

リスク評価候補物質選定参考資料

1 同じ化学組成の物質等と異なる有害性が認められるかどうか

表 1（2～9 ページ）に有害性情報の概要を示す。

この表は、中央労働災害防止協会が実施した情報収集調査結果（平成 22 年度厚生労働省委託調査）により得られた有害性情報の概要をとりまとめ、必要に応じ、粒子サイズを限定しないポリスチレンの有害性情報をスチレン工業会のモデル MSDS により補足した。

2 技術的な観点から、当面、リスク評価の実施が可能であるかどうか

（1）有害性評価の観点から評価値の設定が可能であるかどうか

① 関係機関による許容濃度等の設定状況

上記の委託調査結果では、ナノサイズに限定したポリスチレンに関する許容濃度等の設定の情報は得られなかった。

② 評価値の設定に利用可能な試験データの状況

上記の委託調査結果で得られた有害性試験データの概要は表 1（2～9 ページ）のとおり。

（2）ばく露実態の把握が可能であるかどうか

① 公表されている主要な測定方法の状況

表 2（ナノマテリアル全体を対象とした測定方法）（10 ページ）のとおり。

② 労働現場におけるばく露実態調査の例

上記の委託調査結果では、労働現場におけるばく露実態調査の情報は得られなかった。

表1 ポリスチレンの有害性情報

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
1 発がん性	該当情報なし。 ¹⁾	IARCは粒子サイズを限定しないポリスチレンを「グループ3」（ヒト発がん性については分類できない）としている。
2 生殖毒性	該当情報なし ¹⁾	知見なし ²⁾
3 神経毒性	報告書に記載なし ¹⁾	単回ばく露（中枢神経系）及び反復ばく露（神経系）について、知見なし ²⁾
4 肺毒性	<p>[出典] Duffin <i>et al.</i> (2007)¹⁾</p> <p>[試験方法] ラット（Wistar ラット）への気管内投与</p> <p>[試料] 3種類中1種類がナノサイズ 64 nm</p> <p>[用量] 125 μg（表面積 111.6 cm²）、1,000 μg（表面積 893 cm²）</p> <p>[結果]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ <u>表面積と BALF 中の好中球の数に有意な相関を認めた。</u> ・ <u>粒子の表面積のみが肺の炎症に関与していると報告されている。</u> 	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 202 nm、535 nm</p> <p>[用量] 125 μg（表面積それぞれ 35.4、13.4 cm²） 1,000 μg（表面積それぞれ 283、107 cm²）</p> <p>[結果] 同左</p>
5 遺伝毒性	<p>[出典] Kawata <i>et al.</i> (2009)¹⁾</p> <p>[試験方法] 小核試験（ヒト hepatoma HepG2 細胞）</p> <p>[試料] ポリスチレンナノ粒子（15 nm）</p> <p>[結果] コントロールと比べて有意差は認めず、<u>遺伝毒性は認めなかった。</u></p>	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
6 その他の有害性	<p>[出典] Yanagisawa <i>et al.</i> (2010)¹⁾</p> <p>[試験方法] マウス (NC/Nga マウス) に皮内注射</p> <p>[試料] ポリスチレンナノ粒子 (25 nm、50 nm、100 nm) 他にダニアレルゲン</p> <p>[用量] 20 μg</p> <p>[結果]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・対象物質は、ダミアレルゲンによって起こされた皮膚炎を悪化させた。 ・対象物質はアトピー様皮膚炎を悪化させ、<u>その作用はナノ粒子のサイズに依存するとされている。</u> 	<p>[出典] Phillips and Marks (1961)²⁾</p> <p>[試験方法] 飼料中に4%配合し、ラットに55週間経口投与</p> <p>[結果] <u>影響なし</u></p> <hr/> <p>[出典] Thiess, Friendheim and Rossman (1976)²⁾</p> <p>[試験方法] 飼料中に5%配合し、ラットに2年間経口投与</p> <p>[結果] <u>影響なし</u></p>
	<p>[出典] Fernandez-Urrusumo <i>et al.</i> (1996)¹⁾</p> <p>[試験方法]</p> <p>マウスの後眼窩静脈叢に静注 (単回、5回、10回) 投与後、マクロファージの食食能をみるため、カーボン粒子 (170 nm) を用いた phagocytic index 値 (PI) を調査</p> <p>[試料] 2種類のうち1種類がナノサイズ (100 nm)</p> <p>[用量] 200 mg/kg 単回、20 mg/kg × 5 又は 10 回</p> <p>[結果]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・いずれも <u>PIは無処理群と有意差がなかった。</u> ・5、10回投与群の肝、脾重量を測定したが、無処理群と有意差がなかった。 	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 400 nm</p> <p>[用量] 同左</p> <p>[結果] 同左</p>

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
6 その他の有害性 (つづき)	<p>[出典] Mayer <i>et al.</i> (2009) ¹⁾</p> <p>[試験方法] ボランティアから採取した全血、血漿を使用して、顆粒球活性、赤血球溶血、血漿凝固、補体活性への影響を調査</p> <p>[試料] 以下のとおり (一部はナノサイズよりも大きい) +帯電の amidine white polystyrene latex (220 nm) -帯電の carboxyl white polystyrene latex (26、34、62、160 nm)</p> <p>[結果]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ <u>すべての粒子が顆粒球を活性化させたが、26 nm の粒子が最も顆粒球を活性化させ、220 nm の粒子の活性化率が一番低かった。</u> ・ <u>2 mg/ml ではすべての粒子で溶血を起こしたが、0.5 mg/ml では-帯電の小さい粒子の方が溶血を起こし、160 nm の粒子では溶血はみられなかった。</u> ・ <u>CD62P/CD42b 標識での血小板活性は、0.5 mg/ml では 26 nm の粒子のみで CD62P の増加がみられたが、2 mg/ml ではすべての粒子で血小板が活性化された。</u> ・ <u>+帯電の粒子では補体 (C3a、C5a) 活性化を引き起こしたが、-帯電の粒子では補体活性に影響はなかった。</u> <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> <p>[出典] Xia <i>et al.</i> (2004) ¹⁾</p> <p>[試験方法] Balb/c マウス由来のミトコンドリアを用いて、mitochondrial Ca²⁺ retention capacity assay、mitochondrial swelling assay で評価</p> <p>[試料] 100 nm 以下の粒子</p> <p>[結果] <u>ミトコンドリアへの影響はみられなかった。</u></p>	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 同左</p> <p>[結果] 同左</p>

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
6 その他の有害性 (つづき)	<p>[出典] Xia <i>et al.</i> (2006)¹⁾</p> <p>[試験方法] 活性酸素種 (ROS) の産生を検討するため、murine macrophage cell line (RAW 264.7) と粒子 (10 μ g/ml) を 12 時間反応させ、H₂O₂ と O₂ の生成をみた。</p> <p>[試料] 以下のとおり。(一部はナノサイズよりも大きい。) ポリスチレン (PS) 68 nm NH₂-PS 65 nm、648 nm COOH-PS 56 nm</p> <p>[結果] ・ <u>65 nm の NH₂-PS で ROS の有意な産生、GHS の枯渇を認めた。</u> ・ これらは、カルシウム取り込みの増加と細胞小器官の障害をとおしたミトコンドリアの障害によるとされている。 ・ また、炎症を伴わないミトコンドリアの障害、細胞死がみられた。</p>	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 同左</p> <p>[結果] 同左</p>
	<p>[出典] Yacobi <i>et al.</i> (2007)¹⁾</p> <p>[試験方法] 気管支上皮細胞バリアへの影響をみるため、AT-1 細胞様の性質をもつ初代培養マウス単層気管支上皮細胞に対象物質をばく露 (706 μ g/ml まで) させ、transmonolayer resistance と equivalent short-circuit current で評価した。</p> <p>[試料] 以下のとおり。(一部はナノサイズよりも大きい。) carboxylate-modified 粒子 (20 nm、100 nm) amidine-modified 粒子 (20 nm、120 nm)</p> <p>[結果] <u>非ばく露群との有意差は認められなかった。</u></p>	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 同左</p> <p>[結果] 同左</p>

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
6 その他の有害性 (つづき)	<p>[出典] Xia <i>et al.</i> (2006)¹⁾</p> <p>[試験方法] MTS assay による細胞毒性試験</p> <p>[試料] 以下のとおり。(一部はナノサイズよりも大きい。) NH₂-PS (60nm、200nm)、COOH-PS (60nm)、PS (60nm)</p> <p>[結果]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ NH₂-PS (60nm) と 5 つの cell line を用いたところ、macrophase (RAW264.7) と epithelial cell (BEAS-2B) では用量依存的に細胞活性が減少し、human microvascular endothelial cell、hepatoma cell、pheochromocytoma cell では 50 μg/ml 以上の濃度でのみ有意な減少がみられた。 ・ 上記の 4 種類の試料と RAW264.7 を用い、25 ~ 200 μg/ml の濃度で反応させたところ、<u>NH₂-PS (60nm) のみ細胞活性が減少した</u>。BEAS-2B でも同様であった。 ・ 蛍光法を用いた解析で、細胞特異的な取り込みメカニズムによって細胞毒性が異なることが分かった。 	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 同左</p> <p>[結果] 同左</p>
	<p>[出典] Clift <i>et al.</i> (2008)¹⁾</p> <p>[試験方法] murine "macrophase-like" cell (J774,A1 細胞) を用いて、対象物質を 50 μg/ml で反応させ、細胞毒性を MTT,LDH assay でみた。</p> <p>[試料] 以下のとおり。(一部はナノサイズよりも大きい。) carboxylate modified microsphere polystyrene beads 20 nm、200 nm</p> <p>[結果] 2 時間反応において、<u>両者とも細胞毒性は認められなかった</u>。</p>	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 同左</p> <p>[結果] 同左</p>

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
6 その他の有害性 (つづき)	<p>[出典] Matsuoka <i>et al.</i> (2009) ¹⁾</p> <p>[試験方法] チャイニーズハムスターの lung derived cell line を用いた colony formation assay による細胞毒性試験</p> <p>[試料] 2種類のうち1種類はナノサイズ(100 nm)</p> <p>[結果] <u>両粒子とも、100 μg/mlの高濃度まで処理しても細胞毒性を示さなかった。</u></p>	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 200 nm</p> <p>[結果] 同左</p>
	<p>[出典] Kawata <i>et al.</i> (2009) ¹⁾</p> <p>[試験方法] ヒト hepatoma HepG2 cell を用いた neutral red uptake assay による細胞毒性試験</p> <p>[試料] ナノ粒子(15 nm)</p> <p>[結果] <u>3.0mg/l以下で有意な毒性は認めなかった。</u></p>	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
6 その他の有害性 (つづき)	<p>[出典] Frohlich <i>et al.</i> (2009)¹⁾</p> <p>[試験方法] ヒトの endothelial cell line (EAhy926) を用いた以下の5つの assay による細胞毒性試験 formazan bioreduction、ATP content、neutral red uptake、sulforhodamine B staining、leucin uptake</p> <p>[試料] 以下のとおり。(一部はナノサイズよりも大きい。) carboxyl polystyrene latex bead (20,40,60,140,200,500 nm) carboxylate-modified polystyrene latex bead (20 nm) amidine polystyrene latex bead (200 nm)</p> <p>[結果] <u>20 nm の carboxyl polystyrene latex bead と carboxylate-modified polystyrene latex bead では細胞毒性を示し、アポトーシス、壊死による細胞障害がみられた。それ以外では毒性は認められなかった。</u></p>	<p>[出典] 同左</p> <p>[試験方法] 同左</p> <p>[試料] 同左</p> <p>[結果] 同左</p>

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外に関する情報
6 その他の有害性 (つづき)	<p>[出典] Thubagere and Reinhard (2010) ¹⁾</p> <p>[試験方法] ヒトの腸粘膜への影響をみるため、対象物質をヒト colorectal adenocarcinoma cells と 16 時間反応させ、live/dead cell assay と apoptosis assay を行った。</p> <p>[試料] カルボン酸とアミンで修飾されたポリスチレンナノ粒子 20carb、40carb、40amine</p> <p>[結果] ・細胞への取り込み率は、20carb、40carb、40amine の順で、6.6 nM では、20carb が 40amine の 5 倍以上であった。 ・live/dead cell assay の結果、20carb は、4.0 nM 以下で細胞活性が 90 % 以上あったが、<u>6.6 nM では 40 % に減少した。</u> 40carb は、4.0 nM で 78 %、<u>6.6 nM では 35 % まで減少した。</u> 40amine は、<u>6.6 nM で 40carb の 2 倍以上の活性があった。</u></p> <hr/> <p>[出典] Foucaud <i>et al.</i> (2007) ¹⁾</p> <p>[内容] 50 μg/ml 下での 20 nm ポリスチレンの酸化能を調べ、100 μM の過酸化水素と同等であったと報告している。</p> <p>(Koike and Kobayashi (2006)、Stone <i>et al.</i> (2000)、Brown <i>et al.</i> (2004) では、酸化ストレスはナノ粒子の毒性のパラメーターであり、毒性評価には酸化能の評価が重要とされている。)</p>	

注： 1) は、「ナノマテリアルに係る有害性等の情報収集報告書」(平成 23 年 3 月中央労働災害防止協会)により作成
2) は、ポリスチレン工業会のホームページに掲載されているモデル MSDS により作成

表2 公表されている主要な測定手法の状況

文献名	目的等	測定手法の概要
<p>OECD Joint Meeting of the Chemical Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology</p> <p>"Emission Assessment for Identification of Sources and Release of Airborne Manufactured Nanomaterials in the Workplace :Compilation of Existing Guidance" (2009)</p>	<p>OECD工業用ナノマテリアル作業部会プロジェクト8の取組の一環として、労働現場におけるナノマテリアルの simple semi-quantitative determination を示したもの（対象はナノマテリアル全体）</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・CPC及びOPCによる測定によって、バックグラウンドに対する気中粒子数の増加を求める。 ・バックグラウンドに対し、気中の粒子数が10%以上増加している場合は、フィルターによるサンプリングを行い、電子顕微鏡（TEM又はSEM）により粒子の識別及び重量濃度の測定を行う。 ・必要に応じ、比較的大きな粒子を取り除くために、カスケードコンパクターやサイクロンを用いる。
<p>NIOSH</p> <p>"Nanoparticle Emission Assessment Technique for Identification of Sources and Releases of Engineered Nanomaterials" (2009)</p>	<p>「安全なナノテクノロジーへのアプローチ (Approaches to Safe Nanotechnology)」の付属書として、ナノマテリアル全体を対象とした Initial Assessment の手法を示している。</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・半定量的なアプローチとして、CPC、OPC による粒子個数濃度の測定とフィルターによるサンプリングの組合せを示している。 ・粒子個数濃度を測定し、バックグラウンドの濃度からの高まりが見られる場合は、フィルターによるサンプリングを行う。 ・フィルターで捕集したサンプルを用いて、電子顕微鏡による粒子の識別と特性の把握を行い、一方で、重量濃度の把握のための化学分析を行う。