g/dL	6.5 ± 0.2	6.5 ± 0.2	6.4 ± 0.3	6.3 ± 0.3	6.4 ± 0.2	6.3 ± 0.3	6.3 ± 0.2
Alb g/dL	4.2 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.2 ± 0.2	4.1 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.1 ± 0.2	4.1 ± 0.1
A/G	1.8 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1
Bil mg/dL	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.00
Glu mg/dL	158 ± 24	151 ± 18	144 ± 27	130 ± 18	153 ± 37	151 ± 24	156 ± 40
TG mg/dL	89 ± 16	71 ± 16	65 ± 19	53 ± 14*	75 ± 25	82 ± 31	68 ± 33
T-Cho mg/dL	59 ± 5	57 ± 5	56 ± 4	56 ± 5	57 ± 5	56 ± 5	56 ± 6
BUN mg/dL	19 ± 2	18 ± 1	18 ± 2	17 ± 1	18 ± 3	18 ± 2	18 ± 3
Cre mg/dL	0.29 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.29 ± 0.04	0.30 ± 0.02
Na mEQ/L	143 ± 1	143 ± 1	142 ± 2	144 ± 1	142 ± 3	141 ± 3	142 ± 1
Cl mEQ/L	102 ± 2	103 ± 2	101 ± 2	102 ± 1	101 ± 3	100 ± 2	101 ± 1
K mEQ/L	4.4 ± 0.2	4.4 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.4 ± 0.2	4.4 ± 0.1	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.2
Ca mg/dL	10.1 ± 0.1	10.0 ± 0.3	9.9 ± 0.3	9.9 ± 0.2	9.9 ± 0.4	9.8 ± 0.4	9.9 ± 0.2
IP mg/dL	5.4 ± 0.2	5.5 ± 0.6	5.8 ± 0.3	6.0 ± 0.5	5.1 ± 0.7	5.1 ± 0.5	5.4 ± 0.7
AST IU/L	89 ± 13	89 ± 14	85 ± 7	84 ± 8	93 ± 16	95 ± 20	88 ± 12
ALT IU/L	57 ± 5	54 ± 9	51 ± 6	48 ± 7	59 ± 14	54 ± 9	50 ± 7
ALP IU/L	338 ± 18	347 ± 17	348 ± 20	346 ± 24	355 ± 40	351 ± 33	350 ± 32
γGTP IU/L	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3

Each value represents the mean ± SD.

*: Significantly different from control v.s. administered group at p < 0.05

Table 7. Blood biochemical changes of female F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Treatment	Control	Sumecton			Kunipia		
		0.2%	1%	5%	0.2%	1%	5%
No. of animals	10	10	10	10	10	10	10
TP g/dL	6.4 ± 0.2	6.4 ± 0.5	6.4 ± 0.2	6.3 ± 0.2	6.2 ± 0.3	6.4 ± 0.4	6.3 ± 0.3
Alb g/dL	4.3 ± 0.1	4.3 ± 0.3	4.4 ± 0.2	4.4 ± 0.1	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.2
A/G	2.0 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.1**	2.2 ± 0.1**	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.1
Bil mg/dL	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
Glu mg/dL	89 ± 11	87 ± 13	93 ± 17	96 ± 14	95 ± 17	102 ± 26	106 ± 23
TG mg/dL	26 ± 6	25 ± 6	31 ± 11	24 ± 7	32 ± 17	53 ± 36	40 ± 34
T-Cho mg/dL	80 ± 8	77 ± 13	83 ± 8	72 ± 8	77 ± 8	81 ± 10	75 ± 13
BUN mg/dL	17 ± 2	16 ± 1	16 ± 2	17 ± 1	16 ± 3	17 ± 3	17 ± 2
Cre mg/dL	0.28 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.02
Na mEQ/L	143 ± 2	142 ± 6	141 ± 2	143 ± 2	141 ± 3	142 ± 4	142 ± 2
Cl mEQ/L	104 ± 2	102 ± 5	102 ± 2	103 ± 2	102 ± 2	102 ± 4	102 ± 3
K mEQ/L	4.2 ± 0.4	4.0 ± 0.3	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.0 ± 0.2	4.2 ± 0.3	4.1 ± 0.2
Ca mg/dL	9.7 ± 0.2	9.7 ± 0.6	9.6 ± 0.2	9.8 ± 0.3	9.5 ± 0.3	9.7 ± 0.6	9.7 ± 0.3
IP mg/dL	5.1 ± 0.5	5.4 ± 0.8	5.1 ± 0.6	5.6 ± 0.3	4.5 ± 1.2	4.3 ± 1.3	4.6 ± 1.5
AST IU/L	76 ± 8	71 ± 8	66 ± 7	68 ± 5	72 ± 11	72 ± 7	72 ± 3
ALT IU/L	30 ± 4	28 ± 3	29 ± 3	28 ± 4	29 ± 4	30 ± 5	29 ± 4
ALP IU/L	207 ± 22	201 ± 20	203 ± 23	216 ± 25	212 ± 15	218 ± 31	205 ± 35
γGTP IU/L	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3

Each value represents the mean ± SD.

**: Significantly different from control v.s. administered group at p < 0.01

Table 8. Histopathological findings for F344 rats fed diet containing montmorillonite for 13 weeks

Sex	Treatment	Male			Female		
		Control	Sumecton 5%	Kunipia 5%	Control	Sumecton 5%	Kunipia 5%
No. of animals		10	10	10	10	10	10
Kidney							
Regeneration, tubular		2	0	0	0	0	0
Heart							
Cardiomyopathy		2	1	0	0	0	0
Intestine, rectum							
Metaplasia, squamous		0	0	0	1	0	0
Lung							
Metaplasia, osseous		0	1	2	0	0	0
Pancreas							
Single cell necrosis, tubular cell, focal		1	0	0	0	0	0
Pituitary							
Cyst, pars distalis		0	0	1	2	1	1
Cyst, pars nervosa		1	0	0	0	0	0
Spinal cord, lumbar							
Epidermal cyst		0	0	0	2	0	0
Thyroid							
Ultimobranchial body		1	2	1	2	1	2

ナノクレイの食品・食品容器としての使用状況調査

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
研究協力者: 小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究員
研究協力者: 高橋 美加 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 研究員
研究協力者: 小林 克己 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 研究員

研究要旨

本研究では、食品・食品容器分野におけるナノマテリアルの用途を調査することにより、リスク評価のための基礎的情報収集を行うことを目的としている。平成 25 年度はナノクレイ以外のナノマテリアルに調査範囲を広げ、近年抗菌作用としての効用が注目されているナノ銀及び白の着色用途として使用されている酸化チタンについてそのナノマテリアルとしての使用実態の調査を行った。また、デンマーク環境省より 10 種類のナノマテリアルの経口曝露による体内吸収に関する最新知見が報告されたのでその概要を取り纏めた。食品に関連するナノ銀としては、用量の総量は把握できなかったが、特に容器・包装用途における抗菌目的の使用が確認できた。銀の形態は、ナノ銀(金属)、銀イオン及び銀コロイドと多様であり、多くは銀イオンを溶出させて抗菌効果を求めている。二酸化チタンについては、容器・包装に遮光性や抗菌性を付与する目的の使用が確認できた。二酸化チタンナノ粒子製品が食品添加物用として明示的に使用される例は見つけられなかったが、公表研究論文には一般の食品添加物の中にナノ粒子成分も含まれている事が示されていた。銀および二酸化チタンに関してバルクとしての食品用途の数量も把握できない状況であったが、一般工業用と比較すれば食品関連の使用総量は非常に少ないと思われた。しかし、使用されている製品の状況からは、曝露されている人数は意外に多いと考えられる。デンマーク環境省の報告では、現時点では腸管吸収を精査するためにデザインされた試験の報告はかなり限られており、さらなる研究の必要性が示されていた。今後は、使用されている可能性のある製品群の分析調査による正確な実態の把握及び腸管吸収性を定量的に評価するための試験研究が必要であると考えられた。

A. 研究目的

ナノマテリアルには、様々な材質が考案されており、その工業的利用の振興が期待されている。ナノマテリアルの中でも、カーボンブラックや酸化チタン、カーボンナノチューブなどは、環境からの曝露による、ヒトの健康への影響が懸念されており、複数の検討がなされている。一方、モンモリロナイトを主成分とするナノクレイについては、リスク評価に必要な経口投与による毒性影響

や体内動態を詳細に検討した報告はなく、早急の検討が必要である。さらに、ナノクレイは加工食品においては、固化防止剤として使用されている以外に内容物の保存安定性の向上を目的としたナノクレイを含む PET ボトルなどの開発も進められているなど、食品・食品容器分野における積極的な利用も期待されているが、その全貌は明らかではない。本研究班では、食品・食品容器分野におけるナノクレイのリスク評価を

行うことを目的としており、分担研究として食品・食品容器分野におけるナノクレイの用途を明らかにするとともに、その使用状況を把握することを目的とする。

B. 研究方法

本年度は、ナノクレイ以外のナノマテリアルに調査範囲を広げ、近年抗菌作用としての効用が注目されているナノ銀と、白の着色用途として使用されている酸化チタンについて、食品関連分野へのナノマテリアルとしての使用実態の調査を行った。

調査対象物質としては、銀は、「ナノ銀」「銀イオン」「銀コロイド」を対象とした。

酸化チタンは、「ナノサイズ」を対象とするが、大きさ不明でナノサイズが含まれる可能性があり、食品用途に使用されるものは参考情報として整理した。

ただし、これらのサイズや用語については、記載者（論文著者、特許出願者）が記載している用語に従い、厳密な「ナノ粒子」「イオン」「コロイド」を示すものではない。調査では、ナノマテリアルを使用していると思われる製品に注力した。

調査対象分野としては、食品分野（ナノ銀および酸化チタンが意図的添加されて、ヒトが経口曝露される用途分野）として、主に以下の材料や用途に用いられる分野を対象とした。

- ・ 食品包装容器材
- ・ 飲用水および食品
- ・ 健康食品類

調査項目としては、

(1) 食品分野におけるナノマテリアルの使用目的調査：食品分野においてナノ銀およびナノ酸化チタンの使用が見込まれ現在使用されている用途について調査した。食品包装容器材について、適用方法や使用するナノ銀の形態や量を調査した。またナノ銀を直接摂取する食品添加及び抗菌・殺菌作用を期待した浄水方法について、ナノ銀の使用方法について調査をした。

(2) ナノマテリアル使用の現状：ナノ銀およびナノ酸化チタンの経口曝露の可能性がある使用の現状

（実用化されているもの）をリストアップした。

調査方法としては、文献データベース、日本特許データベース、インターネットの検索により実施した。

ナノ銀及び酸化チタンの使用実態に関する各種の検索作業や業界からの調査等については、（株）東レリサーチセンターにご協力をいただいた。

また、デンマーク環境省より10種類のナノマテリアルの経口曝露による体内吸収に関する最新知見が報告されたのでその概要を取り纏めた。

C. 研究結果

<ナノ銀>

1 ナノ銀の使用目的

特許から得られたナノ銀の用途は、抗菌・殺菌、消臭が多い。その他、ガスバリア性、光沢性確保、抗酸化（還元作用）などがある。（別表1参照）

EUの調査では、食品保存用容器、栄養補助食品、繊維、電子機器、家庭用電気機器、化粧品、医療機器、水浄化及び室内用スプレーなどがあげられている²⁴。このEUの調査では、食品容器・包装にナノ銀を包含し抗菌コート、ナノ銀スプレーによる食品の殺菌、保存容器は、銀ナノ粒子を包含し酸素透過性制御や微生物の増殖制御、サプリメントでは銀コロイドを摂取する事が報告されている。

国際銀協会によると、水の浄化用に銀が相当量使用されている。銀イオンは、病院で水に添加したり、プールや温泉に使われたりと徐々に塩素殺菌から取り替わられてきている²⁵。

特許に記載されていた銀の形態としては、銀化合物（酸化銀、硝酸銀、オルトリン酸銀、塩化銀など）と金属銀の両方であった。銀化合物、金属銀を樹脂やガラスに混合したり、ゼオライトや活性炭に担持させたりして、銀イオンの効果を利用している。

食品としては、銀イオンの摂取を想定したものがあり、添加している銀は、酸化銀など銀化合物である。

容器・包装用には、抗菌性樹脂が使用されている。

特許から算出した樹脂中銀化合物量の例を

表 1 に示す。樹脂に対して 0.0002~0.05%程度の銀化合物が含まれている。

水浄化装置では、硝酸銀などをフィルターや活性炭に固定し、銀イオンによる抗菌・殺菌を行う。水浄化では、銀の濃度制御が課題であり、浄水中の銀イオン濃度を WHO のガイドライン 100 $\mu\text{g/L}$ 以下に制御する方法、浄水を長時間タンクに貯留した時の銀イオン含有量の制御方法などが開発されている。特許から算出した浄水器の銀の量を表 2 に示す。銀の使用量は、添着活性炭に対しては 0.1~5%程度、樹脂に対しては 1~2%程度、銀ゼオライト²⁶に対しては 0.1~数重量%程度と推測できる。

2 ナノ銀の市場

世界のナノマテリアル製品のシェアを製品カテゴリー別にした場合、一番多いのは自動車関連で 50%を越える。次いで、電子機器・コンピューター関連で 10~20%、家庭用品関連が 1~10%を占める。水浄化は<1%である。2015 年予測では電子機器・コンピューター関連が 30~40%、自動車関連が 40~50%、家庭用品関連は変わらず 1~10%、水浄化も変わらず<1%である²⁷。製品としては、2010 年では、触媒が>50%、コーティング・接着剤が 10~20%、ハードディスク 1~10%、フラットパネルディスプレイ 1~10%、食品容器 1~10%程度である。

ナノ銀の世界における生産量は、350t/年であり、銀の総需要中のわずかである²⁸。粒径数十 μm オーダーを含めた需要でも 2,500t/年程度となっている。ナノ銀は、2010 年の予測で、工業用途が約 99%であり、それ以外の化粧品、容器・包装に使用される割合は 0.3%程度である。

世界の銀の需要約 15 万 t のうち抗菌用途は 0.5% (約 750 t) であり、繊維用は 0.1%である²⁹。

1.1 項で使用目的を調査した結果、食品と接触する容器・包装、器具では、銀の抗菌作用を期待

している。しかし、銀に関する情報は、ナノ銀、銀コロイド、銀イオンと多様であり、実際どのくらいナノ銀が使用されているかは不明であった。

抗菌化製品は多く、2004 年度に経済産業省調査による抗菌化製品の割合は、金額ベースで、ラップフィルムが 0.9%、保存用密閉容器が 12.8%、ふきん 24.8%、ボウル 27.1%、包丁 29.2%、プラスチック製まな板 40.6%である³⁰。

米国 EPA に登録されている銀を含む抗菌製品を The National Pesticide Information Retrieval System (NPIRS) で調査した報告では「ナノ粒子を含む・恐らくナノ粒子を含むと思われるもの」が、53% (49 件) ある³¹。年代別にナノ銀 (コロイドおよびナノ粒子) を含むと思われる登録件数を表 3 に示す。最初の登録は 1954 年で、ナノ銀をベースとしたプールの殺菌剤である。1970 年に米国 EPA が成立してから 1993 年までは、登録された銀抗菌製品は、すべてがナノ銀を含むものである。

3 ナノ銀の製品例

銀を使用している抗菌剤は、銀イオンが放出できるように、セラミックやゼオライト、ガラスマトリックスに銀化合物や金属銀を担持させたものが用いられている。これらの抗菌剤をプラスチックや繊維に添加し、抗菌性製品として販売されている。これらは EU では食品容器としては食品に対して $\leq 0.05\text{mg/kg}$ と規制されている³²。

各製品のカタログなどで調査したところ、担体の粒径は、ガラスでは 1~10 μm 、添着活性炭は 150~300 μm および無機担体では 0.4~0.9 μm 程度である。

米国で抗菌目的のスプレー (デオドラントスプレー、表面消毒用スプレー、喉用消毒スプレー) を分析している³³。エアロゾルの平均粒径は、それぞれ $78.4 \pm 1.1\text{nm}$ 、 $85.0 \pm 1.1\text{nm}$ 、 $83.0 \pm 0.2\text{nm}$ であり、スプレー製品の銀の液中濃度は、12.5 \pm 1.8ppm、27.5 \pm 0.4ppm、23.7 \pm 1.2ppm であった。スプレーの際、1 回のスプレーの銀の量は、12.0 \pm 2.7ng、0.24 \pm 0.12ng、55.6 \pm 8.2ng であり、粒径

1 μm 以下の量と割合の概算を表 に示す。

抗菌目的に銀を添加しているポリプロピレンを SEM（走査型電子顕微鏡: Scanning Electron Microscope）および XPS（X 線光電子分光: X-ray Photoelectron Spectroscopy）で分析した結果、Ag は検出されず、恐らく検出限界 0.85g/kg 以下の微量添加と考えられる³⁴。

米国 Woodrow Wilson Center で収集しているナノマテリアル製品 DB³⁵で、食品および器具・容器包装用にナノ銀（コロイド銀を含む）使用で登録されているものは、41 件ヒットする。この中には、サプリメントが 14 件含まれている。サプリメントが訴求している効果は、「免疫サポート」「バクテリア、ウイルス、真菌などの病原微生物殺菌」「風邪やインフルエンザなどからの感染予防、罹患後は殺菌効果が期待」などである。これらナノ銀及び銀コロイドは、インターネット販売で日本語のサイトからも購入可能である。

4 ナノ銀の効果及び曝露

抗菌目的で樹脂に銀を入れた容器からのナノ銀および銀イオンの溶出試験を実施した結果がある。市販品の「ナノ銀」「マイクロ銀」の表示があるプラスチック製食品容器に模擬食品（水、10%エタノール、3%酢酸及びオリーブ油）で調べた³⁶。銀溶出量は、最大で酸性食品の 20℃・20 日で 30 ng/cm²であった。2 回目、3 回目では移行量に 10 単位の減少があり、3 回目での総量は 34 ng/cm²になった。放出された銀の形態はイオンとナノ粒子であった。

LDPE（低密度ポリエチレン）に TiO₂ 95%、ナノ銀 5%（粒径約 10nm）の粉末を 5% 添加し、オレンジジュースを 5℃ 保存し抗菌性を調べた研究では、銀イオンの溶出量は 28 日保存で 0.1±0.003 μg/L、56 日で 0.11±0.005 μg/L、84 日で 0.13±0.005 μg/L、112 日で 0.15±0.002 μg/L であった³⁷。

抗菌ポリエチレンで骨なしトリ胸肉を包装し、ナノ銀およびナノ銅の移行量を調査した³⁸。保存期間 1.1 日、3.1 日で、それぞれを 8.13℃、21.8℃ 保存し測定した結果、移行量は 0.003～0.005

mg/dm² で、保存期間及び温度に有意差は無かった。アイルランドの食事量からナノ銀の 1 日摂取量をシミュレーションすると 5.89 × 10⁻⁵～8.9 × 10⁻⁵ mg/kg bw/日となった。

<二酸化チタン>

1 二酸化チタンの使用目的

日本特許を調査した結果、期待される機能は、光触媒、抗菌、酸素遮蔽、光（紫外線・赤外線）遮蔽、着色などである。これらの機能を用いて、脱臭、食品保存性向上、耐光性向上、着色目的で、容器包装や食品に使用されている。（別表 2 参照）

メーカーへのヒアリングによると、二酸化チタンは顔料のため、水溶性が要求される食品には使用しにくい。更に、日本では合成色素が嫌われるため、食品添加物（色素）としての販売量は少ない。

食品用の色素としての用途は、チョコレート上の白い文字や飾り、ホワイトチョコレート、錠剤、タブレット及びカプセルである。ペットフードへの使用もある。その他、歯磨き粉にも使用されている。

Woodrow Wilson Center で収集しているナノマテリアル製品 DB³⁵によると、使用目的は、着色料および凝固防止剤（固結防止剤）である。

市販されている工業用二酸化チタンは、ルチル型とアナターズ型がある。工業用二酸化チタンの粒径を表 に示す。白色顔料、光触媒はナノオーダーの粒径である。赤外線反射用チタンは、テイカ（株）の試験では、粒径が 250nm、2000nm では赤外線の反射率が悪く、市販品は 1000nm となっている³⁹。

2 二酸化チタンの市場

超微粒子酸化チタンの世界販売量は、ほぼ横ばい・微増が予測されている。主な用途は化粧品であり、食品用微粒子の市場は不明である。

3 二酸化チタンの製品例

酸化チタンは、日本では食品添加物で着色料として許可されており、着色以外の目的の使用は、

許可されていない。主な工業用二酸化チタンメーカーによる食品添加物としての取り扱いの確認できなかった。

海外で、実際に食品用二酸化チタン市販品を調査した結果では、ナノ粒子を多数含むことが報告されている。

EU では、カラー番号 E171 (Titanium dioxide) で食品添加物に登録されている⁴⁰。

EU で市販されている食品用グレードの TiO₂ (E171) の一次粒子を測定した結果、平均粒径 110 nm (粒径分布は 30~400nm, SEM による観察) で、約 36% は少なくとも一次元の大きさが 100 nm 未満 (TEM: 透過型電子顕微鏡、Transmission Electron Microscope による観察) であった⁴¹。

EU では、規制上のナノマテリアルの定義を「一次粒子が、100 nm 以下で、個数濃度閾値を 50%」としている。

アメリカアリゾナ州で購入した食品中の Ti を測定した結果、チューイングガムに一番多く含まれていた。0.45 μm のメンブレンフィルターを通過した Ti の割合は、チューイングガムが 3.9% で 0.45 μm フィルターを通過した割合が高かった⁴¹。

Woodrow Wilson Center で収集しているナノマテリアル製品 DB³⁵ では、二酸化チタンを食品関連用途に使用している製品は、89 製品がヒットした。89 製品はいずれも Weir らの論文⁴¹ によってナノ粒子を含む事が判明した製品であり、DB カテゴリー 5 (Not advertised by manufacturer) である。研究では⁴¹ 着色料として使用されていると予測し、白色の食品中心に分析しているが、Woodrow Wilson Center DB によると、79 製品は、抗凝固剤 (分散剤) として添加され、28 製品は着色料として添加されていた (重複有り)。18 製品が着色料および抗凝固剤の両方の目的で添加されている。

チューイングガムの TiO₂ ナノ粒子の使用状況を分析した例がある⁴²。中国で 6 つの市販品 (国際的な種類の違うブランド) を購入し、表面の砂糖を溶解、ガムベースと沈殿物中の TiO₂ を TEM 観察した。その結果、ガムに使用されていた TiO₂

粒子の大きさは 40~300 nm で、93% 以上が 200 nm 以下のナノ粒子であった。ガムには、2.4~7.5mg の TiO₂ ナノ粒子が含まれていた。実際にガムを噛んで、摂取量を測定した結果、ガム 1 個で、平均 5.1 mg の TiO₂ ナノ粒子を摂取していた。

海外では、Merck より TiO₂ と Fe₂O₃ で雲母 (マイカ) をコートしパール色をもたせた食品用色素 (Candurin) が許可されている⁴³。1 例として Candurin® Red Sparkle の製品の大きさは、10~100 μm である⁴⁴。

4 二酸化チタンの効果、曝露

TiO₂ ナノ粒子をポリエチレンフィルムに塗布し、TiO₂ ナノ粒子を挟んだ複層ポリエチレンフィルムを作成した。そのフィルムで牛乳、チーズ、ヨーグルトなどを 11 日保存し分析した結果、チーズの食感と品質は貯蔵時にそれほど変化しなかったが、TiO₂ ナノ粒子を含まないポリエチレンフィルムを用いた場合の品質劣化は著しかった。フィルムから食品への TiO₂ ナノ粒子の移行は観察されなかった⁴⁵。

<デンマーク環境省の経口曝露に関する情報収集調査報告書>⁴⁶

デンマーク EPA では 2013 年 9 月に、消費者曝露および環境曝露におけるナノマテリアルのリスクを明らかにすることを目的とした“Better control of nano”という先導的プロジェクトの一部として、ナノマテリアルの経口曝露による体内吸収に関する化学文献の収集調査を行った結果を公表した。以下に、その調査で取りあげられた 10 種のナノマテリアルに関する経口曝露吸収に関する結果の概要を示す。腸管吸収を精査するためにデザインされた試験の報告はかなり限られていた。経口曝露によるヒト健康へのリスクを評価するためにはさらなる研究が必要であるとされている。しかし、現時点の評価からは、大量経口曝露の可能性のある物質として銀、二酸化ケイ素、二酸化チタン、酸化亜鉛などについて将来的な調査対象候補物質となり得るとまとめられていた。

<カーボンナノチューブ (CNT) >

用途: CNT は独特の電氣的、機械的および熱的特性を有し、電子機器、コンピューター、航空宇宙、建築などの産業で広く適用できる。CNT は最強の引張強度を有する合成繊維である。CNT を含む高強度の複合材料は宇宙船や宇宙エレベータにも利用可能である (Lam *et al.* 2006)。また、CNT は生物医学的用途のための潜在的なツールとして特に興味深く (Kolosnjajtabi *et al.* 2010)、修飾 CNT は薬物送達システムに役立つ可能性がある (Bianco *et al.* 2005)。

In vivo 試験: Swiss マウスを用いて 3 種類の SWCNT (マイクロメートル単位の長さの原料 SWCNT および精製 SWCNT、長さ 20~80 nm の超短 SWCNT) の単回多用量 (1000 mg/kg) 投与後の肉芽腫形成と毒性を調査した (Kolosnjajtabi *et al.* 2010)。どの SWCNT においても (長さ、表面積、表面相互作用及び鉄含有量に関わらず) 肉芽腫の形成や急性経口毒性は認められなかった。

妊娠 6~19 日の SD ラットに 0、40、200、1000 mg/kg/day の MWCNT (直径 10~15 nm、長さ約 20 μm) を反復経口投与した試験 (Lim *et al.* 2011a, b) において、最高用量で毒性影響が認められたことから、母体毒性と発生毒性の無毒性量は 200 mg/kg/day とされた。

単回または 28 日間、SWCNT または MWCNT を雄雌 Crl:CD (SD) ラットに強制経口投与した試験 (Matsumoto *et al.* 2012) において、急性毒性/反復投与毒性は最高用量 (急性: SWCNT 50 mg/kg、MWCNT 200 mg/kg。反復: SWCNT 12.5 mg/kg/day、MWCNT 50 mg/kg/day) まで認められなかった。

雄 Swiss アルビノマウスに MWCNT (直径 20~30 nm、長さ 5~50 μm) を 0、60 または 100 mg/kg、単回投与した試験 (Awasthi *et al.* 2013) では、投与後 7、14、21 および 28 日に肝臓の SOD、CAT 活性および顕微鏡検査の結果、用量にかかわ

らず明らかな肝毒性は認められなかった。

近交系 Swiss および C57BL/6 の雌マウスに SWCNT または酸官能性 SWCNT を 100 μm /動物、気管内注入、静脈内注射、腹腔内注射あるいは強制経口によって単回投与した試験 (Sachar & Saxena 2011) において、酸官能性 SWCNT の注射 (静脈/腹腔内) 後、赤血球数とヘモグロビン値が一過性の減少が認められたが、強制経口投与後には認められなかった。

In vitro 試験: 濃度 5~1000 $\mu\text{g/ml}$ のカルボン酸官能性 SWCNT (ニッケル 5~10% 含有) に分化または未分化の Caco-2 細胞を 24 時間曝露した試験 (Jos *et al.* 2009) において、曝露 24 時間後に細胞毒性の濃度依存傾向がみられ、100 $\mu\text{g/ml}$ で顕著になった。

雄 Fischer 344 ラットに SWCNT または MWCNT の懸濁液を 0 または 50 mg/kg 単回経口投与して 24 時間後に採取した尿を用いて行った Ames 試験の結果は、代謝活性の有無にかかわらず陰性であった (Szendi & Varga 2008)。

24 時間、濃度 50~150 $\mu\text{g/ml}$ の酸化 SWCNT に培養細胞 (ヒト歯肉線維芽細胞) を曝露した試験において、遺伝毒性影響が報告された (Cicchetti *et al.* 2011)。

SWCNT または酸官能性 SWCNT の、近交系 Swiss または C57BL/6 の雌マウスから単離された赤血球への取り込みが検討され (Sachar & Saxena 2011)、酸官能性 SWCNT に曝露された培養液において赤血球の回復低下が用量及び時間依存的に認められたが、SWCNT 曝露培養液では赤血球の回復に影響は、みられなかった。また、新鮮な赤血球を蛍光標識の付いた酸官能性 SWCNT とともに培養したところ、69% の赤血球が蛍光陽性であり、洗浄後でも 18% が陽性のままであった。

模擬環境での試験: CNT は疎水性有機化合物のキャリアとなることから、模擬胃液および胆汁塩液中における CNT へのフェナントレンの吸着や吸着フェナントレンの生物学的利用能が調査さ

れた (Wang *et al.* 2011)。フェナントレンの吸着は模擬胃液中で抑制され、ペプシンや胆汁塩は CNT からのフェナントレンの脱着を増加させた。

<フラーレン>

用途: フラーレンの用途として、標的薬物送達、分子ボールベアリング、潤滑剤、ポリマーマトリックスの補強材等が提案されている (Vogelsson 2001, Holister *et al.* 2003)。フラーレン C60 は皮膚における酸化ストレスを減少させるために化粧品に使用され、水溶性フラーレン C60 は増白剤として使用することができる。水溶性フラーレン C60 誘導体は、種々の炎症性疾患の治療に有効である可能性がある (Yamashita *et al.* 2013)。

In vivo 試験: Fischer ラットに水溶性フラーレン C60 を経口 (18 kBq) または静脈注射 (9 kBq) により単回投与した試験において、肝臓、脾臓、肺、腎臓、心臓、脳、精巣および血液では投与後 160 時間まで、糞では 2 日間まで、尿では 30 時間まで ¹⁴C 標識を測定した (Yamago *et al.* 1995)。経口投与後 48 時間以内に標識は糞中に排泄され、3 および 6 時間後の肝臓や他の組織の標識は、わずかであった。また、静脈注射後には血中の標識は急速に減少し、様々な組織、特に肝臓に分布し、1 時間後に総標識量の 73%、16 時間後に 92%、30 時間後には 80% が肝臓に存在した。

7 日間、雌 C57BL/6 マウスにポリビニルピロリドンで覆われたフラーレン C60 を 0 または 2,000 mg/kg/day 強制経口投与した反復投与試験において、体重、血液学・血液生化学検査、器官重量および病理組織学的検査に明らかな毒性影響は、認められなかった (Yamashita *et al.* 2013)。

(以下のフラーレンに関する *in vivo* 試験情報はデンマーク環境省の報告書に記載されていないが、本研究にとって比較的重要であると思われるので、研究概要を追加した)

29 日間、雄雌 CrI:CD (SD) ラットにフラーレン C60 を 0、1、10、100 または 1,000 mg/kg/day 強制経口投与した反復投与試験において、一般状態、体重、血液学・血液生化学検査、血中ホルモン濃度、器官重量および病理組織学的検査に明ら

かな毒性影響は認められなかった (Takahashi *et al.* 2012)。

In vitro 試験: 情報なし

<金>

用途: 金 NPs は独特の表面・電子・光学特性に起因する種々の生物医学的用途のために使用されてきた。その物理化学的特性 (表面プラズモン共鳴、蛍光発光、容易な表面機能化) により、金 NPs はバイオセンサー、がん細胞イメージング、光熱療法及び薬物送達に使用されている。また、懸濁液中で比較的高い安定性を示すことから、金 NPs はプロセスを研究するためのモデル NPs として研究用途にも使用される。

In vivo 試験: 7 日間、BALB/c マウスに濃度 0.2 mg/ml の金 NPs を飲水投与し、金属金コロイド粒子の消化管への取り込みおよび組織/臓器分布 (直径 4、10、28 および 58 nm の非抱合金 NPs) を調べた (Hillyer & Albrecht 2001)。金 NPs (直径 4 nm) の濃度は、腎臓、小腸、肺、胃、脾臓、肝臓、心臓、血液及び脳の順に高い。金 NPs の取り込みは、粒子径に依存し、粒子径が小さいもの (4~10 nm) は大きいもの (28~58 nm) より消化管を容易に通過した。小腸絨毛におけるパーソープションにより金 NPs は取り込まれていた。

14 日間、雄 ICR マウスに 137.5~2200 µg/kg/day のクエン酸で安定化した金 NPs (13.5 nm) を強制経口投与した毒性試験 (Zhang *et al.* 2010) において、2200 µg/kg/day を投与したマウスの赤血球と骨髄細胞の TEM 画像から、金 NPs を含む複数の小胞がみられた。多くの金 NPs が細胞膜外で認められ、平均サイズは約 10~15 nm であった。

In vivo 遺伝毒性をスクリーニングする目的で、7 日間、雄ラットに 3 種類の大きさの金粒子、金 NPs : 直径 16 または 55 nm、金ナノシェル : 直径 160 nm (120 nm の二酸化ケイ素のコアおよび 20 nm の金のシェル) を 0.25 mg Au/kg/day 強制経口投与したところ、遺伝毒性は認められなかった (Jumagazieva *et al.* 2011)。また、組織中の

金 NPs の検出は行われなかった。

In vitro 試験： 情報なし

<酸化鉄>

用途：酸化鉄 NPs は磁気共鳴画像のコントラスト強調に用いられ、その他、がん治療のための磁気温熱療法や標的薬物送達の担体に使用される (Singh *et al.* 2013)。

In vivo 試験：ナノサイズ (NPs：平均 29.8 nm) またはマイクロサイズ (バルク：平均 2.2 μm) の酸化鉄 (Fe_2O_3) を超純水に懸濁して雌 Wistar ラットに 0、500、1000 または 2000 mg/kg 単回強制経口投与し、その組織分布および遺伝毒性を調査した (Singh *et al.* 2013)。遺伝毒性試験のために血液と骨髄が採取され、また、組織分布の調査のために、投与 48 時間まで全血、肝臓、腎臓、心臓、脳、脾臓、骨、尿及び糞便のサンプルが採取された。結果として、NPs およびバルクともに遺伝毒性は認められなかった。NPs では、鉄の濃度が脳以外の組織と血液で増加し、その濃度は血液、脾臓、肝臓、腎臓、心臓及び骨髄の順に高く、各組織での NPs からの鉄の取り込みは 0.2~9.4% であった。バルクでは、鉄の濃度は肝臓と脾臓でのみ増加し、各組織のバルクからの鉄の取り込みは 0.01~2.3% であった。したがって、経口投与された酸化鉄 NPs は、酸化鉄バルクよりも消化管から吸収されやすいことが示された。

雄 SD ラットにミルクに懸濁した鉄粉 (金属鉄：サイズ 5-30 nm~6-9 μm) を摂餌投与した試験 (McCullough *et al.* 1995) において、24 時間投与後に採取した十二指腸サンプルから鉄の沈着物が認められ、また、粘膜細胞による鉄摂取レベルの変動に伴う絨毛中の鉄の選択的局在化が明らかになった。十二指腸サンプルの分析により、刷子縁、粘膜細胞の横方向の間隙、粘膜と間質細胞のミトコンドリアクリステと細胞質への金属鉄 NPs の取り込みが明らかになった。

In vitro 試験： 情報なし

<セレン>

用途：ナノサイズのセレン (Se-NPs) は、必須微

量元素セレンの代替源として食品添加物および栄養補助食品に使用されている。急性毒性は、一般的に食品添加物および栄養補助食品に使用される亜セレン酸ナトリウムに比較し低毒性である。

In vivo 試験： 情報なし

In vitro 試験：抗酸化酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼを含む亜セレン酸ナトリウム、Se-NP およびセレノメチオニンからの Caco-2 細胞 (ヒト結腸癌由来の細胞株) へのセレン (Se) の取り込みを調べた (Wang & Fu 2012)。赤色の元素 Se-NPs のサイズは、動的光散乱法によって測定した結果 60~80 nm (平均 69 nm) であった。Caco-2 細胞単層を横切る Se (all at 0.1 $\mu\text{mol/L}$) の三つの異なる形態の輸送および取り込みを 2 時間測定し取り込み効率を算出した。最も高い取り込み効率は、Se-NPs を処理した細胞で観察された。全試料中の Se 濃度は原子吸光分析によって測定した。酸中の試料の溶解に続いて試料中の損傷の無い Se-NPs からの情報は得られなかった。以上の結果、以下のように要約される。この試験では、SE-NPs から Se への輸送および取り込みは、時間の依存性が認められ、Caco-2 細胞単層を横切る上皮輸送は、主に受動輸送経路を介して起こっていた。更に、この結果から、Se-NPs が可能生物活性酵素への取り込みを行うために、溶存種として存在することが示された。Se-NPs を用いて Se の膜通過を検討した結果、他の 2 つの試験した分子の Se 種より優れていた。

<二酸化ケイ素>

用途：二酸化ケイ素ナノ粒子 ($\text{SiO}_2\text{-NP}$) は、二つの主要な種類に分けることができる。それは、結晶性および非結晶性の $\text{SiO}_2\text{-NPs}$ である。結晶性の $\text{SiO}_2\text{-NP}$ は、石英、クリストバル石および鱗ケイ石などのいくつかの異なる物質で存在する。非結晶性の $\text{SiO}_2\text{-NPs}$ は、メソ多孔性と非結晶質性 $\text{SiO}_2\text{-NP}$ である。 $\text{SiO}_2\text{-NP}$ は、例えば、セメントの成分、塗料、固体潤滑剤、シャンプー、

化粧品及びフェイシャルクリームのような多数の用途に使用される。さらに潜在的な応用は、硬化剤、バイオ電気化学用、石油の回収および他の粒子の製剤に用いられる (Mikkelsen *et al.* 2011)。

合成アモルファスの SiO₂-NP (SAS) は、粉末製品の流動特性を維持し、ペーストを厚くする固化防止剤として、またビールやワインの透明化剤のような食品用途に長年使用されてきた。アモルファスの SiO₂-NP の従来の形態は、食品添加物 E551 として知られている。原則的に合成アモルファスの SiO₂-NP は、結晶の SiO₂-NP を含んでいない。合成アモルファスの SiO₂-NP を食品に適用して許可されているが、ナノメートルサイズを中心とした SiO₂-NP の試験はおそらく実施されていない。本剤が 50~200 nm の範囲にあることは、いくつかの食品中の SiO₂-NP の粒度を測定して判明し、処理された食品 (クリーム入りコーヒー) 中の粒度は 30~120 nm であったと報告している (Dekkers *et al.* 2011)。

In vivo 試験: Balb/c マウスを用いた混餌による 10 週間の反復投与毒性試験において、1 群雌雄 5 匹を用いて、対照群、ナノ化 SiO₂-NP (30~90 nm) およびミクロ化 SiO₂ (0.5~30 μm) を飼料中に 1% 添加した試験を実施した。ケイ素は肺と肝臓で測定された。飼料中と臓器中濃度に特性の評価ができた。特に SiO₂-NP は、ミクロ化 SiO₂ および対照群に比較して ALT の増加が C57BL/6 マウスだけでなく Balb/c マウスでも認められた (So *et al.* 2008)。

In vitro 試験: これらの知見は、E 551 を含有する食品を摂取すると、SiO₂-NP は、腸の上皮に多く曝露する可能性があることを示唆している。単体の SiO₂-NP は、集合体 (凝集) 粒子に比較してより簡単にヒトの腸から吸収される可能性がある (Dekkers *et al.* 2012)。

<銀>

用途: 歴史的に、銀塩はその静菌効果を利用して医薬品に使用されている。本剤は、軟膏として皮

膚へまた溶液として経口的に投与する。今日では、銀の NP (Ag-NPs) は、単品では最も広範に使用されている。2000 年代後半に使用が急速に増加している。同様に Ag-NPs を利用して衣類、家庭用浄水器および水筒の静菌に応用されている。

In vivo 試験: ラットへ Ag-NPs を 28 日間反復投与経口投与し銀の吸収性を検討した。銀の臓器分布は Ag-NPs と酢酸銀 (AgAc) で類似していた。しかし、臓器の絶対的な銀濃度は AgAc に比較して Ag-NPs が低濃度であった。これらの分布吸収試験は、Ag-NPs の投与後の糞便中の高濃度銀と一致する。Ag-NPs が胃腸系で溶解するか、または臓器や組織に投与した元の NPs が吸収および移行するかなどの更なる試験が必要である (Loeschner *et al.* 2011)。

70 nm の Ag-NPs を生食にて懸濁しラットへ 0、0.25、0.5、1 または 2 mg/kg/day の用量で 30 日間反復投与毒性試験を行った (Sardari *et al.* 2012)。解剖および病理組織学的の結果、腎、肝および脾臓に変化が認められた。銀の分布から Ag-NPs または硝酸銀投与による標的臓器は、肝および脾臓でそれに加えて精巣、腎、脳および肺にも影響が認められた。可溶性の銀のみを考慮に入れると Ag < 20 nm と硝酸銀の比率はむしろ同程度であった。銀は、イオンの形で吸収され、Ag-NPs 投与後は微粒子ではない (Loeschner *et al.* 2011)。

Kim ら (2009) の実験結果では、ラットに経口投与した Ag と Ag-NPs は銀が吸収されたことを間接的に証明したが、銀の血液循環と腸壁通過との関係は議論されていない。

Kim ら (2010) では、71 nm~22 nm の Ag-NPs は容易に消化管から吸収され、臓器に蓄積され悪影響を及ぼすと結論していた。しかし、この研究は、銀が血液循環に入るための腸壁通過について議論されていない。

雄 Swiss white マウスに 3~20 nm の Ag-NPs を 0、5、10、15 または 20 mg/kg/day を 21 日間反復投与した結果、光学および電顕所見から

Ag-NPs は小腸の上皮細胞ならびに微絨毛に損傷を与えた (Shahare *et al.* 2013)。Ag-NPs からの銀は、実験動物の消化管から吸収されることを証明している。複数の研究から、銀は強制経口投与によって血液中に移行し、さらに臓器・器官に分布し、糞便を介して排泄される。血液中のレベルと臓器中濃度は、用量依存性がある。Ag-NPs は、粒度によって影響が異なる。つまり直径 100 nm より小さいと吸収され、大きな粒子は吸収されないように見える。

In vitro 試験：この試験は、細胞膜を通過する転位の銀は、Ag+イオンであり Ag-NPs ではない (Bouwmeester *et al.* 2011)。

他の報告では、十分にヒト肝や腸細胞における Ag-NPs の潜在的な吸収を判断するには不十分である (Gaiser *et al.* 2009)。

模擬環境での試験：消化モデル試験の結果から、経口的に 60 nm の Ag-NPs を摂取すると生理学的に関連する条件 (すなわちタンパク質の存在下) の下で消化され、最終的にはその大きさと粒子の分散によって腸壁に到達することができる。したがって、この異なる化学組成の Ag-NPs と Ag+イオンの二者の摂取は、最終的に腸へ NPs として曝露される (Walczak *et al.* 2012)。同様の試験では、摂取した Ag-NPs は、凝集および化学的に修飾された種々の粒子に変換することができる (Roger *et al.* 2012)。

<二酸化チタン>

用途：二酸化チタン (TiO₂) は顔料に使用し、バルク形態で流通している高生産量物質である。主な用途は、塗料、紙、プラスチック、保護剤、セラミックス、インク、医薬品、化粧品、練り歯磨きおよび食品で最も世界的に使用されている白色顔料である。この中にナノサイズがあるが現時点では、EU や世界的に流通していない。この理由は、ナノ材料の在庫がないことによる。しかし、幾つかの製品中で日焼け止め剤は、ナノ粒子の TiO₂ の生産量割合は、数パーセントである

(Hansen *et al.* 2008)。食品添加物 E171 の TiO₂ は、TiO₂-NP の画分を含み、菓子、ホワイトソース、ドレッシング、粉末食品、美白および食品の増白に使用される。英国では、TiO₂ (非ナノ+ナノ) の食事摂取量は 1 日一人あたり 5 mg (Powell *et al.* 2010) と推定できる。特に、光触媒酸化 TiO₂-NPs の用途が増加すると、使用量がかなり増加する。また、TiO₂ を高含量する食品は、ガムでそれは子供に TiO₂ の最も高い曝露が推定され、菓子の摂取に留意する (Wang *et al.* 2012)。TiO₂ の結晶構造の違いによって TiO₂ のルチル型およびアナターゼ型に分類できる。この二つの生産と消費量の資料が最も重要である。両結晶構造は着色剤として承認されている。

In vivo 試験：アナターゼ型 TiO₂-NPs (75 nm) を雄 SD ラットに 0、10、50 または 200 mg/kg/day 投与し胃腸への吸収を検討するため 30 日間の反復投与試験をした。200 mg/kg/day の吸収は低くかった。一般的に消化管で大きい粒子の NPs は、凝集によって吸収が少ないと推測されている。この試験の最高用量は、ヒトに対する安全量 (0.1 mg/kg/day) の 2000 倍であった (Wang *et al.* 2012)。

次の報告は、生理的条件に近い状態で試験した。TiO₂-NPs は、マイクロサイズの粒子に比較して容易に吸収され、結晶の粒度に依存し吸収性は、ルチル型が最も高かった。しかし、チタンは、ヒトが摂取している 1000 倍の投与量で肝臓に検出した (Onishchenko *et al.* 2012)。

高濃度 (5 g/kg) TiO₂-NPs の経口投与後の臓器蓄積性を検討した試験において、曝露 2 週間後の肝臓で観察された粒子の量は、サイズ依存性であるかどうかは明確ではなかった。80 nm では高濃度が検出されたが 25 nm と 155nm では、対照群と有意な差が無かった。腎臓への蓄積は、25 と 80 nm の粒子が 155 nm の細粒の TiO₂ に比較して高い (Wang *et al.* 2007)。

TiO₂ の微粒子ルチル型は、吸収され多くの臓器に分布する。しかし、投与した TiO₂ の粒子サ

イズがナノサイズの範囲外であった (Jani *et al.* 1994)。

In vitro 試験 : TiO₂-NPs (< 40 nm) を低用量の 10 µg/ml を投与することによって胃腸管の上皮層 (Caco-2) を通過することが認められた (Koeneman *et al.* 2010)。

(以下の酸化チタンに関する *in vivo* 試験情報はデンマーク環境省の報告書に記載されていないが、本研究にとって比較的重要であると思われるので、研究概要を追加した)

反復経口投与試験が Hong らのグループによりいくつか行われている。各試験には約 6 nm の二酸化チタンが用いられた。30日間、雌マウスに0、62.5、125、250 mg/kg/day を投与し、肝臓・腎臓・脾臓・胸腺について調査したところ、125 mg/kg/day 以上で体重の低値とともに各臓器の相対重量の高値、肝臓への影響が認められ、肝臓に病理所見がみられた (Duan *et al.* 2010)。60日間、雌マウスに0、5、10、50 mg/kg/day を投与し、肝臓の病理組織学的検査および微細構造について調査したところ、10 mg/kg/day 以上で構造に変化がみられた (Cui *et al.* 2010)。30日間、雌マウスに0、5、50、150 mg/kg/day を投与し、脾臓について調査したところ、50 mg/kg/day 以上で肝臓に病理所見がみられた (Wang 2011)。60日間、雌マウスに0、5、10、50 mg/kg/day を投与し、海馬ニューロンの微細構造について調査したところ、10 mg/kg/day 以上で構造に変化がみられた (Hu *et al.* 2011)。60日間、雌マウスに0、5、10、50 mg/kg/day を投与し、肝臓について調査したところ、5 mg/kg/day 以上で構造変化、10 mg/kg/day 以上で病理所見、肝臓への影響がみられた (Cui *et al.* 2011)。90日間、雌マウスに0、2.5、5、10 mg/kg/day を投与し、腎臓について調査したところ、2.5 mg/kg/day 以上で重量の高値、腎臓への影響、病理所見が認められた (Gui *et al.* 2011)。90日間、雌マウスに0、2.5、5、10 mg/kg/day を投与し、脾臓について調査したとこ

ろ、2.5 mg/kg/day 以上で重量の高値、血液学的項目への影響、病理所見が認められた (Sang *et al.* 2012)。90日間、雌マウスに0、10 mg/kg/day を投与し、肝臓について調査したところ、10 mg/kg/day で血液学的項目や肝臓への影響、病理所見が認められた (Cui *et al.* 2012)。90日間、雄マウスに0、2.5、5、10 mg/kg/day を投与し、腎臓について調査したところ、2.5 mg/kg/day 以上で重量の高値、病理所見が認められた (Gui *et al.* 2013)。

<酸化亜鉛>

用途 : 酸化亜鉛は、一般的に使用される金属酸化物で、伝統的に、塗料、医薬品およびセラミックスに使用されてきた。近年、開発された酸化亜鉛のナノ粒子 (ZnO-NPs) は、日焼け止用化粧品、歯科材料および皮膚への軟膏で使用されてきた。ZnO-NPs は、粒度に依存する抗菌活性を有す (Li *et al.* 2008)。その良好な吸収と光触媒特性のため ZnO-NPs は、水や空気中の汚染物質の除去または分解能力があり環境修復に使用することができる (Wang *et al.* 2008)。

In vivo 試験 : ZnO-NP の薬物動態試験の結果、20および70 nm の二種のコーティング ZnO-NPs (50、300 または 2000 mg/kg) を雌雄のラットに単回強制経口投与した。投与後 0、0.5、1、2、4、6、10、24、48、72 および 96 時間に採血し、加えて投与後 1 および 2 時間後と 1、2、3 および 7 日後に脳、心、腎、肺および精巣/卵巣内の ZnO を測定した。その結果、血漿亜鉛濃度は両サイズの ZnO-NPs とも投与後 24 時間に増加した。粒子のサイズおよび性差はなかった。推定吸収率は、用量依存性が認められた。即ち、低用量が 5~17% および高用量が 28~33% を示した。吸収は小さい粒子が大きい粒子に比較して高かった。組織中の TEM 画像および XAS 試験の結果、ZnO-NPs は臓器に亜鉛の粒子ではなくイオンの形で分布しているように観察できた。7 日後、摂取した Zn の 0.1% 未満を分析臓器中に検出した。微量の

ZnO-NPs を経口投与した結果、異なる臓器にイオンとして分布した。亜鉛は、肝、肺および腎臓に分布し、大量投与の場合、糞中に7日以内に排泄される。また ZnO-NPs は、蓄積しないことを示した。微細な ZnO-NPs は、大きい粒子のものより若干高く亜鉛として取り込まれる (Baek *et al.* 2012)。

標的臓器に対する ZnO の分布と毒性は、ZnO-NPs の粒度に依存し、また ZnO-NPs は、大きいサイズより効率よく吸収される。分布は、肝、脾および腎臓に認められた。この試験の投与量は非現実的で非常に高用量 (2.5 g/kg) であった。組織および血中の NPs の存在を特徴づけるデータとしては不十分である (Li *et al.* 2012)。

20 と 120 nm の ZnO を 5 g/kg でマウスに経口投与した実験では、投与2週間後の標的器官の肝、心、脾、膵および骨において ZnO が分布していた (Wang *et al.* 2008)。しかし、この試験から ZnO-NPs がイオンかまたは粒子かどちらが吸収されたか結論できない。

蛍光標識した ZnO-NP による経口曝露後の NPs のリアルタイム光学イメージング解析では、吸収後の移動 (血中への移行と消失、主な分布先として腎臓と肝臓あること) を追跡できたが、吸収量および吸収の形態は測定できてない (Lee *et al.* 2012a)。

PET (ポジトロン断層法) によるイメージング検査は、経口投与後生体組織に吸収された ¹⁸F でラベルした ZnO-NPs の挙動を追跡し評価ができる可能性を持つ手法である。しかし、吸収量および吸収の形態は測定できない (Lee *et al.* 2012b)。

In vitro 試験: 情報なし。

D. 考察

食品に関連するナノ銀は、抗菌目的の使用が確認できた。容器・包装用、浄水用途で銀の使用は多いと思われるが、銀の総使用量は不明である。特に、容器・包装用途は、相当量が使用されると思われる。一方、サプリメントとして銀コロイドを直接摂取する製

品もインターネット販売されていた。

銀の形態は、ナノ銀 (金属)、銀イオン及び銀コロイドと多様であった。抗菌剤として使用されているものは、多くは Ag₂O、AgCl、AgNO₃ などを使用し、銀イオンを溶出させて抗菌効果を求めている。

二酸化チタンは、容器・包装に遮光性や抗菌性を付与する目的の使用が確認できた。食品添加物用の二酸化チタンナノ粒子製品は見つけられなかったが、研究論文から、一般の食品添加物の中にナノ粒子が含まれている事がわかった。

銀および二酸化チタンともに、一般工業用と比較して食品関連の使用総量は非常に少ないことがわかった。しかし、両方の物質ともに、容器・包装など幅広く使われる製品に含まれており、さらに二酸化チタンの期待される効果は、抗菌、紫外線遮蔽、ガスバリア及び着色と多様であった。

二酸化チタンの一般消費者向けの製品はインターネットでも見つからなかったが、銀はサプリメントをはじめとして、各種用途の抗菌剤が一般消費者向けに販売されていた。

ナノ粒子のみならず、バルクとしての食品用途の数量も把握できない状況であったが、曝露されている人数は意外に多いと思われた。使用されている可能性のある製品群を把握することが必要であると考えられる。

<経口吸収に関する知見の引用文献>

- Awasthi KK, John PJ, Awasthi A, Awasthi K. 2013. Multi walled carbon nano tubes induced hepatotoxicity in Swiss albino mice. *Micron* 44:359-364.
- Baek M, Chung HE, Yu J, Lee JA, Kim TH, Oh JM, Lee WJ, Paek SM, Lee JK, Jeong J, Choy JH, Choi SJ. 2012. Pharmacokinetics, tissue distribution, and excretion of zinc oxide nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 7:3081-3097.
- Bianco A, Kostarelos K, Prato M. 2005. Applications of carbon nanotubes in drug delivery. *Current opinion in Chemical Biology* 9:674-679.
- Bouwmeester H, Poortman J, Peters RJ, Wijma E, Kramer E, Makama S, Puspitaninganindita K, Marvin HJP, Peijnenburg AACM, Hendriksen PJM. 2011. Characterization of Translocation of Silver Nanoparticles and Effects on

- Whole-Genome Gene Expression Using an In Vitro Intestinal Epithelium Coculture Model. *ACS Nano* 5:4091-4103.
- Cicchetti R, Divizia M, Valentini F, Argentin G. 2011. Effects of single-wall carbon nanotubes in human cells of the oral cavity: Geno-cytotoxic risk. *Toxicol in Vitro* 25:1811-1819.
- Dekkers S, Krystek P, Peters RJB, Lankveld DPK, Bokkers BGH, van Hoeven-Arentzen PH, Bouwmeester H, Oomen AG. 2011. Presence and risks of nanosilica in food products. *Nanotoxicology* 5(3):393-405.
- Dekkers S, Bouwmeester H, Bos PMJ, Rietveld AG, Oomen AG. 2012. Knowledge gaps in risk assessment of nanosilica in food: evaluation of the dissolution and toxicity of different forms of silica. *Nanotoxicology* Early online, 1-11.
- Gaiser BK, Fernandes TF, Jepson M, Lead JR, Tyler CR, Stone V. 2009. Assessing exposure, uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles from contaminated environments. *Environ Health (London, U K)* 8:No.
- Hansen SF, Michelson ES, Kamper A, Borling P, Stuer-Lauridsen F, Baun A. 2008. Categorization framework to aid exposure assessment of nanomaterials in consumer products. *Ecotoxicology* 17(5):438-477.
- Hillyer JF, Albrecht RM. 2001. Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *J Pharm Sci* 90:1927-1936.
- Holister P, Vas CR, Harper T. 2003. Fullerenes. *Technology White papers nr 7. Cientifica* 2-12.
- Jani PU, McCarthy DE, Florence AT. 1994. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *Int J Pharm* 105:157-168.
- Jos A, Pichardo S, Puerto M, Sanchez E, Grilo A, Camean AM. 2009. Cytotoxicity of carboxylic acid functionalized single wall carbon nanotubes on the human intestinal cell line Caco-2. *Toxicol in Vitro* 23:1491-1496.
- Jumagazieva DS, Maslyakova GN, Suleymanova LV, Bucharskaya AB, Firsova SS, Khlebtsov BN, Terentyuk GS, Kong SM, Khlebtsov NG. 2011. Mutagenic effect of gold nanoparticles in the micronucleus assay. *Bull Exp Biol Med* 151:731-733.
- Kim WY, Kim J, Park JD, Ryu HY, Yu IJ. 2009. Histological study of gender differences in accumulation of silver nanoparticles in kidneys of Fischer 344 rats. *J Toxicol Environ Health, Part A* 72:1279-1284.
- Kim YS, Song MY, Park JD, Song KS, Ryu HR, Chung YH, Chang HK, Lee JH, Oh KH, Kelman BJ, Hwang IK, Yu IJ. 2010. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol* 7:No.
- Koeneman BA, Zhang Y, Westerhoff P, Chen Y, Crittenden JC, Capco DG. 2010. Toxicity and cellular responses of intestinal cells exposed to titanium dioxide. *Cell Biol Toxicol* 26:225-238.
- Kolosnjajtabi J, Hartman KB, Boudjemaa S, Ananta JS, Morgant G, Szwarc H, Wilson LJ, Moussa F. 2010. In vivo behavior of large doses of ultrashort and full-length single-walled carbon nanotubes after oral and intraperitoneal administration to Swiss mice. *ASCNANO* 4(3):1481-1492.
- Lam C-W, James JT, McCluskey R, Arepalli S, Hunter RL. 2006. A Review of Carbon Nanotube Toxicity and Assessment of Potential Occupational and Environmental Health Risks. *Critical Reviews in Toxicology*, 36:189-217.
- Lee CM, Jeong HJ, Kim DW, Sohn MH, Lim ST. 2012a. The effect of fluorination of zinc oxide nanoparticles on evaluation of their biodistribution after oral administration. *Nanotechnology* 23:205102.
- Lee CM, Jeong HJ, Yun KN, Kim DW, Sohn MH, Lee JK, Jeong J, Lim ST. 2012b. Optical imaging to trace near infrared fluorescent zinc oxide nanoparticles following oral exposure. *Int J Nanomed* 7:3203-3209.
- Li CH, Shen CC, Cheng YW, Huang SH, Wu CC, Kao CC, Liao JW, Kang JJ. 2012. Organ biodistribution, clearance, and genotoxicity of orally administered zinc oxide nanoparticles in mice. *Nanotoxicology* 6:746-756.
- Li Q, Mahendra S, Lyon DY, Brunet L, Liga MV, Li D, Alvarez PJJ. 2008. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Research* 42:4591-4602.
- Lim JH, Kim SH, Lee IC, Moon C, Kim SH, Shin DH, Kim HC, Kim JC. 2011a. Evaluation of Maternal Toxicity in Rats Exposed to Multi-Wall Carbon Nanotubes during Pregnancy. *Environ Health Toxicol* 26:e2011006.
- Lim JH, Kim SH, Shin IS, Park NH, Moon C, Kang SS, Kim SH, Park SC, Kim JC. 2011b. Maternal exposure to multi-wall carbon nanotubes does not induce embryo-fetal developmental toxicity in rats. *Birth Defects Res, Part B* 92:69-76.
- Loeschner K, Hadrup N, Qvortrup K, Larsen A, Gao X, Vogel U, Mortensen A, Lam HR, Larsen EH. 2011. Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Part Fibre Toxicol* 8:18.
- Matsumoto M, Serizawa H, Sunaga M, Kato H, Takahashi M, Hirata-Koizumi M, Ono A, Kamata E, Hirose A. 2012. No toxicological

- effects on acute and repeated oral gavage doses of single-wall or multi-wall carbon nanotube in rats. *J Toxicol Sci* 37:463-474.
- McCullough JS, Hodges GM, Dickson GR, Yarwood A, Carr KE. 1995. A morphological and microanalytical investigation into the uptake of particulate iron across the gastrointestinal tract of rats. *J Submicrosc Cytol Pathol* 27:119-124.
- Mikkelsen SH, Hansen E, Christensen TB, Baun A, Hansen SF, Binderup M-L. 2011. Survey on basic knowledge about exposure and potential environmental and health risks for selected nanomaterials. MST. Environmental Project No. 1370 2011.
- Onishchenko GE, Erokhina MV, Abramchuk SS, Shaitan KV, Raspopov RV, Smirnova VV, Vasilevskaya LS, Gmoshinski IV, Kirpichnikov MP, Tutelyan VA. 2012. Effects of titanium dioxide nanoparticles on small intestinal mucosa in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 154(2): 265-270.
- Park EJ, Park YK, Park K. 2009. Acute toxicity and tissue distribution of cerium oxide nanoparticles by a single oral administration in rats. *Toxicol Res (Seoul, Repub Korea)* 25:79-84.
- Powell JJ, Faria N, Thomas-McKay E, Pele LC. 2010. Origin and fate of dietary nanoparticles and microparticles in the gastrointestinal tract. *J Autoimmun* 34(3):J226-33. Epub 2010 Jan 21.
- Roger KR, Bradham K, Tolaymat T, Thomas DJ, Hartmann T, Ma L, Williams A. 2012. Alterations in physical state of silver nanoparticles exposed to synthetic human stomach fluid. *Sci Total Environ* 420:334-339.
- Sachar S, Saxena RK. 2011. Cytotoxic effect of poly-dispersed Single walled Carbon Nanotubes on erythrocytes in vitro and in vivo. *PLoS One* 6:e22032.
- Shahare B, Yashpal M, Singh G. 2013. Toxic effects of repeated oral exposure of silver nanoparticles on small intestine mucosa of mice. *Toxicol Mech Methods* 23(3):161-167.
- Sardari RRR, Zarchi SR, Talebi A, Nasri S, Imani S, Khoradmehr A, Sheshde SAR. 2012. Toxicological effects of silver nanoparticles in rats. *Afr J Microbiol Res* 6:5587-5593.
- Singh SP, Rahman MF, Murty USN, Mahboob M, Grover P. 2013. Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment. *Toxicol Appl Pharmacol* 266:56-66.
- So SJ, Jang IS, Han CS. 2008. Effect of Micro/Nano Silica Particle Feeding for Mice. *J Nanosci nanotech* 8:5367-5371.
- Szendi K, Varga C. 2008. Lack of genotoxicity of carbon nanotubes in a pilot study. *Anticancer Res* 28:349-352.
- Takahashi M, Kato H, Doi Y, Hagiwara A, Hirata-Koizumi M, Ono A, Kubota R, Nishimura T, Hirose A. 2012. Sub-acute oral toxicity study with fullerene C60 in rats. *J Toxicol Sci*, 37:353-361.
- Vogelsson CT. 2001. Advances in drug delivery systems. *Drug Delivery Discovery* 4:49-50, 52.
- Walczak AP, Fokkink R, Peters R, Tromp P, Herrera RZ, Rietjens IMCM, Hendriksen PJM, Bouwmeester H. 2012. Behaviour of silver nanoparticles and silver ions in an in vitro human gastrointestinal digestion model. *Nanotoxicology Early Online*, 1-13.
- Wang B, Feng W, Wang M, Wang T, Gu Y, Zhu M, Ouyang H, Shi J, Zhang F, Zhao Y, Chai Z, Wang H, Wang J. 2008. Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *J Nanopart Res* 10:263-276.
- Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T, Ma Y, Jia G, Gao Y, Li B, Sun J, Li Y, Jiao F, Zhao Y, Chai Z. 2007. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol Lett* 168:176-185.
- Wang Y, Fu L. 2012. Forms of Selenium Affect its Transport, Uptake and Glutathione Peroxidase Activity in the Caco-2 Cell Model. *Biol Trace Elem Res* 149:110-116.
- Wang Y, Chen Z, Ba T, Pu J, Chen T, Song Y, Gu Y, Qian Q, Xu Y, Xiang K, Wang H, Jia G. 2012. Susceptibility of Young and Adult Rats to the Oral Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles. *SmallAhead* 2013 May 27;9(9-10):1742-52.
- Yamago S, Tokuyama H, nakamura E, Kikuchi K, Kananishi S, Sueki K, Nakahara H, Enomoto S, Ambe F. 1995. In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: ¹⁴C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. *Chem Biol* 2:385-389.
- Yamashita K, Yoshioka Y, Pan H, Taira M, Ogura T, Nagano T, Aoyama M, Nagano K, Abe Y, Kamada H, Tsunoda SI, Aoshima H, Nabeshi H, Yoshikawa T, Tsutsumi Y. 2013. Biochemical and hematologic effects of polyvinylpyrrolidone-wrapped fullerene C60 after oral administration. *Pharmazie* 68:54-57.
- Zhang XD, Wu HY, Wu D, Wang YY, Chang JH, Zhai ZB, Meng AM, Liu PX, Zhang LA, Fan FY. 2010. Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *Int J Nanomed* 5:771-781.

E. 結論