

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
総括研究報告書(令和4年度)

食品及び食品用容器包装に使用される新規素材の安全性評価に関する研究

研究代表者: 小川 久美子 (国立医薬品食品衛生研究所 病理部 部長)

研究要旨

本研究は、食品及び食品用容器包装用途に使用され、経口及び経皮等から暴露されるナノマテリアル等の新規素材について、安全性評価に資するデータの蓄積、評価方法の検討並びにその暴露状況やリスク評価に関する国際動向の把握を目的としている。

これまでの結果から、ラットを用いた二酸化チタンの90日間反復経口投与毒性試験において、結晶子径6nmのアナターゼ型TiO₂(AMT-100、個数基準分布の50パーセントイル粒子径=約200nm)による有害影響は見られなかったが、投与されたTiO₂粒子の凝集体とみられる黄褐色物質の沈着が小腸パイエル板に認められたことから、経口曝露された二酸化チタンが消化管で生体内に取り込まれることが示された。そこで本年度は、生体内への取り込みおよび毒性影響における粒子径の影響を明らかにすることを目標として、結晶子径の異なる3種類のアナターゼ型TiO₂製品であるAMT-100、AMT-600、TITANIX JA-1(それぞれ結晶子径6nm、30nm、および180nm)をラットに90日間反復経口投与した。その結果、投与に伴う体重および一般状態の変化は観察されず、尿検査、血液検査、血液生化学的検査および臓器重量においても毒性影響は見られなかった。病理組織学的検査では全てのTiO₂投与群で小腸パイエル板及びリンパ組織に黄褐色粒子の沈着は観察されたが、炎症や組織障害などの毒性影響は観察されなかった。以上の結果から、TiO₂の生体影響に対する結晶子径の影響は小さいことが示された。

また、食品及び食品用容器包装用途に使用され、経口及び経皮等から暴露されるナノマテリアル等の新規素材について、安全性評価に資するデータを蓄積するため、化粧品等への配合とともに着色あるいは遮光性・抗菌性を付与する目的で食品・容器包装に使用されるナノ酸化チタンが、アレルギー経皮感作後の経口曝露によるアレルギー症状発現に与える影響について検討した。OVA 2μg×4回の経皮感作、OVA 30mg×7回の経口投与による追加免疫、その後のOVA 50mgの経口投与によりアレルギー症状を惹起する抗原経皮感作・経口惹起実験系を用いて抗原経口投与時のナノ酸化チタンの共存による影響について検討した。令和2、3年度においては、粒子径6nm、15nm及び30nmのアナターゼ型ナノ酸化チタンが経口投与時の共存により経口追加免疫を有意に増強することを示した。一方、粒子径15nm及び30-50nmのルチル型ナノ酸化チタンでは、このような経口追加免疫の増強効果は見られなかった。令和4年度においては、粒子径6nm・アナターゼ型のナノ酸化チタンを経皮感作時及び経口追加免疫時の両過程においてOVAと共存させ、その影響を検討した。その結果、これまでの検討と同様にOVA経皮感作及び経口追加免疫を増強したが、経皮感作時の共存による経口追加免疫増強効果に対する影響は見られなかった。今後、ナノマテリアルの経皮/経口曝露が免疫応答に与える影響について、さらなる科学的知見を集積することが必要と考えられた。

さらに、食品関連分野におけるナノマテリアル並びに新規素材の安全性評価に関する国際動向調査のため、欧州食品安全機関(EFSA)の食品と飼料のナノテクノロジーに関するネットワーク会

議(2022年10月)に関する調査と、2022年10月開催された米国FDA's Nano Day Virtual Research Symposiumに参加しFDAのガイダンスが安全評価性と規制状況に及ぼす影響について調査を実施した。EFSAネットワークでは最近公表されたナノ粒子を含む小粒子の存在を確認するための規制対象食品および飼料製品の用途の技術的要件に関するガイダンス(2021)に対する付属書として提案されている「酸性条件下での分解/溶解速度」について科学委員会総会の採択に向けた最終草案の議論が行われていたことに加え、フランス食品環境労働衛生安全庁(ANSES)が2021年に公表した「食品中のナノ材料の健康リスク評価ガイド」に関連する活動やOECDナノマテリアル作業グループ(WPMN)内のプロジェクト活動に関する情報共有が行われていた。米国FDAのSymposiumでは、新規の食品接触物質の届出として行われているFCN申請における安全性評価基準に照らして、2014年にFDAが公表したガイダンスが示すインパクトについて解説が行われると共に、逆浸透膜(RO膜)の評価事例等によるケーススタディの紹介があった。今後の欧米における食品関連物質のナノマテリアル評価動向は、より具体的なガイダンスの適用例や詳細な評価手法の開発に関する議論が中心となっていくものと考えられた。

キーワード:ナノマテリアル、二酸化チタン、経口、経皮、毒性試験、国際動向

研究協分担者:安達 玲子
国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 室長
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:赤木純一
国立医薬品食品衛生研究所 病理部 主任研究官
研究協力者:為広 紀正
国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 協力研
究員
研究協力者:大野 彰子
国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部
主任研究官

A. 研究目的

ナノマテリアル等の新規素材は、様々な用途における応用が期待される一方で、その特性による予想外の健康影響の可能性が指摘されている。国際的にも、既存物質の再評価において、既存の評価は有効ではないことが確認され、ナノマテリアルの物理化学的な特性評価や、毒性学的評価などの科学的知見についての情報は未だ不足しているとされている。我々のこれまでの検討において、

ナノ銀のマウス腹腔内単回投与において、直径60 nm及び100 nmでは何ら毒性を示さないものの、等量の直径10 nm投与では肝臓のうっ血、単細胞壊死を伴い個体が瀕死や死亡に至る高度の毒性を示すことを明らかにした(Cho et al, J Toxicol Pathol. 2018)。また、毒性を示す10 nm粒子投与群と同等の銀が肝臓で検出されるように、投与量を増量しても直径60 nm及び100 nm投与群では肝毒性を示さないことから、ナノ銀による肝毒性は肝臓内の銀濃度のみには依存せず、10 nm程度の小粒子の存在に依存すると考えられた。

更に、安達等はマウスの検討により、小粒子径(直径6 nm)の酸化チタンは、アレルゲンタンパク質の経皮感作時の共存による感作の増強及び、引き続きの経口追加免疫時の共存によるアレルギー症状の増強などのアジュバント作用を有することを明らかにしてきた。

これらの結果から、ナノマテリアルの安全性評価には、特に直径10 nm以下の小粒子を用いた反復投与による詳細な毒性試験を実施し、サイズによる相異の主原因と考えられる吸収及び分布等の体内動態について検討することが必要と考えられた。

本研究は、食品及び食品用容器包装用途に使用され、経口及び経皮等から暴露されるナノマテリアル等の新規素材について、安全性評価に資するデータの蓄積、評価方法の検討並びにその暴露状況やリスク評価に関する国際動向の把握を目的とする。

B. 研究方法

B-1. ナノ酸化チタンの経口反復投与毒性

1. 被験物質および投与量

昨年度までの実験に用いた結晶子径 6 nm の TiO₂ (テイカ株式会社 AMT-100、純度 93%) に加えて、結晶子径 30 nm (同社 AMT-600、純度 98%)、および結晶子径 180 nm (同社 TITANIX JA-1、純度 99%) を 100 mg/mL の濃度で 0.2%リン酸水素二ナトリウムに分散させ、10 mL/kg bw の液量で投与した。昨年度の研究で 6 nm の TiO₂ の NOAEL が 1000 mg/kg bw/day であったことから、全ての粒子径について用量を 1000 mg/kg bw/day と設定した。

2. 動物および飼育条件

5 週齢の F344/DuCrj ラット雄 40 匹を日本チャールス・リバーより購入し、基礎飼料 (CRF-1; オリエンタル酵母工業) および水道水にて 1 週間馴化飼育後、6 週齢で実験に供した。動物は温度 23±1°C、湿度 50±5%、換気回数 20 回/時、12 時間の明暗サイクルに制御されたバリアシステムの飼育室で飼育した。床敷としてソフトチップ (三協ラボサービス) を敷いたポリカーボネート製箱型ケージに 3 または 4 匹ずつ収容し、ケージおよび床敷を週 2 回の頻度で交換した。動物実験は国立医薬品食品衛生研究所動物実験委員会の審査・承認を経て、同所の定める「動物実験の適正な実施に関する規定」を遵守して行った。

動物は投与開始日の体重に基づいて 1 群 10 匹からなる 4 群に分け、試験期間中は基礎飼料および水道水を自由摂取させた。

3. 強制経口投与

ポリテトラフルオロエチレン製フレキシブルチューブ (長さ: 85mm、外径: 1.46mm、頭部: 2.4mm、フチガミ器械) を用いて TiO₂ 懸濁液を毎日 1 回投与した。実験期間中、一般状態および死亡動物の有無を毎日観察し、体重および摂餌量を週 1 回測定した。動物は投与期間終了後に一晩絶食させ、イソフルラン吸入麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血を行った後、放血により安楽死させた。

4. 尿検査

投与 13 週目に各群 10 匹中 5 匹を代謝ケージ (夏目製作所) に入れて個別飼育で絶食下 4 時間飼育し、自然尿を採取した。オーションスティックス (尿試験紙) 10EA (アークレイ) を新鮮尿に浸し、半自動尿分析装置オーションイダテン AE-4070 (アークレイ) にて測定した。

5. 血液学および血液生化学的検査

採取した血液の一部を抗凝固剤 (EDTA-2K) 入りの試験管 (ベノジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社) に移し、血液学的検査として赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT) および白血球数 (WBC)、網状赤血球数 (RET)、白血球分画 (好中球; NEUT、好酸球; EO、好塩基球; BASO、単球; MONO、リンパ球; LYMPH) を自動血球計算装置 IDEXX プロサイト Dx (アイデックスラボラトリーズ株式会社) を用いて測定した。

血清生化学的検査では、オリエンタル酵母工業株式会社に委託して、常法により総タンパク (TP)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、アルブミン (Alb)、総ビリルビン (Bil)、グルコース、トリグリセリド (TG)、総コレステロール (T-Cho)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST)、アラニントランスアミナー

ゼ (ALT)、アルカリフォスファターゼ (ALP) および γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP)、鉄 (Fe)、不飽和鉄結合能 (UIBC)、総鉄結合能 (TIBC) の各項目を測定した。

6. 剖検および臓器重量

採血後に動物を放血死させ、剖検を実施するとともに、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、卵巣あるいは精巣を摘出し、重量を測定した。また、上記の組織に加え胸骨、気管、大動脈、甲状腺、舌、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、膵臓、膀胱、精嚢、前立腺、精巣上体、子宮、陰、下垂体、大腿筋、坐骨神経、三叉神経、脊髄を摘出し、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。

7. 病理組織学的検査

全群全個体の主要臓器（肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、胃、小腸、大腸、精巣、眼）について、常法に従いパラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、明視野顕微鏡下で組織病理学的検査を実施した。

8. 臓器中チタン濃度測定

肝臓、腎臓、および脾臓中の Ti 濃度は一般財団法人日本食品分析センターに委託して、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) により測定した。試料調製には硝酸を用いたマイクロ波消化を用いた。消化には Ultra WAVE 電子レンジ (Milestone General, Kawasaki, Japan) を使用し、以下のプログラムで行った。ICP-MS 測定は、Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) を用いて以下の条件で分析を実施した。電波出力：1550W、キャリアガス：Ar、流量：15 L/min、コリジョン・リアクションセル導入ガス：O₂ (0.1 mL/min) +He (10 mL/min)、内部標準：Rh、分析対象元素：⁴⁸Ti¹⁶O⁺および¹⁰³Rh (内部標準)。

9. 統計学的処理

体重、摂餌量、血液学的・血清生化学的検査結果、臓器重量、臓器中 Ti 濃度、および臓器中総 Ti 量については Dunnett 検定、尿検査のスコアについては Kruskal-Wallis 検定、病理組織学的所見の発生頻度については Fisher の正確確率検定により対照群と各被験物質投与群との間で有意水準 0.05 の両側検定により判定した。統計解析には GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) を使用した。

(倫理面への配慮)

動物実験は「国立医薬品食品衛生研究所動物実験に関する指針」に従い、国立医薬品食品衛生研究所実験動物倫理委員会の承認を得た上で、関係法令を遵守して実施した。動物愛護の精神に則って動物飼育を行い、動物の処置は倫理規定に十分配慮して熟練者が実施し、実験終了時、動物はすべてイソフルランの深吸入麻酔下で大動脈からの脱血により安楽死させ、動物に与える苦痛を最小限に留めた。

B-2. ナノ酸化チタン等の経皮/経口暴露による免疫毒性の解析

試料及び試薬

被験物質としては、

酸化チタン C

(粒子径 6 nm・アナターゼ型)

(表面未処理)

を使用した。

抗原タンパク質としては、卵アレルゲンである卵白アルブミン (OVA; Sigma A5503) を用いた。その他の試薬は特級グレードのものを用いた。

酸化チタンナノマテリアルの懸濁液調製

酸化チタンは、それぞれ 50 mg/mL の濃度で PBS に懸濁し、2.5 分間の超音波処理の後にボルテックスミキサーにより攪拌するというサイクルを 4 回繰り返し、最後に 25G 注射針付きのシリンジを用いて攪拌し均一化した。

【実験 1】経皮感作時及び経口投与時の小粒子径 ナノ酸化チタンの影響

動物は、7 週齢の雌性 BALB/c マウスを日本エスエルシー（株）より購入し、MF 飼料(オリエンタル酵母工業（株）)を給餌した。1 群の匹数は 5 匹とした。各実験群の設定および投与スケジュールを Fig. 1 に示す。8 週齢時に背面片側を剃毛し (Day 0)、翌日より 3 日間、OVA の PBS 溶液 (2 μ g/50 μ L)、あるいは OVA と酸化チタンの混合懸濁液 (OVA:ナノ酸化チタン重量比=16:1) を剃毛部に貼付して経皮感作を行った(Day 1-3)。抗原液の貼付には、パッチテスター「トリイ」(鳥居薬品株式会社)を 2 cm 角に切り取ったものを用い、パッド部に 50 μ L の抗原液を浸潤させて貼付した。パッチの上から不織布製のジャケットを装着してパッチを保護した。3 日間貼付後にパッチを外し(Day 4)、その後 4 日間休ませるという操作を 1 クールとし、4 クールの経皮感作を行った。その後、Day 28、30、32、35、37、39、42 に OVA 30 mg を経口投与 (p.o.) し (3 回/週、計 7 回)、追加免疫を行った。この時、ナノ酸化チタン投与群では、OVA 30mg と TiO₂C 1.88mg (OVA:ナノ酸化チタン重量比=16:1) を懸濁させて経口投与した。Day 1, 25, 43 には部分採血し、血清中の抗原特異的 IgE、IgG1 抗体を ELISA 法により測定した。Day 49 に OVA 50mg を経口投与し、アレルギー反応を惹起した。追加免疫及び惹起時の経口投与後 60 分間は、マウスの直腸温測定、及び下痢症状の観察を行い、下痢症状については Table 1 の基準に従ってスコアリングした。

統計解析

データは Microsoft Excel により集計した。Vehicle 群を基準とした Dunnett の検定、あるいは Student t-test による OVA 投与群と OVA-ナノ酸化チタン投与群との有意差検定を行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立医薬品食品衛生研究所動物倫理

審査委員会の承認を得て行った。マウスへの検体の投与、採血等においては、動物の苦痛を最小限に留めるように努め、動物飼育・管理に当たっては研究所の動物施設利用規定に従った。

B3. 安全性評価に関する国際動向調査

EFSA の食品と飼料のナノテクノロジーに関するネットワーク会議 (2022 年 10 月 24-25 日、Web 会議) に関する調査を実施した。また、2022 年 10 月に米国 FDA's Nano Day Virtual Research Symposium に参加し、食品接触物質 (着色料である食品成分を含む) の安全性と規制状況に及ぼす影響について調査を実施した。

C. 研究結果

C-1. ナノ酸化チタンの経口反復投与毒性

1. 投与懸濁液中の粒子径

動的光散乱法による二次粒子径 (液中粒子径) の測定では、結晶子径 6、30、180 nm の TiO₂ 懸濁液の 50 パーセントイル二次粒子径はそれぞれ約 150、90、60 nm であった。

2. 生存率、体重、摂餌量

投与に伴う体重の変化は見られず、摂餌量も同程度であった (Figure 1)。一般状態の変化は観察されなかったが、投与 10 週目に 180 nm 群のうち 1 匹にゾンデを嚙み切られ、大部分が食道内に残存した状況となったため、動物福祉の観点から当該動物を深麻酔下で安楽死させた。

3. 尿検査

尿検査では、対照群と比較して 6 nm 群で比重の増加が見られた (Table 1)。

4. 血液学および血液生化学的検査

血液学的検査では、6 nm 群の MCV および MCH、30 nm 群の HGB、HCT、MCV、MCH、および WBC、180 nm 群の HGB、HCT、MCV、および MCH の低下が見られた。白血球分画では 30 nm 群の LYMPH および MONO の低下が見られた (Table

2)。

血液生化学的検査では、6 nm 群および 30 nm 群で T-BIL の低下、30 nm で ALB および IP の低下と Cl の増加、180 nm 群で Na の低下と Cl の増加が見られた。血液学的検査で HGB、HCT、MCV、MCH の低下が見られたことから鉄関連項目について追加の測定を実施したところ、Fe、UIBC、TIBC のいずれも有意な変化は見られなかった (Table 3)。

5. 臓器重量

全ての群で、絶対および相対臓器重量に有意な変化は見られなかった (Table 4)。

6. 病理組織学的検査

病理組織学的検査では、TiO₂ 投与群 (6、30、180 nm) において黄褐色物質の沈着が空腸および回腸のパイエル板に見られたほか、一部の個体で小腸粘膜下にも粒子が見られた (Figure 2)。肺において、黄褐色粒子を含む肺胞マクロファージが見られた。これらの部位ではいずれも、炎症や組織障害等の反応性変化は認められなかった。30 nm 群および 180 nm 群の小脳において、空胞変性の有意な増加が見られた。全ての群において、肺、胃、小腸、大腸、腎臓、精巣に石灰沈着が見られた (Table 5)。

C-2. ナノ酸化チタン等の経皮/経口暴露による免疫毒性の解析

【実験 1】経皮感作時及び経口投与時の小粒子径ナノ酸化チタンの影響

抗原経皮感作・経口追加免疫・経口惹起実験系を用いた、アレルゲンの経口投与に対するナノ酸化チタンの影響に関する令和 2、3 年度における検討では、粒子径 6 nm・アナターゼ型及び粒子径 30 nm・アナターゼ型のナノ酸化チタンが経口追加免疫を増強すること、また粒子径 15 nm・アナターゼ型のナノ酸化チタンでは経口追加免疫及び経口惹起を増強する傾向が見られることを示した。一方、粒子径 15 nm・ルチル型のナノ酸化

チタンでは経口惹起のみ増強する傾向が見られ、粒子径 30-50 nm・ルチル型のナノ酸化チタンではこのような増強効果は見られなかった。

令和 4 年度においては、被験物質として、酸化チタン C (粒子径 6 nm・アナターゼ型) を用い、経皮感作時及び経口追加免疫時の両過程における共存効果について検討した。各群の実験条件、及び実験全体のスケジュールを Fig. 1 に示す。1 群 5 匹とし、経口投与時、あるいは経皮感作時及び経口投与時の両過程において酸化チタン C を共存させる群を設定した。OVA:ナノ酸化チタン重量比は、これまでと同様に、経皮感作及び経口追加免疫においてナノ酸化チタンによる増強効果が見られた 16:1 とした。

Fig. 2 に血清中の抗原特異的 IgE、IgG1 の測定結果を示す。OVA 経皮感作により IgE、IgG1 抗体の産生が見られ (Day 25)、その後の経口追加免疫によってさらに増加した (Day 43)。経皮感作においては、これまでの検討と同様に、酸化チタン C の共存により抗体産生が増強される傾向が見られた (Day 25)。一方、追加免疫時の抗体産生に対する酸化チタン C の共存による影響は見られなかった。

次に、経口追加免疫、及び経口惹起時の体温変化及び下痢症状スコアの結果を、Fig.3 及び Fig.4 に示す。体温に関して、OVA 群では、経口追加免疫時及び経口惹起時に、V 群と比較して有意な低下が見られた。OVA-TiO₂C po 群、OVA-TiO₂C pc+po 群でも同様に V 群と比較して有意な低下が見られた。また経口追加免疫 6 回目において、OVA-TiO₂C po 群では OVA 群と比較して体温が優位に低下し、OVA-TiO₂C pc+po 群でも OVA 群と比較してより低下する傾向が見られた。一方、OVA-TiO₂C po 群と OVA-TiO₂C pc+po 群との間では差は見られなかった。下痢症状に関しては、OVA 群、OVA-TiO₂C po 群、OVA-TiO₂C pc+po 群とも、V 群と比較して有意に高いスコアとなった。また、経口追加免疫 5 回目及び 6 回目では、OVA-TiO₂C po 群及び OVA-TiO₂C pc+po 群で、OVA 群と比較して優位に高いスコアとなった。一

方、OVA-TiO₂C po 群と OVA-TiO₂C pc+po 群との間では差は見られなかった。

C3. 安全性評価に関する国際動向調査

◆ EFSA テクニカルガイダンスに関するネットワーク会議 (2022 年 10 月)

食品及び飼料のナノテクノロジーに関する EFSA の科学ネットワーク会議の主な目的は、ガイダンス、ベストプラクティス、経験を共有し、EFSA と EU 加盟国間の情報交換を促進することにより、方法論の調和を促進することである。また、ナノネットワークは、国際的な調整、相互協力、国内適用に関する監視を確保し、優先的な研究ニーズにフラグを立てていくこととなっている。更に、EFSA は、データの収集や新たなリスクの特定、関心のある関係者との EFSA 関連ガイダンス文書に関する国内会議/トレーニング/ワークショップの組織化などの特定業務も委託が可能であるようである。以下に、各議題についての討論の概要を記す。

■ 粒子-技術要件に関するガイダンス (2021 年) を更新するために作成された「酸性条件下での分解/溶解速度」に関する付属書草案

Maria Chiara Astuto 氏 (EFSA) は、ナノテクノロジーに関する横断的ワーキンググループ (ccWG Nano) により作成された「酸性条件下での分解/溶解速度」に関する付属文書の草案を提示し、最近公表されたナノ粒子を含む小粒子の存在を確立するために規制した食品および飼料製品の用途に関する技術的要件に関するガイダンス (2021) (粒子-技術要件に関するガイダンス) を更新することになる。この新しい付属書の目的は、酸性 pH 下でのみ溶解する物質の溶解速度を決定するための研究設計と、乳幼児や小児に適用される閾値に関して、より詳細な勧告を提供することであり、4 月の科学委員会 (SC) 本会議での内部協議において、草案が承認されている。その後、寄せられたコメントに基づき、SC による承

認にむけた付属書草案の更新版が提示された。今回の会合では、ナノネットワークからの寄せられたコメントの議論と共に、SC 総会の採択に向けた本付属書の最終草案の議論が行われた。

■ ナノ材料に関する ANSES リスク評価方法論

Bruno Teste 氏 (フランス) は、ナノテクノロジーとナノ材料のリスク評価の分野における ANSES の最近の活動を紹介した。2021 年に ANSES は、「食品中のナノ材料の健康リスク評価ガイド」を発表し、2022 年末には、開発された方法論の実装の概念に関する事例として「二酸化チタンへのナノ特定リスク評価の実装に関する意見」の公表を予定した。本方法論は、4 つの柱からなる段階的アプローチで構成されており、評価対象の食品添加物に含まれるナノ粒子の割合に焦点をあてるものであった。ナノ粒子の割合は、ゴールドスタンダード技術される電子顕微鏡分析法によって識別されていた。材料が人工ナノ材料に分類される場合、若しくは完全に溶解しない場合には、ナノ特異的曝露評価と有害性の特定、および特性評価を実施することとなっている。EFSA と ANSES は、相互の改善と調和の可能性を議論するために、それぞれのテスト戦略について情報交換していき、さらなる議論を深めていく。

■ OECD のナノテクノロジー分野における継続的な活動と最近の成果

Mar Gonzalez 氏 (OECD) は、OECD の工業ナノ材料に関する作業部会 (WPMN) におけるナノテクノロジー分野の主な活動について、各試験と評価、曝露測定と曝露緩和、リスク評価と規制プログラム、先進材料とより安全で持続可能なイノベーションアプローチから成る内容について紹介した。OECD の主な業務の一つは、データシステムの相互の受け入れ対象となる化学物質の試験に関するガイドライン、およびガイダンスの適用に関する詳細な説明を提供する付属のガイダンス文書の作成である。また、最近、OECD テストガイドライン 125 の「ナノ材料の粒子サイズ

とサイズ分布」および、OECD テストガイドライン124の「産業用ナノ材料の体積比表面積の測定」が公表されており、さらにナノマテリアルに関する様々な分野で完了したプロジェクトや、進行中のプロジェクト、および将来のプロジェクトのリストが提示された。また、現在進行中のプロジェクトとして、GSPD (Guidance on Sample Preparation and Dosimetry) の改訂や、OECD Guidance on Grouping of Chemicals (GD 194) の 6.9 項の「製造ナノマテリアルに適用できる初期検討事項」、ナノマテリアルと先端材料検討のための TG/GD に関する残りのニーズについての検討などの概要が説明された。最近、OECD WPNM は、先端材料に関する活動を開始し、新規素材の安全性、革新性、持続可能性の側面に焦点をあて、ナノ材料と先端材料が循環型経済に支えられた安全で持続可能な方法での開発を確保に向けて、先端材料の戦略的アプローチを開発していると述べていた。現在、OECD は、ナノテクノロジーに関連する既存のツールを特定、分類する SSbD (Safe and Sustainable-by-Design) の開発に取り組んでいることが紹介された。

■ 進行中の活動および新たな懸念事項として

1. 新規 EFSA NAM 4 NANO プロジェクト

EFSA NAMS4NANO プロジェクトの概要と、優先すべき研究領域として「NAMs データ統合」を特定した新アプローチ方法論 (NAMs) に関する EFSA ロードマップの実施について紹介された。NAMS4NANO プロジェクトは 2 段階で開発され、第 1 段階では、NAM と既存のデータを統合するナノ材料に関する関連するケーススタディの設計と、NAM データの使用と EFSA リスク評価への統合を促進する方法論の開発に焦点を当てるものであった。第 2 段階は 2023 年から開始され、ナノプラスチックに関するケーススタディの設計、ナノ汚染物質のリスク評価ガイダンスの開発、ナノプラスチックの国際的なリスク評価の推進に重点を置く予定である。本プロジェクト成果は、データ統合アプローチの開発という点で、

NAMs に関する他の進行中の EFSA プロジェクトの成果との統合が予定されている。

2. NANOCELLUP プロジェクト

NANOCELLUP プロジェクトのプロジェクトの目的は、(1) ナノセルロース (NC) の危険性に関する現在のデータギャップに対処するための NAM ベースの一連の研究の設計および実施、(2) 食品を介して曝露された消費者に対する NC の規制上の有害性評価の結果を含めた提案について提供することであった。Tier 1 試験 (3 種類の NC 型に属する NC 材料パネルへの曝露後の細胞応答に関する情報) の結果は、NC (2-3 材料) の最終的な選択に使用される。Tier 2 試験ではマイクロバイームによる NC の消化/分解、消化管からの取り込みや、局所的な影響の評価に焦点が当てられる。また、Tier 2 試験で最も顕著な効果を示したものは、Tier 3 試験に供され、反復投与毒性が検討される。このプロジェクトには、IATA (Integrated Approach to Testing and Assessment) への作成と、NC の経口曝露有害性を評価するために提案された NAM ベースの各試験の詳細な試験プロトコルの更新を含んでいる。

NANOCELLUP プロジェクトは、Lot 1 として代表に「ナノファイバーの有害性評価のための NAM に関する EFSA プロジェクト」が割り当てられている。また、Lot 2 は、イタリア国立研究評議会 (CNR) に割り当てられており、本プロジェクトの目的は、最先端の技術と規制評価のため、in vitro gut-on-chip models の適合性の評価に関する探索作業を実施することである。本プロジェクトは 2023 年の第二四半期に終了予定である。

◆ 米国 FDA's Nano Day Virtual Research Symposium

食品接触物質 (FCS) の安全性評価概要と、ナノ材料を含む食品接触物質に関する FDA の見解について解説があった。

■ 食品接触通知 (FCN: Food Contact Notification) プログラムの背景

FDA が関与する多くの食品安全問題に食品成分や食品接触物質に関する安全性取り上げられている。連邦食品医薬品化粧品法(FD&C 法)が1938年に議会で可決後、1958年の食品添加物改正では、食品添加物の新規用途の市販前承認を義務付けると同時に、食品添加物の定義や安全基準および審査基準の設定が行われた。さらに、1997年の食品医薬品局近代化法(FDAMA)において、製造工程や包装を通して食品に移行する可能性のある食品接触物質(FCS)を定義し、食品添加物と同じ安全基準・審査基準を設けられ、1999年の食品接触通知(FCN: Food Contact Notification)プログラムにつながっている。FCSには「食品の製造、包装、梱包、輸送、または保持に使用される材料の成分として使用することを意図した物質で、その使用が当該食品に技術的効果をもたらすことを意図していないもの」と定義されており、その用途は、抗菌剤、脱酸素剤、安定化剤、エポキシ樹脂、製剤成分、着色料、紙用添加剤、モノマー、触媒、高分子材料、ポリマー改質剤、酸化防止剤、充填剤、加工助剤と多岐に渡っている。また、食品接触通知の必要となるのは、FCSの利用が許可されていない場合やFCSが米国成分規格21 CFRで規制されていない、または有効なFCSとして認可していない場合、既存FCNの変更、新規メーカーあるいはサプライヤー登録(有効なFCNは製造者固有)、新規の用途利用、製造方法の変更、不純物情報の変更、暴露量推定値の変更などを行う場合である。

■ 安全性評価

安全性の基準については、米国成分規格と使用基準が記載されている21 CFRの170.3項で「害がないことの合理的な確実性」を求められ、「その物質が意図された使用条件下で有害でないことが、適格な科学者の精神に基づいていること」としている。FCSの安全性は、予測されるリスクとベネフィットに依存する医薬品とは異なり、使用目的に応じて決定される曝露量に依存するため、消費者の曝露量を示す情報が求められるもので

ある。FCNに求められる化学的情報は、FCSそのものの特性のみならず、移行レベルと暴露量の推定が重要であると考えられた。意図された使用条件によってFCSが食品に移行した場合、その不純物を含めてどの程度の移行量があるのか評価し、消費者の最終的な曝露量の推定を行う。移行レベルは、実際の食品、あるいは食品中の測定が困難な場合は類似物を用い、使用レベル・食品の種類・接触時間・温度に関して意図された使用目的と合致した条件のもとで試験・評価を実施される。FCNで求められる毒性学的情報は、FCSおよびその成分に対する消費者の安全な曝露レベルを確立するために必要なデータであり、申請者が安全であると判断した科学的根拠となる説明(Safety Narrative: SN)と、安全性評価に関連する公表の有無にかかわらずあらゆる情報を含む。FDAは安全性評価において曝露量を基にした段階的なアプローチを行なっている。FCSへの消費者曝露を評価し、可能性のある食事摂取曝露量の安全性が毒性学的情報によって裏付けられていることを確認する。具体的には、日々の摂取量をEDI(Estimated Daily Intake)消費者曝露と定義し、累積推定一日摂取量(Cumulative EDI)と許容一日摂取量(ADI)を比較する。

■ ナノ材料を含む食品接触物質(FCS)に関連するガイダンス

FCSは、ナノスケールサイズにおいて量子効果により物理化学的特性が大きく変化することが知られており、2014年にFDAは、ナノ製品の責任ある開発支援を目的とした産業界向けのガイダンス文書を策定した。ナノマテリアルを含む製品を評価する際には、次の2つの要素を考慮するものであった。

その一つは、材料または最終製品自体のサイズであった。ナノスケール(約1nm~100nm)の範囲のサイズを少なくとも1つの次元で内部または表面構造に持つように設計されているかどうか、あるいは、そのサイズに起因する物理的・化学的特性または生物学的効果を含む特性・現象を示す

ように設計されているかどうか(1 μ m までであればナノスケール範囲外のサイズであっても) 考慮することが重要であった。

もう一つは、製造工程の変更である。FCS の製造工程は時間の経過とともに変化する可能性があり、それに伴い FCS の安全性特性全体が影響を受ける可能性が生じるというものであった。

このためガイダンス文書では、製造工程の一部の変更が食品の安全性や規制状況に与える影響の評価についての考察と提言を行なっている。特に重要と考えられる製造工程の変更では、1 つまたは複数の原材料の変更、原材料の濃度の変更、触媒の変更、微生物発酵由来の FCS に使用される微生物の供給源の変更(菌株の変更を含む)、あるいは、製造または成分技術の変更(FCS の粒度分布に影響を与えるような新興技術の使用など)である。

FDA は、ナノマテリアルを含むすべての製品を本質的に無害あるいは有害であると分類して判断を行なっているわけではなく、最終製品の特性や使用目的に沿った安全性を考慮している。従って、FCS がナノ粒子を含む場合の安全性評価は、FCS のナノスケール状態に関連するデータに基づいて実施され、人工ナノ物質された FCS が新しい物理化学的特性を持つ場合、FCS の安全性を判断するために追加または代替の試験方法が必要となる場合があった。また FDA は製造工程の変更に関して、FCS の同一性に加えられた変更を特定すること、FCS の使用に関する安全性評価を実施すること、FCS の種類に応じて規制状況に与える影響を検討することや、FDA に相談すること、そして十分な確証が得られた場合に適切に届出を行うことを推奨している。

■ Case Study

ケーススタディの例として、21 CFR の 177.2550 項にある逆浸透膜(RO 膜)が挙げられ、新しい RO 膜の安全性を判断する際にどのような考慮が必要であるかについて説明された。新しい RO 膜は、膜表面に存在する FCS であるポリアミ

ド樹脂中にナノマテリアルであるプロテオポリマーソーム層を埋め込むことで、従来と比較して特性が向上した複合体を形成することができる。ここで考慮すべき事項は、ナノマテリアルの導入によって FCS の同一性が変化したか、食品に移行する可能性はあるか、構成成分は安全なのか、あるいは FCS が 21 CFR 177.2550 項の規制対象外であることから FCS の固有性が規制状況を変更するかどうかであった。特に 21 CFR 177.2550 項では、FCS の固有性が規制の仕様に合致していないため、固有性が変更されると FCS の規制状況が変更されるために、FCS に対する暴露量とその不純物をバルク状態の FCS と同様に推定し、安全性評価を行う必要がある。

D. 考察

D-1. ナノ酸化チタンの経口反復投与毒性

尿検査では 6 nm 群で比重の増加が見られたが、軽微な変化であり、毒性学的な意義は乏しいと考えられた。血液学的検査において、TiO₂ 投与群で HGB、HCT、MCV、MCH の低下が見られた。これらは小球性貧血に関連する因子であることから鉄関連項目の生化学検査を実施したところ、全ての群で投与に伴う変動は見られなかった。HGB、HCT、MCV、MCH の低下はいずれも軽微であり、RBC の変動がなく、鉄関連項目の変動も見られなかったことから、これらの変化の毒性学的な意義は低いと考えられた。30 nm 群では WBC の低下が見られ、白血球分画では LYMPH および MONO の低下が見られたが、白血球百分率の変動は見られず、軽微な変化であることから毒性学的な意義は低いと考えられた。

血液生化学検査では、30 nm 群で ALB の有意な低下が見られたが、軽微な変化であり、A/G 比の変動は見られず、肝機能障害に関連する病理組織学的所見も見られなかったことから、偶発的な変化と判断した。30 nm 群で見られた Cl の増加と IP の低下、180 nm 群で見られた Na の低下と Cl の増加はいずれも軽微な変化であり、腎臓における病理組織学的変化など電解質異常を示唆するその他の所見が見られなかったことから偶発的な

変動と判断した。6 nm 群と 30 nm 群で見られた T-BIL の低下は、毒性学的な意義は乏しいと考えられた。

病理組織学的検査では、昨年度までの結果と同様に小腸パイエル板において黄褐色粒子の沈着が見られた。パイエル板に黄褐色粒子が見られた頻度に結晶子径による違いは見られず、沈着した粒子の量も同程度であった。30 nm 群および 180 nm 群で見られた小脳の空胞化は対照群でも見られた軽微な変化であり、毒性学的な意義は乏しいと考えられた。肺、胃、小腸、大腸、腎臓、精巣に石灰沈着が見られたが、対照群と同程度であり、標本作製上のアーチファクトの可能性もあり、TiO₂の投与に伴う影響ではないと考えられた。この他、種々の組織変化がみられたが、いずれも偶発性の変化であり毒性学的意義はないと判断した。

D-2. ナノ酸化チタン等の経皮/経口暴露による免疫毒性の解析

本研究班の目的は、食品及び食品用容器包装用途に使用され、経口及び経皮等から暴露されるナノマテリアル等の新規素材について、安全性評価に資するデータを蓄積することである。本分担研究では、化粧品等への配合とともに、着色あるいは遮光性・抗菌性を付与する目的で食品・容器包装に使用されるナノ酸化チタン等が、アレルゲン経皮感作後の経口暴露によるアレルギー症状発現に与える影響について検討する。

令和2年度においては、マウスを用いた抗原経皮感作・経口追加免疫・経口惹起実験系を使用して、アレルゲンの経口投与に対するナノ酸化チタンの影響について検討し、酸化チタン C (粒子径 6 nm・アナターゼ型) 及び酸化チタン E (粒子径 30 nm・アナターゼ型) が経口追加免疫を有意に増強すること、酸化チタン F (粒子径 30-50 nm・ルチル型) ではこのような増強効果は見られないことを示した。令和3年度においては、粒子径 15 nm・アナターゼ型の酸化チタン D では経口追加免疫及び経口惹起を増強する傾向が見られること、一方、粒子径 15 nm・ルチル型の酸化チタン A では

経口惹起のみ増強する傾向が見られることを示した。

令和4年度においては、粒子径 6 nm・アナターゼ型の酸化チタン C を経皮感作時及び経口追加免疫時の両過程において OVA と共存させ、その影響を検討した。用量は、これまでの検討において増強効果が見られた OVA:酸化チタン C 重量比=16:1 に基づき、経皮感作時は OVA 2 μg+TiO₂C 125ng、経口追加免疫時は OVA 30mg+TiO₂C 1.88mg とした。検討の結果、酸化チタン C はこれまでの検討と同様に、OVA 経皮感作及び経口追加免疫を増強したが、経皮感作時の共存による経口追加免疫増強効果に対する影響は見られなかった。これらの結果から、ナノ酸化チタンは、経皮感作及び経口追加免疫を増強するが、経皮感作時の共存により経口追加免疫増強を促進する効果は無いことが示唆された。

先行研究においては、ナノマテリアルの経皮感作増強効果は結晶型とは関係なく粒子径により異なり、粒子径が小さいナノマテリアルの方が経皮感作増強効果が大きいことが示唆されている。一方本研究ではこれまでに、粒子径 6-30 nm・アナターゼ型のナノ酸化チタンは、同程度の粒子径のルチル型のナノ酸化チタンと比較して、抗原経口追加免疫を増強する程度が大きいことが示されている。今後、本モデル実験系を用いて、経皮感作時及び経口追加免疫時のナノ酸化チタンの増強効果の作用機序について検討し、ナノマテリアルが免疫系に影響を与えるメカニズム等の解析を進めることが必要と考えられる。

D3. 安全性評価に関する国際動向調査

EFSA テクニカルガイダンスに関するネットワーク会議では、「酸性条件下での分解/溶解速度」に関する付属書草案が提示され、最近公表されたナノ粒子を含む小粒子の存在を確認するための規制対象食品および飼料製品の用途の技術的要件に関するガイダンス (2021) に酸性 pH 下でのみ溶解する物質の溶解速度を決定するための研究設計や、乳幼児や小児に適用される関

値に関するより詳細な勧告を追加提供するものとなっている。また、2021年にANSESは、「食品中のナノ材料の健康リスク評価ガイド」を発表すると共に、具体的な評価事例として「二酸化チタンへのナノ特定リスク評価の実装に関する意見」を公表した。今後も、より具体的なガイダンスの適用例や詳細な評価手法の開発に関する議論が行われていくものと考えられた。

また、2022年10月に開催されたFDA's Nano Day Virtual Research Symposiumの調査において、FCNにおいて求められる安全性評価に必要な情報は、FCSそのものの化学的特性のみならず、移行レベルと暴露量の推定が重要であることが示されている。移行レベルは、移行先の包装材の物理化学特性、食品の温度保存時間、包装材の大きさなど、いくつかの要因に依存するため、これらの要因に対してナノマテリアル（ナノテクノロジー）がもたらす特徴を把握することが重要である。そのためFDAのナノ材料を含む食品関連製品に対する企業向けガイダンスでは、ナノマテリアルを含む製品を評価する際に2つの要素、1つはサイズに依存する特性の変化、もう1つは製造工程の変更について考慮することとされている。そのため、FCSの安全性を判断するために追加または代替の試験方法が必要となる場合がある他、FCSの同一性に加えられた変更の特定やFCSの使用に関する安全性評価の実施が求められることもあり、FCSの種類に応じてFDAに相談し、適切に届出を行うことが推奨されている。FDAでは、ナノマテリアルを含むすべての製品を本質的に無害あるいは有害であると分類して判断しているのではなく、最終製品の特性や使用目的に沿った安全性を考慮する必要性を示している。

E. 結論

E-1. ナノ酸化チタンの経口反復投与毒性

結晶子径6、30、および180 nmのTiO₂を1000 mg/kg bw/dayの用量でF344/DuCrIcrljラットに

90日間投与したところ、いずれも毒性影響は見られなかった。小腸パイエル板における粒子の沈着は同程度であり、主要臓器中のチタン量の増加は軽微であった。以上の結果から、TiO₂の生体影響に対する結晶子径の影響は小さいことが示された。

E-2. ナノ酸化チタン等の経皮/経口暴露による免疫毒性の解析

食品及び食品用容器包装用途に使用され、経口及び経皮等で暴露されるナノマテリアル等の新規素材について、安全性評価に資するデータを蓄積するため、化粧品等への配合とともに着色あるいは遮光性・抗菌性を付与する目的で食品・容器包装に使用されるナノ酸化チタンが、アレルギー経皮感作後の経口暴露によるアレルギー症状発現に与える影響について検討した。OVA 2 μg×4回の経皮感作、OVA 30 mg×7回の経口投与による追加免疫、その後のOVA 50 mgの経口投与によりアレルギー症状を惹起する抗原経皮感作-経口追加免疫・経口惹起実験系を用い、令和4年度は、経皮感作時のナノ酸化チタンの共存がナノ酸化チタンによる経口追加免疫増強作用に与える影響について検討した。その結果、酸化チタンCでは、これまでの検討と同様にOVA経皮感作及び経口追加免疫に対する増強効果が見られたが、経皮感作時の共存による経口追加免疫増強作用は見られなかった。今後、ナノマテリアルの経皮/経口暴露が免疫応答に与える影響について、さらなる科学的知見を集積することが必要である。

E3. 安全性評価に関する国際動向調査

本研究では、食品関連分野におけるナノマテリアル並びに新規素材の安全性評価に関する国際動向を調査することを目的とする。R4年度は、欧州食品安全機関（EFSA）の食品と飼料のナノテクノロジーに関するネットワーク会議（2022年10月）に関する調査と、2022年10月開催された米国FDA's Nano Day Virtual Research Symposiumに参加しFDAのガイダンスが安全

評価性と規制状況に及ぼす影響について調査を実施した。EFSA ネットワークでは最近公表されたナノ粒子を含む小粒子の存在を確認するための規制対象食品および飼料製品の用途の技術的要件に関するガイダンス (2021) に対する付属書として提案されている「酸性条件下での分解/溶解速度」について科学委員会総会の採択に向けた最終草案の議論が行われていたことに加え、フランス食品環境労働衛生安全庁 (ANSES) が 2021 年に公表した「食品中のナノ材料の健康リスク評価ガイド」に関連する活動や OECD ナノマテリアル作業グループ (WPMN) 内のプロジェクト活動に関する情報共有が行われていた。米国 FDA の Symposium では、新規の食品接触物質の届出として行われている FCN 申請における安全性評価基準に照らして、2014 年に FDA が公表したガイダンスが示すインパクトについて解説が行われると共に、逆浸透膜 (RO 膜) の評価事例等によるケーススタディの紹介があった。今後の欧米における食品関連物質のナノマテリアル評価動向は、より具体的なガイダンスの適用例や詳細な評価手法の開発に関する議論が中心となっていくものと考えられた。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Akagi J-A, Mizuta Y, Akane H, Toyoda T, Ogawa K. Oral toxicological study of titanium dioxide nanoparticles with a crystallite diameter of 6 nm in rats. (2023) *Particle and Fibre Toxicology*, in press.
2. Saleh D., Luo S., Ahmed HM Omnia, Alexander DB., Alexander TW., Gunasekaran S., El-gazzar AM., Abdelgied M., Numano T., Takase H., Ohnishi M., Tomono S., Randa Hussein Abd el Hady, Fukamachi K., Kanno J., Hirose A., Jiegou Xu, Suzuki S., Naiki-ito A., Takashi S., Tsuda H. Assessment of the toxicity and carcinogenicity of double-walled carbon nanotubes in the rat lung after intratracheal instillation: a two-year study. *Particle and Fibre Toxicology*, 19:30(2022)

3. Hojo M, Maeno A, Sakamoto Y, Ohnuki A, Tada Y, Yamamoto Y, Ikushima K, Inaba R, Suzuki J, Taquahashi Y, Yokota S, Kobayashi N, Ohnishi M, Goto Y, Numano T, Tsuda H, Alexander DB, Kanno J, Hirose A, Inomata A, Nakae D: Two-year intermittent exposure of a multiwalled carbon nanotube by intratracheal instillation induces lung tumors and pleural mesotheliomas in F344 rats. *Part Fibre Toxicol.* 19, 38, 2022

F.2. 学会発表

1. 赤木純一, 水田保子, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子. ナノサイズ酸化チタン(IV)の毒性研究.第49回日本毒性学会学術年会. 2022年7月1日 札幌.
2. Ogawa K: Further facts from orally exposed nanomaterials. Global Summit on Regulatory Science 2022. 2022年10月20日 シンガポール.
3. 赤木純一, 水田保子, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子. ナノサイズ二酸化チタンの90日間反復経口投与毒性. 第59回全国衛生化学技術協議会年会. 2022年10月31日-11月1日 川崎.
4. 赤木純一, 水田保子, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子. ナノサイズ酸化チタンの90日間反復経口投与による毒性研究. 第39回日本毒性病理学会学術集会. 2023年1月25日-26日 東京.
5. Ogawa K, Akagi J, Mizuta Y, Akane H, Toyoda T. Oral toxicological study of titanium dioxide nanoparticles with a crystallite diameter of 6 nm in rats. 62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology. 2023年3月22日 米国ナッシュビル.
6. 赤木純一, 水田保子, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子. 結晶子径6 nmの超微小粒子径アナターゼ型二酸化チタンナノ粒子の反復経口投与毒性. 日本薬学会第143年会. 2023年3月27日 札幌.
7. 前野愛, 北條幹, 坂本義光, 湯澤勝廣, 長澤明道, 生嶋清美, 山本行男, 平松恭子, 矢野範男, 大貫文, 稲葉涼太, 鈴木仁, 横田理, 高橋祐次, 小林憲弘, 菅野純, 広瀬明彦, 猪

又明子、中江大. 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の2年間間欠気管内反復投与によるラット発がん性試験. 第49回日本毒学会学術年会 (2022.6.30)、札幌、ポスター

8. 北條幹：ラット気管内投与法によるナノマテリアルの発癌性の評価手法の発展と課題. 第49回日本毒学会学術年会 (2022.6.30)、札幌、シンポジウム、口演
9. 前野愛、北條幹、坂本義光、湯澤勝廣、長澤明道、平松恭子、大貫文、稲葉涼太、鈴木仁、横田理、高橋祐次、小林憲弘、広瀬明彦、猪又明子、中江大. 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の2年間間欠気管内投与によるラット肺腫瘍及び中皮腫の発生. 第39回日本毒学会学術年会 (2023.1.25-26)、船堀、ポスター
10. 高橋祐次、横田理、広瀬明彦、菅野純：ナノマテリアルの慢性吸入ばく露試験法の効率化、第49回日本毒学会学術年会、北海道 (2022.6.30) シンポジウム
11. Taquahashi Y, Yokota S, Tsuji M, Morita K, Suga K, Hojo M, Hirose A, Kanno J, Preliminary report on a two-year, 4-week-interval intermittent whole body inhalation study of the multi-walled carbon nanotube (MWNT-7) in male mice, SOT 2023 Abstract Number: 4715 (2023.3.22, Nashville)
12. Saleh D., Alexander TW., Alexander DB., Abdelgied M., El-gazzar AM., Ahmed HM Omnia, Gunasekaran S., Takase H., Naiki-Ito A., Suzuki S., Gi M., Taquahashi, Y., Hirose A., Kanno J., Tsuruoka S., Tsuda H. The toxic and carcinogenic potential of three different sizes of double-walled carbon nanotubes in the rat lung after intratracheal instillation. ICT 2022 The xvith international congress of toxicology、(2022.9.18-22, Maastricht)

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