

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¹⁾

名 称：酸化チタン（IV）

別 名：二酸化チタン

化 学 式： TiO_2

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¹⁾

外観：無色～白色の結晶性粉末

密度：3.9～4.3 g/cm³

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¹⁾

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²⁾：（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²⁾：（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³⁾：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¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾以外は、得られていない。

	マウス	ラット	ウサギ
吸入、LC ₅₀	情報なし	情報なし	情報なし
経口、LD ₅₀	情報なし	5,000 mg/kg bw 以上 Uf-C (P25 と同じ)	情報なし
経皮、LD ₅₀	情報なし	情報なし	情報なし
腹腔内 LD ₅₀	情報なし	情報なし	情報なし

Uf-C : P25 ; 中位径 21nm, 表面積 38.5 m²/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 m²/g)および 250 nm (Fisher 社製 表面積 6.5 m²/g) のアナターゼ型 TiO₂ 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²⁰⁾。一次粒径 20 nm の TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ 粒子 (Evonik Degussa 社製) および一次粒径 250 nm の TiO₂ 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²¹⁾。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 TiO₂ 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-TiO₂ ナノ粒子 (Evonik Degussa 社製、P25: 表面積 38.5 m²/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²²⁾。P25-TiO₂ 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-α, MIP-2, IL-28 など) 濃度の有意な増加が持続した。また、粒径 1 µm の TiO₂ 粒子 (Sigma Aldrich 社製 : #224227、ルチル型) を、P25-TiO₂ 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-TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ 粒子 (nano rod), 一次粒径 5.8–6.1 nm のアナターゼ型 TiO₂ 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²³⁾。いずれの TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ 粒子, DuPont 社製の粒径約 140 nm のルチル型 TiO₂ 粒子 2 種類 (uf-1 および uf-2), および uf-3 TiO₂ 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²⁴⁾。その結果, uf-3 以外の 3 種類の TiO₂ 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 TiO₂ 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²⁴⁾

試料	結晶構造	中位径 (nm)		比表面積 (m ² /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 TiO₂ 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²⁵⁾。いずれの TiO₂ 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 TiO₂ 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TiO₂(サイズ: 25 nm または 80 nm, 純度:> 99%, Hangzhou Dayang Nanotechnology 製) またはファインTiO₂ (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³⁶⁾。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 TiO₂投与群では肝臓で最も高く、25 nm TiO₂および155 nm TiO₂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 TiO₂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 TiO₂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 TiO₂投与群で血管系損傷の指標である血清 LDH および α -hydroxybutyrate dehydrogenase (α -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 TiO₂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 TiO₂投与群で、腎尿細管、155 nm TiO₂投与群では腎糸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TiO₂投与の影響はみられなかった。25 nm TiO₂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 TiO₂-C (uf-C : P25: 表面積 38.5 m²/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¹⁷⁾。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TiO₂ 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。TiO₂ 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⁴¹⁾。
- ・Ultrafine-C (uf-C; TiO₂)を用いて急性眼刺激性試験を行った¹⁷⁾。uf-C をニュージーランドホ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 m²/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 H³-Thymidine の取り込みを測定した¹⁷⁾。Ultrafine TiO₂-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_2 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 $25.1 \pm 8.2 \text{ nm}$ （粒径の範囲 13-71 nm）、表面積 $51.1 \pm 0.2 \text{ m}^2/\text{g}$ 、Zeta 電位 $16.1 \pm 2.2 \text{ mV}$ 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²⁶⁾。ばく露濃度は、0, 2, 10 及び $50 \text{ mg}/\text{m}^3$ 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 $8.6 \text{ mg}/\text{m}^3$ 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 15-40nm) 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²⁷⁾。
- ・ 米国の Nanostructured & Amorphous Materials Inc (NanoAmor) 社製の一次粒径 3-5 nm のアナターゼ型 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 120-128 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²⁹⁾。1 日のばく露においては、 0.77 および $7.22 \text{ mg}/\text{m}^3$ 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- γ , IL-6, IL-16) 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 21nm (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 250nm (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 $23.5 \pm 3.2 \text{ mg}/\text{m}^3$, $23.0 \pm 4.1 \text{ mg}/\text{m}^3$ 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³⁰⁾。リンパ節内の沈着量は、21nm の粒子が 250nm 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、21nm の粒子の方が 250nm 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。21nm の粒子の肺内の半減期は 501 日で、250nm 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 35nm, 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³¹⁾。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 ± 9 nm、 2.8×10^5 個/cm³ 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 ± 1.1 µg 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 TiO₂ (アナターゼ型 70%/ルチル型 30%, 表面無修飾, サイズ: 20–33 nm, BET 表面積: 48.6 m²/g) または顔料グレード TiO₂ (ルチル型, 純度: 99.4%, 粒子サイズ中央値: 200 nm, BET 表面積: 6 m²/g、KRONOS International) を各々 88 mg/m³, 274 mg/m³ 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³²⁾。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 TiO₂ 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 TiO₂ がナノ TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ ばく露後の回復傾向は、顔料グレード TiO₂ に比べて速かった。
- ・TiO₂ 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/m³ の重量濃度で、吸入ばく露試験を行った²⁸⁾。TiO₂ 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/m³ 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/m³ 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/m³ のばく露では、TiO₂ 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/m³ の気中 TiO₂ 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/m³ 群ラットの 13 週ばく露終了直後に、BrdUー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³⁴⁾。使用した二酸化チタン粒子は、nanoTiO₂+SiO₂ rutile (Sigma-Aldrich 製、粒径 10 nm×40 nm、ルチル型、比表面積 132 m²/g、組成 TiO₂, SiO₂ にてコート)、nanoTiO₂ アナターゼ (Sigma-Aldrich 製、粒径 < 25 nm、アナターゼ型、比表面積 222 m²/g、組成 Ti, O)、coarse TiO₂ ルチル (Sigma-Aldrich 製、粒径 < 5 µm、ルチル型、比表面積 2 m²/g、

組成 Ti, O)、nanoSiO₂ (NanoAmor 製、粒径 10 nm、非晶質、比表面積 515 m²/g、組成 Si, O)、nanoTiO₂ 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 m²/g、組成 Ti, O)、nanoTiO₂ 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 m²/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/m³ の濃度で吸入ばく露させた。その結果、nanoTiO₂+SiO₂ 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- α (TNF- α)と neutrophil-attracting chemokine CXCL1 の発現亢進を伴っていた。

鼻腔内注入

- ・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.) またはファイン TiO₂ (アナターゼ型、純度：> 99%, 平均サイズ：155 nm、比表面積：10 m²/g, Zhonglian Chemical Medicine Co.) の 500 μ 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³³⁾。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 TiO₂ 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 TiO₂ 注入後の血清 IL-18 および脳 TNF- α 濃度の有意の上昇がみられたが、ナノ TiO₂ 投与マウスでは IL-18 および TNF- α 濃度は軽度の上昇のみであった。

経口投与

- ・TiO₂ (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³⁵⁾。検出された TiO₂ 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、TiO₂ 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 TiO₂ (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 日後全身的影響を検討した³⁷⁾。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 TiO₂（石原産業製、アナターゼ型、表面積：236 m²/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/cm² (TiO₂)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³⁸⁾。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 TiO₂（アナターゼ型、粒子サイズ：5 nm、表面積：200 m²/g、純度：99.5%、疎水性、Zhejiang Wanjin Material Technology Co., Ltd.）およびナノ TiO₂（ルチル型、粒子サイズ：60 nm、表面積：40 m²/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³⁹⁾。TiO₂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 TiO₂ 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。TiO₂ 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 TiO₂を塗布して皮膚刺激試験を行った³⁹⁾。使用した粒子は、ナノ TiO₂（アナターゼ型、粒子サイズ：10 nm、表面積：160 m²/g、純度：99.5%、疎水性、Zhejiang Wanjin Material Technology Co., Ltd.）、ナノ TiO₂（ルチル型、粒子サイズ：25 nm、表面積：80 m²/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 m²/g、純度：99.5%、親水性、Degussa）、ナノ TiO₂（ルチル型、粒子サイズ：60 nm、表面積：40 m²/g、純度：99.6%、疎水性、Zhejiang Hongsheng Material Technology 社製）またはナノ TiO₂（ルチル型、粒子サイズ：90 nm、表面積：40 m²/g、純度：99.5%、疎水性、Zhejiang Hongsheng Material Technology 製）であった。これらの TiO₂ 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 TiO₂、25 nm TiO₂ P25、60 nm で、心臓、肝臓、脾臓等で認められたが、90 nm TiO₂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 TiO₂、25 nm TiO₂ および 60 nm TiO₂、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 TiO₂ および P25 塗布により限局性壊死、心臓では 10 nm TiO₂ 塗布後だけに微量の白血球浸潤がみられた。60 nm と 90nm の TiO₂ 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 TiO₂ 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⁴⁰⁾。いずれのTiO₂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TiO₂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TiO₂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/m³ (1.7×10⁶n/cm³; 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，TiO₂: 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 m²/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TiO₂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TiO₂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TiO₂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⁴²⁾。

鼻腔内注入

・妊娠14日および非妊娠マウスに、TiO₂ 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。TiO₂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。TiO₂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⁴³⁾。

経口投与/経皮投与/その他の経路等

・TiO₂ 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 m²/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。TiO₂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⁴⁵⁾。

- TiO_2 (Sigma-Aldrich 製 アナターゼ型, 粒子サイズ: 25–70 nm, 表面積: 20–25 m^2/g , 純度: 99.9%) を ICR マウスの妊娠 3, 7, 10, 14 日に 100 $\mu\text{g}/\text{匹}$ 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_2 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_2 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⁴⁶⁾。
- TiO_2 (Sigma-Aldrich 製、アナターゼ型, 粒子サイズ: 25–70 nm, 表面積: 20–25 m^2/g) を ICR マウスに妊娠 6, 9, 12, 15, 18 日に 100 $\mu\text{g}/\text{匹}$ 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⁶³⁾。
- TiO_2 (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_2 が検出された⁶⁴⁾。

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 (WP2uvrA 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^{18, 19)}。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¹⁸⁾¹⁹⁾。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^{18, 19)}。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^{18, 19)}。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^{18, 19, 61)}。

- *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^{18, 19)}。
- 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^2/g , Evonik 製) を、P-遺伝子を組み込んだ妊娠 8.5–18.5 日に 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (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⁴⁴⁾。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 ¹⁸⁾¹⁹⁾ UV/vis照射の有無にかかわらず	—
		ultrafine TiO ₂ (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) ¹⁸⁾¹⁹⁾	—
		二酸化チタン(直径 < 40 nm、 Sigma-Aldrich 社製) ネズミチフス菌 TA97株 ¹⁸⁾¹⁹⁾	—
	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) ¹⁸⁾¹⁹⁾ 非UV/vis 照射 UV/vis照射	(−) (+)
		ultrafine TiO ₂ (uf-C) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO) (−S9、+S9) ¹⁸⁾¹⁹⁾	—
		8種のナノサイズTiO ₂ チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-WBL) ¹⁸⁾¹⁹⁾ UV照射の有無にかかわらず	—
	姉妹染色分体交換試験	TiO ₂ (Standard solution, Merck) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) ¹⁸⁾¹⁹⁾	+
		TiO ₂ (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) ¹⁸⁾¹⁹⁾	+
	マウスリンフォーマTK試験	P25 マウス・リンパ腫細胞 (L5178Y) ¹⁸⁾¹⁹⁾ 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 ₂ 5 nm (アナターゼ型, 平均一次粒子直径: 5 nm, 比表面積: 114 m ² /g, Sigma-Aldrich) 2) TiO ₂ 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 ² /g, Inframat Advanced Materials LLC), 3) TiO ₂ -320 mesh (直径: -325 mesh, 比表面積: 8.9 m ² /g, Sigma-Aldrich) gpt delta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) ¹⁸⁾¹⁹⁾	— + —
	遺伝子突然変異試験 <i>hprt</i> 遺伝子座位	TiO ₂ (純度99%, アナターゼ型, サイズ中央値: 6.57 nm, 比表面積: 148 m ² /g, Sigma-Aldrich) ヒトB細胞リンパ芽球様株化細胞 (WIL2-NS) ¹⁸⁾¹⁹⁾	+
	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 ₂ (アナターゼ型, 結晶サイズ: 170 nm, Kemira) ラット肝上皮細胞 ¹⁸⁾¹⁹⁾	—
		TiO ₂ (Standard solution, Merk) チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) ¹⁸⁾¹⁹⁾	+
		TiO ₂ (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) ¹⁸⁾¹⁹⁾	+
		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) ¹⁸⁾¹⁹⁾ 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) ¹⁸⁾¹⁹⁾ 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 ⁶¹⁾	いずれも +
	酸化了的DNA損傷試験	Ultrafine TiO ₂ (Sigma-Aldrich 社製、99%、結晶型未記載) ヒトlymphblastoid 細胞(WIL2-NS) ¹⁸⁾¹⁹⁾	+
		TiO ₂ (ルチルとアナターゼの混合, 不明) ヒト肺上皮細胞(A549) ¹⁸⁾¹⁹⁾	+
		二酸化チタン(TiO ₂)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] ¹⁸⁾¹⁹⁾	いずれも —
	酸化了的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) ¹⁸⁾¹⁹⁾ photoactivation (-)	+
	In vivo		
	酸化了的 DNA 損傷試験	P25 0.15-1.2 mg 気管内投与 90 日のラット肺 ¹⁸⁾¹⁹⁾	—
	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 ¹⁸⁾¹⁹⁾ 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 ⁴⁴⁾	+

— : 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 $52.7 \pm 3.6 \text{ m}^2/\text{g}$) 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⁴⁷⁾。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 $-11.6 \pm 1.2 \text{ mV}$ 、生理的緩衝液 HBSS 中で $-9.25 \pm 0.73 \text{ mV}$ 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_2O_2 、酸素ラジカル $\text{O}_2^\cdot$) の増加が検出された。
- ・二酸化チタン(TiO_2 、Tioxide Europe 社製)、ナノサイズ粒子の二酸化チタン(TiO_2 -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⁴⁸⁾。
- ・二酸化チタンナノ粒子 ($10\text{-}100 \text{ }\mu\text{g/mL}$) 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⁴⁹⁾。
- ・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 $12 \pm 2 \text{ nm}$ 、表面積 $210 \text{ m}^2/\text{g}$ 、ゼータ電位 -24 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⁵⁰⁾。
- ・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⁵¹⁾。
- ・各種の吸入性金属系ナノ粒子 (Ag 150 nm, Al 100 nm, Zn 100 nm, Ni 100nm, TiO_2 30 nm) 及びミクロンサイズ粒子 (TiO_2 $1 \text{ }\mu\text{m}$ 、Silica $1\text{-}5 \text{ }\mu\text{m}$) 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⁵²⁾。

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 mg/m^3 、続く 4 ヶ月間 : 14.8 mg/m^3 、9 ヶ月から実験終了まで : 9.4 mg/m^3 (平均 : 10.4 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 mg/m³ であり、累積ばく露量は 51.5 g/m³ × 時間 (13.5 ヶ月)であった。TiO₂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⁵³⁾。

- ・ 8 週齢の雌雄各 50 匹の SD ラットに 15.95 mg/m³ の TiO₂ 粒子、一次粒子径 : 99.9% が 0.5 μm 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⁵⁴⁾。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 TiO₂ばく露による影響は認められず、TiO₂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 TiO₂ 粒子 (P25; 一次粒子径 25nm 以下、比重 3.8 g/mL、比表面積 52 m²/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 9.9m²/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 5mg/rat を 3 回、5mg/rat を 6 回、10mg/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 10mg/rat を 6 回、20mg/rat を 6 回注入し、肺腫瘍発生率は 29.5%、63.6%であった⁵⁵⁾。
- ・ 微粒子 (F) TiO₂ (粒子サイズ : 0.25 μm) の 10 mg を週 1 回、6 週間 (計 60mg)、または、ウルトラファイン (UF) TiO₂ (粒子サイズ : 21 nm) 6 mg を週 1 回、5 週間 (計 30mg)、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⁵⁶⁾。F-TiO₂ および UF-TiO₂ とともに慢性炎症を惹起した。腫瘍発生率は対照群で 5%, F-TiO₂ 群で 20.9%, UF-TiO₂ 群で 50%であった。F-TiO₂ 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-TiO₂ 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 mg/0.2 mL の TiO₂ 粒子 (平均サイズ : 0.5 μm) を週 1 回、15 週にわたって気管内注入した⁵⁷⁾。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、TiO₂ばく露ではすべてのハムスターが死亡した。TiO₂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 TiO_2 粒子を 0.15 mL の生理食塩水に懸濁して 1 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。 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_2 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⁵⁸⁾。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_2 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_2 , 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_2 , 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_2O_3 (8-11%)/ SiO_2 (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_2 , 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/cm² (TiO_2 として 160 µg/cm²) をボランティアの前腕 11.3 cm² に 6 時間塗布した。 TiO_2 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_2 は角質層の最も外側面に沈着し, 角質層の深部では観察されなかった⁵⁹⁾⁶⁰⁾。
- ・ 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/cm² (TiO_2 として 60 µg/cm²) を, 3 人の健康な女性ボランティアの上腕部 11.3 cm² に 5 時間塗布した⁵⁸⁾。 TiO_2 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^{9・13)}。
- ・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⁶²⁾。
- ・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の可能性がある）(2010)⁵⁾

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⁶⁾

EU Annex VI：設定なし⁷⁾

NTP 12th：設定なし⁸⁾

ACGIH：A4（ヒト発がん性について分類できない物質）(1996)¹⁴⁾

DFG MAK：発がん性区分 3A (inhalable fraction: except for ultrafine particles)¹⁵⁾

(3) 許容濃度の設定

ACGIH TLV-TWA：10 mg/m³ (1992)¹⁴⁾

(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/m³ の濃度で吸入ばく露させた慢性実験において、250 mg/m³ 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/m³ 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/m³ 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¹⁶⁾。

日本産業衛生学会：設定なし⁶⁾

NEDO プロジェクト：

許容ばく露濃度 (PL:時限) : 0.6 mg/m¹⁹⁾

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/m³ 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 TiO₂ 微粒子 2.4 mg/m³、TiO₂ 超微粒子 0.3 mg/m³ (1 週間 40 時間 (1 日 10 時間まで))⁶²⁾

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/m³

Dupont : Acceptable Exposure Limit (AEL): 1mg/m³

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²⁴⁾

Recommended benchmark limits: 4.0×10^4 /cm³⁶⁶⁾

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/m³ 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)
- 12) California EPA (OEHHA) : Hot Spots Unit Risk and Cancer Potency Values (2009)
(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)
- 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)
- 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 TiO₂ 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_2)－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_2 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_2 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_2 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, 102–118.
- 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 JJ (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-TiO₂, pigmentary TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ 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 TiO₂ particles. *Toxicol Sci* 115, 156–166.
 - 41) Adachi K, Yamada N, Yamamoto K, Yoshida Y, Yamanoto 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 Sci 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-TiO₂ 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, Gers-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/](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 neostriatum of mice. *J Toxicol Sci* 35, 749-756.
 - 64) Yamashita K, Yoshioka Y, Hagashisaka 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.