

酸化チタン（ナノ粒子）の有害性評価における主要な論点について

1	結晶構造等の扱い		
(1)	前回配付資料（主要な論点（案））	-----	1
(2)	前回検討会における主要な意見等	-----	1
(3)	関連情報	-----	2
(4)	今後の方針（案）	-----	9
2	表面積等の扱い		
(1)	前回配付資料（主要な論点（案））	-----	1 0
(2)	関連情報	-----	1 0
(3)	今後の方針（案）	-----	1 0
3	評価値の設定方法		
(1)	前回配付資料（主要な論点（案））	-----	1 1
(2)	評価値の設定方法について	-----	1 1
(3)	評価値設定の際のエンドポイントについて	-----	1 8
(4)	評価値に対応する粒子の大きさについて	-----	1 9
(5)	今後の方針（案）	-----	2 1
4	表面処理の扱い		
(1)	前回検討会における主要な意見等	-----	2 2
(2)	関連情報	-----	2 2
(3)	今後の方針（案）	-----	2 3

1 結晶構造等の扱い

(1) 前回配付資料（主要な論点（案））

「ナノマテリアルのリスク評価の方針」（23年12月リスク評価検討会とりまとめ）では、結晶構造により、アナタース型とルチル型にグループ分けして、リスク評価において配慮を行うこととされているところ。

具体的には、どのような対応を行うか。

また、結晶構造以外にも、同様に配慮すべきことはあるか。

(2) 前回検討会における主要な意見等

- 毒性が強いのは、アナタース型のものがほとんどだと思いますので、それをもってルチル型のほうも評価してしまうのは、いろいろな問題があると思います。評価をするときは、別々にやることが必要な措置かなと思います。
- 現実問題として、有害性試験のデータのほとんどがP25（アナタース型8割、ルチル型2割）によるものです。それ以外のものは、そこまでは多くないのです。例えば、in vitro 試験などでルチル型というものはあるにはあるのですが、数としては、それほど多いわけではなくて、濃度などを最終的に算出するための動物試験などが十分に行われているかどうかということについては、ちょっと疑問なところがあります。
- P25は、混晶で、1つの結晶構造の中で8割がアナタース型、2割がルチル型ですから、アナタース型又はルチル型100%のものとは違います。OECDのWPMNでプリンシパルに用いられているのはP25で、OECDがP25の有害性が一番高いとみているかどうかは分かりませんが、それとピュアにアナタース型とルチル型を分けるというのがどうなのかというところが議論かなと思います。
- アナタース型とルチル型は、たぶん違いがあると思うのですが、ルチル型ではデータが少ないので、はっきりと比較することは現状ではできないだろうと思います。ですから、似たような報告で比較してみる必要があるかと思います。

(3) 関連情報

前回配付資料の有害性評価書案、21、22年度厚生労働省委託調査報告書、NEDOプロジェクト報告書及び森本らの総説(2008)に記載されている試験結果のうち、酸化チタン(ナノ粒子)の結晶構造による結果の違いが記載されているものを抜き出すと以下のとおり。

試験方法等	使用した酸化チタン粒子	試験内容	試験結果	文献番号	
				2次	1次
吸入試験 (肺の炎症反応)	nanoTiO₂ +SiO₂ ルチル Sigma-Aldrich 製 粒径 10 nm × 40 nm 比表面積 132 m²/g 組成 TiO₂ SiO₂ でコート nanoTiO₂ アナタース Sigma-Aldrich 製 粒径 <25 nm、比表面積 222 m²/g coarseTiO₂ ルチル Sigma-Aldrich 製 粒径 <5 μm、比表面積 2 m²/g nanoSiO₂ NanoAmor 製 粒径 10 nm、非晶質 比表面積 515 m²/g nanoTiO₂ ルチル／アナタース NanoAmor 製 粒径 30 nm × 40 nm ルチル型 90 %、アナタース型 10 % 比表面積 23 m²/g nanoTiO₂ アナタース／ブルカイト Reactor-generated/FIOH 粒径 21 nm アナタース型：ブルカイト型 3 : 1 比表面積 61 m²/g	マウス(雌性)に4日間(2時間/日)又は4週間(2時間/日、4日/週)、132 mg/m³の濃度で吸入ばく露	nanoTiO₂ +SiO₂ ルチルのみが、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。 肺炎症には、粒子表面のコーティングが関与していることが明らかになったとされている。	1、2	1

試験方法等	使用した酸化チタン粒子	試験内容	試験結果	文献番号	
				2 次	1 次
気管内投与試験 (肺毒性)	fine TiO₂ ルチル型、表面アルミナコート 水性液中の粒径中央値 380 nm PBS 液中の凝集粒子径 2667.2 nm ultrafine 1 TiO₂ ルチル型、表面アルミナコート 水性液中粒径中央値 136.0 nm PBS 液中の凝集粒子径 2144.3 nm ultrafine 2 TiO₂ ルチル型 表面シリカ及びアルミナコート 水性液中粒径中央値 149.4 nm PBS 液中の凝集粒子径 2890.7 nm 以上の 3 種類は DuPont 社製 P 2 5 7ナナース型 80 %、ルチル型 20 % 表面シリカ及びアルミナコート 水性液中粒径中央値 129.4 nm PBS 液中の凝集粒子径 2691.7 nm Degussa 社製 α-quartz 粒子 0.2-2 μ m 水溶液中の粒径中央値 480 nm USsilica 社製	SDラットに 1 mg/kg、5 mg/kg を気管内投与し、肺洗浄液試料 (LDH、ALP、MTP) と組織病 理学的検索を行った。(投与後、24 時間、1 週間、1 ヶ月、3 ヶ月)	肺における炎症作用、細胞毒性、 細胞増殖、組織病理学に関わる 反応の強さは、quartz > P 2 5 > fine = ultrafine1 = ultrafine2 とされ、quartz と P 2 5 は肺の 炎症、細胞毒性、組織への悪影 響を示すが、fine、ultrafine1、 ultrafine2 は一次的な炎症のみ を生じるとされている。 <u>このため、P 2 5に関するデー タで、ルチル型酸化チタンの評 価をすべきでないと述べられて いる。</u>	1 ~ 3	2

試験方法等	使用した酸化チタン粒子	試験内容	試験結果	文献番号	
				2 次	1 次
鼻腔内注入試験 (神経毒性)	ナノ TiO₂ ルチル型、表面無修飾 平均サイズ 71 nm 比表面積 23 m²/g、 純度 >99 % Hangzhou Dayang Nanotechnology Co., Ltd. ファイン TiO₂ アナタース型 平均サイズ 155 nm 比表面積 10 m²/g 純度 >99 % Zhonglian Chemical Medicine Co. 注：この試験においては、ルチル型のナノ粒子とアナタース型のファイン粒子が用いられている。	CD-1 (ICR) マウスに、500 μg/匹を隔日に 15 回鼻腔内注入	脳組織における Ti レベルは、海馬で最も高く、次いで嗅球で高く、小脳及び大脳皮質で検出された。 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、グルタミン酸ノール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。 <u>ファイン TiO₂ (アナタース型) 注入後に血清 1L-1 β 及び脳 TNF-α 濃度の有意な上昇がみられたが、ナノ TiO₂ (ルチル型) では軽微な上昇のみであった。</u>	1 ~ 3	3

試験方法等	使用した酸化チタン粒子	試験内容	試験結果	文献番号	
				2 次	1 次
経皮投与試験	ナノ TiO₂ アナターズ型 粒子サイズ 10 nm 比表面積 160 m²/g 純度 99.5%、疎水性 Zhejiang Wanjin Material Technology Co., Ltd. P 2 5 アナターズ型 75 %、ルチル型 25 % 粒子サイズ 約 21 nm 比表面積 50 m²/g 純度 99.5%、親水性、Degussa ナノ TiO₂ ルチル型、粒子サイズ 25 nm 比表面積 80 m²/g 純度 99.5%、親水性 以下 3 種類のルチル型粒子は Zhejiang Hongsheng Material Technology Co., Ltd. ナノ TiO₂ ルチル型、粒子サイズ 60 nm 比表面積 40 m²/g 純度 99.6 %、疎水性 ナノ TiO₂ ルチル型、粒子サイズ 90 nm 比表面積 40 m²/g 純度 99.5%、疎水性	BALB/c ヘアレスマウス（7-8 週齢）の背部皮膚に、1.2 mg/匹/日を連続 60 日間塗布（1 群 6 匹）	90 nm のもの以外では、心臓、肝臓、脾臓等に Ti の蓄積が認められ、皮膚を通過して全身に移行することが示されたが、90 nm のものでは、これらの組織への蓄積はみられなかった。 90 nm のもの以外では、皮膚の過剰な角質化、真皮薄化、及びしわ表皮がみられた。 肝臓では、25 nmTiO₂ 及び P 2 5 の塗布により限局性壊死、心臓では、10 nmTiO₂ 塗布後だけに微量の白血球がみられた。	1 ~ 3	4

試験方法等	使用した酸化チタン粒子	試験内容	試験結果	文献番号	
				2 次	1 次
in vitro 細胞毒性	アナタース型 A-1 粒径 <50 μ m、球状、 A-2 粒径 <25 nm、球状、 A-3 粒径 10 nm、球状、 ルチル型 R-1 粒径 <5 μ m、球状 R-2 粒径 30-40 nm、球状 R-3 10 nm $\times$ 40 nm、針状 A-3 と R-2 は NanoAmor 社 その他はシグマ社	粒子サイズ、結晶構造、形状と炎症反応（インターロイキン-1β、腫瘍壊死因子-α産生）との関連について、培養マクロファージ様ヒト THP-1 細胞を用いて検討	・ 小さいサイズのアナタース型、大きなサイズのルチル型が、より強い炎症反応を生じることが明らかとなった。 ・ リポ多糖非存在下では、R-1 が高いレベルのインターロイキン-1βと腫瘍壊死因子-α産生をもたらした。 ・ リポ多糖存在下では、A-3 と R-3 が高いレベルのインターロイキン-1βを産生した。	2	5
in vitro 細胞毒性	アナタース型、球形 粒子サイズ 10.1 $\pm$ 1.0 nm 比表面積 153 m²/g Amorphous 含有なし 凝集性 軽度 アナタース型 60 %・ルチル型 40 %、球形 粒子サイズ 3.2 $\pm$ 0.34 nm 比表面積 112 m²/g Amorphous 含有なし 凝集性 軽度 ルチル型、球形 粒子サイズ 5.2 $\pm$ 0.65 nm 比表面積 123 m²/g 凝集性 強 いずれも Quenched hydrothermal reaction にて作成	培養細胞（HDF、A549 細胞）にばく露し、細胞毒性を比較	UV照射した細胞において、アナタース型がルチル型よりも100倍以上も細胞毒性が強かった。 これには、活性酸素種が関与していることが示唆されている。	2、4	6

試験方法等	使用した酸化チタン粒子	試験内容	試験結果	文献番号	
				2 次	1 次
in vitro 遺伝毒性	ナノサイズ・ルチル型 95 %、Sigma-Aldrich637262 ($<5\%$ SiO_2) 一次粒径 $10 \times 40 \text{ nm}$ 比表面積 $132 \text{ m}^2/\text{g}$ 凝集体径 $4.5 \mu\text{m}$ ナノサイズ・アナタース型 99.7 %、Sigma-Aldrich637254 一次粒径 $<25 \text{ nm}$ 比表面積 $222 \text{ m}^2/\text{g}$ 凝集体径 $5.5 \mu\text{m}$ 微小粒子・ルチル型 99.9 %、Sigma-Aldrich224227 一次粒径 $<5 \mu\text{m}$ 比表面積 $2 \text{ m}^2/\text{g}$ 凝集体径 $3.8 \mu\text{m}$	ヒト気管支上皮細胞 (BEAS2B) を用いたコメットアッセイ及び小核試験	コメットアッセイでDNA損傷を生じた最小ばく露量は、微小粒子・ルチル型で $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$、ナノサイズ・アナタース型で $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$、ナノサイズ・ルチル型で $80 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。 小核試験では、ナノサイズ アナタース型のみが陽性であった。	1、2	7
in vitro 試験	DJ3 ルチル型、粒径 50 nm 純度 $>98.0 \%$ HR3 アナタース型、粒径 $5\text{-}10 \text{ nm}$ 純度 $>99 \%$ いずれも Hongchen Material Sci.& Tech. Co., China より入手 他に金属ナノ粒子 (Cu-C, Cu, Al)、酸化物ナノ粒子 (SiO_2, Al_2O_3)、カーボンナノチューブ (MWCNT, SWCNT)、マイクロスケル粒子 (Cu.activated carbon)	粒子のヒト血清酵素ブチリルコリンエステラーゼ (BChE) への吸着と活性抑制について検討	HR3 による BChE の活性抑制は量一反応関係を示した。 DJ3 による BChE への吸着と活性抑制は、ともに HR3 よりも軽度であった。 BChE 活性を抑制するナノ粒子は神経毒性を有する可能性があると考えられるとされている。	2	8

(引用文献)

<二次文献>

- 1) 「有害性評価書案（平成23年度委託調査結果）」（4月12日リスク評価検討会配付資料）
- 2) 「ナノ材料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（平成21、22年度厚生労働省委託調査結果）
- 3) 「ナノ材料リスク評価書 ー二酸化チタンー」（平成23年7月、NEDOプロジェクト報告書）
- 4) 森本泰夫、田中勇武「ナノ粒子の有害性評価」（産業衛生学雑誌 2008;50:37-48）

<一次文献>

- 1) 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 TiO₂ nanoparticles induces pulmonary neutrophilia in mice. Toxicological Sciences 113,422-433
- 2) Warheit DB, Webb TR, Reed KL, Frerichs S, Says CM (2007)
Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO₂ particle: Differential responses related to surface properties. Toxicology 230,90-104
- 3) Wang J, Chen C, Liu Y, Jiao F, Li W, Lao 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 TiO₂ nanoparticles in the anatase and rutile crystal phases. Toxicology Letters. 183,422-433
- 4) Wu J, Lui W, Xue C, Zhou S, Lan F, Bi L, Xu H, Yang X, Zeng FD (2009)
Toxicity and penetration of TiO₂ nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. Toxicology Letters. 191, 1-8
- 5) Morishige T, Yoshioka Y, Tanabe A, Yao X, Tsunoda S, Tsutsumi Y, Mukai Y, Okada N, Nakagawa S (2010)
Titanium dioxide induces different levels of 1L-1beta production dependent on its particle characteristics through caspase-1 activation mediated by reactive oxygen species and cathepsin B. Biochemical and Biophysical Research Communications 392,160-165
- 6) Says CM, Wahi R, Kurian PA, Liu Y, West JL, Ausman KD, Warheit DB, Colvin VL (2006)
Correlating nanoscale titania structure with toxicity: A cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. Toxicological Sciences 92,174-185
- 7) Falck GCM, Lindberg HK, Suhonen S, Vippola M, Vanhala E, Catalan J, Savolainen K, Norppa H (2009)
Genotoxic effects of nanosized and fine TiO₂. Human & Experimental Toxicology 28,339-352
- 8) Wang Z, Zhang K, Zhao J, Liu X, Xing B (2010)
Absorption and inhibition of butyrylcholinesterase by different engineered nanoparticles. Chemosphere 79,86-92

注) 2～7ページの表は、主に上記の二次文献の記載から作成したものである。上記の一次文献は、二次文献の引用文献を示している。

（４）今後の方針（案）

＜案の１＞

酸化チタン（ナノ粒子）のリスク評価に当たり、結晶構造による有害性の違いを考慮して、アナターズ型とルチル型について、それぞれの評価値を設定する。

＜案の２＞

酸化チタン（ナノ粒子）の有害性は結晶構造により異なるとの報告があるものの、結晶構造により区分して評価値を設定するのに十分な根拠となる有害性試験結果等の情報がないことから、リスク評価の評価値は結晶構造により区分せず、同一の数値とする。

＜案の３＞

当面、リスク評価の評価値は、酸化チタン（ナノ粒子）全体を対象として設定するが、ルチル型の結晶構造のものについては、有害性が他のものよりも低いとの報告があることから、さらに有害性試験結果等に関する情報収集を行ったうえで、来年春を目処に、ルチル型のみを対象とした評価値の設定が可能かどうかを判断する。

2 表面積等の扱い

(1) 前回配付資料（主要な論点（案））

「ナノマテリアルのリスク評価の方針」（23年12月リスク評価検討会とりまとめ）では、評価の一次的な基準として、原則として重量濃度を用いることとし、必要な場合は表面積や個数濃度を基準とするとされているところ。
表面積等の基準の採用は必要か。

(2) 関連情報

○前回配付資料の有害性評価書案の Appendix の図2（24 ページ）に示されているとおり、ラットに気管内注入した酸化チタンの用量を粒子表面積に換算した場合に、気管支肺胞洗浄液中の好中球比率が用量依存性を示すことが報告されている。

○同上の図3（25 ページ）に示されているとおり、酸化チタンを含む難溶性低毒性化学物質のラットへの長期吸入ばく露試験の用量を比表面積に換算した場合に、一定の用量から、急激に肺腫瘍の発生率が増加することが報告されている。

○NEDOプロジェクト報告書(2011)では、作業環境における許容ばく露濃度の導出のための用量指標の選択に当たって、上記のような既往研究を紹介したうえで、「有害性評価における用量の指標として、粒子サイズや表面積が重要な特性のひとつであることには間違いはないと考えられるが、それだけで有害性を予測することはできず、例外もいくつか報告されているため、ケースバイケースでの評価も必要になると考えられる」（V-6 ページ）と述べ、重量濃度を指標とした許容ばく露濃度を提案している。

○NIOSH のCIB63(2011)では、酸化チタンのREL (Recommended Exposure Limits)の導出に当たって、肺重量当たりの酸化チタン粒子表面積と肺腫瘍発生率又は好中球比率の量反応関係から、ベンチマーク用量信頼下限値を求め、これを重量濃度に換算している。(51～71 ページ)

(3) 今後の方針（案）

表面積等を評価の基準に位置づけるか否かについては、下記3の「評価値の設定方法」と併せて検討してはどうか。

3 評価値の設定方法

(1) 前回配付資料（主要な論点（案））

- ・酸化チタンのナノ粒子については、日本産業衛生学会の許容濃度及びACGIHのTLVは勧告されていない。このようなことを前提として、リスク評価の評価値は、どのように設定するか。
- ・評価値の設定に当たって着目するエンドポイントとして、肺の炎症反応を適切と考えるかどうか。発がん性等との関係は、どのように考えるか。
- ・評価値に対応する粒子の大きさは、どのように考えるか。
吸入性粉じんとするか、ナノ粒子の大きさを勘案して吸入性粉じんよりも小さい対象範囲を設定するか。
また、ナノ粒子が凝集して吸入性粉じんよりも大きな粒子を形成していた場合には、有害性の観点から、どのように扱えばよいか。

(2) 評価値の設定方法について

ア 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）

注：一次評価値（リスク評価のスクリーニングに用いる値で、最大ばく露濃度が一次評価値と二次評価値の間にある場合は、事業者に適切なリスク管理を行うことを指導している。）は、IARCの発がん性評価区分が「2B」であること勘案し、他のヒトの発がん性が疑われる物質と同様に、発がん性の閾値の有無、ユニットリスクの情報の有無等を検討することが妥当と考えられる。

イ 評価値（二次評価値）を検討する場合の主な候補

- ① NIOSH の CIB63 において勧告されているREL（上記ア（イ）aに該当）
- 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
（外国の機関で定められたものではないが、上記ア（イ）aにほぼ相当するものと考えられる。）
- 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（上記ア（イ）cに該当）

ウ 評価値の主な候補の概要

(ア) 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/m³（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 0.029m²/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/m³

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/m³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(0.11mg/m³)を不確実係数2.5で除して、0.004 mg/m³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ンेटィックスは既に考慮されていることから、トキシコダイナミックスに相当する2.5のみを採用)と個体差10の積を採用

CIB63 では、上記④のばく露濃度 0.004 mg/m³ 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。

(イ) 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

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 mg/m³ (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: P25

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 mg/m³ を採用
2 mg/m³ 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 (肺泡沈着速度→肺保持量) 3
 - ・ ばく露期間 (亜慢性→慢性) 1 (時限的数値のため)

(ウ) 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 mg/m³ (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: P 2 5
- 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 mg/m³ 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 mg/m³ → 0.15 mg/m³
・ 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) 欧州委員会の ENRHES 報告書における DNEL の導出

ENRHES (Engineered Nanoparticles: Review of Health and Environmental Safety) 最終報告書 315 ~ 316 ページ参照
→ <http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/whats-new/enhres-final-report>

※ 有害性評価書案に記載されている「EC: Derived No Effect Level (DNEL)」に該当

A 導出の考え方

欧州委員会（EC）の資金により 2008 ～ 2009 年に実施された国際プロジェクト（エディンバラ・ネピア大学、英国産業医学研究所、デンマーク工科大学、欧州委員会共同研究センター健康・消費者保護研究所、及び Institute of Nanotechnology が実施）の報告において、REACH 規則のガイダンス R 8 章に基づいた DNEL（導出無影響レベル）を導出

B 濃度レベル 0.017 mg/m^3

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）、（ウ）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：P 2 5

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 ラットへの影響から NOAEL として 0.5 mg/m^3 を採用

「only minimal to mild effect were seen at the exposure level of 2 mg/m^3 」と記載されている。（用量設定は $0.5, 2, 10 \text{ mg/m}^3$ の 3 段階）

② ばく露時間、ヒトとラットの呼吸量の差により補正 $0.5 \text{ mg/m}^3 \rightarrow 0.25 \text{ mg/m}^3$
時間補正 6 時間／8 時間、呼吸量による補正 $6.7 \text{ m}^3 / 10 \text{ m}^3$

③ 不確実係数によりヒトに外挿 $0.25 \text{ mg/m}^3 \rightarrow 0.017 \text{ mg/m}^3$
不確実係数として 15（ $1.5 \times 5 \times 2$ ）を採用

種間差 1.5（ラットが最も感受性が高いと考えられることと、有害性が代謝に関係がないことから 2.5 の代わりに 1.5 を採用したと記載されている。）

個体差 5

試験期間 2（亜慢性 → 慢性）

F その他

2 mg/m^3 での有害性影響がわずかであることから、もし NOAEL として 2 mg/m^3 を採用すると、DNEL は 0.07 mg/m^3 であると記載されている。

（３）評価値設定の際のエンドポイントについて

（２）イ（１２ページ）に示した評価値（二次評価値）の主な候補におけるエンドポイントは以下のとおり。

① NIOSH の CIB63 において勧告されている R E L

（２）ウの（ア）（１３～１４ページ）に示したとおり、エンドポイントとして、肺腫瘍及び肺の炎症の２つを設定し、それぞれに R E L の候補を導出したうえで、肺腫瘍をエンドポイントとした R E L を選択

なお、「２つのエンドポイントは完全に比較できるものではなく、肺の炎症の指標として、気管支肺胞洗浄液中の好中球比率４％を採用した場合は、肺腫瘍の過剰リスクをゼロにすることとなるのに対し、肺腫瘍をエンドポイントとした場合には、過剰リスクをゼロにするものではない。」と記載されている。

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

（２）ウの（イ）（１４～１５ページ）に示したとおり、肺の炎症をエンドポイントとしている。

エンドポイントの設定に当たり、動物試験で観察された酸化チタンのばく露による肺への影響について、「個別独立なものではなく、酸化チタンへのばく露による酸化ストレスから持続性の炎症を経由し、間接的遺伝毒性による発がん性という一連のメカニズムの中に位置づけられるものである」とし、「肺へのばく露によって認められる影響のうち、最も低濃度で観察される有害影響である「肺の炎症」を評価のエンドポイントに設定する」と記載されている。

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）ウの（ウ）（１６ページ）に示したとおり、肺の炎症をエンドポイントとして NOAEL を設定している。

(4) 評価値に対応する粒子の大きさについて

ア 評価値の主な候補に対応する粒子の大きさ

(2) イ(12ページ)に示した評価値(二次評価値)の主な候補のうち、①の NIOSH の CIB63 において勧告されている R E L、及び②の 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に対応する粒子の大きさは、吸入性粉じん(レスピラブル粒子)である。

③の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についても、エンドポイントが肺の炎症であることから、対応する粒子の大きさもこれに対応するものとするのが妥当であると考えられる。

イ 事業場における凝集粒子の大きさの例

平成22年度に実施した酸化チタンの製造・取扱い事業場のばく露実態調査のうち、酸化チタン(ナノ粒子)を製造している事業場(1カ所)の吸入性粉じん(レスピラブル粒子)と総粉じんの個人ばく露調査結果を参考として以下に示す。

作業者	作業内容	8時間TWA (mg/m ³)		備 考
		総粉じん	吸入性粉じん	
A	投入作業(約10分)	0.344	0.082	
B	サブリング(2～3分)	0.677	0.099	
C	袋詰め、フレコン充填・交換(約3時間)	0.201	0.042	
D	篩い分け(約2時間)	22.9	0.288	臨時に実施した作業
E	篩い分け(約2時間)	22.9	0.195	同 上

(参考) ナノマテリアルの定義

① 厚生労働省労働基準局長通達における定義

「元素等を原材料として製造された固体状の材料であって、大きさを示す3次元のうち少なくとも一つの次元が約1nm～100nmであるナノ物質及びナノ物質により構成されるナノ構造体(ナノ物質の凝集した物体を含む。)」(「ナノマテリアルに対するばく露防止等のための予防的対応について」平成21年3月31日基発第0331013号労働基準局長通達)

② 欧州委員会の勧告における定義

"a natural, incidental, or manufactured material containing particles, in an unbound state or as an aggregate or as an agglomerate and where, for 50% or more of the particles in the number size distribution, one or more external dimensions is in the size range 1 nm- 100 nm.

(2011 年 10 月 18 日、欧州委員会勧告より)

詳細は EU ホームページ参照 → <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:EN:PDF>

※凝集体を含むかどうか。(EU ホームページの Q&A より)

"The definition in the Recommendation therefore includes particles in agglomerates or aggregates whenever the constituent particles are in the size range 1 nm - 100 nm." → http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/questions_answers.htm#10

（５）今後の方針（案）

ア リスク評価に当たっての評価値（二次評価値）については、（２）イ（１２ページ）に示した、以下の３つの候補を比較検討のうえ、設定してはどうか。

- 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

注：一次評価値（リスク評価のスクリーニングに用いる値で、最大ばく露濃度が一次評価値と二次評価値の間にある場合は、事業者に適切なリスク管理を行うことを指導している。）は、I A R Cの発がん性評価区分が「２Ｂ」であること勘案し、他のヒトの発がん性が疑われる物質と同様に、発がん性の閾値の有無、ユニットリスクの情報の有無等を検討することが妥当と考えられる。

イ 上記１の「結晶構造等の扱い」に関する検討の結果、ルチル型の結晶構造のものについて、他のものと異なる評価値を検討する場合は、上記アで設定した評価値をルチル型以外の結晶構造の酸化チタン（ナノ粒子）の評価値としてはどうか。

ウ 評価値の設定に当たって、情報が不足している場合は、必要な情報項目を特定したうえで、さらに関連情報を収集し、来年春を目処に評価値の決定を行ってはどうか。

エ 上記の評価値に対応する酸化チタン（ナノ粒子）の空気中の粒子の大きさとしては、

- ① 酸化チタン（ナノ粒子）が、空気中ではほとんどが凝集粒子として存在すること、
- ② 粒子が肺胞に到達する場合の有害性をエンドポイントとして評価値を設定することが妥当なことから、吸入性粉じん（レスピラブル粒子）（一次粒子がナノサイズのものに限る。）としてはどうか。

4 表面処理の扱い

(1) 前回検討会における主要な意見等

事業場における気中濃度等の調査に関連して以下のような議論があった。

- 有害性試験で使用している酸化チタン（ナノ粒子）と実際に事業場で使用しているものが、表面処理の有無や内容で異なっていると問題ではないか。
- ほとんどのものは表面処理をしている。処理の仕方もいろいろ種類があって、無機物のシリカ、アルミ等で表面処理する場合もあるし、有機物の金属石鹸で処理する場合やシリコンオイルで処理する場合など、用途によって多々ある。
表面処理をすると、表面積が増加する場合もある。
- 気中濃度等の調査は、一般的な処理方法によっている事業場を対象とするしかないのではないか。
- in vitro の試験では、表面処理による有害性の違いをみているものが、ナノマテリアルについては結構あると思う。酸化チタンについて、あるかどうか分からないが。

(2) 関連情報

- NEDO プロジェクト報告書(2011) より
「化粧品等の用途に用いられる TiO_2 ナノ材料は、顔料級 TiO_2 と同様に、触媒活性抑制（耐候性向上）や親油性又は親水性などを目的とした表面処理が通常施される。表面処理剤としては、アルミナ、水酸化アルミニウム、シリカ、ステアリン酸、メタリン酸ナトリウム、シリコンなどが使われている。（テイカ株式会社 2011；石原産業株式会社 2011；堺化学工業株式会社 2011）」
- 「ナノマテリアル安全対策調査事業報告書」（平成 22 年 3 月三菱化学テクノリサーチ；厚生労働省委託調査）より
＜ルチル型＞
「無機／有機表面処理が用途に応じて施される。（併用あり。）
水酸化アルミニウム、シリカ、アルミナ＋ポリシロキサン、ステアリン酸、イソステアリン酸、メタリン酸ソーダ、アルギン酸ナトリウム、シリコンオイル、ジルコニア、アルキルシラン等が使用される。」
＜アナターズ型＞
「無表面処理のグレードが多いが、アパタイト被覆、シリカ被覆、フッ化アパタイト被覆等により、親水性グレードと疎水性グレードが製造されている。」

（３）今後の方針（案）

- 事業場における気中濃度等の調査と並行して、酸化チタン（ナノ粒子）の表面処理と有害性との関係に関する情報収集を行い、必要な場合は、有害性評価や気中濃度等の調査結果の評価に反映することとしてはどうか。