

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（2～19 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）から、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酸化セリウムの有害性情報をモデル 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酸化セリウム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（2～19 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）（20 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、ばく露実態調査例の情報は得られなかった。

表 1 酸化アルミニウムの有害性情報

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
1 肺毒性		セリウム等の希土類元素ヒュームのばく露を長年に亘り受けた労働者の肺では希土類元素の蓄積がみられ、肉芽腫、気種、間質の繊維化の肺病変と肺活量の低下が報告されている。 また、酸化セリウム研磨剤にばく露後から少なくとも 15 年以上経過した後、呼吸困難のため受信した 58 歳の男性に軽度の胸膜肥厚と肺閉塞がみられ、病理検査の結果、慢性肥厚性胸膜炎と診断された事例、35 年間光学レンズの研磨作業に従事し、離職後 13 年経過後に酸化セリウムのばく露に関連する希土類元素じん肺が判明した 68 歳の男性の事例の報告がある。 これらの事例は希土類元素の肺における長期間の残留を示すものであり、酸化セリウムのばく露が関与しているとされる有害事象発生 の報告は多い。一方、ラットに粉じんばく露による 13 週間反復吸入試験において、剖検では 5mg/m³ 異常の雌雄の気管支リンパ節でリンパ組織増生と色素沈着、51mg/m³ 以上の雌雄の肺で肺胞上皮の過形成、咽頭で化性及び色素沈着がそれぞれ認められた。 <u>(GHS 分類：区分 1 (肺))</u> ²⁾

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性	[出典] Limbach <i>et al.</i> (2005)¹⁾ [試料] 肺への負荷を惹起しない低濃度の、20-500nm の異なる4つの径の酸化セリウム粒子 [試験体] ヒト肺線維芽細胞 [結果] ・細胞内への酸化セリウム粒子の取り込みは、最も小さい径の酸化セリウムの場合には拡散律速性に、大きい径の粒子では沈降律速性に依存した。 ・電子顕微鏡では粒子は細胞質内の空砲に再凝集した状態で存在し、再凝集の要因として細胞内が蛋白吸着による粒子荷電の中和が示唆された。 ・ナノ粒子の毒性発現要因として、細胞内取り込みの際の粒子の凝集性が関与することから、酸化セリウムナノ粒子の毒性は、<u>粒子の荷電性と凝集性に関係すると考察された。</u>	[出典] 同左 [試料] 同左 [試験体] 同左 [結果] 同左

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Thill <i>et al.</i> (2006)¹⁾ [試料] 水溶液に分散させた 7nm 径のナノ粒子 [試験体] グラム陰性菌 [結果] ・ ナノ粒子は中性 pH で (+)に帯電しており、菌に対して強力な静電作用を示した。 ・ 酸化セリウムナノ粒子濃度の増加と共に菌の増殖能は減少した。 ・ E.coli 菌へのナノ粒子の吸着等温曲線から、ナノ粒子は一定レベル以上 (10mg/m²) は菌に吸着しないで上澄液に懸濁することが判明した。 ・ 菌とナノ粒子の相互作用はナノ粒子の Ce^Ⅲと Ce^Ⅳ原子の電子状態の関数 (Ce^Ⅲ/Ce^Ⅲ+Ce^Ⅳ) に関連していることが推察された。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Lin <i>et al.</i> (2006)¹⁾ [試料] 培養液に分散させた酸化セリウムナノ粒子 (直径 20nm) [試験体] ヒト肺がん細胞 [期間] 24,48,72 時間 [用量] 3.5, 10.5, 23.3mg/mL [結果] ・酸化セリウム粒子へのばく露によってフリーラジカルが発生し、細胞内で酸化ストレスが生じ、<u>細胞の傷害(LDH の放出)と細胞の生存率の低下をもたらした。</u> ・これらの変化は<u>用量依存性と時間依存性が認められた。</u> ・酸化セリウムナノ粒子の細胞毒性は細胞内に取り込まれたナノ粒子が ROS を発生させ、細胞内の還元性物質が減少することで、結果として細胞死をもたらすと考察された。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Hidaka <i>et al.</i> (2006) ¹⁾ [試料] ・酸化セリウムナノ粒子 ・CaO-doped 酸化セリウムナノ粒子 ・CaO-doped-SiO₂-coated 酸化セリウムナノ粒子 [試験方法] UVB/UBA 照射条件下でのゲル電気泳動法 [結果] ・酸化セリウム粒子は酸化チタンや酸化亜鉛粒子に比べて、光活性が弱く、DNA を分解し難いこと、CaO-doped, CaO-doped-SiO₂-coated 酸化セリウム粒子はこの保護作用がより強力であったと報告している。	[出典] 同左 [試料] ・酸化セリウム粒子 [試験方法] 同左 [結果] 同左
	[出典] Park B <i>et al.</i> (2007) ¹⁾ [試料] ナノ酸化セリウム粒子 (9nm, 表面積 94.7m²/g) [試験内容] 皮膚刺激性と in vitro 毒性及び遺伝毒性 [結果] ・平均刺激能 (MIP) は皮膚刺激性であることを示した。 ・明らかな細胞毒性も微生物変異原性も示さなかった。 ・酸化セリウムナノ粒子は、弱い皮膚刺激性を除いて、<u>サブミクロンサイズの粒子と同様に明らかな有害性を示さないと結論した。</u>	[出典] 同左 [試料] サブミクロン酸化セリウム粒子 (320nm, 表面積 2.64m²/g) [試験内容] 同左 [結果] 同左

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞毒性(つづき)	[出典] Veranth <i>et al.</i> (2007) ¹⁾ [試料] 酸化セリウムナノ粒子 (0.009-0.015 μ m) [試験体] ヒト肺上皮細胞由来の BEAS-2B 細胞 [試験方法] WST-8 法 [用量] 54.3 μ g/m² [結果] ・両物質共に細胞毒性を示さず、両粒子に対する BEAS-2B 細胞の IL-6 と IL-8 の放出能にも有意な差がなく、かつ放出量も僅少であった。 ・細胞のない条件での両粒子の ROS 産出能には明らかな差は認められなかった。 ・ナノとミクロンサイズの酸化セリウム粒子は、共に細胞毒性と親炎症性サイトカイン放出能に対しては明らかな影響を及ぼさないこと、及び細胞外 ROS 産出能との関連もないと結論した。	[出典] 同左 [試料] ミクロン酸化セリウム粒子 (5 μ m) [試験体] 同左 [試験方法] 同左 [用量] 同左 [結果] 同左

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Xia <i>et al.</i> (2008) ¹⁾ [試料] 酸化チタンのナノ金属粒子 [試験体] RAW264.7 と BEAS-2B 細胞 [結果] ・ 蛍光ラベルした酸化セリウムナノ粒子は、BEAS-2B 細胞の Caveolin1-陽性、RAW264.7 細胞の LAMP1-陽性の endosomal compartment に取り込まれたが、<u>炎症も細胞毒性も示さなかった。</u> ・ 酸化セリウムは ROS 産出を抑制し、外因性の酸化ストレス源に対する細胞の抵抗性を高めた。 ・ 従って、酸化セリウムの抗酸化特性は<u>細胞を酸化性障害から保護するとされる。</u>	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞毒性(つづき)	[出典] Park <i>et al.</i> (2010) ¹⁾ [試料] 酸化セリウムナノ粒子 (粒径: 15,25,30,45nm) [試験体] ヒト肺上皮細胞 [用量] 5,10,20,40 μ g/mL [結果] ・細胞の生存率は濃度とばく露時間と共に低下傾向を示したが、<u>ナノ粒子径の影響はなかった。</u> ・細胞内 ROS 産出が濃度と共に増加し、GSH が低下した。 ・ナノ粒子は細胞内に取り込まれることが位相差顕微鏡で判明した。 ・アポトーシスと関連するカスパーゼ-3 活性がナノ粒子濃度と共に増加した。 ・従って、細胞障害は、細胞内に取り込まれた酸化セリウムナノ粒子との作用によって ROS が産出し、ミトコンドリアの酸化還元反応過程を阻害することによって惹起すること、及びその結果としてアポトーシスを惹起すると考えられる。 ・本研究では細胞生存率はナノ粒子径に依存しないこと、酸化ストレスと関連する若干の酵素の遺伝子発現がみられた。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞毒性(つづき)	[出典] Eom and Choi (2009) ¹⁾ [試料] 酸化セリウムナノ粒子 (粒径: 15,30,45nm) [試験体] ヒト気管上皮細胞由来の BEAS-2B 細胞 [結果] ・細胞へのばく露によって、MTT 法による細胞生存能の低下と P38 のリン酸化と Nrf-2 及び HO-1 の顕著な増加がみられた。 ・細胞生存能と ROS 産出シグナル伝達経路の活性化は<u>ナノ粒子のサイズと直接的な関係を示していなかった。</u>(15,30nm の粒子に比べて、45nm の粒子がもつとも大きな影響を示した。) ・酸化セリウムナノ粒子のばく露によって、細胞生存能の低下とその原因としての細胞内 ROS 産出と p38-Nrf-2 のシグナル伝達経路による HO-1 の誘導は認められるが、限定的な影響と考えられる。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Rothen-Rutishauser <i>et al.</i> (2009) ¹⁾ [試料] グローブ内で発生させた酸化セリウムナノ粒子 (5-20nm 径) (0.024mg/cm² プレート x ~ 30 分) のエアロゾル [試験体] ヒト肺上皮培養細胞 (A549) [期間] 24 時間培養 [結果] ・ LDH 法による細胞生存率と電子顕微鏡観察による細胞の形態には変化はなかった。 ・ A549 細胞内のラメラ体密度の減少、膜抵抗の低下、細胞間接触性の低下及び 8-オキシグアニン陽性細胞の増加がみられた。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞毒性(つづき)	[出典] Horie <i>et al.</i> (2009) ¹⁾ [試料] 酸化セリウムナノ粒子(平均粒子径 14nm) [試験体] 10%牛胎児血清添加ダルベッコ変法イーグル培地 ヒトケラチノサイト HaCaT cell ヒト肺がん細胞 A549 [結果] ・酸化セリウムナノ粒子が血清蛋白及び Ca^{2+} と吸着を示した。 ・さらに、酸化セリウムナノ粒子の蛋白及び Ca^{2+} の吸着による培地組成成分の消失に伴う細胞生存率や細胞増殖率の影響について、HaCaT cell、A549 双方の培養細胞で細胞生存率と細胞増殖率共に影響がみられ、他の酸化金属ナノ粒子に比べて酸化セリウムについて強い細胞増殖率の抑制が示された。 ・ナノ粒子を牛胎児血清により前処理することで吸着効果を無くした場合、細胞増殖抑制はなくなった。 ・酸化金属のナノ粒子による吸着は in vitro における低毒性物質での細胞毒性を評価する上で重要な要因であることが考察された。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Gojava <i>et al.</i> (2009) ¹⁾ [試料] 噴霧火炎合成法によって発生させた酸化セリウムナノ粒子（粒径分布のピークは 35-40nm） [試験体] 培養したヒト大動脈血管内皮細胞（HAECs） [ばく露方法] 0.001 から 50g/mL で 4 時間 [結果] ・ HAECs の炎症性マーカー（ICAM-1,IL-8,MCP-1）について、PCR を使用して mRNA の検査をした結果、酸化セリウムナノ粒子は高濃度でも<u>極めてわずかな炎症性反応しか起こさなかった。</u> ・ IL-8 と MCP-1 ではやや増加傾向を示した。 ・ 以上の結果は、他の酸化金属ナノ粒子と比べて、炎症反応は穏やかであった。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Safi <i>et al.</i> (2010) ¹⁾ [試料] 直径 10nm 以下の酸化セリウム、酸化鉄粒子、及び それぞれをクエン酸または酸性状態のポリアクリル 酸樹脂でコーティングしたもの (粒径: 無コート:7.0nm 及び 9nm、クエン酸コート : 9nm、アクリル酸ポリマー:13nm) [試験方法] 10 μ m から 50mM 濃度で 24 時間培養後、ミトコン ドリアの脱水素酵素活性による [結果] ・ 非コーティング及びクエン酸コーティングした酸化 セリウム粒子では 1g/L 以上 (3-10mM) の高い濃度で 生存率がわずかに低下したが、他にはほとんど影響 はみられなかった。 ・ 粒子の細胞への取り込みでは、クエン酸コーティン グした粒子は細胞に多量 (250pg/L) に吸収され、培 養液中での分散の不安定化と細胞膜への沈着とに関 係していた。 ・ ポリマーコーティングした粒子への取り込みは少な く、30pg/L 未満であった。 ・ ナノ粒子の細胞への取り込みは、粒子のコーティン グと分散を保ちコロイド性状を保つ能力によること が示されたと結論している。	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞毒性(つづき)	[出典] Fang <i>et al.</i> (2010) ¹⁾ [試料] アナターゼ酸化セリウム (針状、長さ 60nm 以下, 幅 20nm, 表面積 93.8m²/g) [試験体] アンモニア酸化細胞菌 20ppm.200ppm の濃度で 4 時間培養 [結果] ・粒子との培養の後 E.europea の大きさに 20ppm では変化はみられなかったが、200ppm では縮小した。 ・ゼータ電位についても、20ppm では変化がみられなかったが、200ppm では電位が収束した。 ・透過電顕像では細胞内に粒子は認められなかったが、<u>細胞壁に長径部が付着している例が認められた。</u> ・酸化セリウム凝集体近傍にみられた細胞は、大きなくぼみと空砲がみられ大きな損傷を示したが、細胞壁/膜には損傷はみられなかった。(この変化について電子顕微鏡用標本作成時の遠心処理による可能性も考慮している。) ・これまでの真核生物での報告と異なり、<u>アナターゼ酸化セリウム粒子は毒性を示した。</u>	

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞 毒性(つづき)	[出典] Saji <i>et al.</i> (2010)¹⁾ [試料] 酸化セリウムナノ粒子 (FSP により合成、粒径約 5-8nm) [試験体] ・ 気管内皮細胞由来の BEAS-2B ・ マクロファージ由来の RAW264.7 [試験方法] ・ 培養細胞を蛍光色素で染色 ・ 用量 : 50,25,12,5,6,125,0 μ g/mL ・ ばく露時間 : 6,3,2,1,0 時間 [結果] ・ 酸化セリウムについては毒性を示す指標に変化がなかった。	・

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞毒性(つづき)	[出典] Kim <i>et al.</i> (2010)¹⁾ [試料] 酸化セリウムナノ粒子 (粒径 15-40nm) [試験体] 人肺のがん細胞 (A549)) と正常細胞 [試験方法] 37℃、5%二酸化炭素下で一晩培養した細胞に、ナノ粒子溶液 (1-1000 μg/mL, 125-500 μg/mL) を入れ、72 時間培養 [結果] ・異なる濃度の溶液を培養したところ、どちらも<u>細胞の増殖能に影響を及ぼさなかった。</u> ・細胞膜への影響をみるため LDH の測定をしたところ、A549 細胞で 42 時間、72 時間培養で有意な増加を示したが、L-132 では差はみられなかった。 ・酸化セリウムナノ粒子の急性毒性では増殖能にも成長脳にも毒性は示さなかったが、<u>慢性毒性は細胞経に依存する可能性がある。</u>	・

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
2 in vitro 細胞毒性(つづき)	[出典] Xu <i>et al.</i> (2010)¹⁾ [試料] 粒径 20nm 以下の酸化セリウム粒子 (流体力学的サイズ平均 0.263 μ m) (他 9 種の金属ナノ酸化物) [試験体] NIH3T 及び A549 細胞株 [結果] - 酸化セリウムナノ粒子は他の酸化金属ナノ粒子と比較して細胞毒性はもっとも弱かった。 <u>ナノ酸化物の大きさも細胞毒性の指標にはならなかった。</u> - 半導体用ナノ酸化物にばく露された細胞の方が、絶縁体用ナノ酸化物にばく露された細胞より生存率が低かった。	
3 in vitro 遺伝毒性	[出典] Nishioka <i>et al.</i> (1975)¹⁾ [試料] 溶液上塩化セリウム (0.05M) [試験体] <i>Batillus subtilis</i> H17 (rec⁻), M45 (rec⁺) [結果] 両試験体を用いた rec-assay 試験で DNA 傷害を誘発しないことを報告した。	[出典] 同左 [試料] 同左 [試験体] 同左 [結果] 同左

区 分	ナノマテリアルに関する情報	ナノサイズ以外の情報
3 in vitro 遺伝毒性(つづき)	[出典] Shimizu <i>et al.</i> (1985)¹⁾ [試験体] - Salmonella typhimurium (TA100,TA1535,TA98,TA1537,TA1538) - Escherichia coli (WP2uvrA) [結果] - 代謝活性化のある場合とない場合で酸化セリウムの変異原性試験を行った結果、<u>いずれの条件において陰性であることが報告された。</u>	[出典] 同左 [試料] 同左 [試験体] 同左 [結果] 同左
	[出典] Pierscionek <i>et al.</i> (2010)¹⁾ [試料] 5-10 μ g/mL の酸化セリウムナノ粒子 (TEM 画像の計測による平均サイズ：5.5nm) [試験体] ヒト水晶体表皮細胞の株化細胞 [結果] 姉妹染色分体交換試験とコメットアッセイを実施した結果、姉妹染色分体交換の有意な増加や DNA 損傷は認められなかったとしている。	[出典] 同左 [試料] 同左 [試験体] 同左 [結果] 同左

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、厚生労働省ホームページ「職場のあんぜんサイト」のモデル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
OECD Joint Meeting of the Chemical Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology "Emission Assessment for Identification of Sources and Release of Airborne Manufactured Nanomaterials in the Workplace: Compilation of Existing Guidance" (2009)	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）	・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。
NIOSH "Nanoparticle Emission Assessment Technique for Identification of Sources and Releases of Engineered Nanomaterials" (2009)	「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。	・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。