

研究課題名: ナノマテリアルの経口曝露による免疫毒性に対する影響

分担研究課題名: 曝露評価(食品等を含む)に関する国際動向調査

研究分担者: 広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 部長  
研究協力者: 山田 隆志 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第四室長  
研究協力者: 高橋 美加 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第一室研究員

### 研究要旨

本研究では、ナノマテリアルの食品関連分野を中心とした曝露状況やリスク評価に関する国際動向を調査すること目的としている。28年度は、27年度に引き続き、欧州食品安全機関(EFSA)が主催している食品及び飼料分野におけるナノテクノロジーのリスク評価に関する科学ネットワーク2016に関する調査を行った。また、2016年に公表された二酸化チタン(E171)の再評価に関する科学的意見と食品中のマイクロプラスチックおよびナノプラスチックに関するステートメント、および第6回食品容器に関する国際シンポジウムにおける、ナノマテリアルの器具・容器包装に関しての最新開発研究状況や溶出試験の問題点等について情報収集を行った。EFSAでは、ナノマテリアルを含む可能性のある既存添加物の再評価を行っているが、今回科学的意見の公表された酸化チタン(食品添加物E171)については、EUの基準ではナノマテリアルとは定義されないもの、ナノサイズ(<100nm)分画を質量で3.2%未満含む。再評価の結果は、生殖毒性評価の情報が欠落しているためADIは設定しなかったが、慢性影響試験の結果からは、現状の暴露調査による暴露量とは、十分なマージンがあると結論付けていた。マイクロプラスチックやナノプラスチックの特にシーフードに焦点を当てた食物連鎖を通じた健康懸念については、食品中のマイクロプラスチックの同定および定量に関する報告や、海洋生物における実験的証拠により、栄養段階の間で移動する可能性があることを示した報告があるものの、同定・分析する手法が確立されていないため、まだリスク評価ができる段階でなく、今後の技術開発が必要である。食品添加物への応用については、食品への接触面への適用を避けるための三層構造のフィルムへのナノマテリアルの開発が進んでいる。しかし、容器からの食品への溶出を試験する手法に関しては、用いる疑似溶媒の選択により溶出量が異なることや、溶出後の粒子サイズの変化などの条件を考慮する必要があると考えられる。

### A. 研究目的

ナノマテリアルには、様々の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。さらに、ナノテクノロジーは食品・食品容器分野における積極的な利用も期待されており、これまでの研究では、食品関

連分野における使用実態を調査した結果、ナノ銀については容器・包装用途における抗菌目的の使用や、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。食品添加物としての二酸化チタンナノ粒子の使用は、国内で

は明示的に使用されている事例は確認されていないが、海外では公表論文による調査報告例がある。

27年度はEFSAが2010年から主催している食品および資料分野におけるナノテクノロジーのリスク評価に関する科学ネットワーク(Scientific network of risk assessment of nanotechnology in Food and Feed)の動向調査し、国際的なナノマテリアルの評価状況に関する動向を収集した。その中で、EFSAが既存ナノマテリアルの再評価を中心に行っていることと魚介類などへの汚染が懸念されているナノ粒子も含むマイクロプラスチックの検討を行ってきていることを報告した。28年度は引き続き科学ネットワークの動向を調査すると共に、上記の話題に関して28年度に発表された文書等の最新動向の調査を行うことを目的とした。

## B. 研究方法

27年度に引き続き28年度は、欧州食品安全機関(EFSA)が主催している食品及び飼料分野におけるナノテクノロジーのリスク評価に関する科学ネットワーク2016(Scientific network of risk assessment of nanotechnology in Food and Feed)に関する調査を行った。また、2016年の6月に公表された食品添加物としての二酸化チタン(E 171)の再評価に関する科学的意見と2016年の5月に公表された食品中のマイクロプラスチックおよびナノプラスチックに関するステートメント、および2016年11月に開催された第6回食品容器に関する国際シンポジウムにおいて、ナノマテリアルの器具・容器包装に関しての最新開発研究状況や溶出試験の問題点等について情報収集を行った。

## C. 研究結果

### 1. 2016年の食品および飼料におけるナノテクノロジー・リスクアセスメント(EFSA 科学ネットワーク)

#### EUのリスクアセスメント機関における活動

まず、欧州委員会は、2009年1月20日以前に欧州連合(EU)で承認された食品添加物の再評価をEFSAに要請した。規則(EU)No 257/2010はこの

再評価の規則を定めており、利害関係者は、EFSAによって開始されたデータ・パブリックコールに従って情報を提出できる。EFSAのANSパネル(食品添加物及び食品に添加される栄養源に関する科学パネル)は、粉状または粒状の食品添加物の製造プロセスが様々なサイズ/materialをもちあすことに留意した。全体として、これらの食品添加物はナノマテリアルとして設計されていないが、バルク材料には意図せず存在するか形成されたナノスケールの材料が含まれる可能性がある。しかし、再評価された食品添加物は、2011年10月18日のナノマテリアルの定義(2011/696/EU)に関する欧州委員会の勧告によると、ナノ物質とはみなされなかった。これは、利害関係者からEFSAに提出された、あるいは公的な文献から集められた粒子サイズ分布に関するデータと食品添加物の特性に関するデータに基づいて結論付けられた。ANSパネルは、食品添加物の仕様を規定している委員会規則(EU)No 231/2012には食品添加物の粒子サイズの制限の設定がないと指摘し、粒子サイズおよび粒度分布を再評価された食品添加物のEU規格に含むよう提案した

#### 農業/食品/飼料製品におけるナノマテリアルのヒトおよび動物リスク評価に関するEFSAガイダンス

EFSAの科学委員会は、食品および飼料におけるナノテクノロジーのリスク評価に関する2011年ガイダンスを更新するための新しいワーキンググループを設立している。取り組むべき主な課題とこの作業の進展は、毎年ナノネットワーク会議で発表されることになっており、ガイダンス案に関する協議が2018年に計画されている。

#### ECHA(欧州化学品庁)によるガイダンス開発

2012年に、ECHAは、「ナノマテリアルのための勧告」に関するガイダンスの附属書の形で、情報要件および化学物質安全性評価(IR&CSA)に関するガイダンスを更新したが、現在、ナノマテリアルに関するガイダンスのための新しいプロジェクトを展開しており、それらのトピックスは以下の通り:(1)登録の問題とナノフォーム登録に関するガイダンスの新しい附属書、(2)ヒト健康に関する情報要件—現ガイダン

スの Chapter R7.a および R7.c の附属書の更新、(3)環境に関する情報要件—現ガイダンス文書の附属書 Chapter R7.a の Chapter R7.b および R7.c への更新、(4)ナノフォーム間のリード・アクロスー QSAR および化学物質のグループ分けに関する IR & CSA のガイダンスに関する Chapter R6 の新しい附属書。

#### EU 加盟国における活動

フィンランド: 食材中に部分的にナノサイズとして存在する食品添加物の評価結果のリスクコミュニケーションについて、食品/飼料および食品接触材料におけるナノ構造に関しては、天然に存在するナノ構造と人工的ナノマテリアルとを区別することが不可欠である。ナノネットワークは、人工的ナノマテリアルのリスクコミュニケーションには、ケースバイケースのアプローチが必要であるが、一般的に、食品/飼料分野の新技术については、新技术の導入は立法とレギュラトリーサイエンスの進展を通じて慎重なアプローチに従うとした。すべての利害関係者(生産者、規制当局、学者、消費者団体、メディア、政治家など)からなる全国的なワークショップが、いくつかの加盟国で組織されており、現在の最先端および将来の方向性についての協議の効果的なプラットフォームであるかもしれない。

イタリア—ナノマテリアルに関する新規食品規制の実施結果とその安全性評価法について、人工的ナノマテリアルからなる食品は、新しい欧州規則(EC) No2015/2283 に基づく新規食品である。ビタミン類、ミネラル類、あるいは人工的ナノマテリアルを含有するかそれからなる他の物質も新規食品と見なされる: 最初にこの規則に従って、次に関連する特定の法律に従い、再評価される。従って、人工的ナノマテリアルには新規食品としての認可が必要となる。EFSA は最新の試験方法がそれらの安全性評価に用いられることを確認する必要があるとしており、試験方法をナノマテリアルに実施する場合、そのナノマテリアルの科学的妥当性については実施者が説明し、実施できる場合にはそのマテリアルの特徴に対応するための技術的適応や調整について実施者が説明す

べきであるとしている。

オランダ—ナノフォームのハザード評価に関する新アプローチ(リード・アクロス)および最近の出版物について、ECHA/RIVM/JRC の作業文書には同じ物質だが異なるナノフォームの物質間についてリード・アクロスの段階的アプローチが記載されており、ECHA においてガイダンス作成に使用されている。その際、各ナノフォームの物理化学的特性に関するデータが重要な出発点である。さらに、リード・アクロスによるナノフォーム間の仮説は、動力学とハザードに関するテーマによって実証されるべきである。また、食品や食品サプリメント、練り歯磨きからの二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>)及びそのナノフラクシオンのオランダ人における経口摂取量が Rompelberg ら(2016)によって推定された。これは、食品中の Ti と TiO<sub>2</sub> のナノ粒子の測定濃度と、食品の消費データに基づいている。RIVM による最近の別の研究(Heringa ら、2016)では、ナノ TiO<sub>2</sub> の経口摂取に関するリスク評価が行われ、利用可能な情報に基づく動態学的考察を含む。その動態から、経口吸収量が非常に低い点だけではなく、組織に長期間蓄積することも考慮することが重要と考えられた。オランダの研究では、動物試験における推定臓器レベルとヒトにおける推定臓器レベルとの間にマージンがあるにもかかわらず、種差や個人差、試験期間などの要因を考慮に入れるためにはより大きなマージンが望まれると考えた結果、健康リスクを排除することはできないと結論付けている。これらの結論は食品添加物としての E 171 の使用の EFSA ANS パネルによる再評価中に正当に検討されている。

## **2, 食品添加物としての二酸化チタン(E 171)の再評価**

欧州委員会から欧州食品安全機関(EFSA)への要請に従って、ANS パネル(食品に添加される食品添加物と栄養源に関する科学委員会)は、食品添加物として使用される場合の二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>, E 171)の安全性を再評価する科学的意見を提供するように求められた。

TiO<sub>2</sub> は、欧州連合 (EU) において食品添加物として認可された食品着色料である。これは、1975 年および 1977 年に食品科学委員会 (SCF) によって、1969 年には FAO/WHO 合同食品添加物委員会 (JECFA) によって評価されている。JECFA は 1969 年に一日摂取許容量 (ADI) を「適正製造基準を除き、制限されない」とした。SCF は、1975 年に TiO<sub>2</sub> の ADI を確立しなかったが、1977 年には「ADI が確立されていないが食品に使用できる着色料」の категорияに TiO<sub>2</sub> を含めた。

自然界では TiO<sub>2</sub> は様々な結晶形で存在する。アナターゼおよびルチルは、2 つの最も重要な自然形態である。食品添加物 TiO<sub>2</sub> (E 171) は、白色〜わずかに着色した粉末であり、水および有機溶媒に不溶である (Commission Regulation (EU) No 231/2012)。ANS パネルは、利害関係者から提供されたデータや文献によると食品添加物としての TiO<sub>2</sub> (E171) はナノマテリアルの定義に関する EU 勧告に従ってナノマテリアルとはみなされないとした。

吸収、分布、排泄に関する利用可能なデータから、ANS パネルは以下の結論を出した。

- ・ 経口投与された TiO<sub>2</sub> の吸収は極めて低い。
- ・ TiO<sub>2</sub> のバイオアベイラビリティ (粒子またはチタンとして測定) は低い。
- ・ チタンとして測定されたバイオアベイラビリティは、粒子サイズとは無関係と思われる。
- ・ TiO<sub>2</sub> の経口投与の大部分は、糞便中に無変化で排泄される。
- ・ 経口摂取された TiO<sub>2</sub> のうち、少量 (最大 0.1%) が腸管関連リンパ組織 (GALT) によって吸収され、続いて様々な臓器に分布される。これらの臓器からの排泄速度は可変であった。

ANS パネルはさらに、動物およびヒトには相当量の、非常に変化しやすいバックグラウンドレベルのチタンが存在し、このことが報告されたチタンの取り込みの低レベルでの分析において課題を示し、報告された所見の解釈を複雑にする可能性がある」と結論した。

ANS パネルは、経口摂取された TiO<sub>2</sub> 粒子 (マイクロ及びナノサイズ) が *in vivo* 遺伝毒性を示す可能

性は低い、と結論付けた。

生殖系への毒性影響は非食品グレードまたは特徴付けの不十分なナノマテリアル (すなわち、E171 ではない) を用いて実施された試験のうちのいくつかで確認されているとした。食品添加物 (E 171) については、生殖エンドポイントに関する利用可能だが限られたデータベースにおいて毒性影響は見られなかった。パネルは、食品添加物の提出のためのガイダンス (EFSA ANS Panel, 2012) にある拡張 90 日間試験の欠如や、食品添加物 (E 171) を用いた多世代または拡張一世代生殖毒性試験がないことから、最終的な結論に達することができなかった。したがって、ANS パネルは ADI を確立しなかった。ANS パネルは、マウスおよびラットでの TiO<sub>2</sub> の発がん性試験から、ラットのオスの 2,250 mg TiO<sub>2</sub>/kg bw/day を最も低い無毒性量 (NOAEL) に選択した。ANS パネルは、以下の点を考慮して、ADI が確立されるべきではなく、安全マージン (MoS) アプローチが適切であると考えた。

- ・ 食品添加物 E171 は、主にマクロサイズの TiO<sub>2</sub> 粒子からなるが、ナノサイズ (<100nm) 分画を質量で 3.2% 未満含む。
- ・ 経口投与されたマイクロサイズとナノサイズの TiO<sub>2</sub> 粒子において、吸収、分布、排泄に差異は観察されない。
- ・ 最高用量までいかなる毒性も認められなかった長期間試験の結果に基づき、吸収された粒子の最終的な蓄積に起因する悪影響はないと思われる。
- ・ 利用可能な生殖毒性試験の制限に起因する毒物データベースの不確実性。

食品添加物として使用される TiO<sub>2</sub> (E 171) の食事曝露を評価するため、曝露量が次に基づいて計算された: EFSA に提供されたデータセットに基づき、パネルは異なる仮定に基づいて 2 つの詳細な曝露推定値を算出した。同じブランドを買い続ける消費者のシナリオとブランドに拘らない消費者のシナリオである。

一方、最高曝露量評価シナリオでは、推定曝露量の平均値は乳児/高齢者の 0.4 mg/kg bw/day から

子供の 10.4 mg/kg bw/day の範囲であった。推定曝露量の 95 パーセンタイル値は高齢者の 1.2 mg/kg bw/day から子供の 32.4 mg/kg bw/day の範囲であった。

ANS パネルは、特定の食品カテゴリーへのブランド信仰を特定していないことから、一般的集団をカバーするブランドにこだわらない消費者のシナリオがリスク特性評価のためのより適切かつ現実的なシナリオであると考えた。そこで、入手可能な毒性学的データにおいて特定された NOAEL 2,250 mg TiO<sub>2</sub>/kg bw/day とこの案で考慮された TiO<sub>2</sub> (E 171) の報告された使用/分析レベルから得られた曝露データを用いて計算された MoS の最小値は 100 を超えていた。

非遺伝毒性及び非発がん性化合物について、NOAEL や BMDL との間に 100 以上の MoS があり、予測された曝露量は個人差や種差による外挿での不確実性要因を十分に説明できると考えられたため、ANS パネルは、現在入手可能なデータベースと TiO<sub>2</sub> の吸収に関する考察、使用可能な毒性学的データとこの案で考慮された TiO<sub>2</sub> (E 171) の報告された使用/分析レベルから得られた曝露データを用いて計算された MoS には懸念がないとした。

ANS パネルは、E 171 の生殖毒性に関する確実で信頼性の高いデータが得られた時点で、完全なデータセットによりパネルが健康影響に基づく指標値 (ADI) を確立することが可能になると結論した。

### 3. 食品中のマイクロプラスチックおよびナノプラスチック(ステートメント)

ドイツ連邦リスク評価機関 (BfR) の要請により、食物連鎖における汚染物質に関する EFSA パネル (CONTAM パネル) は、特にシーフードに焦点を当てた食品中のマイクロプラスチックおよびナノプラスチックに関するステートメントを提出するよう求められた。

シーフードを含む食品中のマイクロプラスチックの同定および定量化のための方法が文献に報告されている。しかし、それらの研究の中には、空気や装置からの汚染を避けるための品質保証の記載がなく、

また、粒子がどのように「プラスチック」であると同定されるかについて明確でないものもある。マイクロプラスチックの記載法は以下の手順の 1 つ以上を含む: (i) 生体物質の抽出および分解、(ii) 検出および定量化 (計数) (iii) プラスチックの特性解析。記載された生体物質分解法には、ある種のプラスチックがある程度分解される欠点を持つものがある。計数は肉眼または顕微鏡を用いて試料を検査することによって行われる。文献ではマイクロプラスチックは、マイクロファイバー、フィルム小球体、及びフラグメントビーズ、フィルムなどのいくつかの方法で分類または命名されている。

海洋生物における実験的証拠は、マイクロプラスチックが栄養段階の間で移動する可能性があることを示している。魚粉が家禽生産や養豚に使用されるため、マイクロプラスチックは非海産食品に行きつく可能性がある。食品中のマイクロプラスチックの存在に関しては、限られたデータしか入手できない。利用可能なデータは、魚、エビ、二枚貝などのシーフードから、また、蜂蜜、ビール、食卓塩などの他の食品からも得られる。シーフードにおけるマイクロプラスチックの含有量を求めた研究では、マイクロプラスチック含有量は異なる単位 (例えば、海洋生物あたりの粒子数、g 湿重量あたりの粒子数) で与えられているため、結果の比較は必ずしも可能ではない。海洋生物のマイクロプラスチック濃度は胃、消化管または消化管全体で決定される。魚では 1 匹あたりの平均粒子数は 1 ~ 7 である。エビでは平均 0.75 粒子/g である。二枚貝では粒子数の平均値は 0.2 ~ 4 (中央値)/g である。蜂蜜について報告されたマイクロプラスチックの平均含有量は 0.166 繊維/g 及び 0.009 断片/g である。ビールでは 1 mL あたり 0.025 繊維、0.033 断片及び 0.017 顆粒である。食卓塩についてマイクロプラスチックの含有量は 0.007 ~ 0.68 粒子/g である。

マイクロプラスチックは平均 4% の添加剤を含有することができ、また、プラスチックは汚染物質を吸着することが可能である。添加剤および汚染物は共に有機質や無機質で存在し、一般的に受け入れられる分析法を用いて決定することが可能である。汚染物質

(例えば難分解性有機汚染物質(POPs))の栄養移行が報告されており、生物濃縮がみられた。また、消化管におけるマイクロプラスチックの運命に関する情報が不足している。毒物動態に関する利用可能なデータには吸収と分布のみが含まれ、代謝と排泄に関する情報はない。150  $\mu\text{m}$  未満のマイクロプラスチックのみが腸上皮を通過して移行し、全身曝露を引き起こす可能性がある。さらに、微生物叢を含む消化管におけるマイクロプラスチックの局所影響に関する知識が欠如している。このようなマイクロプラスチックの影響に関する毒性データが、ヒトのリスクアセスメントには基本的に不足している。

マイクロプラスチックについて、その存在や同一性を評価し、食品中の量を定量化するため、分析法をさらに開発し、標準化することが推奨される。品質保証の実施と実証が必要である。特に、より小さい粒子について、消化管における局所影響に関する研究を含む、動態および毒性に関する研究が必要である。ヒト消化管におけるマイクロプラスチックの分解およびナノプラスチック形成の可能性に関する研究が必要である。

### ナノプラスチック

国際的に認められたナノマテリアルの定義に基づいて、ナノプラスチックはナノスケール(0.001~0.1  $\mu\text{m}$ )の任意の外形寸法を有する材料、あるいはナノスケールの内部構造または表面構造を有する材料として定義することができる。

一般に、この文章でカバーされる分野すべてのナノプラスチックに関する情報は、ほとんどまたは全く存在しない。

ナノプラスチックは、例えば工業プロセスにおいて、マイクロプラスチック破片の破碎中に作られたり、使用される工業用材料から生じたりする。

食品中のナノプラスチックの同定と定量化のための分析法は存在しないため、食品中の発生データは完全に不足している。一般にナノマテリアルに適用する分析法が応用できることが期待される。

シーフード加工中のナノプラスチックの運命に関す

る利用可能な文献はない。ナノプラスチックは、この問題に関する利用可能な文献はないが、食品そのものの以外の供給源(例えば、加工助剤、水、空気、または機械、設備、繊維製品からの放出物)に由来する可能性が高い。したがって、加工中にナノプラスチックの量が増加する可能性がある。プラスチックの量に関する他の加工(例えば、調理やベーキング)の影響は不明である。

消化管におけるナノプラスチックの運命に関する情報が不足している。毒物動態に関する利用可能なデータには吸収と分布のみが含まれ、代謝と排泄に関する情報はない。摂取されたマイクロプラスチックが消化管で分解してナノプラスチックになるか不明である。人工ナノマテリアルには毒性影響を示すものがあるが、ナノプラスチックの毒性データはヒトのリスクアセスメントには基本的に不足しており、また、あるナノマテリアルから他のナノマテリアルにデータを外挿することはできない。ナノプラスチックは細胞に入ることができるが、ヒト健康への影響は不明である。

ナノプラスチックについて、その存在や同一性(形状を含む)を評価し、食品中の量を定量化するため、分析法を開発し、標準化することが推奨される。品質保証の実施と実証が必要である。食事曝露を評価するため、食品中の発生データを生成する必要がある。動態および毒性に関する研究が必要である。

## **4. 第6回食品容器に関する国際シンポジウム**

4年毎に開催される本シンポジウムでは、食品用途の器具・容器包装におけるナノマテリアルの開発状況と器具・容器包装からの溶出試験等に関しての様々な研究が報告されていた。

器具・容器包装からの溶出試験については、理論的にはポリマーのマトリックスに対してナノマテリアルはかなり大きいので、ポリマー内での移動速度や溶出速度は著しく低いと考えられている。しかし、特にナノ銀に関しての最近の溶出試験の報告を検討してみると、様々な結果が報告されており一様な解釈が難しいと考えられる。一般的に酢酸などの疑似溶媒を使用した方が、アルコールや有機溶媒を使用した

場合よりも溶出量が多い傾向があるが、その場合には、ナノ銀からの銀イオンとしての溶出が促進することによるものと思われる。その場合には、測定法に依存して ICM-MS などにより銀原子の量を測定するか、シングルパーティクル ICP-MS などのように粒子としての銀原子の量を測定し、溶出時の形態を判別することが可能である。しかし、溶媒測定時の酸化状態如何では、イオン化した銀イオンが、それ自身あるいは他の粒子成分などと反応して、溶出溶媒中に粒子として産生することも報告されている。このことは、上記の方法だけでは、ナノ銀粒子の溶出形態を推定することは困難であり、測定された粒子の元素分析などさらなる解析が必要であることを示している。一方、ポリマー内でも化学的安定性の高いカーボンブラックや酸化チタンについては、器具・容器包装からの溶出は、粒子とイオンの形状を問わず、ほとんど報告されていない。

一方、器具・容器包装へのナノマテリアルの利用に関しては、まだ本格的な市場化には至っていないが、より機能性を付加した器具・容器包装の開発が進んでいる。ポリ乳酸はバイオベースの器具・容器包装のプラスチックとして最も関心が高い基材であるが、低い耐性や低いガスバリアー性の問題を抱えており、機能改善のためのナノマテリアルの利用の研究が進められている。しかし、欧州では食品に直接接触する基剤におけるナノマテリアルの利用が制限されているところでもある。そこで、三層構造のポリ乳酸フィルムの中間層に、ナノマテリアルを使用しその機能を生かしながら、安全性の懸念も回避できる製品の開発が進んでいる。また、同じ3層構造の特徴を生かして、ポリエチレンを基材としたフィルムに抗酸化・ラジカルスカベンジャー機能などを付加するためナノセレンを利用する研究開発も進んでいることが報告されていた。

#### D. 考察

粉状または粒状の食品添加物は製造プロセス上様々なサイズのものができることから意図せずにナノスケールの材料が含まれる可能性があるということから、既存添加物の再評価を行ってきているが、今回

科学的意見の公表された酸化チタン(食品添加物 E171)について、EU のナノマテリアルの定義上は、ナノマテリアルとは認められなかったもののナノサイズ(<100nm)分画を質量で 3.2%未満含み、詳細なリスク評価が行われた。生殖発生毒性に関するデータ欠落のため ADI は設定しなかったが、慢性影響試験の結果からは、現状の暴露調査による暴露推定量とは、十分なマージンがあると結論付けている。しかし、フランス国立農学研究所(INRA)の研究者らは、添加物である二酸化チタン(E171)の経口曝露の影響を研究し、E171 が動物の腸関門を通過し、身体の他の部分に到達することを初めて報告しており、ナノサイズの E171 粒子の吸収に関連する免疫系障害が観察された。また、慢性経口曝露は曝露された動物の 40%において結腸に発がんの非悪性段階である前がん病変を誘発することと、プロモーション作用も有していることが報告されており、生殖発生毒性影響に関する試験だけでなく、免疫影響や発癌作用に対する特に慢性曝露による影響も、特にナノサイズの酸化チタンに対して行っていく必要があると考えられる。

マクロプラスチックやナノプラスチックの特にシーフードに焦点を当てた食物連鎖を通じた健康懸念については、食品中のマイクロプラスチックの同定および定量に関する報告や、海洋生物における実験的証拠により、栄養段階の間で移動する可能性があることを示した報告があるものの、マイクロプラスチックについての存在、プラスチックとしての同定法や同一性の評価手法、定量化のために分析法がまだ確立されておらず、定量的なリスク評価が困難であることが示されている。また、定量化手法が確立されていないので、食物連鎖や移動への影響評価の際に、消化管をどの程度通過して影響を示すかについての評価も困難である。ナノプラスチックについては、まだ、ナノプラスチックの運命に関する利用可能な文献はないが、体内への吸収性についてはマイクロプラスチックよりは容易であろうという推測は成り立つが、こちらも生体中で定量的に測定する技術が確立していないので、マイクロプラスチック同様に、今後の分析法の開

発の必要性が指摘されている。ナノマテリアルの食品添加物への応用については、食品への接触面への適用を避けるための三層構造のフィルムへのナノマテリアルの開発が進んでいる。しかし、容器からの食品への溶出を試験する手法に関しては、用いる疑似溶媒の選択により、溶出量が異なることや、溶出後の粒子サイズの変化などの条件を吟味する必要があり、溶出物の安全性評価のためには試験法の改良が必要であることが指摘されていると考えられた。

## E. 結論

28年度は、27年度に引き続き、欧州食品安全機関(EFSA)が主催している食品及び飼料分野におけるナノテクノロジーのリスク評価に関する科学ネットワーク2016に関する調査を行った。また、2016年に公表された二酸化チタン(E 171)の再評価に関する科学的意見と食品中のマイクロプラスチックおよびナノプラスチックに関するステートメント、および第6回食品容器に関する国際シンポジウムにおける、ナノマテリアルの器具・容器包装に関しての最新開発研究状況や溶出試験の問題点等について情報収集を行った。EFSAでは、ナノマテリアルを含む可能性のある既存添加物の再評価を行ってきているが、今回科学的意見の公表された酸化チタン(食品添加物E171)については、EUの基準ではナノマテリアルとは定義されないもの、ナノサイズ(<100nm)分画を質量で3.2%未満含む。再評価の結果は、生殖毒性評価の情報が欠落しているのでADIは設定しなかったが、慢性影響試験の結果からは、現状の暴露調査による暴露量とは、十分なマージンがあると結論付けていた。マイクロプラスチックやナノプラスチックの特にシーフードに焦点を当てた食物連鎖を通じた健康懸念については、食品中のマイクロプラスチックの同定および定量に関する報告や、海洋生物における実験的証拠により、栄養段階の間で移動する可能性があることを示した報告があるものの、同定、分析する手法が確立されておらず、まだリスク評価ができる段階でないため、今後の技術開発が必要である。食品添加物への応用については、食品への接触面への適用

を避けるための三層構造のフィルムへのナノマテリアルの開発が進んでいる。しかし、容器からの食品への溶出を試験する手法に関しては、用いる疑似溶媒の選択により溶出量が異なることや、溶出後の粒子サイズの変化などの条件を考慮する必要があると考えられる。

## F. 研究発表

(論文発表)

Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Numano T, Abdelgied M, Takahashi S, Ohnishi M, Omori T, Tsuruoka S, Hirose A, Kanno J, Sakamoto Y, Alexander DB, Alexander WT, Jiegou X, Tsuda H., Multiwalled carbon nanotubes intratracheally instilled into the rat lung induce development of pleural malignant mesothelioma and lung tumors. *Cancer Sci.* 107, 924-935. 2016.

Shigemoto-Mogami Y, Hoshikawa K, Hirose A, Sato K., Phagocytosis-dependent and independent mechanisms underlie the microglial cell damage caused by carbon nanotube agglomerates. *J Toxicol Sci.* 41, 501-509. 2016.

(学会発表)

Akihiko Hirose, Yoshimitsu Sakamoto, Tomoko Nishimaki-Mogami, Yuhji Taquahashi, Takashi Yamada, Tetsuji Nishimura, Akiko Inomata, Dai Nakae, Hiroyuki Tsuda and Jun. Analysis of size-dependent carcinogenic potential of multiwalled carbon nanotubes. *Global Cancer: Occurrence, Cause, and Avenues to Prevention. IARC 50<sup>th</sup> Anniversary Conference (2016.6), Lyon, Poster.*

Hirose A, Cui H, Ema M, Kanno J, Tsuda H, Nishimaki-Mogami T, Comparison with the NLRP3 inflammasome activations in THP-1 cells by various nanomaterial. 第14回国際毒性学会(ICT2016), (2016.10), Merida, Mexico, Poster.

北條幹, 坂本義光, 山本行男, 長谷川悠子, 多田幸恵, 久保喜一, 長澤明道, 海鉦藤文, 高橋博, 湯



澤勝廣, 安藤弘, 田中和良, 矢野範男, 藤谷知子, 小縣昭夫, 猪又明子, 広瀬明彦, 中江大: MWCNT によるラット中皮腫誘発過程の経時的解析. 第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016 年 6 月 29 日~7 月 1 日) 名古屋市

坂本義光, 広瀬明彦, 中江大: 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) を経気管反復投与したラットに見られた肺胞過形成病変に関する病理組織学的解析. 第 75 回日本癌学会学術総会 (2016 年 10 月 6 日~8 日) 横浜市

Tsuda H, Xu J, Alexander DB, Alexander WT, Mohamed Abd El-gied, Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Numano T, Takahashi S, Ohnishi M, Hirose A, Kanno J, Development of a series of assay model of toxicity and carcinogenicity of carbon nanotubes. 2016 Korean Association for Laboratory Animal Science, 慶州, Korea, Aug. 24-26, 2016

Yamada T, Tanaka Y, Hasegawa R, Sakuratani Y, Yamada J, Kamata E, Ono A, Yamazoe Y, Mekenyan O, Hayashi M, Hirose A., Development of a case study on the read-across assessment of hepatotoxicity of allyl esters for OECD IATA case study project in 2015. The 52nd Congress of the European Societies of Toxicology, Seville, Spain, Sep 04-07, 2016.

Tsuda H, Alexander DB, Alexander WT, AbdElgied M, ELGazzar A, Xu J, Numano T, Suzui M, Futakuchi M, Fukamachi K, Hirose A, Kanno J, Development of a Mechanism Based Short-term Assay Protocol to Test Carcinogenicity of Multiple Wall Carbon Nanotubes (MWNCTs) in the Rat. XIV International Congress of Toxicology, Merida, Mexico, Oct. 2-6, 2016

Kobayashi N, Tanaka S, Ikarashi Y, Hirose A., Developmental toxicity assessment of various sizes of multiwall carbon nanotubes in mice after repeated intratracheal instillation to initiate grouping and read across. Society of Risk Analysis 2016 Annual Meeting. San Diego, U.S.A., Dec 11-15, 2016.

北條幹, 坂本義光, 山本行男, 長谷川悠子, 多田幸

恵, 湯澤勝廣, 広瀬明彦, 猪又明子, 中江大: 多層カーボンナノチューブによるラット中皮腫誘発過程の経時的観察. 第 33 回日本毒性病理学会学術集会 (2017 年 1 月 26 日~27 日) 堺市  
坂本 義光, 北條 幹, 広瀬 明彦, 猪又 明子, 中江 大: ラットにおける多層カーボンナノチューブ (CNT) の発がん性と phenyl N -tert-butyl nitron (PBN) 併用が及ぼす影響. 第 33 回日本毒性病理学会学術集会 (2017 年 1 月 26 日~27 日) 堺市

寺田央子, 加藤雄大, 橋口誠子, 榎藤喜貴, 広瀬明彦, 宮内亜宜, 明石 敏, 吉田裕樹, 杉田千泰, 黒川昌彦, 渡辺 渡 チタン酸カリウム曝露の RSV 肺炎への影響 日本薬学会第 137 年会, 27PB-am155, 2017 年 3 月, 仙台国際センター

渡辺 渡, 榎藤喜貴, 橋口誠子, 加藤雄大, 広瀬明彦, 宮内亜宜, 明石 敏, 吉田裕樹, 杉田千泰, 黒川昌彦 多層型カーボンナノチューブ曝露による RSV 感染初期応答への影響 日本薬学会第 137 年会, 27PB-am154, 2017 年 3 月, 仙台国際センター

#### 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)