

令和3年度 厚生労働科学研究費（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

研究課題名：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
分担研究課題名：食品関連分野の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

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：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
研究協力者：大畑 秀雄 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 研究員
研究協力者：最上 知子 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 客員研究員

研究要旨

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。R3年度は、欧州食品安全機関（EFSA）の科学ネットワーク主催による「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」に関する調査を行い、EFSAの新ガイドライン（2018年）を捕捉するテクニカルガイダンス案についての議論について調査した。ネットワークでは、二つのEFSAガイダンス文章（粒子に関するガイダンス、ナノに関するリスクアセスメントガイダンス）について議論された。さらに、最近、欧州委員会の要請を受けてEFSA FAFパネル（EFSA食品添加物・香料に関するパネル）が再評価した食品添加物としての二酸化チタン（E171）の安全性評価に関する科学的意見を新たに発表した内容や、RIVM社（オランダ）の合成アモルファスシリカ（SAS）ナノ粒子の経口曝露のリスク評価に関する取り組みや、PAROLSの腸管 *in vitro* モデルについての紹介があった。

一方、OECD ナノマテリアル作業グループの先端的ナノ材料についての Ad-Hoc Working Group に関する調査では、従来のナノ材料だけでなく、ナノマテリアルを含めた先端的材料やこれらを複合的に組み合わせた新規物質の製品開発・商品化の状況を見据えて、先端的材料（アドバンスドマテリアル：AdMa）と呼ぶ革新的な材料について、現行の化学物質の法規制やリスク評価ツールが、規制への備えを強化するなどの潜在的リスクに適切に対処しているかを評価する必要性についての議論が行われた。

A. 研究目的

近年、革新的なテクノロジーの進展に伴い、世界的にもナノマテリアルを用いた材料は、産業分野において消費者に幅広く利用され、今後、物質材料分野の新しい素材として更なる応用が期待されている。一方、ナノマテリアルの安全性に対する懸念は年々高まってきており、健康影響への可能性の指摘や、リスク管理において重要な課題となっている。しなしながら、現状では、ナノマテリアルの安全性や曝露などに関する科学的知見に乏しいことから、有害性に関する研究が積極的に進められている。欧州連合では、ナノマテリアルの安全性のデータの届出・登録の義務化への整備が進められており、米国においても米国環境保護庁(EPA)を主体に規制および監視の検討や、食品医薬品局(FDA)によるナノテクノロジー製品への規制および安全性評価に向けた業界向けに幾つかのガイダンス文書の作成が進められている。更に、ナノテクノロジーの応用により食品・食品容器分野においても積極的な利用が期待され、食品添加物や食品サプリメントなどへの使用が増えてきているが、毒性学的評価などの科学的知見についての情報は依然不足している。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

B. 研究方法

EFSA の新ガイドライン(2018年)を捕捉するテクニカルガイダンス案について、第11回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(2021年10月29日、Web会議)に関する調査を実施した。また、

OECD ナノマテリアル作業グループの先端的ナノ材料についての Ad-Hoc Working Group に関して2月に開催されたワークショップ(2022年2月9-10日、Web開催)に参加し、先端的ナノ材料について調査を実施した。

C. 研究結果

■ EFSA テクニカルガイダンスに関するネットワーク会議

2021年10月に開催された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で議長は、新しく発行された「粒子に関するガイダンス-技術的要求事項(TR)」と「ナノに関するガイダンス-リスクアセスメント(RA)」の背景とその対象範囲について説明した。2つのナノガイダンスは、ドラフトの段階でEFSAが各分野のパネルやユニット、ナノネットワークのメンバーやオブザーバー、関連するステークホルダーと複数回の協議を行い、国際的な動向を考慮されていた。

ナノ粒子を含む小さな粒子の存在を確認するための規制対象の食品および飼料製品申請のための技術要件に関するガイダンス(粒子に関するガイダンス-TR)は、EFSAの管轄下にある従来の材料にナノ粒子が存在する可能性を評価するために作成された。本ガイダンスは、評価対象の材料が「ナノに関するガイダンス-RA」の適用への必要性(すなわち、ナノ特異的なリスクアセスメントの必要性の有無について)を判断するための情報要件と評価ルートを提供するものであった。

食料および飼料製品に適用されるナノマテリアルのリスク評価に関するガイダン

ス：ヒトと動物の健康」(Guidance on Nano-RA)は、2018年に初版が発行され、その後、更新版が発行された。本ガイダンスの更新は、新たな科学的知見、「粒子に関するガイダンス-TR」で得られた新たな成果との調和や本ガイダンスを利用したステークホルダーからのフィードバックによって実施された。また、更新版では、材料がナノ特異的なリスク評価を必要とする場合に従うべき段階的アプローチが図示されていた。

ナノガイドラインは相互に補完的なものであり、申請者及びリスク評価者は、製品の最終用途に依存し、安全性評価のメインフレームであり続ける特定の部門別リスク評価の枠組みに統合されることを考慮する必要があると述べていた。

この紹介の後、ナノネットワークは、ナノテクノロジーの横断的ワーキンググループ(WG)のメンバーによって、ガイドラインの実施例と共に提示された。このプレゼンテーションでは、食品添加物、食品接触材料及び新規食品の分野におけるリスク評価書に関して、EFSAや他のパネル及びユニットからWGに寄せられた要望が取り上げられた。実施事例は、新たに公表されたナノガイダンス文書の最終化と、それらの実用性の改善にも役立つものであった。さらに得られた経験と教訓についての公開討論が実施された。

➤ 二酸化チタン (E171) 意見書

ナノネットワークは、Ana Rincon氏 (EFSA 食品成分・包装 (FIP) ユニット) と Jose Tarazona氏 (EFSA 科学委員会・新興リスク (SCER) ユニット) らにより、欧州委員会の要請を受けて EFSA FAF

パネル (EFSA 食品添加物・香料に関するパネル) で最近再評価された食品添加物としての二酸化チタン (E171) の安全性評価に関する科学意見が新たに公表されたことを紹介していた

(<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2021.6585>)。

再評価の意見書では、TiO₂ ナノ粒子 (NP) で得られたデータおよび拡張一世代生殖毒性 (EOGRT) 試験研究からのデータを含みパネルが信頼できると考えた新たな関連する科学的証拠に基づくものであり、食品添加物二酸化チタン (E 171) の最新の安全性評価を扱っている。E 171 の構成粒子のうち、最小外形寸法が 100 nm 未満のものは 50%未満であり、30 nm 未満の構成粒子は、粒子数の 1% 未満であることに留意するものであった。したがって、当委員会は、30 nm 未満の TiO₂NP を用いた研究は、E 171 の安全性評価との関連性は限定的であるとみなしていた。さらに当委員会は、TiO₂ 粒子の消化管吸収は低い、体内に蓄積する可能性がある」と結論付けていた。

一般毒性および臓器毒性に関する試験では、E171 では 1,000 mg/kg 体重/日まで、TiO₂ NP (>30 nm) では試験した最高用量の 100 mg/kg 体重/日まで有害影響を示さなかった。生殖および発生毒性に対する影響は、EOGRT 試験で実施された最高用量である 1,000 mg E 171/kg 体重/日まで観察されなかった。しかし、E171 による免疫毒性と炎症の可能性、及び TiO₂ NP による神経毒性の可能性の観察は、E171 による異常腺窩巢の誘導の可能性と共に、有害事象の可能性を示唆するものであった。

遺伝毒性に関する試験では、当委員会は、

TiO₂ 粒子は DNA 鎖切断および染色体損傷を誘発する可能性があるが、遺伝子突然変異を誘発する可能性はないと結論づけた。TiO₂ 粒子の物理化学的性質と *in vitro* または *in vivo* 遺伝毒性試験の結果の間には明確な相関関係は観察されなかったが、E 171 に存在する可能性のある TiO₂ 粒子の遺伝毒性に対する懸念は否定できなかった。遺伝毒性に対する複数の作用様式が並行して作用する可能性があり、TiO₂ 粒子により誘発される異なる分子メカニズムの相対的な寄与は不明であった。また、閾値作用様式が想定できるかどうかについても不明であった。加えて、遺伝毒性に関する TiO₂ 粒子サイズのカットオフ値は同定できなかった。TiO₂ NP (ナノ粒子) の潜在的な発がん作用を検討するために、適切にデザインされた研究はなく、入手可能なすべての証拠に基づいて、遺伝毒性の懸念は否定できず、多くの不確実性を考慮すると、当委員会は E 171 を食品添加物として使用した場合、もはや安全とは考えられないと結論づけていた。

また、ANS 委員会は、TiO₂ の吸収は限定的であると推測されることを考慮し、ラットの発がん性試験で確認された 2,250 mg/kg 体重/日の無毒性量 (NOAEL) から算出された安全域 (MoS) と、報告された使用量と分析データに基づいて算出された暴露量に基づき、E 171 は懸念されないと結論づけていた。

この評価には、E171 に関する FAF パネルの専門作業部会 (WG) が参加し、EFSA 科学委員会のナノテクノロジーと遺伝毒性に関する横断的 (cc) WG が支援するものであった。本ネットワークは、評価に使用された背景、

データ、方法論について紹介された。さらに、12000 件近い文献が内部文献レビューで選別され、*in vivo* と *in vitro* の実験研究を含む 500 件の文献が最終的に選択された。*in vivo* 毒性試験の評価では、関連性、信頼性、およびナノ材料試験特有の考慮事項について検討された。また、*in vivo* 毒性試験の評価では、関連性、信頼性、およびナノマテリアルを試験するための特別な考慮事項が検討され、さらに、遺伝毒性試験の評価では、結果の信頼性と妥当性についても検討されていた。結果の関連性が十分なレベルにある出版物のみがリスク評価の対象として考慮された。本ネットワークでは、E 171 の FAF パネル WG への研究設計と結果の関連性に関するナノに特化した考慮事項についての助言の基礎として、ナノテクノロジーに関する ccWG が考慮した要素を提示した。意見書の結果が示された後、将来の結果と影響について議論が行われた。

➤ 新たな展開に対する加盟国からのフィードバック

RIVM (オランダ国立公衆衛生環境研究所) の SAS (synthetic amorphous silica : 合成非晶質シリカ) に関する取り組みが紹介された。ナノネットワークでは、アニエス・オーメン氏 (オランダ、ccWG ナノテクノロジーメンバー) により、SAS ナノ粒子の経口曝露のリスク評価から得た経験について述べられていた (<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17435390.2021.1931724>)。

合成非晶質シリカ (SAS) は、食品添加物 E551 として食品に適用されており、凝集体や凝集塊を形成する非晶質二酸化ケイ素

(SiO₂) ナノ粒子で構成されているものであった。アニエス・オーメン氏は、SAS を用いた最近の経口毒性試験をレビューし、そのいくつかはケイ素 (Si) の組織内濃度を報告しているものであった。本ネットワークは、背景と評価に利用できる実験データの概要が紹介された後に、作業の結論と残された不確実性を提示し、このテーマに関する更なる情報と研究の必要性に関する提言が議論された。

➤ PATROLS プロジェクトの腸管 in vitro モデル

本ネットワークでは、Angela K・mpfer 氏 (IUF - ライプニッツ環境医学研究所) により、PATROLS で開発・応用されている先進的な腸管 in vitro モデルの概要が発表された。PATROLS は、組織のコンソーシアムによる現実的なナノ材料のハザード評価のための生理学的に定着したツールの開発と実施に焦点を当てた欧州プロジェクトである。主な目的は、一連の革新的な次世代ハザード評価ツールを確立し標準化することで、ヒトおよび環境システムにおける長期的かつ低用量の人工ナノ材料の曝露によって生じる悪影響をより適切に予測し、規制上のリスクの決定を支援することである。開発されたモデルが発表され、その実用化と規制当局への導入について短い議論が行われた。

➤ The GRACIOUS フレームワーク:ナノ材料のリスク評価を支援するためのグルーピングとリードアクロスへの応用

本ネットワークでは、最近終了した

GRACIOUS (Grouping, Read-Across, Characterisation and classification framework for regulatory risk assessment of manufactured nanomaterials and Safer design of nano-enabled products) プロジェクトの活動について、Vicki Stone 氏 (GRACIOUS Project Coordinator, Heriot-Watt University) によって紹介された。GRACIOUS は、ナノ材料とナノフォームのリードアクロスやクラス分類につながるグループ化の実用化を可能にすることで、非常に革新的な科学に基づくフレームワークを生成することを目的とした Horizon 2020 プロジェクトである。また、ナノ材料のグループ化とリード・アクロスリードアクロスフレームワークと試験・評価への統合アプローチ (IATA)、および SiO₂ ナノフォームの経口曝露への適用例が紹介された。その後、規制リスク評価へのこのアプローチの導入の可能性について議論が行われた。

その他、食品中のナノ粒子のスクリーニングと同定に関する欧州委員会 (EC) の共同研究センター (JRC : The Joint Research Centre) 主催のトレーニングに関心のある研究室についても情報提供が求められていた。また、ネットワークでは、RiskGONE (Science-based Risk Governance of Nano-Technology) というリスク管理の実践、およびすべての利害関係者に対するリスクの認識に関する明確な理解に基づき、ナノテクノロジーに関するリスク・ガバナンスの枠組みおよび科学に基づく確固たる学際的リスク管理手順を促進することを目的とした H2020 プロジェクトについての最近の活動についても報告された。このプロジェクト

の進行中の活動やワークプランについての紹介や、ナノテクノロジーのリスク・ガバナンス協議会の設立、およびナノテクノロジー対応材料の Safety by Design のコンセプトの推進が含まれていた。

■ OECD 先端的材料 Ad-Hoc Working Group のワークショップ (2022年2月9-10日、Web開催)

ナノマテリアル曝露により懸念されるヒト健康影響へのリスク評価の必要性の国際的な高まりを受けて、15年以上にわたり、これまでの化学物質のリスク評価・管理の枠組みを拡張する方向で様々な評価法の開発が進められている。経済協力開発機構(OECD)の工業ナノ材料作業部会(WPMN)では、従来のナノ材料だけでなく、ナノマテリアルを含めた先端的材料やそれらを複合的に組み合わせた新規物質の製品開発・商品化の状況を見据えて、先端的材料(アドバンスドマテリアル: AdMa)と呼ぶ革新的な材料について、2021年よりWPMN活動の対象とすることが正式にされ、新たな化学物質管理について議論の加速化を決定していた。また、これまでの工業用材料の登録や評価を対象とした活動範囲から、食品や医薬品も含めた先端的分野で使用される材料一般も対象として拡大してきている。さらに国際標準化機構(ISO)においても、TC229(ナノテクノロジー)において、AdMaについて検討が始まっている。本会議では、予測的なリスク・ガバナンスアプローチを開発することで、先端的ナノ材料の潜在的な予想外のリスクの発生を積極的に回避することが最も重要であると述べており、イノベーション・チェーンの初期段階で安全性

と持続可能性の問題に取り組むことで、後の段階での問題を防ぎ、イノベーションを支援することができることが示された。この目標に向けた先端的ナノ材料の新たな課題を系統的に同定するためのシステム(EWARNシステム)を利用して議論が行われた。また、ナノスケール(すなわち、ナノ材料を含むか、ナノ構造を特徴づける)に関して製造された材料であるAdMaに焦点を当て、そのライフサイクル全体を考慮した安全性、持続可能性、規制問題に関連する可能性が示された。さらにAdMaは、知識のギャップと行動の勧告を特定する戦略的アプローチの中で、安全性、持続可能性、および規制の適用範囲の改善について評価することを目指しており、AdMaに関する知識と、安全性、持続可能性、規制上の問題との関連性が高まった場合には、作業記述は後に改訂される可能性があると考えられた。

D. 考察

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、ネットワークメンバーは、ナノマテリアルのリスク評価に関する専門知識やEFSAとの将来的な協力関係についてフィードバックを求められていた。ナノマテリアルやナノ断片を含む材料の適用件数が増加しているにもかかわらず、各国の開発者や関係者によるEFSA 2018ガイダンスの直接的な利用頻度は、現時点でまだかなり低いものであることから、ナノネットワークでは、国家レベルでの申請者やリスク評価者による実施を促進するためにも、セミナーや教育で2つのガイダンス文書を普及させることが奨励されている。

アドバンスドマテリアル (AdMa) に関しては、再生可能エネルギー、電子移動、デジタル化、医療、資源の効率的な利用もしくは節約など、さまざまな分野で大きな可能性を秘めている。また、AdMa の中には、リサイクルや廃棄物処理など、ライフサイクル全体の持続可能性に関する課題を提起するものも含まれる。AdMa と革新的な製造プロセスは、イノベーション研究の焦点となっており、経済、社会、環境に対して将来的にも期待されるものである。AdMa のいくつかについては、従来の化学物質安全性の枠組みの中で、ナノマテリアルについて特定されたものと同様な課題や追加的な課題が生じることが予想される。AdMa の潜在的リスクは、化学組成以外の物理的性質な要素によって決定されると述べている。従って、従来のリスク評価が全ての AdMa の安全な適用と使用に対して常に保証できるかどうかという問題が生じてくる。従って、現行の化学物質の法規制やリスク評価ツールが、AdMa の潜在的リスクに適切に対処しているかについて評価する必要があると考えられる。

E. 結論

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。R3 年度は、欧州食品安全機関 (EFSA) の科学ネットワーク主催による「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」に関する調査を行い、EFSA の新ガイドライン (2018 年) を捕捉するテクニカルガイダンス案についての議論について調査した。その結果、二つの EFSA ガイダンス

ス文章 (粒子に関するガイダンス : Guidance on Particle - TR、ナノに関するガイダンス - リスクアセスメント : Guidance on Nano - RA) について議論された。さらに、最近、欧州委員会の要請を受けて EFSA FAF パネル (EFSA 食品添加物・香料に関するパネル) が再評価した食品添加物としての二酸化チタン (E171) の安全性評価に関する科学的意見を新たに発表した内容や、RIVM 社 (オランダ) の合成アモルファスシリカ (SAS) ナノ粒子の経口曝露のリスク評価に関する取り組みや、PAROLS の腸管 in vitro モデルについての紹介があった。

一方、OECD ナノマテリアル作業グループの先端的ナノ材料についての Ad-Hoc Working Group に関する調査では、従来のナノ材料だけでなく、ナノマテリアルを含めた先端的材料やこれらを複合的に組み合わせた新規物質の製品開発・商品化の状況を見据えて、先端的材料 (アドバンスドマテリアル: AdMa) と呼ぶ革新的な材料について、現行の化学物質の法規制やリスク評価ツールが、規制への備えを強化するなどの潜在的リスクに適切に対処しているかを評価する必要性についての議論が行われた。

F. 研究発表

(論文発表)

Ohno A., Okiyama Y., Hirose A., Fukuhara K.,
The position of the nitro group affects the mutagenicity of nitroarenes, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2022, 441, 115974

Maeno A, Sakamoto Y, Hojo M, Tada Y, Suzuki J, Inomata A, Moriyasu T, Hirose A.,
Kemuriyama N, Miyajima K, Nakae D. A case of spontaneous Zymbal's gland carcinoma with lung metastasis in an aged Fischer 344 rat. *J Toxicol Pathol.* 2021 Oct;34(4):353-358.

Cui H, Soga K, Tamehiro N, Adachi R, Hachisuka A, Hirose A, Kondo K, Nishimaki-Mogami T. Statins repress needle-like carbon nanotube- or cholesterol crystal-stimulated IL-1 β production by inhibiting the uptake of crystals by macrophages. *Biochem Pharmacol.* 2021 Jun;188: 114580.

Hojo M, Yamamoto Y, Sakamoto Y, Maeno A, Ohnuki A, Suzuki J, Inomata A, Moriyasu T, Taquahashi Y, Kanno J, Hirose A, Nakae D. Histological sequence of the development of rat mesothelioma by MWCNT, with the involvement of apolipoproteins. *Cancer Sci.* 2021 Jun;112(6):2185-2198.

(学会発表)

Akiko OHNO, Masatoshi WATANABE, Akihiko HIROSE : ナノマテリアルの物理化学的性状に基づく毒性評価手法への応用, 第 48 回日本毒性学会学術年会 (Hybrid 開催(2021.7.7-9) (神戸)

前野愛、北條幹、坂本義光、湯澤勝廣、長谷川悠子、長澤明道、生嶋清美、平松恭子、海鉾藤文、山本行男、安藤弘、田中和良、鈴木仁、猪又明子、守安貴子、高橋祐次、横田理、小林憲弘、広瀬明彦、中江大. 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の 2 年間ラット気管内反復投与試験における投与器具の違いによる毒性の比較 : 1 年経過時点での報告. 第 48 回日本毒性学会学術年会. (Hybrid 開催(2021.7.7-9) (神戸)

Akiko Ohno, Yoshio Okiyama, Akihiko Hirose, Kiyoshi Fukuhara : Docking study on the position of nitro groups affecting the mutagenicity of nitroarenes, 262nd ACS National Meeting & Exposition (online 開催) , Aug 22 - Aug 26, 2021 (Atlanta, GA)

Akiko Ohno, Akihiko Hirose, Kiyoshi Fukuhara : The position of nitro group affecting the mutagenicity of nitrated benzo[a]pyrenes、第 80 回日本癌学会学術総会 (Hybrid 開催) (2021.9.30-10.2) (横浜)

Akiko Ohno, Yoshio Okiyama, Akihiko Hirose, Kiyoshi Fukuhara : In silico analysis of mutagenicity of nitro polycyclic aromatic hydrocarbons, 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会 (Hybrid 開催) (2021.11.1-2) (横須賀)

大野彰子、西田明日香、飯島一智、高橋祐次、広瀬明彦、足利太可雄. in silico による TiO₂NPs の物性と THP-1 細胞への活性化の関連性解析、日本動物実験代替法学会第 34 回大会 (Hybrid 開催) (2021.11.13, 沖縄)

Ohno A, Watanabe M, Hirose A. Application to toxicity evaluation of silicone dioxide nanoparticles based on physicochemical properties using multivariate analysis method, The international chemical congress of PACIFIC BASIN SOCIETIES 2021 (2021.12.16-21, On line)

広瀬明彦、大野彰子、ナノマテリアルの有害性評価と今後の課題 : ナノマテリアル曝露に対するリスク評価法における国際動向、日本薬学会第 142 年会シンポジウム (オンライン開催) (2022. 3. 26)

Taquahashi Y, Yokota S, Morita K, Tsuji M, Suga K, Kuwagata M, Hojyo M, Hirose A, Kanno J. Preliminary report of the two-year, every 4-week-interval intermittent whole body inhalation study of the multi-walled

carbon nanotube in male mice, the 61st Annual Meeting of the Society of Toxicology, (Virtual, March 27-31, 2022)

Dina Mourad Saleh, Omnia Hosny Mohamed Ahmed, David B. Alexander, William T. Alexander, Hiroshi Takase, Makoto Ohnishi, Susumu Tomono, Jun Kanno, Akihiko Hirose, Satoru Takahashi, Hiroyuki Tsuda Two-Year study for the Assessment of the carcinogenic and toxic effect of double walled carbon nanotubes in the rat lung after

intratracheal instillation. the 61st Annual Meeting of the Society of Toxicology, (Virtual, March 27-31, 2022)

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）