

## 有害性評価書

### 物質名：酸化チタン（ナノ粒子）

#### 1. 化学物質の同定情報<sup>1)</sup>

名 称：酸化チタン（IV）

別 名：二酸化チタン

化 学 式：TiO<sub>2</sub>

分 子 量：79.9

CAS 番号：酸化チタン： 13463-67-7

ルチル型： 1317-80-2

アナターゼ型：1317-70-0

労働安全衛生法施行令別表 9 (名称を通知すべき有害物) 第 191 号

#### 2. 物理化学情報

##### (1) 物理的・化学的性状<sup>1)</sup>

外 観：無色～白色の結晶性粉末

密度：3.9～4.3 g/cm<sup>3</sup>

沸 点：2500～3000 °C

融 点：1855 °C

溶解性（水）：溶けない

##### (2) 物理的・化学的危険性<sup>1)</sup>

ア 火災危険性：不燃性

イ 爆発危険性：報告なし

ウ 物理的危険性：報告なし

エ 化学的危険性：報告なし

##### (3) その他

酸化チタンには、アナターゼ（Anatase；鋭錐石）、ルチル（Rutile；金紅石）、ブルカイト（Brookite；板チタン石）の 3 種の結晶形態がある。このうち、工業的に利用されているのはルチルとアナターゼで、ブルカイトは工業面の利用はない。

#### 3. 生産・輸入量／使用量／用途

生産量<sup>2)</sup>：(ナノ酸化チタン（ルチル型、アナターゼ型合計） 13,490 トン（2010 年）

用途<sup>2)</sup>：(ルチル型) 化粧品、塗料、トナー外添剤、ゴム充填剤、反射防止膜  
 (アナターゼ型) 光触媒、工業用触媒担体塗料、  
 製造業者<sup>3)</sup>：石原産業、堺化学工業、チタン工業、テイカ、富士チタン工業

#### 4. 健康影響

##### (1) 実験動物に対する毒性

##### ア 急性毒性

##### 致死性

- ・経口試験にて二酸化チタンナノ粒子の LD50 が 5000 mg/kg 体重以上であった 1 報告<sup>17)18)19)</sup> 以外は、得られていない。

	マウス	ラット	ウサギ
吸入、LC50	情報なし	情報なし	情報なし
経口、LD50	情報なし	5,000 mg/kg bw 以上 Uf-C (P25 と同じ)	情報なし
経皮、LD50	情報なし	情報なし	情報なし
腹腔内 LD50	情報なし	情報なし	情報なし

Uf-C : P25 ; 中位径 21nm, 表面積 38.5 m<sup>2</sup>/g, 79%アナターゼ/21%ルチル、表面活性 0.9 delta b (ブランクに対する活性比)、蒸留水中の粒径 (動的光散乱 (DLS) 径) 140±44 nm

##### 健康影響

##### 気管内注入試験

- ・一次粒径 20nm (Degussa 社製 表面積 50 m<sup>2</sup>/g) および 250 nm (Fisher 社製 表面積 6.5 m<sup>2</sup>/g) のアナターゼ型 TiO<sub>2</sub> 粒子を雄性 F344 ラットに 500 µg/匹を気管内注入し、注入後 24 時間時点において肺の炎症を検討した<sup>20)</sup>。一次粒径 20 nm の TiO<sub>2</sub> 粒子を注入したラット群は、BALF 中の総細胞数、マクロファージ数、好中球割合のいずれについても対照群と比較して有意に高く、250 nm の TiO<sub>2</sub> 粒子を注入した群と比べてより重度の炎症反応を引き起こした。
- ・一次粒径 29 nm の TiO<sub>2</sub> 粒子 (Evonik Degussa 社製) および一次粒径 250 nm の TiO<sub>2</sub> 粒子 (Tioxide Ltd.社製) を Wistar 系雄性ラットに、125 と 500 µg/匹の 2 用量を気管内注入し、注入後 24 時間後の炎症反応を調べた<sup>21)</sup>。BALF 中の好中球比率、γ-glutamyl transpeptidase (γ-GTP) 活性、タンパク濃度、LDH 濃度は、粒径 29 nm の TiO<sub>2</sub> 粒子 500 µg を注入したラット群のみにおいて、有意な増加が認められた。

- 一次粒径 21 nm の P25-TiO<sub>2</sub> ナノ粒子 (Evonik Degussa 社製、P25: 表面積 38.5 m<sup>2</sup>/g, 79%アナターゼ/21%ルチル) を雄性 F344 ラットに 0.26, 0.52, および 1.04 mg/匹の 3 用量を気管内注入, 最高 42 日間の観察期間をおき、肺の病理組織および BALF 検査が行われた<sup>22)</sup>。P25-TiO<sub>2</sub> ナノ粒子の注入により BALF 中の好中球数, LDH, アルブミン濃度, およびサイトカイン (TNF- $\alpha$ , MIP-2, IL-28 など) 濃度の有意な増加が持続した。また、粒径 1  $\mu$ m の TiO<sub>2</sub> 粒子 (Sigma Aldrich 社製:#224227、ルチル型) を, P25-TiO<sub>2</sub> ナノ粒子と同等の表面積用量を気管内注入し, 肺の炎症反応を比較した。同様に炎症反応が増加したが、P25-TiO<sub>2</sub> ナノ粒子の方がより低い用量 (粒子重量) で大きな変化が見られた。
- DuPont 社製の一次粒径 300 nm のルチル型 TiO<sub>2</sub> 粒子 (R-100), 幅 20–35 nm, 長さ 92–233 nm のロッド形状をしたアナターゼ型 TiO<sub>2</sub> 粒子 (nano rod), 一次粒径 5.8–6.1 nm のアナターゼ型 TiO<sub>2</sub> 粒子 (nano dot) の 3 種類の粒子を雄性 SD ラットに 1 および 5 mg/kg を気管内注入し, 3 ヶ月まで肺の炎症を比較した<sup>23)</sup>。いずれの TiO<sub>2</sub> 粒子ばく露群でも 1 mg/kg ばく露群ではほとんど影響が認められず, 5 mg/kg ばく露群では注入後一過性の炎症で 1 週間までには対照群と同程度まで回復した。
- 粒径の異なる 4 種類の TiO<sub>2</sub> 粒子 (Table 1 参照、F-1 は fine 粒子、uf-1, uf-2, uf-3 は ultrafine 粒子である)、すなわち、R-100 TiO<sub>2</sub> 粒子, DuPont 社製の粒径約 140 nm のルチル型 TiO<sub>2</sub> 粒子 2 種類 (uf-1 および uf-2), および uf-3 TiO<sub>2</sub> ナノ粒子 (P25) を 1 および 5 mg/kg を雄性 SD ラットに気管内注入し, 注入後 3 ヶ月まで、同様に肺の炎症を比較した<sup>24)</sup>。その結果, uf-3 以外の 3 種類の TiO<sub>2</sub> 粒子では、一過性の軽微な炎症が引き起こされた。一方, uf-3 TiO<sub>2</sub> 粒子では、炎症細胞数・炎症バイオマーカーの増加および肺組織の炎症が持続した。

Table 1. Warheit らが試験に使用した二酸化チタンの物理化学的特性<sup>24)</sup>

試料	結晶構造	中位径 (nm)		比表面積 (m <sup>2</sup> /g)	pH		表面活性 delta b*
		in water*	in PBS		deionized water	in PBS	
F-1	ルチル	382.0 ±36%	2667.2 ±35%	5.8	7.49	6.75	0.4
uf-1	ルチル	136.0 ±35%	2144.3 ±45%	18.2	5.64	6.78	10.1
uf-2	ルチル	149.4 ±50%	2890.7 ±31%	35.7	7.14	6.78	1.2
P25 (uf-3)	アナターゼ 80%/ ルチル 20%	129.4 ±44%	2691.7 ±31%	53.0	3.28	6.70	23.8

\*:界面活性剤として 0.1%ピロリン酸四ナトリウムを含む水

delta b : ブランクに対する活性比

- 一次粒径の違いが肺に及ぼす影響を検討するために、石原産業社製 3 種類のアナターゼ型 TiO<sub>2</sub> 粒子 (一次粒径 5, 23, および 154 nm) 5 mg/kg を雄性 SD ラットに気管内注入し、肺の炎症を検討した<sup>25)</sup>。いずれの TiO<sub>2</sub> 粒子でも、注入後 1 週間あるいは 1 ヶ月時点までで回復する一過性の炎症反応であり、一次粒径の違いによる反応の差異は認められなかった。さらに凝集状態の差異の検討を行うために、一次粒径 5 nm 粒子を用いて、二次粒径 18, 65, および 300 nm の粒子を作製、5 mg/kg を気管内注入し、同様に肺の炎症を比較した。いずれの TiO<sub>2</sub> 粒子でも、注入後 1 週間あるいは 1 ヶ月までに回復する一過性の炎症反応であり、二次粒径の違いによる反応の差異は認められなかった。

#### 経口試験

- サイズの異なる 2 種類のナノ TiO<sub>2</sub> (サイズ: 25 nm または 80 nm, 純度: > 99%, Hangzhou Dayang Nanotechnology 製) またはファイン TiO<sub>2</sub> (サイズ: 155 nm, 純度: > 99%, Zhonglian Chemical Medicine 製) を、雌雄 CD-1(ICR)マウスに 5 g /kg を単回経口投与した<sup>36)</sup>。投与 2 週後の雌マウスにおいて、Ti は主に、肝臓、腎臓、脾臓および肺に蓄積し、3 群の比較では、80 nm TiO<sub>2</sub> 投与群では肝臓で最も高く、25 nm TiO<sub>2</sub> および 155 nm TiO<sub>2</sub> 投与群では脾臓で最も高かった。雄マウスでは、25 nm および 80 nm TiO<sub>2</sub> において、腎毒性の指標である血清中の尿素窒素 (BUN) およびクレアチニン(CR)濃度の上昇が認められた。雌マウスでは、25 nm TiO<sub>2</sub> 投与群の血清 BUN レベル、ALT および ALT/AST 比が、25 nm および 80 nm TiO<sub>2</sub> 投与群で血管系損傷の指標である血清 LDH および  $\alpha$ -hydroxybutyrate dehydrogenase ( $\alpha$ -HBDH) レベルが高値であった。病理組織学的所見は雌雄とも同様であり、80 nm および 155 nm TiO<sub>2</sub> 投与群において、海馬領域の細胞減少、肝臓に中心静脈周囲の水腫性変性および肝細胞の散在性壊死が観察された。また、80 nm TiO<sub>2</sub> 投与群で、腎尿細管、155 nm TiO<sub>2</sub> 投与群では腎系球体の重度な腫脹がみられた。心臓、肺、精巣、卵巣および脾臓には TiO<sub>2</sub> 投与の影響はみられなかった。25 nm TiO<sub>2</sub> 投与群ではいずれの組織にも病理組織学的変化は認められなかった。

#### イ 刺激性及び腐食性

- ultrafine TiO<sub>2</sub>-C (uf-C : P25: 表面積 38.5 m<sup>2</sup>/g, 79%ルチル、21%アナターゼ、表面活性 0.9 delta b (ブランクに対する活性比)、蒸留水中の粒径 (動的光散乱 (DLS) 径) 140±44 nm 液中の pH 4.8) 0.5g をニュージーランド白色ウサギに塗布し、急

性皮膚刺激試験を行った<sup>17)</sup>。二酸化チタンを4時間塗布し、その後72時間まで、Draize スコアを評価し、皮膚の刺激性は認められなかった。8週齢の雄ヘアレスラットの皮膚にTiO<sub>2</sub>ナノ粒子(ST-01, アナターゼ型, 1次粒子径26.7 nm、2次粒子径391.6 nm 表面無修飾, Ishihara Sangyo Ltd.)を単回塗布して、皮膚におけるTi粒子と組織学的検討を行った。TiO<sub>2</sub>は毛包間表皮の剥離層および毛漏斗角質化層に局在していたが、表皮の生細胞領域には認められず、細胞の変化も観察されなかった<sup>41)</sup>。

- Ultrafine-C (uf-C; TiO<sub>2</sub>)を用いて急性眼刺激性試験を行った<sup>17)</sup>。uf-Cをニュージーランドホワイトウサギに塗布し、二酸化チタン約57mgを片目に点眼し、その後72時間まで、結膜、虹彩、角膜を評価した。急性期に結膜の発赤(スコア1, 2)は、認められたが、可逆性であり、24時間、48時間後に正常になった。有意な所見は、認められなかった。

#### ウ 感作性

- Ultrafine-C (uf-C : P25:表面積38.5 m<sup>2</sup>/g, 79%アナターゼ、21%ルチル、表面活性0.9 delta b (ブランクに対する活性比)、蒸留水中の粒径(動的光散乱(DLS)径)140±44 nm 液中のpH 4.8)を、局所リンパ節試験法(local lymph Node Assay (LLNA))を行った。3日間連続で、雌性CBA/JHsd マウスの両耳に二酸化チタンナノ粒子を塗布し、耳介リンパ節におけるH<sup>3</sup>-Thymidineの取り込みを測定した<sup>17)</sup>。Ultrafine TiO<sub>2</sub>-Cは、皮膚感作性を認めなかった。

#### エ 反復投与毒性(生殖・発生毒性、遺伝毒性/変異原性、発がん性は除く)

##### 吸入ばく露

- Wistar系雄性ラットに、二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>表面コートなし、純度95.1%、アナターゼ86%/ルチル14%、一次粒子径25.1±8.2 nm (粒径の範囲13-71 nm)、表面積51.1±0.2 m<sup>2</sup>/g、Zeta 電位16.1±2.2 mV in 1 mM KCl)の5日間吸入ばく露(6時間/日)を行い、ばく露終了後16日まで観察した<sup>26)</sup>。ばく露濃度は、0, 2, 10及び50 mg/m<sup>3</sup>であった。ばく露濃度に依存して、気管支肺胞洗浄液(BALF)中の総細胞数、好中球数、clusterin, haptoglobin, monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)、macrophage colony stimulating factor (M-CSF)、macrophage-derived chemoattractant (MDC)、macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2)、myeloperoxidase、osteopontin 濃度が増加した。これらの変化は、ばく露直後とばく露終了後3日後で顕著であったが、総細胞数とhaptoglobin以外のマーカーは、ばく露終了後16日後も増加した。気管支・細気管支および肺胞における上皮細胞の細胞増殖能の亢進が、ばく露終了直後で、全ての濃度で観察されたが、一過性であった。

- ・ラット (Wistar、雌、一群 24 匹) に  $8.6 \text{ mg/m}^3$  の二酸化チタンナノ粒子 (アナターゼ型、空気力学的直径  $4.8 \mu\text{m}$ 、1 次粒子径  $15\text{-}40\text{nm}$ ) を 7 時間/日、5 日/週、1 年間吸入ばく露したところ、間質のマクロファージに二酸化チタン粒子を認め、また肺間質へ細胞浸潤およびリンパ組織にチタン粒子を貪食したマクロファージを認めた<sup>27)</sup>。
- ・米国の Nanostructured & Amorphous Materials Inc (NanoAmor) 社製の一次粒径  $3\text{-}5 \text{ nm}$  のアナターゼ型  $\text{TiO}_2$  粒子 (平均一次粒径  $3.5 \pm 1.0 \text{ nm}$ , BET 表面積  $219 \pm 3 \text{ m}^2/\text{g}$ , チャンバー内の SMPS のモビリティ径  $120\text{-}128 \text{ nm}$ ) を、雄性 C57BL/6 マウスに吸入ばく露を 1 日または 10 日間行った<sup>29)</sup>。1 日のばく露においては、 $0.77$  および  $7.22 \text{ mg/m}^3$  の気中濃度で、4 時間の吸入ばく露を行い、高濃度では、BALF 中マクロファージ数の一過性の増加を認めたが、低濃度では有意な変化は認められなかった。一方、10 日間 (4 時間/日) の試験では、ばく露終了後 2 週間まで、BALF 中のマクロファージ数の有意な増加が認められたが、一過性であった。また、BALF 中の好中球およびリンパ球数、LDH、タンパク、サイトカイン (INF- $\gamma$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) 濃度については、有意な変化は認められなかった。
- ・Fisher 344 ラットに、平均 1 次粒径が  $21\text{nm}$  (Degussa 社製、表面積  $50 \text{ m}^2/\text{g}$ 、密度 3.8、空気力学的直径  $1.7 \mu\text{m}$ 、アナターゼ) と  $250\text{nm}$  (Fisher Scientific 社製、表面積  $6.5 \text{ m}^2/\text{g}$ 、密度 3.8、空気力学的直径  $1.9 \mu\text{m}$ 、アナターゼ) の二酸化チタンを各々  $23.5 \pm 3.2 \text{ mg/m}^3$ ,  $23.0 \pm 4.1 \text{ mg/m}^3$  の濃度で、6 時間/日、5 日/週、12 週間にわたり全身ばく露した<sup>30)</sup>。リンパ節内の沈着量は、 $21\text{nm}$  の粒子が  $250\text{nm}$  のそれと比較して多かった。また、BAL で洗浄されずに肺に残存した粒子とリンパ節の粒子の割合も、 $21\text{nm}$  の粒子の方が  $250\text{nm}$  の粒子と比べて多かった、つまり肺胞から間質へより多く移行したことが示唆された。 $21\text{nm}$  の粒子の肺内の半減期は 501 日で、 $250\text{nm}$  の粒子の半減期の 174 日に比べ、ほぼ 3 倍に遅延した。以上より、粒径の小さな粒子は、間質へ移行しやすく、肺内滞留性が高かった。
- ・ラットに二酸化チタンナノ粒子 (石原産業製、一次粒子  $35\text{nm}$ , ルチル型) を 4 週間 (6 時間/日、5 日/週、18 日間)、吸入ばく露させ、肺内沈着量や肺病理学的所見の検討を行った<sup>31)</sup>。ばく露チャンバー内の空気中幾何平均径及び平均粒子個数濃度は、 $51 \pm 9 \text{ nm}$ 、 $2.8 \times 10^5 \text{ 個/cm}^3$  であった。二酸化チタンの初期沈着量 (吸入終了 4 日後) は  $12.3 \pm 1.1 \mu\text{g}$  であり、半減期は 2.5 ヶ月であった。二酸化チタンによる肺組織における炎症反応、また、BALF 中の総細胞数や好中球の増加を認めなかった。なお、マトリックスに関わる matrix metalloproteinases (MMPs), Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) コラーゲンの遺伝子発現も亢進を認めなかった。
- ・ナノ  $\text{TiO}_2$  (アナターゼ型 70%/ルチル型 30%, 表面無修飾, サイズ:  $20\text{-}33 \text{ nm}$ , BET 表面積:  $48.6 \text{ m}^2/\text{g}$ ) または顔料グレード  $\text{TiO}_2$  (ルチル型, 純度: 99.4%,

粒子サイズ中央値：200 nm, BET 表面積：6 m<sup>2</sup>/g、KRONOS International) を各々88 mg/m<sup>3</sup>, 274 mg/m<sup>3</sup>の重量濃度にて雄性 Wistar ラットに5日間連続 (6時間/日) 鼻部吸入ばく露を行った<sup>32)</sup>。ばく露終了の直後および14日後に組織内のTiを測定したところ、両TiO<sub>2</sub>とも、肝臓、腎臓、脾臓および嗅球を含む脳においてTiが検出されなかった。一方、肺および縦隔リンパ節では、Tiが検出され、顔料グレードTiO<sub>2</sub>がナノTiO<sub>2</sub>より両組織における沈着量が多かった。ナノおよび顔料グレードTiO<sub>2</sub>ともに最終投与直後にBALF中の多形核白血球の増加および肺に病理組織学的中等度の好中球性炎症がみられたが、一過性であった。ナノTiO<sub>2</sub>ばく露後の回復傾向は、顔料グレードTiO<sub>2</sub>に比べて速かった。

- TiO<sub>2</sub>ナノ粒子 (Evonik Degussa 社製; P25; 平均一次粒径 21 nm, アナターゼ 80%/ルチル 20%) を用いて、雌性 F344 ラット, 雌性 B3C3F1 マウス, および雌性 SYR ハムスターの3種類の動物に対して、0.5, 2, および 10 mg/m<sup>3</sup>の重量濃度で、吸入ばく露試験を行った<sup>28)</sup>。TiO<sub>2</sub>ナノ粒子のチャンバー内の空気力学的直径は、1.29-1.44μm であった。いずれの動物でも13週間 (6時間/日, 5日/週) の吸入ばく露を行い、ばく露終了後4, 13, 26, および52週間 (ハムスターでは49週) 後に肺の反応を測定した。ラットやマウスにおいては、10 mg/m<sup>3</sup>の気中濃度にばく露した群では、BALF中の総細胞数、その分画である好中球数、マクロファージ数、リンパ球数、LDH やタンパク濃度の有意な増加が認められたが、2 mg/m<sup>3</sup>以下の気中濃度にばく露した群ではほとんど影響が認められなかった。なお、10 mg/m<sup>3</sup>のばく露では、TiO<sub>2</sub>粒子を吸入ばく露したラットおよびマウスの群では、肺内のクリアランスが遅延し、肺の過負荷が起きていることが示された。一方、ハムスターにおいては、10 mg/m<sup>3</sup>の気中TiO<sub>2</sub>濃度にばく露した群においても、上記の炎症反応の有意な増加は見られなかった。なお、2 mg/m<sup>3</sup>群ラットの13週ばく露終了直後に、BrdU-ラベルされた肺胞細胞の有意な増加がみられたが、4週間後には認められず、一過性であった。
- 雌性マウスに6種類の二酸化チタン粒子を吸入ばく露し炎症反応を検討した<sup>34)</sup>。使用した二酸化チタン粒子は、nanoTiO<sub>2</sub>+SiO<sub>2</sub> rutile (Sigma-Aldrich 製、粒径 10 nm×40 nm、ルチル型、比表面積 132 m<sup>2</sup>/g、組成 TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> にてコート)、nanoTiO<sub>2</sub> アナターゼ (Sigma-Aldrich 製、粒径 < 25 nm、アナターゼ型、比表面積 222 m<sup>2</sup>/g、組成 Ti, O)、coarse TiO<sub>2</sub>ルチル (Sigma-Aldrich 製、粒径 < 5 μm、ルチル型、比表面積 2 m<sup>2</sup>/g、組成 Ti, O)、nanoSiO<sub>2</sub> (NanoAmor 製、粒径 10 nm、非晶質、比表面積 515 m<sup>2</sup>/g、組成 Si, O)、nanoTiO<sub>2</sub> ルチル/アナターゼ (NanoAmor 製、粒径 30 nm×40 nm、ルチル型 90%/アナターゼ型 10%、比表面積 23 m<sup>2</sup>/g、組成 Ti, O)、nanoTiO<sub>2</sub> アナターゼ/ブルカイト (Reactor-generated/FIOH、粒径 21 nm、アナターゼ型+brookite [3:1]、比表面積 61 m<sup>2</sup>/g、組成 Ti, O)であった。マウスに2時間、4日間 (2時間/日)、あるいは、4週間 (2時間/日、4

日/週)連続で、132 mg/m<sup>3</sup> の濃度で吸入ばく露させた。その結果、nanoTiO<sub>2</sub>+SiO<sub>2</sub>rutile のみが、肺の好中球増多を認めた。その他の粒子では肺の炎症反応を引き起こさなかった。肺の好中球増多には、肺組織中 tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )と neutrophil-attracting chemokine CXCL1 の発現亢進を伴っていた。

### 鼻腔内注入

- ・ナノ TiO<sub>2</sub> (ルチル型, 表面無修飾, 平均サイズ: 71 nm, 比表面積: 23 m<sup>2</sup>/g, 純度: > 99%, Hangzhou Dayang Nanotechnology Co., Ltd.) またはファイン TiO<sub>2</sub> (アナターゼ型, 純度: > 99%, 平均サイズ: 155 nm, 比表面積: 10 m<sup>2</sup>/g, Zhonglian Chemical Medicine Co.) の 500  $\mu$ g /匹を雌 CD-1(ICR)マウスに, 隔日に, 15 回鼻腔内注入、脳組織における ICP-MS により Ti レベルを測定した<sup>33)</sup>。Ti レベルは海馬で最も高く, 次いで嗅球で高く, 小脳および大脳皮質で検出された。病理学的検討では, 両 TiO<sub>2</sub>とも海馬において肥大した細長い錐体細胞, 不規則錐体層が観察され, 全脳で脂質過酸化反応, タンパク質酸化, カタラーゼ活性上昇, グルタミン酸/一酸化窒素の過剰放出などの酸化ストレスが亢進した反応が認められた。ファイン TiO<sub>2</sub>注入後の血清 IL-18 および脳 TNF- $\alpha$  濃度の有意の上昇がみられたが, ナノ TiO<sub>2</sub>投与マウスでは IL-18 および TNF- $\alpha$  濃度は軽度の上昇のみであった。

### 経口投与

- ・TiO<sub>2</sub> (Polysciences 製、ルチル型, 粒子サイズ: 475 nm) を蒸留水に懸濁し, 12.5 mg/kg/day を 10 日間, 雌 SD ラットに経口投与し、組織中の Ti 濃度を測定した<sup>35)</sup>。検出された TiO<sub>2</sub>は投与量に対して, 結腸で 1.13%, パイエル板及び腸間膜リンパ節で 2.18%であり, また小腸, 肝臓, 肺, 腹膜組織, 脾臓でも Ti が検出されたが, 心臓及び腎臓では検出されなかった。これらの所見は, TiO<sub>2</sub>粒子は小腸のパイエル板を介して取り込まれ, 腸間膜網に移行し, その後腸間膜リンパ節に蓄積され, また, 一部の粒子は全身循環に移行し, 肝臓および脾臓に取り込まれることを示唆した。
- ・ナノ TiO<sub>2</sub> (アナターゼ型, 平均粒子サイズ: 5 nm) を雌 CD-1(ICR)マウスに, 62.5, 125, 250 mg/kg/day を隔日に 30 日間強制経口投与し, 最終投与の 1 日後全身の影響を検討した<sup>37)</sup>。62.5 mg/kg 以上の投与で, 白血球数および網状赤血球比率の上昇, B 細胞及びナチュラルキラー細胞の比率の低下, 血清 IL-2 レベルの低下, 血清 NO レベルの上昇がみられた。125 mg/kg 以上の投与で, 体重低下, 肝臓, 腎臓, 脾臓および胸腺の比重量の増加, ALT, AST, alkaline phosphatase, cholinesterase, total cholesterol および triglyceride 血清レベルの上昇, A/G 比および総ビリルビンレベル, 赤血球数, ヘモグロビン, 平均赤血球色素濃度など

の低下が観察された。250 mg/kg 体重の投与で、CD3, CD4 および CD8 細胞の比率の低下、肝臓に広範囲の肝細胞の構造不鮮明および間質血管の充血が認められた。

### 経皮投与

- ・10%ナノ TiO<sub>2</sub> (石原産業製、アナターゼ型、表面積：236 m<sup>2</sup>/g、一次粒子径：26.4 ± 9.5 nm) を含むエマルジョン (凝集径：391.6 ± 222 nm) をヘアレスラットに 0.4 mg/cm<sup>2</sup> (TiO<sub>2</sub>) の用量で 4 時間塗布し、24、72、168 時間後に Ti 粒子と形態的観察を行った<sup>38)</sup>。Ti 粒子は、角質層上層や毛包漏斗部角質層には認められたが、生細胞領域には観察されなかった。皮膚の病理学的所見においては、形態的变化は認められず、さらに免疫染色によるアポトーシス細胞の増加も認められなかった。
- ・ナノ TiO<sub>2</sub> (アナターゼ型, 粒子サイズ: 5 nm, 表面積: 200 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.5%, 疎水性, Zhejiang Wanjin Material Technology Co., Ltd.) およびナノ TiO<sub>2</sub> (ルチル型, 粒子サイズ: 60 nm, 表面積: 40 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.5%, 疎水性, Zhejiang Hongsheng Material Technology 社製) を 1.2 mg/pig、4 週齢の雄ブタの耳介背側に連続 30 日間塗布し、最終塗布の 24 時間後に Ti 粒子と組織学的検討を行った<sup>39)</sup>。TiO<sub>2</sub> は角質層, 顆粒層および有棘細胞層から検出され, より深部の基底細胞層からは 5 nm TiO<sub>2</sub> 塗布後のみに検出されたが, 真皮からは検出されなかった。TiO<sub>2</sub> 塗布による細胞間隙拡大, デスモソーム損傷及び基底細胞核周囲の空胞増大などの病理学的変化がみられたが, 皮膚刺激性は認められなかった。さらに、7-8 週齢の BALB/c ヘアレスマウス (6 匹/群) の背部皮膚に、粒子サイズが 10nm から 90nm までの 5 種類 TiO<sub>2</sub> を塗布して皮膚刺激試験を行った<sup>39)</sup>。使用した粒子は、ナノ TiO<sub>2</sub> (アナターゼ型, 粒子サイズ: 10 nm, 表面積: 160 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.5%, 疎水性, Zhejiang Wanjin Material Technology Co., Ltd.), ナノ TiO<sub>2</sub> (ルチル型, 粒子サイズ: 25 nm, 表面積: 80 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.5%, 親水性, Zhejiang Hongsheng Material Technology Co., Ltd.), P25 (アナターゼ型 75%+ルチル型 25%, 粒子サイズ: 約 21 nm, 表面積: 50 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.5%, 親水性, Degussa), ナノ TiO<sub>2</sub> (ルチル型, 粒子サイズ: 60 nm, 表面積: 40 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.6%, 疎水性, Zhejiang Hongsheng Material Technology 社製) またはナノ TiO<sub>2</sub> (ルチル型, 粒子サイズ: 90 nm, 表面積: 40 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.5%, 疎水性, Zhejiang Hongsheng Material Technology 製) であった。これらの TiO<sub>2</sub> 1.2 mg/匹/日を連続 60 日間塗布し, Ti 粒子と組織学的検討を行った。Ti の蓄積は, 10 nm TiO<sub>2</sub>、25 nm TiO<sub>2</sub> P25、60 nm で、心臓, 肝臓, 脾臓等で認められたが、90 nm TiO<sub>2</sub> ではこれらの組織への Ti の蓄積はみられなかった。皮膚では、10 nm TiO<sub>2</sub> 25 nm TiO<sub>2</sub> および 60 nm TiO<sub>2</sub> P25 塗布により過剰な角質化, 真皮薄化およびしわ表皮がみられた。肝臓では、

25 nm TiO<sub>2</sub>および P25 塗布により限局性壊死、心臓では 10 nm TiO<sub>2</sub> 塗布後だけに微量の白血球浸潤がみられた。60 nm と 90nm の TiO<sub>2</sub> 塗布後には異常は観察されなかった。これらの実験結果から、90 nm よりも小さな TiO<sub>2</sub> はマウスの皮膚を通過して、全身に移行すること示している。

- T-Lite SF (ルチル型, 直径: 20-30 nm, 長さ: 50-150 nm, 水酸化アルミニウム/ジメチコーン共重合体により表面修飾, ドイツ BASF 製), P25 (アナターゼ型/ルチル型, 粒子サイズ: 30-50 nm, 表面無修飾, Degussa 社製), CR-50 (ルチル型, 粒子サイズ: 300-500 nm, 表面無修飾, 石原産業製) を雌ミニブタに 1 日 4 回, 週 5 日, 22 日間塗布し Ti 粒子と組織学的検討を行った<sup>40)</sup>。いずれの TiO<sub>2</sub> 塗布後にもリンパ節および肝臓における Ti レベルの上昇は認められず、Ti は表皮で多く、角質層および上部毛包腔に観察され、T-Lite SF で顕著であった。いずれの TiO<sub>2</sub> 処置でも刺激性や皮膚細胞の構造異常所見は認められなかった。これらのことから、ナノサイズおよび顔料グレードの TiO<sub>2</sub> とも健常なミニブタの表皮を通過しないことが示された。

#### オ 生殖・発生毒性

##### 吸入ばく露

- 妊娠 8-18 日の C57BL/6BomTac マウスに 42 mg/m<sup>3</sup> (1.7×10<sup>6</sup>n/cm<sup>3</sup>; peak-size: 97 nm) の UV-titan L181 (ルチル型: Zr, Si, Al により修飾, ポリアルコール表面修飾, TiO<sub>2</sub>: 70.8%, Zr: 8.7%, Si: 5.6%, Al: 2.4%, Na: 0.5%, 揮発物質: 5.2%, X 線解析平均サイズ: 20.6 nm, 比表面積: 107.7 m<sup>2</sup>/g, Kemira 製) を吸入ばく露 (1 時間/日 計 11 日間) した。母動物の肺で Ti が検出され、炎症 (BALF の好中球数増加) を認めたが、母および児動物の肝臓、児動物胃内の母乳中には Ti は検出されなかった。児動物の行動に関しては、14 週齢に実施したオープンフィールド試験において TiO<sub>2</sub> ばく露群の F1 児のフィールド中央部への侵入頻度および雌の中央部での滞在時間の減少がみられ、4 ヶ月齢に実施した聴覚性驚愕反応試験では雌に強いプレパルス抑制の増強効果がみられた。しかし、11-16 週齢に実施したモリス水迷路試験による記憶学習に関しては、F1 児に TiO<sub>2</sub> ばく露の影響は認められなかった。生殖能に関しては、生後 19 週に TiO<sub>2</sub> ばく露群の雄 F1 児を無処置の雌 CBA/J マウスと交配したところ、初回交配開始から F2 児出産までの期間が、有意ではないが、延長する傾向がみられた<sup>42)</sup>。

##### 鼻腔内注入

- 妊娠 14 日および非妊娠マウスに、TiO<sub>2</sub> 50 µg/マウスを単回鼻腔内注入し、投与後 48 時間に肺の炎症反応を観察した。TiO<sub>2</sub> 投与により、非妊娠マウスに比べて妊娠マウスで肺胞洗浄液 (BALF) 中の好中球が著しく増加し、血清中の炎症性サイト

カインの上昇がみられた。妊娠マウスから得られた児の生後 4 日に卵白アルブミン (OVA) とミョウバンを腹腔内投与し、生後 4-14 日に OVA を噴霧し、気道過敏性を検討した。TiO<sub>2</sub> 投与の児では気道の過敏反応性の上昇および BALF 中の好酸球増加および肺に炎症細胞浸潤がみられた<sup>43)</sup>。

#### 経口投与/経皮投与/その他の経路等

- TiO<sub>2</sub> ナノパウダー (アナターゼ型, 粒子サイズ: 25-70 nm, 表面積: 20-25 m<sup>2</sup>/g, Sigma-Aldrich Japan) を Slc:ICR マウスの妊娠 6, 9, 12 および 15 日に 100 µg/匹 皮下投与し, 妊娠 16 日の雄胎児および生後 2, 7, 14, 21 日の雄児の脳を採取し, 網羅的遺伝子の解析を行った。TiO<sub>2</sub> 投与群で, 発現が変化した遺伝子は成長に従って増加し, 生後 21 日で最も多くなった。また, 脳の発生, 細胞死, 酸化的ストレス反応に関連する遺伝子等の発現に変化が認められた<sup>45)</sup>。
- TiO<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich 製 アナターゼ型, 粒子サイズ: 25-70 nm, 表面積: 20-25 m<sup>2</sup>/g, 純度: 99.9%) を ICR マウスの妊娠 3, 7, 10, 14 日に 100 µg/匹の用量で皮下投与し, 生後 4 日及び 6 週の雄児における TiO<sub>2</sub> の蓄積や精巣の病理学的及び機能的解析を行った。雄児の脳および精巣中に TiO<sub>2</sub> 粒子が観察された。また, 6 週齢の雄児の精巣の形態学的異常 (精細管の構造異常など), 1 日精子産生能, 精巣上体精子運動能およびセルトリ細胞数の減少などの機能的異常が観察された<sup>46)</sup>。
- TiO<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich 製, アナターゼ型, 粒子サイズ: 25-70 nm, 表面積: 20-25 m<sup>2</sup>/g) を ICR マウスに妊娠 6, 9, 12, 15, 18 日に 100 µg/匹で皮下投与し, 6 週齢の児動物の脳内の影響を検討した。脳内のドーパミンやその代謝産物 (3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), 3-methoxytyramine (3-MT)) の濃度が, 前頭前皮質や新線条体で上昇していることが認められた<sup>63)</sup>。
- TiO<sub>2</sub> (Tayca 製 ルチル型, 粒子サイズ: 35 nm) 0.8mg を BALB/c マウスの妊娠 16 日, 17 日に 2 日続けて静脈注入し, 妊娠 18 日に母及び児動物への影響を検討した。母体重, 子宮重量が低下した。胎盤重量の低下はなかったが, 血管構築に係わる抗血管新生因子である fms-like tyrosine kinase-1 (Flt-1) の胎盤での濃度が低下した。胎児に関しては, 胎児死亡率の増加, 体重減少がみられ, さらに胎盤, 肝臓, 脳組織において TiO<sub>2</sub> が検出された<sup>64)</sup>。

#### カ 遺伝毒性 (変異原性)

- 試験結果のコメント、評価等  
細菌を用いた復帰突然変異試験に関しては、ネズミチフス菌 (TA97 株, TA98 株, TA100 株, TA102 株, TA1535 株, TA1537 株,) 大腸菌 (WP2urvA 株) を用いて、UV/vis 照射または S9 の有無にかかわらず陰性であった<sup>18, 19)</sup>。3 報告のうち 2

報告は、二酸化チタンの中で炎症誘発能が強い P25 を用いた試験であった。細菌を用いた試験において二酸化チタンナノ粒子の変異原性は認められなかった<sup>18)19)</sup>。ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験では、チャニーズ・ハムスター肺線維芽細胞とチャニーズ・ハムスター卵巣細胞を用いた 3 報告のうち、2 報告では陰性であったが、1 報告では、UV/vis 照射により陽性(照射なしでは陰性)となった<sup>18, 19)</sup>。gpt delta 遺伝子や hprt 遺伝子の遺伝子突然変異試験では、陽性および陰性の結果が認められた。これらの染色体異常試験と同等と考えられるマウスリンフォーマ TK 試験では、陰性であった<sup>18,19)</sup>。ヒトのリンパ球を用いた試験も含む *In vitro* の小核試験や姉妹染色分体交換試験では陽性の結果が多く認められた<sup>18, 19, 61)</sup>。

- *In vivo* の遺伝毒性試験において小核試験は、1 報告のみで、P25 総量 500 mg/kg を飲水投与した成熟雄マウス末梢赤血球にて陽性が認められた<sup>18, 19)</sup>。
- 二酸化チタンナノ粒子 P25 (アナターゼ型 75% + ルチル型 25%, 一次粒子サイズ: 21 nm, 比表面積: 50 m<sup>2</sup>/g, Evonik 製) を、P-遺伝子を組み込んだ妊娠 8.5-18.5 日に 600 µg/mL (総投与量: 500 mg/kg) を飲水投与し、遺伝毒性を DNA deletion assay (遺伝子欠失が認められると、色素を持たない網膜色素細胞が色素をもつ) にて検討した<sup>44)</sup>。生後 20 日の児の眼の網膜色素細胞の色素陽性率が増加したことから、二酸化チタンナノ粒子が、児動物の DNA 欠失頻度を上昇させたことを示している。

試験方法		使用細胞種・動物種	結果
In vitro	復帰突然変異試験	P25ネズミチフス菌 TA98株, TA100株, TA102 株 <sup>18)19)</sup> UV/vis照射の有無にかかわらず	—
		ultrafine TiO <sub>2</sub> (uf-C) = P25 ネズミチフス菌TA98株, TA100株, TA1535株およびTA1537株, 大腸菌 WP2urvA株 (-S9, +S9) <sup>18)19)</sup>	—
		二酸化チタン(直径 < 40 nm, Sigma-Aldrich 社製) ネズミチフス菌 TA97株 <sup>18)19)</sup>	—
	染色体異常試験	P25 チャイニーズ・ハムスター肺線維芽細胞 (CHL/IU) <sup>18)19)</sup>  非UV/vis 照射 UV/vis照射	   (-) (+)

	ultrafine TiO <sub>2</sub> (uf-C) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO) (-S9、+S9) <sup>18)19)</sup>	-
	8種のナノサイズTiO <sub>2</sub> チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-WBL) <sup>18)19)</sup> UV照射の有無にかかわらず	-
姉妹染色分体交換試験	TiO <sub>2</sub> (Standard solution, Merck) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) <sup>18)19)</sup>	+
	TiO <sub>2</sub> (アルドリッチ社製 20nm) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) <sup>18)19)</sup>	+
マウスリンフォーマTK試験	P25 マウス・リンパ腫細胞 (L5178Y) <sup>18)19)</sup> UV/vis照射の有無にかかわらず	-
遺伝子突然変異試験 <i>gpt</i> 遺伝子座位 (欠失を含む)	1) TiO <sub>2</sub> 5 nm (アナターゼ型, 平均一次粒子直径: 5 nm, 比表面積: 114 m <sup>2</sup> /g, Sigma-Aldrich)	-
	2) TiO <sub>2</sub> 40 nm (アナターゼ型, 平均一次粒子直径: 40 nm, 比表面積: 38.2 m <sup>2</sup> /g, Inframat Advanced Materials LLC),	+
	3) TiO <sub>2</sub> -320 mesh (直径: -325 mesh, 比表面積: 8.9 m <sup>2</sup> /g, Sigma-Aldrich) <i>gpt delta</i> トランスジェニック・マウス由来の初代培養胚線維芽細胞 (MEF) <sup>18)19)</sup>	-
遺伝子突然変異試験 <i>hprt</i> 遺伝子座位	TiO <sub>2</sub> (純度99%, アナターゼ型, サイズ中央値: 6.57 nm, 比表面積: 148 m <sup>2</sup> /g, Sigma-Aldrich) ヒトB細胞リンパ芽球様株化細胞 (WIL2-NS) <sup>18)19)</sup>	+

小核試験	P25, UV-TITAN M160 (ルチル型, 水酸化アルミニウムおよびステリン酸による表面修飾, 結晶サイズ: 20 nm, Kemira)および顔料TiO <sub>2</sub> (アナターゼ型, 結晶サイズ: 170 nm, Kemira) ラット肝上皮細胞 <sup>18)19)</sup>	-
	TiO <sub>2</sub> (Standard solution, Merk) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) <sup>18)19)</sup>	+
	TiO <sub>2</sub> (アルドリッチ社製 20nm) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) <sup>18)19)</sup>	+
	二酸化チタン (アナターゼ: 10nm(Hombikat UV100), 20 nm(Millenium PC500)) ヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B) <sup>18)19)</sup> photoactivation (-)	+
	3種類の二酸化チタン (ナノサイズルチル型、ナノサイズアナターゼ型、微小粒子ルチル型) : ヒト気管支上皮細胞 (BEAS 2B) <sup>18)19)</sup> ナノサイズアナターゼ型のみ 他の2つの試験 (ナノサイズルチル型、微小粒子ルチル型)	+ -
	P25 50, 100 µg/ml 成人健康女性から採取した末梢血リンパ球 <sup>61)</sup>	いずれも +
	酸化了的DNA損傷試験	
Ultrafine TiO <sub>2</sub> (Sigma-Aldrich 社製、99%、結晶型未記載) ヒトlymphblastoid 細胞(WIL2-NS) <sup>18)19)</sup>	+	
TiO <sub>2</sub> (ルチルとアナターゼの混合, 不明) ヒト肺上皮細胞(A549) <sup>18)19)</sup>	+	

		二酸化チタン(TiO <sub>2</sub> )ナノ粒子(アナターゼ、slashed circle < 100 nm) ヒトlung diploid fibroblast cell [IMR-90]、ヒトbronchial epithelial cell [BEAS-2B] <sup>18)19)</sup>	いずれも -
	酸化的DNA損傷試験 (コメットアッセイ)	二酸化チタン (アナターゼ : 10nm (Hombikat UV100), 20 nm(Millennium PC500)) ヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B) <sup>18)19)</sup> photoactivation (-)	+
In vivo	酸化的 DNA 損傷試験	P25 0.15-1.2 mg 気管内投与 90 日のラット肺 <sup>18)19)</sup>	-
	小核試験	P25 総量500 mg/kgを5日間飲水投与した成 熟雄マウス末梢赤血球 <sup>18)19)</sup> UV照射にかかわらず	+
	遺伝子欠失試験	P25 (アナターゼ型75% + ルチル25%) 胎児期 8.5-18.5日) Pun マウス <sup>44)</sup>	+

- : 陰性 + : 陽性 ? : どちらとも言えない。

二酸化チタンによるフリーラジカル産生に関する論文は以下の通りである。

- ・ナノサイズの二酸化チタンばく露による培養マウス脳ミクログリア(BV2)への障害性について in vitro で検討している。使用した二酸化チタンは、P25 (Degussa 社製、アナターゼ型 70%・ルチル型 30%、粒径 30 nm、表面積 52.7±3.6 m<sup>2</sup>/g) で、2 種類の溶媒 (細胞培養液 DMEM、生理的緩衝液 HBSS)に懸濁した<sup>47)</sup>。両溶媒において、5 から 120 ppm までの濃度増加に伴い、凝集サイズ (幾何平均流体力学的半径 : particle geometric mean hydrodynamic diameter)は 826 から 2368 nm まで変動した。また、ゼータ電位は、細胞培養液 DMEM 中で-11.6±1.2 mV、生理的緩衝液 HBSS 中で-9.25±0.73 mV であった。脳ミクログリアに対して細胞障害性を示さない濃度の 2.5 から 120 ppm P25 ばく露により、早期 (5 分以内)かつ持続性 (120 分まで)の活性酸素種 (過酸化水素 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、酸素ラジカル O<sub>2</sub><sup>-</sup>) の増加が検出された。
- ・二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>、Tioxide Europe 社製)、ナノサイズ粒子の二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>-np、Degussa 社製)を用いて、ヒト肺胞上皮由来細胞(A549)にて酸化ストレスの早期の指標として glutathione(GSH)を検討し、いずれの粒子の場合も glutathione(GSH)

が低下したことを示した<sup>48)</sup>。

- 二酸化チタンナノ粒子 (10-100  $\mu\text{g/mL}$ )で 24 から 72 時間、培養線維芽細胞 (NIH3T3 細胞、ヒト fibroblast HFW 細胞)に加え、活性酸素種産生をもたらした<sup>49)</sup>。
- 二酸化チタンナノ粒子(粒径 15 nm、透過型電子顕微鏡による粒径  $12\pm 2$  nm、表面積  $210\text{ m}^2/\text{g}$ 、ゼータ電位  $-24\text{ mV}$ )が気管支上皮細胞 (16HBE14o細胞、正常ヒト気管支上皮細胞)に加え、フリーラジカルの産生能を検討し、活性酸素種の産生は認められたが、過酸化水素の上昇は認められなかった<sup>50)</sup>。
- 二酸化チタンとして P25 粒子を用いて培養細胞である phagocytic cell line (RAW 264.7)にて活性酸素種産生の検討を行い、P25 粒子 (0.5 mg/L)は、非生物的 (無細胞下)条件下 (abiotic conditions)では自然に活性酸素種を産生するのに対し、RAW 264.7 細胞では活性酸素種を産生しなかった<sup>51)</sup>。
- 各種の吸入性金属系ナノ粒子(Ag 150 nm, Al 100 nm, Zn 100 nm, Ni 100nm,  $\text{TiO}_2$  30 nm)及びミクロンサイズ粒子( $\text{TiO}_2$  1  $\mu\text{m}$ 、Silica 1-5  $\mu\text{m}$ )をヒト肺胞上皮細胞に、1 時間ばく露し ROS 産生 (2'7'-dichlorodihydrofluorescein dacetate [DCFDA] 法)を測定した。細胞内の ROS 産生上昇は、n-Zn のみ有意となった<sup>52)</sup>。

## キ 発がん性

### 吸入ばく露

- 二酸化チタンナノ粒子 (Evonik Degussa 社製; P25; 平均一次粒径 21 nm, 一次粒子サイズ: 15~40 nm、アナターゼ 80%/ルチル 20%) を乾式分散により、雌 Wistar ラットに 24 ヶ月間、1 日 18 時間、週 5 日全身吸入ばく露し、さらにラットを 6 ヶ月間清浄な空気下で飼育した後、肺腫瘍発生を検討した。ばく露濃度は、最初の 4 ヶ月間:  $7.2\text{ mg/m}^3$ , 続く 4 ヶ月間:  $14.8\text{ mg/m}^3$ , 9 ヶ月から実験終了まで:  $9.4\text{ mg/m}^3$  (平均:  $10.4\text{ mg/m}^3$ ) であり、累積ばく露量は  $88.1\text{ g/m}^3 \times \text{時間}$  (24 ヶ月)であった。18 ヶ月で肺に最初の腫瘍発生がみられ、二酸化チタンナノ粒子ばく露による肺腫瘍発生数は、良性扁平上皮腫瘍 (benign squamous-cell tumor)20/100 (対照群 0/217)、扁平上皮癌 (squamous-cell carcinoma)3/100 (対照群 0/217)、腺腫 (adenoma)4/100 (対照群 0/217)、腺癌 (adenocarcinoma)13/100 (対照群 1/217)で、腫瘍発生ラット数は 32/100 であり、対照群の担肺腫瘍ラット数 (1/217)より有意に高かった。ただし、ばく露群に認められた肺腫瘍の中に良性嚢胞状角化扁平上皮腫瘍(Keratinizing cystic squamous-cell tumor)が含まれていた。この腫瘍を除外した場合の肺腫瘍発生数は 19/100 であり、この腫瘍発生率も対照群に比べて有意に高かった。本評価書では、肺腫瘍発生数を 19/100 として計算した。同様に P25 を雌性 NMRI マウスに 13.5 ヶ月間、1 日 18 時間、週 5 日全身吸入ばく露し、さらに最長 9.5 ヶ月間清浄な空気下で飼育した後、肺腫瘍を検討した。

平均ばく露濃度は、 $10.4 \text{ mg/m}^3$ であり、累積ばく露量は  $51.5 \text{ g/m}^3 \times \text{時間}$  (13.5ヶ月)であった。 $\text{TiO}_2$ ばく露マウスで観察された肺腫瘍は、腺腫 (11.3%)と腺癌 (2.5%)だけであり、腺腫と腺癌を合わせた発生率は 13.8%であり、非ばく露群のマウスでの発生率 (30%)より低かった<sup>53)</sup>。

- ・8週齢の雌雄各 50 匹の SD ラットに  $15.95 \text{ mg/m}^3$ の  $\text{TiO}_2$ 粒子、一次粒子径:99.9%が  $0.5 \mu\text{m}$ 以下)を 12 週間 (6 時間/日, 5 日/週)吸入ばく露し、実験開始後 140 週に腫瘍誘発性を検討した<sup>54)</sup>。140 週後の死亡率は雄で 88%,雌で 90%であった。気道に腺腫および扁平上皮乳頭腫が雄の各 1 例の気道に中等度から重度な炎症を伴って観察され、細気管支肺胞腺腫が雌 1 例に観察された。生存率および腫瘍発生率に  $\text{TiO}_2$ ばく露による影響は認められず、 $\text{TiO}_2$ の発がん性を示す所見も示されなかった。

### 気管内注入

- ・8-9 週齢の雌性 Wistar ラットに  $\text{TiO}_2$ 粒子 (P25;一次粒子径 25nm 以下、比重 3.8 g/mL、比表面積  $52 \text{ m}^2/\text{g}$ 、AL23; 平均一次粒子径 200nm 以下、アナターゼ、比重 3.9 g/mL、比表面積  $9.9 \text{ m}^2/\text{g}$ )を複数回気管内注入し、肺腫瘍の発生率を検討した。陰性対照群では肺腫瘍を発生しなかったのに対し、P25 を  $5 \text{ mg/rat}$ を 3 回、 $5 \text{ mg/rat}$ を 6 回、 $10 \text{ mg/rat}$ を 6 回注入し、良性・悪性を含めた肺腫瘍発生率は 52.4%、67.4%、69.6%であった。AL23 に関しても  $10 \text{ mg/rat}$ を 6 回、 $20 \text{ mg/rat}$ を 6 回注入し、肺腫瘍発生率は 29.5%、63.6%であった<sup>55)</sup>。
- ・微粒子 (F)  $\text{TiO}_2$  (粒子サイズ:  $0.25 \mu\text{m}$ ) の  $10 \text{ mg}$ を週 1 回、6 週間 (計  $60 \text{ mg}$ )、または、ウルトラファイン (UF)  $\text{TiO}_2$  (粒子サイズ:  $21 \text{ nm}$ )  $6 \text{ mg}$ を週 1 回、5 週間 (計  $30 \text{ mg}$ )、Wistar ラットに気管内注入し、129 週後に腫瘍誘発性を検討した<sup>56)</sup>。F- $\text{TiO}_2$ および UF- $\text{TiO}_2$ ともに慢性炎症を惹起した。腫瘍発生率は対照群で 5%、F- $\text{TiO}_2$ 群で 20.9%、UF- $\text{TiO}_2$ 群で 50%であった。F- $\text{TiO}_2$ 群の腫瘍発生率は肺胞マクロファージおよび顆粒球の増加の程度と相関していたが、UF- $\text{TiO}_2$ 群では肺胞マクロファージ及び顆粒球増加の程度が低いにも関わらず、腫瘍発生率は高かった。
- ・雌雄の Syrian golden ハムスターに  $3 \text{ mg}/0.2 \text{ mL}$ の  $\text{TiO}_2$ 粒子 (平均サイズ:  $0.5 \mu\text{m}$ )を週 1 回、15 週にわたって気管内注入した<sup>57)</sup>。実験開始後 80 週では無処置対照群の生存率は 46%であったが、 $\text{TiO}_2$ ばく露ではすべてのハムスターが死亡した。 $\text{TiO}_2$ ばく露ハムスターの肺に間質の線維化および軽度の炎症が観察されたが、肉芽腫形成や腫瘍は認められなかった。
- ・雄 Syrian golden ハムスターに  $\text{TiO}_2$ 粒子を  $0.15 \text{ mL}$ の生理食塩水に懸濁して  $1 \text{ mg}$ を週 1 回、8 週間にわたり気管内注入し、観察期間を 130 週おいた。 $\text{TiO}_2$ ばく露の 135 匹のハムスターには肺がんおよび中皮腫は認められなかったが、2 匹に胸部

肉腫が観察された。

### 経口投与/経皮投与・その他の経路等

- ・TiO<sub>2</sub> ナノ粒子 (P25, アナターゼ型, Degussa 社製) を週 1 回腹腔内注射したのち, 最大 2.5 年の経過観察を行い, 腫瘍発生率 (子宮の腫瘍を除いた腹部における肉腫, 中皮腫および癌腫の発生率) を検討した<sup>58)</sup>。腫瘍を有するラットの頻度は, 9 週齢の雌 Wistar ラットに 5 回腹腔内注射 (総投与量 90 mg/rat) した群で 5.3%, 8 週齢の雌 SD ラットに 5 mg/rat を単回腹腔内注射した群で 3.8%, 4 週齢の雌 Wistar ラットに 5 mg/匹を単回腹腔内注射した群で 0%, 5 週齢の雌 Wistar ラットに 3 回腹腔内注射 (2 + 4 + 4 mg/匹, 総投与量 10 mg/rat) した群で 0%, また, 8 週齢の雌 Wistar ラットに 20 回腹腔内注射 (5 mg/匹を 20 回, 総投与量 100 mg/rat) した群で 9.4%であった。生理食塩水を腹腔内注射した 5 つの対照群の腫瘍発生ラットの発現率は 0-6.3%であり, TiO<sub>2</sub> による腫瘍発現頻度の上昇はみられなかった。

## (2) ヒトへの影響 (疫学調査及び事例)

### ア 急性毒性

- ・調査した範囲内では, 報告は得られていない。

### イ 刺激性及び腐食性

- ・T805 (微粉末化 TiO<sub>2</sub>, 平均粒子サイズ: 20 nm, 形状: 立方体, トリメチルオクチルシラン表面修飾により疎水化, Degussa 製), Eusolex T-2000 (ウルトラファイン TiO<sub>2</sub>, 一次粒子の平均サイズ: 10-15 nm, 二次凝集体サイズ: 100 nm, 形状: 針状, 非共有結合 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (8-11%)/SiO<sub>2</sub> (1-3%) により表面修飾, 両親媒性, Merck 製) または Tioveil AQ-10P (水及びプロピレングリコールに親水性分散した TiO<sub>2</sub>, サイズ: 100 nm, 形状: 針状, コーティング: 4.25%アルミナおよびシリカ 1.75%シリカにより表面修飾, Solaveil) を 4%含有したエマルジョン 4 mg/cm<sup>2</sup> (TiO<sub>2</sub> として 160 µg/cm<sup>2</sup>) をボランティアの前腕 11.3 cm<sup>2</sup> に 6 時間塗布した。TiO<sub>2</sub> の粒子サイズ, 形状および表面修飾は皮膚吸収に影響を及ぼさなかった。微粉末化 TiO<sub>2</sub> は角質層の最も外側に沈着し, 角質層の深部では観察されなかった<sup>59)60)</sup>。
- ・T805 (平均直径: 約 20 nm, トリメチルオクチルシラン表面修飾により疎水化, Degussa) 3%含む水/油エマルジョン 2 mg/cm<sup>2</sup> (TiO<sub>2</sub> として 60 µg/cm<sup>2</sup>) を, 3 人の健康な女性ボランティアの上腕部 11.3 cm<sup>2</sup> に 5 時間塗布した<sup>58)</sup>。TiO<sub>2</sub> は皮膚を通過せず, 角質層の最外側に蓄積していた。

ウ 感作性

- ・調査した範囲内では、報告は得られていない。

エ 反復ばく露毒性（生殖・発生毒性、遺伝毒性、発がん性は除く）

- ・調査した範囲内では、報告は得られていない。

オ 生殖・発生毒性

- ・調査した範囲内では、報告は得られていない。

カ 遺伝毒性

- ・調査した範囲内では、報告は得られていない。

キ 発がん性

調査した範囲内では、報告は得られていない。

**発がんの定量的リスク評価**

- ・二酸化チタンについてのユニットリスクに関する報告はない<sup>9・13)</sup>。
- ・NIOSH は発がん試験より 1/1000 過剰発がんのリスク評価を行っている<sup>62)</sup>。
- ・本有害性評価書では、Appendix において、ナノ(**ultrafine**)粒子と微粒子(**fine**)二酸化チタン発がん性試験のデータに基づいて、ナノ及び微粒子二酸化チタンの定量的リスク評価を行った。

**発がん性分類**

以下は、二酸化チタンのすべての粒子に対する分類で、ナノ粒子に限らない。

IARC：2B（ヒトに対する発がん性が疑われる）(2010)<sup>5)</sup>

疫学的研究：不十分な証拠（1 報告でわずかに肺がん発症が増加、2 報告では、有意な発症を認めない）

動物試験：十分な証拠（ラットの吸入ばく露試験 2 件、気管内注入試験で肺腫瘍を有意に発症、マウスやハムスターでは認められず）

メカニズム：二酸化チタンまたは難溶性粒子は肺腫瘍をひきおこすかもしれない  
発がん性において、疫学的研究にて不十分な証拠、動物試験では十分な証拠であること、腫瘍発生の機序としての証拠は強くはないことから、Group 2B と判断した。

産衛学会：設定なし<sup>6)</sup>

EU Annex VI：設定なし<sup>7)</sup>

NTP 12<sup>th</sup>：設定なし<sup>8)</sup>

ACGIH : A4 (ヒト発がん性について分類できない物質) (1996)<sup>14)</sup>

DFG MAK : 発がん性区分 3A (inhalable fraction: except for ultrafine particles)

<sup>15)</sup>

(3) 許容濃度の設定

ACGIH TLV-TWA : 10 mg/m<sup>3</sup> (1992)<sup>14)</sup>

(二酸化チタン全体を対象としており、ナノ粒子には限らない。発がんに関する分類も同じ。)

発がんに関する分類 A4 (ヒトに対する発がん性については分類できない)

勧告根拠 :

ラットに二酸化チタン粉末を 0、10、50、250 mg/m<sup>3</sup> の濃度で吸入ばく露させた慢性実験において、250 mg/m<sup>3</sup> 投与群で肺への炎症および扁平上皮がんの形成を認めた。なお 10mg/m<sup>3</sup> の投与群では肺の既存の構築は保たれており、線維化の進行や不可逆的な病変も認められない。疫学的調査では、二酸化チタンのばく露と呼吸器疾患との間には関連性が無かったと報告されている。さらに二酸化チタンへの職業ばく露が肺の線維化、発がん、もしくは他の健康影響との関連を示す確実な証拠はない。以上のことから、TLV-TWA 値として 10 mg/m<sup>3</sup> を勧告する。

二酸化チタンの発がん性を調べた動物実験は陰性もしくは結論に達していないことから、これらの結果をもとに二酸化チタンを A4 に分類する。Skin や SEN 表記あるいは TLV-STEL を提言する十分なデータはない<sup>16)</sup>。

日本産業衛生学会 : 設定なし<sup>6)</sup>

NEDO プロジェクト :

許容ばく露濃度 (PL:時限) : 0.6 mg/m<sup>3</sup><sup>19)</sup>

ラットの 13 週間の吸入ばく露試験において、過剰負荷がなく、かつほとんど生体反応を認めないばく露濃度 2 mg/m<sup>3</sup> を NOAEL とし、ヒトへの換算を行った。ただし、当面 15 年程度の亜慢性のばく露期間を想定した許容濃度であり、10 年程度での見直しを前提としている。

NIOSH : Recommended Exposure Limit (REL): 吸入性粒子 TiO<sub>2</sub> 微粒子 2.4 mg/m<sup>3</sup>、TiO<sub>2</sub> 超微粒子 0.3 mg/m<sup>3</sup> (1 週間 40 時間 (1 日 10 時間まで))<sup>62)</sup>

根拠 : ラットの長期吸入ばく露試験 (2 年間) において肺重量あたりの肺保持量 (粒子表面積) を用量の指標としてベンチマーク用量法 (1/1,000 過剰肺腫瘍リスクを生じる用量の 95%信頼下限値) を適応し、ラットからヒトへ外挿した。

EC : Derived No Effect Level (DNEL) : 0.017 mg/m<sup>3</sup>

Dupont : Acceptable Exposure Limit (AEL): 1mg/m<sup>3</sup>

Table 1 Wahrheit が試験に使用した二酸化チタンの物理化学的特性<sup>24)</sup>

Recommended benchmark limits:  $4.0 \times 10^4$  /cm<sup>3</sup><sup>66)</sup>

Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident

Insurance (IFA)によって提案された基準値：二酸化チタンナノ粒子のように6,000kg/m<sup>3</sup>

以下の比重を持つ滞留性顆粒状ナノ材料で1-100nmの範囲の粒子の個数基準濃度（8時間労働）

#### 引用文献

- 1) International Programme on Chemical Safety (IPCS): 国際化学物質安全性カード (ICSC)日本語/英語版 ICSC 番号 338 (2002)
- 2) 日本酸化チタン工業会資料
- 3) 化学工業日報社: 15911 の化学商品 (2011 年)
- 4) National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH): Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) (CD 版(2010))
- 5) International Agency for Research on Cancer (IARC) : IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Carbon Black, Titanium dioxide and Talc Vol.93. (2010)
- 6) (社) 日本産業衛生学会 : 許容濃度の勧告、産業衛生学雑誌 52 巻 5 号 (2010)
- 7) European Commission Joint Research Centre : Details on Substances Classified in Annex VI to Regulation (EC) No 1272/2008  
(<http://tcsweb3.jrc.it/classification-labelling/clp/>)
- 8) National Institute of Health : Carcinogens Listed in NTP 12th Report  
(<http://ntp.niehs.nih.gov/go/roc12>)
- 9) US. Environmental Protection Agency (EPA) : Integrated Risk Information System (IRIS), Cancer Unit Risk Values
- 10) World Health Organization (WHO) : "Air Quality Guidelines for Europe, Second Edition" ,(2000)  
(<http://www.euro.who.int/document/e71922.pdf>)
- 11) WHO : "Air Quality Guidelines – global update 2005"  
([http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO\\_SDE\\_PHE\\_OEH\\_06.02\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_SDE_PHE_OEH_06.02_eng.pdf))
- 12) California EPA (OEHHA) : Hot Spots Unit Risk and Cancer Potency Values (2009)

- ([http://www.oehha.ca.gov/air/hot\\_spots/2009/AppendixA.pdf](http://www.oehha.ca.gov/air/hot_spots/2009/AppendixA.pdf) )
- 13) California EPA (OEHHA) : Air Toxics Hot Spots Program Risk Assessment Guidelines Part II “Technical Support Document for Cancer Potency Factors: Methodologies for derivation, listing of available values, and adjustments to allow for early life stage exposures.May 2009”(2009)  
([http://www.oehha.ca.gov/air/hot\\_spots/2009/TSDCancerPotency.pdf](http://www.oehha.ca.gov/air/hot_spots/2009/TSDCancerPotency.pdf) )
  - 14) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) : TLVs and BELs (Booklet 2011)
  - 15) Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) : List of MAK and BAT values. (2010)  
([http://www.mrw.interscience.wiley.com/makbat/makbat\\_chemicals\\_fs.html](http://www.mrw.interscience.wiley.com/makbat/makbat_chemicals_fs.html))
  - 16) ACGIH: Titanium Dioxide. In: Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for Titanium Dioxide. (2001)
  - 17)Warheit DB, Hoke RA, Finlay C, Donner EM, Reed KL, Sayes CM (2007c) Development of a base set of toxicity test using ultrafine TiO<sub>2</sub> particles as a component of nanoparticle risk management. Toxicol Lett 171, 99–110.
  - 18)中央労働災害防止協会:平成22年度ナノマテリアルの有害性等の情報収集報告書報告。酸化チタン (2011)
  - 19)蒲生昌志 編:ナノ材料リスク評価書—二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>)—最終報告書版:2011.7.22、NEDO プロジェクト (P06041) 「ナノ粒子特性評価手法の調査研究」(2011)
  - 20)Oberdörster G, Ferin J, Gelein R, Soderholm AC, Finkelstein J (1992) Role of the alveolar macrophage in lung injury: Studies with ultrafine particles. Environ Health Perspect 97, 193–199.
  - 21)Renwick LC, Brown D, Clouter A, Donaldson K (2004) Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. Occup Environ Med 61, 442–447.
  - 22)Sager TM, Kommineni C, Castranova V (2008) Pulmonary response to intratracheal instillation of ultrafine versus fine titanium dioxide: Role of particle surface area. Part Fibre Toxicol 5, 17.
  - 23)Warheit DB, Webb TR, Sayes CM, Colvin VL, Reed KL (2006) Pulmonary instillation studies with nanoscale TiO<sub>2</sub> rods and dots in rats: Toxicity is not dependent upon particle size and surface area. Toxicol Sci 91, 227–236.
  - 24)Warheit DB, Webb TR, Reed KL, Frerichs S, Sayes CM (2007) Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO<sub>2</sub> particles: Differential responses related to surface properties. Toxicology 230, 90–104.
  - 25)Kobayashi N, Naya M, Endoh S, Maru J, Yamamoto K, Nakanishi J (2009) Comparative pulmonary toxicity study of nano-TiO<sub>2</sub> particles of different sizes and

- agglomerations in rats: Different short- and long-term post-instillation results. *Toxicology* 264, 110–118.
- 26) Ma-Hock L, Burkhardt S, Strauss V, Gamer AO, Wiench K, van Ravenzwaay B, Landsiedel R (2009) Development of a short-term inhalation test in the rat using nano-titanium dioxide as a model substance. *Inhalation Toxicology* 21, 102-18.
- 27) Takenaka S, Dornhöfer-Takenaka H, Muhle H (1986). Alveolar distribution of fly ash and of titanium dioxide after long-term inhalation by Wistar rats. *J Aerosol Sci* 17, 361–364. doi:10.1016/0021-8502(86)90105-9.
- 28) Bermudez E, Mangum JB, Wong BA, Asgharian B, Hext PM, Warheit DB, Everitt JI (2004) Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci* 77: 347 – 357.
- 29) Grassian VH, O' Shaughnessy PT, Adamcakova-Dodd A, Pettibone JM, Thorne PS (2007) Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ Health Perspect* 115, 397–402.
- 30) Ferin J, Oberdörster G, Penney DP (1992) Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats. *Am J Respir Cell Mol Biol* 6, 535-542.
- 31) Morimoto Y, Oyabu T, Ogami A, Myojo T, Kuroda E, Hirohashi M, Shimada M, Lenggoro W, Okuyama K, Tanaka I. (2011) Investigation of gene expression of MMP-2 and TIMP-2 mRNA in rat lung in inhaled nickel oxide and titanium dioxide nanoparticles. *Ind Health* 49, 344-352.
- 32) van Ravenzwaay B, Landsiedel R, Fabian E, Burkhardt S, Stauss V, Ma-Hock L (2009) Comparing fate and effects of three particles of different surface properties: nano-TiO<sub>2</sub>, pigmentary TiO<sub>2</sub> and quartz. *Toxicol Lett* 186, 152–159.
- 33) Wang J, Cken C, Liu Y, Jiao F, Lao F, Li Y, Li B, Ge C, Zhou G, Gao Y, Zhao Y, Chai Z (2008) Potential neurological lesion after nasal instillation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in the anatase and rutile crystal phases. *Toxicol Lett* 183, 72–80.
- 34) Rossi EM, Pylkkanen L, Koivisto AJ, Vippola M, Jensen KA, Miettinen M, Sirola K, Nykasenoja H, Karisola P, Stjernvall T, Vanhala E, Kiilunen M, Pasanen P, Makinen M, Hameri K, Joutsensaari J, Tuomi T, Jokiniemi J, Wolff H, Savolainen K, Matikainen S, Alenius H (2010) Airway exposure to silica-coated TiO<sub>2</sub> nanoparticles induces pulmonary neutrophilia in mice. *Toxicol Sci* 113, 422-433.
- 35) Jani PU, McCarthy DE, Florence AT (1994) Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI and translocation to systemic organs after oral administration. *Int J Pharm* 105, 157–168.
- 36) Wang JX, Chen CY, Yu HW, Sun J, Li B, Li YF, Gao YX, He W, Huang YY, Chai ZF, Zhao YL, Deng XY, Sum HF (2007) Distribution of TiO<sub>2</sub> particles in the olfactory

- bulb of mice after basal inhalation using microbeam SRXRF mapping techniques. J Radioanal Nucl Chem 272, 527–531
- 37) Duan Y, Liu J, Ma L, Li N, Liu H, Wang J, Zheng L, Liu C, Wang X, Zhao X, Yan J, Wang S, Wang H, Zhang X, Hong F (2010) Toxicological characteristics of nanoparticles anatase titanium dioxide in mice. Biomaterials 31, 894–899.
- 38) Adachi K, Yamada N, Yamamoto K, Yoshida Y, Yamamoto O. (2010) In vivo effect of industrial titanium dioxide nanoparticles experimentally exposed to hairless rat skin. Nanotoxicology 4(3): 296-306
- 39) Wu J, Lui W, Xue C, Zhou S, Lan F, Bi L, Xu H, Yang X, Zeng FD (2009) Toxicity and penetration of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. Toxicol Lett 191, 1–8.
- 40) Sadrieh N, Wokovich AM, Gopee NV, Zheng J, Haines D, Parmiter D, Siitonen PH, Cozart CR, Patri AK, Mcneil SE, Howard PC, Doub WH, Buhse LF (2010) Lack of significant dermal penetration of titanium dioxide from sunscreen formulations containing nano- and submicron-size TiO<sub>2</sub> particles. Toxicol Sci 115, 156–166.
- 41) Adachi K, Yamada N, Yamamoto K, Yoshida Y, Yamamoto O (2010) In vivo effect of industrial titanium dioxide nanoparticles experimentally exposed to hairless rat skin. Nanotoxicology 4, 296-306.
- 42) Hougaard KS, Jackson P., Jensen KA, Sloth JJ, Löschner K, Larsen EH, Birkedal RK, Vibenholt A, Boisen, A-MZ, Wallin H, Vogel U. (2010) Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice. Part Fibre Toxicol 2010, 7,16 doi:10.1186/1743-8977-7-16.
- 43) Fedulov AV, Leme A, Yang Z, Dahl M, Lim R, Mariani TJ, Kobzik L (2008) Pulmonary exposure to particles during pregnancy causes increased neonatal asthma susceptibility. Am J Respir Cell Mol Biol 38, 57–67.
- 44) Trouiller B, Reliene R, Westbrook A, Solaimani P, Schiestl RH (2009) Titanium dioxide nanoparticles induced DNA damage and gene instability *in vivo* in mice. Cancer Res 69, 8784-8789.
- 45) Shimizu M, Tainaka H, Oba T, Mizuo K, Umezawa M, Takeda K (2009) Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. Part Fibre Toxicol 6, 20.
- 46) Takeda K, Suzuki K, Ishihara A, Kubo-Irie M, Fujimoto R, Tabata M, Oshio S, Nihei Y, Ihara T, Sugamata M (2009) Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. J Health Sci 55, 95–102.
- 47) Long TC, Saleh N, Tilton RD, Lowry GV, Veronesi B (2006) Titanium dioxide (P25)

- produces reactive oxygen species in immortalized brain microglia (BV2). implications for nanoparticle. *Environ Scie Technol* 40, 4346-4352.
- 48)Monteiller C, Tran L, MacNee W, Faux S, Jones A, Miller B, Donaldson K (2007) The pro-inflammatory effects of low-toxicity low-solubility particles, nanoparticles and fine particles, on epithelial cells in vitro: The role of surface area. *Occup Environ Med* 64, 609-615.
- 49)Huang S, Chueh PJ, Lin YW, Shih TS, Chuang SM (2009) Disturbed mitotic progression and genome segregation are involved in cell transformation mediated by nano-TiO<sub>2</sub> long-term exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 241, 182-194.
- 50)Hussain S, Thomassen LCJ, Ferecatu I, Borot MC, Andreau K, Martens JA, Fleury J, Baeza-Squiban A, Marano F, Boland S(2010)Carbon black and titanium dioxide nanoparticles elicit distinct apoptotic pathways in bronchial epithelial cells. *Part Fibre Toxicol* 7, 10.
- 51)Xia T, Kovochich M, Brant J, Hotze M, Sempf J, Oberley T, Sioutas C, Yeh JI, Wiesner MR, Nel AE(2006)Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano Letters* 6, 1794-1807.
- 52)Park S, Lee YK, Jung M, Kim KH, Chung N, Ahn EK, Lim Y, Lee KH(2007)Cellular toxicity of various inhalable metal nanoparticles on human alveolar epithelial cells. *Inhalation Toxicology* 19, Supplement 1, 59-65.
- 53)Heinrich U, Fuhst R, Rittinghausen S, Creutzenberg O, Bellmann B, Koch W, Levsen K (1995) Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to diesel engine exhaust, carbon black, and titanium dioxide. *Inhalation Toxicol* 7, 533-556.
- 54)Thyssen J, Kimmerle G, Dickhaus S, Emminger E, Mohr U (1978) Inhalation studies with polyurethane foam dust in relation to respiratory tract carcinogenesis. *J Environ Pathol Toxicol* 1, 501-508.
- 55) Pott F, Roller M. (2005) Carcinogenicity study with nineteen granular dusts in rats. *Eur J Oncol* 10(4): 249-281
- 56) Stenbäck F, Rowland J, Sellakumar A (1976) Carcinogenicity of benzo(a)pyrene and dusts in the hamster lung (instilled intratracheally with titanium oxide, aluminum oxide, carbon and ferric oxide). *Oncology* 33, 29-34.
- 57) Mohr U, Pott F, Vonnahme FJ (1984) Morphological aspects of mesotheliomas after intratracheal instillations of fibrous dust in Syrian golden hamsters. *Exp Pathol* 26, 179-183.
- 58) Pflücker F, Wendel V, Hohenberg H, Gärtner E, Will T, Pfeiffer S, Wepf R,

- Gers-Barlag H. (2001) The human stratum corneum layer: an effective barrier against dermal uptake of different forms of topically applied micronized titanium dioxide. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14 (Suppl. 1), 92-97.
- 59) Schulz J, Hohenberg H, Pflücker F, Gärtner E, Will T, Pfeiffer S, Wepf R, Wendel V, Gres-Barlag H, Wittern KP. (2002) Distribution of sunscreen on skin. *Adv Drug Del Rev* 54 (Suppl. 1), 157-163.
- 60) Mavon A, Miquel C, Lejeune O, Payre B, Moretto P (2006) *In vitro* percutaneous absorption and *in vivo* stratum corneum distribution of an organic and a mineral sunscreen. *Skin Pharmacol Physiol* 20, 10-20.
- 61) 森本泰夫, 田中勇武 (2008) ナノ粒子の有害性評価. 産衛誌 **50**, 37-48.
- 62) NIOSH (2011): Current Intelligence Bulletin 63. Occupational exposure to titanium dioxide. NIOSH Publication No 2011-160. (<http://www.cdc.gov/niosh/docs/2011-160/pdfs/2011-160/pdf/> assessed on January 7, 2013)
- 63) Takahashi Y, Mizuo M, Shinkai S, Oshio S, Takeda K (2010) Paternal exposure to titanium dioxide nanoparticles increases dopamine levels in the prefrontal cortex and neocortex of mice. *J Toxicol Sci* 35, 749-756.
- 64) Yamashita K, Yoshioka Y, Hatakeyama K et al (2011) Silica titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice, *Nature Nanotech.* 6, 312-328/
- 65) IUCLID Dataset. 13463-67-7(18 Feb.2000)
- 66) IFA (Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance). 2010. Criteria for assessment of the effectiveness of protective measures. <http://www.dguv.de/ifa/en/fac/nanopartikel/beurteilungsmassstaebe/index.jsp>, accessed on May 31, 2012.

有害性総合評価表

物質名：酸化チタン（ナノ粒子）

有害性の種類	評価結果
<p>ア 急性毒性</p>	<p><u>致死性</u></p> <p><u>ラット</u>  吸入毒性：LC<sub>50</sub> = データなし  経口毒性：LD<sub>50</sub> = 5,000 mg/kg bw</p> <p><u>マウス</u>  吸入毒性：LC<sub>50</sub> = データなし  経口毒性：LD<sub>50</sub> = データなし</p> <p><u>ウサギ</u>  経口毒性：LD<sub>50</sub> = データなし</p> <p><u>健康影響</u>  ・吸入ばく露試験や気管内注入試験において、肺の炎症（非特異的炎症）を認める。但し、1次粒子がナノ粒子であるほど急性期の炎症は強い傾向にあるが、一過性である。</p>
<p>イ 刺激性/腐食性</p>	<p>皮膚刺激性/腐食性：なし  1 報告のみであるが、P25 によるウサギ急性皮膚刺激試験が行われており、有意な皮膚の刺激性は認められなかった。</p> <p>眼に対する重篤な損傷性/刺激性：なし  1 報告のみであるが、P25 による急性眼刺激性試験が行われており、有意な結膜、虹彩、角膜の刺激性は認められなかった。</p>
<p>ウ 感作性</p>	<p>皮膚感作性：なし  1 報告のみであるが、P25 による局所リンパ節試験法が行われており、耳介リンパ節における有意な H3-Thymidine の取り込みを認めず、皮膚感作性を認めなかった。</p> <p>呼吸器感作性：報告なし  調査した範囲内で情報は得られていない</p>
<p>エ 反復投与毒性(生殖・発生毒性/遺伝毒性)</p>	<p>反復投与毒性：あり  NOAEL = 2 mg/m<sup>3</sup>  根拠： TiO<sub>2</sub> ナノ粒子（P25）を用いて、雌性ラット、マウスに対して、0.5、2、およ</p>

<p>/発がん性は除く) (信頼できる評価レベルが複数求まる場合は複数記載する)</p>	<p>び 10 mg/m<sup>3</sup>の重量濃度で、13 週間(6 時間/日, 5 日/週)の吸入ばく露試験を行い、10 mg/m<sup>3</sup>では肺炎症を認めたが、2 mg/m<sup>3</sup>以下の気中濃度ではほとんど影響が認められなかった。さらに、2 mg/m<sup>3</sup>では、肺内のクリアランスも遅延していない。0.5 mg/m<sup>3</sup>では肺への影響が認められず、肺内のクリアランスも遅延していない。</p> <p>本有害性評価書では、2 mg/m<sup>3</sup>群ラットの13 週ばく露終了直後にみられた BrdU-ラベル肺胞細胞の有意な増加は一過性とみなし、炎症性反応は、10 mg/m<sup>3</sup>群で明らかに認められ、かつ、TiO<sub>2</sub> ナノ粒子ばく露に関連した肺反応であることから、NOAEL は 2.0 mg/m<sup>3</sup>であると判断した。</p> <p>不確実性係数 UF = 10 根拠：種差 (10) 評価レベル = 0.15 mg/m<sup>3</sup> 計算式：2 mg/m<sup>3</sup>×6/8(時間補正)×5/5(日数補正)×1/10(種差)=0.15 mg/m<sup>3</sup></p>
<p>オ 生殖・発生毒性 (信頼できる評価レベルが複数求まる場合は複数記載する)</p>	<p>生殖・発生毒性：判断できない。</p> <p>根拠：生理的ばく露とは異なる手法や投与量で行われている方法がほとんどであるので、必ずしも信頼できる評価レベルとはいえないことから、生殖・発生毒性については、判断できないとした。</p> <p>(参考) LOAEL = 42 mg/m<sup>3</sup> × 0.708 = 29.7 mg/m<sup>3</sup></p> <p>根拠：妊娠 8-18 日の C57BL/6BomTac マウスに 42 mg/m<sup>3</sup> (1.7×10<sup>6</sup>n/cm<sup>3</sup>; peak-size: 97 nm) の UV-titan L181 (ルチル型：Zr, Si, Al により修飾, ポリアルコール表面修飾, TiO<sub>2</sub>: 70.8%, Zr: 8.7%, Si: 5.6%, Al: 2.4%, Na: 0.5%, 揮発物質：5.2%, X 線解析平均サイズ：20.6 nm, 比表面積：107.7 m<sup>2</sup>/g, Kemira 製) を吸入ばく露 (1 時間/日計 11 日間) した。母動物の肺で Ti が検出され、炎症 (BALF の好中球数増加) を認めたが、母および児動物の肝臓、児動物胃内の母乳中には Ti は検出されなかった。児動物の行動に関しては、14 週齢に実施したオープンフィールド試験において TiO<sub>2</sub> ばく露群の F1 児のフィールド中央部への侵入頻度および雌の中央部での滞在時間の減少がみられ、4 ヶ月齢に実施した聴覚性驚愕反応試験では雌に強いプレパルス抑制の増強効果がみられた。しかし、11-16 週齢に実施したモリス水迷路試験による記憶学習に関しては、F1 児に TiO<sub>2</sub> ばく露の影響は認められなかった。生殖能に関しては、生後 19 週に TiO<sub>2</sub> ばく露群の雄 F1 児を無処置の雌 CBA/J マウスと交配したところ、初回交配開始から F2 児出産までの期間が、有意ではないが、延長する傾向がみられた。</p> <p>不確実性係数 UF = 100 根拠：種差 (10)、LOAEL から NOAEL への変換 (10)</p>

	<p>評価レベル = 0.037 mg/m<sup>3</sup>          計算式 : 42 mg/m<sup>3</sup> × 0.708 × 1/8 × 1/100 (UF) = 0.037 mg/m<sup>3</sup></p>
<p>カ 遺伝毒性          (変異原性を          含む)</p>	<p>遺伝毒性 : あり          根拠 : 複数の <i>in vitro</i> の小核試験、<i>in vivo</i> の小核試験および遺伝子欠失試験で陽性を認めるので、遺伝毒性ありと考える。但し、TiO<sub>2</sub> のように難溶解性の粒子における遺伝毒性は、核に対する直接作用よりは、フリーラジカルが引き起こす間接的 (2 次的) 遺伝毒性が関与する。</p>
<p>キ 発がん性</p>	<p>発がん性 : ヒトに対する発がん性が疑われる</p> <p>IARC の発がん分類 : 2B (ヒトに対する発癌性が疑われる)          (二酸化チタンのすべての粒子に対する分類で、ナノ粒子に限らない。)</p> <p>根拠 :</p> <p>疫学的研究 : 不十分な証拠 (1 報告でわずかに肺がん発症が増加、2 報告では、有意な発症を認めない)。          動物試験 : 十分な証拠          メカニズム : 二酸化チタンまたは難溶性粒子は肺腫瘍をひきおこすかもしれない。          以上より、疫学的研究にて不十分な証拠、動物試験では十分な証拠であること、腫瘍発生の機序としての証拠は強くはないことから、Group 2B と判断した。</p> <p>閾値の有無 : あり          根拠 : 遺伝毒性試験で <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> で陽性反応が得られているが、2 次的な遺伝毒性と考えられる。</p> <p>[閾値ありの場合]          LOAEL = 10.4 mg/m<sup>3</sup>          根拠 : 二酸化チタンナノ粒子 (21 nm) を乾式分散により、Wistar ラットに 24 ヶ月間、1 日 18 時間、週 5 日全身吸入ばく露 (平均 : 10.4 mg/m<sup>3</sup>) し、腫瘍発生ラット数は 19/100 であり、非ばく露群 (1/217) より有意に高かった。二酸化チタンのクリアランスに関するデータはないが、おそらく過負荷の状態であり、腫瘍形成には、粒子の過負荷が関与すると考える。しかし、唯一の長期吸入ばく露試験であるので、LOAEL として採用した。</p> <p>不確実性係数 UF = 1,000          根拠 : 種差(10)、LOAEL から NOAEL への変換(10)、がんの重大性(10)</p>

	<p>評価レベル = 0.023 mg/m<sup>3</sup>          計算式： 10.4 mg/m<sup>3</sup> × 18/8(時間補正) × 1/1,000(UF) = 0.023mg/m<sup>3</sup></p> <p>参考[閾値なしの場合] (本項の計算は Appendix に記載)          ユニットリスク (UR) : 報告なし          発がんの過剰発生リスク (10<sup>-4</sup>)に相当するばく露濃度</p> <p>1) ナノ粒子の発がん性試験における肺腫瘍発生率と用量を直線外挿した場合          この値を基に、労働時間補正(18/8)と労働生涯補正 (45/75) を行う。          過剰発生リスク (10<sup>-4</sup>)に相当するばく露濃度= 5 µg/m<sup>3</sup>          労働生涯補正後の発がん過剰発生リスク (10<sup>-4</sup>)に相当するばく露濃度= 18.7 µg/m<sup>3</sup>          計算式： 5 µg/m<sup>3</sup> / (45/75) × (18/8) = 18.7 µg/m<sup>3</sup></p> <p>2) リスク評価の算出          ベンチマーク用量モデルから過剰発がんの肺内保持量 (表面積用量) を算出し、MPPD モデルによるヒトの吸入ばく露濃度を推定した。基本的には NIOSH の方法と類似しているが、モデル式の平均化をしていないこと、肺重量の基準値が異なる。1/1000 および 1/10000 の過剰発がん率より求めたナノ粒子の吸入ばく露濃度 (45年ばく露) は、それぞれ、0.28-0.30 mg/m<sup>3</sup>、0.03 mg/m<sup>3</sup>である。</p> <p>3) NIOSH の報告          ベンチマーク用量モデルから過剰発がんの肺内保持量 (表面積用量) を算出し、MPPD モデルによるヒトの吸入ばく露濃度を推定した。1/1000 および 1/10000 の過剰発がん率より求めたナノ粒子の吸入ばく露濃度 (45年ばく露) は、それぞれ、0.29 mg/m<sup>3</sup>、0.07 mg/m<sup>3</sup>である。</p>
<p>コ          許容濃度の設定</p>	<p>ACGIH          TLV-TWA: 10 mg/m<sup>3</sup> (二酸化チタン全体を対象としており、ナノ粒子に限らない。)          発がんに関する分類 A4 (ヒトに対する発がん性については分類できない)</p> <p>根拠: ラットに二酸化チタン粉末を 0, 10, 50, 250 mg/m<sup>3</sup> の濃度で吸入ばく露させた慢性実験において、250 mg/m<sup>3</sup> 投与群で肺への炎症および扁平上皮がんの形成を認めた。なお 10mg/m<sup>3</sup> の投与群では肺の既存の構築は保たれており、線維化の進行や不可逆的な病変も認められない。疫学的調査では、二酸化チタンのばく露と呼吸器疾患との間には関連性がなかったと報告されている。さらに二酸化チタンへの職業ばく露が肺の線維化、発がん、もしくは他の健康影響との関連を示す確実な証拠は無い。以上のことから、TLV-TWA 値として 10 mg/m<sup>3</sup> を勧告する。</p> <p>二酸化チタンの発がん性を調べた動物実験は陰性もしくは結論に達していないことから、これらの結果をもとに二酸化チタンを A4 に分類する。Skin や SEN 表記あるいは TLV-STEL を提言する十分なデータはない。<sup>20)</sup></p>

	<p>日本産業衛生学会等 設定なし</p> <p>NEDO プロジェクト：許容ばく露濃度 (PL:時限) : 0.6 mg/m<sup>3</sup>  ラットの 13 週間の吸入ばく露試験において、過剰負荷がなく、かつほとんど生体反応を認めないばく露濃度 2mg/m<sup>3</sup> を NOAEL とし、ヒトへの換算を行った。ただし、当面 15 年程度の亜慢性のばく露期間を想定した許容濃度であり、10 年程度での見直しを前提としている。</p> <p>NIOSH : Recommended Exposure Limit (REL): 0.3 mg/m<sup>3</sup>  ラットの長期吸入ばく露試験 (2 年間) において肺重量あたりの肺保持量 (粒子表面積) を用量の指標としてベンチマーク用量法 (1/1000 過剰肺腫瘍リスクを生じる用量の 95%信頼下限値) を適応し、ラットからヒトへ外挿した。</p> <p>EC : Derived No Effect Level (DNEL) : 0.017 mg/m<sup>3</sup></p> <p>Dupont : Acceptable Exposure Limit (AEL): 1mg/m<sup>3</sup></p> <p>Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance (IFA): 1-100nm の範囲の粒子の個数基準濃度 (8 時間労働)  Recommended benchmark limits: 4.0 × 10<sup>4</sup> /cm<sup>3</sup></p>
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## Appendix 二酸化チタンナノ(**ultrafine**)粒子の定量的リスク評価

### 1) ナノ粒子(超微粒子(**ultrafine**))と微粒子(**fine**)の用量-反応(炎症反応と発がん性)関係における **dosemetrics**

図1は二酸化チタンのナノ粒子と微粒子をラットに気管内投与した肺洗浄液(BALF)中の好中球比率を示す。ナノ粒子は微粒子に比べて、同一質量濃度でより多くの好中球を産生することがわかる。

図1 異なる粒子サイズを気管内注入した BALF 好中球比率 -重量基準-<sup>30)65)</sup>

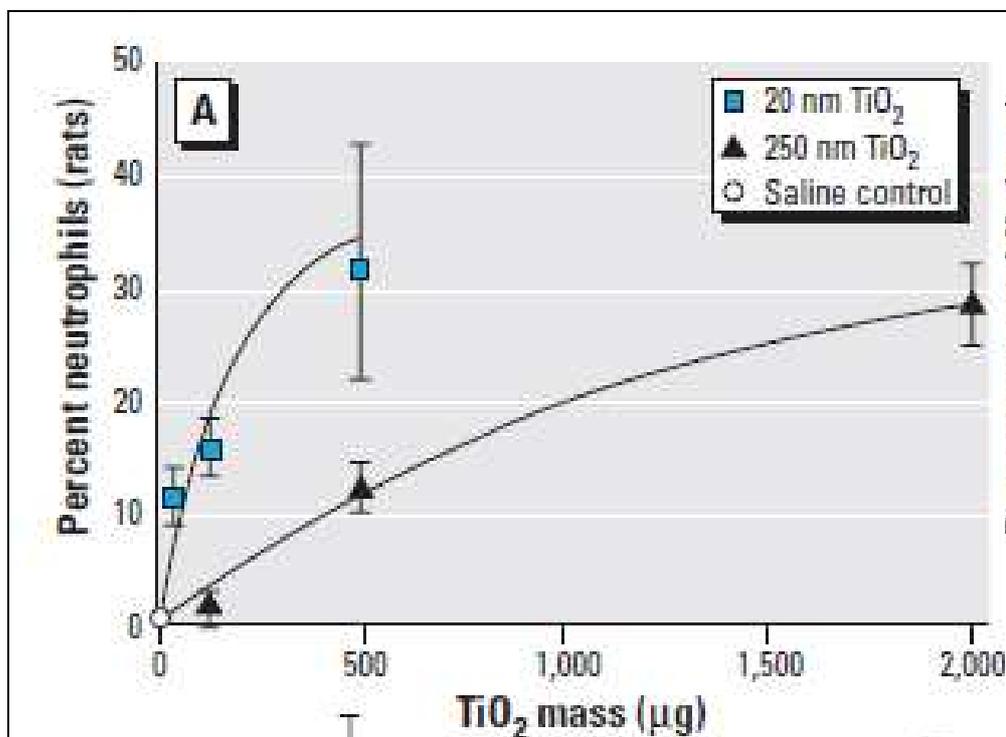


図2は、**dosemetrics** として質量濃度ではなく、粒子の表面積を用いた場合のラット肺洗浄液中の好中球産生率との関係を示す。図1の質量濃度に比べて、粒子の表面積は **dosemetrics** として炎症性反応をよりの確に表現できる。

図 2. 異なる粒子サイズを気管内注入した BALF 好中球比率 –表面積基準-<sup>30)65)</sup>

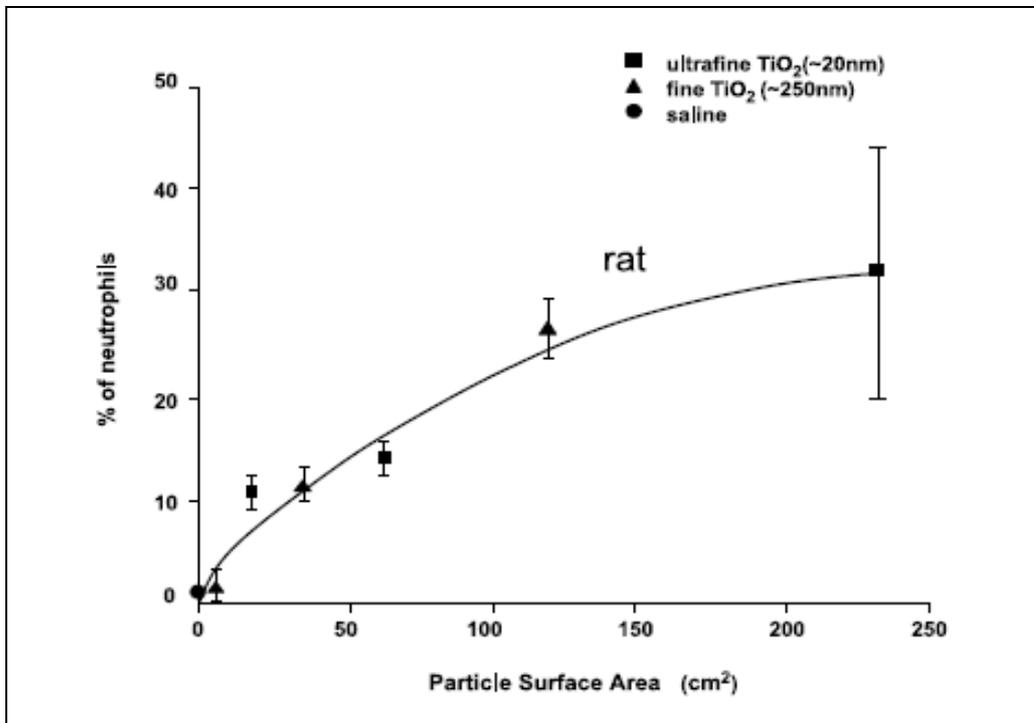
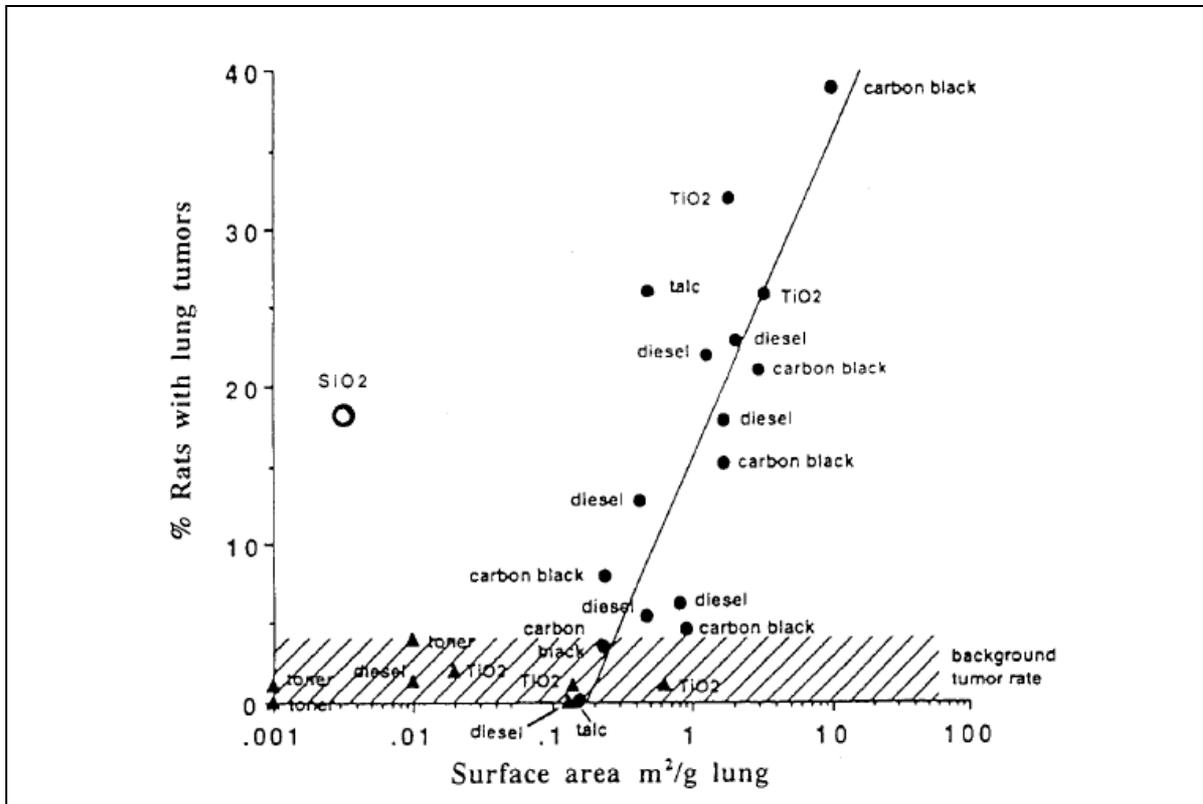


図 3 は長期吸入ばく露試験における肺腫瘍の発生率と難溶性低毒性化学物質の表面積用量との関連を示している。表面積用量を用いると一定の用量から急に比率が上昇している。低毒性の物質でも過剰投与すると肺腫瘍の発生率が増加することを示している。この過剰投与による肺腫瘍の発生率の増加は、NIOSH、IARC のレポートに報告されている<sup>5,62)</sup>。また、この傾向に関しては、肺腫瘍だけでなく、肺の炎症（図 1 と 2 を参照）と表面積用量においても認められる。

図 3 難溶性低毒性化学物質の用量(表面積)と腫瘍発生率<sup>62)</sup>



2) 微粒子及び超微粒子投与(ばく露)の発がん性試験及び亜慢性毒性試験の結果と肺過負荷

2-1) 定量的リスク評価に用いる二酸化チタン微粒子及びナノ粒子の発がん性試験

・ Lee et al による二酸化チタン微粒子の発がん性試験

二酸化チタン微粒子エアロゾル(E.I.duPont 製、吸入性粉じん約 84%、MMAD: 1.5 ~ 1.7 μm、ばく露濃度: 0、10、50、250 mg/m<sup>3</sup>)を雌雄 CD ラットに 6 時間/日、5 日/週、2 年間反復吸入ばく露し、肺腫瘍を検討した。対照群に比べて、ばく露群に臨床症状、体重の変化、死亡率の変化は見られなかった。2 年ばく露終了後のチタン肺負荷量は、乾燥肺重量 1 g 当り、10 mg/m<sup>3</sup> 群では 3.1%(26.5 mg/lung)、50 mg/m<sup>3</sup> 群では 16.9%(124 mg/lung)、250 mg/m<sup>3</sup> 群では 28%(665 mg/lung)であった。肺クリアランス機序は損傷され、250 mg/m<sup>3</sup> で過負荷になった。しかし、10 と 50 mg/m<sup>3</sup> 群では肺クリアランス速度に差はなかった。過負荷の肺クリアランスメカニズムを示す早期の肺反応は粉塵を吞食したマクロファージ、粉じんを含む泡沫性細胞、それらの細胞の残屑等の集積を特徴とした。過負荷の肺クリアランスメカニズムのマーカーである肺胞蛋白症は 1 年ばく露終了後の 50 と 250 mg/m<sup>3</sup> 群に

発現した。250 mg/m<sup>3</sup>の2年ばく露終了後に、II型肺細胞の過形成を示す肺胞に細気管支肺胞腺腫が発現した。また、肺胞道領域の細気管支化を示す扁平上皮化生から進展した角質性扁平上皮癌が認められた。腺腫は250 mg/m<sup>3</sup>群の雄では77匹中12例、雌では74匹中413例および扁平上皮癌は250 mg/m<sup>3</sup>群の雄では77匹中1例、雌では74匹中13例に認められた<sup>s1, s2</sup>。

• **Muhle et al と Bellmann et al**による二酸化チタン微粒子の発がん性試験

99.5%のルチル型二酸化チタン微粒子（ドイツ、Bayer AG 社製、吸入性粉じん MMAD 1.1 μm、GSD 1.6、ばく露濃度：0、5 mg/m<sup>3</sup>）を雌雄 F-344 ラットに6時間/日、5日/週、2年間反復吸入ばく露した。体重、臨床生化学指標、摂餌量、臓器重量はばく露群と対照群の間に有意差はみられなかった。2年ばく露終了後の肺と肺周囲リンパ節のチタン肺負荷量は、重量1g当り、雄では3.2 mg/g、雌では2.24 mg/gであった。2年間吸入ばく露後の肺腫瘍発生率は、対照群では腺腫が100匹中2例と腺癌が100匹中1例（合計3例）であり、ばく露群では腺腫が100匹中1例、腺癌が100匹中1例（合計2例）であった<sup>s3, s4</sup>。

• **Heinrich et al**による二酸化チタンナノ粒子の発がん性試験

二酸化チタンナノ粒子（Evonik Degussa 社製; P25; 平均一次粒径 21 nm, 一次粒子サイズ: 15–40 nm、アナターゼ 80%/ルチル 20%）を乾式分散により、雌 Wistar ラットに24ヶ月間、1日18時間、週5日全身吸入ばく露し、さらにラットを6ヶ月間清浄な空気下で飼育した後、肺腫瘍発生を検討した。ばく露濃度は、最初の4ヶ月間: 7.2 mg/m<sup>3</sup>, 続く4ヶ月間: 14.8 mg/m<sup>3</sup>, 9ヶ月から実験終了まで: 9.4 mg/m<sup>3</sup>（平均: 10.4 mg/m<sup>3</sup>）であり、累積ばく露量は 88.1 g/m<sup>3</sup> x 時間（24ヶ月）であった。18ヶ月で肺に最初の腫瘍発生がみられ、二酸化チタンナノ粒子ばく露による肺腫瘍発生数は、良性扁平上皮癌 (benign squamous-cell carcinoma) 20/100 (非ばく露群 0/217)、扁平上皮癌 (squamous-cell carcinoma) 3/100 (非ばく露群 0/217)、腺腫 (adenoma) 4/100 (非ばく露群 0/217)、腺癌 (adenocarcinoma) 13/100 (非ばく露群 1/217) で、腫瘍発生ラット数は 32/100 であり、非ばく露群 (1/217) より有意に高かった<sup>53</sup> (本有害性評価書の発がん性項にて既述)。

2-2) 高濃度の二酸化チタン粒子ばく露による肺過負荷

水に不溶性で低い毒性の粒子・繊維状物質の実験動物への吸入ばく露と気管内投与は肺への過負荷を引き起こす(Lung overload)ことが知られている。二酸化チタン微粒子エアロゾルの吸入ばく露では、上記の Lee らによる 250 mg/m<sup>3</sup>の2年間吸入ばく露試験<sup>s1, s2</sup>と下記の 250 mg/m<sup>3</sup>の3か月吸入ばく露試験の2つの研究が報告されている。

- ルチル型 p-TiO<sub>2</sub> (DuPont 製、MMAD 1.44 μm、GSD 1.72) 粒子の濃度 0、10、50、250 mg/m<sup>3</sup> を雌 CDF(F344)/Cr1BR ラット、雌 B3C3F1/Cr1BR マウス、雌

LVG(SYR)BR ハムスターに 6 時間/日、5 日/週、13 週間吸入ばく露し、ばく露終了後 0、4、13、26、52 週間の回復期を設定し、ばく露終了時とその後の肺とリンパ節の粒子負荷と肺反応（炎症、細胞毒性、肺細胞の増殖性）を検討した。肺および肺周囲のリンパ節の  $\text{TiO}_2$  粒子の負荷量はばく露濃度に依存して増加した。ラットとマウスでは  $50$  と  $250 \text{ mg/m}^3$  で肺過負荷がみられた。炎症として、3 種の動物ともにマクロファージと好中球及び肺洗浄液中の可溶性炎症成分の増加が認められた。 $250 \text{ mg/m}^3$  群では、ばく露終了後 52 週まで、肺洗浄液中の炎症性成分は増加していた。肺障害はラットが最も重度であり、 $250 \text{ mg/m}^3$  群で進行性の上皮変化と線維増殖性変化がみられた。上皮性の増殖変化が BrdU ラベル肺上皮細胞の増加として認められた。結論として、吸入した  $\text{p-TiO}_2$  粒子に対する肺反応には大きな種差が存在すること、肺過負荷を誘発する条件では、ラットはマウスやハムスターよりもより重度で持続性の炎症性反応を惹起すること、および高濃度  $250 \text{ mg/m}^3$  の 90 日ばく露によってラットは進行性の線維増殖性障害と肺胞上皮性化生を引き起こす<sup>s5)</sup>。

### 2-3) 肺過負荷に対する見解

・ Oberdörster(1997)の見解<sup>s8)</sup>：粒子・繊維状物質の実験動物への 2 年間反復吸入ばく露による発がん性試験では、用量設定は最も重要な課題であり、最高ばく露濃度は最大耐性量(Maximum Tolerated Dose: MTD)を遵守することが求められている。従来の MTD の定義は、腫瘍以外の病変による死亡率の増加がないこと、及び体重減少が 10%以下であることであった。粒子・繊維状物質ばく露に対する MTD に関しては意見の一致はみられず、体重と生存率以外の要因を加えた定義の修正が必要である。粒子・繊維状物質に対する MTD は 90 日試験で得られた非腫瘍性病変(肺の炎症、上皮細胞の増殖、肺重量の増加、粒子クリアランスの阻害、マクロファージによる粒子のクリアランス、有意な肺の病理組織所見)の中でも、粒子・繊維状物質の肺におけるクリアランスの阻害と持続的な肺の炎症反応は MTD を決定する際の重要な因子であり、肺腫瘍発生の中で重要な役割を演じる（上記 Bermudes et al の論文<sup>s5)</sup> を参照）。例えば、US.EPA は高濃度の二酸化チタン粒子エアロゾルの吸入ばく露による肺腫瘍は、肺への粒子過負荷(Lung overload)によって惹起される二次的な発がんであるとみなした。Oberdörster は、2 年吸入ばく露による発がん性試験の結果で高濃度群のみに有意な腫瘍形成がみられた場合には、MTD の条件を再考すべきであるとしている。マウスとハムスターは、ラットに比較して、肺の炎症反応、線維症、発がんに対して感受性が低いので、このマウス・ハムスター対ラットの種差、さらには炎症細胞の浸潤性及びヒトとげっ歯類との種差を解明すること、及び粒子によって誘発される肺腫瘍のメカニズムの解明が MTD を理解するのに重要である。Muhle et al<sup>s3)</sup>は、発がん性試験で用いたカーボンブラック（ト

ナー) の用量 (1、4、16 mg/m<sup>3</sup>) において、高用量は MTD に適合していることを論じているが、同じ発がん性試験で用いた二酸化チタン微粒子 5 mg/m<sup>3</sup> の用量の MTD 適合性は言及していない。

- **NIOSH の見解**: Lee らによる 250 mg/m<sup>3</sup> 二酸化チタン微粒子ばく露によるラット肺腫瘍発生率の増加<sup>s1, s2)</sup>は、従前の NIOSH による TiO<sub>2</sub> 職業性発がん物質の指定の根拠となっていた。その後、NIOSH は TiO<sub>2</sub> 職業性発がん物質の指定を取り消す代わりに、Heinrich らによる 10 mg/m<sup>3</sup> 二酸化チタンナノ粒子ばく露によるラット肺腫瘍の発現と Muhle らによる 5 mg/m<sup>3</sup> 二酸化チタン微粒子ばく露による肺腫瘍が認められないという結果も合わせて、これらの 3 報の肺腫瘍発生率とチタン粒子の表面積との用量-反応関係を活用して、発がん性の定量的リスク評価を行い、二酸化チタン微粒子及びナノ粒子の Recommended Exposure Limit 値を提言した<sup>62)</sup>。NIOSH は、ラットで観察された TiO<sub>2</sub> 微粒子の肺過負荷による肺腫瘍の発現がヒトで認められるかどうかについては、炭鉱夫のような高濃度の粉じんが浮遊する職場で働くヒトでも観察されると報告されている<sup>s7, s8)</sup>ことを勘案すると、ヒトと同様な肺過負荷がラットにも生じたと考察している<sup>62)</sup>。炭粉 200 mg/m<sup>3</sup> を 2 年間吸入ばく露されたラットに炭粉の肺過負荷による肺腫瘍が観察されたとの報告もある<sup>s9)</sup>。また、NIOSH の Castranova<sup>s10)</sup>は、吸入性結晶シリカにばく露された労働者にみられるばく露濃度依存性の肺癌<sup>s11)</sup>は、炎症と酸化性の組織損傷が肺腫瘍の原因として存在すると主張している。従って、NIOSH は、肺過負荷を引き起こした Lee et al らの発がん性試験の肺腫瘍のデータを含めて二酸化チタン微粒子の表面積を dosemetric として用いた定量的リスク評価は有効であるとしている。

- **本有害性評価書における見解**：

リスク計算 (低濃度外挿) に用いる式は、確率ベースでも、発がんメカニズムベースでも、低濃度と高濃度では傾きが異なる。低濃度は、slope が緩徐である。つまり、低濃度は Overloading に達する前のデータ、高濃度は Overloading の後のデータを当てはめたのだと考察される。従って、今回の計算は、理論式よりも実測値に合わせること (3つのモデル式を用いてそれぞれに比率を配分し、実測値にフィットさせた) により、Overloading をあまり気にせず、リスク評価したと考えられる。(従来は、1つの理論式で低濃度リスクを評価していたことが多かった)。なお、慢性高濃度暴露試験は、1980年代から1990年の前半には良く行われていましたが、近年は行われていない。

### 3) 二酸化チタン超微粒子(ultrafine)発がんの定量的リスク評価

#### 3-1) 過剰発がん率と用量を直線外挿する場合 (Worst case)

二酸化チタンナノ粒子による発がん試験は、1濃度しかないので、直線外挿を行い、1/1000、1/10000 の過剰発がん濃度を求める。

Heinrich らによる二酸化チタンナノ粒子吸入ばく露発がん性試験における腫瘍発生率 <sup>s3)</sup>		
ばく露濃度	0 mg/m <sup>3</sup>	10 mg/m <sup>3</sup>
肺腫瘍 (雌)	1/217 (0.5 %)	19/100 (19 %)
肺保持量 mg TiO <sub>2</sub> /lung (雌)	0 mg	39.29mg
肺重量 (g) (雌)	1.44 mg	

$$\text{過剰発がん率} = (19/100 - 1/217) \div (1 - 1/217) = 0.18625$$

$$10^{-3} \text{ のリスク濃度} = 10 \times 0.001 \div 0.18625 = 50 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad (\text{worst case})$$

$$10^{-4} \text{ のリスク濃度} = 10 \times 0.0001 \div 0.18625 = 5 \mu\text{g}/\text{m}^3 \quad (\text{worst case})$$

### 3-2) 表面積基準による定量的リスク評価

本来であれば、ナノ粒子による発がん性試験の結果を基にしてリスク評価を行いたいのであるが、上述のように1濃度しかないので、ベンチマーク用量を用いた評価が困難である。よって、二酸化チタン微粒子の発がん試験のデータを追加した。以下に示すのは、追加した二酸化チタン微粒子の発がん試験の結果である。

Lee らによる二酸化チタン微粒子吸入ばく露発がん性試験のばく露濃度—腫瘍発生率 <sup>s1,s2)</sup>				
ばく露濃度	0 mg/m <sup>3</sup>	10 mg/m <sup>3</sup>	50 mg/m <sup>3</sup>	250 mg/m <sup>3</sup>
肺腫瘍 (雄)	2/79 (2.5 %)	2/71 (2.8 %)	1/75 (1.3 %)	12/77 (15.6 %)
	0/77 (0%)	0/75 (0 %)	0/74 (0 %)	14/74 (18.9 %)
肺保持量 (雄)	0 mg	20.7 mg	118.3 mg	784.8mg
	0 mg	32.3 mg	130 mg	545.8 mg
mg TiO <sub>2</sub> /lung (雌)	0 mg	32.3 mg	130 mg	545.8 mg
	0 mg	32.3 mg	130 mg	545.8 mg
肺重量 (g) (雌)	3.25 mg			
	2.35 mg			

Muhle による二酸化チタン微粒子吸入ばく露発がん性試験における腫瘍発生率 <sup>s3,s4)</sup>		
	0 mg/m <sup>3</sup>	5 mg/m <sup>3</sup>
肺腫瘍 (雌)	3/100 (3.0 %)	2/100 (2.0 %)
肺保持量 mg TiO <sub>2</sub> /lung (雌)	0 mg	2.72 mg
肺重量 (g) (雌)	1.05 mg	

リスク評価の算出方法としては、まず、肺重量あたりの表面積保持量（二酸化チタン重量保持量×比表面積/肺重量/1000）を計算し、肺腫瘍発生率とベンチマーク用量モデルにて1/1000の過剰発がん用量を算出、2）次にヒトの肺内保持量を算出し、MPPDモデルによるヒトの吸入ばく露濃度を推定した。

以下に、上記の吸入ばく露試験により算出したラット肺重量あたりの表面積保持量とラット肺の過剰腫瘍発生率を示す。

ナノ粒子 (雌)		ナノ粒子と微粒子 (雌)		ナノ粒子と微粒子 (雄、 雌)	
TiO <sub>2</sub> 表面 積保持量	肺腫瘍発 生率	TiO <sub>2</sub> 表面積 保持量	肺腫瘍発 生率	TiO <sub>2</sub> 表面積 保持量	肺腫瘍発 生率
0	1/217	0	1/294	0	6/473
1.31	19/100	0.068586	0/75	0.0129	2/100
		0.276043	0/74	0.031782	2/71
		1.158954	14/74	0.068586	0/75
		1.31	19/100	0.181636	1/75
				0.276043	0/74
				1.158954	14/74
				1.20497	12/77
				1.31	19/100

次に EPA のベンチマーク用量計算ソフトを用いて、上記のデータより BMDL を計算した。これにより 1/1000、1/10000 の BMDL を求めた。

	ナノ粒子+微粒子 (雌)				ナノ粒子+微粒子 (雄・雌)			
	1/1000	1/1000*	1/10000	1/10000*	1/1000	1/1000*	1/10000	1/10000*
Multistage (polynomial 3)	0.014 P=0.62	0.008	0.0015 P=0.63	0.0008	0.015 P=0.64	0.0082	0.0016 P=0.64	0.0008
Multistage Cancer (polynomial 3)	0.014 P=0.62	0.0077	0.0015 P=0.63	0.0008	0.015 P=0.62	0.0082	0.0016 P=0.62	0.0008
Weibull	0.03 P=0.44	0.0076	0.007 P=0.44	0.0007	0.04 P=0.56	0.0082	0.0075 P=0.56	0.0008
Log-probit	0.067 P=0.55	0.0072	0.0292 P=0.55	0.0007	0.0711 P=0.61	0.0077	0.0304 P=0.61	0.0008

1/1000\* : BMDL (1/10) の 1/100 として算出、1/10000\* : BMDL (1/10) の 1/1000 として算出

1/1000 : BMDL (1/1000) として算出、1/10000 : BMDL (1/10000) として算出

各モデル式による BMD(1/10)あたりの曲線は、sub-linear であるので、1/1000 や 1/10000 の BMDL は、BMDL (1/10) の 1/100、1/1000 を直線外挿するよりは、計算ソフトによる BMDL (1/1000)、BMDL (1/10000) を直接求めることにした。なお、使用したモデル式は、multistage である。

雌のデータによる吸入ばく露濃度推定

ナノ粒子	ヒトの保持量への変換		ヒトの吸入ばく露濃度
	粒子表面積 (m <sup>2</sup> /lung) (×1100)	粒子重量 (g/lung) (÷48)	MPPD によるばく露濃度
multistage 雌 1/1000	15.4	0.321	0.28 mg/m <sup>3</sup>
multistage 雌 1/1000*	8.8	0.183	0.16 mg/m <sup>3</sup>
multistage 雌 1/10000	1.65	0.034	0.03 mg/m <sup>3</sup>
multistage 雌 1/10000*	0.88	0.018	0.02 mg/m <sup>3</sup>

雄・雌のデータによる吸入ばく露濃度推定

ナノ粒子	ヒトの保持量への変換		ヒトの吸入ばく露濃度
	粒子表面積 (m <sup>2</sup> /lung) (×1100)	粒子重量 (g/lung) (÷48)	MPPD によるばく露濃度
multistage 雄・雌 1/1000	16.5	0.344	0.30 mg/m <sup>3</sup>
multistage 雄・雌 1/1000*	9.02	0.188	0.16 mg/m <sup>3</sup>
multistage 雄・雌 1/10000	1.76	0.037	0.03 mg/m <sup>3</sup>
multistage 雄・雌 1/10000*	0.902	0.019	0.02 mg/m <sup>3</sup>

ヒトの肺重量は、EPA の 1100g を用いた。

MPPD2 モデルのヒトの吸入ばく露の条件

モデル : Yeh/Schum Symmetric model

1 分間の呼吸回数 17.5 回/分、1 回換気量 : 1143 ml

作業時間 8 時間/日、5 回/週、45 年間 (2250 weeks)

比重 3.8、MMAD : 0.8 (GSD 1.8)、48 m<sup>2</sup>/g

### 3-3) NIOSH による定量的リスク評価 (表面積基準)

リスク評価の算出方法としては、まず、(1) 肺重量あたりの表面積保持量 (二酸化チタン重量保持量×比表面積/肺重量/1000) を計算し、肺腫瘍発生率とベンチマーク用量モデルにて 1/1000 の過剰発がん用量を算出、(2) 次にヒトの肺内保持量を算出し、MPPD モデルによるヒトの吸入ばく露濃度を推定した。用いた発がん性試験のデータは、3-2)項と同じである。

まず、ベンチマーク用量計算ソフトを用いて 9 つのモデル式別の BML、BMDL を算出し、このうち、multistage、Weibell、Log-probit の 3 つのモデル式の平均用量モデル (比率は、multistage が 0.14、Weibell が 0.382、log-probit が 0.478 である)を用いて、BML、BMDL を算出した。得られた平均用量モデル (MA) からの BMDL よりヒトの肺内保持量を算出し、この保持量を基に MPPD モデルによるヒトの吸入ばく露濃度を推定した。1/1000 および 1/10000 の過剰発がん率より求めたナノ粒子の吸入ばく露濃度 (45 年ばく露) は、0.29 mg/m<sup>3</sup>、0.07 mg/m<sup>3</sup> である。

### 引用文献

- s1) Lee KP, Trochimowicz, Reinhardt CF. (1985) Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) by inhalation for two years. Toxicol Appl Pharmacol 79: 179 – 192.
- s2) Lee KP, Henry III NW, Trochimowicz, Reinhardt CF. (1986) Pulmonary response to impaired lung clearance in rats following excessive TiO<sub>2</sub> dust deposition. Environ Res 41: 144 – 167.
- s3) Muhle H, Bellmann B, Creutzenberg O, Basenbrock C, Ernst H, Kilpper R, MacKennzie JC, Morrow P, Mohr U, Takenaka S, Mermelstein R. (1991) Pulmonary response to toner upon chronic inhalation exposure in rats. Fundam Appl Toxicol 17: 280 – 299.
- s4) Bellmann B, Muhle H, Creutzenberg O, Basenbrock C, Kilpper R, MacKennzie JC, Morrow P, Mermelstein R. (1991) Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. Fundam Appl Toxicol 17: 300 – 313.
- s5) Bermudez E, Mangum JB, Asgharian B, Wong BA, Reverdy EE, Jamszem DB, Hext PM, Warheit DB, Everitt JI (2002) Long-term pulmonary responses of three

- laboratory rodent species to subchronic inhalation of pigimentary titanium dioxide particles. *Toxicol Sci* 70: 86 – 97.
- s6) Oberdörster G (1997) Pulmonary carcinogenicity of inhaled particles and the maximum tolerated dose. *Environmental Health Perspectives* 105, 1347–1355.
- s7) Calberg JR, Crable JV, Limtiaca LP, Norris HB, Holtz JL, Mauer P, Wolowicz FR (1971) Total dust, coal, free silica, and trace metal concentrations in bituminous coal miners' lungs. *Am Ind Hyg Assoc J* 32: 432 – 440.
- s8) Douglas AN, Robertson A, Chapman JS, Ruckley VA (1986) Dust exposure, dust recovered from the lung, and associated pathology in a group of British coalminers. *Br J Ind Med* 43: 795 – 801.
- s9) Martin JC, Daniel H, LeBouffant L (1977) Short- and long-term experimental study of the toxicity of coal-mine dust and some of its constituents. In: *Inhalation Particles IV* (WH Walton, ed). Vol. 1, pp.361-372. Pergamon, Oxford.
- s10) Castranova V (2000) From coal mine dust to quartz: mechanisms of pulmonary pathogenicity. *Inhalation Toxicology* 3: 7 – 14.
- s11) Attfield MD, Costello J (2004) Quantitative exposure-response for silica dust and lung cancer in Vermont granite workers. *Am J Ind Med* 45: 129 – 138.

## 酸化チタン（ナノ粒子）の評価値（二次評価値）について

### 1 現在までの経緯

酸化チタン（ナノ粒子）の評価値（二次評価値）については、昨年5月のリスク評価検討会（第2回合同検討会）において、以下の①～③の候補を比較検討のうえ設定することとされたが、詳細な検討方法等については、有害性評価小検討会に委ねられている。

- ① NIOSH の CIB63 において勧告されている R E L
- ② NEDO プロジェクト報告書において提案されている許容ばく露濃度
- ③ 有害性総合評価表案において、毒性試験からの外挿により導出されている評価レベル

### 2 二次評価値の候補の概要

#### (1) NIOSH の CIB63 において勧告されている R E L

CIB63 (2011) の 51 ～ 71 ページを参照

→ <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2011-160/pdfs/2011-160.pdf#search='NIOSH CIB63'>

#### A 設定の考え方

労働生涯（45年間）を通じてばく露しても、肺がんの過剰発生リスクが 1/1,000 未満と計算されるばく露レベル（ナノ粒子及びレスピラブル粒子の2種類の R E L が勧告されている。）

#### B 濃度レベル

R E L (Recommended Exposure Limit) – T W A (Time Weighted Average)

0.3 mg/m<sup>3</sup>（一次粒径が 100 nm 未満のレスピラブル粒子）

1日10時間以内、週40時間の平均値

C 評価のエンドポイント 肺腫瘍

D 外挿に用いた試験結果

ラットの2年間吸入ばく露試験（3件）

- ・ Heinruch *et al.* (1995) 試料：ナノサイズ P 2 5
- ・ Lee *et al.* (1985) 試料：顔料級 ルチル型
- ・ Muhle *et al.* (1989) 試料：顔料級 ルチル型

E 外挿の方法

肺重量当たりの粒子表面積を指標として、上記Dの試験の肺腫瘍発生率との関係を統計モデルにあてはめて、1/1,000 過剰発がんリスクに対応するベンチマーク用量信頼下限値を求め、ヒトのばく露濃度に換算

- ① 上記の3つの試験結果から、ラットの肺重量当たりの粒子表面積と肺腫瘍（扁平上皮の keratinizing cyst を除く）の量－反応関係を把握
- ② 3種類の統計モデルを①の量－反応関係との適合性を加味して加重平均し、1/1,000 過剰発がんリスクに対応するベンチマーク用量信頼下限値を導出 0.029m<sup>2</sup>/g（肺重量当たり粒子表面積）
- ③ ラットとヒトの肺の表面積の違いにより、②の数値をヒトに外挿し、気中濃度に換算 0.3 mg/m<sup>3</sup>

F その他

CIB63 では、上記の肺腫瘍以外にも、肺の炎症をエンドポイントととして、ベンチマーク用量信頼下限値を導出している。その概要は以下のとおり。

- ① ラットの試験で肺のクリアランスの状況等から、気管支肺胞洗浄液中の好中球比率が4%となる反応をエンドポイントとして設定
- ② 以下の4つのラットの亜慢性吸入ばく露試験を用いて、肺重量当たりの粒子表面積と気管支肺胞洗浄液中の好中球比率の量－反応関係を把握。（4つの吸入ばく露試験のうち、Bermudez *et al.* (2004) のみがナノ粒子を用いている。）

Tran *et al.* (1999)、Cullen *et al.* (2002)、Bermudez *et al.* (2002)、Bermudez *et al.* (2004)

- ③ 上記の試験結果から、ベンチマーク用量を求めるためのモデルを用いて、ベンチマーク用量信頼下限値を導出、0.11 mg/m<sup>3</sup>を採用（ラットとヒトの肺表面積の違いを考慮して、ヒトに対する数値に外挿）

- ④ 上記③の数値 ( $0.11\text{mg}/\text{m}^3$ ) を不確実係数 2.5 で除して、 $0.004\text{ mg}/\text{m}^3$  のばく露濃度を算出  
不確実係数は、種間差 2.5 (上記③の数値の算出過程でトキシコカイネティクスは既に考慮されていることから、トキシコダイナミクスに相当する 2.5 のみを採用) と個体差 1.0 の積を採用

CIB63 では、上記④のばく露濃度  $0.004\text{ mg}/\text{m}^3$  は、肺の炎症を防止し、肺の炎症によって二次的に引き起こされる有害性 (肺がんを含む) を防止するとしている。

ただし、気管支肺胞洗浄液中の好中球比率 4% を採用したこと、及び不確実係数 2.5 を採用したことが、安全側に偏っている可能性があるとして、REL としては、上記 E の 1/1,000 過剰発がんリスクに対応するベンチマーク用量信頼下限値から算出した数値を勧告している。

## (2) NEDO プロジェクト報告書において提案されている許容ばく露濃度

NEDO プロジェクト報告書 (ナノ材料リスク評価書—二酸化チタン—(2011)) V-1 ~ V-16 ページを参照  
→ [https://www.aist-riss.jp/projects/nedo-nanorisk/nano\\_rad2/download/download.cgi?TiO2](https://www.aist-riss.jp/projects/nedo-nanorisk/nano_rad2/download/download.cgi?TiO2)

### A 設定の考え方

当面 15 年程度の亜慢性のばく露期間を想定した許容ばく露濃度 (10 年程度での見直しを前提)

### B 濃度レベル

許容ばく露濃度 (PL (Period Limited))  $0.6\text{ mg}/\text{m}^3$  (吸入性粉じんとして)  
1 日 8 時間、週 5 日の平均値

### C 評価のエンドポイント 肺の炎症

### D 外挿に用いた試験結果

ラット、マウス及びハムスターの 13 週間吸入ばく露試験  
Bermudez *et al.* (2004) 試料: P 25

酸化チタン (ナノ粒子) を用いた 4 つの吸入ばく露試験結果 (Bermudez *et al.* (2004)、Oberdorster *et al.* (1994)、Grassian *et al.* (2007)、Heinrich *et al.* (1995)) を比較検討し、NOAEL の求めることのできる 2 つの試験結果のうち、Grassian *et al.* (2007) はばく露期間が 1 日と短いことから Bermudez *et al.* (2004) を採用

### E 外挿の方法

上記 D の試験の気中重量濃度による NOAEL をヒトのばく露濃度に換算

- ① NOAELとして $2 \text{ mg/m}^3$ を採用  
2  $\text{mg/m}^3$ でラット、マウス、ハムスターのいずれにおいても、肺の炎症反応はほとんど見られていないことから、この用量をNOAELとして採用
- ② 以下についてラットとヒトの差を補正  $2 \text{ mg/m}^3 \rightarrow 1.82 \text{ mg/m}^3$
- ・分時肺換気量
  - ・1日のばく露時間
  - ・肺への二次粒子の沈着率（MMAD等から推定）
  - ・体重
- ③ 以下により不確実係数3を採用  $1.82 \text{ mg/m}^3 \rightarrow 0.6 \text{ mg/m}^3$
- ・種間差 1（肺への沈着率については上記②で補正済み）
  - ・用量指標（肺胞沈着速度→肺保持量） 3
  - ・ばく露期間（亜慢性→慢性） 1（時限的数値のため）

(3) 有害性総合評価表案において、毒性試験からの外挿により導出されている評価レベル

- A 設定の考え方  
労働生涯を通じてばく露しても、健康障害を引き起こさないばく露レベル
- B 濃度レベル  
 $0.15 \text{ mg/m}^3$ （8時間TWA）
- C 評価のエンドポイント 肺の炎症
- D 外挿に用いた試験結果（上記（イ）と同じ試験）  
ラット、マウス及びハムスターの13週間吸入ばく露試験  
Bermudez *et al.* (2004) 試料：P25
- E 外挿の方法  
上記Dの試験の気中重量濃度によるNOAELをヒトのばく露濃度に換算

- ① NOAELとして $2 \text{ mg/m}^3$ を採用（上記（ウ）と同じ数値）
- ② 不確実係数及び時間補正によりヒトに外挿  $2 \text{ mg/m}^3 \rightarrow 0.15 \text{ mg/m}^3$ 
  - ・不確実係数として10（種間差）を採用
  - ・ばく露時間を補正（6時間→8時間）

#### F その他

有害性総合評価表案では、生殖・発生毒性についても評価レベルが記載されているが、表面処理をした酸化チタン（ナノ粒子）を用いた試験結果から導出したものであるため、参考扱いとされている。

#### （参考）現行の評価値（二次評価値）の設定方法

##### （ア）許容濃度又はTLVが設定されている場合

原則として、設定されている次のいずれかの濃度を選定する。

両者の値がある場合、両者が一致している場合はその値を、また、両者が異なっている場合には、最新の知見を考慮して、いずれかの値とする。

なお、最新の知見から判断し、（イ）による決定方法のほうが適切な場合は、（イ）の方法によるものとする。

- a 日本産業衛生学会が勧告している許容濃度
- b 米国産業衛生専門家会議（ACGIH）が提言しているばく露限界値（TLV）

##### （イ）（ア）以外の場合（許容濃度、TLVが設定されていない場合）

- a 米国のREL（Recommendable Exposure Limit；勧告ばく露限界）、ドイツのMAK（Maximale Arbeitsplatz-Konzentrationen；最大職場濃度）、英国のWEL（Workplace Exposure Limit；職場ばく露限界）その他の外国機関において職場環境に関する濃度基準が定められている場合は、最新の知見を考慮していずれかの値を用いる。
- b aの値が設定されていない場合は、一般環境に関する濃度基準が定められている場合には、最新の知見を考慮してその値を参考にする。

- c a 及び b の値が設定されていない場合は、発がん性以外の毒性試験で得られた無毒性量 (NOAEL) から外挿した値を用いる。
- d a ~ c の値が設定されていない場合又は得られない場合は、構造的に類似した化学物質で、有害性等の性質も類似していると思われる物質について、(ア)、(イ) a ~ c の優先順位で二次評価値を決定する。
- e 構造的に類似した化学物質の許容濃度等がない場合については、個別に検討を行って二次評価値を決定する。個別に検討を行う場合の方法として、たとえば次の方法が挙げられる。
  - 職場での定量下限値、工学的対策の最大設定時の管理可能な最低値など feasibility (実行可能性) のある最低値を参考にする。

(平成24年3月22日 有害性評価小検討会資料より)