

平成 18 年度経済産業省
委託調査報告書

平成 1 8 年度超微細技術開発産業発掘戦略調査
(ナノテクノロジーの研究・製造現場における
適切な管理手法に関する調査研究)
報告書

平成 1 9 年 3 月

J F E テクノリサーチ株式会社

はじめに

ナノテクノロジーは、現在非常な注目を集めている科学技術であり、エレクトロニクス、医療応用、環境改善を始めとして、人類に非常に大きな貢献をもたらすものと期待されている。ナノ材料には既に製品化されているものもあり、2015年において全世界で1兆ドルといわれるなど、今後、市場の拡大が予測されている。この大きなベネフィットへの期待の一方で、科学技術である以上、リスクは必ず存在するものであり、リスクを最小に抑えながらその発展を図ろうとするいわゆる「責任あるナノテクノロジーの展開」(Responsible Development of Nanotechnology)は、世界的なコンセンサスとなっている。

ナノテクノロジーによるナノ材料の製造、製造されたナノ材料の使用(最終製品製造)等の現場、又はナノテクノロジーの研究開発現場におけるナノ材料の取扱いにおいて、取扱者の健康や環境への影響がないようにする管理を行うことは、「責任あるナノテクノロジーの展開」の重要な一環である。

材料がナノサイズになることにより、新たなリスク(有害性と暴露量の積で表される)があるかどうかについては、現時点においては、研究の蓄積が少なく、国際的なコンセンサスはまだ形成されていない状態である。研究者、作業員へのリスクを最小にするためには、有害性が不確定であれば、暴露量を抑えるための管理を行う必要がある。現在、ナノテクノロジーは、自主的な管理にゆだねられており、国際的にみても労働衛生面の検討は、OECDやISOでも開始されたばかりであり、米国労働安全衛生研究所(NIOSH)の先駆的な活動が見られるのみである。

そのため、現在ナノテクノロジーに関連する研究活動、製造活動が行われている研究機関や製造事業所の現状ならびに海外での事例を広く調査し、我が国にとって最適なナノテクノロジーの管理手法を検討し、有識者により組織した調査検討委員会に審議をお願いして、ガイドラインとしてまとめた。本ガイドラインが、企業、大学、公的研究機関におけるナノテクノロジーの自主管理活動に資することとなれば幸いである。

平成19年3月

JFE テクノリサーチ株式会社

目 次

1 . 本調査研究の目的.....	1
2 . ナノ粒子の有害性評価研究の現状.....	2
2 . 1 カーボンナノチューブ.....	2
2 . 2 フラーレン.....	11
2 . 3 酸化チタン.....	19
2 . 4 酸化亜鉛.....	57
3 . ナノ粒子の暴露評価研究の現状.....	63
3 . 1 ナノ粒子の測定技術の現状.....	63
3 . 2 ナノ粒子の全ライフサイクルにおける暴露可能性.....	64
3 . 3 暴露評価研究の現状.....	65
4 . ナノ粒子のリスク対策の現状.....	74
4 . 1 日本.....	75
4 . 2 米国.....	76
4 . 3 英国.....	80
4 . 4 ドイツ.....	82
5 . ナノテクノロジーの管理手法開発の動向.....	84
5 . 1 国内の動向.....	84
5 . 2 米国の動向.....	95
5 . 3 英国、ドイツの動向.....	112
5 . 4 その他諸国の動向.....	117
5 . 5 国際的な動き.....	120
5 . 6 これまでに提示されたガイドライン.....	126
6 . ナノテクノロジーの研究・製造現場における管理手法のガイドライン.....	132
6 . 1 調査検討委員会の設置と検討・審議経過.....	132
6 . 2 ナノテクノロジーの研究・製造現場における管理手法のガイドライン.....	133
ナノテクノロジー管理手法用語・略語集.....	149

資料

- 第7回国際エアロゾル会議（IAC; 2006年9月、米国ミネソタ州セントポール市）報告
ナノテクノロジーの労働衛生と環境・健康・安全に関する国際会議（NOEHS 2006年12月、
米国オハイオ州シンチナ市）報告
米国労働安全衛生研究所(NIOSH)の“ Safe Nanotechnology”（英和対訳）
カーボンブラック取扱安全指針（カーボンブラック協会）
Environmental Defence DuPont のナノリスク枠組み(Nano Risk Framework)（抄訳）

1. 本調査研究の目的

ナノテクノロジーによるナノ材料の製造、製造されたナノ材料の使用（最終製品製造）等の現場、又はナノテクノロジーの研究開発現場におけるナノ材料の取り扱いについては、現時点で取り扱いガイドラインなどの統一的な管理手法が存在していない。

材料がナノサイズになることにより、新たなリスク（有害性と暴露量の積で表される）があるかどうかについては、科学的な知見に乏しく、国際的なコンセンサス（統一見解）があるわけではない。しかしながら、一般的にはナノ材料であるかどうかを問わず、新しい物質については、既存の法律・規則に基づき安全性試験が行われるとともに、粉じんなどについては吸入、爆発などのリスクから労働環境での制限が設けられている。従って、科学的な見解が明確になる前からナノ材料の取り扱いについて最適な管理手法等の検討を行う必要がある。

そのため、現在ナノテクノロジーに関連する研究活動、製造活動が行われている研究機関や製造事業所の現状を調査するとともに、海外での管理事例を調査し、我が国にとって最適なナノテクノロジーの管理手法を検討することにより、企業、大学、公的機関の自主管理活動に資するとともに、我が国にとって必要な自主管理ガイドライン作成等管理制度の検討に役立てることとする。

具体的な事業内容として、以下が挙げられた。

(1) ナノテクノロジーに関連する研究・製造現場の「管理状況」の調査

企業等におけるナノテクノロジー研究の現場において、研究活動におけるナノ材料の管理の現状を調査するとともに、ナノ材料製造事業者及びナノ材料を使用して製品製造を行う現場の製造工程における労働安全衛生のための管理の状況、自主的な安全情報データの取得・提供の状況、について調査を行う。

(2) 海外におけるナノテクノロジーの管理手法調査

従来の化学物質管理の枠組みを越えて、ナノサイズ特有の管理（研究・製造現場での労働安全と、ナノ材料製品の安全性の両面）を検討している諸外国の状況を調査する。その際、既存制度の活用によるものか、新しい制度創設によるものかについて留意する。

また、普及しているナノサイズ特有の管理手法について、その策定過程・運用状況について調査を行う。

(3) ナノテクノロジー管理手法の検討

上記(1)(2)の調査結果を踏まえ、有識者を交えてナノテクノロジーを扱うにあたって最適な管理のあり方を検討し、ナノテクノロジーの自主管理モデルを検討する。

2. ナノ粒子の有害性評価研究の現状

ナノテクノロジーの安全性について議論される場合の対象となるのは、殆どがナノ粒子である。話題を呼んでいるカーボンナノチューブやフラーレンなどは形状はともあれ粒子であること、生体への侵入経路としては、エアロゾルの形態からの呼吸による可能性が高く、エアロゾルには液体エアロゾルもあるが、エアロゾル化し易いのは固体粒子だからである。ここで言う「ナノ粒子」の定義は国際的にも定着しつつある「少なくともある一方向の長さがおおむね 100nm 以下である粒子」とする。また、自然に存在するエアロゾル粒子や、非意図的に排出されるディーゼル排気粒子を含めない。但し、「ナノ粒子」という呼称が使われ始めたのは、2000 年以降のことであり、それ以前はこのスケールの粒子は超微粒子 (Ultrafine Particles) と呼ばれており、毒性研究では、最近でも用いられている。

主に有害性 (研究上では、Toxicology (毒性学) が扱うので、毒性 (Toxicity) と呼ばれることが多い) の研究の対象となっているのは、最近発見された炭素材料であり、盛んな研究開発の対象となっていて、応用製品もで始めているフラーレン、カーボンナノチューブと、古くからナノサイズの粒子も製造され、サンスクリーン剤として広く利用されている酸化チタンおよび同様にサンスクリーン剤としての使用が盛んになってきた酸化亜鉛の 4 種類の粒子である。ここではこの 4 種類についての有害性評価研究の現状について述べる。

2.1 カーボンナノチューブ

カーボンナノチューブ (CNT) についての毒性試験や、生体との相互作用についての研究は 2000 年初頭までは、非常に少なかった。アスベスト (肺からの吸入により、中皮腫 (致命的) を引き起こす) との類似性から、CNT に対する危惧が表明されている (Morgan)¹⁾。

Hyperion Catalysis International は CNT を毒物として扱い、粉の形では出荷せずプラスチックのコンポジットの形で閉じ込めたものを販売しているという²⁾。

一方、パーモント医科大学の病理学者 Mossman²⁾ は、CNT の黒鉛構造は、細胞構成物と反応して損傷する副生物を出す可能性は低く、数多くの炭素繊維や粉末を扱ってきたが、問題はなかったとしている。

モンペリエ大学の Fiorito³⁾ は、1 μ m の黒鉛粒子はラットの細胞を刺激して一酸化窒素 NO (免疫応答のインディケーター) を発生するが、CNT もフラーレンも NO の発生はなかったと報告している。

ワルシャワ医科大学の Huczko⁴⁾ はモルモットに CNT を含む煤と含まない煤を単回気管注入し、4 週間後、肺組織にアスベスト様の作用が起きるかどうかが予備的実験を行った。肺機能試験と解剖後肺胞洗浄液の炎症反応試験は、両方ともに同様な結果を示したので、労

働環境が健康リスクには結びつかないだろうとした。しかし、Huczko の研究は EPA では不採用となった方法を用いており、適当な対照例もない。

NASA と Du Pont から相次いで CNT の毒性研究がレフリー付きの雑誌 (Toxicological Science, Vol.77(2004)) の同じ号に発表された。それまでにこれらの研究については学会発表等が行われ、論議を呼んでいたが、これは学問的にチェックされた結果であり、同じ号で EPA の Dreher がこれらの研究に特別に解説を加えている⁵⁾。

この 2 つの研究は、ともにげっ歯類の気管注入という暴露形態で、比較毒性学的方法を用いたものである。Dreher のコメントの要旨を以下に収録して、論文の紹介に代えたい。

『NASA の Lam ら⁶⁾ は、異なる方法で製造され、残留触媒金属含量を変えた単層カーボンナノチューブ(SWCNT)をマウスに注入し、7日および90日経過した後の組織病理学的変化を調べた。比較例として、肺毒性の高いものとして石英を、低いものとしてカーボンブラックを用いた。3つのタイプの SWCNT は、全て肉芽腫に特徴づけられる注入量に依存する肺の病変を示した。金属量の低い精製 SWCNT も、混入金属のみでは起こらないと推定される肺の肉芽腫を生じさせた。

カーボンブラックと SWCNT は肺への堆積後、異なる反応と経過を示した。カーボンブラックを含んだマクロファージが肺胞空間に分散されるのに対して、SWCNT を含んだマクロファージは肺の 2 次小葉中心に移動し、肺胞薄膜に入り、そこで類上皮の肉芽腫を形成する。Lam らの結論は、「試験条件下で同じ重量で比較すると、SWCNT は、長期間の吸入により職業病を発生させる石英よりも毒性が強いことがありうる。現在、製造者の提供する MSDS では、SWCNT は新しい形の黒鉛に分類されているが、黒鉛について OSHA(米国労働安全衛生庁) で規定されている暴露限界の許容基準を SWCNT に適用することは、SWCNT への暴露に対して作業者を保護できるものとならない可能性がある」ということであった。

Du Pont の Warheit ら⁷⁾ は、気管注入後の肺の炎症反応や、肺の細胞増殖や組織病理学的変化を調べるといふ、より総合的な比較毒性学的評価を SWCNT に対して実施した。注入後の肺での肉芽腫形成も Lam らと同様に観察された。石英と対照的に SWCNT による多病巣の肺の肉芽腫が、肺での炎症や細胞の増殖の進行の証拠がないまま形成される。肺の肉芽腫は、容易に変質(分解)しない外部からの物質を取り除こうとする免疫応答の結果として現れる。肺の肉芽腫は慢性ベリリウム障害、サルコイドーシス(類肉腫症)、過敏症肺炎において観察される。

Warheit が指摘したように、炎症の進行、細胞の増殖または細胞毒性なしで肉芽腫が見出されるということは、石英やシリカのような通常の毒性ダストのパラダイムに従ったものでなく、SWCNT によって誘発される肺毒性ないし肺障害が新しいメカニズムによって起こっている可能性があることを示唆している。SWCNT が独特の機構で肺の中に肉芽腫に

よる病変を誘発する能力があることは、SWCNT が高度の構造特性を付与され、生物および環境システムにおいて変化しがたい物理化学的特性があることと一貫性があると考えられる。

SWCNT の生物システムにおける不変性は、Maynard らが示した SWCNT の低レベルの慢性暴露が健康障害を引き起こし得るという結果を考えると、重大な職業病上の安全性の争点となるかもしれない。現状においては最新技術によってもたらされる製品は、安全性と環境の面から、従来よりも厳しい目で一般から見られている。ナノテクノロジーの場合、社会で使用されるナノ粒子の量と種類が増えると、ナノ粒子の暴露の可能性も増大する。

この Toxicological science の本号の Lam らおよび Warheit らの論文は、製造されたナノ粒子の特別な型である SWCNT の *in vivo* 毒性に関する最初の考察である。これらの研究の結果は、ナノ粒子の毒性が、ナノ粒子の毒性や暴露評価に関する情報が少ないなかで、現在ある粒子や繊維の毒性データベースからどの程度外挿できるのかといった、製造されたナノ物質に関連した、いくつかの重要な健康リスク評価に役立つものである。

最近、プロアクティブな多くの学問領域にわたる研究イニシアティブが、EPA の NCER (国立環境研究センター、2003)、NTP (National Toxicology program、国家毒性プログラム)、NIEH (国立環境衛生研究所、2003)、NIH (国立衛生研究所)により、人間の健康と環境へのインパクトを扱うべく開始された。これらおよびその他の努力により、ナノテクノロジーとナノ物質に関して、健康と環境への影響についての十分な理解のもとに、責任ある発展がなされることを願っている』

CNT の *in vivo* の実験は上記の 2 論文^{6,7)}、前にあげた Huczko ら⁴⁾のもの他に Wang ら⁸⁾の OH 基を導入して水溶化し、放射能ラベルをつけた SWCNT のマウス器官組織への分布を調べた報告がある。注入後、腹腔、皮下、胃、静脈という注入箇所にはほとんど関係なく、脳を除く全身に急速に分布し、特に胃、腎臓、骨に多く、ほとんど尿から排出される。注入後、6 時間後最大値を示し、11 日後に 80%が排出される。骨には 18 日後でも残存する。この SWCNT は 1.4nm ϕ 、長さ約 300nm (分子量 600,000) という巨大分子であるにもかかわらず、通常の大さの分子のように振る舞う。

2005 年 Huczko ら⁹⁾は、再び CNT の *in vivo* の実験の報告を行った。未精製の多層カーボンナノチューブ(MWCNT) (CVD 法、アーク放電法) 販売されている MWCNT (CVD 法; NanoLab 社、Pyrograf 社、昭和電工) をモルモットの器官内に注入し、3 ヶ月後に気管支肺胞洗浄液試験、肺抵抗試験、組織学的顕微鏡観察を行った。Pyrograf 社以外の MWCNT は気管支肺胞洗浄(BAL)液に肺胞マクロファージを確認している。また、異常な肺抵抗を示し、組織学的観察からは多種の損傷が観察されたと報告しており、2001 年のデータとは逆の結果を示している。このことは、試料が違っているためか、実験方法に問題があるのか、同じ研究者が異なった結果を出しているということは、毒性実験の困難さを表わしていると思われる。

Muller¹⁰⁾らは、SD ラットに MWCNT あるいは、すりつぶした MWCNT 0.5、2、5mg を気管支内投与した結果、CNT、すりつぶした CNT は、投与 60 日後においても肺に初期投与量のそれぞれ 40%、80% 存在し、炎症と線維症がみられた。投与 2 ヶ月後 CNT により、周囲組織での肺胞炎をともなった気管支腔におけるコラーゲンに富む肉腫形成が惹起された。これらの症状は、気道での大きな CNT 塊の蓄積によって引き起こされた。すりつぶした CNT は、肺の柔組織でよく分散され、炎症、線維症もみられた。CNT とすりつぶした CNT は、処置動物の肺でのサイトカイン腫瘍壊死因子 TNF- α の生成を促した。すりつぶした CNT は、in vitro でマクロファージによる TNF- α の過剰生産を促した。

Zhu¹¹⁾らは、単細胞原生動物 *Stylonychia mytilus* の MWCNT による反応を調査した。MWCNT は *Stylonychia mytilus* に摂取され、MWCNT 濃度 1.0 μ g/ml 以上では、その生存性は MWCNT の濃度による。電子顕微鏡観察では摂取された MWCNT は細胞中のミトコンドリアに偏在する。

Shvedova¹²⁾らは、SWCNT の咽頭吸引により C57BL/6 マウスにおいて珍しい肺への影響が惹起されることを証明した。その肺影響とは、進行性の初期の線維症や肉芽腫を伴った強い急性の炎症である。気管支肺胞洗浄液中のタンパク質、乳酸脱水素酵素 LDH と -グルタミル転移酵素活性の用量依存的な増加が肺におけるグルタチオンの減少と 4-hydroxynonenal の蓄積とともにみられた。肉芽腫の形成は主に密なマイクロメータスケールの SWCNT の集積体に起因する。

Templeton¹³⁾らは、SWCNT の急性及び慢性毒性を河口性カイアシ類 *Amphiascus tenuiremis* の全ライフサイクルのバイオアッセイにより調査した。同世代のノープリウス幼生群は幼生から成体まで海水に SWCNT 類を加えた 96 々のマイクロプレートで培養して調査した。SWCNT 類は製造のままの SWCNT、精製 SWCNT、ナノカーボン合成副産物の微小体の 3 種類を比較した。精製 SWCNT を摂取したカイアシは死亡率、変態率、増殖率に大きな影響は示さなかった。これに対し高濃度 (10 mg.cntdot.L⁻¹) の製造のままの SWCNT では死亡率の増加、受精率の減少、脱皮成功率の減少が認められた。合成副産物では 10 mg.cntdot.L⁻¹ の濃度で顕著な死亡率の増加と全濃度域で脱皮成功率の減少を引き起こした。これらから、合成副産物を含有する SWCNT のサイズ依存毒性がカイアシ類の死亡率の増加、変態の遅れを引き起こしていると示唆される。

以上は in vivo による研究の結果であるが、in vitro の研究もなされてきた。

Shvedova ら¹⁴⁾はヒトケラチン生成細胞を用いて、NASA 法 (アーク法)、Rice 大学法 (HiPco 法) で作製された未精製 SWCNT の毒性試験を行い、これらの SWCNT の暴露により、酸化ストレスが加速されるため、労働者に皮膚障害を起こさせる可能性があることを指摘した。

Cui ら¹⁵⁾はヒト胎児腎臓細胞への CNF 社の SWCNT の効果を調べた。SWCNT はアポトーシスを誘起し、細胞の接着能力を低下させ、増殖を抑制する。同時に SWCNT が付着

した細胞をその他の細胞から分離し、小さな分離蛋白の分泌するような能動的応答を行うことが見出された。

Monterio-Riviere ら¹⁶⁾ は、シリコンウェーハ上に成長させた MWCNT を剥離したものをを用い、ヒト表皮のケラチン生成細胞との相互作用を調べた。MWCNT は細胞に侵入し、炎症のマーカーである IL-8 を産出することが示された。ただ、この結果がただちにヒトの皮膚に MWCNT が炎症を起こすとは言えない(角層が存在するため)。

Jia ら¹⁷⁾ はアーク放電法で作製された SWCNT と、CVD 法により生産された MWCNT の肺胞マクロファージ (AM) への影響を *in vitro* で調査した。MTT アッセイ (MTT 試薬による細胞生存率の測定法) による細胞毒性は、SWCNT > MWCNT > 結晶質シリカ (5 μ 以下) の順に低下した。AM の貪食作用は暴露当初は低下し、SWCNT において著しいが、後に AM に捕食され取り込まれる。細胞の微細構造も変化し、アポトーシスのシーケンスに類似したプロセスも見られた。

Murr ら¹⁸⁾ は CNI 社の SWCNT、RHL 社、Nanolab 社の MWCNT について、白石綿、カーボンブラック (CB) と毒性比較を行った。CNT の TEM による観察を行い、それぞれ特徴のある凝集体であることを示した。CNT は白石綿・CB 同様の細胞毒性を示した。ただし、リンパ球活性化サイトカイン IL-10、12 の応答は見られなかった。料理用ガスレンジからの排ガス中に、工業的に生産されている MWCNT 凝集体と類似した粒子があり、疫学的に喘息との関連が疑われている。白石綿と CNT とが細胞毒性が似ていることから、CNT も肺毒性の原因となりうると思われるべきであるとしている。

D. Pantarotto ら¹⁹⁾ は、SWCNT の側壁にフルオレッセンチオシアネートをラベルしたものおよび、SWCNT とペプチドとの共役体を作製し、ヒト繊維芽細胞、ヒトケラチン生成細胞、マウス繊維芽細胞への透過性を調査したが、フルオレッセンやペプチドのみでは細胞内に入らないが、これらのものは 3 つの細胞とも透過し、ペプチドとの共役体は核内部にまで入り込むことが示された。これにより、CNT がドラッグキャリアとして有望であるといえる。

Xinyuan²⁰⁾ らは、SWCNT からの Ni 移動量を pH, 溶存酸素, フォスフェートイオンの関数として示した。溶解 Ni は SWCNT から溶出し、毒性を引き起こす。特に未精製の SWCNT で顕著であるとした。

Kagan²¹⁾ らは、2 種の SWCNT: (1)未精製 SWCNT (26 wt.% of iron) および (2) 精製 SWCNT (0.23 wt.% of iron) を用いて、マウスのマクロファージ RAW 264.7 に対する反応を調査した。精製および未精製 SWCNT は RAW 264.7 中で、スーパーオキシド・ラジカル、酸化窒素などの細胞内生成物を生成できないことがフローサイメトリーおよび蛍光顕微鏡により確認された。鉄濃度の異なる SWCNT は無細胞系中で異なるレドックス活性を示すことが、EPR(電子スピン共鳴)による、アスコルビン酸塩酸化により生じたアスコルビン酸ラジカルの形成の検出により確認された。ザイモサンにより活性化された RAW 264.7 中では、未精製 SWCNT は、精製 SWCNT より、効率的にヒドロキシラジカルを生

成した。同じく EPR により、未精製 SWCNT は効率的にスーパーオキシド・ラジカルをヒドロキシラジカルに変換することが明らかになった。未精製 SWCNT はザイモサンおよび PMA (phorbol myristate acetate) で刺激された RAW 264.7 の細胞内グルタチオン(GSH)の顕著な喪失と脂質ヒドロペルオキシドの蓄積を起こした。カタラーゼは SWCNT で誘発された酸化ストレスの上昇に対し、ある程度マクロファージを保護することが可能である。SWCNT 中の鉄の存在がマクロファージのレドックス依存反応の決定に重要であると推定される。

Worle-Knirsch²²⁾らは、CNT 中で培養された人肺胞上皮細胞株 A549 は 24 時間後の MTT アッセイでは約 50%もの強度な細胞毒性効果が見かけられるが、WST-1 アッセイ(WST-1 試薬による細胞生存率の測定法)ではなんらの細胞毒性は見られない。ミトコンドリア膜ポテンシャル測定による LDH 活性, FACS(フローサイトメーター)および Annexin-V/PI 染色によっても、細胞毒性は見られなかった。SWCNT は MTT のようなテトラゾリウム塩とは相互作用示すが、WST-1、INT、XTT は相互作用を示さない。この干渉は酵素反応に影響せず、むしろ MTT-formazan の不溶性によるものと思われる。“ Oops (あらら) they did it again! Carbon nanotubes hoax (だます) scientists in viability assays ” という刺激的な題名のこの論文は、これまで CNT の細胞毒性試験によく用いられてきた MTT アッセイの問題点を明らかにしたものである。

Flahaut²³⁾らは、金属触媒ではなく MgO ベースの種々の触媒を用いて CVD で合成した CNT の人臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)に対する細胞毒性テストを 2 種類の細胞毒性テスト(細胞生存性 (neutral red assay) および 細胞代謝活性 (MTT assay-tetrazolinium salt)) により調査した。全ての CNT において毒性は見られなかったが、わずかな希釈効果が 2 種の CNT に存在するようである。

Pulskamp²⁴⁾らは、ラットマクロファージ NR8383 と人 A549 肺胞を商用 SWCNT(NT-1)、MWCNT (NT-2,NT-3)、酸処理した SWCNT (SWCNTa.t.)、対照材としてカーボンブラック、石英粒子で培養した。全 CNT 類において細胞生存性に関する急性毒性、炎症伝達物質 (TNF- α , IL-8) の発生は観察されなかった。しかし用量 時間依存性の細胞内活性酸素類の増加とミトコンドリア膜ポテンシャルの減少が NT-1 で観察された。SWCNT a.t. ではそれは観察されなかった。これらから、商用 SWCNT の微量金属が生物学的影響を及ぼすと結論された。

CNT の暴露について調査した最初の研究が、NIOSH の研究者によってなされた。

Maynard ら²⁵⁾は、レーザーアブレーション法と HiPco 法による未精製の SWCNT から発生するエアロゾルの特性を調べた。振とう器(図 3.6 参照)と流動層を用いて攪拌し、エアロゾルを発生させたが、粒子が凝集しているためフュームドアルミナに比べて発生量が 2 桁少ない。グリーンブース内で行われたフィールド実験によって、エアロゾル発生量は $0.7\text{-}53\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。この研究については 3.3 で詳細を紹介する。Maynard も加わっ

た Shvedova らの実験¹⁴⁾によれば、皮膚障害の可能性があるので手袋への付着量を推定し、217-6020 μg という値を得た。

日本においては、九州大学の田中ら²⁶⁾が、ラット気管内への MWCNT 単回投与実験を行っている。比較粒子として CB を使用している。MWCNT は経気道性暴露により、呼吸器官への障害を引き起こし、その一部は頸部のリンパ節へ移行することが観察された。実験方法自体も含め、今後の研究が必要であるとしている。

北海道大学歯学研究科の巨理、東北大学工学研究科の田路らは、平成 14~16 年度にわたり厚生労働科学研究費補助金萌芽の先端医療技術推進事業「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」において、CNT の生体材料としての応用の観点から、CNT の生体適合性について研究を行った²⁷⁾。多くの知見が得られているが、例を挙げると CNT を皮下組織に埋入した場合、周囲組織に短期的な炎症反応が発症するが、長期に持続する強い炎症反応は惹起せず、繊維化により被包化され、凝集した。第 29 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム(2005 年 7 月 25~27 日・京都)において、田路研究室の佐藤ら²⁸⁾は「多層カーボンナノチューブの細胞毒性に対する長さの影響」と題する研究発表を行い、大きな関心を集めた。長さ 220nm 程度のナノチューブ(短い CNT)と長さ 825nm 程度のナノチューブ(長い CNT)を用いて THP-1(白血球単球細胞)内に長・短の CNT を入れ、炎症反応の指標であるサイトカイン TNF- α の発生量を調べたが、ともに発生量は少なく、リポペプチドに比較すれば無視できる程度の量であった。また、ラット胸部の皮下組織に長・短 CNT を含む 0.1mg のパウダーを移植し、1~4 週間後にその組織を除去して顕微鏡観察を行ったが、壊死・変性・好中球浸潤などの重度の炎症反応は見られなかった。長い CNT による炎症反応は、短い CNT による炎症反応に比べて弱かったが、これは、長い CNT はマクロファージによって取り込まれなかったためであるとした。ただ、今回用いた CNT はニッケルなどの触媒金属は残っている。

信州大学の小山、遠藤²⁹⁾らは、素性の知れた 4 つの異なる CNT (SWCNT、直径の異なる MWCNT、カップ型 MWCNT) を末梢血中 T 細胞(免疫細胞の一つ)の CD4+ と CD8+ の測定(CD:分化抗原群)、また皮下細胞に埋入したときの周囲軟組織の炎症反応(3 ヶ月間)を病理組織学的に調べた。アスベストと比較すると格段に低い細胞毒性であることが示された。

CNT はフラーレンよりも遅れて見出されたため、毒性や生体作用についての研究も数が少ない。しかし最近になって特に *in vitro* の研究が盛んになり、当初言われた強い毒性は触媒に使用される金属が原因になっていることが定説になりつつある。また、試験法自体にも注意を向けなければならないことも明らかにされてきた。CNT もフラーレン同様、修飾することにより細胞内に容易に入り込むことが示され、修飾に関する研究や医薬への応用が急激に進もうとしている。また、グルコース、エタノール、過酸化水素、免疫グロブリン

ンのような選択された蛋白質、電気化学的 DNA ハイブリッド化などのバイオセンサーとして開発が進められている。このような生体関連だけでなく、燃料電池や LSI 配線、電子放出材料などへの応用が急激に進展する可能性がある。

このような時点で、CNT 吸入暴露実験のデータがまだないということは、プロアクティブな対応において、遅れているといえよう。しかし、これは、CNT のエアロゾル化が困難であることが影響していると考えられる。2006 年に開始された NEDO プロジェクト「ナノ粒子特性評価手法の研究開発」では、CNT の吸入暴露実験が予定されており、その成果が待たれる。

引用文献

- 1) Ron Morgan, “The toxicology of carbon nanotubes: What we do not know, and where we’re going from here,” Speaker Presentation from Space Elevator Conference, Seattle, WA, 12-13 August 2002
- 2) Robert F. Service, “Nanotubes: The Next Asbestos?” *Science* 281 (14 August 1998): 941.
- 3) Jessica Gorman, “Taming high-tech particles,” *Science News* 161 (30 March 2002): 200
- 4) A. Huczko et al: *Fullerene Sci. and Technol.* 9 (15 April 2001): 251-254.
- 5) K. L. Dreher: *Toxicological Sciences*, 77, 3-5 (2004)
- 6) C. W. Lam, et al: *Toxicological Sciences*, Vol.77, 126-134 (2004)
- 7) D. B. Warheit et al: *Toxicological Sciences*, Vol.77, 117-125 (2004)
- 8) H. Wang et al: *J. Nanosci. Nanotech.*, Vol.4, 1019 (2004)
- 9) A. Huczko et al: *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostruct.* 13(2005), 141
- 10) J.Muller, *Toxicology and Applied pharmacology* 207 221 -231 (2005)
- 11) Zhu Y et al; *J Nanosci Nanotechnol.* 2006 May;6(5):1357-64(2006)
- 12) A.Shvedova et al; *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 289 698 - 708 (2005)
- 13) C.Templeton et al; *Environmental Science & Technology*, Vol. 40, No. 23, pp. 7387-7393. (2006)
- 14) A.A.Shvedova et al: *J. Toxicol. Environ. Health Part A.* Vol.66, 1909-1926 (2003)
- 15) D. Cui et al: *Toxicol. Lett.* Vol.155, 73-85 (2005)
- 16) N. A. Monterio-Riviere et al: *Toxicol. Lett.* Vol.155, 377-384 (2005)
- 17) G. Jia et al: *Environ. Sci. Technol.* Vol. 39, No.5, 1378-1383 (2005)
- 18) L. E. Murr et al: *Int. J. Environ. Res. Public Health* Vol.2, No.1, 31-42 (2005)
- 19) D. Pantarotto et al: *Chem. Commun.*, Vol.2004, 16 (2004)
- 20) L. Xinyuan et al; *Preprints of Symposia - American Chemical Society, Division*

- of Fuel Chemistry, (2006) Vol. 51, No. 2, pp. 670-672.
- 21) V.E. Kagan et al ;Toxicol Lett. 2006 Aug 1;165(1):88-100. Epub 2006 Mar 9
 - 22) Worle-Knirsch; Nano Lett. 2006 Jun;6(6):1261-8.
 - 23) E.Flahaut et al; Journal of Materials Science, (2006) Vol. 41, No. 8, pp. 2411-2416.
 - 24) K.Pulskamp et al; Toxicology Letters, (2007) Vol. 168, No. 1, pp. 58-74.
 - 25) A. D. Maynard et al; J. Toxicol. Environ. Health, Part A. Vol.67, 87-107 (2004)
 - 26) 田中昭代ら： 大気環境学会年会（1F1400）2004年10月
 - 27) 厚生労働科学研究費補助金：「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」（主任研究者 巨理文夫）総合研究報告書（2005年3月）
 - 28) 佐藤義倫ら： 第29回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム；2P-71（2005）
 - 29) S. Koyama, M. Endo et al; Carbon 44 (2006) 1079

2.2 フラーレン

フラーレンの毒性を論じる際に問題になるのは、フラーレンが水を始め各種溶媒に極めて難溶であるという点である。C₆₀やC₇₀は二硫化炭素やベンゼン系溶媒（ベンゼン、トルエン、ジクロロベンゼンなど）には幾分溶けるが、水や水と混和する溶媒（例えばメチノール、アセトニトリル、テトラヒドロフラン(THF)、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミドなど）にはほとんど溶解しない。一般に生物試験（*in vitro* 生物試験）では、試験対象物が水に溶けない（分散しない）場合、それを水に混和する溶媒に溶かし、それを試験系（水あるいは緩衝液）に溶かして行うが、フラーレンではそのような方法が難しい。フラーレンの場合、2つの方法がとられている。フラーレンを誘導体化して（修飾して）水に対する溶解性を向上させる方法と、未修飾のフラーレンを界面活性剤に取り込ませて水溶化する方法とがある。前者は修飾により、別な化合物に変化しているから、フラーレンそのものの試験とは言えない点が問題であり、界面活性剤を使用する場合は界面活性剤の毒性への影響も考慮されなければならない。そのことを考慮して、界面活性剤を使用しない分散法も研究されている。工業的には、まず未修飾のフラーレンが生産されるから、製造工程での暴露を問題にする場合は、フラーレンそのものを試験する必要があり、分散させたものが、気管注入などの *in vivo* 試験、細胞の *in vitro* 試験に用いられなければならない。ただし、現状生産されているフラーレンは凝集しており、分散の程度も問題である。

C₆₀やC₇₀が比較的容易に入手できるようになって、フラーレンの物理化学的特性の研究が盛んになった。そこでまず注目されたのが、光増感作用である。C₆₀分子は光と酸素の存在下で余剰のエネルギーを近傍の酸素に与え、一重項酸素と呼ばれる長寿命の高活性酸素を生成する。これが生物に作用するとき、DNA、脂質や細胞に対する作用が知られており、このフラーレンの光増感作用は、制がん治療を目指した光線力学療法剤の開発など、医療方面への応用展開が盛んであるが、一方で健康リスクも存在しうることを示唆している。

C₆₀の毒性に関する研究は、Nelsonらの報告¹⁾が最初と言われる。ベンゼンに溶解したC₆₀をマウスの皮膚に塗布し、炎症反応、免疫応答はなかったとしている。

また、Zakharenkoら²⁾も臨床試験の結果、発がん性はないとしている。

宮田ら³⁾は、界面活性剤ポリビニルピロリドン(PVP)が、C₆₀、C₇₀を水溶化することを見出した。5%のPVP含有時にはC₆₀を最高400 μ g/ml、C₇₀は最高200 μ g/mlまで、水あるいは緩衝液中に溶解可能である。PVPを用いて調整されたフラーレン水溶液は、褐色透明であり、遮光条件下で、室温で長期間保存できる。フラーレンはPVPの疎水性部分に取り込まれてミセル構造を形成し、水に溶け込んでいると推測されている。PVPは医薬品や化粧品の添加物でも利用されており、毒性は低い。彼らはこの手法により、フラーレンの生体作用について精力的に研究を行っている。他の水溶化剤としては、シクロデキストリン、

トシチン、トリトン-100 などがある。

高柳ら⁴⁾は、モルモットおよびラットの腹腔内に PVP で水溶化した C₆₀ を 4 週間連続投与し、モルモットから気管、心房、回腸を、ラットから胃底、輸精管、子宮を取り出して、薬理的に調査し、C₆₀ の急性的薬理作用および毒性が極めて低いとした。C₆₀ のミクロ懸濁液を用いてマウスに対する毒性を調べ、毒性が見られなかったとの報告⁵⁾もある。

土屋⁶⁾らは、妊娠したマウスの腹腔内に PVP で可溶化したフラーレンを注入した後、18 時間でフラーレンが卵黄嚢と胎児に分布し、50mg/kg 以上の投与で明らかな有毒性が見られるとした。

Huczko ら⁷⁾は、黒鉛の不活性ガス中アーク蒸発法によって作製したフラーレン含有量(0、0.6%、14.8%)の異なる煤の水懸濁液により、ヒトボランティアの皮膚パッチテストおよびウサギの眼を用いた Draize 試験(無麻酔下のウサギの目に与える障害によって有害性を判定する)を行った。どの試料も異常がないとの結果が得られた。

¹⁴C でラベルをした C₆₀ を合成し、体内動態を調べる試みもなされた。官能基化を施さないフラーレン自体の体内動態への知見としては、血中のクリアランス(排出)は極めて速く、注入 1 分後には 1% 以下しか残っていないが、90% 以上が肝臓に残っている。肝臓の小胞体は C₆₀ を代謝する機能はない⁸⁾。なお、C₆₀ 誘導体のクリアランスは C₆₀ よりも遅い傾向が見られたが、疎水性の違いのためと考察している。

未修飾のフラーレンを溶媒に懸濁したものを生体に注入した以上の実験 (in vivo) においては、土屋のマウス胎児への影響を除くと急性毒性を示さず、炎症反応、免疫応答もないとの結果が得られている。しかしながら後述する in vitro の結果から全く影響がないとはまだ言えない状況であると考えられる。また、注入に用いたフラーレン粒子が、どのような凝集状況であるかを詳細に調べた例はほとんどなく、肺への吸入暴露についての実験例はまだない。体内動態を調査した報告では、大部分が肝臓に取り込まれ、代謝・排泄されないことが示されたが、その後どうなるか(長期的蓄積の影響)については報告がない。以上、工業的に生産される一次産物である未修飾フラーレンの生体影響を調べる in vivo 実験は、多くの課題が残されていると見るべきであろう。

in vitro の毒性評価試験は、生物作用を含めて多くの研究がある。

Scrivens ら⁹⁾は、¹⁴C-ラベル C₆₀ を用いた in vitro 実験で、C₆₀ がヒトのケラチン生成細胞に取り込まれるが、細胞毒性は認められないと報告している。

Moussa ら¹⁰⁾は、ヒト白血球と C₆₀ の凝集粒とを直接接触させ、白血球中に取り込まれたことを確認したが、生存率、LDH 活性ともにコントロール、グラファイトと比べ変化がみられなかった。

土屋ら¹¹⁾は、フラーレンの胎児細胞に対する影響を C₆₀ を PVP により水溶化したものを用いて調査した。ラットの胎仔から四肢(LB)細胞懸濁液を調整し、これを C₆₀ を含む培地で 6 日間培養し、増殖細胞数および細胞外に生成したプロテオグリカン量(軟骨細胞の

分化の指標)を定量した。C₆₀では細胞数は幾分減少したが、プロテオグリカン量が著しく増加した。C₆₀の作用は、軟骨細胞の細胞増殖ではなく、細胞分化機能を促進すると考えられた。

Jia ら¹²⁾らは、アーク放電法によるフラーレンを 99.9%以上に精製したのを用い、肺胞マクロファージへの影響を調べた。試料は 10%ウシ胎児血清を加えた 1640 培地に入れ、振とうし超音波分散させたのを用いた。MTT アッセイでは 226 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ までの投与で毒性は見られなかった。

宮田ら¹³⁾は、PVP で水溶化した未修飾の C₆₀、C₇₀を用いて DNA 切断活性を検討した。スーパーコイル型のプラスミド DNA (pBR322) は、300W 可視光の照射下において切断されなかった。ただし、生体内還元剤の 1 つである NADH を加えると切断活性が見られた。光励起フラーレンの生物作用発現には、活性還元型の酸素種が関与している可能性が非常に高いと考えられた。

世良ら¹⁴⁾は、PVP で可溶化した C₆₀を用いた実験で、光照射によりマイクロソームの脂質過酸化(マイクロソームに含まれる不飽和脂肪酸の 1 つ、リノレン酸の過酸化)が起こることを報告した。Kemat^{15,16)}らも γ -シクロデキストリンで包接した C₆₀(および水溶性フラーレン誘導体(C₆₀(OH)₁₈)が光照射下、ラット肝マイクロソームに対して脂質や酵素に対する酸化的損傷を引き起こすことを示した。

ベンゾピレンに代表される縮合芳香族化合物は、発がん物質としてよく知られているが、フラーレンも縮合芳香族化合物であり、その発がん性が危惧された。

世良ら¹⁴⁾は、フラーレン類の毒性あるいは安全性を明らかにする目的で、PVP で水溶化した C₆₀を用い、フラーレンの変異原性を調べた。変異原性試験は、簡便に化学物質の発がん性を予測する手法である。*Salmonella typhimurium*(サルモネラ菌)を用いる Ames 試験法では、変異原性試験によく用いられる TA1535、TA1538、TA98、TA100 などを使用したとき、C₆₀は光照射下でも非照射下でも全く変異原性を示さなかった。さらに、*Bacillus subtilis* DNA 修復欠損株 M45 (rec⁻) およびその野生株 H17 (rec⁺)を用いた Rec-assay 試験(枯草菌を用いて DNA 傷害を測る試験)、CHL (Chinese hamster lung fibroblasts) 培養細胞を用いた染色体異常試験、さらに ddY 雄性マウス末梢血を用いた小核実験(DNA 損傷修復能評価試験)などでも、実験できる最高の濃度まで、C₆₀は変異原性を全く示さなかった。

次に光照射下でフラーレンは活性酸素種を発生することから、活性酸素種に対する感受性を高めた菌株を用いて Ames 試験(DNA の突然変異を誘発する作用を調べる試験)を行った。AT 塩基対を変異部位とする活性酸素検出株 TA102 を用いたとき、脂質存在下、C₆₀は光照射下で弱いながらも優位に変異原性を示した。さらに、その修復酵素欠損株である YG3003 株を用いた系では変異原性が向上した。また、染色体上に uvrB 変異を起こす変異原化合物を検出する系に用いられる TA104 株を用いた系でも光照射下変異原性が見られた。これらの結果は C₆₀が光照射下、非常に弱いながらも活性酸素を介する遺伝子毒性(変異毒

性)を持つことを示す。

酒井ら¹⁷⁾は、PVPで水溶化したC₆₀が光照射下でのみBALB/3T3細胞に対して細胞毒性を示すことを確認した。さらに酒井ら¹⁸⁾は、マウス由来のBALB/3T3細胞を用いてin vitro 2段階発がん試験法によりフラレンの発がん活性を調べた。PVPで可溶化したC₆₀は、フォルボールエステルをプロモーターとして用いたとき、通常の2段階トランスフォーメーション試験では明確なイニシエーション活性を示さなかったのに対し、リプレート法を用いた2段階トランスフォーメーション試験において、有意なイニシエーション作用が見られたと報告している。

宮田ら¹⁹⁾は、植物細胞の一種である細菌を用い、細胞増殖に対する光励起C₆₀の影響を調べた。細菌としては、抗菌活性試験に一般的によく用いられるグラム陽性菌*Bacillus subtilis*を用いた。対数増殖期にあるこの菌液をYPD培地に植菌し、C₆₀の共存下300Wの可視光ランプを照射しながら37℃にて振とう培養を行った。その結果、C₆₀は光照射下に抗菌活性を示し、その活性はC₆₀の濃度に依存することを確認した。その後、同様な実験報告もなされた²⁰⁾。

また、宮田ら¹⁹⁾は、PVPで水溶化したC₆₀を用いて溶血作用を調べた。等張(細胞膜と等張力)緩衝液に懸濁したウサギ赤血球にC₆₀共存下で可視光を照射し、経時的にOD₇₂₀を測定し、吸光度の減少率から溶血率を求めた結果、C₆₀の濃度に依存して溶血率は高くなり、溶血現象がC₆₀の光増感活性によって起こっていることを確認している。

Käsermanら²¹⁾は、C₆₀が光照射下で抗ウイルス作用を有することを報告した。水に溶けないC₆₀をそのまま懸濁状態で用いて、SFV(Semliki Forest virus)およびVSV(vesicular stomatitis virus)の両ウイルスに対する作用を調べた結果、ウイルスの感染力が可視光照射により低下するとしている。

フラレンには直接・間接の酵素活性阻害作用がある。例えば、AIDSの原因ウイルスであるHIVは、それが有するHIVプロテアーゼ的作用によって、前駆体蛋白質からウイルスの酵素(プロテアーゼ自身、逆転写酵素、インテグラーゼ)と構造蛋白質を生成し、感染ウイルスとなる。HIVプロテアーゼを阻害することはAIDSの有効な治療法となる。C₆₀はプロテアーゼの活性部位のポケットに完全にフィットして酵素阻害活性を発現する²²⁾。

細胞可溶性画分(1部はミクロソーム画分)に局在する多機能酵素であるグルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)には、発がんマーカーと注目されるアイソザイムGST- π があるが、岩田ら²³⁾はPVPで可溶化したC₆₀によるげっ歯類肝臓可溶性画分中のGST活性に対する影響を検討した。その結果、C₆₀はGST- π とGST- μ にそれぞれ特異的な酵素反応であるエタクリン酸およびtrans-4-フェニル-3-ブテン-2-オン(PBO)GST活性を特異的に阻害することが明らかになった。

これらの酵素活性阻害作用は健康リスクにはむしろ有益な働きである。生体内でスーパーオキシド、ヒドロキシルラジカルなどの活性酸素種をはじめとする様々なラジカルの過剰産生が酸化障害をもたらす、多くの疾病、老化の原因となることが知られているが、

フラーレンが酸化還元を受けやすく、かつラジカルとの反応性が高いことは抗酸化剤として期待できる。これもむしろ生体障害保護作用である。この分野では、Chiang らや Dugan らと並んで増野らや筏らの研究がある。これらはフラーレン誘導体を用いている。

以上、化学修飾していないフラーレンについての毒性、生体との相互作用についての研究の一部を紹介した。フラーレンには急性毒性、細胞毒性はないという報告が多く、照射下において初めて活性が現れる特性も多い。生体内には光照射がないから第一義的には問題がないとは考えられるが、長期的蓄積についての研究と合わせて課題と考えられる。

化学修飾したフラーレン(フラーレン誘導体)の生体との相互作用に関する研究は極めて多い。水溶性のフラーレン誘導体は医薬・生理活性物質としての応用が広く期待されているためであるが、毒性については誘導体一般について議論できないため個々の誘導体についても調べるしかなく、医薬・生理活性物質として利用される場合には厳しい規制が個々に課せられるため、それで良いとも言えるであろう。また、水溶性フラーレン誘導体は、医薬品としての用途に適した多くの特性を有し、生体適合性が良く、高投与量でも低毒性であり、既に多く臨床試験段階にあるとの認識が一般的である²⁴⁾。しかし一方、生体内に取り込まれたフラーレン誘導体が、変化を受けて C₆₀ 骨格と誘導基とに分かれられないという保証はない。このような長期的な影響についての研究はまだない。

げっ歯類の実験動物以外の in vivo の実験として、E. Oberdörster²⁵⁾によるオオクチバスを飼育した水槽へのフラーレン添加(THF で水可溶化処理したもの、30-100nm の凝集体)がある。0.5ppm の暴露で脳の脂質の過酸化を確認した結果を得ている。同時に水槽内のバクテリアへの影響も観察された。環境問題を意識した研究であるが、まだ問題提起の段階であった。E. Oberdörster らは、続いて水環境における動物への影響を調査している。

Zhu, E. Oberdorster²⁶⁾らは、水溶性フラーレン(nC₆₀)は、ジュベニーレ大口バス(LMB)の脳に過酸化を起こすこと、炎症性応答や代謝に関係する遺伝子や CYP2K4 のアップレギュレーションを示した。LMB での最初の研究は、攪拌した水にも溶解するが、THF 溶解 nC₆₀ を用いて行った。本研究では、THF 溶解 nC₆₀ と攪拌水溶解 nC₆₀ の毒性の差を、大ミジンコを用いて範囲を確認し、更にファットヘッドミノール(*Pimephales promelas*; FHM)の成魚を用いて調べた。THF-nC₆₀でのミジンコの 48-h LC₅₀ (0.8 ppm) は攪拌水溶解 nC₆₀のそれ (>35 ppm)より少なくとも一桁小さかった。FHM に THF-又は攪拌水溶解 nC₆₀を 0.5ppm で 48h 投与した。THF 溶解 nC₆₀に暴露した魚は、6~18h で 100%死に、攪拌水溶解 nC₆₀では 48h 後で何ら明白な肉体的な影響を示さなかった。攪拌水溶解 nC₆₀は、脳の LPO を高め、えらでの過酸化脂質(LPO)を顕著に増加させ、正常(コントロール)魚と比較して肝臓で CYP2 族イソ酵素発現の増加が顕著であった。

E. Oberdörster²⁷⁾らは、水溶性フラーレン(nC₆₀)の毒性をさらに十分調べるために、以下

の自然界に生息する種に対する急性毒性試験を行った。淡水甲殻類大ミジンコ *Daphnia magna* と *Hyalella azteca*、海底に棲むハルバクチクス目カイアシ(類)、2種の魚、ファトヘッドミノーと日本メダカ *Oryzias latipes* である。後者2種は mRNA 評価と肝臓での蛋白質発現でフラレン暴露の致死量以下の効果を調べた。フラレンの溶解に超音波やテトラヒドロフランを用いると nC₆₀ の毒性が増すことが先行研究で確認されているため、本研究では、攪拌によって水に溶解させた nC₆₀ を使用した。無脊椎動物の研究では、48 又は 96 時間での 50% 死亡 (LC₅₀) を起こすに十分な高さの濃度レベルの nC₆₀ 溶液を用意できなかった。試験した最高濃度は、淡水で 35 ppm、海水では 22.5 ppm であった。理由は、それ以上の濃度の nC₆₀ は沈殿したためである。ミジンコの 21 日暴露の結果、脱皮の有意な遅れや nC₆₀ 濃度 2.5、5ppm での有意な繁殖(子孫生産)遅れが生じ、生息数レベルで影響を及ぼす可能性が生じた。魚では、mRNA でもサイトクローム P450 イソ酵素 CYP1A、CYP2K1、CYP2M1 の蛋白質発現レベルでも変化が見られなかった。過酸化脂質輸送蛋白質 PMP70 はファトヘッドミノーでは有意に減少し、メダカでは減少しなかったが、acyl-CoA 経路での潜在的変化を示した。

これらの実験により、毒性実験では、THF(テトラヒドロフラン)をフラレンの水溶解のために用いることが不適切であることが認識された。

Fortner²⁸⁾らは、C₆₀ は、水との多様な条件の下での接触で、ナノスケールの寸法(d = 25-500 nm)の安定した凝集体を自然に形成することを見出した。ここでは、"ナノ-C₆₀"と名づける。個々の C₆₀ の色、疎水性、反応性は、この凝集体の形態から決まってくる。これらの凝集体は秩序をもって結晶状になっており、誘導体化していない C₆₀ で存在している。粒子径は、加える水の比率や PH のような形成パラメータによって決めることができる。一度形成されると、ナノ-C₆₀ はイオン強度 0.05 以下の溶液中で何ヶ月も安定を持続する。凝集体形成や広い条件での安定性を示すことに加え、原核生物へのナノ-C₆₀ の暴露は比較的低濃度であっても抑制されるべきで、成長不足(>0.4 ppm)と空気呼吸速度の低下(4 ppm)を示した。本研究は、人工ナノ物質の重要なクラスが係わる環境破壊、分布、生物学的リスクはバルクの C₆₀ の性質のみならず水溶媒中で生成する凝集体の性質にも言及したモデルが求められるであろうという事実を示した。

Dhawan²⁹⁾らは、フラレン C₆₀ を、超音波を用いてエタノール溶液に分散させる方法と、電磁攪拌を用いて純水に分散させる方法で、コロイド状に懸濁した nC₆₀ (EthOH/nC₆₀ および aqu/nC₆₀) を作製し、それらにおける nC₆₀ の濃度、粒子の状態(平均寸法、粒度分布、形状)、電気特性とともに、人のリンパ球を用いて遺伝子毒性を調査した。EthOH/nC₆₀ および aqu/nC₆₀ における nC₆₀ を比較すると、平均寸法は 122nm と 178nm、電気特性においては何れも負の電荷を有しそれぞれ -31.6mV、-13.5mV となっている。遺伝子毒性については、何れにおいても nC₆₀ の濃度と遺伝子毒性の反応とに強い関係が認められ、その最低濃度は EthOH/nC₆₀ で 4.2 µg/L、aqu/nC₆₀ で 2.2 µg/L となっており、aqu/nC₆₀ の方が毒性が強い。

藤島、関、高月らは、新たに開発したフラーレンの水分散法により、水性動植物への影響を調査した。フラーレンは純度 99%、C₆₀ 製品（フロンティアカーボン社製：ナノムパーブル）、平均粒径 21 μ m の凝集体である。フラーレンに氷砂糖を加え、らいかい(搗潰)機でらいかいした後、硬化ヒマシ油（HCO 40）を加え、さらにらいかいし、脱イオン水を加えて 500mg/L の均一な分散液とした。濃縮度試験の結果、供試魚中から被験物質は検出されなかった（定量下限 0.122 μ g/g）、これによる濃縮倍率（BCF）は 5.8 倍以下（化審法の高濃縮性の判定は 5000 倍以上）となる。魚類急性毒性試験では、対照群と比較して毒性影響は観察されず。LC₅₀（半数致死濃度）は 2.15mg/L 以上であった。ミジンコ類急性毒性試験：同上。EC₅₀（試験生物の 50% に影響を与える濃度）は 2.25mg/L 以上。藻類生長阻害試験：生成阻害が観察された。NOEC（無影響濃度）は 0.0178mg/L、50% 生長阻害濃度は 0.452mg/L となる。濃縮性や急性毒性がなかったのは粒子サイズが大きいため生体膜を通過することができず、生体内に取り込まれなかった可能性が考えられる（EPA のナノテクノロジー白書では、エラを介した取り込みは 0.95 ~ 1.5nm の範囲を上限としている）。今後さらに試験液調整法を検討する。藻類への生成阻害については、C₆₀ 粒子と藻類との接触による物理的な影響が考えられるが、フラーレンの光反応による毒性の可能性もあり、検討中である。

また、Sayes ら²⁶⁾は、フラーレンの水酸基誘導体について、その基数を変えて *in vitro* 細胞毒性試験を行った。何も修飾していないフラーレン（nano-C₆₀）は約 60nm の大きさの結晶体で 100ppm までは水に懸濁している。ヒト上皮繊維芽細胞に対する毒性（LD₅₀）は、nano-C₆₀ が 20ppb であるのに対して、C₆₀(OH)₂₄ はほとんど毒性がなかった（500 万 ppb より大）。OH 基数が少ないほど毒性が強い。この論文は“C₆₀の無害化”として注目を浴びたが、著者らは一方で nano-C₆₀ は暴露の可能性があり、その毒性の強さとともに警告をしている。

引用文献

- 1) M. A. Nelson et al: Toxicol. Ind. Health, 9, 623-630 (1993)
- 2) L. P. Zakharenko et al: Dokl. AN., 335, 261 (1994)
- 3) Y. Yamakoshi et al: J. Am. Chem. Soc. Chem. Commun., 1994, 517 (1984)
- 4) M. Sato et al: Gen. Pharmac. , 26, 1533 (1995)
- 5) F. Moussa et al: Fullerene Sci. Technol., 4, 21 (1996)
- 6) T. Tsuchiya et al: FEBS Letters, 393, 139 (1996)
- 7) A. Huczko et al: Fullerene Sci. Technol., 7, 935 (1999)
- 8) R. Bullard-Dillard et al: Bioorg. Chem. Soc. 24, 376 (1996)
- 9) W. A. Scrivens et al: J. Am. Chem. Soc. 114, 4517 (1994)
- 10) F. Moussa et al: Fullerene Sci. Technol., 3, 333 (1995)
- 11) T. Tsuchiya et al: Fullerene Sci. Technol., 4, 989 (1996) など

- 12) G. Jia et al: Environ Sci. Technol., 39, 1378 (2005)
- 13) Y. Yamakoshi et al: J. Am. Chem. Soc. 120, 12363 (1998)
- 14) N. Sera et al: Carcinogenesis. 17, 2163 (1996)
- 15) J. P. Kamat et al: Fullerene Sci. Technol., 6, 663 (1996)
- 16) J. P Kamat et al: Toxicol., 155, 55 (2000)
- 17) A. Sakai et al: Fullerene Sci. Technol., 3, 377 (1995)
- 18) A. Sakai et al: Fullerene Sci. Technol., 7, 743 (1999)
- 19) Y. Yamakoshi et al: KIKAN KAGAKU SOSETSU, No.43, 219 (1999)
- 20) Y. Kai et al: Fullerene Nanotubes and Nanostructures, 11, 79 (2003)
- 21) F. Käserman et al: Antiviral Res., 34, 65 (1997)
- 22) S. H. Friedman et al: J. Am. Chem. Soc. 115, 6506 (1993)
- 23) N. Iwata et al: Fullerene Sci. Technol., 6, 213 (1998)
- 24) R. A. Freitas, Jr.: Computational Teoretical Nanosci., 2, 1 (2005)
- 25) E. Oberdörster: Environ. Health Perspectives, 112, 1058 (2004)
- 26) S.Zhu et al;
- 27) E.Oberdorster et al: Carbon 44 (2006) 1112-1120
- 28) J. D. Fortner et al: nviron. Sci. Technol. 2005, 39, 4307-4316
- 29) A. Dhawan et al: Environmental Science & Technology Vol.40, No.23, 7394-7401, (2006)
- 30) 藤島ら ; 化学物質評価研究機構研究発表会 2006年7月7日
- 31) C. M. Sayes et al: Nano Lett., 4, 1881 (2004)

2.3 酸化チタン

in vivo 実験

TiO₂ 粒子は、粒子状物質の生体への影響や生体内での動態を調査するための標準的な物質として用いられ、毒性は殆んどないとされて、吸入された TiO₂ 粒子は肺胞マクロファージによって貪食され粘膜繊毛によって排出されるか、一部はリンパ循環によって除去されるものと考えられていた。有害性評価実験で対照粒子として使用されることが多かった。

1) ラットへの過負荷実験

du Pont Haskell Lab. For Toxicology & Industrial Medicine の Lee ら¹⁾ は、同社が製造している質量基準空気力学的平均径 1.5~1.7 μm ルチル球状粒子を用いて、肺のクリアランス機構の研究を行った結果を 1986 年の報告にまとめた。0、10、50、250mg/m³ の TiO₂ ダストを 6 時間/日、5 日/週で 2 年間ラットに吸入させ、肺に対する TiO₂ の影響を検討した。肺の重量は 10mg/m³、2 年間で影響を受けないが、50mg/m³ では 6 か月、250mg/m³ では 3 か月で有意に増加した。TiO₂ ダスト粒子は投与量に応じて肺に蓄積し、10、50mg/m³ では肺クリアランスに有意差はない。50 及び 250mg/m³ の 1 年間暴露で肺には過負荷となってコレステロール肉芽腫が発症し、250mg/m³ の 2 年間暴露で気管支腺腫が出現した。肺気腫は過度の暴露条件で実験的に誘導した腫瘍であって、通常は人間や動物にはみられないことから、人間への関連に疑問を呈した。

同年に Takenaka、Muhle ら²⁾ (Fraunhofer-Inst. Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover) は、フライアッシュについて、「無毒の」二酸化チタンを参照として健康に及ぼす影響を検出するため、24 匹の Wistar ラットをフライアッシュ (濃度 13~14mg/m³) と二酸化チタン (同 8.6mg/m³) 中に暴露実験 (7 時間/日、5 日/週、1 年) した結果を報告している。酸化チタンは質量基準空気力学的中位径 (MMAD) 4.8 μm (一次粒子径 0.015~0.04 μm) を用いた。肺に沈着したフライアッシュは、主として肺マクロファージによって、貪食されているが、多くの TiO₂ 粒子は明らかに肺壁を浸透し間質マクロファージに取り込まれている。このマクロファージは、合体し小さな肉芽腫を形成している。TiO₂ の MMAD は、フライアッシュの MMAD より大きいにもかかわらず、間質中の TiO₂ の粒径は、肺マクロファージ中のフライアッシュの粒径より、大分小さい。この理由としては、長期にわたる暴露期間中に肺に沈着した TiO₂ 凝集粒子は、肺液&/or 食細胞によって分散され、微細一次粒子は肺壁を浸透できるためと考えられた。

McMillan、Jones ら³⁾ (Institute of Occupational Medicine, Edinburgh) は、石英とア

モサイトアスベスト(茶石綿)それぞれに酸化チタンを混ぜた混合ダストの慢性吸入暴露実験を行い、1989年既報告の単独粒子の場合(1987、1988)と比較した。石英(1、10mg/m³) + 二酸化チタン(30、20mg/m³)、アモサイトアスベスト(2.5mg/m³) + 二酸化チタン(15mg/m³)の混合ダストに1週間につき5日、それぞれ16、32週間暴露したラットの肺クリアランスについて、同条件下単一成分ダストの暴露した場合を比較した。暴露3、10、38日後の肺負荷量は単一、混合ダスト間でおおむね有意差がなかったが、暴露94、150、260日後の二酸化チタンのクリアランスは石英の共存により低下傾向を示した。石英 + 二酸化チタン群のリンパ節を解剖・分析し、二酸化チタンの大部分、石英はほとんど全てがリンパ節に移行しているのを認めた。

Donaldson、Jonesら⁴⁾は1990年、炭塵、石英または二酸化チタンを吸い込んだネズミの体内の気管支白血球の応答の対比、石炭の品位、大気中の質量濃度ならびに暴露停止の影響について実験し、すべての炭塵は肺の炎症を起し、石炭の品位による差はない。この炎症は暴露停止後2カ月続く。炭塵中の低レベルの石英は無害だが、それ以外の鉱物はすべてネズミの肺に有害。二酸化チタンの吸入は、長期間で50mg/m³以上でなければ、炎症影響は殆ど無い。石英も質量濃度が大きいと有害。といった結果を報告した。

1990年は、酸化チタンの *in vivo* 実験に関して多くの研究が発表されている。

Muhle、Creutzenberg、Heinrich⁵⁾らは、ラットにおける低溶解性粒子への暴露後の肺のダスト過負荷比較研究を行った。暴露期間および濃度を変えて、粒径、密度、組成の異なる5種類のダストをラットに吸入させ、ダスト過負荷の影響を実験した。肺における残留ダスト体積が大きくなるに従って、肺からのクリアランスの遅滞、肺中への貯留量の増大、肺重量の増大、ダストを貪食したマクロファージの蓄積、持続的炎症、上皮透過性の増加、好中球の進入の増大。これらの結果は低溶解性、低毒性の種々の粒子の肺への過大な暴露による過負荷現象は、粒子にはよらないものであることを示している。

また、上記の研究者ら⁶⁾は、肺過負荷条件のラットにおける吸入ディーゼル排ガス粒子、カーボンブラック及び二酸化チタンのクリアランス及び停滞について調査した。濃度0.8、2.5、7.5mg/m³の排ガス粒子、濃度12mg/m³のカーボンブラック及び濃度10mg/m³の二酸化チタンに19時間/日、5日/週の条件で24ヶ月間ラットを暴露させ、肺胞クリアランスと肺及びリンパ節における吸入物質の停滞を測定した。10mg/m³のエアロゾルの暴露による肺の負荷は約50mgで、クリアランス機能の劣化が観察された。粒子停滞量の測定値は、半経験的運動モデルの値と一致した。

2) Oberdorster らによる一連の研究と総括

Ferin、Oberdorster ら⁷⁾ (University of Rochester, New York) は、超微小粒子化によって肺毒性が増大するかという問題意識で、粒子クリアランス、転移および形態について調査した。化学特性および結晶特性は同じで 1 次粒子の大きさが異なる 2 種類の TiO₂ および Al₂O₃ 凝集粒子をラットに吸入させた。肺全体および洗浄後の肺組織に残留する粒子量を測定した。0.02~0.03 μm の粒子は 0.2~0.5 μm の粒子と比べて肺の細胞組織間への通過速度が大きく、また粒子クリアランスも悪くなることが分かった。1 次粒子が微小粒子の場合、気道に沈着後の凝集粒子の分散は粒子の転移に多くの影響を与える。

続く報告⁸⁾ として、同じ問題意識で、肺洗浄についての実験を行った。1 次粒子の大きさが異なる 2 種類の TiO₂ および Al₂O₃ 凝集粒子の生理食塩液をラットに点滴注入した。1、29、59 日後に洗浄した肺について細胞数とその生存率、洗浄液中の蛋白質、洗浄液および肺組織中のヒドロキシプロリン (コラーゲンを作る細胞 (腺維芽細胞) を生成するための材料成分) 量を求めた。粒径 0.02~0.03 μm の超微小粒子から成る凝集粒子は、0.25~0.5 μm の粒子と比較して肺に対して毒性が高いことが分かった。

さらに、同じ著者ら⁹⁾ は粒子起源の急性および慢性的肺の損傷に関するメカニズムについて研究した。粒子の吸入および気管内注入実験をラットに対して行い、粒子の細胞間組織への浸透および肺胞での残留割合について検討した。大きい粒子に比べて 20nm 以下の粒子は細胞組織間への浸透が速いこと、暴露粒子濃度、肺胞マクロファージによる粒子捕食過程および粒子表面積が急性炎症性の細胞反応と関係すること、肺上皮細胞の浸透性が粒子の肺残留量に関係することなどが分かった。

1994 年には、Heinrich は、EPA の研究者ら¹⁰⁾ とともに、ディーゼル排気ガス、カーボンブラックおよび二酸化チタン粒子 (Degussa 製 0.82 μm) の長期吸入後のラット肺における DNA 付加体形成について報告した。Wistar ラットに粒子を 2 ヶ月~2 年間吸入させた後、DNA 付加体 (多くの変異原物質は、DNA の塩基と反応して DNA 付加体を形成するが、これが遺伝子の変異を引き起こしがんの原因となる) を³²P 後標識法で測定した。付加体 1 はろ過空気吸入群では経時的に増加したが、ディーゼル排気ガス吸入群では減少し、2 年時では全粒子吸入群で有意に低かった。多環芳香族炭化水素から誘導されるヌクレアーゼ P1 感受性付加体 2 はディーゼル排気ガス吸入群で有意に発現したが、カーボンブラックおよび二酸化チタン粒子の吸入では、付加体 2 は検出されなかった。以上のことから、長期吸入後の細胞増殖応答による DNA 付加体様化合物の分解の促進が示唆され、3 粒子に共通する発がん性応答を説明するものとなっている。

1996年 Oberdorster¹¹⁾ は、「吸入粒子の暴露・量-応答関係における粒子特性の重要性」と題したレビューを発表した。低溶解度、低毒性粒子吸入に対する生化学的応答のキャラクターゼーションに関する課題について述べた。吸入粒子量としては毒性応答の記述には質量よりも表面積が適切なこと、超微粒子吸入の炎症に至る応答には凝集粒子分散性が重要なこと、ラットに関する長期暴露後の暴露・量-応答関係の境界レベルを人間について決定するのは至難なことなどを示した。

さらに1997年 Osier と Oberdorster¹²⁾ は、粒子の影響の違いを見ながら、気管内吸入と気管内注入の比較を行った結果を示した。二酸化チタンの250nm以下の微粒子と21nm以下の超微粒子をラットの気管内に吸入あるいは注入して、その影響を比較した。吸入暴露した動物の気管支肺胞洗浄液パラメータで測定した肺反応は気管内注入した動物に比較すると低下していた（肺に与える負荷が小さい）。この肺反応の差は用量比、粒子分布およびクリアランスの差に起因していると考えた（肺内部への沈着の均一性が吸入の方が高い）。

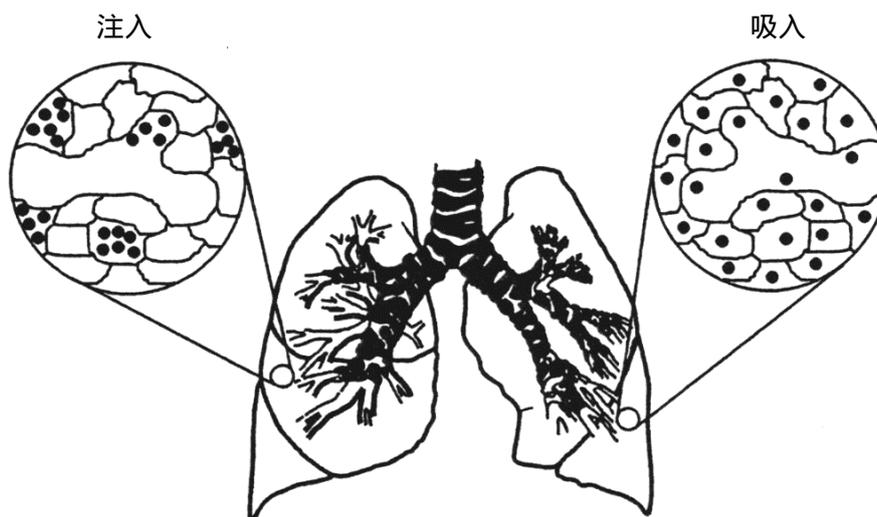


図 2.1 気管注入と吸入における粒子分布の差

1998年、Afaq ら¹³⁾ (Industrial Toxicology Res. Centre, Lucknow, IND) は、超微細二酸化チタンに暴露したラット肺胞マクロファージにおける細胞毒性、酸化促進作用、抗酸化欠乏について報告した。大きさ30nm以下の超微細二酸化チタン粒子の肺毒性を調べるため、ラットの肺胞マクロファージと細胞のない洗浄液で生化学的、化学的パラメータを分析した。超微細二酸化チタン粒子をラットの気管内に点滴注入し、その1、4、8、16日後の肺胞マクロファージを調べると毒性が認められ、肺胞マクロファージ数が増加し、続いて細胞のない洗浄液中の乳酸脱水素酵素(LDH)とアルカリホスファターゼ(AP; アルカリ性で作用するリン酸化合物を分解する酵素)の活性が増加した。これらの細胞による自己保護のための抗酸化酵素の誘発は、酸化ストレスを導く超微細二酸化チタンの毒性に

対処するには十分でないことを示唆している。

1999 年、産業医学総合研究所の京野、芹田、戸谷ら¹⁴⁾は、1994 年以來の研究^{15),16),17),18),19),20)}の総合的な論文として、「急性細気管支炎のモデルラットとその吸入粒状物質の毒性研究への応用」をまとめた。吸入粒状物質に対するヒトの感受性と類似したモデルラットを作製するために、ラットを 5 日間塩化ニッケルエアゾールに暴露した。暴露後 3 日間、ラットは多呼吸、粘液過分泌、細気管支炎等の症状を呈し、4 日から 5 日にかけて急激に進行した。清浄空気中で飼育すると 4 週間後には快復した。無作用粒子の酸化チタンと毒性粒子の五酸化バナジウム 2 種の粒子濃度を日本の労働環境でのいき値限界と同等か高めに設定し、モデルラットに対する感受性を調べた。暴露後、肺の病変や粒子のクリアランスを正常ラットと比較した。モデルラットでは傷害修復の遅延、及び傷害の進行を伴った吸入粒子のクリアランス速度の減少等が観察され、正常ラットより吸入粒子に対して感受性が高かった。いき値限界より低い粒子濃度でも肺に炎症が有れば安全とは言えないことを示唆した。

Oberdorster^{21),22)}は、2000 年、2001 年に超微粒子の毒性、肺への影響について、in vivo 研究のレビューを行った。TiO₂ を用いた実験を基にして、同じ重量の投与量で比較した場合、粒径の小さい粒子の方が炎症のポテンシャル(好中球の%を例とした)が有意に大きいこと、それは、粒子の表面積で統一的に説明できることを示した。また、種々の粒子のデータを基に、肺内に貯留した粒子の全表面積とラットの肺腫瘍罹病率との間に、非常に良い相関関係が成立していることを見出した。この関係は、以降、多くの人によって引用されることとなっている(図 2.2、2.3 参照)。

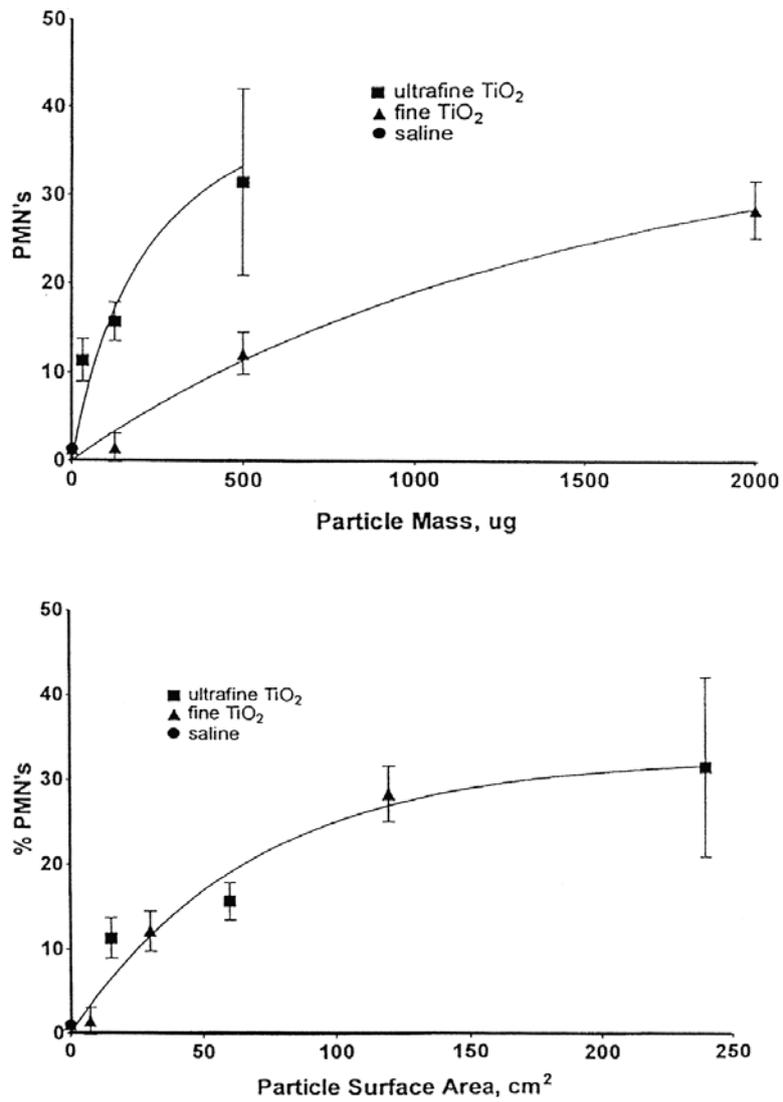


図 2.2 気管注入した TiO₂ (1 次粒径 20、250nm) の重量及び表面積と洗浄液中の好中球数の割合関係 (ラット、24 時間後)

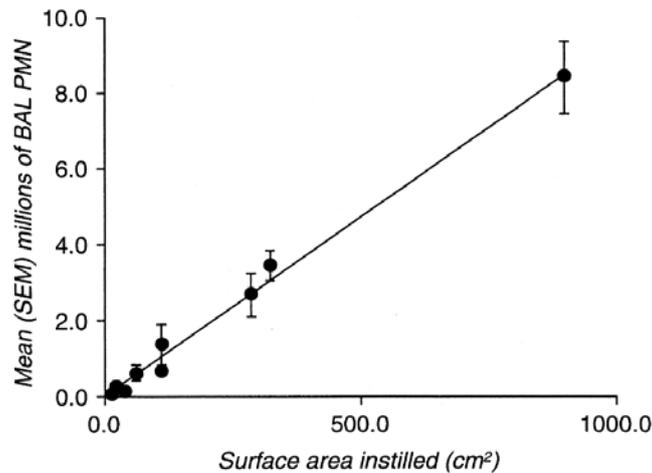


図 2.3 気管注入量 125、1000 μg の低毒性粒子（カーボンブラック、酸化チタン、ポリスチレン）の比表面積と炎症との関係

Nikula (Lovelace Respiratory Research Institute, New Mexico, USA)²³⁾ は、難溶解性の非繊維状粒子（ディーゼル粒子、カーボンブラック、酸化チタン、タルク、石炭ダスト）の暴露によるラットの発癌性についての総説を 2000 年にまとめている。酸化チタンについては、1985、1988 年の Lee, Trochimowicz, Lee, Reinhard の研究、1995 年の Heinrich らの研究を紹介し、雌ラットの 31、32% という同程度の肺腫瘍発症率が 2 年間の暴露で得られたが、Lee らの場合は、1.2 ~ 1.7 μm の球形粒子の 545mg の肺負荷によるのに対し、Heinrich らの場合は 15 ~ 30nm の一次粒子の集合体（MMAD:0.8 μm ）の 39mg の負荷によるという非常に大きな違いがあると述べている。

Paul ら²⁴⁾ (Medical Institute of Environmental Hygiene, Dusseldorf) は、雌 Wister ラットに高投与量の石炭粉じん、石英、酸化チタン粒子の単回気管注入を行い、129 週間後、肺の腫瘍と炎症を調査した。表面積当たりの肺胞マクロファージと顆粒球の数と腫瘍発生の関係は、全ての粒子を一つのグラフにプロットしたとき、相関を示し、過負荷の効果と考えられた。酸化チタンの微粒子（0.25 μm 、60mg 投与）と超微粒子（0.021 μm 、30mg 投与）は、炎症においては同様な応答であったのに対し、腫瘍形成においては差があったが（21%と 50%）これは超微粒子の interstitialization（間質内化）による直接の効果によるとしている。

3) Donaldson らによる一連の研究と総括

1988 年頃より粉じん毒性についての研究報告がある Donaldson (Napier University) は、アスベストを始めとした繊維を中心に研究していたが、2000 年近くになって粒子についても取り上げるようになった。かくして Donaldson、Jones ら^{25),26)} は、2000 年に物理

的性質の異なる、難溶解性の、毒性を有しない粒子の職業的暴露の基準についての考えるために、TiO₂とBaSO₄という密度に近い比較的低毒性の難溶解性粒子を選び、そのラットへの吸入暴露について実験を行った。暴露条件は過負荷になるよう定めた(TiO₂で25mg/m³ 209日、50 mg/m³ 118日、BaSO₄で37.5mg/m³ 203日、75mg/m³ 119日)。肺への負荷は二つの粒子で同様な結果が得られたが、TiO₂の肺門リンパ節への移行はBaSO₄よりも有意に多く、BaSO₄にないクリアランスの停滞も生じた。これは、肺泡マクロファージによる粒子のクリアランスが障害を受けた「過負荷」として知られている条件を表しているものである。さらに、肺泡洗浄液(BAL)の分析からは、TiO₂の場合に炎症性好中球の肺への流入がBaSO₄よりも有意に多いことが見出された。この差異は、二つの粒子の毒性、溶解性、肺への沈着の差によるものではなく、粒径分布の差によるものであると結論した。TiO₂は、Tioxide Ltd.(UK)製、比表面積6.68m²/g、MMAD 2.1 μmであり、BaSO₄は、Aldrich Chemical Co.(UK)製、3.13m²/g、4.3 μmである。

さらにDonaldsonら²²⁾は、この肺損傷のメカニズムを調査した。ラテックス粒子(202nm、64nm)、カーボンブラック(260nm、14nm)、TiO₂(250nm、20nm)の3種類の微粒子、超微粒子を肺に注入しBALを分析した。その際、チオール抗酸化剤の効果の測定、細胞内のCaイオンの定量も行った。その結果、超微粒子は同量の微粒子に比べて10倍の炎症作用を持つ、その作用は202nmから64nmの間で急増し、粒径又は表面積と酸化ストレスによると考えられる、等が示された。モデル実験で、超微粒子に暴露されたマクロファージ様の細胞内においてCa²⁺の濃度が急激に増加したが、Ca²⁺を媒介とした機構がありうることを示唆した(2000年)。

2002年、Donaldson(University of Edinburgh)はTran(Institute of Occupational Medicine, Edinburgh)²⁷⁾と「粒子と繊維による炎症」という総説を発表して、自らの研究(19編、うち繊維に関するものが10編、粒子が6編、両方が3編)と他の研究者の論文(48編)を総括している。さらに翌年、Stone(Napier University)と「超微粒子の毒性のメカニズムに関する現在の仮説」という総説²⁸⁾で、前の総説を敷衍している。現状では粒子の質量が規制の尺度として使用されているが、粒子による炎症の主たる要因は、粒子の表面によるものであり、表面積を記述するある数値が尺度として使用できるかもしれない(カーボンブラック、酸化チタン、ポリスチレンの粒子を投与した実験における投与粒子の表面積とBALの好中球の数との直線関係を示した)とした。彼らは、粒子によって活性化される炎症性遺伝子の発現を導く経路についての仮説を図示している。すなわち、粒子表面の作用や粒子から放出される遷移金属や貪食による酸化ストレスおよび粒子がリポ多糖(LPS)、上皮成長因子(EGF)のようなレセプター(受容体)を活性化させることによる信号伝達によって炎症性遺伝子の発現が起こり、炎症のメディエーターを作用させ、炎症に至る(図2.4)。この、粒子の表面の物理化学的な性質と酸化のストレスと炎症性遺

伝子の発現との間のリンクを境界領域的な研究によって明らかにし、炎症を発生させる過程の理解に基づいた定量的な限界値の規制値が得る努力が望まれるとしている。

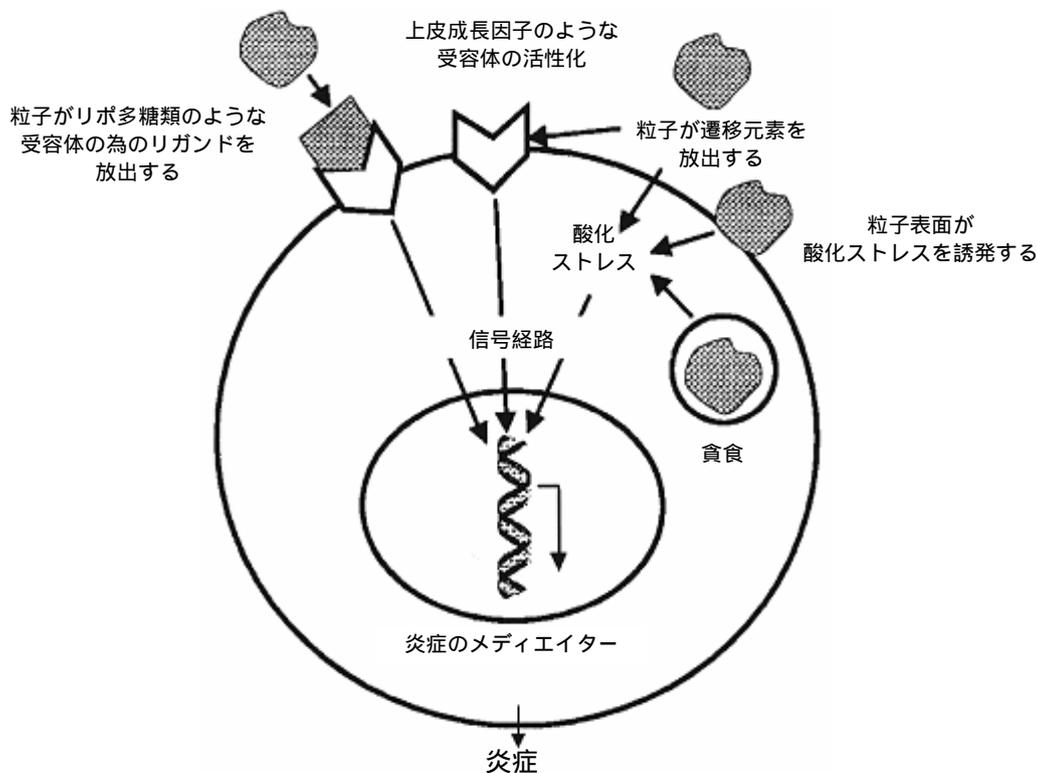


図 2.4 炎症状遺伝子の発現にいたる粒子と細胞の相互作用の仮説

Donaldson ら²⁹⁾ は、4 種の異なる超微粒子を用いて、炎症と毒性に及ぼすフリーラジカルの役割について報告した（2003 年）。ラットの気管注入によって実験されたが、UFCo、UFCB、UFNi では、好中球の流入があり、炎症マーカーが有意に増大するのみならず、OH ラジカル生成の指標であるスーパーコイルプラスミド DNA の有意な消耗が誘起されている。酸化チタン超微粒子（1 次粒径 20nm）ではいずれも観察されなかったが、それは、過負荷状態ではないことによると考えられた。

さらに Donaldson ら³⁰⁾ は、TiO₂ とカーボンブラックの超微粒子と微粒子を用いてそれらの炎症誘発、上皮の損傷、肺マクロファージの除去機能（走化性）に対する影響などを調査した結果を報告している（2004 年）。試験した 2 種の超微粒子は、炎症を引き起こすとともに、微粒子（チタンは 250nm）に比べて上皮を著しく損傷させる。概して、超微粒子カーボンブラックの影響は超微粒子 TiO₂（1 次粒径 29nm）より大きい。これは、超微粒子の種類によって毒性は異なることを示している。上皮の損傷と毒性は、超微粒子にさらされた結果生じる炎症の悪化に伴って生じる。C5a 走化性勾配に対する感受性が増大すると、超微粒子にさらされたマクロファージが肺中へ貯留される傾向は強まり、その結果、

粒子の肺中への蓄積は増加する。

4) 実験動物の種差による違い

2000年 Donaldson³¹⁾は、低毒性ダスト (TiO₂、カーボンブラック、タルク、炭鉱ダスト、ディーゼル粒子) への暴露による実験動物 (ラット、ハムスター、マウス、モンキー) の非腫瘍性病変についてレビューし、種差による慢性の炎症や上皮の変化などの病的応答の違いについてのメカニズムを考察している。

2000年から Bermudes ら(CIIT: Chemical Industry Institute of Toxicology)は、du Pont の Warheit とともに、同じ暴露条件の下での、ラット、マウス、ハムスターの肺応答の相違について調査を始め^{32),33)}、2002年³⁴⁾、2004年³⁵⁾と報告している。

最初から3報は、幾何平均径が $1.36 \pm 0.07 \mu\text{m}$ (幾何標準偏差 1.21 ± 0.04) の du Pont の顔料グレードの酸化チタン(ルチル)を用いている。極端な高濃度の亜慢性暴露状態(6h/d、5d/w、13w)では、ラットはハムスター・マウスとは、肺細胞の応答のみならず、粒子のクリアランスや隔離において、異なった挙動があり、このことが、難溶性粒子の慢性吸入暴露においてげっ歯類が様々な肺応答を示すことの一因であろうとしている。続いて、TiO₂超微粒子 (Degussa-Huels AG の P25、平均一次粒子径 21nm (エアロゾルとした際の質量平均空気力学径は $1.37 \mu\text{m}$)) を用いて同様な実験を行った。(2004年³⁵⁾この超微粒子酸化チタンを $10\text{mg}/\text{m}^3$ 、13週吸入させた場合、ラットとマウスでは肺への過負荷が生じたが、ハムスターでは過負荷とならなかった。ラットとマウスには種々の反応が生ずるが、ハムスターではほとんどないことは、肺への低負荷と粒子のクリアランスが早いことによると思われる。マウスにおける反応は $10\text{mg}/\text{m}^3$ の高濃度に限られるが、ラットにおいては $2\text{mg}/\text{m}^3$ でも見られる。一般的にはラットとマウスでは反応の大きさとスペクトルは同様である。ただし、炎症反応の程度と特徴が異なっている。ラットでは時間とともに減衰する、より大きな好中球成分の増大があり、マウスでは有意な好中球とマクロファージの数は比較的一定値を保つ。ラットとマウスの組織病理学的観察の結果、線維増殖性の損傷がラットでは進行し、マウスではないということが見出された。本研究は、これまで報告されてきた難溶性粒子の慢性暴露に対するこれらの種の反応に関する研究を反映するものであり、ラットが肺への過負荷条件で、これらの粒子による肺腫瘍を引き起こしやすいことは、投与における成分と生物的反応によるものであることを示している。

酸化チタンのラットを使用した毒性研究で腫瘍が見出され、マウスとハムスターでは見出されないことは、ラット固有の現象で、ヒトにとって酸化チタンは腫瘍の原因とはならないのではないかと、という問題設定で英国と北米の酸化チタン製造者がコンソーシアムを作って依頼し、Hext (Syngenta Central Toxicology Lab.) ら³⁶⁾が実験結果を報告してい

る(2005年)。ほぼ上記と同様の結果を得ている。さらに欧州 11、USA4 箇所の製造工場において、疫学的調査を行った結果、酸化チタンの作業工程での暴露に関連した癌発現効果は見られなかった。

5) 表面コーティングの影響

1998年、Pottらによって、有機シリコン化合物を用いた疎水性コーティングを施した超微粒酸化チタンの気管注入(分散剤として Tween を加えた)によって、ラットが死亡したとの報告があり、検証する実験が行われた。

2002年、Hoehr³⁷⁾ら(University of Turin)は、表面コーティングの影響を報告した。TiO₂の微粒子(180nm、BET 表面積 10m²/g)と超微粒子(20~30nm、BET 表面積 50m²/g)を用い、親水性表面はメチル化により疎水性とした。気管注入急性肺応答(BALの分析による)を調べると、炎症反応及び大部分の酵素活性レベルは、投与表面積量に有意な関係がある。メチル化による疎水性表面となった TiO₂ 粒子の全細胞数及び好中球の流入は、表面処理されていない 1mg の微粒子及び超微粒子 TiO₂ の投与に比べて低下したが、統計的に有意ではない程度であった。このことから、疎水性表面よりも表面積そのものが、微粒子及び超微粒子 TiO₂ による肺の急性炎症を決定するとした。

Rehn³⁸⁾ら(Univ. of Essen Medical School, Germany)は、表面処理した TiO₂ と無処理の TiO₂ の肺の遺伝毒性と炎症作用に関する研究(労働環境に相当する低暴露量での実験)を 2003 年に報告している。次の 2 種の TiO₂ 超微粒子(Aerosil & Silanes、Degussa AG 社製)、P25(表面処理なし、親水性、1次粒子径:20nm)、T805(トリメトキシオクチルシランによって表面処理、疎水性、1次粒子径:20nm)を使用した。本研究で投与した量の範囲気管注入(0.15、0.3、0.6、1.2mg)では、親水性、疎水性とも TiO₂ の有害性は確認できなかった。Pottら(1988年)による表面処理した疎水性の TiO₂ の 2mg 以上の投与が急性毒性と致死性を示すという報告は確認できなかった。超微粒子という言い方は生成直後の 1 次粒子であって、市販されている粒子は強く凝集しており、大きな粒子と同様に振る舞う。このことが肺の反応が弱いことと関係しているのではないかと推定している。

Warheit³⁹⁾ら(DuPont Haskell Lab.)は、トリエトキシオクチルシラン(OTES)によってコーティングされた顔料グレードの TiO₂ の肺への毒性に関する研究を同年に報告している。ベース TiO₂(親水性、320nm)、OTES によって表面処理されて疎水性表面とされた TiO₂(230nm)を用いた。(ともに DuPont 社製顔料グレードルチル)気管注入された OTES コーティング(疎水性)された TiO₂ 粒子は、親水性にコーティングされた TiO₂ 粒子との比較で、肺毒性に対する有意な差は認められなかった。この結果はベースを TiO₂ と

して吸入法で行われた Hoehr³⁷⁾らや Rehn³⁸⁾らによる同じ目的の前記研究結果と一致していた。

Warheit^{40,41)}らは、2005 年に再び、コーティングの影響についての実験報告を行っている。市販の微粒子には種々のコーティングが施される場合が多く、いちいち毒性試験を吸入試験で行うのは大変なので、急性試験結果から吸入暴露試験結果の推定が可能な試験方法の開発も一つの目的として実験した（実は、2003 年の研究³⁹⁾もこれを目的にしていた）。酸化チタンにアルミナを 1~7%、アルミナの外側に非晶質シリカを 3~11%をコーティングした。ベースの酸化チタン（300nm、6m²/g）にはアルミナが 1%成分として含まれている。ラットを用いた 4 週の高濃度（1130~1300mg/m³）暴露試験と気管注入による急性毒性試験を行い、比較検討した。結果は、最も感度の高いラットでも、極めて高濃度の酸化チタン粒子の吸入によっても、肺毒性は低い。表面処理は酸化チタンの毒性を変える可能性がある。7%アルミナ+11%非晶質シリカコーティング粒子（440nm、27.8 m²/g）が他の粒子に比べて肺への悪影響があった。しかし、他のダストに比べれば毒性は低い。気管注入による肺のバイオアッセイ法は吸入による安全性を推測するための効果的な予備的スクリーニング法と言える。

6) 最近の研究

Warheit⁴³⁾らは、2002 年に、シリカと酸化チタン粒子によって誘起されるラットの肺の炎症と好中球のアポトーシス応答との関係について報告した。結晶質シリカは Min-U-Sil5、酸化チタン（顔料級）は 0.25 μm のルチル粒子（Du Pont 社製）が用いられた。ラットに気管注入（0、0.5、1、5、10、20、50mg/kg）し、BAL の細胞数、好中球%、アポトーシス単位を測定した。シリカは肺の炎症と（肺胞マクロファージではなく）好中球のアポトーシスを生じさせたが、酸化チタンは最高負荷時において一時的な炎症を起こし、アポトーシスレベルは低かった。また、アモルファスシリカ、リポ多糖についても実験し、これらのことから、粒子による炎症の消散へのアポトーシスの影響は、粒子のタイプとは独立であり、粒子の毒性のような他の因子も重要であるとの結論であった。

2005年Warheit⁴⁴⁾らは、異なる表面処理をうけた酸化チタン粒子がラットの肺へ及ぼす影響を、吸入法と注入法を用いて調査した。吸入の場合も注入の場合も、Al₂O₃と不定形SiO₂で表面処理された酸化チタン粒子のみが、コントロールの粒子との対比で肺への軽度の影響を示した。酸化チタンの肺への毒性は、表面処理によって影響される。気管への注入後の肺の生検によって、吸入実験の予備的スクリーニングが可能である。

さらに 2006 年 Warheit⁴⁵⁾らは、ラットを用いて TiO₂（顔料用、nanoscale rods、nanoscale dots）と SiO₂ の微粒子の肺への急性毒性を調査し、以下の結果を得た。

（1） nanoscale TiO₂ rods と nanoscale TiO₂ dots の場合、暴露後 24 時間で、一時的

な炎症と細胞損傷を誘起した。これは、大きな粒子の効果と同様であった。

- (2) SiO₂ 粒子の場合は、好中球と含脂肪泡状肺マクロファージの集積、さらには、肺の繊維症と関係する初期の肺組織の厚化などで特徴付けられる、用量依存性のある肺の炎症を誘起した。
- (3) この結果は、肺への毒性や炎症誘起性が、同じ組成の大粒に比して強くないナノ粒子の最初の例である。

これらの発見は、ナノ粒子の肺へおよぼす毒性はナノ粒子の表面積が主要な要因であるとするこれまでの見解とは異なる、と述べている。これは、注目すべき結果であり、定説に対して、モデル的な実験で疑問を呈し、毒性実験の難しさを示したと言うべきであろう。Warheit は、毒性には一般論は通用せず、case by case で判断すべきであると述べている。

Borm⁴⁶⁾らは (Heinrich-Heine-University) 2004 年、難溶解性の低毒性粒子の吸入と発癌との関係について、総説を書いている。Part A ではメカニズム、Part B では、パラダイムとリスク評価をテーマとしている。膨大な文献を参照している (Part A で 104 編) が、結論的には、ラット肺の腫瘍を誘起する難溶解性の低毒性粒子の特性と容量についてまだ結論は得られておらず、ヒトとの関係についても明らかではないという段階であるという見解であった。

Geiser、Kreyling^{47,48)}ら (University of Bern, GSF-National Research Center for Environment and Health など) は、2004、2005 年に、ナノ粒子が細胞膜を通過することを酸化チタンを用いて確認した報告を行った。まず、電子エネルギー損失分光法 (EELS) によって、肺組織内の粒子が明確に同定できることを確認した。次に酸化チタンを放電で発生させそのまま、ケージに導入しラットに吸入させ、組織内分布を調査した。TiO₂ 超微粒子吸入 1 時間後には、平均して TiO₂ の 24% が肺組織の上皮内、または上皮を通して取り込まれていることが示された。また、粒子のある部分は毛細血管系に輸送をされている。細胞内の粒子が膜結合性でないことは、取り込みはエンドサイトーシス (貪食) でないことを示していると考えられる。TiO₂ の分布が 1 時間後と 24 時間後が同じことと、肺組織各画分の体積密度に比例していることは、TiO₂ 粒子が各組織画分を制限なしに移動していることを示している。この輸送の機構は、接着相互作用あるいは界面/線張力効果によるものであり、さらに粒子、膜を通しての輸送には表面張力波による取り込みや拡散によるものではないかと推測している。

Wang⁴⁹⁾ら (Institute of High Energy Physics, Chinese Academy of science) は、ナノマテリアルの生物学的ならびに毒性学的効果に関する研究の現状という総説を発表している。引用文献は 23 編だが、8 編は酸化チタンである。彼ら自身 SWCNT に関する報告もある。ナノ粒子の毒性を除去する化学 (Elimination Chemistry of Nano- toxicity)、ナノマテリ

アルの有害性を逆に利用すること、を提唱していることが注目される。

Adams⁵⁰⁾らは、2006年TiO₂、SiO₂、ZnOの3種のナノ粒子のエコ毒性を枯草菌と大腸菌を用いて比較した。これによって、次の結果を得て、環境への懸念を示した。

- (1) これら3種の超微細材料は、バクテリアに対して有害であった。有害さは、粒子の濃度とともに増大した
- (2) 有害さは、SiO₂から、TiO₂、ZnOの順に増加し、大腸菌より枯草菌のほうがこの影響が大きい。
- (3) 暗室においてもこの有害性は観察された。
- (4) ナノ粒子の使用と廃棄によって生じる環境影響を防止するために、これらの毒性に関する調査が必要である。

2006年5月、NEDO委託研究報告書「ナノ粒子の安全性評価(ナノ粒子の吸入暴露による生体影響評価の予備的試験)に関する調査研究」(代表者:産業医科大学田中勇武教授)が発表された。⁵¹⁾酸化チタンナノ粒子についての実験を含む、大変貴重な吸入暴露実験であり、以下に詳細を紹介する。

まず、吸入暴露のためのナノ粒子の気中分散(発じん)について(NEDO委託研究報告書、テーマ名は同上、代表者:広島大学奥山喜久夫教授)、装置開発、計測が行われた。

この研究ではナノ粒子としてNiOとTiO₂を使用した。広島大の研究をもとに、NiOの発じんには超音波噴霧法を、TiO₂ナノ粒子の発じんには加圧式噴霧法を用いた。TiO₂ナノ粒子発生装置の概略を図2.5に示す。

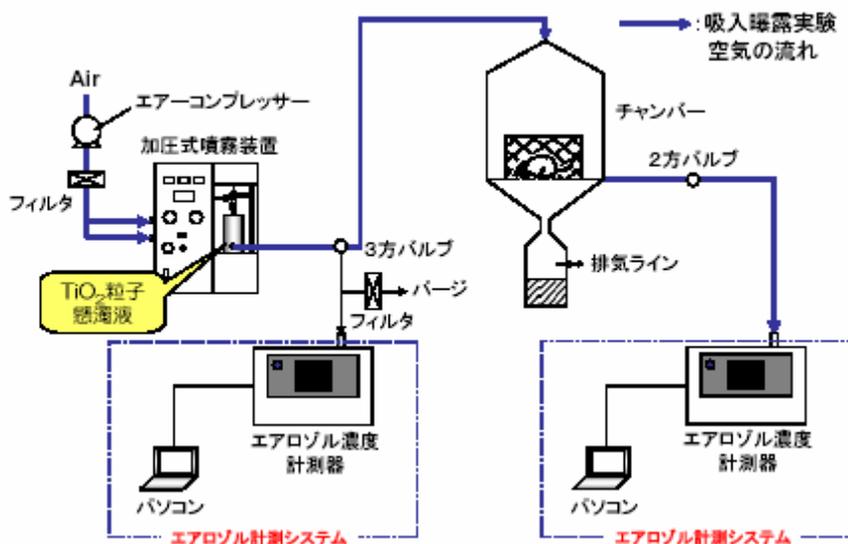


図2.5 TiO₂ナノ粒子発生装置の概略図

TiO₂ナノ粒子原粉および暴露チャンバー内のTiO₂ナノ粒子の電子顕微鏡写真を図2.6に示す。DMA-CNC(3.1参照)で測定した幾何平均粒径はおよそ40nmであり、発生後6時間の間、安定した発生が確認された。チャンバー内NiOナノ粒子の幾何平均粒径はおよそ120nmであり、安定した発生が確認された。

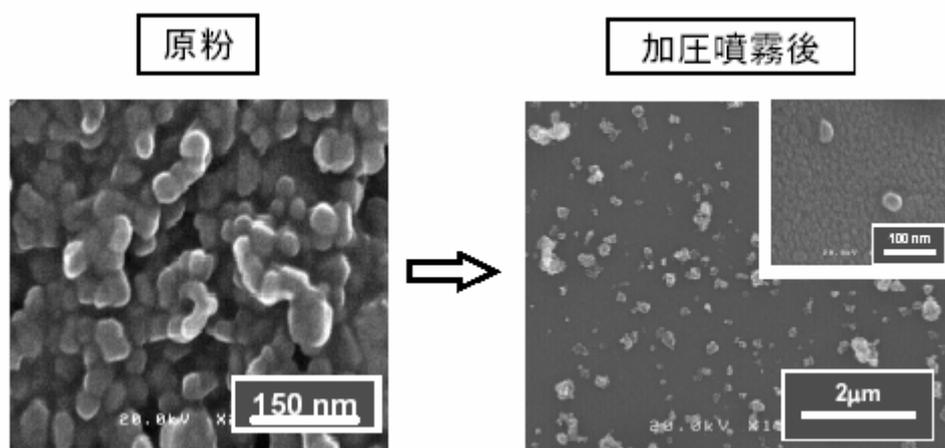


図2.6 TiO₂ナノ粒子原粉およびチャンバー内ナノ粒子の電子顕微鏡写真

1ヶ月間の吸入暴露には、Wistar系雌性ラット（8週齢）を用いた。吸入暴露条件は、150L/min、1日6時間、週5日、4週間である。ラットは、対照群、NiO暴露群、TiO₂暴露群の3群に分けられ、温湿度が調節された部屋に設置された3台の暴露チャンバー内で1ヶ月暴露後3ヶ月まで飼育された。対照群は暴露群と同じ型の吸入暴露チャンバー内で、新鮮空気のみを暴露して飼育された。1ヶ月暴露後4日目、1ヶ月目、3ヶ月目に各群10匹の解剖を行った。

暴露期間中のNiOおよびTiO₂ナノ粒子の粒径および暴露濃度は、DMA-CNCにより暴露時間中、毎日、暴露直後、3時間目、終了直前の3回測定された。1ヶ月間の平均暴露個数濃度を以下に示す。

NiO暴露群 $1.0 \pm 0.5 (\times 10^5)$ 個/cc TiO₂暴露群 $2.8 \pm 0.9 (\times 10^5)$ 個/cc

なお、この個数濃度を重量濃度に換算すると以下ようになる。

NiO暴露群 2.1 ± 0.7 mg/m³ TiO₂暴露群 0.7 ± 0.2 mg/m³

吸入暴露実験の結果は以下のようであった。

暴露期間中および暴露終了後3ヶ月間において、ラットの体重測定が行われたが、各群に

において成長曲線には差は認められなかった。また、暴露期間中および暴露終了後3ヶ月間において、死亡したラットはいなかった。1ヶ月吸入暴露後4日目、1ヶ月目、3ヶ月目に、各群30匹中10匹を無作為に抽出して解剖した。各解剖時期における各群ラットの体重および臓器湿重量を調査したが、すべての解剖時期において、体重、肺、肝臓、腎臓、脾臓のいずれの臓器重量についても各群間で、統計学的な有意差は、認められなかった。

各解剖時に、ラット肺の左主気管支をクランプし、右肺に生理食塩水を注入して自然落下にて気管支肺胞洗浄液 (BALF) を50ml採取した。BALFは遠心後上清成分を一部保存した。細胞成分は洗浄後溶媒1ml中に懸濁し、細胞数を自動血球計数器でカウントした後、オートスメアにてプレパラート上に細胞を均一に散布したサイトスピン標本を作製した。

BALF中白血球数の推移を図3に示す。酸化ニッケル暴露群では、暴露終了直後に有意な白血球数の増加を示したが、暴露終了1ヶ月後以後は対照群と差は見られなかった。二酸化チタン暴露群は観察期間を通じて対照群と差はなかった。

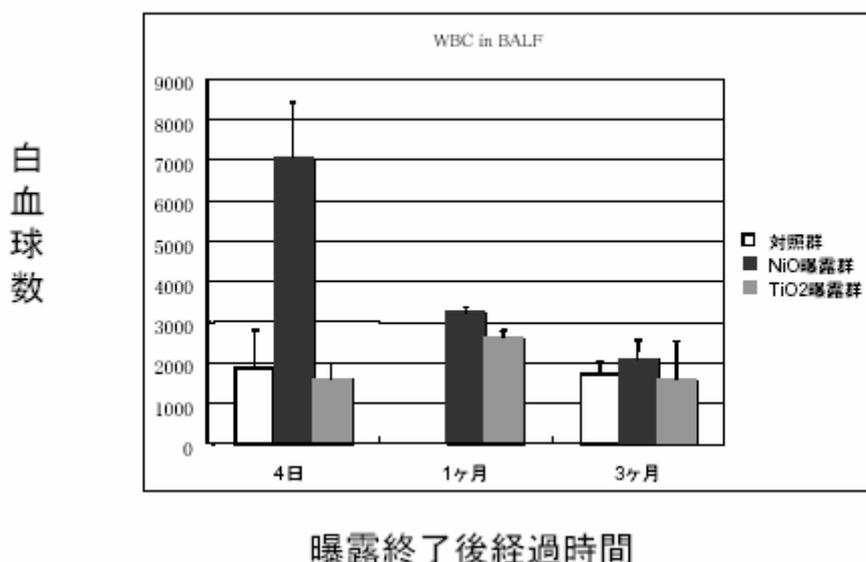


図 2.7 気管支肺胞洗浄液中の白血球数の推移

炎症により、血液中の白血球数が変化することが知られているが、各解剖時にラット心臓より血液を直接1ml程度採血し、自動血球計数器を用いて血液中の白血球数の推移を解析した。各暴露群とも対照群に比べて観察期間を通して有意差はみられなかった。

8ヒドロキシデオキシグアノシンは、DNAの塩基であるグアニンの8位が水酸化されたものであり、代表的なDNA損傷のひとつで、肺傷害や発癌を誘発すると考えられている。暴露後1ヶ月目における測定結果を図2.8に示す。対照群との有意差はなかった。暴露後3ヶ月目における測定結果も同様であった。

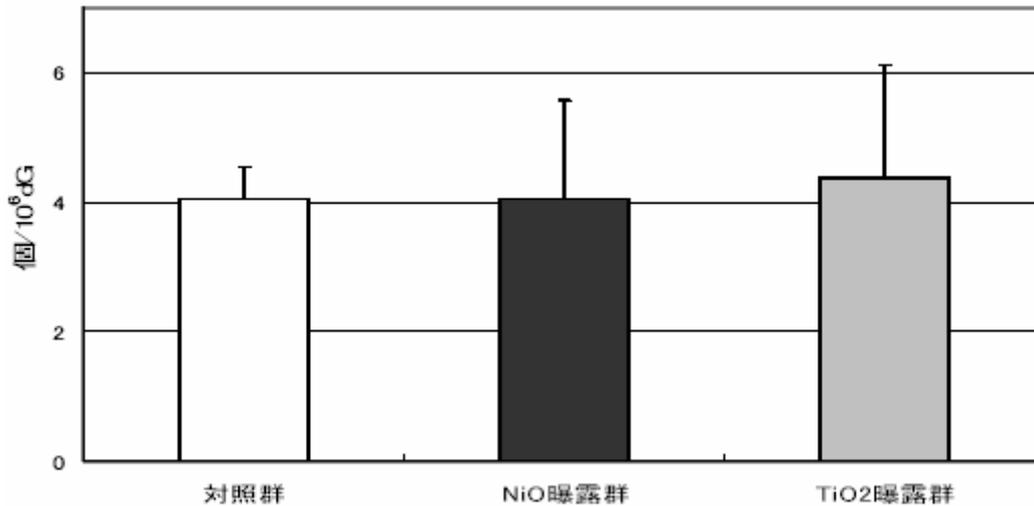


図 2.8 8 ヒドロキシデオキシグアノシン生成 (1 ヶ月)

型コラーゲン、matrix metalloproteinases (MMPs)、tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) は、いずれもコラーゲンの産生、代謝に関する遺伝子である。コラーゲンは肺の線維化に深く関与する膠原繊維で、コラーゲンの大量沈着が肺の線維化で特に重要な病態と考えられている。コラーゲンの大量沈着の原因は、コラーゲンの過剰産生と分解抑制の二つに分類される。肺組織のコラーゲンの大半は、Ⅰ型コラーゲンであり、線維化もこのⅠ型コラーゲンが大量沈着によっておこると考えられている。MMPは、コラーゲンを分解する酵素であり、これを特異的に阻害するのがTIMPであり、MMPとTIMPの均衡がアンバランスになった状態、コラーゲンの分解異常が起こる。これら3つの遺伝子の発現量を測定したが、4日目、1ヵ月目、3ヵ月目とも、対照群と比較して、有意な遺伝子の発現は認められなかった。

炎症ポイントカウンティングにより、炎症の変化を定量的に捉える試みを行い、図2.9に示した。酸化ニッケル曝露群は曝露終了後より対照群に比べ高い炎症度を示した。また、この炎症の拡大は曝露終了後1ヶ月で最も高かったが、終了後3ヶ月では対照群と同様なレベルまで低下していた。酸化ニッケル曝露による炎症エリアは平均で3%以下であり、炎症としては軽微な炎症ということが示された。二酸化チタン曝露群では観察期間を通じて対照群と有意差は無かった。

炎症割合

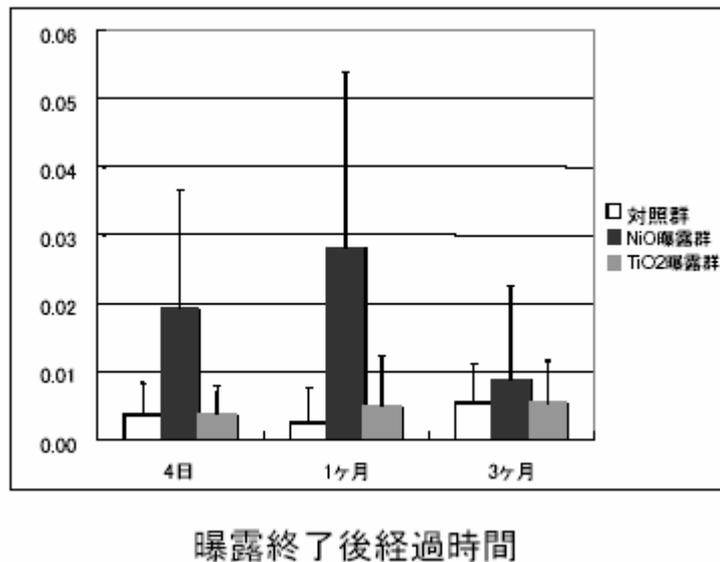


図 2.9 炎症度ポイントカウンティング

吸入されたナノ粒子が実際に肺内に沈着したかどうかを確認するために、肺胞洗浄液と肺組織を用いて、ニッケル (Ni) およびチタン (Ti) の分布を解析した。BALFのサイトスピン標本とHE染色された肺組織標本を試料とした。走査型電子顕微鏡S-4700型 (日立製作所製)、エネルギー分散形X線分析装置EMAX ENERGY (堀場製作所製) を使い、標本の導電処理は白金 - パラジウム蒸着を行い、倍率10,000倍 (組織は2,500倍) にて対象金属 (Ni, Ti) 陽性部位のマッピングを試みた。BALF中には曝露終了後3ヶ月の標本においてもニッケル、チタンともに元素陽性部位が認められ、曝露粒子が確実に肺内に取り込まれたことを示していた。

また、肺内沈着粒子量を、肺を湿式分解し、ICP発光分光分析により定量し、NiOの生物学的半減期を求めた結果2.0ヶ月であった。

結論として、以下の4点にまとめられた。

- 1) 4週間安定 (曝露濃度一定、曝露粒子径一定) して2種類のナノ粒子の吸入曝露実験が遂行された。
- 2) 2種類のナノ粒子とも肺内に吸入されることが確認された。
- 3) 肺内に沈着したナノ粒子は、肺から排泄されることが認められた。
- 4) 生体に対する影響については、ごく軽微であることが認められた。

この吸入曝露実験では、酸化チタンは $0.7 \pm 0.2 \text{ mg/m}^3$ の濃度で行われており、NIOSHが酸化チタンナノ粒子の曝露限界濃度とした 0.1 mg/m^3 よりもかなり高く、この濃度においてごく軽微な影響という結果が得られたことに注目したい。

疫学的研究（労働衛生）

Beffetta (International Agency for Research on Cancer, Lyon, France) らは、2001 年⁵²⁾、2004 年⁵³⁾ に酸化チタンに関する疫学的な研究の結果を報告している。

2001 年の論文は TiO₂ への暴露による肺がんの発生のリスクに関するモンリオールにおける疫学的研究である。1979 年から 1985 年にかけてモンリオールの住民を対象に、症例対照研究を行った。この解析のために 857 名の肺がんの患者と 533 名の健康人と 1349 名の肺がん以外のがん患者を選定した。質問票は、ライフスタイルに関する項と調査対象者が従事していた職業の詳細に関する項よりなる。後者については、会社名、その製品、職場の性質、主ならびに従なる職務、防具を使っていたかなど暴露に関する情報などが含まれている。暴露評価は TiO₂ を含む 293 種の化学物質を対象に 1980 年代に行われた。本研究では、全データベースをレビューして、最新の産業衛生に関するデータも含めつつ TiO₂ に焦点を絞った。TiO₂ とチタン化合物への暴露は、TiO₂ 製造、塗料など含 TiO₂ 製品の製造と使用、アーク溶接の 3 つの場合で考えた。本研究の結果からは、職業的に TiO₂ に暴露されても肺がんのリスクが増大するという証拠は得られなかった。しかしながらこの結果は、肺がんのリスクの若干の増大とは矛盾しない。さらに、低い暴露有症率や暴露の分類ミスによって誤った結果を導いている可能性もある。この結論は以前（1991）に著者の出した結果（高度の TiO₂ 暴露は肺がんのリスクを増大させる）と異なった。この違いは、暴露評価が改良されたこと、対象群の選び方を変えたことによると考えられた。

2004 年の報告は、酸化チタンに関わる製造業で職業的に TiO₂ ダストに暴露される労働者の、肺ガンによる死亡率を評価することを目的として、フィンランド、フランス、ドイツ、イタリア、ノルウェー、英国の 6 カ国の関係機関が参加して調査を行った結果のまとめである。これらの国の 11 の酸化チタン工場に少なくとも 1 ヶ月雇用されていた労働者で、生産の当初から雇用されていたか、完全な雇用記録（これは、1927 年から 1969 年にまたがる）が 1995 年から 2001 年までの間に入手できる労働者を対象とした。11 の工場は、主として顔料の TiO₂ を製造していた。調査に当たって、調査対象者の個人記録、人口統計上のデータ、雇用記録、さらに、もし入手できれば、喫煙歴のデータも入手した。本研究は、TiO₂ ダストによる人の死亡率にかかわる可能な最大級の調査である。本研究の結果からは TiO₂ ダストによる人の肺への発癌性は認められなかった。また、他の腫瘍や慢性病による死亡率増大も認められなかった。

経皮吸収実験

Mueller-Goymann⁵⁴⁾ ら (Technische Universitaet Braunschweig) は、粒子状 UV 遮蔽剤の経皮吸収について in vivo/in vitro 両系について調査した。(1998 年) in vivo 系(2 μl/cm²

を皮膚塗布) in vitro 系(人皮膚組織片に酸化チタンの油中分散系 $150 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ を強制接触)の各系における吸収挙動を調べた。(使用した酸化チタンメーカー(Tioveil OP, Tioxide Specialties Ltd)が示されているだけであるが、'microfine'としているので、1次粒子はナノサイズであると思われる)皮膚切片の電子顕微鏡観察及びX線写真からチタンが皮膚に浸透していることが確認された。テープ表面剥離法によるチタンの回収量は指数関数的に減少した。剥離回数12では皮膚角質層が消失した。酸化チタンは、皮膚角質層に局所吸収されると推定した。

Lademann⁵⁵⁾ら(Humboldt University)は、1999年、サンスクリーン製剤中に含まれている酸化チタン(1次粒径が17nmでステアリン酸とアルミナでコーティングしたもの)のヒト皮膚の角質層への浸透について、「テープ剥がし」により調査した。 $2\text{mg}/\text{m}^2$ のサンスクリーン剤を 160cm^2 の面積で掌側前腕に3日間、一日5回塗布する。その結果、少量の酸化チタンが角質層の深部に見出された。それは毛包孔の中に存在しており、周囲をとりまく角質細胞には酸化チタンは含まれていなかった。この毛包チャンネルを含む生体組織検査用切片の分析により、少量の酸化チタン超微粒子が毛包の先端漏斗部に到達していることが示された。ただし、生体細胞層には到達していない。また、超微粒子はすべての毛包に存在するわけではなく、わずか1/10にしか存在しない(全塗布粒子の1/100以下)。彼らの2001年の報告⁵⁶⁾では、この活きた/不活発な毛包について調査した結果、毛の成長ないし皮脂の生産がない毛包が不活発であり、これらの活動がある場合に浸透が起こるといふ結論であった。

Pflueckerら⁵⁷⁾(Beiersdorf AG)は、3種類の酸化チタンを用いて、皮膚浸透の実験を行った(2001年)。Degussaのトリメチルオクチルシランコーティングした疎水性の立方体20nm(T805)、Merkのアルミナ(8~11%)とシリカ(1~3%)の非共有結合でコーティングした両親媒性の針状100nm(Eusolex T-2000、1次粒子径10~15nm)、Solaveilのアルミナ(4.25%)とシリカ(1.75%)でコーティングし、水とプロピレングリコール中に疎水性で分散させた100nmの針状粒子(Tioveil AQ-10P)の3種の酸化チタンの4%水中オイルのエマルジョンを用いた。ヒトボランティアの前腕に1.9cm径で45mgのエマルジョンを塗布し(酸化チタン $160 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)6時間後2mm径のパンチ生検試料を採取する。試料を固定し超薄切片を作成し光学顕微鏡、透過電子顕微鏡で調査した。結果として、酸化チタンは、その種類によらず、角質層の最外部にしか見出されなかったとしている。酸化チタンは角質層の表面に固定されたエマルジョンの脂質中に存在した。以上の結果は、翌年、同人ら⁵⁸⁾が発表した論文でも、サンスクリーン剤の効果を記述とともに、繰り返し述べられている。

R.W. Christ(CIC GmbH, DEU)⁵⁹⁾は、 TiO_2 超微粒子の安全性と効能と題した総説を

2003年に書いている。真皮細胞への影響については以下のように述べている。経皮吸収に関する大規模な生体テストが行われたが、コーティングの有無にかかわらず使用時における吸収は起こらなかった。Franzタイプの拡散細胞(diffusion cell)を用いて人の皮膚での研究が多数行われた。これによれば、表皮残留率、表皮浸透率、表皮を完全に浸透した割合を同時に知ることができる。この結果は予想通り、TiO₂粒子は、繰り返し使用後も角質層の表層の2~4層に見出されただけで、生きた細胞には到達しておらず、“浸透なし”であった。この結果は、ボランティアを使って行われた生体実験の結果とも合っている。この実験では、皮膚をテープではがして、電子顕微鏡で観察した。ここでも、TiO₂粒子は角質層の表層に見出されただけであった。その他の試験結果も総括して、結論的としては以下のものである。現代のTiO₂超微粒子製品は、人間の皮膚を害することなく、全紫外線領域で、紫外線を遮蔽する。TiO₂超微粒子の安全性と有効性は、多数の医学的研究の対象であったが、完全に証明された。リスク=危険性×暴露の式において、危険性と暴露の双方とも最小化されている。以上より、TiO₂超微粒子は、紫外線遮蔽材料として米国とEUにおいて正式に登録されており、日本でも安全な化粧品材料と認められていると述べている。

酸化チタンは、サンスクリーン剤として欧米では大量に使用されており、透明性への要求から超微粒子化の傾向も大である。現在、NANODERM EU5 プロジェクトは終了(2005.12.31)したばかりであり、報告はまだあまりなされていないように思われる。現在、入手したのは以下の1件である。

Karteszら⁶⁰⁾(Institute of Nuclear Research of Hungarian Academy of Sciences,他に、Centre d'Etudes Nucleaires de Bordeaux-Gradignan, Universite Bordeaux, University of Debrecenの研究者)は、2005年にNANODERMの成果として、ヒト包皮をスキッドマウス(液性および細胞性免疫能を欠くためヌードマウスよりも各種感染症に対する抵抗力は弱い、移植腫瘍の生着率が高く、さまざまな正常組織も排除されにくいので、「生きた培養試験管」としてヒトや動物組織のレシピエントに広く用いられている)に移植し、その上皮の酸化チタンナノ粒子浸透性を調査した結果について報告している。NANODERMでは、まず、ヒトの皮膚にもっとも近い家畜の豚の皮膚を使用して、種々の処方の浸透実験を行い、超微粒子チタンは角質層を貫通しないということ、処方や暴露時間は大きな影響がないことが見出された。そして、次の段階で、ヒトボランティアのからの生検試料を得ることが困難になってきたので、スキッドマウスを使うことになったという。また、実験手段として、 $\mu\text{g/g}$ の元素濃度の定量が可能で、1~2 μm の縦方向の解像度を有するイオン顕微鏡(STIM:scanning transmission ion microscopy)や、PIXE(particle induced X-ray emission)、RBS(Rutherford backscattering)などを用いて解析している。超微粒子酸化チタンは、La Roche-PosayのAntheolios XL F60で疎水性のエマルジョンとして用いた。1、24、48時間処置した後、解析用試料とした。この手法によって、上皮の構造と組成は

明確に把握できた。また、本法は、NANODERMの目的である慢性暴露をシミュレートするための長時間塗布保持に適している。酸化チタン粒子は、1～24時間では、殆どが最外層のリポゾームクリーム中に均一に含まれ、角質層の剥離部分に到達しているだけであった。わずかに2例において角質層を通過し、顆粒層の境界に到っていた。イオンマイクロスコピーとTEMにより、ナノ粒子は最内部の角質細胞に到り、長時間の塗布保持では、さらに深く浸透する。しかし、顆粒細胞の細胞質中には見出されなかった。この方法により、他の浸透経路すなわち、毛包や脂腺、汗腺などについても調査し、ナノ粒子の正確な浸透深さを決定することを目標にしているとのことである。

in vitro 実験

酸化チタンの Toxicity に関する *in vitro* 実験は、*in vivo* 実験に比べると、1980年代から1990年代には少なかったが、2000年に入ると多くなってきた。*in vivo*での結果を *in vitro*で細胞特性の面から確認し、メカニズムを探るといった目的があると考えられる。実験の容易さもあってか、研究者の広がりも見られる。

Garrett ら (Northrop Serv. Inc., North Carolina) 及び Waters ら (Environmental Protection Agency) は⁶¹⁾、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞とウサギの肺胞マクロファージ(RAM)を利用した微粒子の毒性評価について報告した(1981)。モデル物質と重金属コーティングしたフライアッシュを用いて、RAMとCHO細胞に対する影響について検討した。シリカ(Cab-O-Sil;アモルファスシリカ)及び0～2、2～5、5～8 μm のフライアッシュとそれにニッケルや鉛、カドミウムをコーティングした粒子のうちシリカの毒性が最大であった。RAMのATP(アデノシン三リン酸)、CHO細胞の生存コロニーで比較するとシリカとけい酸(粒子ではない)は同程度の毒性であった。酸化チタン(0.45 μm 、Polyscienceから入手)はこの系において比較的不活性であるが、ATPの顕著な減少(細胞の生存能喪失を意味する)が血清のない媒体中の細胞に観測された。このことは酸化チタンの毒性についてさらに調べる必要があることを示唆している。CdOコーティングは毒性を増加させた。

Finch ら (Univ. California) 、McNeill ら (Battelle Columbus Division) は⁶²⁾、肺マクロファージと呼吸域粉塵の *in vitro* における相互作用について報告した(1987)。肺深部に沈着する微粒子の影響研究を目的に、ウシの気管支洗浄で得た肺胞マクロファージ細胞を5 $\mu\text{g/ml}$ の Ni_3S_2 (1.83 \pm 2.3 μm 、Inco Metals Co.)、 TiO_2 (1.57 \pm 2.3 μm 、Alpha Productsのものを粉碎、沈降、整粒した)、ガラスビーズ(2.1 \pm 1.8 μm)に20時間暴露し、光学、走査及び透過型電子顕微鏡で細胞の生存性、表面形態、内部構造、顆粒含量等を分析した。細胞死、細胞破壊、細胞顆粒形成等は、 Ni_3S_2 、 TiO_2 含量と相関があったが、

ガラスビーズは影響しない。細胞の微粒子影響研究には、個々の細胞ベースで粒子暴露の形状的な変化を記述する相関的顕微鏡技術が必須であることを強調した。

Kuper-Smith ら (Univ. Surrey, GBR) は⁶³、ハムスター気管上皮細胞培地での微粒子サンプルの *in vitro* 細胞毒性について報告した (1994)。初代培養ハムスター気管上皮細胞におけるニュートラルレッドの取込法を用いて、複合微粒子物質の細胞毒性効果を検討した。参照微粒子物質 (アルミナ A、アルミナ B、酸化第二鉄および二酸化チタンの表面にベンゾ[a]ピレンを吸着) の吸着したときの方が脱着時よりも細胞毒性が強かった。

Linnainmaa ら (Finnish Inst. Occupational Health) は⁶⁴、酸化チタンの光細胞毒性について追試する立場から、培養ラット肝上皮細胞における超微細二酸化チタンの毒性と細胞遺伝学的研究を行った (1997)。近紫外光 (365nm) 照射下で、超微細結晶の二酸化チタン (TD) の培養ラット肝上皮細胞 (RLE) に及ぼす影響を顔料 TD を対照に検討した。超微細 TD (Degussa P25, UV-TITAN M160 の 2 種類) は 5 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の濃度範囲で RLE に毒性を示さず、UV 照射の影響もなかった。また、5、10 及び 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の超微細及び顔料 TD (Kemira ADFC) で RLE を処理した場合に細胞の小核 (micronuclei) の発生数の増加は認められなかった。超微細 TD には顔料 TD と同様に染色体異常誘発性はないと判断した。

Zhou、黒田ら (大阪市大 医) は⁶⁵、白金(Pt)超微粒子担持ルチル型二酸化チタンの抗菌性について報告した (2000)。Pt 超微粒子担持ルチル型二酸化チタン (粒径 70nm、Pt 粒径分布ピーク 5nm、表面密度 $3 \times 10^{12}/\text{cm}^2$) について、大腸菌と黄色ぶどう球菌を用いて抗菌性試験を行い、イオン殺菌作用を持つ銅化合物と比較した。この酸化チタンは明と暗の両条件で強い抗菌効果を示した。酸化チタンは今までの研究では生物に毒性を持つという報告はない。環境保護からみると、Pt 超微粒子担持ルチル型二酸化チタン抗菌剤の有用性が大きいと思われるが、担持されている Pt の毒性について考慮する必要があるとしている。

Feng、Yan ら (Wuhan University of Technology) は⁶⁶、A₅₄₉、L₉₂₉ 細胞に対する炭酸カルシウムと酸化チタンナノ粒子の影響を調べた (2000)。炭酸カルシウムナノ粒子は水酸化カルシウム飽和溶液に炭酸ガスを通して、均一沈殿反応で得た (粒径提示なし)。酸化チタンナノ粒子は、Ti(OC₄H₉)₄ を原料としたゾル - ゲル法で作成した。マウスの結合組織からの L₉₂₉ 細胞、ヒト肺がん組織からの A₅₄₉ を培養した。MTT アッセイ法による測定と SEM による細胞観察を行った。炭酸カルシウムナノ粒子は A₅₄₉ の増殖を有意に阻害し、L₉₂₉ の増殖は若干改善したのに対し、酸化チタンナノ粒子は A₅₄₉ の増殖については炭酸カルシウムナノ粒子の L₉₂₉ の増殖への影響と同程度で、L₉₂₉ の増殖は明らかに抑制し

た。Ca²⁺ イオンの特別な役割があると推定している。

Zhang、日下（福井大学医学部）、Donaldson は⁶⁷⁾、老若ラットのマクロファージを採取して、Ni、Co、TiO₂ の超微粒子の有害性の比較を行った（2000）。使用したナノ粒子はそれぞれ 30nm 以下の粒子が 90%以上である。Wister 雄ラットの 2 ヶ月齢と 20 ヶ月齢のものから、肺胞洗浄液を採取し、遠心分離で細胞を分離した。このマクロファージを培養し、超微粒子懸濁液を加え、LDH と TNF- α を経時的に測定した。3 つの超微粒子の効果はそれぞれ違っていたが、20 ヶ月齢のラットからのマクロファージの感受性が高かった。酸化チタンナノ粒子は、比較して不活性であった。

Renwick、Donaldson（Napier Univ., Edinburgh, GBR）ら⁶⁸⁾は、超微粒子による肺胞マクロファージ食作用の阻害について報告している（2001）。超微粒子に暴露後のクリアランスの遅延は肺胞マクロファージ（AM）の食作用阻害のためか否かを調べた。AM の食作用活性はマウスの AM の細胞株 J774.2 に各種粒子を 8 時間暴露させ、2 μ m のラテックスビーズの食作用を測定して調べた。用いた粒子は二酸化チタン微粒子（Tioxide Ltd., 250nm）、その超微粒子（Degussa, 29nm）、カーボンブラック（260nm）、その超微粒子（14.3nm；UCB）であった。粒子の細胞毒性は MTT 活性で評価した。超微粒子と微粒子共 M に細胞毒性を示さなかった。ラテックス粒子を用いた AM の食作用活性の有意な低下は 0.39 μ g/mm² の UCB 暴露、及び 0.78 μ g/mm² の全タイプの粒子の暴露で認められた。超微粒子での有意な食作用阻害はそれぞれの微粒子でよりも低用量で生じた。全ての用量で、UCB は他の粒子より食作用を示さない AM の数が有意に多かった。粒子に暴露した細胞の培養上清は M の食作用活性に有意な作用を示さず、細胞 - 細胞接触が食作用障害に必要であった。粒子クリアランスの遅延に、粒子が介在した AM の食作用阻害が関与していた。

内野、徳永（国立医薬品食品衛生研究所）ら⁶⁹⁾は、酸化チタンへの紫外線照射による OH ラジカル生成の定量とその毒性について報告した（2002）。スピンをトラップする試薬を用いて OH ラジカルをトラップし、ESR スペクトルにより定量した。OH ラジカルの生成量は酸化チタンの結晶形（ルチル、アナターズ、非晶質）と大きさ（17 ~ 400nm；和光純薬、触媒学会、化粧品工業会、昭和電工より入手）により異なったが、その差異を UVA の吸収によって説明は出来なかった。さらに、チャイニーズハムスター卵巣細胞に対する毒性を調べ、OH ラジカルの生成量と毒性の間に有意な関係があることを見出した。

Rahman（Industrial Toxicological Research Center, India）ら、Dopp（University of Rostock, Germany）ら⁷⁰⁾は、超微粒子酸化チタンが細胞小核とシリアンハムスター胚（SHE）由来腺維芽細胞のアポトーシスを誘起するという研究報告を行った（2002）。超微

粒子酸化チタン (20nm) と微粒子酸化チタン (> 200nm) は、Oberdorster から支給されたものを用いた。SHE 細胞に超微粒子酸化チタン $1.0 \mu\text{m}/\text{cm}^2$ を加え 12 時間後に、小核誘起が有意に起きることが示された。また、アポトーシスが誘起されることも、ビスベンジミドの染色、DNA ラダーパターン、TEM 観察などで確認された。超微粒子酸化チタンがアポトーシスを誘起することの初めての報告だとしている。

渡辺、相澤 (北里大学) ら ⁷¹⁾ は、フィッシャーラットの肺胞マクロファージに対する繊維状と粒子状の酸化チタンの効果の違いについて調査した結果を報告した (2002)。繊維状酸化チタンは長径 $5.46 \pm 2.12 \mu\text{m}$ 、短径 $0.70 \pm 0.14 \mu\text{m}$ の繊維状物質研究協議会製のもの、粒子状酸化チタンは $1.8 \pm 0.96 \mu\text{m}$ のチタン工業 (株) より入手したのものを用いた。肺胞マクロファージへの毒性をユニークな Magnetometry (Fe_3O_4 粒子を細胞中に導入して磁場をかけてその挙動を調べる)、LDH アッセイ、顕微鏡によるモルフォロジーなどの調査によって、粒子状酸化チタンには毒性がないが、繊維状酸化チタンには、濃度に依存する毒性があることが示された。

Meyer ら ⁷²⁾ (University of Vermont) は、 TiO_2 へのラット齢による腺維芽細胞の応答の違いについて調査している (2002)。フィッシャー 344 ラットの 6 月齢と 24 月齢から分離した肺の腺維芽細胞を培養し、 TiO_2 (粒径表示なし) $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ に 24 時間暴露し、核内増殖抗原 (PCNA) により細胞増殖を評価した。老齢ラットの腺維芽細胞は増殖したが、若いラットからの細胞は影響がなかった。このことは、浮遊物質に関連した疾病に対し、老齢者のリスクが高まる可能性があることを示唆する。

Ivankovic (Ruder Boskovic Inst., Zagreb, Croatia) ら ⁷³⁾ は、特定の金属酸化物超微粒子を利用するマウス SCCVII 系へん平上皮癌細胞の光死滅法について報告した (2003)。

光励起状態の金属酸化物系半導体粒子は酸化還元反応を誘発する小型の電気化学電池に相当し、酸化チタンは各種溶媒内で安定な光触媒である。各種癌細胞に紫外線を照射して死滅効果を測定し、その際に TiO_2 (DegussaP25 ; 30nm) や WO_3 、鉄ドーブ型 TiO_2 (ゼル - ゲル法により調製) の光触媒効果を評価した。in vitro 条件で SCCVII 系へん平上皮癌細胞を培養したところ、鉄ドーブ型 TiO_2 の光死滅活性が最高であった。光触媒の粒子径や分散度が細胞毒性や触媒活性に影響し、Fe/Ti モル比 = 0.136 の超微細な (9nm) 鉄ドーブ型 TiO_2 が最良であった。鉄ドーブ型からは、鉄イオンが溶出し、その作用でさらに OH ラジカルを生成することによって考えられた。

吉田、三科 (千葉大学)、森田 (北里大学) ⁷⁴⁾ は、疲労によって生成した破片が周辺組織に炎症を起こすことが知られている人口関節用合金とセラミック微粒子の粒径と細胞毒性について調査した (2003)。摩擦試験に用いられるピンオンディスク疲労試験機で $3 \sim 4 \mu\text{m}$

に中央値をもつ微粒子と 75%以上が $15\mu\text{m}$ より大きい粒子の 2 種の Co-28Cr-6Mo 粒子及び $3\sim 4\mu\text{m}$ に中央値をもつ微粒子、 $7\sim 8\mu\text{m}$ に中央値をもつ中粒子、 $12\mu\text{m}$ に中央値をもつ大粒子の 3 種の Ti-6Al-4V の摩耗粒子を作製した。シリカは平均 $2\mu\text{m}$ と $7\mu\text{m}$ 程度のもの、アルミナは $3\mu\text{m}$ と $8\mu\text{m}$ 程度のもの、 TiO_2 は $2\sim 3\mu\text{m}$ 程度のものを使用した。ヒトリンパ芽球細胞 (U937) を培養した RPMI-1640 培地中に粒子を投入し、時間の変化とともに LDH を測定する。貪食される粒子の大きさは、 $11.9\pm 11.2\mu\text{m}$ が限界でこれより大きいと貪食されない。細胞増殖の阻害は、貪食される粒子の大きさであっても、粒径には依存しなかった。阻害のレベルは $\text{SiO}_2 > \text{Co-28Cr-6Mo} > \text{Ti-6Al-4V} > \text{TiO}_2$ であった。これらのことからメタルイオンの溶出以外に毒性を決める因子もあることが示されたとしている。

Cao (Wuhan University of Technology) ら⁷⁵⁾ は、肝がん細胞への酸化チタンナノ粒子の選択的増殖阻害について報告した (2003)。Bel-7402 ヒト肝臓がん細胞と L-02 ヒト肝細胞への MTT アッセイと TEM 観察により、同大学で調製した平均 47nm の TiO_2 ナノ粒子の効果を調査した。 TiO_2 ナノ粒子は、正常肝細胞に大してはわずかしき影響を及ぼさないが、肝がん細胞の増殖を明らかに妨害する。その機構は、ナノ粒子はがん細胞に貪食され、リソゾームを変質させて細胞質構造を破壊することによる。ナノ粒子はがん細胞と正常細胞とで異なる作用がある。

Gutwein (Purdue Univ., IN, USA) ら⁷⁶⁾ は、アルミナおよび酸化チタンの従来型粒子と比較した、ナノ相存在下での生存骨芽細胞の密度増加について報告した (2004)。ミクロン大の従来型粒子とナノ相粒子 (Nanophase Technologies Corp. により提供されたアルミナ 23nm 、酸化チタン 32nm) の各存在下、培地中 $10\sim 0.1\text{mg/ml}$ の粒子濃度で 6 時間までヒト骨芽細胞を培養した。粒子材料には標題材料 2 種、基材にはほうけい酸ガラス製カバーガラスを用い、基材に接着した細胞の生存率と密度を蛍光顕微鏡で調べた。全ての材料粒子が細胞に有害な影響を及ぼすという従来の結果を確認した上、従来型粒子の方が細胞のアポトーシスをより多く増加させることが初めて判明した。このようなナノ大の粒子摩耗屑は、ナノ相材料製の新規な整形インプラントの関節部品間の摩擦で生成する恐れがある。しかし、本結果は、ナノ相セラミックスが従来型よりも、より有効な骨補綴材料になり得る追加の証拠を示した。

山本ら (物材機構)⁷⁷⁾ は、5 種類のセラミック粒子 (ほとんどがサブミクロンサイズ) についてその細胞毒性を調べた結果について報告している (2003)。マウス線維芽細胞 L929 及びマウス単核白血球マクロファージ J774A.1 を用いて、細胞毒性にはコロニーの数のコントロールとの比によった。セラミック粒子は、 Al_2O_3 (590nm)、 ZrO_2 (530nm)、 Si_3N_4 (700nm)、 SiC (180nm) とともに球状で、全て品川白煉瓦 (株) 製、 TiO_2 は (株) ネットレンの 90 、 130 、 1600nm の球状粒子 (Al_2O_3 で表面を安定化したもの) 及び石原産業 (株) 製

の球状（1次粒径 10～50nm）粒子、スピンドル状粒子、デンドライト状粒子を使用した。投与粒子の全容量で比較すると、粒子の細胞毒性は化学種によらないこと、粒径にもよらないことが示された（これは「粒子の機械的細胞毒性と言って良いかもしれない」と述べている）。形状については J774A.1 について、その差が明瞭でデンドライト形状が最も毒性が強く、次いでスピンドル状、球状であった。このことにより、粒子の細胞毒性は粒子の貪食過程と関連があると推察している。

Lucarelli (Institute of Biomedical Technologies, National Research Council, Italy) ら⁷⁸⁾ は、マクロファージの本来的な防御機能がナノサイズのセラミック及び金属粒子によってバイアスされることを示した（2004）。

SiO₂、TiO₂、ZrO₂ のナノ粒子は、TAL Materials, Inc. (MI, USA) により、有機金属アルコールを噴霧した火炎熱分解（1200～2000℃、酸素中）で製造されたもので、SiO₂ は平均 15nm（4～40nm）、TiO₂ は平均 70nm（20～160nm）、ZrO₂ は 5～30nm の間に分布している。Co 粒子は 50～200nm（Sigma Chemical Co. (MO, USA)）である。細胞はヒト骨髄単核細胞系統の組織球性リンパ腫 U-937 を用い、XTT アッセイ（XTT（テトラゾリウム試薬）によって、ミトコンドリアの機能の損傷にかかわる細胞傷害を評価）により細胞生存活性分析、炎症反応解析を、Toll 様受容体（TLR）の発現の RT-PCR（ポリメラーゼ連鎖反応 - 逆転写酵素）反応による解析とマクロファージによるサイトカイン IL-1、TNF- α 、IL-1Ra の産生の測定によって行った。セラミック粒子は 400 μ g/10⁶ 個細胞で 96 時間まで毒性を示さなかったが、Co 粒子は 100 μ g/10⁶ 個細胞で 24 時間で毒性が有意であった。TLR の発現に関しては、ナノ粒子は細かく見るといろいろな特性を示すが、概して影響が少なかった。サイトカインの産生は、SiO₂ で顕著であり、TiO₂ と ZrO₂ では少なかった。Co は TNF- α の産生が有意で、IL-1 と IL-1Ra では産生を妨害した。このように、ナノ粒子はそれぞれ異なった影響を発現するが、これらの効果を完全に調べることにより免疫応答の制御不全に基づく、いくつかの病気の原因の機構に光を当てることができるかもしれないと考えられた。

田村、亘理（北大歯学研究科）ら⁷⁹⁾ は、金属チタン、酸化チタン、CNT の微粒からナノにわたる粒子径の細胞の機能やモルフォロジーに与える効果について報告している（2004）。金属チタン(Ti)は 3、10、50、150 μ m、酸化チタンは 0.05、0.5、3 μ m の粒子を用意した。CNT は直径 20nm、長さ 100nm である。細胞はヒトの末梢血から分離した好中球を用い、細胞生存率、培養中の LDH 活性、スーパーオキシドアニオン（O₂⁻）生成、サイトカイン TNF- α 、IL-1 の放出を測定した。Ti においても TiO₂ においても粒径の効果は明らかで、小さいほど細胞生存率は低下し、LDH 活性は増加する。O₂⁻ 生成は、Ti では 3 μ m で顕著になり、その他の粒子は全てのサイズでコントロールよりも生成量大きい。サイトカインは Ti では 10 μ m で顕著になり、他粒子も同程度である。SEM 観察によると

好中球の変質の様子が見てとれる。好中球は活性化し、繭のように膨れ、細胞質中に粒子を貪食する。50nm の TiO_2 と CNT は好中球にモルフォロジー変化を起こさせ、6 時間後には萎縮して破壊されるものが観察された。

Hussain (Air Force Research Laboratory, USA) ら⁸⁰⁾ は、BAL3A ラット肝細胞を用いて種々の粒径のナノ粒子 (Ag (15、100nm) MoO₃ (30、150nm) Al (30、103nm) Fe₃O₄ (30、47nm) TiO₂ (40nm)) 及び微粒子 (CdO (1 μ m) MnO₂ (1 ~ 2 μ m) W (27 μ m)) への毒性を調べた (2005)。

これら粒子の中で、Ag (15、100nm) は最も毒性が高く、10 ~ 50 μ g/ml の投与量においても MTT、LDH アッセイともに有意であった。MoO₃、Fe₃O₄、Al はこの濃度では有意ではなかったが、250 μ g/ml では有意な結果を示した。総じて Ag は毒性が高く、MoO₃ は中位で、Fe₃O₄、Al、W、MnO₂ はより低いかほとんどないと言ってよかった。CdO は低い投与量で毒性を示した。TiO₂ はほとんど毒性はないと言ってよい。Ag 粒子の毒性は酸化ストレスによるものであると考えられ、細胞は萎縮し、異常な形になった。

Kang (Soonchunhyang University Hospital, Korea) ら⁸¹⁾ は、酸化チタン微粒子に対する肺胞マクロファージの応答を IL-25、IL-13 の産生で調べた結果を報告した (2005)。酸化チタンは平均粒径が 0.29 μ m (ルチル型) で、牛血清アルブミンでコーティングして凝集と疎水性を最小化したものを用い、雄 7 週令のラットを in vivo (気管注入) in vitro (肺胞マクロファージ採取) で実験した。

エンドキシンフリーの 4mg/0.2ml の酸化チタン注入では、24 時間後に BAL からの肺胞マクロファージは蛋白及び mRAM レベルで IL-25 と IL-23 を産生し、72 時間で有意な量であった。また、in vitro でも肺胞マクロファージは酸化チタン粒子の作用 (1 ~ 40 μ g/ml、24 ~ 72 時間) により、投与量/時間に依存性が認められた。このことで肺胞マクロファージは、IL-13 と IL-25 の産生によって粒子に起因する肺の炎症に重要な役割を演じていることを示した。

Gurr、Wang (Institute of Cellular and Organismic Biology, Academia Sinica, Taiwan) ら⁸²⁾ は、光照射がない状態でも超微粒酸化チタンがヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B) に酸化障害を誘起することを報告している (2005)。使用した超微粒酸化チタンは、アナターゼ型の 10nm (Hombikat UV100)、20nm (Millenium PC500)、> 200nm (cat. no.T8141 Aldrich-Sigma 社)、及び 200nm のアナターゼとルチル型 (cat. no.40167-01、関東化学) である。酸化チタン濃度 10 μ g/ml で、上記細胞の DNA の酸化損傷、脂質過酸化反応、窒素酸化物・過酸化水素生成、小核形成測定、MTT アッセイを行った。結果は 10 及び 20nm のアナターゼ酸化チタンは、光照射なしで DNA に酸化障害を与え、脂質過酸化反応、小核形成を誘起し、窒素酸化物・過酸化水素生成を増加させた。しかし、200nm と 200nm 以

上の粒子は、光照射なしでは酸化ストレスを生じなかった。これまでの報告と異なり、200nm のルチル型は光照射下で過酸化水素と DNA・酸化損傷を示した。アナターゼの200nm の粒子は、光なしでは DNA 損傷を生じなかった。これらの結果は、超微粒子酸化チタンの気管注入により炎症反応が起こりうることを示しているとしている。

Soto, Murr (Department of Metallurgical and Materials Engineering, University of Texas) Powell (Department of Biological Sciences, 同大学) ら⁸³⁾ は、多くの人工ナノ粒子について TEM によるキャラクタライゼーションを行うと同時に細胞毒性を比較した。対象粒子は銀(30nm ; 0.4, 1 μ m)、ガンマアルミナ(50nm ; 0.7 μ m)、ガンマ酸化鉄(50nm ; 0.7 μ m)、ジルコニア (20nm ; 0.7 μ m)、80%アナターゼ (40nm ; 0.8 μ m) (以上は Nanotechnologies, Inc. 製)、ルチル (5 ~ 15nm 径、20 ~ 60nm 長 ; 1 μ m、Nanostructural & Amorphous Materials Inc. 製)、アナターゼ (20nm ; 1 ~ 5 μ m ; ルチルと同じ)、窒化ケイ素 (60nm ; 1 μ m、MTI Corp. 製)、アスベスト (クリソタイル : 白石綿) (20nm 径 ; 0.5 ~ 15 μ m 長 ; Geological Science Dept. Univ. of Texas)、カーボンブラック (20nm ; 0.5 μ m、Cabot Corp. 製)、SWCNT (“ ナノローブ ”、10 ~ 20nm 径 ; 10 μ m、フラーレンと鉄触媒が混入、Carbon Nanotechnologies, Inc. 製)、MWCNT (混合物) (10 ~ 30nm 径、50nm ~ 1 μ m 長 ; 50%NT、50nm のフラーレン、グラファイト、鉄触媒が混入、Rosseter Holdings, Ltd. 製)、MWCNT (15nm 径 ; 20nm ~ 1 μ m 長 ; 85%、フラーレン混合 ; Nanolab, Inc. 製) である。ここで (1 次粒子の平均径 ; 凝集粒子の平均径、製造会社)、細胞はラットの肺胞マクロファージ (RAW267.9 細胞) を使用し、MTT アッセイで 48 時間後の吸光度により細胞生存率を求め、クリソタイルの値を 1 として、その比により毒性の強さを比較した。

5 μ g/ml の濃度では、銀が 1.8 (凝集径 0.4 μ m)、1.5 (同 1 μ m)、SWCNT と MWCNT (混合物) が 1.1 でクリソタイルより細胞毒性が強かったのに対し、ガンマ酸化鉄、MWCNT が 0.9、カーボンブラックが 0.8、ガンマアルミナとジルコニアが 0.7 で、80%アナターゼ、アナターゼ、窒化ケイ素が 0.4、ルチルが 0.3 であった。

10 μ g/ml の濃度では、全てクリソタイルより低く、SWCNT が 0.9 で 1 μ m の銀、MWCNT (混合物)、MWCNT が 0.8、ジルコニアとカーボンブラックが 0.6、ガンマアルミナが 0.4、80%アナターゼが 0.2、0.4 μ m の銀、ガンマ酸化鉄、アナターゼが 0.1、窒化ケイ素が 0.06、ルチルは 0.05 であった。この方法は細胞死のみで判断するものではあるが、1 次スクリーニングに使用できる。カーボンナノ粒子は注意すべきものとして、もっと詳細な研究が必要であるとしている。

以上、in vitro 実験の結果を経年的に記述したが、相反した結果も含まれており、全体的傾向をとらえることが難しい。酸化チタンの低毒性のためとも考えられる。

64)、77)で報告されている形状の影響は注目すべきであろう。

引用文献

- 1) Lee K P, Henry N W III, Trochomowicz H J, Reinhardt C F, (E.I. du Pont de Nemours & Co. Inc., DE, USA); Pulmonary response to impaired lung clearance in rats following excessive TiO₂ dust deposition.; Environ Res Sect A; Vol.41, No.1, page. 144-167; (1986)
- 2) Takenaka S, Muhle H, (Fraunhofer-Inst. Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover, DEU) Dornhoefer-Takenaka H, (National Inst. Environmental Studies, Ibaraki, JPN); Alveolar distribution of fly ash and of titanium dioxide after long-term inhalation by wistar rats. ; J Aerosol Sci; Vol.17 No.3, page. 361-364; (1986)
- 3) Mcmillan C H, Jones A D, Vincent J H, Johnston A M, Douglas A N, Cowie H, (Inst. Occupational Medicine, Edinburgh, GBR); Accumulation of mixed mineral dusts in the lungs of rats during chronic inhalation exposure.; Environ Res Sect A; Vol.48, No.2, page.218-237; (1989)
- 4) Donaldson K, Brown G M, Brown D M, Robertson M D, Slight J, Cowie H, Jones A D, Bolton R E, Davis J M G, (Inst. Occupational Medicine, Edinburgh, GBR); Contrasting bronchoalveolar leukocyte responses in rats inhaling coal mine dust, quartz, or titanium dioxide: Effects of coal rank, airborne mass concentration, and cessation of exposure.; Environ Res Sect A; Vol.52, No.1, page.62-76; (1990)
- 5) Muhle H, Bellmann B, Creuzenberg O, Heinrich U, Ketker M, (Fraunhofer-Inst. Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover, DEU) MERMELSTEIN R, (Xerox Corp., NY, USA); Dust overloading of lungs after exposure of rats to particles of low solubility: comparative studies.; J Aerosol Sci; Vol.21, No.3, page.374-377; (1990)
- 6) Creuzenberg O, Bellmann B, Heinrich U, Fuhst R, Koch W, Muhle H, (Fraunhofer Inst. Toxicology and Aerosol Research, Hannover, DEU); Clearance and retention of inhaled diesel exhaust particles, carbon black, and titanium dioxide in rats at lung overload conditions.; J Aerosol Sci; Vol. 21 No. Suppl 1; Page. S455-S458; (1990)
- 7) Ferin J, Oberdorster G, Penney D P, Solderholm S C, Gelein R, Piper H C, (Univ. Rochester, NY, USA); Increased pulmonary toxicity of ultrafine particles? I. Particle clearance, translocation, morphology.; J Aerosol Sci; Vol. 21 No. 3; page. 381-384; (1990)
- 8) Oberdorster G, Ferin J, Finkenstein G, Wade P, Corson N, (Univ. Rochester, NY, USA); Increased pulmonary toxicity of ultrafine particles? II. Lung lavage studies.;

- J Aerosol Sci; Vol.21, No.3, page. 384-387; (1990)
- 9) Oberdorster G, Ferin J, Finkenstein J, Soldeholm S, Gelein R, (Univ. Rochester, NY, USA); Mechanistic studies on particle-induced acute and chronic lung injury.; Aerosols Sci Ind Health Environ Vol.2; page.1229-1233; (1990)
 - 10) Gallagher J, Lewtas J, (US Environmental Protection Agency, NC, USA) Heinrich U, (Fraunhofer-Inst. Toxikologie und Aerosolforschung, Hannover, DEU), George M, Hendee L, (Integrated Lab. Systems, NC, USA), Phillips D H, (Haddow Lab., Surrey, GBR); Formation of DNA adducts in rat lung following chronic inhalation of diesel emissions, carbon black and titanium dioxide particles.; Carcinogenesis; Vol.15, No.7; page.1291-1299; (1994)
 - 11) Oerdorster G, (Univ. Rochester, New York, USA); Significance of Particle Parameters in the Evaluation of Exposure-Dose-Response Relationships of Inhaled Particles.; Part Sci Technol; Vol.14, No.2, page. 135-151; (1996)
 - 12) Osier M, Oberdorster G, (Univ. Rochester School of Medicine, New York); Intratracheal Inhalation vs Intratracheal Instillation: Differences in Particle Effects.; Fundam Appl Toxicol; Vol.40 No.2; page. 220-227; (1997)
 - 13) Afaq F, Abidi P, Matin R, Rahman Q, (Industrial Toxicology Res. Centre, Lucknow, IND); Cytotoxicity, Pro-oxidant Effects and Antioxidant Depletion in Rat Lung Alveolar Macrophages Exposed to Ultrafine Titanium Dioxide.; J Appl Toxicol; Vol. 18 No. 5; page. 307-312; (1998)
 - 14) Kyono H, Serita F, Toya T, Homma K, (National Inst. Industrial Health, Kawasaki, JPN), Ohta H, Yamauchi Y, Nakakita M, (Kitasato Univ., Sagamihara, JPN), ISHIHARA Y, KAGAWA J, (Tokyo Women's Medical Univ., Tokyo, JPN); A New Model Rat with Acute Bronchiolitis and Its Application to Research on the Toxicology of Inhaled Particulate Matter. ; Ind Health; Vol. 37 No. 1; page. 47-54; (1999)
 - 15) 京野洋子, 芹田富美雄, ; A bronchiolitic model rat, a high responder to inhaled particles. ; エアロゾル科学・技術研究討論会; Vol. 15th; page. 236-238; (1998)
 - 16) 太田久吉, 山内洋司, 関幸雄, 京野洋子, 芹田富美雄, 丸山良子, 戸谷忠雄, 石原陽子, 香川順; 気管支炎モデルラットに対する二酸化チタンエアロゾル短期暴露の健康影響 第4報 二酸化チタン暴露による BALF 中の臨床生化学的所見); 大気環境学会年会講演要旨集; Vol.36th, page. 314; (1995)
 - 17) 石原陽子, 香川順, 京野洋子, 芹田富美雄, 丸山良子, 戸谷忠雄, 太田久吉, 山内洋司, 関幸雄; 気管支炎モデルラットに対する二酸化チタンエアロゾル短期暴露の健康影響 第3報 BALF 中の IL-8 と細胞接着分子の変動); 大気環境学会年会講演要旨集; Vol.36th, page.313; (1995)

- 18) 戸谷忠雄, 京野洋子, 芹田富美雄, 久保田久代, 石原陽子, 香川順, 太田久吉, 山内洋司, 関幸雄; 気管支炎モデルラットに対する二酸化チタンエアロゾル短期暴露の健康影響 第2報 BALF中の細胞分別と肺病理変化の対応); 大気環境学会年会講演要旨集; Vol.36th; page.312; (1995)
- 19) 京野洋子, 芹田富美雄, 有藤平八郎, 丸山良子, 高橋正也, 久保田久代, 戸谷忠雄, 本間克典; 呼吸器疾患モデル動物を用いた環境汚染物質の生体影響評価手法の開発に関する研究); 環境保全研究成果集; Vol. 1993 No. Pt 2; page. 74.1-74.22; (1994)
- 20) 京野洋子, 芹田富美雄, 有藤平八郎, 丸山良子, 久保田久代, 戸谷忠雄; 気管支炎モデルラットに対する二酸化チタンエアロゾル短期暴露の健康影響); 大気汚染学会講演要旨集; Vol. 35th; page. 418; (1994)
- 21) Oberdorster G.; Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles; Int. Arch Occup Environ Health, Vol.74, P.1-8 (2001)
- 22) Donaldson K., Stone V., Gilmour P. S., Brown D. M., MacNee W.; Ultrafine Particles: mechanism of lung injury; Philosophical Transactions of the Royal Society, London, A, No.358, P2741-49; 2000
- 23) Nikula K J; Rat lung tumors induced by exposure to selected poorly soluble nonfibrous particles. ; Inhalation toxicology; Vol.12, No.1-2, p97-119; Jan-Feb 2000
- 24) Borm PJA, Hohr D, Steinfartz Y, Zeittrager I, Albrecht C; Chronic inflammation and tumor formation in rats after intratracheal instillation of high doses of coal dusts, titanium dioxides, and quartz; INHALATION TOXICOLOGY, Vol.12, No.3, P225-231; 2000
- 25) Tran C L, Buchanan D, Cullen R T, Searl A, Jones A D, Donaldson K; Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence Of particle surface area on inflammation and clearance. ; Inhalation toxicology; Vol.12, No.12, p1113-26; Dec 2000
- 26) Cullen R T, Tran C L, Buchanan D, Davis J M, Searl A, Jones A D, Donaldson K; Inhalation of poorly soluble particles. I. Differences in inflammatory response and clearance during exposure. ; Inhalation toxicology; Vol.12, No.12, p1089-111; Dec 2000
- 27) Donaldson Ken, Tran C Lang; Inflammation caused by particles and fibers. ; Inhalation toxicology; Vol.14, No.1, p5-27; Jan 2002
- 28) Donaldson Ken, Stone Vicki; Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles. ; Annali dell'Istituto superiore di sanita; Vol.39, No.3, p405-10; 2003
- 29) Dick C.A.J, Brown D.M., Donaldson K., Stone V.; The Role of Free Radicals in the Toxic and Inflammatory Effects of Four Different Ultrafine Particle Types; Inhalation toxicology; Vol.15, p39-52, 2003

- 30) Renwick L C, Brown D, Clouter A, Donaldson K; Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. ; Occupational and environmental medicine; Vol.61, No.5, p442-7; May 2004
- 31) Donaldson K; Nonneoplastic lung responses induced in experimental animals by exposure to poorly soluble nonfibrous particles. ; Inhalation toxicology; Vol.12, No.1-2, p121-39; Jan-Feb 2000
- 32) Everitt JI; Mangum JB; Bermudez E; Wong BA; Asgharian B; Reverdy EE; Comparison of selected pulmonary responses of rats, mice, and syrian golden hamsters to inhaled pigmentary titanium dioxide; Inhalation toxicology, 2000, Vol.12, No.3, P275-282
- 33) Reverdy EE; Bermudez E; Mangum JB; Asgharian B; Wong B; Everitt JI; Protein carbonyls in bronchoalveolar lavage fluid in mice, rats, and hamsters following inhalation of pigmentary titanium dioxide particles; Inhalation toxicology, Vol.12, No.3, P283-289; 2000
- 34) Bermudez Edilberto, Mangum James B, Asgharian Bahman, Wong Brian A, Reverdy Edward E, Janszen Derek B, Hext Paul M, Warheit David B, Everitt Jeffrey I; Long-term pulmonary responses of three laboratory rodent species to subchronic inhalation of pigmentary titanium dioxide particles. ; Toxicological sciences - an official journal of the Society of Toxicology; Vol.70, No.1, p86-97; Nov 2002
- 35) Bermudez Edilberto, Mangum James B, Wong Brian A, Asgharian Bahman, Hext Paul M, Warheit David B, Everitt Jeffrey I; Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. ; Toxicological sciences - an official journal of the Society of Toxicology; Vol.77, No.2, p347-57; Feb 2004
- 36) Hext PM, Tomenson JA, Thompson P; Titanium dioxide: Inhalation toxicology and epidemiology; Annals of Occupational Hygiene; Vol.49, No.6, p461-472; 2005
- 37) Hohr Doris, Steinfartz Yvonne, Schins Roel P F, Knaapen Ad M, Martra Gianmario, Fubini Bice, Borm Paul J A; The surface area rather than the surface coating determines the acute inflammatory response after instillation of fine and ultrafine TiO₂ in the rat. ; International journal of hygiene and environmental health; Vol.205, No.3, p239-44; Apr 2002
- 38) Rehn B, Seiler F, Rehn S, Bruch J, Maier M; Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: untreated and surface treated. ; Toxicology and applied pharmacology; Vol.189, No.2, p84-95; Jun 1 2003
- 39) Warheit D B, Reed K L, Webb T R; Pulmonary toxicity studies in rats with

- triethoxyoctylsilane (OTES)-coated, pigment-grade titanium dioxide particles: bridging studies to predict inhalation hazard. ; *Experimental lung research*; Vol.29, No.8, p593-606; Dec 2003
- 40) Warheit DB, Brock WJ, Lee KP, Webb TR, Reed KL; Comparative pulmonary toxicity inhalation and instillation studies with different TiO₂ particle formulations: Impact of surface treatments on particle toxicity; *TOXICOLOGICAL SCIENCES*; Vol.88, No.2, p514-524; 2005
- 41) Ahn MH, Kang CM, Park CS, Park SJ, Rhim T, Yoon PO, Chang HS, Kim SH, Kyono H, Kim KC; Titanium dioxide particle - induced goblet cell hyperplasia: association with mast cells and IL-13; *RESPIRATORY RESEARCH*; Vol.6; 2005
- 42) Wiethoff Andrea J, Reed Kenneth L, Webb Thomas R, Warheit David B; Assessing the role of neutrophil apoptosis in the resolution of particle-induced pulmonary inflammation. ; *Inhalation toxicology*; Vol.15, No.12, p1231-46; Oct 2003
- 43) Zhang Donna D, Hartsky Mark A, Warheit David B; Time course of quartz and TiO₂ particle-induced pulmonary inflammation and neutrophil apoptotic responses in rats. ; *Experimental lung research*; Vol.28, No.8, p641-70; Dec 2002
- 44) D. B. Warheit, W. J. Brock, K. P. Lee, T. R. Webb, and K. L. Reed ; Comparative Pulmonary Toxicity Inhalation and Instillation Studies with Different TiO₂ Particle Formulations: Impact of Surface Treatments on Particle Toxicity ; *TOXICOLOGICAL SCIENCES* 88(2), 514–524 (2005)
- 45) Warheit, David B.; Webb, Thomas R.; Sayes, Christie M.; Colvin, Vicki L.; Reed, Kenneth L. ; Pulmonary Instillation Studies with Nanoscale TiO₂ Rods and Dots in Rats: Toxicity Is not Dependent upon Particle Size and Surface Area ; *Toxicological Sciences* (2006), 91(1), 227-236
- 46) Borm Paul J A, Schins Roel P F, Albrecht Catrin; Inhaled particles and lung cancer, part B: paradigms and risk assessment. ; *International journal of cancer. Journal international du cancer*; Vol.110, No. 1, p3-14; May 20 2004
- 47) Geiser Marianne, Rothen-Rutishauser Barbara, Kapp Nadine, Schurch Samuel, Kreyling Wolfgang, Schulz Holger, Semmler Manuela, Im Hof Vinzenz, Heyder Joachim, Gehr Peter; Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. ; *Environmental health perspectives*; Vol.113, No.11, p1555-60; Nov 2005
- 48) Kapp Nadine, Kreyling Wolfgang, Schulz Holger, Im Hof Vinzenz, Gehr Peter, Semmler Manuela, Geiser Marianne; Electron energy loss spectroscopy for analysis of inhaled ultrafine particles in rat lungs. ; *Microscopy research and technique*; Vol.63, No.5, p298-305; Apr 1 2004

- 49) Wang B, Feng WY, Zhao YL, Xing GM, Chai ZF, Wang HF, Jia G; Status of study on biological and toxicological effects of nanoscale materials; SCIENCE IN CHINA SERIES B-CHEMISTRY; Vol.48, No.5, p385-394; 2005
- 50) Adams, Laura K.; Lyon, Delina Y.; Alvarez, Pedro J. J. ; Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions ; Water Research (2006), 40(19), 3527-3532
- 51) 田中勇武、森本泰夫、大神明、大藪貴子 ; NEDO 委託研究報告書「ナノ粒子の安全性評価(ナノ粒子の吸入暴露による生体影響評価の予備的試験)に関する調査研究」2006年5月、
- 52) Boffetta P, Gaborieau V, Nadon L, Parent M F, Weiderpass E, Siemiatycki J; Exposure to titanium dioxide and risk of lung cancer in a population-based study from Montreal. ; Scandinavian journal of work, environment & health; Vol.27, No.4, p227-32; Aug 2001
- 53) Boffetta Paolo, Soutar Anne, Cherrie John W, Granath Fredrik, Andersen Aage, Anttila Ahti, Blettner Maria, Gaborieau Valerie, Klug Stefanie J, Langard Sverre, Luce Daniele, Merletti Franco, Miller Brian, Mirabelli Dario, Pukkala Eero, Adami Hans-Olov, Weiderpass Elisabete; Mortality among workers employed in the titanium dioxide production industry in Europe. ; Cancer causes & control - CCC; Vol.15, No.7, p697-706; Sep 2004
- 54) Mueller-Goymann C C, Bennat C, Gruenefeld J, (Technische Univ. Braunschweig); Penetration von partikulaeren UV-Filtern in die Haut; Parfuem Kosmet, Vol.79, No.5, page.24-26; (1998)
- 55) Lademann J., Weigmann H.J., Rickmeyer C., Barthelmes H., Schaefer H., Mueller G.,Sterry W.; Penetration of Titanium Dioxide Microparticles in a Sunscreen Formulation into the Hony Layer and the Follicular Orifice; Skin Pharmacol Appl Skin Physiol,Vol.1999,No.12,P247-56;1999
- 56) Lademann J., Otberg N., Richter H., Weigmann H.J., Lindemann U., Schaefer H., ,Sterry W.; Investigation of Follicular Penetration of Topically Applied Substances; Skin Pharmacol Appl Skin Physiol,Vol.2001,No.14(suppl 1),P17-22;2001
- 57) Pfluecker F., Wendel V., Hohenberg H., Gaertner E., Will T., Pfeiffer S., Wepf R., Gers-Barlag H.; The Human Stratum Corneum Layer: An Effective Barrier against Dermal Uptake of Different Forms of Topically Applied Micronised Titanium Dioxide; Skin Pharmacol Appl Skin Physiol,Vol.2001,No.14(suppl 1),P17-22;2001
- 58) Schulz J., Hohenberg H., Pfluecker F., Gaertner E., Will T., Pfeiffer S., Wepf R., Wendel V., Gers-Barlag H., Witttern K.-P.; Advanced Drug Delivery Reviews,

Vol.54,suppl.1,P157-63;2002

- 59) Christ R W, (CIC GmbH, Frankfurt, DEU); Safety and Efficacy of Microfine Titanium Dioxide;Cosmet Toiletries; Vol. 118 No. 10; page. 73-74, 76, 78,80; (2003)
- 60) Kertesz Z, Szikszai Z, Gontier E, Moretto P, Surleve-Bazeille JE, Kiss B, Juhasz I, Hunyadi J, Kiss AZ; Nuclear microprobe study of TiO₂-penetration in the epidermis of human skin xenografts; Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section B-Beam Interactions with Materials and Atoms; Vol.231, p280-285; 2005
- 61) Garrett N E, Campbell J A, Stack H F, (Northrop Serv. Inc., North Carolina) Waters M D, Lewtas J, (Environmental Protection Agency, North Carolina); The utilization of the rabbit alveolar macrophage and Chinese hamster ovary cell for evaluation of the toxicity of particulate materials. I. Model compounds and metal-coated fly ash; Environ Res Sect A; Vol. 24 No. 2; page. 345-365; (1981)
- 62) Finch G L, Hayes T L, (Univ. California, CA, USA) Mcneill K L, Fisher G L, (Battelle Columbus Division, OH, USA); In vitro interactions between pulmonary macrophages and respirable particles; Environ Res Sect A; Vol.44, No.2, page.241-253; (1987)
- 63) Kuper-Smith A, Lawrence J N, Benford D J, (Univ. Surrey, Surrey, GBR); In vitro cytotoxicity studies of particulate samples in cultures of hamster tracheal epithelial(HTE) cells; Toxicol In Vitro; Vol. 8 No. 4; page. 735-738; (1994)
- 64) Linnainmaa K, Kivipensas P, Vainio H, (Finnish Inst. Occupational Health, Helsinki, FIN); Toxicity and Cytogenetic Studies of Ultrafine Titanium Dioxide in Cultured Rat Liver Epithelial Cells; Toxicol In Vitro; Vol.11, NO.4, page.329-331, 333-335; (1997)
- 65) Zhou X, 黒田孝一, 円藤吟史,小松晃雄, ;白金超微粒子担持ルチル型二酸化チタンの抗菌性について) ; 生活衛生; Vol.44, No.1; page. 21-23; (2000)
- 66) Feng LY; Li SP; Yan YH; Liu CS; The effect of CaCO₃ and TiO₂ nanometer particles on A(549) and L-929 cells; Wuhan Univ Technol, Biomed Mat & Engrn Res Ctr, Wuhan , Vol.192-1, P325-328; (2000)
- 67) Zhang Q, Kusaka Y; Comparative injurious and proinflammatory effects of three ultrafine metals in macrophages from young and old rats; Inhalation toxicology, Vol.12, No.3, P267-273; (2000)
- 68) Renwick L C, Donaldson K, Clouter A, (Napier Univ., Edinburgh, GBR); Impairment of Alveolar Macrophage Phagocytosis by Ultrafine Particles;Toxicol Appl Pharmacol; Vol. 172 No. 2; page. 119-127; (2001)
- 69) Uchino T, Tokunaga H, Ando M, Utsumi H; Quantitative determination of OH

- radical generation and its cytotoxicity induced by TiO₂-UVA treatment. ;
 Toxicology in vitro - an international journal published in association with BIBRA;
 Vol.16, No.5, p629-35; (2002)
- 70) Rahman Qamar, Lohani Mohtashim, Dopp Elke, Pemsel Heidemarie, Jonas Ludwig, Weiss Dieter G, Schiffmann Dietmar; Evidence that ultrafine titanium dioxide induces micronuclei and apoptosis in Syrian hamster embryo fibroblasts. ;
 Environmental health perspectives; Vol.110, No.8, p797-800; (2002)
- 71) Watanabe Mitsuyasu, Okada Mitsushi, Kudo Yuichiro, Tonori Yoko, Niitsuya Masato, Sato Toshihiko, Aizawa Yoshiharu, Kotani Makoto; Differences in the effects of fibrous and particulate titanium dioxide on alveolar macrophages of Fischer 344 rats. ; Journal of toxicology and environmental health. Part A; Vol.65, No.15, p1047-60;(2002)
- 72) Meyer S; Li MY; Mossman BT; Fukagawa NK; Age effects on rat lung fibroblast responses to titanium dioxide (TiO₂); FREE RADICAL BIOLOGY AND MEDICINE, Vol.33, No.2, PS417-S417; (2002)
- 73) Ivankovic S, Gotic M, Jurin M, Music S, (Ruder Boskovic Inst., Zagreb, HRV); Photokilling Squamous Carcinoma Cells SCCVII with Ultrafine Particles of Selected Metal Oxides; J Sol - Gel Sci Technol; Vol. 27 No. 2; page. 225-233; (2003)
- 74) Yoshida K; Morita M; Mishina H; Cytotoxicity of metal and ceramic particles in different sizes ; JSME International Journal Series C-Mechanical Systems Machine Elements and Manufacturing, Vol.46, N4 (DEC), P1284-1289;(2003)
- 75) Cao XY; Dai HL; Yan YH; Li SP; Selective anti-hepatoma treated with titanium oxide nanoparticles in vitro; Journal of Wuhan University OF Technology-Materials Science Edition, Vol.18, N1 (MAR), P52-54;(2003)
- 76) Gutwein L G, Webster T J, (Purdue Univ., IN, USA); Increased viable osteoblast density in the presence of nanophase compared to conventional alumina and titania particles; Biomaterials; Vol. 25 No. 18; page. 4175-4183; (2004)
- 77) Yamamoto Akiko, Honma Rieko, Sumita Masae, Hanawa Takao; Cytotoxicity evaluation of ceramic particles of different sizes and shapes. ; Journal of biomedical materials research; Vol.68A, No.2, p244-56; Feb 1 2004
- 78) Lucarelli M; Gatti AM; Savarino G; Quattroni P; Martinelli L; Monari E; Boraschi D; Innate defence functions of macrophages can be biased by nano-sized ceramic and metallic particles; European Cytokine Network, Vol.15, N4 (OCT-DEC), P339-346; (2004)
- 79) K.Tamura, N.Takashi, T.Akasaka, I.D.Roska, M.Uo, Y.Totsuka, F.Watari; Key Engineering Materials, Vol.254-256, P919-922;(2004)

- 80) Hussain S M, Hess K L, Gearhart J M, Geiss K T, Schlager J J; In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. ; Toxicology in vitro - an international journal published in association with BIBRA; Vol.19, No.7, p975-83; (2005)
- 81) Kang Chun-Mi, Jang An-Soo, Ahn Mi-Hyun, Shin Jeong-Ah, Kim Ji-Hye, Choi Yun-Sung, Rhim Tai-Youn, Park Choon-Sik; Interleukin-25 and interleukin-13 production by alveolar macrophages in response to particles. ; American journal of respiratory cell and molecular biology; Vol.33, No.3, p290-6;(2005);
- 82) Gurr JR, Wang ASS, Chen CH, Jan KY; Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells; Toxicology; Vol.213, No.1-2, p66-73;(2005)
- 83) Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Garza KM, Murr LE; Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy; Journal of Nanoparticle Research; Vol.7, No.2, p145-169; (2005)

2.4 酸化亜鉛

1987年に出された EPA における亜鉛と酸化亜鉛の健康影響の評価に係る総括的な検討結果の報告書¹⁾がある。結果の要約は以下のようである。

亜鉛は鋼板のめっきに広く用いられ、酸化亜鉛はゴム製品の加硫促進剤ややけど、感染症、皮膚病などの治療に使われている。亜鉛は本来的に自然界に存在しているが、亜鉛及び酸化亜鉛の採掘や精錬・製造、使用製品の製造、石炭や石油の燃焼、廃棄物の燃焼などの際に環境に排出される。

ヒトへの暴露は主に食物による経口であり、8～18.6mg/kg/day で、飲料から平均10mg/day である。米国における大気中の年平均亜鉛濃度は、鉱山や精錬所のない所で1 μ g/m³以下であり、吸入による亜鉛の摂取量は約20 μ g という小さな値である。

また、400ppm 以上の亜鉛を摂取すると急性胃腸障害が起こる。

酸化亜鉛の毒性に関する文献は数少ない。最も良く知られているのが、生成したばかりの酸化亜鉛ヒュームを急に吸収することによる「金属ヒューム熱」と呼ばれるものである。これは亜鉛めっき鋼板の高温加工作業工程で生ずるものであるが、それが発生する暴露水準は知られていない。

亜鉛と酸化亜鉛の発がん可能性を推定する確かなエビデンスはなく、催奇性を示唆するものもない。生殖毒性または変異効果についても研究がないため、明確な結論は出せない。

以上のように EPA の報告書では、ヒューム熱以外特に問題にされていない。

最近、EU 規制のために行われたリスク評価の研究 (R.Battersby; Intergalva-2000)²⁾がある。溶融亜鉛めっき工場における労働者(溶融亜鉛から発生する酸化亜鉛粒子に暴露される)の場合について、経皮吸収と吸入による暴露につき検討したが、ともに危険可能性はないとの結論であった。

いわゆる「亜鉛ヒューム熱」について、これまでの知見をまとめ、溶接工の事例を述べた報告がある³⁾。亜鉛めっきした鋼板の溶接ヒュームにはナノスケールの酸化亜鉛が含まれる。発症には新鮮なヒュームの吸入が必要であり、繰り返し暴露で耐性 (tolerance) が生ずるが、短期間の暴露休止で再発することもある。悪寒、発熱、筋肉痛、頭痛、倦怠感などが出現するが、これらの症状は通常 24～36 時間で自然に消失し、一過性の良性疾患とされている。(酸化亜鉛の日本産業衛生学会許容濃度勧告値は 5mg/m³ である。)

1mg/m³ という低濃度で、平均 50nm の ZnO のエアロゾル (鎖状に凝集している) を発生させ、1 時間の暴露で、1 及び 2 時間後のモルモット肺への影響が調べられた⁴⁾。肺機能は、コンプライアンス (呼気の流速がゼロになる時間間の圧力変化に対する容積変化の比) のみが統計的に有意に低下した。これは、金属ヒューム熱が暴露から時間差をも

って発症することと対応している。

溶接の際に呼吸用保護具の着用を怠ったため、ZnO を含むガスを吸入し、亜鉛ヒューム熱を発症したが、それだけでなく呼吸困難感が出現したため、入院に至った患者についての事例報告がある⁵⁾。病理検査の結果、びまん性肺胞傷害があり、金属熱と化学性肺炎の併発という初めての報告である。ステロイドの投与により、症状は改善した。

亜鉛ヒューム熱は多数回の暴露により、耐性が生ずることが知られている。この亜鉛ヒューム熱の耐性は、特異な現象であり、その機構に関する研究が行われている。

亜鉛ヒューム熱に関しては、J. M. Fine、T. Gordon、L. C. Chen、S. C. Wesselkamper らが一貫して取り上げており、1991 年から報告がある。2000 年位から耐性について取り上げ、さらにそのメカニズムについて遺伝子の研究に進んでいる。中心人物は Gordon (New York University, School of Medicine) である。以下、そのうち 3 件を紹介する。

亜鉛ヒュームの吸入経験のあるヒトとないヒトを集めて吸入実験し、耐性の特性を調べた研究がある⁶⁾。酸化亜鉛は金属亜鉛をアルゴン中で加熱し、金属亜鉛蒸気を生じさせた後酸素を加えて酸化させたもので、単位粒子の大きさは超微粒子であるが、鎖状に凝集している。(質量平均径は $0.3 \mu\text{m}$) 暴露未経験者は $5\text{mg}/\text{m}^3$ 、2 時間で「ヒューム熱」が誘起されるが、暴露回数が増える毎に低下し、経験者では症状が現れない。採取した気管支肺胞洗浄(BAL)液中の炎症性サイトカイン IL-6 レベルは、1 回目の暴露で高いが、多数回暴露により減衰する。ただ、酸化亜鉛ヒュームの全身性反応については、さらなる実験が必要であるとした。

前報に見られたヒトの亜鉛ヒューム熱の肺耐性がマウスで見られるかどうか、またその機序について調査された⁷⁾。ZnO に繰り返し暴露されたマウスは、肺への好中球流入に対する耐性が獲得されるが、BAL 蛋白と肺の病変に対してはなく、5 日間の暴露休止があると耐性は残らない。また、メタロチオネイン遺伝子 (MT-1mRA) の値が高くなったが、その耐性に対する役割はまだ未確定である。

上記文献からさらに進んで、CByD2F2 マウスのコホートについて、ZnO の 3 時間 / 日、 $1\text{mg}/\text{m}^3$ の暴露を行い、BAL 蛋白、PMNs(多形核白血球)及びマクロファージの表現型の全ゲノム連鎖解析を行った⁸⁾。各々の形質遺伝子座位 (QTL) 及び全 BAL 蛋白表現型の QTL 結合の貢献の決定をハプロタイプ分析により行った。全蛋白表現型における 3 つの QTL の結合効果がハプロタイプ分析により支持され、トール様受容体遺伝子 (Tlr5) が第 1 染色体上の BAL 蛋白の重要な QTL の中の興味ある候補遺伝子と同定された。これは耐性の機序を明らかにするためのこれからの研究の良いターゲットであるとされた。

早くから肺毒性を遺伝子の面から研究していた Kleeberger (NIEHS) の総説⁹⁾がある。彼は Gordon らとも共同研究しており、この総説中では、ZnO の耐性の遺伝子的解明について、上記文献に依拠して記述している。

上記の流れとは別に、ZnO の毒性試験も行われた。

酸化マグネシウムの高濃度暴露によって、酸化亜鉛ヒュームと同様な症状が出るかどうかを「ヒト」を対象として実施した¹⁰⁾。Mg を加熱して発生させた MgO 粒子 (ZnO とほぼ同じ粒径分布を持つ、中央径は $0.1\mu\text{m}$ 程度) を $5.8\sim 230\text{mg}/\text{m}^3$ 、 $15\sim 45$ 分、6 人の男女に吸入させた。吸入後、肺機能・血液検査、BAL 測定等を行ったが、全ての項目で炎症反応のエビデンスはなかった。ZnO の毒性は粒子の大きさによるものではないと結論した。

超微粒子 ($0.04\mu\text{m}$) と微粒子 ($0.3\mu\text{m}$ 、超微粒子を凝集成長させたもの) を発生させ、粒度の影響を調べられた¹¹⁾。ヒトを対象とした、 $500\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、2 時間の暴露では、超微粒子、微粒子ともに、体温や白血球などいかなる変化も見られなかった。 $500\mu\text{g}/\text{m}^3$ では症状が出るには濃度が低すぎたものと考えられた (著者らは以前、微粒子の $2.5\text{mg}/\text{m}^3$ の暴露で、ヒューム熱が見られたので、超微粒子になるとより低濃度で影響がでると予測した)。

経皮吸収試験も少ないが行われた。

動物実験で亜鉛が表皮を浸透するという結果が得られているが、ヒトについて試験したものである¹²⁾。使用された酸化亜鉛の性状は明らかでない (医療用のもの)、 $25\text{W}/\text{W}\%$ の酸化亜鉛とゴムやロジン、鉱油などを含んだ塗布剤を皮膚に塗り、包帯をした。塗布剤中の亜鉛量の変化から移動量を求めると $5\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ であった。pH により移動量が大きく変化することからも、亜鉛はイオンとして浸透しているものと思われる。

rabbit を用いた ZnO、TiO₂ 微粒子の経皮吸収に関する予備的実験¹³⁾もある。酸化亜鉛は $10\mu\text{m}$ 程度と $5\mu\text{m}$ 程度のもの、酸化チタンは $5\mu\text{m}$ 程度のものを使用。水、ポリエチレングリコール、ひまし油を用いて $20\text{W}/\text{V}\%$ の粒子を加えたものを皮膚に塗布した。試験箇所を摘出したものを分析したが、そのまま (表面に塗布物が残っている) のものと表面残分を 10 回接着テープではぎとったものを用いた。結論的には取り込み量は少ないが、溶媒によって異なり、微粒子が取り込まれやすいという結論であった。塗布により皮膚中の微量元素 (銅) の濃度が変化していることは、酵素系や蛋白結合における相互作用があるため、取り込みにより影響を受けたものと考察している。

広島県立大学の三羽先生 (フラーレンでビタミン C60 バイオリサーチ社との共同研究) らは、酸化亜鉛の $0.15\mu\text{m}$ の小体の W/O 乳化液の、培養上皮細胞の UVB 誘導損傷に対する細胞保護作用をアスコルビン酸と比較して調べた¹⁴⁾。これは細胞内の反応性酸素種を低下させることによるものと考えられた。効果は $20\mu\text{m}$ の塗布厚みが必要である。粒子の経皮吸収については調べていない。

「UV 遮蔽剤を含むサンスクリーンは農薬の経皮吸収を助長する」というショッキングな題名の論文があるが、結論的には市販サンスクリーン剤に含まれているイナート成分のためであり、それを代えれば問題はなく、現状でもサンスクリーン剤を用いるメリッ

トに比べて、農薬吸収が2倍になる程度リスクで問題にならないとした¹⁵⁾。

経口吸収については、「局所用調合薬の経口毒性」という総説に「酸化亜鉛軟膏」という項目がある。その記述を以下に紹介する¹⁶⁾。局所調合薬の大部分は酸化亜鉛を10～40%含む、おむつかぶれ治療薬である。酸化亜鉛は強い胃刺激物であり、摂取により大量の自己限定的な嘔吐を引き起こすが、治療を要するのはまれである。急性摂取は自発的嘔吐と関係しており、亜鉛中毒となることは予想されない。犬が外傷の塗り薬をなめて起こるような慢性的な経口吸収では嘔吐は起こらない。

環境影響を調査した研究もある。酸化亜鉛、金属亜鉛、塩化亜鉛の土壌生物(ミミズやトビムシ)への毒性を調べた研究がある¹⁷⁾。急性毒性LC₅₀で比べる場合、濃度基準を何でとるかが問題となる。土壌中全Zn濃度で比べると、塩化亜鉛のLC₅₀が一番低いが、土壌細孔水中のZn濃度で比べると、高くなる。水分からの取り込みだけでなく、経口吸収も重要であるとした。

酸化チタンの項で紹介したが、酸化亜鉛のエコ毒性を、シリカ、酸化チタンと比較して、一番毒性が強いという報告であった。(文献引用No.50)2006年にBrayner¹⁸⁾らも、大腸菌をいろいろな形状大きさの酸化亜鉛ナノ粒子コロイドに入れて毒性を調べ、1.3モルの濃度以上になると細胞の中味が溶出すること、ナノ粒子が菌の内部に入り込んでいくことなどを見出している。

引用文献

- 1) U.S. Environmental Protection Agency ; Summary review of health effects associated with zinc and zinc oxide:Health issue assessment ; PB Rep, P0999A; NR: PB-88-107628; 52P; (1987)
- 2) Battersby R,(EBRC Consulting GmbH); 溶融亜鉛めっき その健康への影響(日本語訳),鉛と亜鉛; Vol. 38, No. 3; P21-26 (2001)
- 3) 加治木章, 城戸優光, 井上尚英; 臨床医からみた産業中毒例 亜鉛ヒューム熱(Zinc Fume Fever); 産業医学ジャーナル; Vol. 12, No. 4, P35-38; (1989)
- 4) Amdur M O, McCarthy J F, Gill M W, (Massachusetts Inst. Technology); Respiratory response of guinea pigs to zinc oxide fume; Am Ind Hyg Assoc J; Vol. 43, No. 12, P887-889; (1982)
- 5) 谷口浩和、鈴木健介、藤坂志帆、本田利栄子、阿保斉、宮沢秀樹、能登啓文、泉三郎; 酸化亜鉛ヒューム吸入により生じたびまん性肺胞障害の一例; 日本呼吸器学会雑誌; Vol.41, No.7, p447-50 (2003)
- 6) Fine J M, Gordon T, Chen L C, Kinney P, Falcone G, Sparer J, Beckett W S (Pulmonary and Critical Care Section, Norwalk Hospital); Characterization of

- clinical tolerance to inhaled zinc oxide in naive subjects and sheet metal workers; *Journal of occupational and environmental medicine*; Vol. 42, No.11, p1085-91 (2000)
- 7) Wesselkamper S C, Chen L C, Gordon T (Department of Environmental Medicine, New York University School of Medicine); Development of pulmonary tolerance in mice exposed to zinc oxide fumes; *Toxicological sciences*; Vol.60, No.1, p144-51 (2001)
 - 8) Wesselkamper Scott C, Chen Lung Chi, Gordon Terry (Department of Environmental Health, University of Cincinnati Medical Center); Quantitative trait analysis of the development of pulmonary tolerance to inhaled zinc oxide in mice.; *Respiratory research*, Vol.6, No.1, p73 (2005)
 - 9) Kleeberger Steven R (Laboratory of Respiratory Biology, National Institute of Environmental Health Sciences); Genetic aspects of pulmonary responses to inhaled pollutants. *Experimental and toxicologic pathology - official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*; Vol.57 Suppl 1, p147-53 (2005)
 - 10) Kushner W G, Wong H, D'Alessandro A, Quinlan P, Blanc P D, (Univ. California, California, USA) ; Human Pulmonary Responses to Experimental Inhalation of High Concentration Fine and Ultrafine Magnesium Oxide Particles ; *Environ Health Perspect* ; Vol. 105, No. 11, P1234-1237; (1997)
 - 11) Beckett William S, Chalupa David F, Pauly-Brown Andrea, Speers Donna M, Stewart Judith C, Frampton Mark W, Utell Mark J, Huang Li-Shan, Cox Christopher, Zareba Wojciech, Oberdorster Gunter (Department of Environmental Medicine, University of Rochester School of Medicine and Dentistry, University of Rochester Medical Center); Comparing inhaled ultrafine versus fine zinc oxide particles in healthy adults: a human inhalation study; *American journal of respiratory and critical care medicine* ; Vol.171, No.10, p1129-35 (2005)
 - 12) Magnus S Agren (Department of Pathology, Faculty of Health Science) ; Percutaneous Absorption of Zinc Oxide Applied Topically to Intact Skin in Man ; *Dermatologica* 1990; 180, 36-39
 - 13) Lansdown A B G, (Univ. London, London, GBR) Taylor A, (Univ. Surrey, Surrey, GBR) ; Zinc and titanium oxides: promising UV-absorbers but what influence do they have on the intact skin? ; *Int J Cosmet Sci*; Vol. 19, No. 4, P 167-172 (1997)
 - 14) Hayashi S, Takeshita H, Nagao N, Nikaido O, Miwa N (Division of Cell Biochemistry, Hiroshima Prefectural University School of BioSciences); The relationship between UVB screening and cytoprotection by microcorpuseular ZnO or ascorbate against DNA photodamage and membrane injuries in keratinocytes by

- oxidative stress. ; Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology; Vol.64, No.1, p27-35 (2001)
- 15) Brand Rhonda M, Pike James, Wilson Roselyn M, Charron Anna R (Department of Internal Medicine, Evanston Northwestern Healthcare and Feinberg School of Medicine at Northwestern University); Sunscreens containing physical UV blockers can increase transdermal absorption of pesticides.; Toxicology and industrial health ; Vol.19, No.1, p9-16 (2003)
 - 16) Welch Sharon L (Animal Poison Control Center); Oral toxicity of topical preparations; Veterinary clinics of North America. Small animal practice; Vol. 32, No.2, p443-53, vii (2002)
 - 17) Lock Koen, Janssen Colin R (Department of Applied Ecology, Laboratory of Environmental Toxicology and Aquatic Ecology, Ghent University); Comparative toxicity of a zinc salt, zinc powder and zinc oxide to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus* and *Folsomia candida* ; Chemosphere ;Vol.53, No.8, p851-6 (2003)
 - 18) R. Brayner, R. Ferrai-lliou, N. Brivois, S. Djediat, M. F. Benedetti, F. Fievet; Toxicological Impact Studies Based on *Escherichia coli* in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium; Nano Letters Vol.6, No.4, 866-870(2006)

3. ナノ粒子の暴露評価研究の現状

本章では、まず暴露研究の前提をなす、ナノ粒子の粒径（分布）の測定技術の現状についての調査結果を述べ、次にわが国内外の、ナノ粒子の暴露状況について調査した研究を紹介し、現状においてナノ粒子の暴露評価の現状をまとめる。

3.1 ナノ粒子の測定技術の現状

従来、クリーンルーム等の管理に用いられている光散乱方式のパーティクルカウンタは、ナノ粒子は小さすぎて測定範囲を外れる。

ナノ粒子(100nm以下)の大きさを測定できる粒度測定法を示したのが、表3.1である。この中で気中の粒子を測定できるのは、モビリティアナライザーと衝突分離法である。この表でモビリティアナライザーとあるのは、微分型移動度分析器(Differential Mobility Analyser: DMA)であり、粒子に電荷を与えて電界中の移動度の粒径による違いにより分離するもので、凝縮核計数器(Condensation Nucleus Counter: CNC)による個数検出機能と組み合わせて、約10nmから1 μ mまでの粒径が測定可能なものである(走査型移動度粒径測定器)。最近は、秒単位での時間分解能向上と数nmまで測定可能粒径が拡大されているが、装置が大きく、高価である。

表3.1 ナノ粒子(100nm以下)を測定できる粒度測定法一覧

測定方法	試料状態	測定・検出方法	粒径の物理的意味	原理となる理論	粒度範囲	備考
自動画像解析法	主として乾、液中も	粒子影像(顕微鏡などによる拡大縮小)	二次元的幾何学径	画像計測、画像処理	電頭を用いて3nm以上上限なし	直接法、形状など他の特性の観察も可能
X線散乱法	制限なし	粒子によるX線の散乱パターン	散乱相当径	Braggの法則、微小角散乱	数百nm~1nm	気中サンプル困難、ある程度の濃度必要
衝突分離法	気中	分離粒子の径と重量	ストークス径または空気力学的粒径	気流中の粒子の運動方程式	0.3 μ m以上減圧で0.05 μ mまで	カスケードインパクト、減圧で微粒域へ
モビリティアナライザー	気中	静電分離粒子重量	抵抗力相当径	直流電界中の粒子速度	3~5nmまで	電界強度を変え粒子を分離
動的光散乱法	液中	レーザー散乱光強度の変動	抵抗力相当径	ブラウン運動+LDV*	5nmまで	*レーザドップラ速度測定

(微粒子ハンドブック; 神保元二ら編著、p176~177、朝倉書店、より抜粋・追加)

CNC は光散乱式パーティクルカウンタに凝縮機能を加えて、100nm より小さな粒子も検出できるようにしたもので、独立して使用する場合には粒子の数のみの情報を与える。

衝突分離法は、多段の円板上に粒子が衝突付着する現象が粒子の慣性によることを利用したもので、各段毎に付着した粒子の重量や数を計測する。減圧状態にすることによりナノ領域の測定が可能となる。分解能は DMA に劣り、測定下限は 30nm である。低圧インパクトと呼ばれる (Low Pressure Impactor : LPI)、小型化可能なのが特徴である。また、この LPI に、電流計を組み合わせた電子式低圧インパクト (ELPI) は、粒子濃度の自動測定が可能である。

なお、エアロゾル粒子をサンプリングして電子顕微鏡 (TEM; Transmission Electron Microscope) で観察すれば、粒度分布や粒子の凝集状態などが分かり、分析機能が付加された電子顕微鏡であれば、物質の同定・組成分析が可能であり、リスク源の同定にも使用できる。

3.2 ナノ粒子の全ライフサイクルにおける暴露可能性

ナノ粒子の製造～製品廃棄までのプロセス (全ライフサイクル) における屋内外への漏出可能性について考察すると以下のようなになる。(NEDO 調査報告書 (2004 年 6 月の川鉄テクノロジーサーチ (株) による調査レポートである) より)

段階	プロセス	想定される漏洩
ナノ粒子の製造	合成装置	<ul style="list-style-type: none"> 系外への飛散・漏洩 装置内残留ナノ粒子の処分 (装置保守時等)
	分級	級外ナノ粒子の処分
	密閉容器への回収	回収時の飛散・漏洩
ナノ粒子の運搬、保管		容器の破損等
ナノ粒子の利用 (バルク材、薄膜、デバイス等の製造)	密閉容器の開封	開封時の飛散・漏洩
	ナノ粒子の装置への充填	<ul style="list-style-type: none"> 充填時の飛散・漏洩 使用済み容器内の残留ナノ粒子の飛散・漏洩
	製造	<ul style="list-style-type: none"> 系外への飛散・漏洩 装置内残留ナノ粒子の処分 (装置保守時等) 未反応、未利用ナノ粒子の処分
ナノ粒子製品の使用中		ナノ粒子使用製品からの剥離、脱落、飛散
製品の廃棄	製品解体	処分時のナノ粒子の剥離、脱落、飛散
	最終処分地への埋立	最終処分場からの漏水中ナノ粒子の捕集 (凝集沈殿)
	焼却 / 溶融処理	燃焼 / 溶融しないナノ粒子は、通常設置されている EP (電気集塵機) では捕集できないが、ナノ粒子が凝集すれば、捕集できる。

産総研の蒲生はナノ粒子が暴露する機会として以下を挙げている (阿多誠文・根上友美

編著「未来社会への掛け橋 ナノテクノロジー - 技術、政策、社会的課題 - 」(日経 BP 社、2005 年、97p))

- 1) ナノ粒子の製造・加工プロセスでの労働者暴露
- 2) 医薬品、化粧品として意図的な接触や摂取
- 3) 一般商品に使用されたものへの直接接触
- 4) 環境を経由しての暴露
 - ・ナノ粒子製造・加工プロセスから環境に移動
 - ・一般の商品で使用されたものが剥離・溶解し、環境に移動

このような可能性がある中で、測定や検討がなされているのは、ナノ粒子の製造過程とナノ粒子を利用して製品に加工する過程の一部だけである。ナノ粒子を使用した製品からの暴露やその廃棄の際の暴露、環境中の工業ナノ粒子の検出などは、まだ手がつけられていない状況である。

3.3 暴露評価研究の現状

ナノ粒子の暴露評価の最初の研究は、NIOSH の Maynard(当時)、Shvedova らによって行われた (J. Toxicol. Environ. Health, Part A. Vol.67, 87-107 (2004))。

レーザアブレーション方式及び HiPCO 法による単層カーボンナノチューブ (SWCNT : 未精製) を攪拌、振とうさせながら空気を通じて、エアロゾルの発生を試み、さらに SWCNT の取り扱いの際に発生するエアロゾルを DMA と CNC を組み合わせたシステムで測定した。

レーザアブレーションによる SWCNT の測定では、振とうにより $0.02\mu\text{m}$ 、 $0.1\text{-}0.3\mu\text{m}$ 、 $2\mu\text{m}$ の 3 つの山 (個数では $2\mu\text{m}$ 付近が最も大きい) をもつエアロゾルが発生し、時間とともに急激に減衰する (粒径は測定法に対応し、実際の形状・粒径ではない)。ただ、フュームドアルミナの場合に比べて、同じ振とう条件で SWCNT の発生量は 2 桁少ない。

HiPCO 法 SWCNT では、攪拌なしでも $0.1\mu\text{m}$ 付近のエアロゾルが発生する。攪拌を強化するにつれ $0.01\mu\text{m}$ と $0.1\text{-}1\mu\text{m}$ に 2 つの山を持つエアロゾルが発生し、その数も増大する。

製造された SWCNT をプロセッシング前にバケツから取り出したり、スプーンですくったりする取り扱いの際に発生するエアロゾルを測定した。10nm より大きな粒子が $50\text{ヶ}/\text{ft}^3$ 以下のクリーン度としたクリーンブース内で実施した。

フィルタへの付着量から計算した濃度は $0.7\text{-}53\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、手袋への付着量は $217\text{-}6020\mu\text{g}$ であった。

濃度の増大は作業者の入場と清掃時の真空クリーナーの作動によって起こり、SWCNT のハンドリングによっては、ほとんど増加しない (図 3.1)。図 3.1 において、 は作業者の入室、 は SWCNT の取り出し、 は SWCNT の真空クリーナーによる除去、 は清掃、 は作業者の退室、 の時刻を示す。

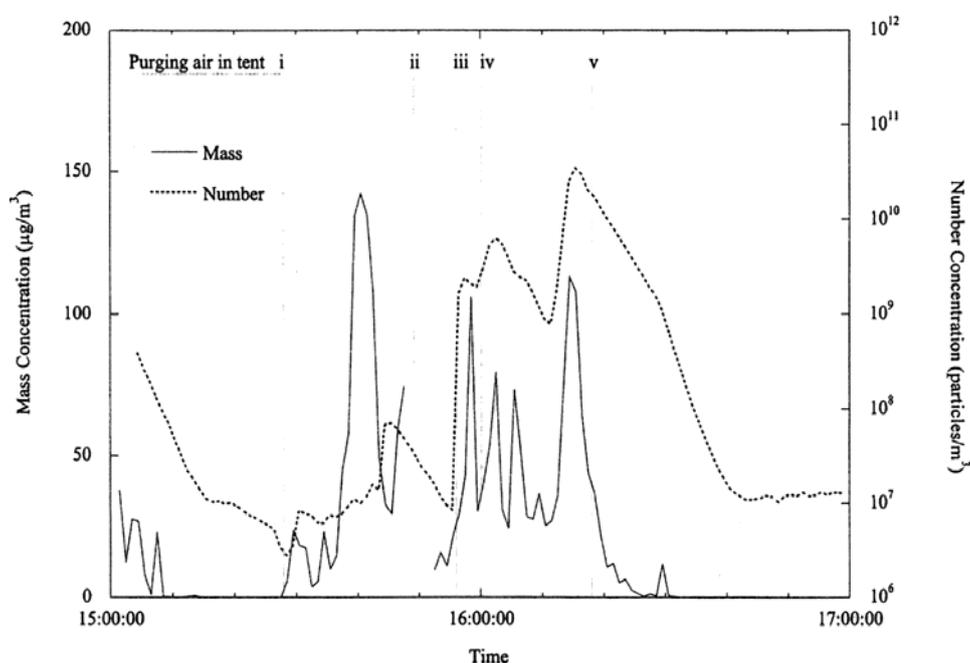


図 3.1 NASA Johnson Space Center でのレーザーアブレーション SWCNT 発生エアロゾルの質量・数濃度の時間変化

英国の安全衛生庁（HSE）の傘下の労働医学研究所（IOM）が、2004年に発表した「ナノ粒子：労働衛生レビュー」では、Maynardらの研究を下表のようにまとめている。

表 3.2 カーボンナノチューブ取扱い作業時の暴露調査結果（Maynardら、2004）

測定箇所	個人吸気		手袋付着
	吸気量(m³)	推定濃度(µg/m³)	ナノチューブ量(µg)
レーザーアブレーション設備 生成物を除去し清掃する作業時、HEPAフィルターを装填した真空クリーナー。 ただし、作業後フィルターのミスフィットを確認。	0.139	0.7(Ni)	217
HiPCOプロセス 前もって試料を入れたバケツから、別のバケツに移しかえ、清掃する作業。 低効率フィルターを用いた真空クリーナーを入れた。	0.079	36.29(Fe)	3705
レーザーアブレーション スペースの制約のため、捕集室をプロセスから外し、清浄空気のしきりに入れた後、捕集室を開け、生成物を取り除き清掃する作業。クリーナーはホースで外部に繋ぐ。	0.096	9.86(Ni)	863
HiPCOプロセス 同上作業	0.132	51.73(Ni) 52.73(Fe)	6020

* HiPCO プロセス生成物の方がより低密度で“ふわふわ”していることの反映として、呼気、手袋付着とも SWCNT 濃度が高いものと推定している。

また、従来工場生産によるエアロゾルの暴露量について Wake の調査を引用している (D. Wake: Ultrafine aerosols in the workplace IR/ECO/00/18 Health and Safety Laboratory)

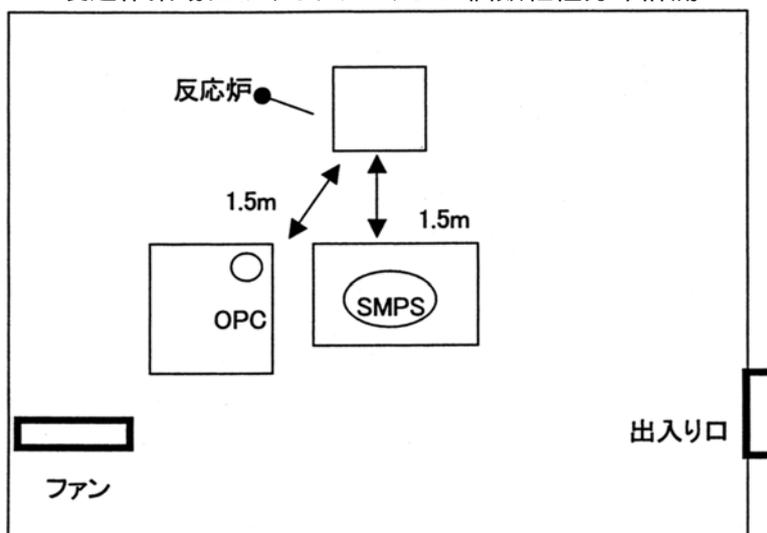
表 3.3 従来工場生産によるエアロゾルの暴露量 (IOM, 2004)

生産材料	測定結果(範囲)	作業内容
カーボンブラック	3470 ~ 49900 個/cc air	袋詰め
ニッケル粉	3670 ~ 21200 個/cc air	袋詰め
貴金属ブラック	23106 ~ 70745 個/cc air	篩
酸化チタン	4150 ~ 16615 個/cc air	袋詰め
熱コーティング	3590 ~ 11200 個/cc air	ワイヤ被膜
亜鉛製錬	12000 ~ 24600 個/cc air	シンタリング
溶接	117649 ~ 500000 個/cc air	MIG溶接
手はんだ	11752 ~ 500000 個/cc air	すずめっき

(これらのプロセスではナノ粒子が付随的に生成される)

日本においては、平成 17 年度文科省科学技術振興調整費のプロジェクトで、フラーレン、カーボンナノチューブの製造現場において、ナノ粒子の暴露評価が行われた。この結果は「ナノテクノロジーの社会受容促進に関する調査研究」成果報告書に詳しいが、第 23 回エアロゾル科学・技術討論会 (2006 年 8 月、福岡、日本エアロゾル学会) にも報告された。(国立環境研究所 藤谷雄二、小林隆弘、産業医科大学 嵐谷奎一、秋山幸雄、櫻田尚樹、フロンティアカーボン(株) 末村耕二) 使用装置及び反応炉との位置関係を下図に示す。

製造作業場におけるフラーレンの個数粒径分布計測



SMPS: Scanning Mobility Particle Sizer, Model 3034: TSI
 測定範囲: 10 ~ 487nm、サンプリング時間3分
 OPC: Optical Particle Counter, KR-12A: RION
 測定範囲: 300nm以上、サンプリング時間1分

図 3.2 A 社における炉と測定装置の位置関係 (フラーレン製造)

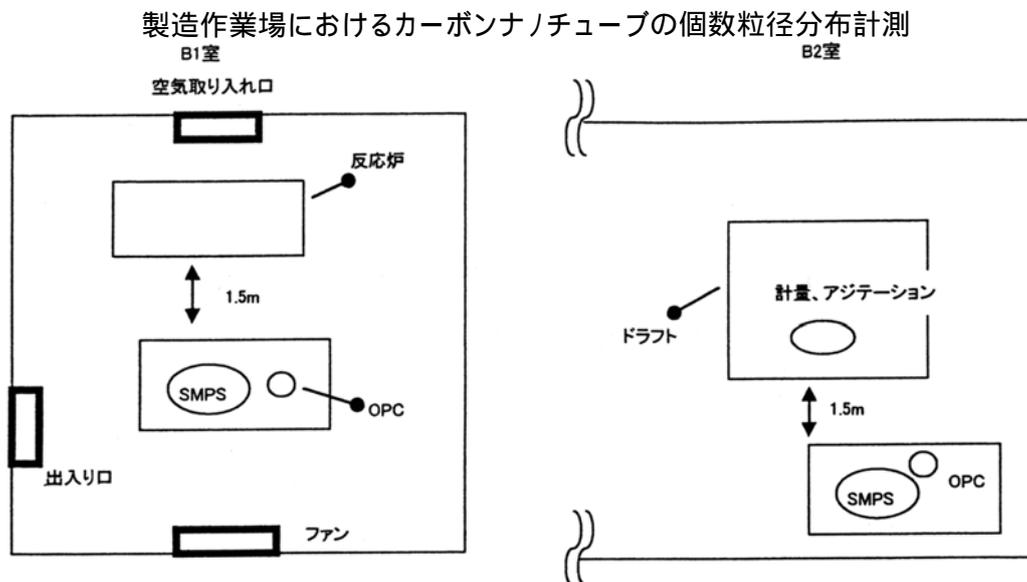


図 3.3 B 社における炉及びドラフトと測定装置の位置関係（カーボンナノチューブ）

フラーレンの製造現場においては、バックグラウンド(BG)は 25nm と 80nm 付近にピークをもつ二山分布であり、この分布は屋外の影響を受けていると考えられた。作業時には 25nm 付近の粒子数が BG に上乘せされる形で増加し、80nm の山よりも相対的に大きくなった。また、掃除機を単独で使用した場合も作業時と同様の分布となった。従って、25nm の粒子数の増加は、掃除機の排気由来である可能性が高い。ただ、その数は屋外粒子数に比べると小さい。袋詰めされた材料を意識的に巻き上げさせるアジテーション操作は、ナノ領域の粒子数増加はなく、BG とほぼ同様の分布となった。アジテーションの場合には 1 μm 以上の粒子が増加しており、それは走査電子顕微鏡写真から、フラーレンであり、気相中に拡散する場合は、凝集体として存在するものが大部分であることが見いだされ、SMPS で測定されたナノ領域の粒子を見出すことが出来なかった。ナノ領域の粒子の同定は今後の課題である。

カーボンナノチューブの場合は、作業開始前及び終了後の個数粒径分布のモード径は 18nm 程度であったが、作業時には 11nm になった。作業は、作業員の立ち入り、反応炉の開放、袋詰め作業、掃除機の使用であったが、フラーレン製造工場での測定結果と同様、ナノ粒子は掃除機の排気から発生した可能性が考えられる。アジテーションを行った際には、2 μm 以上の粒子数の増加したが、それ以下の粒子数は同程度か減少した。フラーレン同様、カーボンナノチューブも大気中では凝集していると考えられ、SEM の結果も同様であった。

これらの結果は、国際会議でも紹介されたが、かなりの量の生産を行っている工場での実測を行ったことは、大きく評価された。

第 7 回国際エアロゾル会議（2006/10/11～16、米国ミネソタ州セントポール）では、ナノ粒子の暴露評価の報告がなされた。以下 3 件を報告する

ナノテクノロジー作業環境における空中浮遊ナノ粒子の暴露：

Linsey C. Marr (Virginia Polytechnic Institute and State University) ら

アークプロセスによる炭素材料 (C₆₀、メタロフラーレンを含む未精製煤) を対象。

商業設備 (CL、反応器は fume hood (ドラフト) 内部に設置されている) 及び大学研究室 (UL、フードなし) において、反応器近傍、呼吸ゾーン (breathing zone 反応器から少し離れた位置) 及び同じ室内のバックグラウンド位置の 3 つの場所で測定 (CL は 7 日間 22 回、UL は 5 日間 20 回) 。 PM_{2.5} (粒径 2.5 μ m 以下の浮遊状物質) を光散乱光度計で、質量濃度を SMPS で粒径分布を測定した。作業としてはアーク発生時、生成物を反応器から掃き出す (sweep out) 時、清掃作業 (vacuuming) 時の 3 条件である。

PM_{2.5} の測定結果 (図 3.4) は反応器近傍のフード内と呼吸ゾーン/バックグラウンドとは有意な差異があった。粒径分布 (図 3.5) を見るとフード内は 10 ~ 100 nm (~ 50 nm がピーク) の粒子であり、呼吸ゾーンは最も量は少ないが ~ 75 nm がピークでバックグラウンドは 30 nm 付近の小さいピークと 200 nm を中心とする広く大きいピークとの 2 つの山がある。

5 人いる作業者が動き回ったり、清掃作業時にバックグラウンドの濃度は増加する。ナノ材料をフード内で取り扱うことが作業者の暴露を最も少なくするために有効であるとしている。また、通気 (Ventilation) 、作業者の技術、外気の状態等も影響する因子であるとした。

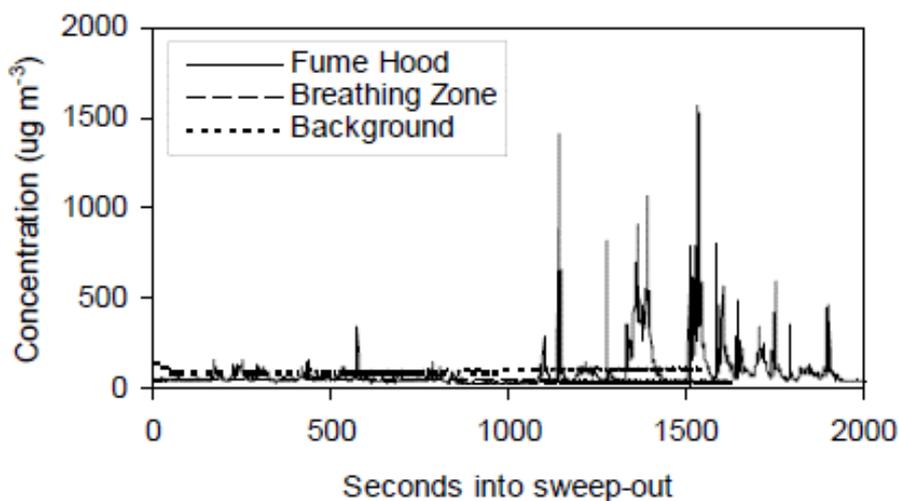


図 3.4 反応器を囲むドラフトの中で反応器から生成物を掃き出しが終わるまでのドラフト内、呼吸ゾーン、バックグラウンドの PM_{2.5} の濃度

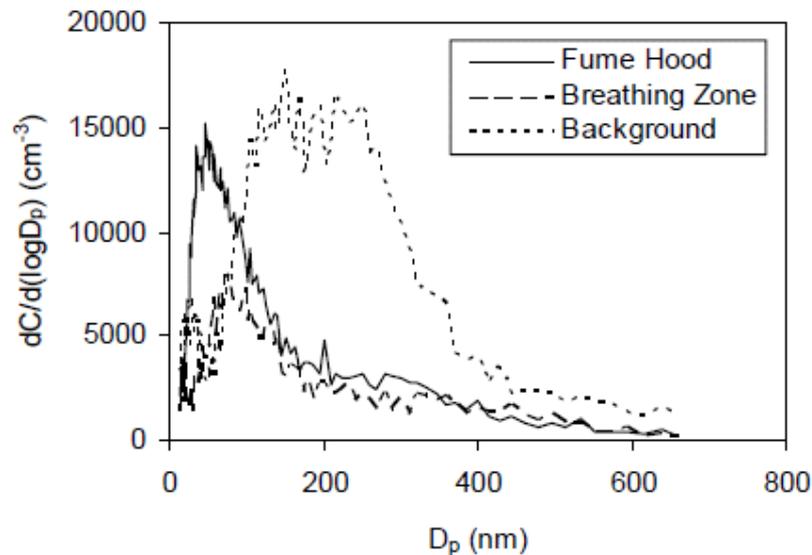


図 3.5 反応器内掃き出し中の 3 箇所の粒径分布

移動度と質量のタンデム測定による空中浮遊ナノカーボンの構造測定：

Bon Ki Ku (NIOSH)、 A. D. Maynard (Woodrow Wilson International Center for Scholars)、 P. H. McMurry (Univ. of Minnesota) ら

カーボンナノファイバーは工業ナノ粒子の中でもユニークな材料であり、多くの応用が期待されているが、ハザードの可能性も関心がもたれている。

使用したナノカーボン (ファイバー) は Pyrograf[®] (Type PR-24、 Grade LHT、 Applied Sciences Inc.)。

カーボンナノファイバーは Vortex Shaker (Maynard (2004) らの用いたもの) でエアロゾル化し、インパクター、中和器を通して DMA (Differential Mobility Analyser) に入る。DMA で分級された後、特定の速度で回転している APM (Aerosol Particle Mass analyser) で質量測定される (図 3.6 参照)。

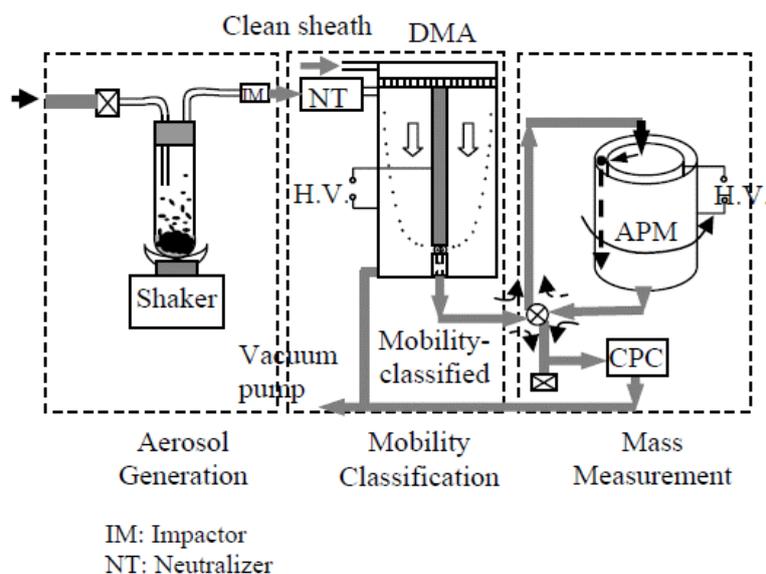


図 3.6 実験装置の構成

移動度径100nmから700nmの間を50nm毎に測定を行った(図3.7参照)。200nmから有効密度は急に 1.0g/cm^3 以下に低下する。これは、TEM観察によればファイバーが2重、3重に凝集し始めていることと対応する。また、空気力学径も200nmから移動度径より小さくなっていく。この結果は毒性評価のためには空中浮遊粒子の特性評価が重要であることを示している。ナノファイバーの構造は毒性に影響する可能性があり、構造が移動速度に影響を及ぼしているからである。

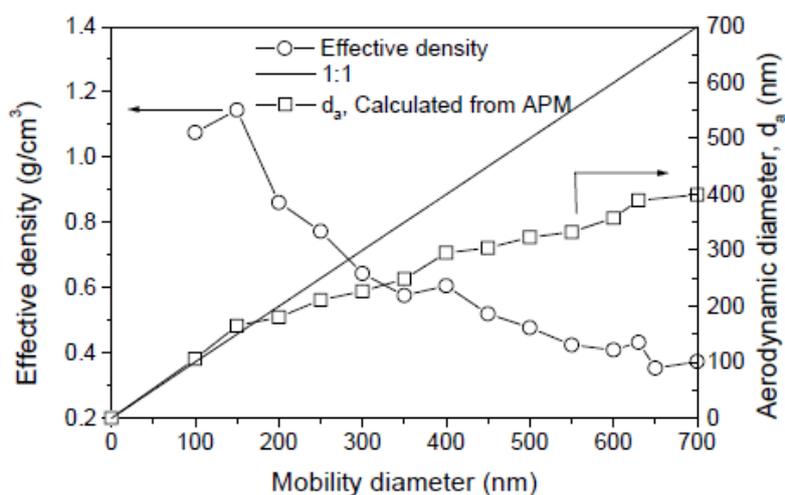


図 3.7 カーボンナノファイバーの移動速度に対する有効密度と空気力学径の変化

ナノカーボン材料の作業場での暴露可能性の評価：

M. Eileen Birch、M. Hoover (NIOSH) ら

ナノカーบอนは多くの種類が作製され、その製法も変化しているが、作業場での暴露のフィールドデータが乏しい。ポリマーコンポジット製造に使うカーボンナノファイバーのパイロット規模の設備を有する実験室で調査を実施した。作業のプロセスは以下のものである。(図3.8参照)

- 1)フード内でカーボンナノファイバーの入った容器から、ピーカーに1ポンド計量して掬い取る。
- 2)5ガロンのバケツ内でアセトンと混合(スターラーを使用)、エポキシ樹脂を加える。
- 3)乾燥させたエポキシコートカーボンナノファイバーを手篩いで塊(clump)を除く。
- 4)押出成形機でコンポジットに成形する。
- 5)ポリマーコンポジットを水冷テーブル銼で切る(wet-saw cutting)。

測定は以下の方法による。

- 1)SKC Button™ サンプラーで空气中ダストを捕集、また表面サンプルを真空サンプリング法にて採取する。これらはOC(有機炭素)とEC(原子炭素)(OC+EC=TC(全炭素))を測定するのに用いる。TEM観察用サンプルも採取する。
- 2)リアルタイム測定には、エアロゾル光度計、CPC、Diffusion Charger、ELPI(電氣的低圧インパクター)を用いた。



ナノカーボンファイバーを計量/採取



アセトンとの混合



塊を篩で除去



コンポジットの水冷銼切断

図 3.8 作業の説明写真

結果

- ・TCは空中ダストでオフィスエリアの2~64倍、表面ダストで3~30倍であった。ラボの作業者の机の近くの床はTCが高く、ラボからオフィスに持ち出されていることを示す。空中サンプルは水冷銼切断時が一番高い。表面サンプルははかりのあるラボベンチが一番高い。
- ・TEM観察によるとファイバーはナノスケールのものも見られたが、最大の大きさのも

のはミクロン以上のマクロスケールであり、Maynardら（2004）の測定と似た結果であった。（図3.9参照）

- ・CPC（10～1000nm）による個数濃度測定結果は全て屋外より低かった。ラボにおけるバックグラウンドがわずかに上昇するのは、混合/計量と切断作業時であった。
- ・エアロゾル光度計（0.1～10 μm ）の測定結果もCPCと同様であった。切断時は3倍高まった。
- ・ELPIにおいては容器に移す際に500nm以上のものがわずかに上昇する。

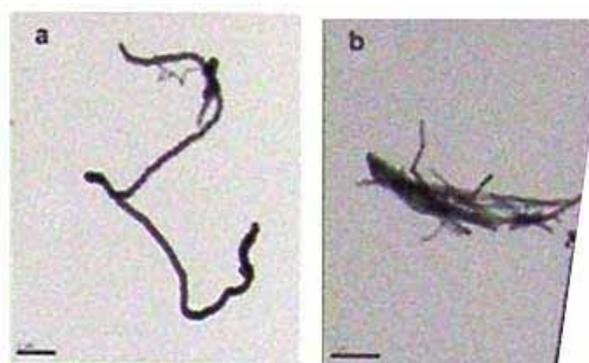


図 3.9 採取されたサンプルの TEM 写真
（スケールバー：1 μm ）

以上いくつかの測定例を紹介したが、測定機が大きく持ち運び難く高価なこと、測定技術が難しいことなどから、まだまだ測定例が少ない。

ただ、これまでの結果だけからでも、ナノ粒子を回収、計量、混合する作業、真空クリーナーでの清掃作業、作業者の動きなどにより、ナノ粒子の濃度が一時的に増大するという結果が得られている。また、フードなどの気流管理の有効性も確認されている。

以上の知見は、ナノ粒子のリスク評価、リスク管理にとって有用である。

4. ナノ粒子のリスク対策の現状

この章では、主としてナノ粒子の暴露対策について現状を調査した結果を述べるが、「リスク対策」としたのは、もっと広い「ナノテクノロジーのリスク対策」という観点からの世界の動向についても触れたいためである。その良い例が、2006年11月16日号の*Nature*誌に掲載された論文「ナノテクノロジーの安全な取り扱い (Safe handling of nanotechnology)」である。これは、ナノテクノロジー分野のEHSに関わっている一流科学者14名が、責任あるナノテクノロジーの展開のために達成しなければならないナノテクノロジー・リスク研究の5大チャレンジ (Five Grand Challenge) を確認し、発表したものである (A. Maynard and his co-authors, *Nature*; Vol.444/16, November 2006, 267P ; NEDOワシントン事務所 ; デイリーレポート2006年11月後半分に取り上げられている)。

研究予算獲得競争の激しい世界ではリスクの解明および予防の優先順位が下になりがちであるが、リスクを最小化してベネフィットを最大化する持続可能なナノテクノロジーを支援するためには、科学界は戦略的なリスク研究に今すぐ着手する必要があると指摘した。14名の科学者が提案した15年間でなすべき5大チャレンジは下記の通り :

工業ナノ材料の大気中および水中への暴露量を算定する機器を、今後3~10年間で開発する。

工業ナノ材料の毒性を評価する方法を、今後5~15年間で確立・検証する。

工業ナノ材料が環境やヒトの健康に及ぼし得る影響を予測するためのモデルを、今後10年間で開発する。

工業ナノ材料がそのライフサイクルを通じて環境及び人の健康にもたらす影響を査定評価するロバストなシステムを、今後5年間で開発する。

計画的で体系的なリスク研究を可能にする戦略プログラムを、今後12ヶ月以内に開発する。

著者に名を連ねたのは以下の研究者である : ウッドロー・ウィルソン国際センターの Maynard 博士 (米) ; 労働医学研究所 (IOM) の Aitken 博士 (英国) ; Leipzig 大学の Butz 教授 (独) ; ライス大学の Colvin 教授 (米) ; エジンバラ大学の Donaldson 教授 (英) ; ロチェスター大学の Oberdorster 教授 (米) ; ミシガン大学の Philbert 教授 (米) ; オックスフォード大学の Ryan 教授 (英) ; アバディーン大学の Seaton 名誉教授 (英) ; Napier 大学の Stone 教授 (英) ; 国立環境衛生学研究所 (NIEHS) の Tinkle 博士 (米) ; IOM の Tran 博士 (英) ; NIEHS の Walker 博士 (米) ; デュポン社の Warheit 博士 (米)

「ナノテクノロジーの安全な取り扱い (Safe handling of nanotechnology) 」と称しているが、ナノテクノロジーから発生する可能性のあるリスクをいかにして最小化するかという点で、先ずは、環境やヒトへの影響を明らかにするという面に力点が置かれており、リスクの低減を図るためのリスク管理の開発については触れられていない。このことが示

しているように、この分野の内外の研究は多くない。リスク管理（リスク低減対策）に有用な研究もナノテクノロジー対応という形でまとめられておらず、個々の専門分野に分散して開発されている状況である。こうした中で、以下に紹介するように、米国国立労働衛生研究所（NIOSH）の努力は際立っている。本章では、各国の状況について述べる。

4.1 日本

NEDO 委託調査報告書（2004 年 6 月の川鉄テクノロジーリサーチ（株）による調査レポートである）では、表 4.1 のようにまとめられている。

表 4.1 人の暴露経路と排出防止対策

考えられる暴露経路	ナノ粒子の存在場所	暴露防止対策
呼吸	空気	製造設備等の屋内での暴露防止 <ul style="list-style-type: none"> • ナノ粒子飛散防止 • 防じんマスク（製造設備の整備時など） • プロセスガスからのナノ粒子の分離・捕集 ナノ粒子の環境中への飛散防止 • プロセスガスからのナノ粒子の捕集
食物摂食、水の飲用	食物、飲料水	プロセス廃液からのナノ粒子の捕集
皮膚接触	ナノ粒子との接触	ナノ粒子製造設備からの飛散等の防止 や作業着・手袋・安全ゴーグルの着用

この表に続き

- 1) 大気やプロセスガスからのナノ粒子の除去
- 2) 液体からのナノ粒子の除去
- 3) 防じんマスク
- 4) 粉じん爆発

について、技術の現状をまとめている。総じて、消費エネルギー、フィルタの圧力上昇等の問題はあるが、ナノ粒子の除去対策は可能であるとしている。ただし、室内の空気の流れの制御や、フード等の設置、掃除時の注意点等には触れられていなかった。

2006 年 11 月に行われた日本エアロゾル学会主催のエアロゾルシンポジウム「ナノ材料の製造、計測、環境・健康に関するシンポジウム」において、産業医科大学の明星は、「ナノ粒子と呼吸用保護具」と題して講演を行った。その中で、平成 18 年改正された労働安全衛生法で導入されたリスク評価の手法を紹介している。化学物質等による危険性又は有害性等の調査等に関する指針であり、事業場において、危険性や有害性を特定し、その程度を見積もるリスクアセスメントとそれに基づいてリスク低減措置を検討し、実施することである。リスク低減措置とは、とりもなおさず暴露防止策に他ならない。その際には、事前

に、実施体制を構築すること、対象を選定し情報の入手を行うことが必要であり、事後には、記録しておかなければならない。リスク低減措置には、

- | | |
|----------------|----------------------|
| 1) 設計や計画段階での措置 | 有害性の調査検討など |
| 2) 工学的対策 | 密閉化、局所排気装置の設置など |
| 3) 管理的対策 | マニュアルの整備、暴露管理、教育訓練など |
| 4) 個人用保護具 | 1～3の措置を講じた上で |

を挙げた。さらに、「ナノ粒子は捕集除去できるか」については、フィルタの捕集機構を解説し、防じんマスク用フィルタのナノ粒子に対する捕集効率について述べた。フィルタは10nm以上のナノ粒子除去については使用可能であるが、性能は検定試験されていないこと、10nm以下の粒子除去については、熱反発の問題など未知の点が多いとしている。ナノ粒子からの呼吸保護については、フィルタのろ過効率だけでは決まらず、顔面との密着性、陰圧の程度などの要因があること、現在生産されているナノ粒子は管理濃度などの基準がきまっていないので、どの防護係数のマスクを使うか決まらないことなどが、現状である。

4.2 米国

NIOSH(米国国立労働安全衛生研究所: National Institute for Occupational Safety and Health)の取り組みがある。

米国厚生省(HHS)の疾病管理・予防センター(CDC)の傘下にあるNIOSHはHome Pageに“Approaches to Safe Nanotechnology: An Information Exchange with NIOSH”を設け、ナノテクノロジーの安全性確保のために現在知り得る情報を提供している。NIOSHの取り組みは、5.2で紹介し、“Approaches to Safe Nanotechnology”の全文は付属資料に収録したが、ここではリスク対策である、暴露制御手順“Exposure Control Procedure”の部分を紹介する。

工学的対策

- ・発生源の閉じ込めや局所排気システムは空気によって運搬されるナノ粒子の捕集に有効である。
- ・ただし排気システムはACGIH2001のような基準に従って、設計・試験、維持管理されていなければならない。
- ・フィルタの粒子捕集効率
 - ・HEPAフィルタをナノ粒子捕集のために排気システムに用いることは有効であるとの報告がある。
 - ・現在、NIOSHでも一番捕集され難いとされている300nm付近の粒子を用いて、HEPAフィルタの検証を行っている。
 - ・フィルタハウジングはバイパスが生じないように設計されていなければならない。

- ・排気システムのない単なる閉空間は、大きな粒子には有効でも、小さい隙間でも通り抜けるナノ粒子には有効ではないであろう。

(ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists、米国産業衛生専門家会議、毎年許容濃度の勧告、生物学的暴露指標、化学物質の発がん性の分類を公表。この勧告値が、世界中の国々やその政府機関によって全面的または部分的に採用されているため、作業環境における汚染物質濃度の規制に強い影響力がある)

作業管理

良い作業管理はリスク管理に有効で、作業者のナノ材料への暴露を最小とするのに役立つ。その例は以下の点を含んでいるであろう。

- ・最低、交代作業の終わりには作業エリアを、HEPA フィルタを装填したクリーナーと湿式拭き（濡れ雑巾）で清掃する。清掃と汚れ処分の際には、作業者との接触を避けるべきであるし、あらゆる規制に適合したものでなければならない（掃き掃除やエアで吹きつけたりすることは避けるべきである）。
- ・ナノ材料を取り扱う場所においては飲食物の摂取はもちろん、置いておくことも避けること。
- ・手洗い場を設け、作業者には飲食/喫煙前、作業場を離れる際に使用するよう勧めること。
- ・着替えとシャワーの設備を使用することにより、ナノ粒子が皮膚や衣服に付着して他の場所に移動することがないようにする。

保護作業衣

マクロなスケールの粒子でさえ皮膚の保護は、その有効性が限られていることが認められている。しかし、ナノ粒子が表皮まで浸透するとしても、それが疾病にまで至ることを示唆する研究はほとんどなく、皮膚暴露の基準も定められていない。

一方、ナノ粒子にも有効と考えられるような作業衣に関する標準の例も存在する。

呼吸用保護具（防じんマスク）

呼吸用保護具は、作業者が排気システムや作業工程管理によっても規制値または自主的な目標値を超える暴露にさらされる場合に採用されるべきレベルの対策である。

現状では、同様な化学組成の大きな工業生産粒子に対して規制値があるが（ OSHA、NIOSH、ACGIH ） ナノ粒子に対してはない。

一方、ナノ粒子は、大きな粒子に比べて生物学的に活性であり、吸入した場合により大きな健康リスクがあるという科学的なエビデンスがある。

呼吸用保護具の装着は、専門的判断とこの資料で奨められているリスク評価とリスク

管理の結果とによって、決定されるべきである。また、その効果は公的基準で定められている方法により測定されなければならない。

呼吸用保護具には適切に装着されたときに防護レベルの異なる、いくつかの段階がある（表 4.2）。

NIOSH はマスク使用者の便宜のために RSL（Respirator Selection Logic）を公示している（新しい毒性データが使用できるようになると改訂している）。

作業場で呼吸用保護具が必要とされる場合、OSHA は“呼吸保護基準”を設けている。

次のような要素を含む防護が要求される。1）マスクを装着しての作業遂行能力の評価、2）規則的なトレーニング、3）周期的な環境モニタリング、4）規則的な装着テスト、5）マスクの保守、検査、清掃、保管

OSHA はマスクの選定は、作業場についての知識と各々のマスクの限界について知っている者がしなければならないとし、雇用者へのガイドラインを示している。

NIOSH は現在、ナノ粒子を対象とした環境排気用及び呼吸用保護具用の HEPA フィルタの効率を確認する研究を行っており、結果が出れば Web に公開される。

（OSHA：Occupational Safety and Health Administration（労働安全衛生庁）、労働省(DOL)の傘下）

表 4.2 呼吸用保護具（防じんマスク）

マスクタイプ	NIOSH 認定保護係数	利点	欠点	価格 (2004 ドル)
顔面装着フィルタ(使い捨て)	10	軽量 メンテナンス、掃除が不要 作業性に対する影響がない	眼の保護機能は無い 熱負荷を増すことができる 顔面シール隙間からの侵入 調節可能なあごひもでないものもある ユーザーにとってシールチェックが難しい 保護レベルは、モデルによって異なる コミュニケーションは難しい可能性がある 適当な面体サイズを選ぶために装着テストが必要 アイウェアによっては、フィッティングを妨げる 汚れ、破損、通気抵抗が大きくなったときは、マスクを交換しなければならない	\$0.70 to \$10
ハーフェースタイプ 半面型	10	低いメンテナンス フィルタとカートリッジ交換で再使用可能 作業性に対する影響がない	眼の保護機能は無し 熱の負担を増すことができる 顔面シールの隙間の内側の漏出 コミュニケーションは難しい可能性がある 適当な面体サイズを選ぶために装着テストが必要 若干のアイウェアは、フィッティングを妨害する可能性がある	面体\$12 - 35 フィルタ \$4 - 8
動力タイプ (接合部遊びあり)	25	眼保護が可能 あごひげ、総入れ歯または顔の傷跡の人々の保護 低い呼吸抵抗 流入空気による冷却効果 外部への顔面シール漏出 フィッティングテスト不要 眼鏡はかけられる エラストメリック半面体または全面体マスクで コミュニケーションは難しい フィルタ交換で再使用可能	バッテリーとブロワーの重量増 ほんのちょっとの作業には厄介である バッテリーの充電が必要 使用前に流れ装置で送風テストが必要	ユニット \$400 - 1,000 フィルタ \$4-8
フルフェースタイプ N-100, R-100 または P-100 全面型	50	眼保護が可能 低いメンテナンス フィルタとカートリッジの交換で面体は再使用可能 作業性に対する影響でない フィルタ面体 やエラストメリック半面マスクより効果的な顔面シール	熱の負担を増す 半面型と比較して視野が狭くなる 顔面シールから内面への漏出がある 適当な面体サイズを選ぶのに装着テストが必要 鼻カップまたはレンズ処理無しでは、面体レンズが曇ることがある。 眼鏡をかける人々のために眼鏡キットが必要となる	面体\$90 - 240 フィルタ \$4 - 8 鼻カップ \$30

動力タイプ (接合部遊びなし)	50	全面タイプで眼保護が可能 呼吸抵抗が小さい 外部への顔面シール漏出 流入空気による冷却効果 フィルタ交換で再使用可能	バッテリーとブローの重量増 ほんのちょっとの作業には厄介である ハーフフェースタイプで眼保護なし 適当な facepiece サイズを選ぶのに装着テストが必要 バッテリーの充電が必要 会話は困難 フルフェースタイプでは眼鏡をかける人々のために Spectacle キットが必要となる 使用前に流れ装置で送風テストが必要	ユニット \$500 - 1,000 フィルタ \$10 - 30
注: このテーブルにおける認定保護係数は、NIOSH Respirator Selection Logic [NIOSH 2004] による。表が準備されたとき、OSHA は認定保護係数を取り入れるために呼吸保護標準改正の提案をした。NIOSH のインターネットサイト (www.cdc.gov/niosh)				

http://www.cdc.gov/niosh/topics/nanotech/nano_exchange_control.html#work

ナノ粒子材料の零れ/飛散物 (nanomaterial spills) 漏れの清掃・片付け (clean-up)

- ・この点に関する特定のガイダンスは存在していない。それが出されるまでは、現状の適正な方法に基づいて、暴露のリスクと異なる暴露ルート of 相対的な重要性を考慮しながら、零れたものを処理する方針を立てることが賢明である。
- ・標準的な方法は HEPA フィルタを装着した真空クリーナーや湿した粉綿羽 (こなわたばね、ふんめんう) ハト、インコ類の腹から胸にかけて生えている羽根 (脂粉) で防水の役割をするが、ぼろぼろと粉状になる) を利用したり、粉を湿した布で拭き取ったり、吸着性物質や液体トラップを用いるなどである。
- ・他の物質と同様、零れたものの取り扱いと処分は、連邦・州・地方の規制に従わなければならない。
- ・清掃の標準的な手順を定めるにあたっては、清掃時の暴露にも注意しなければならない。

吸入と皮膚からの取り込みが最大のリスクであり、適正なレベルの作業員個人の防護具を用いることが考慮されるべきである。

吸入はナノ材料の再エアロゾル化のし易さによる。

暴露可能性のレベルは次の順序となるであろう。

ダスト > 液体 > ナノ材料/構造のカプセル化/固定化

4.3 英国

英国政府の委託で行われた、英国王立協会と英国工学アカデミーによる「ナノサイエンスとナノテクノロジー 機会と不確実性」という調査の報告書が 2004 年 7 月に出され、世界的な反響を呼んだ。報告は 21 の勧告を行い、以降英国ではそれに沿って施策が実施されている。ナノテクノロジーの健康と安全に関しては、産業における健康と安全についての監督機関である安全衛生庁 (HSE) が担当するよう位置づけられ、労働衛生に関しては、労働衛生研究所 (IOM) が、HSE の資金提供を受けて、レビューを行っている。2004 年

10月には、「ナノ粒子：労働衛生レビュー」*という報告書を提出している。内容はナノ粒子の物理的特性/性質、ナノ粒子への暴露、ナノ粒子の制御、暴露の量的推定から成り立っている。ナノ粒子の制御の章は、吸入、皮膚浸透、経口吸収についての防止対策について述べている。そして次のような記述がある。

ナノ粒子の暴露の制御の戦略は以下の点を含む。

- 1) プロセス全体の囲い込み
- 2) 局所的排気システムによる部分的囲い込み
- 3) 局所的排気システム
- 4) 一般的排気システム
- 5) 作業者(数)を制限し、外の者は入れない
- 6) 暴露関連作業の削減
- 7) 壁や他の表面の定期的清掃
- 8) 適切な個人防護具の使用
- 9) 汚染区域での飲食の禁止

さらにIOMは、2005年12月に「ナノ粒子とナノチューブからのリスクに関する有害性データのニーズの詳細調査」*という報告書を出しているが、暴露制御については取り上げられていない。

また、英国政府は2005年11月「工業ナノ粒子による潜在的リスクの特徴」という第1回報告を出し、2006年10月には、第2回報告をだしている。第2回報告の中では、「暴露制御装置の開発」のプロジェクトの計画に触れている。

- 1) 現状の制御手段の有効性：HSEと安全衛生研究所(HSL)によって計画されている。ナノ粒子の捕集と閉じ込めに焦点を絞る。(例えば、局所排気装置(LEV)、薬品ドラフト、層流ブース、グローブボックスなど)
 - 2) 保護具、保護衣などの性能の評価
 - 3) 暴露制御のためのコントロールバンディングアプローチ：COSHH Essentialsの活動と関連、NIOSHと議論。
 - 4) 水濾過技術：飲料水や排水からのナノ粒子の効率的な除去。
- (*「ナノ材料、ナノ粒子等の安全性に関する調査」報告書、平成18年3月NEDO委託調査、古河テクノロジーサーチ(株)に詳細が紹介されている。)

なお、ナノ材料の安全な取扱については、英国規格協会(BSI)においても、議論されているが、それについては、5.3.2で紹介する。

4.4 ドイツ

「ナノ材料の工業的応用 機会（チャンス）とリスク」と題した報告書が、EC のプロジェクト“Nanosafe”（ナノ粒子の製造と使用におけるリスク評価 予防手段と実施規定の開発とともに）の一環として行われた技術分析の成果として、ドイツ連邦教育研究省（BMBF）の援助を受けて、VDI テクノロジーセンターから出版された。この会社はドイツ技術者協会（VDI）の子会社であり、報告書の代表編集者は、この会社の未来技術部門のW.Luther 博士である。

本報告書は、ナノ材料の分類・特性から始まって、その工業的応用と市場の可能性、製造方法、特性評価と検知の技術、リスク評価、リスク管理まで扱った全面的なものであるが、ここでは、「リスク管理」から、本章に関連する記述を紹介する。尚、このリスク管理の章では、作業場でのリスク管理だけでなく、環境に対する対策、標準化と規制まで触れている。

作業場における防護手段

作業場への曝露を防ぐため、ナノ粒子の生産は物理的に完全に封じ込めた状態で行うべきであるが、装置のクリーニングやナノ粒子の加工のような作業が曝露の機会となる。ハザード源への労働衛生上の曝露対策は、個人保護具より優先されるべきである。以下の対策は、浮遊物質を吸入したり、皮膚に付着させないようにするための制御手段である。

プロセスの変更：バッチ処理や断続的処理より、密閉空間での連続処理が望ましい。プロセスはシールされた、または閉じた空間に最大限ナノ粒子を閉じ込めておくように設計されるべきである。

プロセスの隔離：プロセスのコンピューターコントロール、生産とメンテナンスの自動化、遠隔操作などにより、プロセスと装置を作業員から隔離する。有害な操作が行われている間、その区域には作業員のアクセスを制限することが有効な手段である。

局所排気：この手段は最も良く用いられ、必要不可欠なものである。排出源と捕集フード及びダクトを結ぶ規定された空気の流れを作ることであり、フードの設計は装置の物理的配置や排出源の特性により、変わり、移動可能なものから、完全な閉じ込めまでがあり得る。ナノ粒子をフードの中に導き、通気システムを通して排出するに十分な空気流量が供給されなければならない。正圧の清浄な空気の供給装置を備えた生産区域のブースが、ナノ粒子の曝露対策として有効であろう。

作業管理：作業管理は以上の工学的対策の補助手段として必要である。作業標準とメンテナンス手順の構築は曝露を最小化する。個々の作業員は、曝露を予防するために、最終的に大きな個人的責任を共有しているのである。例えば、作業員によりマスクの適正使用がなされないと、マスクの使用プログラムの有効性は減ってしまう。作業員はマス

クの使用法と必要性について教育されなければならない。

個人保護具：これは、作業者を暴露可能性から守るもう一つの手段であるが、その欠点は、しばしば作業場の汚染が放置されること、主な安全責任を作業者個人に帰させてしまうことである。

- ・吸入保護：マスクの種類、機能、フィルタの構造と粒子捕集機構について解説した。マスクに使用される繊維を用いたフィルタは 100～400nm の粒子捕集効率が最も低い。フィルタの規格は 300nm の捕集効率で決められている。マスク着用時は、作業が可能な状態でなければならない。マスク着用には、実演を含む講習によって、フィッティングテストの仕方を習得しなければならない。マスクの機能が常に維持されているかどうかのチェックもなされていなければならない。
- ・皮膚の暴露を防止するため防護服、手袋、帽子を着用する
- ・側面カバー付の防護めがねで目を保護する。

監視システム：作業区域がナノ粒子の暴露から守られているか、適当な監視がなされていないと見なされる。ナノ粒子の数濃度の定期的な測定が必要である。これは、ナノ粒子の生産現場だけでなく、加工産業においてもなされるべきである。このモニタリングは、作業および作業区域全体、作業条件の変更時、をカバーしていなければならない。

5 . ナノテクノロジーの管理手法開発の動向

5 . 1 国内の動向

5 . 1 . 1 ナノテクノロジーの社会的受容に向けた活動

産業技術総合研究所（以下産総研）には、ナノテクノロジーの先駆けとなった「アトムテクノロジー」プロジェクトの中核を担った歴史があり、ナノテクノロジーの研究開発が極めて活発で、世界的な COE であると言ってよい存在である。それだけに、「ナノテクノロジーの社会的受容」への取組みについてもリーダーシップを発揮してきた。産総研技術情報部門が中心となって、2004 年 8 月～2005 年 3 月まで「ナノテクノロジーと社会」討論会（7 回開催、シンポジウム 1 回）が、学会、産業界、行政等広範な人々の参加で行われた。これが基礎となって平成 17 年度文部科学省科学技術振興調整費「ナノテクノロジーの社会的受容促進に関する調査研究」プロジェクト（代表：産総研技術情報部門 阿多誠文）が、産総研、物質・材料研究機構、国立環境研、国立衛生研の参加、省庁連携で実施された。このプロジェクトは、本調査関連でも、既に取り上げたフラーレン、カーボンナノチューブの製造現場の環境測定や、ナノ材料を製造・使用している事業者 10 社との検討会による産業界の実態の調査（産総研化学物質リスク管理研究センター蒲生チームによる。その内容は後節で紹介する。）などの成果の他、社会的受容にかかわるアンケートやナノ粒子の生体影響等でもこれまでにない研究がなされた。これらは引き続き、より広がりを持って取り組まれる活動のための基礎となったと言えよう。

5 . 1 . 2 NEDO プロジェクト「ナノ粒子特性評価手法の研究開発」

平成 18 年度から標記プロジェクトが開始された。この研究開発では、工業ナノ粒子が人の健康と環境に及ぼすかも知れない潜在的な影響の可能性に関する知見の収集・整備に努める一方で、リスク評価に必要な物理化学特性をはじめとした工業ナノ粒子のキャラクタリゼーション手法、環境濃度、環境放出発生源、環境中の運命と挙動等の解析技術を含む暴露評価手法、及び基礎的な有害性評価手法を開発するとともに、これらを用いた工業ナノ粒子のリスク評価手法を確立することを目指す。（（ナノテクノロジープログラム、化学物質総合評価管理プログラム）「ナノ粒子特性評価手法の研究開発」に係る委託先の公募について；独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 バイオテクノロジー・医療技術開発部（平成 18 年 4 月 3 日）より）

研究開発期間は平成 18 年度から平成 22 年度までの 5 年間、事業規模は平成 18 年度 374 百万円であり、公募の結果、産総研と産業医科大学が共同委託先となり、中西準子産総研化学物質リスク管理研究センター長がプロジェクトリーダーで開始された。

研究開発の目標は、カーボンナノチューブ、フラーレン、酸化チタン等の工業ナノ粒子の有害性評価、暴露解析、リスク評価等の基盤となるキャラクタリゼーション手法、環境濃度計測、環境放出発生源、環境中の運命と挙動等の解析を含む暴露評価手法、および基礎的な有害性評価手法であって国際的水準に見合うものを開発するとともに、これらを用いた工業ナノ粒子のリスク評価を行って適正に管理するための提言を取りまとめる、ことである。図 5.1 に示される研究スキームで、研究開発が行われるが、最終目標である「ナノ粒子のリスク評価及び適正管理の考え方」は、本調査の目指す「ナノテク

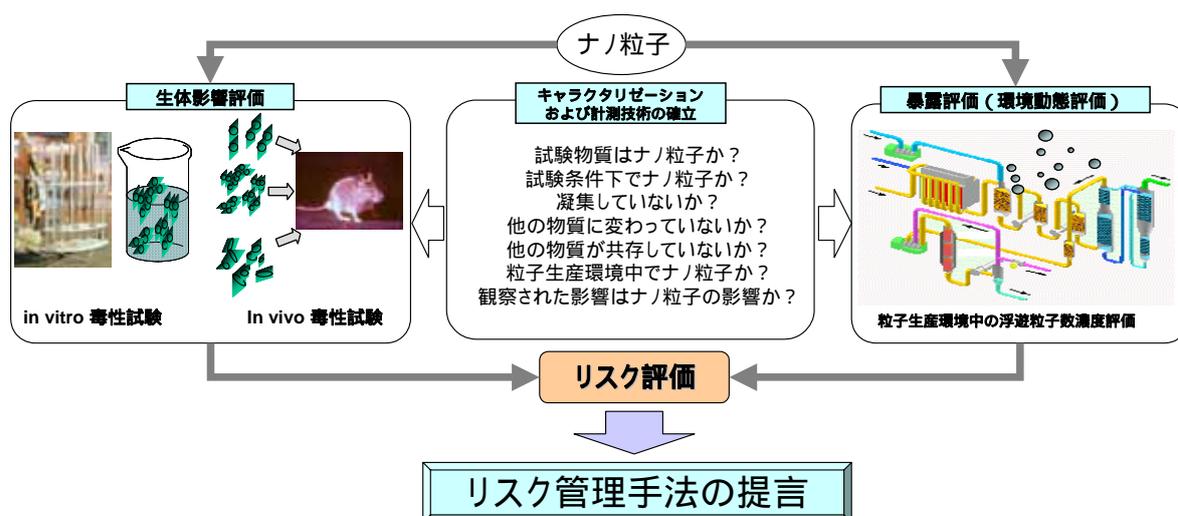


図 5.1 「ナノ粒子特性評価手法の研究開発」のスキーム

ノロジーの研究・製造現場における適切な管理手法」を、工業ナノ粒子の工業ナノ粒子のキャラクタリゼーション手法、暴露評価手法、有害性評価手法を開発した上で、確立しようというものである。本調査によるガイドラインは、それまでの暫定的なものであると言えよう。

なお、本プロジェクトは海外においてもその計画が紹介されているが、その規模の大きいこと、良く考え抜かれた計画などにより、評価が高く、成果が期待されている。

5.1.3 国内におけるナノ材料の生体・環境影響に関わる研究活動

厚生労働科学研究費補助金の化学物質リスク研究事業では、2つのプロジェクトが、ナノ材料を対象として実施されている。平成17年度から始まった、広瀬明彦 国立医薬品食品衛生研究所主任研究員を主任研究者とする、「ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害性評価及び体内動態に関する基盤研究」(3年間、18年度予算76,615千円)と平成18年度から始まった、巨理文夫 北海道大学大学院歯学研究科教授を主任研究者とする、「ナノ微粒子の体内動態可視化法の開発」(3年間、18年度予算46,150千円)である。この内前者は、「ナノマテリアルの安全性確認における健康影響評価手法の確立に関する研究」(12,000千円)として行われ、フラーレンと酸化チタンを中心的な対象物質として、生体試料中での測定法の検討、*in vitro*系の生体影響評価法の検討、*in vivo*系における投与方法や生体内動態の検討などを行い、体内動態解析や補助剤を用いての*in vivo*系試験系への適用が可能になった。(平成17年度総括・分担研究報告書)

北海道大学の巨理らは、「ナノトキシコロジーアセスと微粒子・ナノチューブのバイオ応用」第1回研究会を2005年12月に立ち上げ、以降半年に1回開催している。

他に、ナノ学会、フラーレン・ナノチューブ研究会、日本エアロゾル学会が、ナノ粒子の健康・環境影響を取り上げている。

5.1.4 国内企業におけるナノテクノロジー管理の実態

産総研の調査

すでに述べたように、産総研化学物質リスク管理研究センター蒲生チームは、平成17年度文部科学省科学技術振興調整費「ナノテクノロジーの社会的受容促進に関する調査研究」プロジェクトの中で、「ナノマテリアルのリスク管理手法に関する調査研究」として、ナノ材料を製造・使用している事業者(化粧品関係5社、炭素系3社(含金属酸化物1)、プラスチック加工、粉体加工各1)と検討会を行った。そこで出された各社の取り組みの現状は以下のようであった。

1) 作業環境での防護

従来からの一般的な粒子材料に対する防護を基準に考えているところが多かったが、一部アスベストに準じるなど、高度の防護をとっているケースが見られた。ただし、ナノサイズの粒子に対する防護を実際に確認している例は少なかった。

<各社の状況>

- ・IPCS(国際化学物質安全性計画)での勧告に従い、アスベストに準じた管理レベルを想定。
- ・通常の粉体に準じた対応だが、最大限を心がけ、新しい情報が得られれば更新。一般的な粒子に準じて行っている。

- ・防護は、製品製造フローでは実施されているが、研究開発段階では徹底されていない場面がある。
- ・自社で用いる保護具は、実際に扱うナノ材料を対象に防じんマスクメーカーと協議して決定。
- ・業者カタログより安全性が高いと思われるものを選定。ナノ粒子での効果は未確認。
- ・マスクやグローブといった保護具の使用や作業服に関する規定をさだめている。
- ・一定性能以上の防じんマスクを用いているが、ナノサイズの粒子の除去性能は確認していない。
- ・可能な限り閉鎖系の設備。排気、換気設備の設置。ドラフト、グローブボックスの使用。回収系の併設。施設の陰圧設定。
- ・水系に分散したナノ材料を購入・使用しているので、作業環境での吸入暴露は想定されない。
- ・爆発性にも配慮している。

2) 作業環境での計測

一部実際にナノサイズの粒子を計測していた事例が見られたが、ナノ材料ということでの特別の計測を行っているケースは少なかった。この理由として、計測法が確立していない状況が指摘されていた。

< 各社の状況 >

- ・公的機関の調査研究に協力し、いくつかの作業状態でのナノサイズの粒子を計測した。
- ・製造プラント、研究設備、それぞれのエリアで実測している。
- ・製造ラインは閉鎖場所に設置してあり、ナノを対象としたモニタリングは特に行っていない。
- ・労働安全衛生法に基づく粉じん計測を行っている。
- ・作業環境中のナノ粒子の計測はしていない。計測は特に行っていない。

3) 排気と廃棄物

排気の処理には、HEPAフィルタを用いている事例が多かった。

< 各社の状況 >

- ・排気はHEPAフィルタで捕集
- ・HEPAフィルタとスクラバーを設置、それらで捕集されたものは廃棄物処理。
- ・廃棄物は焼却している。

4) ナノ材料の出荷時・購入時の状態

この項目は、必ずしも各企業がリスク管理のために行っているものではなかったが、移送や容器の移し替えは作業者の暴露機会の一つと考えられるため、出荷時・購入時の形態について調査した。

< 各社の状況 >

- ・ 出荷時は乾粉・パウダー状であり、水などに分散した形はとっていない。
- ・ 出荷形態としては、特殊なケースを除き、樹脂に分散させたマスターバッチによっている。
- ・ 粉末（ドライ）で購入して使用している。
- ・ 水系に分散したものを購入している。

5) 製品のライフサイクルへの配慮

一般の人や環境への暴露につながるような用途について、自社のナノ材料あるいはナノ材料応用製品の使用を控えるように伝えている事例が報告された。ただし、その場合であっても、リスクが高いと考えているというよりも、むしろ、安全性について確定した証拠が得られない現状では、予防的な措置としてそうしているというものであった。

< 各社の状況 >

- ・ 一般環境で広く暴露を生じる可能性のある用途は認めていない。
- ・ 食品の生産など、直接摂取するものとの接触がある用途への使用を制限している。安全サイドの配慮から、開放系での用途は好ましくないと説明。用途の制限もあろう。
- ・ 製品からの暴露について配慮はしているが、様々な使い方があるのでデータを取りきれしていない。

6) 有害性試験の実施

自社で実施しているケースと、外部機関で実施しているケースとがあり、試験は原料と製品について行われていた。公的機関の試験研究に試料を提供することで、結果的にデータを取得して公開するというアプローチをとっている企業もあった。

< 各社の状況 >

- ・ 社内の取り決めに従い実施している。
- ・ 自社で試験を行っている。
- ・ 権威ある外部機関で、最新の試験方法を実施。試験は外部へ委託。
- ・ 原料と製品（製品使用時の暴露状況を念頭において）について試験を行っている。
- ・ 配合製品について安全性試験を実施している（一般的に製品に求められる試験項目として）。
- ・ 公的な機関での試験研究に対して試料を提供している。データは公開される。

7) 研究の実施

各種の研究的な活動の事例も報告された。内容は多岐にわたるものであった。

< 各社の状況 >

- ・樹脂中のものと単体について、気中での効率の良い処理方法を開発して特許を出願した。
- ・ナノ材料の物性の測定法を大学と共同研究している。
- ・マスクやフィルタの性能に関する試験を公的な機関で検討している。
- ・環境暴露、作業環境暴露に関する試験を公的な機関で検討している。
- ・試験のためのサンプル調整法を検討。
- ・水生生物への蓄積性を検討。
- ・製品からの主たる暴露経路である皮膚での吸収について詳細な検討を予定している。

8) 情報の伝達

情報伝達の対象は主に企業（すなわち、自社製品のユーザー企業）に対してであった。MSDSはそのための手段と考えられるが、盛り込む内容については、科学的知見が必ずしも十分ではないというナノ材料に特徴的な状況から、各社、頭を悩ませている様子であった。一般の消費者相手の情報伝達については、ある業界のナノ材料利用企業のうち、ナノ訴求（ナノ材料の利用をセールスポイントとして表明すること）をしている企業は2割程である事例が報告された。

< 各社の状況 >

- ・製造企業として知りえた情報は、MSDSに記載し、顧客に伝えている。
- ・MSDSには接触や吸入を防ぐべきと明記し、保護具と排気・換気設備を注意事項として記載。
- ・MSDSは従来知見が比較的ある材料のものをベースに、最新情報を加味して見直している。
- ・MSDSは顧客用（一般消費者ではない）向けに作成している。
- ・ナノ材料を使うことによる特別のMSDSやラベリングは行っていない。
生態への影響の有無が現時点では不明なので、MSDSを参照しての安全サイドの使用を勧める。
- ・注意事項は、有害性の懸念のためというより、有害性議論が十分収斂していないことを配慮して。
- ・有害性の情報が十分収斂していないため、MSDSでは取り扱い（暴露）の比重も大きい。
- ・保護具について、推奨する具体的な形式等の問い合わせには個々に答えている。

- ・安全性を判断できないので、情報開示は行っていない。
- ・試験機関から公開される以前の情報も、機密保持契約を結んだ顧客には説明している。

本調査による企業ヒアリング結果

本調査では、ナノ粒子製造を事業化ないしサンプルを供給している材料メーカー6社、ナノ粒子を使用した商品を市販ないし事業化しようとしている企業4社、ナノ粒子暴露からの防護機器・用具関係の企業2社にヒアリングを実施した。産総研の調査に対応させてその結果を述べる。

1) 作業環境での防護

ナノ粒子の製造工程は1社を除き、完全密閉系プロセスであり、出荷もペースト状にしている場合があった。かなりの量の生産を行っている場合には、非常時対応も含め、製造時の暴露は考えられない状態であるといえる。但し、非定常作業（装置の解体修理や反応器内部の定期的清掃）では、相応の対策が必要である。完全密閉系でないプロセスを採用している例では、ナノ粒子は飛散しにくい状況で生成しており、作業環境測定（ナノ粒子対応の測定器ではないが）でも問題ないレベルであるということであった。プロセスとしてリークがあると反応が停止するというメカニズムになっている例もあった。

暴露管理としては、殆どが工場、作業場の全体換気（陰圧となっている）を行い、環境対策として、集じんを行っており、HEPAフィルタを用いている例もあった。局所排気を使用している作業場もあった。

個々の対策レベルとしては、石綿に準じたレベルから通常の粉じんと同様のレベルまで、企業により差があった。厳しい管理を実施しているところではクリーンルームとして作業場を分け、専用の作業着、保護めがね、マスクを用いている。

マスクについては、マスクメーカーと相談して決めているところが多い。送気マスクの使用を検討しているという企業があった。

法的には必須ではないが、粉じん作業として健康診断を実施している例があった。

2) 作業環境での計測

一番進んだ例では、公的機関に協力して、ナノ粒子を計測できる装置を用いて、作業環境を計測している。通常は、粉じん職場で用いられる粉じん計で対応している。

3) 排気と廃棄物

排気については1)で述べた。廃棄物は、焼却するか（炭素系ナノ粒子は焼却が最適と考えられている）通常の廃棄物同様に業者に処分させるかである。最も進んだところ

ではゼロエミッションを実現している。

4) ナノ粒子の出荷時・購入時の状態。

産総研調査と特に変わりはない。水系だけでなく、有機溶媒などに分散する場合もある。ドライな粉状での出荷時は二重の袋、二重容器などリスク対策をしている。

5) 製品のリサイクルへの配慮

ナノ材料がデバイスの中に完全に閉じ込められた状態の製品の場合、使用時は問題ないが、廃棄され破壊された場合のリスクは、不明であり、大きな課題であると認識されている。ただしこの製品の場合、実用化はまだ先のことである。

製品試験により、製品からの粒子の発生を含めた環境への影響を調べている例もあった。

6) 有害性試験の実施

自社で試験を実施している例があった。また、多くの企業が大学や公的研究機関にサンプルを提供して、安全性確認の一助としている。

7) 研究の実施

産総研の調査以上の例はなかった。

8) 情報の伝達

ナノ材料を使用している、安全性意識の高いメーカーからは、材料メーカーからのMSDSの記載はあまり役に立たない、という不満が出されていた。MSDSには、自社データをすぐ記載するというのではなく、レビューされた論文など、オーソライズされたデータを出すという慎重な対応をしている例がある。

ナノ粒子の暴露対策技術については、世界的にみてもフィルタ技術以外には、研究が特になされていないという現状であり、ヒアリングにおいても、「ナノ特有」の対策は出されなかった。空調関連のメーカーでも、企業からナノ粒子対策という相談はないということである。ナノ粒子対策という観点から、全社的に労働安全衛生の見直しを始めた企業も、「ナノ」ということによる特性が未確定な状況なので、具体的な動きは取り取れていないという状況である。

大学・公的研究機関におけるナノテクノロジーの管理

本調査では、3大学のナノテクノロジーをテーマとしている研究室を見学/ヒアリングした。そのうち、2研究室では、研究室管理が大変しっかりしている印象を持った。明文化

した安全マニュアル、講習会、安全会議などが持たれ、夜間、休日実験は許可制で、一人作業が禁止されている。短期間しかいない学生という立場のものが多いため、一層教育に配慮している。

Good Practise としては、以下の点が挙げられる。

- ・ グローブボックスと直結したナノ粒子製造装置。
- ・ フレキシブルな空気吸込み口を有する排気装置の製造装置解体/集粉時使用。
- ・ 液相合成、表面処理装置でも完全にアクリル板で覆う。
- ・ 粉末や溶媒の取扱いはドラフト中で行う。安全メガネは必ず着用する。
- ・ 可燃ガスや溶剤を扱う設備には防爆対策を行っている。
- ・ 完全自動/防爆型の CVD 装置。(水素漏れを検知して自動的にシャットダウンする)
- ・ 作製したサンプルはパソコンに入力し、行方を完全に把握する。サンプル送付では入念な包装を行う。

公的研究機関は3箇所見学/ヒアリングを行ったが、ナノ粒子共通の問題点として、ナノ粒子の装置内部への付着と開放、回収時の飛散があるが、プロセスの工夫により付着を殆どなくした例、付着物を装置を開放する前に燃焼させてしまう例、チャンバー内部を使い捨ての容器にした例などの進んだ対策が見られた。また、研究所全体の安全衛生担当者が、ナノテクについても対象にして、環境・安全のリスクマネジメントシステムの導入の検討を始めているところがあった。

5.1.5 カーボンブラック協会の取扱安全指針

カーボンブラックは、古くから生産され、日本国内の生産量は年間 80 万トン 94%がゴム補強用として使用されている。凝集した粒子が多いが、個々の単位粒子の大きさはナノスケールである。日本では、化審法上カーボンブラック (CB) は元素 (C) であり、化学物質に該当しないので対象外。安衛法では、通知対象物であるが、番号はない。IARC (国際がん研究機関) は、CB の発がん性分類を従来のグループ 3 からグループ 2B (作用因子はヒトに対して発がん性であるかもしれない) に変更した。また、労働省告示による管理濃度 (2001 年 4 月) は $2.9\text{mg}/\text{m}^3$ である。このような CB について、カーボンブラック協会の環境保安委員会は、1982 年、1993 年、1996 年と「カーボンブラック取扱安全指針」の版を重ねてきたが、2003 年改訂を行った。これは需要家向けの取り扱い指針であり、メーカー各社の MSDS や「カーボンブラック便覧」等も参考にして欲しいとの記述がある。本指針は、カーボンブラック製造工場の労働安全衛生上の指針にもなっている。これは、長期に生産・使用されてきた素材についてのものであり、ナノ粒子の安全な取り扱いに参考になると考えられる。

全文は、資料として本報告書に掲載するが、「衛生上の注意」の部分を紹介する。

CB についての衛生上の注意

応急処置

- () 眼に入った場合：清水で約 15 分丁寧に洗う。眼のふちに付着した場合はクレンジングクリームを塗り、柔らかい布で拭き取る。
- () 吸入した場合：水でうがいし、口の中をよく洗う。大量の場合は被災者を新鮮な空気中に移す。
- () 飲み込んだ場合：水でうがいし、口の中をよく洗う。大量の場合は指などを用いて吐き出させる。体内に摂取されたものは自然に排泄される。
- () 皮膚に付着した場合：石鹸でよく洗い落とす。汚れ落ちが悪い場合はクレンジングクリームを塗り、柔らかい布で拭き取る。

粉じん作業

労働安全衛生法粉じん障害防止規則およびじん肺法の規制内容を遵守する。

作業場の粉じん測定

労働安全衛生法に定める粉じん作業場に該当する場所においては、定期的に作業環境中の粉じん濃度を測定し、その結果の評価については法 65 条に基づき行わなければならない。測定に際しては有資格者の立ち会いが必要であり。測定法は粉じん則第 26 条に定められている。

酸欠および一酸化炭素中毒の防止

CB タンク内等で作業を行う場合には酸素欠乏（酸素濃度 18%未満）および一酸化炭素中毒防止のために、酸素濃度の測定や一酸化炭素検知が必要であり、必要ならボンベ式空気呼吸器やエアラインマスクを使用する。

保護具の着用

粉じん作業に従事する場合は特級粉じんマスク、防じんメガネ、ビニールまたはゴム手袋を着用する。

作業環境の向上

設備関係

- () CB 取り扱い作業場の床めんは隅々まで水洗できるレイアウトとする。
- () CB 取り扱い作業場とクリーンエアとは分離する。（エアカーテン、水マット、手洗い場）
- () CB 取り扱い作業場には全体換気設備または局所排気設備を設ける。
- () 粉じん取り扱い設備は密閉構造とし、可能なら室内は負圧とする。
- () 使用済みの紙袋、フレコン等 CB の付着したものは置き場所を定め、密閉容器に収納する。

日常管理

- () CB 取り扱い作業場は毎日清掃する。
- () CB で汚れた衣服や保護具等はこまめに交換し、常に清潔なものを使用する。
- () CB で汚れた道具、容器等を直接床面に置かないで台の上などに置く。
- () 床面の CB は集じん機で吸い取るか水洗する。乾いた状態ではほうき等で掃か

ない。

- () CB 取り扱い作業場から他のクリーンエリアに立ち入るところでは、汚れた靴底の洗浄設備を設置するか、靴カバーを着用する。

5.2 米国の動向

米国においては、国家ナノテクノロジーイニシアティブ (NNI) が、ナノテクノロジーの研究計画を立てた際に、環境・健康・安全 (EHS) に関する研究に予算全体の10%を配分するとしたことに見られるように、この分野の研究が盛んで世界を牽引していると言って良い。ナノテクノロジーの管理手法についても進んだ取り組みが見られる。取り組んでいる機関・組織毎にその現状を紹介する。

5.2.1 国立労働衛生研究所 (NIOSH)

米国国立労働衛生研究所 ; NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) は米国厚生省疾病管理・予防センターCDC(Center for Disease Control and Prevention)傘下の研究所である。NIOSH は総勢 1400 名 (うち Morgantown 500 名、Cincinnati 500 名) を擁する研究機関であるが、バーチャル組織としてナノテクノロジー研究センター (Nanotechnology Research Center) を活動させている。

ゲラシ博士 ; Charles L. Geraci : Branch Chief, Document Development Branch, Education and Information Division とフーバー博士 ; Mark D. Hoover : Senior Research Physical Scientist, Division of Respiratory Disease Studies, Laboratory Research Branch は、このセンターにおいて中心的な役割を果たしており、NIOSH の Nanotechnology への取り組みを牽引している。ワシントン駐在のムラシヨフ博士 ; Vladimir Murashov : Office of the Director, Department of Health and Human Services は、渉外・広報・標準化を担当している。以前、この NIOSH において、この方面の強力な推進者であったメイナード博士 ; Andrew D. Maynard は現在 WWIC ; Woodrow Wilson International Center for Scholars において、Project on Emerging Nanotechnologies に携わっていて、ナノテクノロジーの EHS 全体の牽引車として、NIOSH の活動を側面から支えている。センターの活動成果は直ちに Web site に掲載し、また、プログレスレポートも発行している (2007 年 2 月末に、「作業場における安全なナノテクノロジーに向けた進歩 (Progress Toward Safe Nanotechnology in the Workplace)」が発表されている)。

センターには以下の 10 の活動分野がある。

1. 毒性
2. リスク評価
3. 疫学と監視 (Surveillance)
4. 管理
5. 測定法
6. 暴露と吸収 (Exposure and Dose)
7. 安全
8. 勧告とガイダンス
9. コミュニケーションと教育
10. 適用

センターの体制は以下のようなものである。

- ・ managing 2 人、coordination 3 人、key scientist 10 人、researcher+participant 30 人が、通常業務と兼任している。フルタイムにナノをやっているのは 3 人程度。この約 10 分の 1 が、Nanotech-Field Measurement Team。
- ・ 研究所、ナノ関係者のオフィスの所在地による分布

Morgantown 15、Cincinnati 15、Pittsburgh 3、Spokane (Washington州)
2、Washington DC 1

センターの活動成果の最重要なものが「安全なナノテクノロジーへのアプローチ； NIOSH との情報交換」“ Approaches to Safe Nanotechnology : An Information Exchange with NIOSH”であり、これが、NIOSH のナノ材料の最良の取り扱い方法に関する暫定的な勧告 (Best Handling Practice of Nanomaterial ; Interim Recommendation)である。2005年の10月に初版、2006年7月にアップデートした。半年毎に改訂していく計画であるが、忙しいので、そうはなかなかいかないという事情で、現在も変わっていない。NIOSH としては新しい制御方法 (Control Method)をつくるつもりはなく、このベストプラクティス (Best Practice)でやっていくということである。その内容は、4.2で紹介した「暴露管理手順」の他に、ナノ材料の有害性 (ハザード (Hazard) ; 健康影響から爆発危険性まで) 情報の収集と解説、ナノ材料の特性測定から暴露評価、を含む全面的なものである (本調査報告書の付属資料として、全文とその和訳を節ごとに対応させたものを掲載した)。NIOSH はこのガイドラインを広め議論してもらうことを重要な活動と位置づけており、2006年12月にオハイオ州シンシナチで開催された “ International Conference on Nanotechnology Occupational and Environmental Health & Safety (NOEHS): Research to Practice ” において冊子を配布している。

本調査において、NIOSH を訪問し、最新の情報や成果の説明を受けたので以下に記述する。

- ・ナノテクノロジーの定義は「少なくとも一つの次元で 100nm 以下を対象とする」ということだが、マクロサイズにないユニークな性質を持つことがポイントで “ Other State” とでも呼べる状態である。また、粒子の場合、凝集状態が問題であり、1.鎖状凝集 2.塊状凝集 (Clump of particles) 3.緩い (分散し易い) 凝集の3つがあり、空気力学的にマクロでも、ナノの性質を有することに注意する必要がある。
- ・Nanotech-Field Measurement Team は、企業からの依頼により、無料で職場の環境測定を実施するチームである。Walk-through evaluation と称し、工程、作業管理、対策などを調査し、浮遊粒子や付着粒子を測定し、改善策を勧告する。依頼件数が少ないのが悩みようである。
- ・毒性の程度とベストプラクティスとの関係 (毒性の程度に応じて、プラクティスをどう対応させるか。) コントロールバンディング (Control Banding) を適用する。コントロールバンディングとは、ある与えられたハザードのグループの範囲に対応する化学物質への暴露の帯域 (band) あるいは範囲に対して、単一のコントロール技術が適用されるプロセスである。具体的には以下の表 5.1 に示される。

表 5.1 コントロールバンディングとハザード/コントロールの関係

コントロールバンド No.	ダストの場合の 暴露濃度の目標範囲 (mg/m ³)	ハザードグループ	コントロール
1	10 ~ 1	皮膚と眼に刺激性	労働衛生上のグッド プラクティス適用と 全体通気
2	1 ~ 0.1	単回暴露で有害	局所排気を適用
3	0.1 ~ 0.01	刺激性大で、腐食性 あり	プロセスの囲い込み
4	0.01 以下	単回暴露で毒性強い 再現性ある有害性 感作性	専門家の助言が必要

- ・ NSF の資金でのプロジェクト研究によって、ナノ粒子毎にスクリーニングテストを実施しているが、2005 年 12 月に発表した TiO₂ の暴露限界の基準値が、一つのモデルケースである。

TiO₂ 100nm 以上 1.5 mg/m³ コントロールバンド 1

TiO₂ 100nm 以下 0.1 mg/m³ コントロールバンド 2/3

この値の妥当性については、現在議論にかけられているが、確定すれば NIOSH から OSHA、EPA に提案される。しかし、規制値になるのは時間がかかるだろう。

- ・ ナノ粒子をどう管理していくかという方針をたてるためには、種々のナノ粒子のカテゴリライズが必要になる。今、その検討を行っている。例えば、形態(Morphology)での particle category としては、以下のような考えがある。

A. Spherical homogeneous B. Fibrous C. Non-spherical D. Homogeneously agglomerated E. Concentric F. Heterogeneously distributed G. Heterogeneously agglomerated H. Active I. Multifunctional

さらに、その他の因子として、耐久性(Durability)、反応性(Reactivity=Functionality)、大きさ(Size)をあげて、マッピングする。

また、多種多様にわたる応用の観点からは、特許分類なども参考になる。

- ・ TC229/WG3 (ナノテクノロジーの安全性、健康・環境影響、労働衛生) に対する米国の提案は NIOSH の“ Approaches to Safe Nanotechnology”に多くを負っている。WG の主要なメンバーの何人かも NIOSH の研究者である。

最後に、NIOSHにおいて展開しているナノテクノロジー研究プロジェクトの予定を先に述べた 10 の活動分野毎に示したものを表5.2に示した。

表5.2 ナノテクノロジー研究プロジェクトの予定表：米国国立労働衛生研究所（NIOSH）（1）（括弧内英文字は主担当部署等）

NIOSH ナノテク 10 課題	暦 年				
	2005	2006	2007	2008	2009
(1) 暴露評価	ディーゼル排出粒子の生成と特性の研究 (NORA-PRL, HELD) 森林火災による超微粒子エアロゾルの消防士への暴露研究 (SNORA-DRDS)	ディーゼル排気微粒子のデータと予備的用量測定 (HELD, NORA-PRL) 火災データと予備的用量測定 (SNORA-DRDS) ラットと人の用量測定肺モデル、フェーズ I：既存データの構造と較正 (NTRC EID) TiO ₂ の作業場での暴露評価開始 (DSHEFS unfunded) ナノ材料を取扱っている作業場での実地調査開始	自動車工場のナノ粒子評価 (NTRC-DART) TiO ₂ 作業場の暴露評価報告 (DSHEFS unfunded) ナノ材料を取扱っている作業場でのナノ粒子暴露と特性の継続的な評価	ラットと人の用量測定肺モデル、フェーズ II：移動データによる較正と確認 (NTRC-EID pending) ナノ材料を取扱っている作業場でのナノ粒子暴露と特性の継続的な評価	ナノ材料を取扱っている作業場でのナノ粒子暴露と特性の継続的な評価
(2) 毒性と内部用量	実験動物試験と試験管内 (in vitro) の毒性試験の予備結果 (NORA-HELD)	カーボン・ナノチューブに関するハザード情報 (NORA-HELD)	初期心血管エンドポイント (NORA-HELD pending) 質量基準の表面積測定結果 (NORA-HELD) ディーゼル粒子に関する用量反応データ (HELD)	カーボン・ナノチューブに関する注入と時間の情報 (NORA-HELD) ナノメタルハザード (NORA-HELD) 皮膚関連情報 (NORA-HELD) 神経病学的影響 (HELD) ナノ材料の実験動物の肺および皮膚への暴露結果 (NORA-HELD)	安定した心血管エンドポイントの展開 (NORA-HELD) ナノ球体とナノ繊維の実験動物への肺暴露後のナノ粒子濃度の定量化 (NORA-HELD)
(3) 疫学調査とリスク評価	フェーズ I 基礎情報収集 (NTRC-DRDS)	用途と労働者の調査 (DRDS-DSHEFS unfunded) フェーズ I 基礎情報収集 (NTRC-DRDS) 自動車労働者の超微粒子・エアロゾル暴露と健康影響の相互関係 (NTRC-DART-DSHEFS pending)	フェーズ I 情報収集 フェーズ II 分布調査研究	フェーズ I 情報収集 暴露のレベルとルート	自動車労働者の微粒子・エアロゾル暴露と健康影響の相互関係

表5.2 ナノテクノロジー研究プロジェクトの予定表：米国国立労働衛生研究所（NIOSH）（2）（括弧内英文字は主担当部署等）

NIOSH ナノテク 10 課題	暦 年				
	2005	2006	2007	2008	2009
(4)リスク評価	<p>既往研究に基づく TiO₂ の予備的評価 (EID)</p> <p>肺モデル開発とナノ粒子用量評価の共同研究開始 (NTRC-EID)</p> <p>NIOSH の定量的リスク評価に基づく、TiO₂ 微粒子と超微粒子の別々の暴露限度に関する CIB ドラフトの外部レビュー</p>	<p>既往の研究に基づき、微粒子・超微粒子材料に関する定量的リスク評価の実行(EID)</p> <p>TiO₂ を含むナノ粒子の定量的リスク評価の方法に関する科学的な論文の公開</p> <p>肺堆積モデルの開発と改良</p>	<p>粒子および超微粒子のリスク・評価を継続(EID)</p> <p>作業場でのナノ材料のリスク/ハザード評価を開始 (EID)</p> <p>ナノ粒子のラット肺用量測定モデルの展開と検定 (NTRC-EID)</p> <p>鼻咽頭部位のナノ粒子堆積の評価開始(NTRC-EID)</p> <p>CNT の肺堆積と吸入性の評価とモデリングの開始 (NTRC-EID)</p>	<p>NIOSH の新しいデータを使ったナノ粒子のリスク・評価 (EID pending)</p> <p>NIOSH の新しいデータを使ったナノ粒子のラット用量測定モデルの確認 (NTRC-EID)</p> <p>人の肺モデルの変動と不確実性の結果(NTRC-EID)</p> <p>鼻咽頭部位への堆積結果 (NTRC-EID)</p> <p>CNT 吸入性の予備的モデル化(NTRC-EID)</p> <p>NIOSH ガイダンス文書ハザード/リスク評価の利用 (EID-pending)</p>	<p>ナノ粒子評価として人の肺用量測定モデルへの展開 (NTRC-EID)</p> <p>予備結果に基づく CNT の人肺用量測定モデルの開始 (NTRC-EID pending)</p> <p>げっ歯動物データに基づく CNT の予備的リスク・評価 (EID pending)</p>
(5)測定法	<p>作業環境のナノ粒子の予備的研究(DRDS)</p> <p>オンライン表面積測定法の技術開発(DART)</p>	<p>作業場でのナノ粒子の測定研究 (DRDS)</p>	<p>器具一式と測定手順の確立 (NTRC-DRDS)</p> <p>作業場でのナノ粒子の測定研究(DRDS)</p> <p>オンライン及びオフラインのナノ粒子測定方法の更なる開発(DRDS-DART)</p>	<p>ナノ粒子(手頃、携帯、効果的な)の現実的で実用的な作業場でのサンプリング装置 (NTRC-DART-DRDS)</p>	<p>ナノ粒子測定器具と方法の実施結果(DRDS)</p>
(6)工学的対策と個人保護具	<p>主要な管理課題の確認</p>	<p>フィルタ効率の分析 (NPPTL-DRDS)</p> <p>コントロールバンディングオプションの評価 (NTRC-EID- DRDS-DART)</p>	<p>自動プラントの試験管理 (DART- DSHEFS)</p> <p>呼吸保護具性能評価 (NPPTL)</p>	<p>自動プラントの管理改善の評価(DART-DSHEFS)</p> <p>衣類と個人保護具の評価 (PPE)</p>	<p>管理戦略のまとめ (NTRC-DART)</p>

表5.2 ナノテクノロジー研究プロジェクトの予定表：米国国立労働衛生研究所（NIOSH）（3）（括弧内英文字は主担当部署等）

NIOSH ナノテク 10 課題	暦 年				
	2005	2006	2007	2008	2009
(7)火災と爆発からの安全性	主要な管理課題の確認 (DSR-NPPTL)	ナノ材料の発火と爆発のハザード調査を始める	安全なハンドリング実際 (NTRC-DSR-N-PPTL)		ナノテクノロジー安全経験のまとめ(NTRC-DSR)
(8)コミュニケーションと教育	よくある質問と回答集 (NTRC, OD) ウェブ・リニューアル (NTRC-EID, OD) 公表 公開(NTRC) ナノテク情報(SRL-DRDS)	よくある質問と回答集 (DART, NTRC) ウェブ・リニューアル (NTRC, EID, OD) 公表 公開(NTRC) ナノ粒子情報図書館 (SRL-DRDS)	ウェブ・リニューアル (NTRC, EID, OD) 公表 公開(NTRC) ナノ粒子情報図書館 (SRL-DRDS)	ウェブ・リニューアル (NTRC, EID, OD) 公表 公開(NTRC) ナノ粒子情報図書館 (SRL-DRDS)	ウェブ・リニューアル (NTRC, EID, OD) 公表 公開(NTRC) ナノ粒子情報図書館 (SRL-DRDS)
(9)勧告とガイダンス	NIOSH 外の TiO ₂ の最新論文のレビュー (EID)	TiO ₂ の最新論文の公表 (EID)	良い労働環境のガイドライン(DART) ナノ材料文書(NTRC)	ナノ材料文書の更新 (NTRC)	ナノ材料文書の更新(NTRC)
(10)アプリケーション	NIOSH 教育シリーズ	稼働可能なロードマップ	短期間影響のある実行すべき研究の優先リスト	更なる実行すべき研究	更なる実行すべき研究

括弧内英文字は主担当部署等の略語：

DART: Division of Applied Research and Technology、DRDS: Division of Respiratory Diseases、DSHEFS: Division of Surveillance Hazard Evaluation and Field Studies、EID: Education and Information Division、HELD: Health Effect Laboratory Division、NIOSH: National Institute for Occupational Safety and Health、NORA: National Occupational Research Agenda、NPPTL: National Personal Protective Technology Laboratory、NTRC: Nanotechnology Research Center、OD: Office of the Director、PRL: Pittsburgh Research Laboratory、SNORA: Small National Occupational Research Agenda on personal protective equipment、SRL: Safety Research Laboratory

出典：http://www.cdc.gov/niosh/topics/nanotech/critical.html

Progress Toward Safe Nanotechnology in the Workplace A Report from the NIOSH Nanotechnology Research Center
Appendic G : Projected Timeframe for Addressing Critical Area , pp 166-169

5.2.2 環境保護庁 (EPA)

EPAは、米国における化学物質の規制、TSCA (Toxic Substances Control Act) の所管官庁である。TSCAでは、新規化学物質について製造前届出 (PMN; Premanufacture Notice) をおこなわなければならないが、免除される条件がある。製造前届出を免除される場合は、少量 (10t/年まで)、少量放出/暴露、試験販売、自己認定 (研究開発、ポリマー、その他) などである。また、新規化学物質の認定にあたって、事業者は既に持っているデータ以上に新たに取得を求められないこと、また、知見のないものについてリスクがないとみなす傾向があるとの問題点の指摘がある。

TSCAによってナノ材料の管理が適切に対応できるか、できないとすればどう修正すれば良いか、それとも新しい規制が必要かどうか、という観点から検討が進められている。

TSCAにおいては化学物質の組成が同じであれば同一の化学物質と見なされ、サイズや形状は問われていない。従って、ナノ材料の多くは既存化学物質として扱われていること、またナノ材料に対する命名法が確立されていないこと (標準化)、新規物質とした場合に届出免除規定のしきい値 (10t) は適当か、などの問題点が指摘されている。

2005年5月にEPAはナノ材料の事業者による自主的な情報収集プログラムNVP (Nanoscale Material Voluntary Program) を提案した。NVPは、基礎的な物性情報などの基本情報を収集する基礎プログラムと、材料の種類を限定してEPAがリスク評価を可能とする情報 (ヒトへの有害性、環境情報など) を取得する詳細プログラムとからなり、参加者をプログラムごとに募る。さらに既存情報、取得情報のEPAへの報告、管理基準の導入といった活動を行う。

EPAのOPPT (汚染防止・毒物部) では、NPPTAC (米国汚染防止・毒物諮問委員会) の下でNVPについて検討を進め、2005年末までに最終提言をまとめ、2006年より開始する予定としている (OECD Workshop (2005/12) に報告されているが、その後の動きは明確でない。ただ、Workshopの報告にEPAはいくつかのnanomaterials (少なくとも1つはカーボンナノチューブ) をTSCAの下での新規物質と認定したとの記述がある)。

TSCAとナノテクノロジーに関する動向については、産業技術総合研究所の技術情報部門の阿多誠文、石橋賢一、根上友美、関谷瑞木による、「ナノテクノロジーの社会受容」 - ナノ炭素材料を題材に -、(株)エヌ・ティー・エス発行、2006年3月、の第3章 (根上著) に詳しい。

2006年1月Woodrow Wilson国際センターとEnvironmental Law Instituteが「Managing the Effects of Nanotechnology」という報告書を発表し、既存規定ではナノテクノロジーの問題に対応することは困難であり、新法令を必要とする可能性があり、新たなメカニズムが必要であるとしている。

2006年10月にEPAは、「ナノスケール材料スチュワードシッププログラム (Nanoscale Materials Stewardship Program: NMSP) に関する公開ミーティングを開催した。このプ

プログラムは、2005年11月NPPTAC(National Pollution Prevention and Toxics Advisory Committee)が概要書を提出していたもので、TSCAの下で、ナノ材料の責任ある商業的發展を支援するように設計され、ナノ材料のヒトの健康と環境に対するリスクの可能性を効果的かつ効率的に評価し、リスク可能性を低減させるリスク管理対策(Risk Management Practices:RMPs)を可能にするものである、としている。

プログラムは、自主的参加制度であり、基本的アプローチ(リスク管理方法)、基礎プログラム(個人保護具、工学的対策、廃棄物管理、労働者訓練、ハザードコミュニケーション(MSDS等))、深堀プログラムからなる。

公開討論会では、論点メモが示されただけで、具体的なEPA案が示されていなかった。2007年3月13日に、この討論会のサマリーレポートがWeb公開された。今後、これに沿って、RMSは議論され、制度が動き出すものと思われる。

一方、EPAは、2004年12月にWGを立ち上げ、ナノテクノロジーによりもたらされるかもしれないリスクから環境を保護するための科学的課題を白書(White Paper)にまとめる作業を始めた。2005年12月にドラフトが発表され外部ピアレビューや討論会がおこなわれた。2007年2月最終的な白書が発表された。今後のEPAのナノテクノロジーに関する研究課題の勧告などの施策は、これに基いて行われる。

5.2.3 ICON

ICON(International Council on Nanotechnology)はRice大学のCBEN(Center for Biological and Environmental Nanotechnology)によって運営されているマルチステークホルダー組織であり、日本からの参加もある。

そのプログラムに“Survey of Current Practices in the Nanotechnology Workplace”がある。このBest Practiceは、企業がナノテクの潜在的危険性の管理をより確実にできるようにすることである。プログラムは2006年に行われ、調査の実施先にUCSB(カリフォルニア大サンタバーバラ校)が選定された(Leader: Prof. Patricia Holden)。第1ステージでは既存の全てのBest Practice開発が行われているものの包括的なレビューを行った。第2ステージでは現在のPracticesを電話インタビューにより調べた。

北米、ヨーロッパ、アジア、オーストラリアの64のナノ材料を扱う私企業(80%)、研究所(9%)、大学(9%)、コンサル企業(1%)にインタビューを実施し、現行のリスク管理の実態について調査した。調査参加者の地域分布は、北米25、アジア25、ヨーロッパ11、オーストラリア3箇所であった(送付先総数に対し回答率は19%)。86%がナノ材料を扱って10年未満、ナノ材料を取り扱う作業従事者は50人以下が殆どで、250人以上が4箇所、半数は機関設立が10年未満であった。

この調査結果は10月に公表され、アジア諸国を対象に報告会が11月末東京で行われた。日本はNBCI(ナノテクノロジービジネス推進協議会が協力した)。その概要を以下に示す。

- ・92%が何らかの一般的なEHSプログラムを実施しており、58%はナノ材料に特定したEHSプログラムがある。
- ・工学的対策の内容は、ドラフト43箇所、グローブボックス32箇所、クリーンルーム23箇所、冷暖房空調設備23箇所、閉鎖配管システム20箇所、層流クリーンベンチ15箇所、バイオセーフティキャビネット12箇所、陰圧管理12箇所、グローブバック12箇所、加圧管理6箇所であった。このように、従来の工学的対策をとっているのは、より大きな粒子を取り扱ったり、異なるナノ粒子を扱ったり、いろいろな相中のナノ粒子を扱ったりした経験からきている。
- ・特別な対策としては、エアロックや遠隔操作による閉じたプロセスで吸入暴露を低減したり、防爆構造による密閉、クリーンルーム流出流れを隔離するための低圧の遷移バッファゾーンの設置、酸素や圧力を検知して警報により生産設備を停止させるなどの例がある。
- ・84%が保護具と保護衣を着用。小企業ほど使い捨て保護具を利用。48%が防じんマスクを利用している。化学産業は100%、ナノ材料製造企業は92%が呼吸用保護具を使用しているが、他のビジネスは50%である。
- ・作業環境は61%が測定していない。36%が、濃度と粒径を測定している。ナノ領域外で測定しているのは少数。パーティクルカウンタを用いている例が多い。
- ・72%がナノ材料廃棄物を有害廃棄物とみなすか、廃棄物処分企業に出す。小数だが燃焼、凝集処理、貯蔵、リサイクルなどの例がある。63%はナノ材料廃棄物を他の廃棄物と区別していない。67%が「ナノ」とラベルしていない。
- ・製品監督者責任 (Product Stewardship) としては、86%が、MSDSが安全な製品使用のための情報伝達手段だと考えている。57%はナノ製品の安全な処分方法を顧客に知らせている。
- ・ナノ特有の作業管理には、74%が何らかの障害があると考えており、主な障害は、情報の乏しいこと、ガイダンスが不足していることであるとしている。

以上、調査を総括すると、EHSプログラムとその訓練は広く行われているが、実際の作業管理は、化学物質管理の安全対策と大きく違ってない。多くの企業が、情報に関心を示し、より良くナノ材料を取り扱おうとしている。ただ、本調査はサンプル数が少なく、自発的報告に基いているため、結果にバイアスがあるかもしれないとした。

5.2.4 Environmental Defence デュポン (ED-DuPont)

大規模化学企業であるデュポンが、2005年9月からNGOであるEnvironmental Defence (ED)と進めている”Nanomaterials Product Stewardship”プロジェクトは、2007年に終了の予定であり、ナノマテリアルのリスクのキャラクタリゼーション、アセスメント、マネージメントを全デュポン製品に適用することを目的としている。デュポンは、EDにはScientistが150人近くいて、企業寄りでも狂信的でもなく、科学的に話ができるとの判断

で協力関係を築いた。EDから5~7名、デュポンから8~10名のチームでプログラムを進めている。EDはチェック機能を果たしており、機密情報などについては一切公表しない。

プロジェクトチームは、デュポンのテリー・メドレー (Terry Medley) とEDのスコット・ウォルシュ (Scott Walsh) をリーダーとし、EDのバルバス (Balbus) やデュポンのウォーハイト (Warheit) など、各分野にわたる境界領域のメンバーで構成され議論を行ってきた。

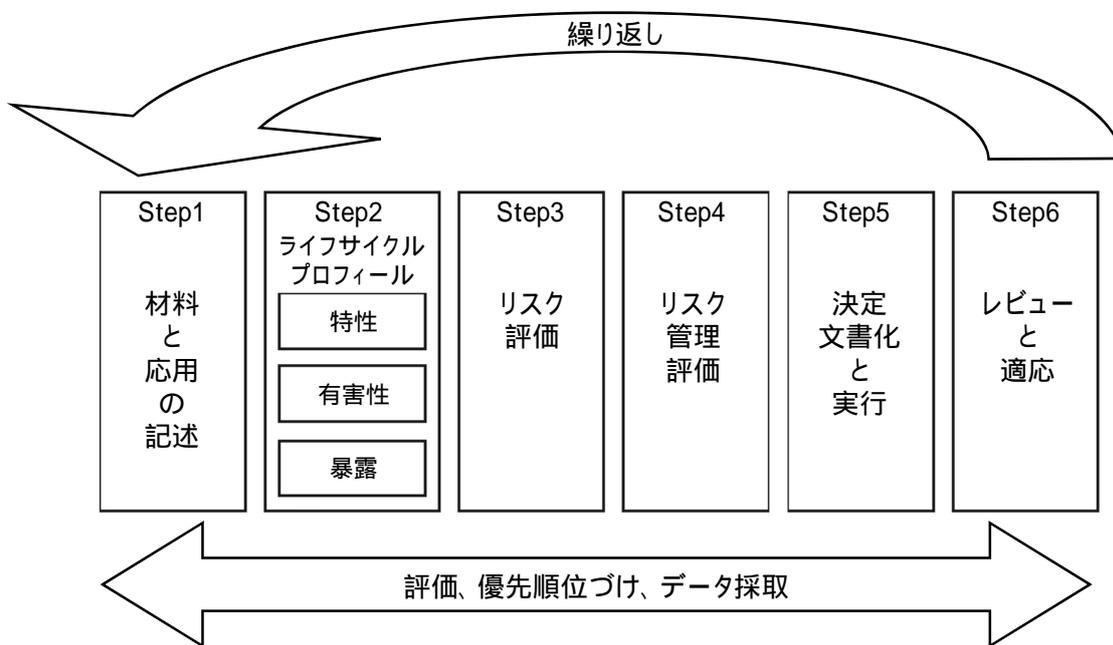
2007/2/27にNano Risk Frameworkのdraftが発表された。このドラフトに対して、コメント、質問、示唆を、3月30日までにメールで寄せるよう希望しており、夏には最終版とそれが開発中の実際の製品にどのように用いられるかの例を公開する予定としている。

なお、このドラフトを発表するに当たって、専門家にレビューを依頼したが、ICONのクリノフスキー、ウィルソンセンターのメイナード、NIOSHのムラショフらとならんで、AISTの蒲生昌志氏の名前が挙がっている。

構成は、序論、概観、Step 1, Step 2, Step 2A, Step 2B, Step 2C, Step 3, Step 4, Step 5, Step 6, 結論、付録:出力ワークシートとなっている。

枠組みは、図5.2のように、6つの明確に区別されたステップからなっており、開発段階の前進と新しい情報の入手によって繰り返されるものである。

図 5.2 ナノリスクの枠組み(Nano Risk Framework)



Step 1 . 材料と応用の記述

この第1段階は、ナノ材料とその意図した使用について、開発者の有する情報と文献から一般的に記述することである。Step 2で行われるより完全なレビューを準

備することである。また、データが無い場合、そのギャップをうめるような類似の物質と応用について、特定する。

Step 2 . ライフサイクルプロフィール

第2の段階は、ナノ材料の特性、固有の有害性、関連する暴露についてのプロフィールを展開する3つのプロセスである。

特性のプロフィールは、ナノ材料の物理的及び化学的性質を同定し特性を明らかにする。

有害性プロフィールは、ナノ材料の安全、健康及び環境への有害可能性を同定し特性を明らかにする。

暴露プロフィールは、ナノ材料への人間及び環境の暴露の機会 - 意図した利用に伴うもの及び偶然の放出の両方含む - を同定し特性を明らかにする。

この枠組みの利用者は、ナノ材料の原料、製造と利用、寿命後の廃棄・リサイクルまでの全ライフサイクルを考慮する。また、材料の性質、有害性、暴露が、ライフサイクルの期間を通して（例えば、製造中や利用中の物理的相互作用や処理後の破壊の際に起るかもしれない化学的变化によって）どのように変化するかを考える。

この段階は、これらのプロフィールの発展を導くために、橋渡しとなる情報の利用だけでなく、基礎となる情報のセットを与えるものである。種々の条件（例えば、開発段階、利用の仕方）によって、情報のセットをどのくらい埋めることができるか、付加的な情報を組み込むことができるか、が影響される。3つのプロフィールは同時に作用する。 - 暴露情報はどんな有害性が最も重要で調査すべきかを示唆するかもしれないし、その逆もありうる。同様に材料の性質がどんな有害性、暴露シナリオが最もあり得るかを示唆するかもしれない。

Step 3 . リスク評価

この段階においては、プロフィールにおいて生成させた全ての情報をこの特定のナノ材料とその予期された応用によって生ずるリスクの性格、大きさ、確率を同定し特性化するために生かさなければならない。

その場合、ライフサイクルプロフィールにおけるギャップを考慮し、ギャップの優先順位付けを行い、そのギャップをどうするか - データを取るか、またはデータの代わりに、合理的な最悪ケースの仮定または値を使用するかを決定しなければならない。

Step 4 . リスク管理評価

ここでは、Step .3 で同定されたリスクを管理するための利用できるオプションを評価し、行動方針を決めることである。オプションは工学的対策、保護具、リスクコミュニケーション、プロセスまたは製品の変更を含む。

Step 5 . 決定、文書化と実行

この段階では、枠組みの利用者は、適切なレビューチームと相談の上、開発や生

産を継続するかどうか、どのくらいの生産能力にするかを決定する。意思決定過程の透明性と首尾一貫させて、これらの決定とその根拠を文書化し、内外の利害関係者と適切な情報を共有する。また、必要とする情報とその収集を開始するという決定をするかもしれない。リスク評価とリスク管理を何時更新しレビューするかの条件とタイミングを決める。各段階毎の出力ワークシートが情報、仮定及び決定の文書化のために付録に付けられている。

Step 6 . レビューと適応

予定通りにしろ、何かに誘発されたにしろレビューを通して、枠組み利用者はリスク評価をアップデートしたり再実行して、リスク管理システムが予定通りに働いていることを確保し、新しい情報に直面した際（例えば新しい有害データ）、または（新しい暴露状況のような）新しい条件に対してシステムを適応させる。レビューは、多くの条件（例えば、開発のマイルストーン、生産や使用の変更、有害性や暴露に関する新しいデータ）によって誘発される。Step 5 と同様に、変化、決定、行動を文書化し、関係者と適切な情報共有を行う。

以上の 6 段階を通じて、この枠組みは、リスクの評価と管理のプロセスを、役に立ち包括的で透明で柔軟性のあるものとなるよう導くものである。また、各段階で箇条書きされた手順や必要なデータなどを Box シートという表の形で示している。以下、各 Step 毎に、詳細な手順が書かれている。詳細は、付属資料として本報告書に紹介する。

この枠組み（フレームワーク）は、Box シートに書かれた項目を埋めながら、「ナノリスクの枠組み」の図 5.2 で表されているように段階を踏みつつ進めることにより、ナノ材料を用いた製品の開発を、リスク評価に基づくリスク管理を実施しながら進めることが出来るというものであり、良く考えられたシステムである。

安全性に関わるデータが揃っていないくても、それに応じて進める論理があることは納得できる。これが、民間セクターによって大いに活用され、使い易く有効なものとなっていくことが望まれる。

ただ、Box シート、出力ワークシートとも、実際のデータを入れようとすると、データがないことが多く、なかなか難しいように思われる。夏に発表される具体例が待たれる。その場合、実際のデータがどのくらい入ってくるのか、開発上の機密事項が入ってくるため空白が多いというのではあまり意味が無い。また、この段階では無理かもしれないが、リスク評価を適応させるためのベストプラクティスについての例は示されていない。

5 . 2 . 5 Center for High-rate Nano-Manufacturing (CHN)

NSF (国立科学財団) の資金で運営されている Nanoscale Science and Engineering Center(NSEC)の一つである Center for High-rate Nano-Manufacturing(CHN)は、North-eastern University 他 4 大学で構成されている。CHN の研究内容は次の 6 点に要

約される。 ナノテンプレートとナノチューブの製造、 高速・高効率な組立て、 信頼性と欠陥の管理、 ナノ製造(ナノ材料またはナノ材料を用いた製品・ナノスケールの構造を持つ製品の製造)のためのガイドとしてのモデリング、 コンセプトを実証するためのたたき台：メモリーデバイスとバイオセンサー、 社会的影響 である。

EHS 関連の研究は 6 番目の「社会的影響」に含まれている。CHN では技術的な研究と同時に、ナノ製造が環境、経済、規制、倫理などの各面でどのような影響を持つかを研究するための専門委員会として社会的課題諮問委員会 (Societal Issues Advisory Committee) も設置している。ナノ製造方法の開発にあたり、CHN の研究者たちは環境に害を与えないプロセスと製品の開発を目指し、環境に優しいグリーン工学の概念を取り入れている。また、環境中、および労働環境でのナノ物質への暴露や、ナノテク開発に従事する労働者に生じる可能性のある健康上の問題等についても、データを収集している。具体的には、全研究室の暴露評価、暴露対策、教育、暴露と対策に関連した研究開発 (測定法の開発、保護手袋での粒子の浸透) を行っている。(機械工学で空調関係の専門家である Prof. Ellenbecker がこの面のリーダー) 2004 年秋～5 年間で活動期間であり、この間、全参加研究室にアンケート実施、3 研究室を訪問している。結果は Web 公開、学会発表を行う。研究室安全対策が主である。この活動については、Prof. Ellenbecker が、「ナノテクノロジーの労働衛生と環境・健康・安全に関する国際会議」(NOEHS 2006 年 12 月、米国オハイオ州シンチナ市) で報告しているが、主たる成果はまだのようである。

5.2.6 ACC

ACC(American Chemistry Council)は、加入企業 104 社を数える全米の化学業界団体である。日本企業 (三菱化学、三井化学、住友化学、ダイキンアメリカ) も加入している。安全、健康、環境 (SHE) に関する活動は、Responsible Care の一環として、最重要視している。

ナノテクノロジーに関しては、CHEMSTAR Nanotechnology Panel を組織して活動している。(約 60 社) ナノテクノロジーの製品と応用に関心を有する、化学品を製造、販売、使用しているエレクトロニクスからパルプにいたる広範な業種の企業で構成されており、会長は PPG、副会長は DuPont である。ミッションとして、以下を挙げている。

- ・ ナノマテリアルの SHE に関する情報の活用と研究
- ・ 製造物責任と持続的発展の原理に基づいて、ナノテクノロジーの発展をはかる
- ・ ナノマテリアルの開発と管理を受け持つ既存の規制の枠組みの使用の擁護
- ・ ナノテクノロジーに関する科学に基づく適切な規制と調和ある国際標準の開発をサポートする
- ・ ナノテクノロジーの社会的受容を維持し発展させる活動を他のステークホルダーとと

もに進める

4つの Task Group(TG)がある。

- Technical Development
- Policy/Advocacy
- Product Stewardship

この TG で、ナノマテリアル (N M s) に適合する L C A の方法論の利用、N M s の安全な取り扱いのガイドライン (NIOSH や OSHA や他のステークホルダーと協力して進める)、国や国際的な規制機関との Product Stewardship についての調整、を目的としている。L C A で取り上げているのは、酸化チタンとフラーレン (難しい) 程度。Best practice については、情報を集めている段階で、来年の中頃にはまとまる予定である (大企業の例が中心)。I C O N の調査と同様な結果が出つつある。公表するか、O E C D に持っていくかは、未定である。

- Communication/Public Outreach

最近の主な活動として以下の例がある。

- 2005年6月 ACC Nanotechnology Panel は、Environmental Defence(ED)とともに、現状の規制の枠組みが、適合しているか、修正を要するかについてのステートメントを発表。EPA,OSHA,FDA を含むエージェンシーが、現状の authority でナノテクノロジーに十分適合するとの見解であることに同意する。
- 2006年3月 Mr. Gulledge は、EPA の Science Advisory Board において、ACC Nanotechnology Panel を代表して、”Nanotechnology White Paper External Review Draft について、E H S に関する Future research priorities についての意見を発表。
- 2006年4月 ACC Nanotechnology Panel は、EPA の National Product Stewardship program for nanomaterials の活動をサポートすることを表明。
- 2006年10月 E P A の公聴会

5.2.7 コンサルタント企業

LuxResearch

元来はマーケットリサーチの会社であったが、emerging technology を商用化していく際の、advisory company を行うようになり、2001年 Wall Street Journal にナノテクノロジーに関する investment についての考え方が取り上げられて、一大反響を呼んで有名になった。子会社がつくられ、”The World’s Leading Nanotechnology Research and Advisory Firm”となり、政府の政策づくりにも関与している。

2005年6月に「ナノテクノロジーの EHS リスクに対する賢明なアプローチ」と題した報告書を発表し、文献調査やインタビューによって、ナノ粒子に関連した EHS リスクの

更なる研究とリスク管理のための基本的な枠組みを示した。成否のナノテクノロジー EHS 関連予算を現状の 2~4 倍に増額すべきであると提唱した。

同社はニューヨーク、ボストン、サンフランシスコにオフィスを持つ。アジアでは、中国、台湾、韓国が積極的であるが、日本企業はそれほどではない(契約している会社は少ないという。)

サービスは 3 つの形で提供される。(契約金は 1000 万円/年程度)

- 1) 年間メンバーシッププログラム 定期的な情報提供
- 2) “Lux Executive Summit”への参加
- 3) アナリストの Speech/Presentation サービス

情報は、Web を使わず、key man との interview を基にする。顧客との信頼関係の下で、事業が立ち上がる前の Inflection Point におけるアドバイスを行う。アンテナを生かし、メディアも使いながら、Interface 的な役割も行う。

2006 年の”Lux Executive Summit”は、10 月 15~17 日 MA のケンブリッジで行われ、310 名を集め盛況であった。そこで”The Truth about Nanotechnology Environmental, Health, and Safety Risks”というプレゼンを行った Dr. Holman からのプレゼンを受けた。

企業はナノテクノロジーにおいて 3 つのリスクを見ていかなければならない。すなわち、ナノ材料の有害性からくる真のリスク (Real Risk), 存在しないかもしれない害からの Perceptual Risk (一般社会における認識), 企業にかかってくる法律という規制によるリスク (Regulatory Risk) であり、これらは相互に関わりあっている。これらに対して、研究開発段階、事業化計画段階、事業化初期 (生産少い) 段階、本格的事業展開段階といった段階ごとに、3 つのリスクに、どのように対処すべきかの処方箋を示した。(例えば、Publish to avoid perceptual risk という考え方など。)

プラクティスに関しては、インベントリー 応用と暴露 リスクの特性化 リスク軽減 と進める。

ただし、具体的なベストプラクティスに関して、Lux としての考え方・経験があるというわけではなく、文献、インタビューなどによるものであろう。

EHS リスクに対しては、ビジネスにかかわる根本的な問題として、企業の経営がコミットすべきであるという考え方である。

Cadmus Group

ナノテクノロジーのための適応リスク評価の枠組み (“Adaptive Risk Assessment Framework for Nanotechnology”という労働衛生、LCA まで取り込んだプログラムをつくり、学会で発表している。(J.A.Shatkin, B.E.Barry ;NSTI-Nanotech 2006,Vol.2006, P553-556) 以下に文献に書かれた内容を紹介する。

リスクは物質の有害性と個々の、あるいは集団への暴露の両方の関数であり、この評価

の枠組みでは、有害可能性から、いかにして、どのような条件でヒトと環境への暴露が起こるかまでを考慮する。ナノ材料のヒトや環境への影響に不確実性がある状況であっても、暴露評価の重要変数を定義し、分析することにより、考慮すべき領域や、制御すべき点の可能性を明らかにしていく。この枠組みは適応的 (Adaptive) であり、不確実性の下で、重要な予防原則的な決定を行う。新しい情報があれば、前提を再検討し、リスク評価を改訂する。この繰り返しにより、リスクの特性がより詳細になる。この枠組みにより、研究、製造、消費という段階における、ナノテクノロジーの EHS に関する、先を見越した (proactive) 保護的な(protective)取り組みを可能にする。このアプローチの決定的に重要な点は、各々のナノ材料に特有な性質と特性とそれに結びついたプロセスと利用がどのように。有害性 and/or リスクを作り出すかを特定することである。評価のプロセスは、有害性の特定、用量応答評価、暴露評価、リスク評価の 4 段階からなる。何回もの繰り返しによって、有害性と暴露についての理解が進みリスク評価が精緻になる。このアプローチにより得られる情報は、ナノ材料を扱う作業場での、健康と安全のためのプラクティスへの勧告の基礎となる。また、LCA は製品の環境へのインパクトを測る良い解析ツールとなる。ライフサイクルは、原材料 プロセス 製品 パッケージ (広い意味で、加工も含む) 使用/処分 と簡略化している。各ステップでスクリーニングレベルのリスク評価を行う。定性的ではあるが次の段階に進むとより詳細になってくる。

これは、顧客向けの活動であり、具体的には述べられていないが、二つの企業に適用したという。スタートしたばかりの小企業では、作業条件の不安全さが主なリスクであったという。ナノ材料の発火性、ナノ材料とその原料の吸入と皮膚への暴露などがあった。ナノ材料を使った製品を開発している企業では、パッケージ (加工) の段階での作業員への暴露の問題があった。ナノ材料の注入時やナノ材料を含む液体の飛散によるエアロゾル化、その結果としての環境の汚染などがあった。

Foresight Nanotech Institute

ナノテクノロジーの有力シンクタンク兼公益機関であるフォーサイト・ナノテク研究所 (Forsight Nanotec Institute) は、Institute of Molecular Manufacturing と共同して、"Forsight Guidelines for Responsible Nanotechnology Development"を公表している。

目的は、市民や政府には、政策決定のための基本的な考え方を、ナノテクノロジー従事者と産業には、責任ある開発のためのガイドラインを提供することである。

製品監督責任 (分子工学、分子機械を主対象) を取り上げ、分子工学や分子機械の開発、製造、規制に関する原則を述べている。特に自立した自己複製子 (autonomous replicator) に対して議論している。(これは、同研究所のドレクスラーが 1986 年に出版した「創造する機械 ナノテクノロジー」で、機械を組み立てるとき、原子をひとつずつ結合させることができれば、顕微鏡でも見えない歯車やモーターがつくれ、ナノレベルの機械「ナノマシン」の実現を予言した、ことと関連していると思われる。)

このガイドラインは、Web で公開されており、1999 年から取り組み、改訂を重ねて、2006 年 4 月で第 6 版である。分子機械を対象にしていることが特色であり、本調査の対象であるナノ粒子については、取り上げられていない。

ナノテクノロジーのプロフェッショナル、産業、政府のそれぞれに対してガイドラインを挙げており、それぞれがその条項に対して自己採点（スコアカード）出来るようになっている。倫理綱領的色彩が強く、プラクティスのガイドラインではない。

5.3 英国、ドイツの動向

5.3.1 英国環境・食料・農村地域省 (Defra)

英国政府のナノテクノロジーに対する取り組みは、各省庁間の協力・連携を図って進めるために、3つのグループを形成して行われている。ナノテクノロジー関連意見交換 Gr (Nanotechnology Issue Dialogue Group;NIDG)、ナノテクノロジー研究協力 Gr (Nanotechnology Research Co-ordination Group;NRCG)、ナノテクノロジー参画 Gr (Nanotechnology Engagement Group;NEG) であり、NIDG は政策、NRCG は研究、NEG は社会参画を担当している。NRCG の議長は Defra が務めており、4.3 で述べたように、2005 年 11 月「工業ナノ粒子による潜在的リスクの特徴」という第 1 回報告を出し、2006 年 10 月には、第 2 回報告をだしている。

さらに、NRCG は、2006 年 9 月に、「工業ナノ材料の自主報告スキーム」(Voluntary Reporting Scheme(VRS)) を発足させた。

Defra は企業、研究機関、業界団体にアンケートを出し、ナノ材料、物理・化学的性質、毒性と環境毒性、環境運命、測定法、リスク管理などのデータを集積し、次の段階での議論の根拠とする。2006 年 9 月開始して、半年毎レビューし、2 年間、2008 年 9 月まで実施する。内容は confidential である。

5.3.2 英国規格協会 (BSI)

英国内における製品標準の制定、国内外の標準化の普及、製品テストの実施および標準化に伴う各種情報サービスを行うことにより、英国の標準化活動を推進する英国規格協会 (British Standards Institute;BSI) は、ナノテクノロジーについて、フリーな工業ナノ材料の安全な取扱いと処分のガイド、ナノ材料の製造物責任を果たすスペックのガイド、ナノ粒子とナノ粒子を含む製品のラベリングのガイドの 3 テーマについて報告書にすべく作業中である。このうち のテーマが、作業員及びその他の公衆がナノ材料の不必要な暴露から免れるために、工業ナノ材料の製造、加工の際のグッドプラクティスガイダンスを提供するものであり、本調査と関連する。ISO に提出予定としていたが、2006 年 12 月の TC239/WG3 では未提出であった。

5.3.3 ドイツ連邦労働安全衛生研究所 (BAuA)

BAuA は、ドイツ連邦経済・労働省の傘下の研究所で、職業病や労働災害のデータ収集、予防措置、知識普及、意識改革、職場改善などを担当している。ナノ粒子を扱う作業での健康と安全を図る問題については国内的にも国際的にも業務としている。BAuA はドイツ化学産業連盟 (VCI) と共同して、企業に対してアンケートを発送し、ナノ材料の製造/利用/副生、取り扱い量、関連労働者数、暴露測定、BAuA の活動への関心、健康影響に関する情報、粒子との接触/取り扱いからの労働者の不満、顧客へのナノ材料の有害可能性情報の

伝達等について質問した。2006年5月から開始した。現状把握を目的としている。別に、工業ナノ粒子の作業管理についてやはりVCIと共同研究している。報告書を随時Web公開するが、アンケート結果はconfidentialである。その他にナノ粒子の計測、排出限界についての研究を行っている。これらの活動の成果は未だ公表されていない。

5.3.4 Nano Care

NanoCareは、企業5社(主な化学会社は全て参加、Degussa, BASF, Bayer Material Science, Solvay Infra, SusTech)とカールスルーエ研究センター、ミュンスター大学、ザールブリュッケン大学、ポッフム大学、ビューレフェルト大学などが参加した、政府5M€産業界2.6M€の研究開発プロジェクトで、リーダーはカールスルーエ研究センターのクルーク教授である。ナノ粒子の人と環境に対する影響を早期に評価する方法の開発を目指し、ハザードの同定とキャラクタリゼーション、暴露測定とリスク評価までを行う。2006年3月から3年間の予定。結果はWebで公開、知識のパッケージ化を狙う。ここで得られた知見は、行政に利用されるとともに、ナノテクノロジーの社会受容促進にも貢献するものと期待される。

この他にもドイツにおいては、INOSプロジェクトがベンチャー企業や研究機関向けに、研究開発段階でのナノ粒子のリスク評価を目的にドレスデン工科大学を中心に実施されている。カーボンナノチューブ、セラミックス粒子、金属粒子などを対象に粒子が利用過程でどのように変わっていくかがシミュレーションされる。2006年1月からのスタートでドイツ連邦教育研究省から1.1M€の補助がある。

Tracerプロジェクトは、カーボンナノチューブとナノカーボン繊維に限定して、製造、加工、半製品や機能サンプル作製までの過程において、その毒性と生体親和性について調査・評価して、逆に製造加工プロセスと製品の利用における取扱法を示すことを目的として、2003年3月に始められた。産学連携実施され、教育研究省と産業界からそれぞれ1.5M€づつ支出している。

以上の動向を、表5.3に一覧としてまとめて示した。

表 5.3 ナノテクノロジー管理手法の開発の動向

国名	プログラム/プロジェクト名称	実施組織・団体・機関名/種別	資金源/金額	開発手法	調査対象/地域	開発調査内容	開始～終了年/進捗状況	普及方法	評価
USA	Approaches to Safe Nanotechnology: An Information Exchange with NIOSH	国立労働安全衛生研究所 (NIOSH)/ 国家機関	国/3M\$の一部	文献調査/実験研究 (毒性、暴露、対策) フィールド調査	大学、研究機関/研究室、企業/米国	潜在的な健康への懸念 (暴露経路、動物及び疫学的研究からの仮説)、工業ナノ材料を扱った作業に関するガイドライン (職業性暴露の可能性、ナノ粒子への暴露の要因)、暴露評価とその特性 (作業環境における暴露監視、サンプリング戦略)、暴露管理手順 (工学的管理、作業実施方法、個人保護服、マスク、清掃とナノ材料の処分)、労働者健康管理	進行中 (半年に一回を目標に改訂) 2005年12月初版 2006年7月第2版	Web で公開 国際会議で発表、企業等との共研・指導	現状の提案の中では、最も包括的で、レベルが高い。国際会議を主催してレベルアップを図っている。
	Survey of Current Practices in the Nanotechnology Workplace	カリフォルニア大学、サンタバーバラ校	ICON/ 0.1M\$	文献調査、Web 調査、電話インタビュー	研究機関、企業/米国、欧州、アジア (64 組織)	組織情報、ナノ材料情報、一般的及びナノについての労働衛生・環境・健康・安全の概要、密閉と暴露管理状況、廃棄物管理、雇用者と作業環境の暴露監視状況、リスクの同定、製品の製造者責任	2006年4月開始 10月終了	Web で公開 国際会議で発表。(フェーズ1, 2 報告書あり)	現状のレビューであり、新しい提案は無い
	Nanoscale Materials Stewardship Program (NMSP)	環境保護庁 (EPA)	国の組織	発行文書へのコメント、公開の討論会、自主プログラム (Voluntary)	企業、コンソーシアム/米国	基本的アプローチ (リスク管理方法) 基礎プログラム (個人保護具、工学的管理、廃棄物管理、労働者訓練、ハザードコミュニケーション (MSDS 等)) 深掘プログラム	2005年11月 NPPTAC が概要書提出。2007年初刷度概要公表、本格開始は夏 (予定)	Web で公開 一般公開の会議で発表・討論する (2006年10月基本的アプローチで一般公開討論会)	ライフサイクルを入れるべきという議論あり。本格的開始まで時間がかかりそうである。
	Framework for Responsible Nanotechnology Standards	Dupont, Environmental Defence (ED)	Dupont/ED、他にも求める。	プロジェクトチームによる活動	DuPont/米国	デュボンのナノテク製品を対象として、ナノ材料の人間の健康と環境へのハザード、暴露と放出の可能性を評価し、労働者、消費者、一般大衆、環境への暴露によるリスク評価を行う。それを新製品の開発に適用するとともに、一般原理は広く利用できるように、情報伝達する。	2005年8月開始 3年間の予定。 2007/2/27 に、draft が公開され、コメントを募集している。 夏に最終版と具体例の発表を予定。	このフレームワークの過程と原理は工業界、公衆、大学、政府に使われるよう広める。	高いレベルが期待できそうである。
	Nanoparticle Occupational Safety and Health (NOSH) Consortium	Dupont を中心に 16 社 (P&G, DOW, Deggusa 等) および HSE, ED, NIOSH, DOE	14 団体から資金の提供を受けている。	実験を含む研究開発	米国/欧州	特性評価が確定されているナノ粒子エアロソルの種々の方法による合成し、エアロソルの時間経過による挙動変化をエアロソルチャンバーで調査する。 研究室や製造現場の日常管理に使用できる携帯可能なサンプリング法の開発。粒子の径と時間の関数としてフィルター材質のろ過効率を測定する。	2003年にデュボン単独で始まったが次第に拡大した。 2007年中の終了が目標だが、更なる研究も。	研究論文として発表されつつある。	使える計測方法、データが得られている。

国名	プログラム/プロジェクト名称	実施組織・団体・機関名/種別	資金源/金額	開発手法	調査対象/地域	開発調査内容	開始～終了年/進捗状況	普及方法	評価
USA	CHEMSTAR Nanotechnology Panel : Product Stewardship Task Gr.	American Chemistry Council (ACC)	TG 参加各社	研究会活動	米国	ナノ材料に適合するLCAの方法論の利用、ナノ材料の安全な取り扱いのガイドライン (NIOSH や OSHA や他のステークホルダーと協力して進める)、国や国際的な規制機関とのProduct Stewardship についての調整、を目的としている。LCAで取り上げているのは、酸化チタンとフラーレン(難しい)程度。Best practice についてもテーマとしている。	情報を集めている段階で、今年の中頃にはまとまる予定である(大企業の例が中心)、ICONの調査と同様な結果が出つつある。	公表するか、OECD に持っていくか、未定。	PPG や DuPont が中心なので、Dupont のフレームワークと同様か。
	NSF Nanoscale Science and Engineering Center(NSEC); Center for High-rate Nano-Manufacturing(CHN)	Health & Safety Assessment Activities	NSF 12.4M\$/5 年の一部	インタビュー、研究室立ち入り調査	North-eastern University 他4 大学	高率ナノ製造工学の開発と、倫理・規制問題と健康・環境・安全問題を平行して進める。全研究室の暴露評価、暴露対策、教育、暴露と対策に関連した研究開発(測定法の開発、保護手袋での粒子の浸透)	2004 年秋～5 年間 全参加研究室にアンケート実施、3 研究室を訪問	Web 公開 学会発表 (Prof. Ellenbecker がこの面のリーダー)	研究室安全対策
	Laboratory Safety Guidelines for Handling Nanomaterials	カリフォルニア大学、Laboratory Management Office		国立研究所の7 人の研究員により作成	UC の研究室 米国化学会、国立研究所	11 項目からなるナノ材料を取り扱う研究室の安全のためのガイドラインが示されている。	2004 年 10 月	米国化学会でも紹介され、また DOE でも同様なガイドラインを提示。	いち早く具体的なガイドラインが示されていることに意義がある。
	"Nanotechnology Health and Safety Issues	LuxResearch Inc.	自社開発	文献調査、インタビュー	米国、欧州アジア	プラクティスに関しては、イベントリー、応用と暴露、リスクの同定、リスクの軽減と具体的なステップを踏んで進める。	終了	顧客向け顧客を集めた会議	事業展開と関連させている。
	Adaptive Risk assessment Framework for Nanotechnology	Cadmus Group Inc.	自社開発	自社内研究	企業/米国	ナノ材料のヒトや環境への影響に不確実性があっても、暴露評価の重要変数を定義し、分析することにより、考慮すべき領域や、制御すべき点の可能性を明らかにしていく。この枠組みは適応的(Adaptive)であり、不確実性の下で、重要な予防原則的な決定を行う。新しい情報があれば、前提を再検討し、リスク評価を改訂する。この繰り返しにより、リスクの特性がより詳細になる。	終了	顧客向け、現場指導あり 学会発表あり	最初は不確実性があっても、新たな情報に基づいて評価を繰り返して精緻になっていく。結果的に労働衛生上のグッドプラクティスを与える。
	Forsight Guidelines for Responsible Nanotechnology Development	Forsight Nanotec Institute	Institute of Molecular Manufacturing)と共同	ワークショップの開催 スコアカード法	研究開発者、企業	製品監督責任(分子工学、分子機械を主対象) 分子工学や分子機械の開発、製造、規制に関する原則。特に自立した自己複製子(autonomous replicator)に対して議論している。	1999 年から取り組み、改訂を重ねて、2006 年4 月で第6 版	Web で公開	分子機械を対象にしていることが特色。

国名	プログラム/プロジェクト名称	実施組織・団体・機関名/種別	資金源/金額	開発手法	調査対象/地域	開発調査内容	開始～終了年/進捗状況	普及方法	評価
UK	Voluntary Reporting Scheme for Engineered Nanomaterials	Department for Environment Food and Rural Affairs(defra)	国の組織	アンケート	企業、研究機関、業界団体 英国	レポーターとナノ材料、物理・化学的性質、毒性と環境毒性、環境運命、測定法、リスク管理などのデータを集積し、次の段階での議論の根拠とする。 内容は confidential.	2006年9月開始 半年毎レビュー、 2年間～2008年9月	Web,ワークショップの開催	Voluntary Program
	Draft Good practice guides on handling nanomaterials	British Standard Institute	国の組織		企業/英国	フリーな工業ナノ材料の安全な取扱いと処分のガイド、ナノ材料の製造物責任を果たすスペックのガイド、ナノ粒子とナノ粒子を含む製品のラベリングのガイド	3 テーマとも報告書にすべく作業中。	ISO に提出予定。 2006年12月の TC239/WG3 未提出	特許の組織が担当している。
ドイツ	Questionnaire on aspects of worker protection during the production and handling of engineered nanomaterials	連邦労働安全衛生研究所(BAuA)	ドイツ化学産業連盟(VCI)と共同	アンケート	企業	ナノ材料の製造利用副生、取り扱い量、関連労働者数、暴露測定、BAuA の活動への関心、健康影響に関する情報、粒子との接触/取り扱いからの労働者の不満、顧客へのナノ材料の有害可能生毒情報の伝達	2006年5月～ 作業環境の暴露とナノの 応用管理についてVCI と 共同研究	報告書を随時Web公開、アンケート結果は confidential.	健康影響については Nano Care 他のプロジェクトに期待
	Nano Care	プロジェクト	政府 5M€産業界 2.6M€	研究開発	企業5社主な化学会社は全て参加 大学など	ナノ粒子の人と環境に対する影響を早期に評価する方法の開発。ハザードの同定とキャラクタリゼーション、暴露測定とリスク評価までを行う。INOS (ベンチャー向けリスク評価) ,Tracer (カーボンナノチューブとナノカーボン繊維に限定)プロジェクトとナノ物質の生物毒性についての知識を増加させる。	2006年3月～ 3年間	Web で公開 知識のパッケージ化	化学企業と大学の共同研究
カナダ	A Guide of Best Practices for the Safe Handling of Nanoparticles	Irsst (労働安全衛生研究所)および NanoQuebec	CSSST (労働安全衛生委員会) 支援	文献調査、インタビュー	企業、大学	ケベック州では、ナノ粒子の生産者は小企業、大学からのスピンオフベンチャーなので、労働衛生についての知識が少ないので、予防措置を講じさせなければならない。知識の普及から始めて、研究施設や工業プラントでの Good Practices をきめて行きたい。	2006年～。 労働衛生関係は、2006年 11月にGrが発足。	健康影響と労働衛生に関する既往の研究をまとめた報告書公開、ネットワークを利用した普及、教育	小企業、ベンチャー向けが主

5.4 その他諸国の動向

5.4.1 カナダ

カナダにおいては、ナノテクノロジーの EHS、特に労働衛生に関する取り組みは、政府段階では、余り活発ではなく、ケベック州が先行している。その活動の中心は、Irsst である。Irsst (Institute de recherche Robert-Sauve en sante et en securite du travail) は事故、振動・騒音、保護具、道具・機械・プロセスの安全性、等の労働安全衛生を取り扱い、CSST(Commission de la sante et de la securite du travail)に報告する。ラボを有し、労災防止の研究をカナダ全国の大学とおこなっている。研究員、スタッフあわせて140名。(ケベック州政府の NIOSH 的機構, Health は中央政府、労働安全衛生は地方政府所管となり、リサーチは Irsst が実施。1980年に設立され、CSSTの財政支援の他、プロジェクトからの資金もある。

NANO に関しては、測定法、毒性に関し、規制の必要性を感じている。

ケベック州のコンソーシアムとして、NanoQuebec がある。

- ・ NPO として、カナダ政府とケベック州政府の支援で設立され、6年たった。
- ・ Regional な戦略をたて、研究開発と教育をサポートして、工業の発展を図る。
- ・ 年間予算は4M\$である。
- ・ Quebec 州は、another state と呼ばれる位、独立性が強い。
- ・ Albany, New York (ケベックとは経済的な交流が大きい)と Grenoble, France と特別な関係がある。
- ・ ナノテクに限った competitive intelligence service をフランス語で行うものとしては世界最大である。
- ・ Development of existing economy と Large scale industry に力を入れ、Future economy にはあまり力を入れていない。(カナダ全般に言えるか)
- ・ Nano 安全に関して、法規制とカナダ外調査を行う。irsst とは深い協力関係にある。

Nano Safety に関する取り組み:(一部は NOEHS Cincinnati のポスター発表から)

Irsst:

- ・ ケベックではナノ粒子の生産者は、大抵がスタートアップしたばかりの小企業であり、大学での研究からスピノフしたものである。従って、OHS(Occupational Health and Safety)についての知識が無いので、労働災害に発展するまえに適当な予防措置を講じさせることが主目的になる。このために、以下の3つが計画された。

網羅的な文献のレビューによって、ナノ粒子に関する OHS の利用可能な知識をサマライズし、その資料をピアレビューする。多分野にわたる専門家のチー

ムをつくり、多くの文献データベース、多くのキーワードによる。

研究施設や工業プラントで使用されるべき“ Good practices”のための実際的な基準を作成する。文献調査、研究グループ、プラント訪問などによる。

研究者グループ、ナノ粒子製造プラント、ナノ粒子を使用した製品の製造プラントにノウハウを広く普及・伝達する。NanoQuebec をふくむ各種ネットワークでのプレゼンテーション、全てのプラント、研究者グループへの配布、インターネット搭載。

- ・ のピアレビューされた Irsst のレポートは、Web で公開されており、現在(2006 年 11 月中旬)は以下の 2 つである。

R-469: Health Effects of Nanoparticle

R-470: Nanoparticles ; Actual Knowledge about Occupational Health and Safety Risks and Prevention Measures

R-469 はまだ早すぎる (データが少ない)。 R-470 は 07 年にアップデートする。

- ・ の段階

- ・ Nano Quebec と Irsst が協力し、4 ~ 5 大学を巻き込んで活動を開始した。
- ・ 2006 年 11 月に約 40 の大学等のグループで離陸した。測定、暴露管理などから始める。

- ・ Regulation の段階に進むのは、政治的に複雑な問題があって難しい。

5 . 4 . 2 中国

中国における、ナノテクノロジーの研究は、

国家研究所としての中国科学院内の「国家ナノ科学センター (国家納米科学中心)」

各地の大学による研究

によるものがある。

ナノの安全性に関する研究は の「ナノ科学センター」内の「ナノ医療とナノバイオ技術」及び「ナノ材料の生物学的効果とナノ安全性」研究室が主体となっており、2004 年にはナノの安全性に関する提案もあった。

一方、各地の大学および CDC (中国疾病預防控制中心) の地方出先機関との連携での研究も可能のようである。

標準に関しては、世界に先駆けて、7 つの標準が 2005 年 4 月 1 日に制定された。

この 7 つの標準は、述語 - 1、測定法 - 2、材料 - 4 (酸化亜鉛、酸化チタン、ニッケル微粉、炭酸カルシウム微粉) となっており、ナノ粒子の取り扱いや安全に関する標準は未設定である。

ナノ科学センターは 2006 年 6 月 27 日に中国科学院高能物理研究所と共同でナノ安全性のための研究所（納米生物効応与安全性聯合實驗室；Laboratory for Biological Effects of Nanomaterials and Nanosafety；China Nanosafety Lab）を設立し、今後この方面の研究を加速させている。

この実験室の使命は、 粒子特性の測定法 有害性の同定 ナノ産業の安全性評価 政府への規制の枠組みの勧告 国内・国際協力/コミュニケーション である。

既に、カーボンナノチューブ、フラーレンおよびそれらの水酸基誘導体、銅、亜鉛、酸化チタン、酸化亜鉛のナノ粒子の *in vivo* 毒性評価研究を実施した。（"Nanotoxicology" という成書（2006 年 American Scientific Publisher から発行）の約半数の論文を占める。）

中国国立自然科学財団は、2006 年から、11 の 5 カ年計画プロジェクトを決めたが、その一つに「環境大気中超微粒子の環境活性と健康影響」がある。また、科学技術省の資金で、ナノ安全実験室をコアとして「ナノテクノロジーの健康と安全影響」プロジェクトが 2006 年から 5 カ年計画で始まった。（3.2M 米 \$）最近 3 年間で、ナノテクノロジーの EHS に関わる予算は急激に増加し、総額約 10M 米 \$ に達し、ナノテクノロジー全体予算の 10% になるといふ。

これらの研究の成果や勧告は政府の規制などにはまだ反映されていない。労働衛生の分野も同様である。（2006 年 11 月 ICON-ASIA に出席の Dr.Chunying Chen による）

台湾では、安全性、労働衛生に積極的に取り組んでいる研究者がおり、2004 年には International Symposium on Environmental Nanotechnology が、また 3rd International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health は、2007 年 8 月 29 日～9 月 1 日台北で行われることになっている。Symposium Co-Chair は、Prof.Maw-Kuen Wu(Academia Sinica), Prof.Chuen-Jinn Tsai.(National Chiao Tung University)である。

5.5 国際的な動き

5.5.1 OECD

OECD の活動は、2005 年 6 月に加盟国、オブザーバー、招聘した専門家を交えて、工業ナノ材料による人体の健康および環境の安全性への影響を特定しようと、合同会議を開催したのが最初である。

引き続き、2005 年 12 月にワシントンで、将来的に工業ナノ材料の安全性評価に必要となるであろう項目を討議する合同会議を開いた。

2006 年 9 月に化学委員会の下部組織として、工業ナノ材料のワーキンググループを設置した。

2006 年 10 月 26～27 日に第一回のワーキンググループ会議が開催され、この中で加盟国から提供された活動状況が報告された。以下に、各国、組織から報告された内容の一部（主として 5.1 から 5.4 で触れられていない国）を紹介する。

各国への情報提供依頼項目を下記に示す。

- 1) 人間の健康および環境安全に関して、適応すべき既存の規制制度または法律/規則/ガイドランスのドラフトの勧告または論議を含め、国家による規制の展開に関するもの
- 2) 自発的管理、または管理手法の展開に関するもの
- 3) リスク管理の決定に関する情報
- 4) 「Good Practice」策定に関する情報
- 5) ナノ材料の人間の健康と環境安全面に関する研究または政策方針
- 6) 市民や利害関係者との協議に関する情報

さらなる情報としてあらゆる関連情報（例えばナノテクによる利益に関する考察や倫理面の考察）

オーストラリア

- 1) 現在、オーストラリア政府は、2006年6月30日に “ Nanotechnology Strategy Taskforce ” から産業大臣に提出された報告書「ナノテク戦略のオプション」に基づき活動している。報告書は、9つの統合パッケージを推奨している：(1)国家ナノテク戦略の展開、調整を行うための連邦政府専門機関の設立、(2)健康、安全性と環境問題(HSE)に関する事項、(3)一般への情報公開と公約、(4)計測技術と標準化、(5)連邦と州にまたがる政府活動全体の調整、(6)国際協力、(7)工業基盤、(8)産業開発、(9)ナノテク研究の商業化と応用。以上を2007年前半に国家製造工業イニシアティブ戦略の一部としてまとめ、発表する。

- 2) 国立産業化学通知評価機構 (NICNAS) (産業化学製品の全国監査機関) は、ナノ材料の輸入者と製造者に自発的な情報提供を呼びかけている。

NICNAS は、輸入または、工業的用途で製造されるナノ材料および化粧品または個人消費品の用途と数量に関する情報を集めている。医薬品、農薬または食品添加物として使われるナノ材料は、NICNAS の管理範囲には含まれない。

情報はどのナノ製品が市場に出ているか、または、商業化に近いかを把握する助けとなり、ナノ材料のリスク評価に関する管理手法を適切に開発するのに役立つ。NICNAS はフォローアップとして特定の産業に関して集まった情報を分析し、報告する。現在まで、およそ 15 社が、商業目的 (輸入や製造) でナノ材料を導入した。これらのナノ材料は、表面コーティング用、化粧品、触媒用の金属酸化物、アクリルラテックス、顔料と表面コーティング用二酸化ケイ素を含む。

- 3) 薬事許可局 (Therapeutic Goods Administration (TGA)) は、日焼け止め用で酸化亜鉛と二酸化チタンのナノ粒子の使用に関し文献のレビューを行った。レビュー結果は、<http://www.tga.gov.au/npmeds/sunscreen-zotd.htm>で見ることができる。食品衛生局 (Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)) では、オーストラリアニュージーランド食品安全基準 (Food Standards Code) でナノ材料の規制を考慮したいという申し入れをまだ受けていない。

- 4) オーストラリア安全補償評議会 (ASCC; Australian Safety and Compensation Council) は、ナノテクの潜在的なOHSへの影響のレビューを依頼した。レビュー報告はナノ粒子の潜在的毒性の詳細な調査を含み、世界の文献の詳細なレビューと分析、またナノテク利害関係者からの意見に基づくものである。報告書は「ナノテクの労働安全衛生への潜在的影響 (A Review of the Potential Occupational Health and Safety Implications of Nanotechnology)」として、ASCCウェブサイト; <http://www.ascc.gov.au/ascc/AboutUs/Publications/ResearchReports/AReviewofthePotentialOccupationalHealthandSafetyImplicationsofNanotechnology.htm>で見ることができる。

オーストラリア規格協会はナノテク委員会を設置した (NT-100)。この委員会は、「ナノテク標準」と「Good Practice」ドキュメントの発展のために、ISOへオーストラリアの情報を提供する。

- 5) HSE問題に対処する戦略を展開するため、国立Nanotechnology Strategy Taskforce は、ナノテクの環境面、健康面、安全性と法律面に関して国立Academies Forum (オーストラリアの4つの博識なAcademiesの連立) から、レポートを受けた。それは、あるナノテクの領域で、ほとんど危険が存在しない (例えば電子機器) ことを示し、一方、より大きな潜在的危険性がある (例えばナノ材料) 領域では更なる研究開発が行

われるように提案した。レポートは、Taskforce報告への政府の活動の一部である。国立Academies Reportはwww.industry.gov.au/nanoで見ることができる。

また、オーストラリアの研究コミュニティは、毒物学研究者を、人間の健康、労働者安全性と環境へのナノテクの潜在性影響評価と結びつけてNanoSafeオーストラリアと呼ばれるネットワークを設立した。NanoSafeオーストラリア（それはオーストラリア周辺の9つのHSE関連の研究組織をまとめたもの）は、オーストラリアで利用できるナノ毒性研究を評価すると同時に、「現在のオーストラリアのナノテク産業のためのOH&S ベストプラクティス」の報告書を準備している。

オーストラリア国立計測研究所は、ナノ粒子測定がオーストラリア中の統一し、また、国際的な測定と同調して行われるように、粉体とナノ粒子の標準的参照サンプルを較正するサービスを提供している。

フランス

1) 規制の現状

現在まで規制はないが、予知予防委員会（CPP）と労働環境安全局（AFSSET）によって作業現場と一般環境で予防の処置をとる必要性、および生産あるいは輸入されるナノ材料がREACH規制を守るためリストを作成すること、の推奨案が出された。このレポートはまだ十分ではなく、2006年6月29日に、AFSSETは、特に、職業性リスク評価をカバーする追加レポートを作成するよう要請され、この研究結果は、2007年6月に出される予定である。

AFSSETは、製品の安全性に関わる省 - AFSSAPS（薬、医療器具、化粧品）と、食料安全に関わる省 - AFSSA（食品と飲料水）へも同レポートを提出した。

10月19日に行われた省庁間のセミナーの狙いは、短期、中期、長期に政府の活動のアウトラインを作り、可能ならば、若干の短期対応案を提案することである。

2) 自発的アプローチと計画

フランスは、産業界に使用上のリスク、暴露、および使用法の情報と同時に、国内の市場で販売されるナノ材料の特性に関する情報を提供するよう依頼する予定である。

いくつかの企業では、労働者の暴露または環境への放出を防ぐために、独自のシステムを開発して、導入している。

問題としては、企業が情報を提供することが義務なのかを考える必要があり、そのような義務を導入し、適用する方法は、よく検討しなければならない。

3) リスク評価

現時点でナノ材料の開発において、フランスではリスク評価に関して特に強制はしていない。しかし、理論上は、フランスとEUで現在有効な化学物質の販売に関する規

則は、工業ナノ材料によるリスクに関する情報を集めるために用いることができる。

国立科学研究所（CNRS）と原子力委員会（CEA）が研究所と産業界の連携を進めることを目的に設立した欧州臨床試験インフラストラクチャーネットワーク計画（ECRIN）協会は、ナノ材料の製造、包装、操業に関する特別調査委員会を現在監督する。この協会は「ナノ材料安全性サイト」と、4つの特別調査委員会を設立した。協会は、標準化グループでも活動している。

ヨーロッパのNANOSAFE2プログラムのコーディネーターは、CEAのメンバーである。

4) Good Practiceの展開

2006年7月のAFSSETの報告（提案X.6）の提案に基づき、2006年8月23日に、国立安全衛生研究所（INRS）は労働者（オペレーター）のナノ材料からの暴露保護のためにGood Practiceガイドを作成するよう依頼された。

5) ナノ材料により引き起こされる人と環境の安全問題に対応するために開発される研究プログラムまたは戦略

多くの研究所が大気汚染における超微粒子の生物学的影響を研究しているが、工業ナノ粒子の影響を調べているものはほとんどない。国立研究機構（ANR）の公募2005に以下の2件の研究プロジェクトが採用された。

- ・超微粒のエアゾールの表面特性
- ・ナノ粒子の毒性：肺と腎臓へのサイズ、組成と表面の反応性の影響

2006年に、ANRは同じ主題の新しいプロジェクトを支援し、そして、AFSSETは計測技術展開のためにプロジェクトを起こした。

ヨーロッパのプロジェクト、NANOSAFE2（CEAによってフランスに組織された）はナノ材料安全性の技術的解決を展開するように組織された。NANOSAFE2は、4つの構成グループに分けられる。現在ナノ粒子数を計測することはできるが、容易に特定できないので、環境中でナノ粒子を見つける技術と、それらを追跡する技術を開発することをねらいとする。他の2つの目的は、毒性を明確にすることと、ナノ粒子への暴露および環境への拡散を制限する方法を開発することである。最後は、国際標準を提案し、一般へ情報を開示することである。

韓国

1) 韓国政府は、2001年にナノテクノロジー国家戦略的開発計画を設定した。また、2002年にナノテクの発展を促進するための法律を制定した。法律はナノテクの経済、社会、文化、倫理的体系と環境への影響の評価の必要性の条項を含むが、ナノテクによって人間の健康と環境へのマイナス影響に取り組む下位規制/ガイダンスはまだできていない。

2) 韓国政府には、ナノ材料とナノテクの人間の健康と環境安全問題に関して自主的または管理プログラムはない。

3) 韓国政府には、ナノテク・ナノ材料の人間の健康と環境安全について危険性を決定するいかなる情報もない。

4) 韓国では、現在、ナノ材料とナノテクのリスク評価に関する問題は、政府、学会とNGOから出されている。

環境省、科学技術省と食物・薬品局は、これらの問題の研究のために、専門調査委員会を、それぞれ、組織した。

韓国毒性学会主催の「ナノ粒子の毒性に関する国際的なSymposium」を2003年5月13日に行った。

韓国科学技術評価計画研究所（KISTEP）は、2006年5月にNGOを含むタスクフォースチームを組織して、『ナノテク開発の社会への影響分析』の研究を始めた。

5) 韓国政府はナノテク・ナノ材料の潜在的危険性の重要性を認識しており、研究を始め、また関連した省を通して研究を支援する計画である。

・環境省（MOE）

環境省は、約1億USDの年間の予算で環境テクノロジーの開発を促進するために、2001年以降Ecotopia-21プロジェクトを行ってきた。現在、ナノテク・ナノ材料のリスクに取り組む研究計画は、Ecotopia-21の枠組みの下で、承認を待っている。研究計画の最終的なゴールは、ナノ材料とナノ材料を含有する製品の製造、配布と廃棄に由来する潜在的リスクを最小にするのに必要な基盤の整備を支援することである。提案された主題は 1)ナノ材料の測定法とその標準化、2)ナノ材料の（環境）毒性評価、3)ナノ材料の環境への暴露、4)ナノ材料の危機管理、を含む。

・科学技術省(MOST)

科学技術省は、2006年に「ナノ材料の環境影響評価」という研究プロジェクトを行った。プロジェクトの目的は文献調査と実験を通してナノ材料の健康と環境への影響を評価し、これらの問題に対処する提案を行うことである。

・韓国食品・薬品局(KFDA)

韓国食品・薬品局は、2007年から2011年までナノ材料の毒性の一連の研究を始める。研究の目的はナノ材料の毒性評価システムの開発と食物と医薬関連品領域が関連したガイドラインの設定である。

5.5.2 国際標準化機構(ISO)

ISO ナノテクノロジー技術委員会 (TC) の設立は、ISO TC229 として英国を幹事に、2005 年 5 月設立が承認された。2007 年 1 月現在、P メンバーは 28 カ国、O メンバーは 9 カ国である。

2005 年 12 月に第 1 回会合がロンドンで開かれ、2005 年から 2010 年の ISO の戦略計画に従い、ナノテクノロジーに関するしっかりした標準とその他の関連文書を作成するという戦略方針が立てられ、3 つの WG とその議長 (Convenor) 国が決められた。WG1 は、用語と命名法で、議長はカナダ、WG2 は、計測とキャラクター化で、議長は日本、WG3 は、健康・安全・環境で、議長は米国である。

第 2 回の TC 総会は、2006 年 6 月東京で開催され、WG1, WG3 で新作業項目 (NWI) の提案があり、WG2 の戦略方針が決定された。2 つの作業項目とは、ISO/TS (技術仕様) - ナノ粒子の用語 (リーダー: マークジー博士 NPL (英国)) と ISO/TR (テクニカルレポート) - ナノテクの労働安全作業 (リーダー: ウラジミール ムラシヨフ博士 NIOSH (USA)) である。

12 月に韓国ソウルで第 3 回の総会では、WG2 で 3 件、WG3 で 1 件の NWI の提案があった。日本は 2 件の NWI を提案した。

一方、国際電気標準会議 (IEC) では、2006 年 5 月、電気・電子技術に関するナノテクノロジーの標準化を所掌する TC113 が設立された。用語と計量計測の分野で ISO との共同の意向が示されている。

ナノテクノロジーに関連した労働安全衛生施策の標準化の動きは、既に述べたように、WG2 において、米国からのテクニカルレポート (TR); “Current safe practices in Occupational Settings relative to Nanotechnologies” の提案が当初からあり、第 2 回東京会議から検討が開始され、12 月ソウル会議を間に挟んで 2 回の電話会議が行われ、2007 年 6 月のベルリン会議で作成完了の予定である。この TR の内容は、NIOSH の “Safe Nanotechnology” と殆ど同一である。

5.6 これまでに提示されたガイドライン

5.6.1 NIOSHの「安全なナノテクノロジーへのアプローチ」

米国健康福祉省（HHS）の疾病管理・予防センター（CDC）の傘下にあるNIOSHはHome Pageに“Approaches to Safe Nanotechnology: An Information Exchange with NIOSH”を設け、ナノテクノロジーの安全性確保のために現在知り得る情報を提供している。その「工業ナノ粒子を扱った作業に関するガイドライン」の部分を紹介する。ただし、作業のガイドラインとして、より具体的なガイダンスは同文書の「暴露制御手順」にあり、既に4.2節で示した。（全文書の英和対訳を付属資料に収録した。）

工業ナノ材料を扱った作業に関するガイドライン

工業ナノ材料は、その物理的・化学的・生物学的性質において多様性がある。研究、材料開発、生産で使われるプロセス、及びナノ材料の使用または導入は、非常に変化する可能性がある。起こりうる健康リスク及びナノ材料への職業性暴露の範囲に関する更なる情報が手に入るようになるまで、暫定的予防対策を開発し実施するべきである。これらの対策は、作業者が暴露する可能性のある特定のプロセスや材料に合わせた、安全な作業管理の開発に重点的に取り組むべきである。ナノメートルの範囲で製造されている一般的な物質（たとえばTiO₂）に関して入手可能な有害性情報は、適切な作業管理及び対策の開発の出発点とみなすべきである。

次に示すガイドラインは、工業ナノ材料に対する有害性評価に役立つように、また、作業環境における暴露軽減のために設計されている。暴露評価や予防措置の開発に有害性に基づくアプローチを使用することは、英国王立協会及び王立工学アカデミーが推奨する良好な職場の安全衛生対策と一致している [英国王立協会及び王立工学アカデミー 2004]。

1) 職業性暴露の可能性

意図的に作られ、工業プロセスに対し非偶発的であるナノ粒子への浮遊暴露に関する作業現場での測定データはわずかしかない。一般に、ナノ材料を気相で生成するプロセス、または、パウダーあるいはスラリー/懸濁液/溶液（つまり、液体媒体中）としてナノ材料を使用または生産することは、ナノ粒子放出リスクを最大にする可能性がある。さらに、（清掃及び集じんシステムからの物質の廃棄を含む）生産システムの保守管理は、堆積したナノ粒子のかく乱を伴う場合、ナノ粒子への暴露をもたらす結果となりそうである。ナノ材料を含む廃棄物の流れに関連する暴露もまた起こる可能性がある。

ナノパウダーを扱った作業の際のナノ粒子への暴露規模は、取扱い中にパウダーから放出される粒子の可能性に左右される。NIOSHの研究者達は、さまざまなナノ材料がどのように比較的分散しているかを定量的に決定する研究を活発におこなっている。SWCNTへの暴露に関する研究から、取扱いの際に原料から可視粒子が空气中に放出される可能性があるが、粒子の凝集体の粒子サイズの径は数ミリになり、(質量あるいは個数の基準で)吸入可能な(inhalable)粒子と呼吸可能な(respirable)粒子の放出速度は、他のナノパウダーと比べて、比較的遅いが、バルク粉塵に(渦形成させて)エネルギーを与えることにより、有意なレベルの呼吸可能な粉塵を生じることが指摘された [Maynard ほか 2004]。工業ナノ材料の生産及び使用中に吸入/呼吸可能な粒子の発生に関してデータが一般的に欠如しているため、さまざまな条件下で暴露を決定するための更なる研究が必要である。NIOSHの研究者達は、これらの知識のギャップのいくつかに対処するために、実験室での評価及び現場に基づいた評価の両方を実施している。

たとえば、集積回路などのナノ構造からなる装置は、取扱い中にナノ粒子の暴露としてはごくわずかの最小限のリスクしかない。しかし、生産に使われるプロセスの中には、ナノ粒子への暴露につながる可能性のあるものがある(たとえば、ナノスケールの粒子を含んだ商業用研磨化合物への暴露、あるいは、製造・取扱いプロセス中に不注意で分散あるいは生成されたナノスケール粒子への暴露)。同様に、ナノコンポジットから形成された大きな部品は、ほとんど暴露の可能性を与えないであろう。しかし、こうした物質が、ナノ構造粒子を生成しうるそのような方法(例:切断、研磨)で使用あるいは取り扱われたり、あるいは、ナノ構造物質の放出につながる分解プロセスを受けた場合、これらの粒子を吸入、経口摂取、及び/または皮膚から浸透することにより暴露が生じる可能性がある。

2) ナノ粒子への暴露に影響を及ぼす要因

工業ナノ粒子への暴露に影響を及ぼす要因には、使用されている材料の量及び、その材料が容易に分散されるかどうか(パウダーの場合)あるいは、浮遊スプレーや小滴を形成するかかどうか(懸濁液の場合)が含まれる。閉じ込めの程度及び使用継続時間も暴露に影響を与えるであろう。浮遊材料の場合、粒子あるいは小滴のサイズは、その材料が気道に入り込み、そこで堆積する可能性が高いかどうかを決定するであろう。径が10 μm 未満の吸入された粒子は、肺のガス交換領域(肺胞)まで浸透し、堆積する可能性がいくらかあるが、径が4 μm 未満の粒子の場合は、ガス交換領域に到達する確率は少なくとも50%ある [Lippmann 1977、ICRP 1994、ISO 1995]。肺のガス交換領域に堆積することができる粒子は、呼吸可能な粒子とみなす。ヒトの気道でのナノ粒子の堆積質量分率は、より大きな呼吸可能な粒子の堆積質量分率よりも大きい。吸入されたナノ粒子の50%までが、ガス交換領域に堆積する可能性がある [ICRP 1994]。およそ30nm未満の吸入されたナノ粒子に対して、

ヒトの気道の上部に堆積する質量分率の増大が予測される [ICRP 1994]。

現在、ナノ材料への暴露につながりそうな全ての状況や作業環境のシナリオを予測するには情報が不十分である。しかし、暴露に対する可能性を増大させる作業環境の要因がいくつかある。これらの要因には、次のものが含まれる。

- 適切な保護具（例：手袋）を使用せずに、液体媒体中のナノ材料を扱った作業は、皮膚暴露のリスクを増大させるであろう。
- 流し込み操作または混合操作中や、あるいは、高攪拌を伴う場合での、液体媒体中のナノ材料を扱った作業は、吸入可能な (inhalable) 小滴及び呼吸可能な (respirable) 小滴が形成される可能性の増大につながるであろう。
- 非閉鎖型システムにおける気相でのナノ粒子の生成は、作業環境へのエアロゾル放出の機会を増大させるであろう。
- ナノ構造パウダーの取扱いは、エアロゾル化の可能性につながるであろう。
- ナノ材料の生産あるいは加工に使用した機器及びプロセスの保守管理は、これらの作業を行う作業者に対して潜在的暴露リスクをもたらすであろう。
- ナノ粒子捕捉に使用した集じんシステムの清掃は、皮膚暴露及び吸入暴露両方の可能性をもたらすであろう。

5.6.2 UC/ACS のナノ材料を取り扱う研究室の安全ガイドライン

UC(University of California)の Laboratory Management Office(in the Office of the President) は、Lawrence Berkeley、Los Alamos、Lawrence Livermore の各 National Laboratory の研究者 7 人を雇用して検討し、次のようなガイドラインを決め、運用している (2004 年 10 月 ~)

これは ACS (American Chemical Society) の CCS (Committee on Chemical Safety) でも、そのまま取り上げられ、暫定的なルールとして紹介されている。

医薬品安全性試験実施基準(GLP : Good Laboratory Practice)によること。必要に応じ、手袋、実験衣、安全眼鏡、遮光保護面、つま先の閉じた靴を用いる。

- 1) プロセスの有害性(hazard)を評価する際には、前駆物質の有害性も必ず考慮すること。
- 2) 適切な個人保護器具を用いることにより、ナノ粒子やナノ粒子を含む液体との皮膚接触を避けること。裸の皮膚でナノ粒子を扱ってはならない。
- 3) HEPA フィルタを装着した動力付き層流排気フードの外側で、ナノ粒子の粉体を扱う必要が生じた時には適切な呼吸用保護具をつけなければならない。呼吸用保護具の選定は専門家に相談しなければならない。
- 4) 管状炉や反応容器からのフュームを追い出すには、フューム排気フードを使用すること。
- 5) ナノ粒子廃棄物を処理したり、輸送したりする場合は、有害化学物質廃棄のガイドラインによること。
- 6) ナノ粒子の清掃に用いる真空クリーナーは、HEPA フィルタユニットの試験を行うこと。
- 7) 以前にナノ粒子を製造したり、取り扱うために用いた装置は、他の目的での再利用や処分する前に汚染の可能性の評価をしなければならない。
- 8) 実験室の装置と排気システムは撤去、改造、修理の前に評価しなければならない。
- 9) 合成法や実験目的が異なる場合には、エアロゾル放出の制御に関しては、包括的な対処法はありえないと考えるべきであり、ケースバイケースで判断しなければならない。
- 10) 高い反応性を有するある種のナノ粉体は、発火や爆発の可能性に関して考慮が払われなければならない。

5.6.3 米国エネルギー省 (DOE) の「ナノ材料取扱いのための Good Practices」

2005年5月 DOE 環境安全健康担当次官補は、以下のような通達を出している。

「ナノ材料取扱いのための Good Practices」

- ・目的：DOE の活動に影響する可能性のある、ナノ材料を取り扱う上での安全に関する情報を提供する
- ・背景：DOE においてもナノテクノロジーに関連した活動が盛んになってきている一方でナノ材料の健康リスクについての知識は欠如しているため、健康と安全に関する懸念も高まっている。ナノ粒子 (1~100nm) はそれを構成する物質と同じより大きなサイズの粒子と同じ性質を持っているとは限らない。むしろ、ナノサイズになることによって有用な性質を持つため、注目されているわけであるが、まさにそれゆえ人体との相互作用も違ってくる可能性があるわけである。DOE では、現在ナノテク関連の研究活動は、DOE の研究室や大学その他の機関へのグラントが 150~200 件進行中である。
- ・ナノ材料の取扱いのための実験室安全ガイドラインの提案
 - ・健康と安全のリスク評価は、ケースバイケースで実施しなければならない。包括的な勧告は出来ない。
 - ・プロセスのハザードを評価する際は、使用原料 (プリカーサー) と廃棄物のハザードも考慮に入れるべきである。
 - ・ある種のナノ材料には高い反応性があるため、火災や爆発のハザードに関して考慮しなければならない。
 - ・管状炉や反応容器からのフュームを追い出すために排気フードを使用せよ。
 - ・換気システムとナノ材料の清掃のための真空クリーナーには、試験済みの HEPA フィルタを使用せよ。
 - ・ナノ材料を扱うために用いた器具は、修理、再使用、処分の際には、汚染の可能性がないよう評価せよ。
 - ・ナノ材料廃棄物は、有害化学物質廃棄物ガイドラインにのっとり、処分・輸送すること。
- ・個人保護具

ナノ材料の暴露に対して個人保護具の有効性については殆ど情報が無い。ハザードの知識がもっと得られるまでは、次のような実験室での安全のための Good Practices に従うことが賢明である。

 - ・必要ならば、手袋、上着、安全眼鏡、遮光保護面を着用する。
 - ・ナノテクの作業場周辺では、良く手を洗い、個人衛生に注意すること。
 - ・ナノ材料およびナノ材料を含む液と皮膚との接触を避けること。
 - ・吸入暴露を防ぐためには、N,P または R100(HEPA)の粒子状物質用呼吸マスクを使用すること。

・要約

- ・ ナノテクノロジーは新しい性質を持った粒子を作り出す。
- ・ ナノ材料は、同じ物質のより大きなサイズのものと同様には振舞わない。
- ・ ナノ材料は、表面積と数が重要であり、質量が問題ではない。
- ・ ナノ材料を取り扱う際は、未知の有害物質を扱う実験室作業実施方法を適用する。
- ・ どんな汚染保護具についても、適切に、清浄な状態を保つか処分すること。

5.6.4 CNTのリスク防止方針と材料の安全な取扱いに向けた ENA の勧告（骨子）

2nd Workshop on Standardization for Carbon Nanotubes organized by European NanoBusiness Association(2005 April, at Vienna,Austria)(欧州と米国のCNT製造企業とCEN/BTWG-166によるCNT標準化の会議)で、以下のような提案がなされた(以後、この会議は開かれていない)。

- 1) 毒性研究やリスク評価に時間がかかることから、CNT製造者はCNTを潜在的に有害な材料とみなし、作業員への暴露および環境への放出を最小限とすることに務める。
- 2) 製造におけるリスク防止は、まずプロセスを閉鎖系とすることで反応器外への粉じんやPAHの放出を防がなければならない。反応器を開放したり、清掃したりする際には、より十分な通気を行い、マスクや防じん服、手袋等による防護を十分に行う。
- 3) 現在カーボンブラック業界において適用されている防護措置を、CNTの生産においても参考にすべき。
- 4) マスクや空気フィルタ等の効果は、特にCNTに対して早急な試験が必要。
- 5) CNT製造業者はその従業員のために、年次健康診断を行うこと。
- 6) CNTを開放系で扱う顧客に対して、CNT暴露に関する注意の喚起を行う。
- 7) 製造したCNTの品質の保証について、製造業者は顧客に対し材料の暴露の可能性や適正な取扱い方法に関する情報を含めた安全材料データシートに関する共通フォーマットを導入するべきである。

6. ナノテクノロジーの研究・製造現場における管理手法のガイドライン

6.1 調査検討委員会の設置と検討・審議経過

奥山広島大学教授を委員長とする「ナノテク管理手法調査検討委員会」が以下の方々を委員として設置された。本調査の委託元である経済産業省製造産業局ナノテクノロジー・材料戦略室をオブザーバーとし、委託先である JFE テクノリサーチが事務局をつとめた。

ナノテク管理手法調査検討委員会委員

委員長 奥山喜久夫 広島大学大学院工学研究科物質化学システム工学専攻 教授
委員 田中勇武 産業医科大学産業生態科学研究所 教授
委員 高月峰夫 (財)化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所 所長
委員 遠藤守信 信州大学工学部電気電子工学科 教授
委員 藤井修二 東京工業大学大学院情報理工学研究科情報環境学専攻 教授
委員 明星敏彦 産業医科大学産業生態科学研究所 助教授
前 産業医学総合研究所作業環境計測研究部 主任研究官
委員 柳下皓男 NBCI(ナノテクノロジービジネス推進協議会) 事務局長代理
委員 綾 信博 産業技術総合研究所先進製造プロセス研究部門 主任研究員
委員 竹村誠洋 物質・材料研究機構国際・広報室 次長
ナノテクノロジー総合支援プロジェクトセンター 主幹研究員

調査研究協力者；産業技術総合研究所 東京本部 技術情報部門
石津さおり 主幹

JFE テクノリサーチは以下の会議等から、情報を収集した。

エアロゾル科学・研究討論会(日本エアロゾル学会)2006/8月8~12日(福岡)
第7回国際エアロゾル会議(7th International Aerosol Conference : IAC)
(2006年9月10~15日、米国ミネソタ州セントポール市)
北米出張 2006/11/3-16
カナダ・ナノケベック - irsst 米国・NIOSH(Cincinnati, Ohio; Washington, DC)
・LuxResearch ・ACC ・DuPont, Haskell Lab.
エアロゾルシンポジウム「ナノ材料の製造、計測、環境・健康に関するシンポジウム」日本エアロゾル学会(2006/11/28, 29 東京工業大学)
The Asian Workshop on International Collaboration on Nanotechnology
Environmental Health & Safety, 2006/11/30, 12/01, Tokyo (中国、英国の関係者と接触)

International Conference on Nanotechnology Occupational and
Environmental Health & Safety (NOEHS): Research to Practice ;
December 4-7,2006 /Cincinnati,Ohio,USA (ドイツ、英国の関係者と接触)

また、この間、JFE テクノリサーチは、国内企業 12 社、大学・公的研究機関 6 研究室
/研究所にヒアリングを実施した。

JFE テクノリサーチは、委員会を 3 回開催し、以上の情報を委員会に報告し、調査検
討に資した。ガイドラインを審議いただき、まとめた。

6 . 2 ナノテクノロジーの研究・製造現場における管理手法のガイドライン

次ページ以下に、委員会により提案された、ガイドラインを掲載する。

研究・製造現場におけるナノテクノロジーの 適切な管理手法のガイドライン

平成19年3月
ナノテクノロジー管理手法調査検討委員会

1. はじめに

ナノテクノロジーは、現在多くの注目を集めている技術であり、エレクトロニクス応用、環境改善など、人類に非常に大きな貢献をもたらすものと期待されている。ナノ材料には既に製品化されているものもあり、今後、市場の拡大が予測されている。しかし、ナノ材料の製造、また製造されたナノ材料の使用（最終製品製造）等の現場、又はナノテクノロジーの研究開発現場におけるナノ材料の取扱いについては、現時点で取扱いガイドラインなどの統一的な管理手法が存在していない。

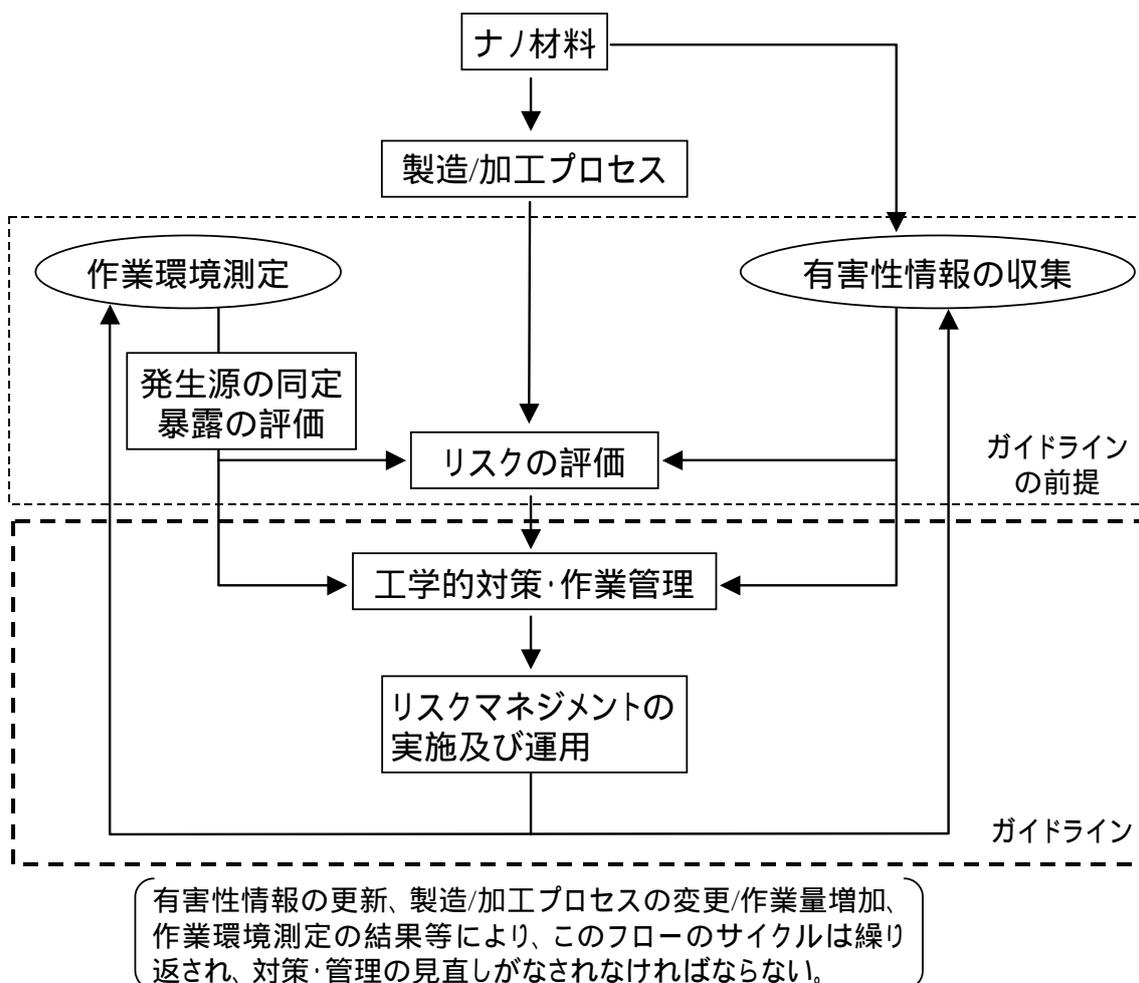
一般的にはナノ材料であるかどうかを問わず、粉じんなどについては吸入、爆発などのリスクから労働環境での制限が設けられている。材料がナノサイズになることにより、未知のリスクがあるかどうかについては、科学的な知見に乏しく、国際的なコンセンサスはまだない。しかしながら、ナノ材料の取扱いについては、科学的な見解が明確になる前から最適な管理手法等の検討を行う必要がある。

そのため、現在ナノテクノロジーに関連する研究活動、製造活動が行われている研究機関や製造事業所の現状ならびに海外での事例を調査し、我が国にとって、現時点で最適なナノテクノロジーの管理手法を検討し、ガイドラインとしてまとめた。本ガイドラインが、企業、大学、公的研究機関におけるナノテクノロジーの自主管理活動に資することとなれば幸いである。

2. ナノ材料のリスク評価・リスク管理のフローとガイドラインの位置づけ

ナノ材料の研究・製造現場におけるリスクの評価と管理を実施するフローを下図に示す。まず、対象とするナノ材料の製造または加工のプロセスが決められると、有害性の情報を参照し、プロセスのどこで暴露の可能性があり、その量がどのくらいであるかを評価する。次にリスク(有害性と暴露量の積)に対応したリスク対策を講じる。それを、研究室/作業場のリスクマネジメント計画に組み入れ、実施、運用する。有害性情報の更新、製造/加工プロセスの変更/作業量増加、作業環境測定の結果等により、このフローのサイクルは繰り返され、対策・管理の見直しが必要とならなければならない。以下に述べるガイドラインとその前提の範囲を合わせて示した。

図 ナノ材料のリスク評価・リスク管理のフロー



3. ガイドラインの前提

3.1 「ナノ材料」とは

現在ナノテクノロジーの安全性が議論されるときには、ナノ粒子が対象とされることが多い。ここでいう「ナノ材料」とは、エアロゾルになりやすい「ナノ粒子(固体)」を意味することとする。生体への侵入経路としては、エアロゾルの形態からの呼吸による可能性が高いためである。話題を呼んでいるカーボンナノチューブやフラーレンなどは形状はともあれナノ粒子に含める。また、「ナノ粒子」の定義は国際的にも定着しつつある「少なくともある一方向の長さがおおむね 100nm 以下である粒子」とする。

なお、自然界に存在するナノ粒子や、非意図的に発生する粒子は含めず、利用を目的として、研究開発においてあるいは工業的に製造される粒子を対象とする。

3.2 ナノ材料の有害性(Hazard)の可能性

リスクは有害性の大きさと暴露量の積とされており、有害性の大きさにより、リスクを小さくするための暴露量の管理の程度が異なってくる。ナノ粒子の有害性はまだ不確定であるが、ナノ材料の中には、暴露条件によって有害である可能性が指摘されているものがある。また、同じ物質であっても粒径が大きい粒子に比べて、ナノサイズになると同じ質量で表面積が飛躍的に増大することなどによって、有害性が変化する可能性も議論されている。従って当面、リスク可能性を回避するため、人体への取り込みを極力少なくする対策が必要である。

また、ナノ材料の有害性に関する情報の収集に努め、さらには自ら試験・依頼試験を行い、開発・製造・加工しているナノ材料の有害性の可能性を常にチェックし、管理対策に反映させることが望ましい。

3.3 現行法規・規則・指針等との関係

ナノ粒子は、一種の粉じんであるから、作業現場では、粉じん障害防止規則(粉じん則、昭和 54 年 4 月 25 日労働省令第 18 号)に該当する場合には、それに基づく管理がなされなければならない。また、じん肺にかかるおそれのある粉じん作業には、健康診断の義務(じん肺法(昭和 35 年法律第 30 号)第 7 条から第 11 条)がある。

排気装置の除じんのためのフィルタの装着とメンテナンスは、適切に管理されなければならない。(粉じん則第 17 条等に基づき規定された「局所排気装置の定期自主点検指針」、「除じん装置の定期自主点検指針」がある)使用済みフィルタの処分、湿式集じんの場合の廃液処理についても同様に、「廃棄物の処理及び清掃に関する法律(昭和 45 年法律第 137 号)」や自治体の条例などを遵守する。

さらに、平成 18 年に施行された改正労働安全衛生法(平成 17 年法律第 108 号)では、「事業者は、厚生労働省令で定めるところにより、建設物、設備、原材料、ガス、蒸気、

粉じん等による、又は作業行動その他業務に起因する危険性又は有害性等を調査し、その結果に基づいて、この法律又はこれに基づく命令の規定による措置を講ずるほか、労働者の危険又は健康障害を防止するため必要な措置を講ずるように努めなければならない(第 28 条の 2 第 1 項)」とあり、危険性または有害性の調査(本ガイドラインでは「リスク評価」という)の実施時期は、建設物を設置し、移転し、変更し、又は解体するとき、設備、原材料等を新規に採用し、又は変更するとき、作業方法又は作業手順を新規に採用し、又は変更するとき、その他危険性又は有害性等について変化が生じ、又は生ずるおそれがあるとき(労働安全衛生規則第 24 条の 11 参照)としている。

本ガイドラインは、ナノ粒子という有害性を生ずるおそれがあるものを対象に作業を行う場合において、上記のリスク評価の実施及びその結果に基づいた必要な措置を実施するに当たって、参考となるものと位置づけることができる。

3.4 ナノ粒子の濃度測定と暴露可能性

リスク評価の第一段階は、暴露/発生源の同定(リスクの同定)であり、そのための方法として確実なのは作業環境の測定である。まず、ナノ粒子がどのような状況で存在しているか、サンプリングしたエアロゾルを電子顕微鏡で観察することが望ましい。粒子の凝集状態や形状などを確認することが出来る。その際、他のナノ粒子も混在していることが多く、サンプリングや物質同定に注意を払う必要がある。

ナノ粒子の濃度については、作業環境測定に用いてきた従来の機器では測定できない。ナノ粒子のエアロゾルの粒径毎の濃度の測定は原理的には可能であり、対応する機器もいくつか市販されている。分級装置としての静電分級器(DMA)または拡散バッテリー(DB)と、粒子個数濃度測定装置としての凝縮粒子計数器(CPC)/凝縮核計数器(CNC)またはファラデーカップ電流計(FC)等を組み合わせる方法、低圧インパクタ(LPI)と電流計を組み合わせた電子式低圧インパクタ(ELPI)あるいは、光散乱カウンタ(OPC)などの光学的測定装置が候補になる。このうち、DMA と CNC/CNC または FC などの組み合わせによる装置は走査式モビリティー粒径測定器または段階式モビリティー粒径測定器と呼ばれ、数 nm までの粒子を高い分解能で計測できるが、それ以外の方法では市販装置で測定可能な粒子の最小サイズは数十 nm 程度である。

作業環境測定法については ISO TC146(大気質)/SC2(作業環境大気の測定法)、粒子測定装置および方法については ISO TC24(ふるい、ふるい分けおよびふるい分け法以外の粒径測定方法)/SC4(ふるい分け法以外の粒径測定方法)で規格化が進んでいるので必要に応じて参照されたい。

これらの測定器を用いて、実験室や製造現場におけるナノ粒子の測定が行われ始めており、実験室でのモデル実験において、ナノ粒子の取り出し時、清掃の際などに濃度上昇が検出されているが、容易に移動可能な測定装置は存在せず、測定が出来る専門家は少ない。

3.5 リスク低減対策とその有効性の検証の問題

リスク評価を実施したら、それに基づいて、リスク低減対策を講じなければならない。一般的には先ず計画段階で有害性の少ない原材料を選択する等の考慮がなされる。次に、工学的対策として、製造装置や加工設備の密閉化・囲い込み、全体換気による希釈と排気処理による一般環境への排出防止、局所排気による拡散防止、管理的対策として、発生源と作業者の物理的・空間的・時間的隔離や作業マニュアルの整備や教育訓練などがある。これらの対策を実施した上で必要な場合には、個人用保護具の着用が検討される。

講じた対策の効果の有効性の検証は、ナノ領域測定の困難さがあり難しい。従って当面は、検証無しで効果が期待できる対策を実施する必要がある。防じんマスクについてさえ、まだナノ粒子の領域で検定は実施されていないが、有効性確認の研究が進められている。既に述べたように有害性と暴露量の積の大きさによってリスク対策は異なる。有害性の程度と暴露の状況に対してとるべき対策については、コントロールバンディングという考え方がある。これについては、英国のHSEが始めて、ILOが世界に広めようという動きがある。ここではこのコントロールバンディングの考え方を参考にしたい。

コントロールバンディングとは、ある与えられた有害性のグループの範囲に対応する化学物質への暴露の帯域 (band) あるいは範囲に対して、単一のコントロール技術が適用されるプロセスである。具体的には、以下のような例が示されている。(NIOSH ホームページ <http://www.cdc.gov/niosh/topics/ctrbanding> より、一部追加) ナノ粒子の場合、有害性の尺度となる許容濃度、管理濃度などが、定められていない。

コントロール バンド No.	粒子の場合の 暴露濃度の管理範囲 (mg/m ³)	工学的対策
1	10 ~ 1	労働衛生上のグッド プラクティス適用と 全体換気
2	1 ~ 0.1	局所排気または 気流管理を適用
3	0.1 ~ 0.01	プロセスの囲い込み グローブボックス
4	0.01 以下	専門家の助言が必要 原薬粉体の厳しい暴露量管理 のためのアイソレータなど

4 . 研究・製造現場におけるナノテクノロジーの適切な管理手法のガイドライン

4 . 1 ナノ粒子の製造 / 加工プロセスにおける暴露対策

ナノ粒子の製造装置は完全密閉系を基本とするべきである。

それを実現するためには、製造法は、原料仕込み、製品回収系も含めて連続プロセスが望ましい。

製品回収系が完全密閉系でない場合には、回収系においてフード、ドラフト、グローブボックス等を使用する必要がある。

液相法では、閉鎖系である回分法であっても、最終的に乾燥固体粒子とする場合には、回収系が問題となる。その場合は、気相法も含めて、上記の手段により、暴露を防止することが可能である。

ナノ粒子を懸濁液として扱う湿式化は、暴露防止に有効な手段である。

この場合、加工時の分散、混練時のナノ粒子の飛散を防ぐことができる。しかしながら、液体自体の飛散や反応による暴露もリスクとして存在することに注意しなければならない。

非定常時、メンテナンス時に系を開放状態にする場合、十分な注意が必要である。

そういった作業時には、保護具の使用も検討しなければならない。

ナノ粒子の運搬 / 保管は、暴露しないように配慮された容器、梱包によるものとする。

ナノ粒子の加工の際は、密閉状態で作業可能とすることが望ましい。

加工時には、ナノ粒子の開梱、容器への移しかえ、液体や他の粉体との混合等において暴露の機会が考えられ、作業条件によって密閉状態が難しい場合、局所排気を使用する。その場合も可能な限りプロセスを囲い込むことが有効である。

4 . 2 実験室 / 作業場の管理上の暴露対策

実験室 / 作業場を居室と分離することを考慮しなければならない。

実験室 / 作業場においては、飲食禁止とする。

実験室 / 作業場を出る際には、作業着を着替え、手洗い、洗眼が可能な場所を設置する。そのような場所の設置が不可能な場合には実験室 / 作業場内部で区分けをしてもよい。

必要により実験室 / 作業場は全体の換気を行う。

換気を行う場合、適当な陰圧が維持されていなければならない。

排気にはフィルタ、集じん機が設置されることが望ましい。

フィルタの装着とメンテナンスは、定期自主点検指針に基いて適切に管理されなければならない。使用済みフィルタの処分、湿式集じんの場合の廃液処理については法令や自治体の条例などを遵守する。

実験室 / 作業場に配置された装置、機器毎に、局所排気が必要な場合は取り付ける。

全体換気との関係に注意した十分な気流管理を行わなければならない。装置・設備はその暴露量の程度に応じて、気流を考慮した実験室 / 作業場内での配置・区分けが必要である。

ナノ粒子は微小で、質量も小さいため、その挙動は気流と同様であり、暴露対策には気流管理が有効である。

床面・壁面は、清掃しやすくする。

特に床面は、水洗しやすいかまたは真空クリーナーが使いやすいよう配慮する。

実験室 / 作業場は、定期的に作業環境測定を実施する。

測定はナノ領域をカバーした計器が望ましいが、粉じん計などによって凝集したナノ粒子の存在についてチェックすることも可能である。測定の際は、必ずバックグラウンドも測定する。測定結果は、作業状況とともに記録する。

可燃性粒子は、火災、粉じん爆発の可能性への対処を実施する。

可燃性粒子は、ナノサイズとなることにより一層危険性が増すと考えられる。

可燃性のガスや溶媒を使用している場合には、条件によっては設備を防爆仕様とする。必要に応じて、設備全体をカバーで覆う対策も有効である。

4.3 清掃、廃棄物管理

清掃は、湿式拭きまたは HEPA フィルタを装着した真空クリーナーによらなければならない。空気吹きつけによる清掃は行ってはならない。

プロセス廃棄物及び集じんフィルタ、集じん廃液、清掃に使用したクロス、フィルタ等については、二次汚染を起さない処理を実施し、法令等に従った廃棄処分を行わなければならない。

4.4 保護具

4.1 ~ 2 の対策を行ってもなお暴露量の低減が不十分である場合、以下の保護具の使用を検討する。

- ・マスク どのようなマスクを選択するかは専門メーカーと相談する。装着には特に注意し、教育訓練を実施する。
- ・保護めがね 気密性のあるものを用いる。
- ・手袋 非浸透性のものを着用する。
- ・作業着 非浸透性のものを着用する。
- ・靴 足全体を覆うもの。
- ・帽子 頭部全体を覆うもの。

ただし、これらの保護具がナノ粒子に対してどの程度有効かについては、まだ十分な知見はない。保護具の使用いかんにかかわらず、皮膚の傷、皮膚病の部分は露出さ

せないよう注意すること。これら保護具は作業終了後に、実験室 / 作業場から出さない。これら保護具の清掃には注意を払い、二次汚染を避ける。

4.5 管理マニュアルの制定と教育・遵守

実験 / 作業手順等のマニュアルを制定し、実験者、作業者を十分に教育し、遵守させなければならない。実験者、作業者に対して、扱うナノ材料の有害性についての情報、作業環境測定結果などを知らせる。

4.6 衛生上の注意

応急処置

- ・目に入った場合：水で十分に洗う。
- ・吸入した場合：うがいし、口内を洗浄する。クリーンエア中に移動。
- ・飲み込んだ場合：可能ならば吐き出す。うがいし、口内を洗浄する。
- ・皮膚に付着した場合：石鹸で洗うかクレンジングクリームでふき取る。

健康管理 定期的健康診断を行うことが望ましい。一部のナノ粒子については法律上の規定はないため、自主的な実施となる。検査項目については産業医の指示により、継続し、記録を保存すること。

5. ガイドライン項目の適用

扱っているナノ粒子がどのコントロールバンドに属するかで対策が異なる。ガイドラインの前提6.で示したコントロールバンディングの考え方に基づいて、自主的に判断する。上記のガイドライン項目がどのコントロールバンドに属するナノ粒子に必要な対策であるかを下表に示す。

コントロールバンド	4. ガイドラインの項目						
	4.1 、 、 プロセス対策（製造、運搬、保管、使用時）	4.1. メンテナンス / 非正常作業	4.2 、 実験室 / 作業場の区分け	4.2 、 気流管理	4.2 作業環境測定	4.2 火災、爆発対策	4.3 清掃 / 廃棄物管理 4.5 .管理規則 4.6 .衛生上の注意
1	局所排気	局所排気		全体換気			
2	局所排気	局所排気 保護具		局所排気			
3	囲い込み	局所排気 保護具		局所排気			
4	密閉構造	専門家の助言		専門家の助言			

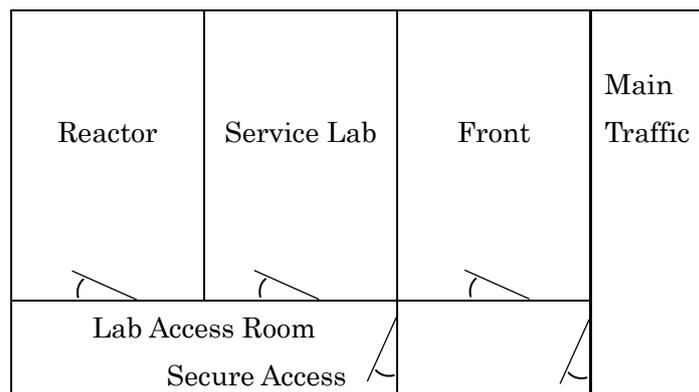
(参考)

暴露対策についての解説 (グッドプラクティス (Good Practices) の例)

1. 実験室 / 作業場配置の例

2006NOEHS での Luna Innovation の M.S.Hull の発表から

(アーク法によるフラレン、カーボンナノチューブの製造を行っている作業場)



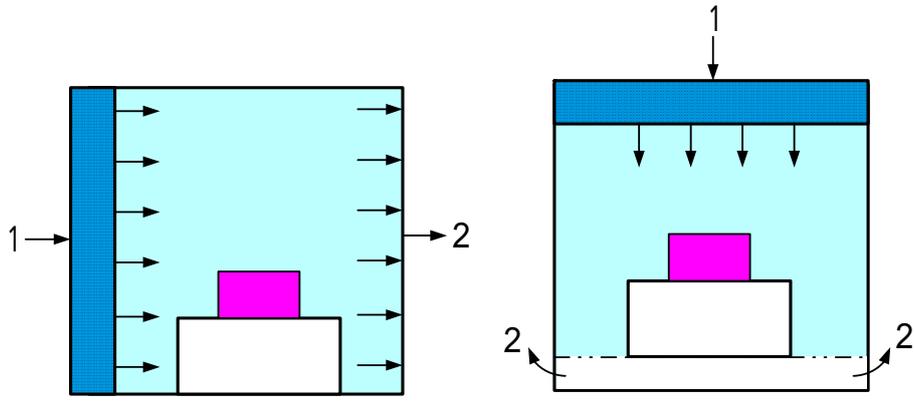
反応器を設置してある作業場、その他の作業の部屋、居室が分けられ、着替えなどを行うアクセスルームが設けられている。

2. 気流管理の考え方

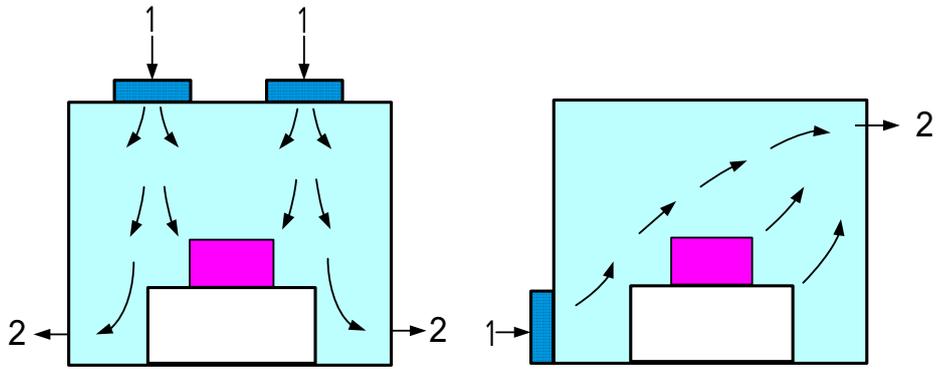
クリーンルームには、室内圧力を正圧とし、給気の処理を主とするクリーンルームと負(陰)圧にして排気の処理を行うハザード制御装置に大別される。前者は半導体用などのインダストリアルクリーンルームと生物微粒子を制御対象とするバイオロジカルクリーンルームがあり、後者には、ラジオアイソトープ施設やケミカルハザード安全施設等がある。

図1は、クリーンルームの気流方式を示す。一方向流、非一方向流、併用方式の3種類があるが、作業者が、清浄空気流れの上流に位置すれば、作業台に置かれた設備などから発生するナノ粒子の吸入を避けることができる。排気はHEPA フィルタで集じることができる。排気処理を行う場合、室内は陰圧となる。

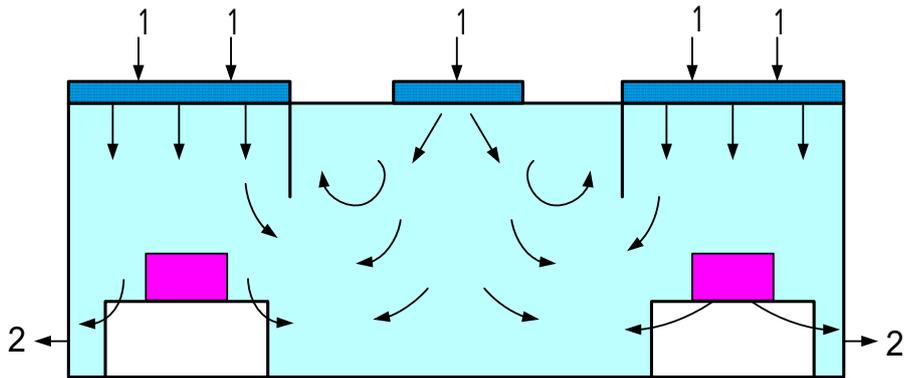
図2は空気力学的措置(気流管理)による汚染制御の概念を示している。水平流による製品保護は、作業者にとっては暴露の機会となってしまう。垂直流は製品の位置によって暴露を避けることができる。要員(作業者)および環境を保護できる気流管理の例がb)、要員、製品、環境の全てを保護できる気流管理がc)に示されている。環境保護は、排気処理によってなされている。ナノ粒子の加工の場合、要員、製品、環境の全てを保護できるc)が採用される場合が多いであろう。本図は、「JIS B9919 クリーンルームの設計・施工及びスタートアップ」から、引用した。(以下の図2,3も同様である。)



1)一方向流



2)非一方向流



凡例
1 給気、2 排気

3)併用方式

図1 クリーンルームの気流方式

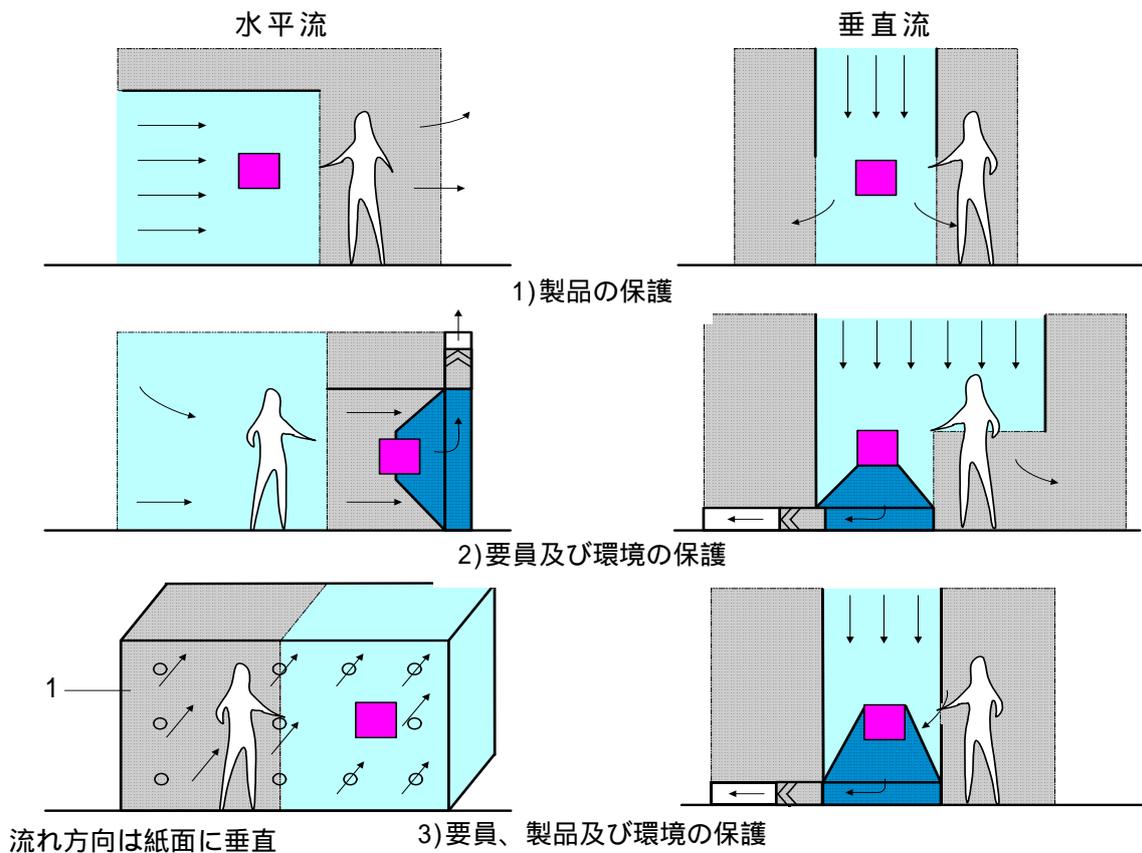


図2 気流管理による汚染制御の概念

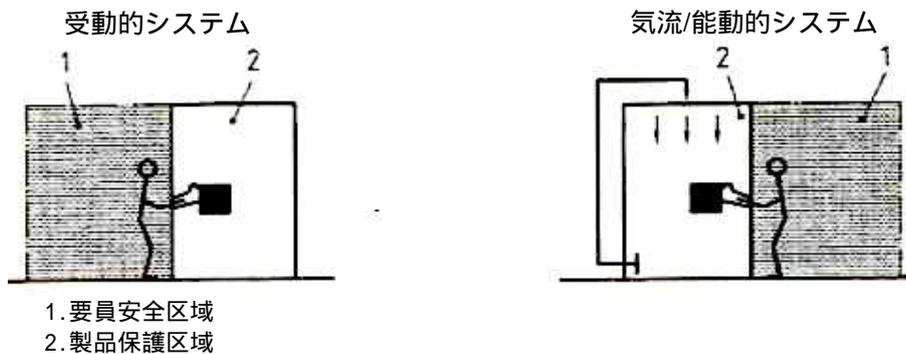
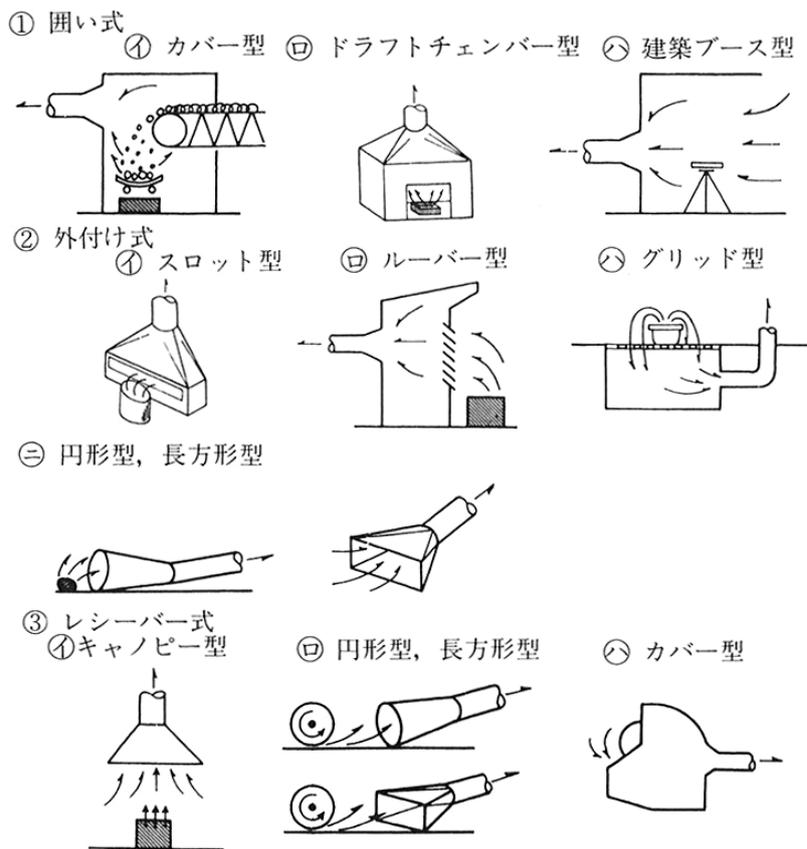


図3 製品及び要員保護のための物理的バリアによる汚染制御の概念

図3は、製品と要員を保護できる物理的バリアによる汚染制御の概念を説明した図である。要員はグローブ等で作業を行う。気流を使用するとさらに清浄度が向上する。グローブボックスやアイソレータがこれに該当する。

3. 局所排気の例

局所排気は、作業者への暴露を低減させる対策として、経済的な方法である。平成 18 年度版「安全衛生スタッフ便覧」(中央労働災害防止協会編、115P)には、いろいろな局所排気の例が示されている。



局排装置の設計

- ・上記の「安全衛生スタッフ便覧」には、「局所排気装置の捕捉速度の目安」が掲載されている。また、同協会発行の沼野雄志著「新 やさしい局排設計教室」にも、実例を含めて設計例が紹介されている。
- ・NIOSHで Best Practice を担当している K.Dunn は、具体例として、粉体を秤量する際に使用できるフードの設計例を示している。(Weigh Hood Details Dry Material、2006NOEHS におけるプレゼン、ACGIH Vent Manual Guidance より) 粉体の入った容器をセットし、秤量する際、粉体は舞い上がるので、局排空気で吸入するものであり、最小ダクト流速が示されている。

局排付き装置の例

NIOSH は、装置に局排が直結している例を推奨している。(これは、英国の COSHH ESSENTIALS, Easy steps to control health risks from chemicals より、Control guidance sheet 217, Mixing liquids with other liquids or solids であり、液体と液体または固体の混合操作の例である。容器の中に液体の入った容器があり、着脱可能な混合機が上部に設置されている。局排を働かせて、ふたを開けて混合用の液体または気体を入れ、ふたを閉め混合操作を行う。固体の場合、気流は 1m/sec 以上の流速とする。) COSHH ESSENTIALS には、多くの実施例がある。

4. 防じんマスク

防じんマスクの種類

大きく分けて面体とろ過材が一体となった使い捨て式とろ過材が交換できる取替え式とがあり、面体には、顔全体を覆う全面形と鼻及び口辺のみを覆う半面形とがある。使い捨て式には全面形はない。ろ過材(フィルタ)は、繊維は層状に重なった構造で、沈降、慣性、さえぎり、拡散の効果によって粒子を捕集するが、繊維を帯電させて、クーロン力による捕集を主とする静電ろ過材も広く使用されている。静電ろ過材は、フィルタを薄く出来るので呼吸抵抗が小さく、使い捨て式によく使用されているが、捕集効率の低下が早い。帯電していない粒子も捕集できるが、数十 nm のナノ粒子は捕集されにくい。帯電していない繊維を使用したフィルタはメカニカルフィルタと呼ばれ、劣化に強く捕集効率が安定している。

その他に、電動ファンを用いて、外気をフィルタを通して面体やフードに送る方式があり、高い防護性と快適性をもつ。(電動ファン付き呼吸用保護具) 代表的な 3 種類の呼吸用保護具の写真を下に示す。(株)重松製作所提供)



取替え式半面形防じんマスク 取替え式全面形防じんマスク 電動ファン付き呼吸用保護具

防じんマスクの区分

防じんマスクのろ過材の区分は国によって定められ、以下のようになっている。性能試験は、下表に示される粒子を用いて行われる。測定は光散乱方式の粉じん計を用いて、質量基準で測定される。従って、ここで測定されている捕集効率はサブミクロン、特に0.3 μm 程度の粒径に焦点を当てた試験になっている。

粒子捕集効率による防じんマスクの区分別記号

種類	粒子捕集効率 (%)	呼吸抵抗 (Pa 以下)*	区分別記号	
			DOP 粒子による 試験	NaCl 粒子による 試験
取替え式 防じん マスク	99.9%以上	160	RL3	RS3
	95.0%以上	80	RL2	RS2
	80.0%以上	70	RL1	RS1

* 40l/min 通気時の値 DOP; フタル酸ジオクチル

防じんマスクの性能試験用粒子

試験粒子	DOP(液体)	NaCl(固体)
個数基準平均粒径(μm)	0.15~0.25	0.06~0.1
幾何標準偏差	1.6 以下	1.8 以下
試験流量(L/min)	85	

現在定められている、粉じん等の種類及び作業内容に応じた防じんマスクの性能の区分は、下表に示されているものであり、ナノ粒子は特に触れられていない。

粉じん等の種類及び作業内容に応じた防じんマスクの性能の区分

作業内容	防じんマスクの性能の区分 (オイルミストが混在しない場合)
ダイオキシン類の暴露のおそれのある作業、放射性物質がこぼれた時等による汚染のおそれがある区域内の作業または緊急作業	RL3 RS3
金属のヒューム(溶接ヒュームを含む)を発生する作業、管理濃度が0.1mg/m ³ の物質の粉じんを発生する作業	RL3 RS3 DL3 DS3 RL2 RS2 DL2 DS2
上記以外の粉じん	RL3 RS3 DL3 DS3 RL2 RS2 DL2 DS2 RL1 RS1 DL1 DS1

呼吸保護の考え方

- ・呼吸用保護具 防護係数 = 1 / 全漏れ率 (例、粒子捕集効率 95.0%ならば、20)
- ・作業環境 濃度倍率 = 環境濃度 / 管理濃度、許容濃度等
(例、環境濃度 1.0mg/m³、管理濃度 0.1mg/m³の場合、10)
- ・防護係数 > 濃度倍率 ならば良好、つまりマスクの中で有害物濃度が許容されるレベル以下になっている(この例では、「良好」という判断になる)。逆は危険。
(2006/11/29 エアロゾルシンポジウム ; 「ナノ粒子と呼吸用保護具」明星敏彦より)

ここで問題があるのは規格で粒子捕集効率95%のマスクが、実際作業において、その効率が実現されているのかという点である。フィルタの捕集効率は保証されているが、前に述べたように、マスクの面体と顔の密着の度合いによる漏れは実際上重要なファクターである。真の漏れ率には、これも加味する必要がある。欧米においては、この点を考慮して、フィルタを含めた呼吸保護具の形式ごとに防護係数を定めている。これを指定防護係数と呼ぶ。例えばNIOSHでは、使い捨て式防じんマスクと取替え式半面形防じんマスクは、指定防護係数10で、HEPAフィルタ付き全面形防じんマスクは50としている。

ナノ粒子については、管理濃度や許容濃度などの労働衛生上の暴露限界濃度は現在どの国においても定められていない。(NIOSHは、酸化チタンについて、酸化チタンナノ粒子の暴露限界値を0.1mg/m³とする提案を行い現在議論中である。(微粒子は1.5mg/m³)) 濃度倍率が決まらなければ、どういう防護係数をもつ呼吸用保護具を選択するかの基準が無い。ナノ粒子に対してはできるだけ呼吸用保護具に頼らない管理が必要である。

ナノテクノロジー管理手法用語・略語集

用語・略語	正式呼称	訳語
ACC	American Chemistry Council	米国化学工業協会
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists	米国産業衛生専門家会議
ACS	American Chemical Society	米国化学会
ADI	Acceptable Daily Intake	1日摂取許容量
ADME	Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion	吸収、分布、代謝、排泄
ANSI	American National Standards Institute	米国規格協会
APS	Aerodynamic Particle Sizer	エアロダイナミックパーティクルサイザー
ASL	Acceptable Surface Limit	許容付着量
ASTM International	American Society for Testing and Materials	米国材料試験協会
BAuA	Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin	連邦労働安全衛生研究所(ドイツ)
BEI	Biological Exposure Index	生物学的暴露指標
BIA	Berufsgenossenschaftliches Institute für Arbeitssicherheit	傷害保険組合労働安全研究所(ドイツ)
BfR	German Federal Institute for Risk Assessment	ドイツ連邦リスクアセスメント研究所
BSI	British Standard Institute	英国規格協会
CAS	Chemical Abstracts Service	化学情報検索サービス機関
CB	Control Banding	コントロールバンディング
CBEN	Center for Biological and Environmental Nanotechnology	ライス大学の生物・環境ナノテク・センター。ナノ物質と生体及び生態系の間の相互作用を調べる世界最初のアカデミックな研究センター
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	疾病管理・予防センター(米国)
CNC	Condensation Nucleus Counter	凝縮核計数器
CNT	Carbon Nanotubes	カーボンナノチューブ
COSHH	Control of Substances Hazardous Health Regulations	有害物質管理規則(英国)
CPC™	Condensation Particle Counter	凝縮核計数器；CNCの商品名
CPSC	Consumer Product Safety Commission	消費者製品安全委員会(米国)
CVD	Chemical Vapor Deposition	化学気相析出法
DMA	Differential Mobility Analyser	微分型移動度分析器
DOE	Department of Energy	エネルギー省(米国)

用語・略語	正式呼称	訳語
Defra	Department for Environment Food and Rural Affairs	環境・食料・農村地域省(英国)
EC	Elemental Carbon	原子炭素
EHS	Environmental, Health, and Safety	環境・健康・安全
ELPI	Electric Low Pressure Impactor	電子式低圧インパクトター
EPA	Environmental Protection Agency	環境保護庁(米国)
FDA	Food and Drug Administration	食品医薬品局(米国)
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品安全性試験実施基準
GMO	Genetically Modified Organisms	遺伝子組み換え生物
GMP	Good Manufacturing Practices	優良製造基準
HEPA filter	High Efficiency Particulate Air filter	高性能微粒子フィルター
HHS	Department of Health and human Services	米国厚生省(米国)
HSE	Health and Safety Executive	安全衛生庁(英国)
HSL	Health and Safety Laboratory	安全衛生研究所(英国)
HiPco process	High Pressure CO process	高圧 CO 法(カーボンナノチューブの製法の一つ)
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際がん研究機関(WHO)
ICON	International Council on Nanotechnology	大学、企業、政府、市民組織の連合で、ライス大学 CBEN によって管理されている
IH	Industrial Health, Industrial Hygiene	労働衛生
IOM	Institute of Medicine (of the National Academies)	医学研究所(米国)
IOM	Institute of Occupational Medicine	労働医学研究所(英国)
IPCS	International Programme on Chemical Safety	国際化学物質安全性計画(WHO)
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
LCA	Life Cycle Assessment	ライフサイクルアセスメント
LCA	Life Cycle Analysis	ライフサイクル分析
LEV	Local Exhaust Ventilation	局所排気装置
LLD	Lower Limit of Detection	検知可能下限値
LOEL	Lowest Observed Effect Level	最小作用量 = 最小影響量
MSDS	Material Safety Data Sheet	化学物質等安全データシート
MWCNT	Multi-Walled Carbon Nanotube	多重壁(層)カーボンナノチューブ
NIH	National Institutes of Health	国立衛生研究所(米国)
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health	国立労働安全衛生研究所(米国)
NNI	National Nanotechnology Initiative	国家ナノテクノロジーイニシアティブ(米国)

用語・略語	正式呼称	訳語
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (Concentration)	最大無有害性影響量
NOEL	No-observed Effect Level	(最大)無作用量
OC	Organic Carbon	有機炭素
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
OEL	Occupational Exposure Limit	職業暴露限界値
OPC	Optical Particle Counter	光散乱式粒子計数器
OPPT	Office of Pollution Prevention and Toxics	汚染防止有害物質部(米国)
OSHA	Occupational Safety and Health Administration	労働安全衛生庁(米国)
PEL	Permissible Exposure Limit	許容限界値
PM	Particulate Matter	粒子状物質
PM1.0	Particulate Matter1.0	大気中に浮遊する粒子状物質のうち、粒径 1 μ m 以下のもの
PM10	Particulate Matter10	大気中に浮遊する粒子状物質のうち、粒径 10 μ m 以下のもの
PMN	Premanufacture Notification	製造前届出(米国)
PPE	Personal Protective Equipment	個人用保護具
PRTR	Pollutant Release and Transfer Register	環境汚染物質排出移動登録
RC	Responsible Care	レスポンシブルケア
REACH	Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals	化学品の登録、評価、認可および制限 (EU)
RSL	Respirator Selection Logic	防護マスク選択論理(NIOSH)
SEM	Scanning Electron Microscope	走査電子顕微鏡
SMPS TM	Scanning Mobility Particle Sizer	走査型移動度粒径測定器
STM	Scanning Tunneling Microscope	走査トンネル顕微鏡
SWCNT	Single-Walled Carbon Nanotube	単壁(層)カーボンナノチューブ
TC	Total Carbon	全炭素
TLV	Threshold Limit Value	限界(閾)値(= 許容限界値)
TSCA	Toxic Substances Control Act	EPA 所管の米国化学物質規制法
TWA	Time-Weighted Average	時間荷重平均値
VDI	Verein Deutscher Ingenieure	ドイツ技術者協会
aerosol		エアロゾル
agglomeration		凝集
aggregation		凝結(強固な凝集)
chemical modification		化学(的)修飾
clean-up		清掃・片付け
dermal		皮膚の

用語・略語	正式呼称	訳語
dose		用量、投与量
diffusion battery		拡散バッテリー
engineered nanoparticle		工業(生産)ナノ粒子
engineering control		工学的対策
exposure		暴露
Faraday cup electrometer		ファラデーカップ電流計
fume hood		ドラフト
glove box		グローブボックス
hazard		有害性、危険性
impactor		衝突分離法
<i>in vitro</i>		試験管内試験
<i>in vivo</i>		生体試験
inhalation		吸入
instillation		注入
isolator		アイソレータ
laser ablation		レーザーアブレーション
negative pressure		負(陰)圧
occupational health		労働衛生
product stewardship		製品監督者責任(製造物管理)
protection factor		保護係数(漏れ割合の逆数)
respirator		呼吸用保護具
spills		零れ/飛散物
sweep out		掃き出す
ultrafine particle		超微粒子
vacuuming		清掃作業(真空清掃機による)
work practice		作業管理

ナノテクノロジー管理手法専門用語解説

用語	英訳	解説
アイソレータ	Isolator	汚染制御の対象を周囲から隔離し、局所の清浄度を高く保つ装置
エアロゾル	Aerosol	微小な液体または固体の粒子が気体中に浮遊した状態をいう
グローブボックス	Glove box	外気と遮断した作業を行えるように、作業対象物を収納可能な箱にグローブを取り付けたもの 内部の雰囲気は不活性ガスに置換し、パスボックスを備えたものが多い
コントロールバンディング	CB;Control Banding	危険有害性情報などに基いてリスク評価を行い、それに応じたリスク管理を行う手法
ファラデーカップ電流計	Faraday Cup Electrometer	カップ状の金属電極にイオンが捕集されると、その電荷を中和するために電子の移動が起こるので、その電流を測ることにより、イオンを電流として直接計測する装置
プロアクティブ	proactive	先を見越した/事前の策を講じた
レーザーアブレーション	Laser ablation	レーザービームを集光して材料に照射すると、その高密度のエネルギーで熱的に蒸発するなどして飛び出し、飛び出した原子や分子が冷却、凝縮してナノ粒子となる
レスポンシブルケア	RC; Responsible Care	企業が自主的に製品安全・環境安全問題に適切に対処する活動
陰圧（負圧）	Negative pressure	大気圧よりも低い空気の圧力
化学気相析出法	CVD ; Chemical Vapor Deposition	気体分子の化学反応を利用して固体を合成する方法 膜や粒子を作成するのに用いられ、気相化学反応法ともいう
化学修飾	Chemical modification	化学物質に官能基を化学的に結合させ、新たな機能を付与すること
拡散バッテリー	Diffusion Battery	定まった形状の通路の出入り口における粒子個数濃度の計測から粒径を測定する。CNC や OPC と組み合わせて用いる。
気管注入	Intratracheal Instillation	実験動物の気管支内に試料液を注入すること

用語	英訳	解説
吸入暴露	Inhalation Exposure	実験動物にエアロゾル化した試料を呼吸を通じて吸入させること
許容濃度	Allowable concentration	労働衛生で用いられる場合は、職場における有害物質の濃度要因による労働者の健康障害を予防するための手引きに用いられることを目的に、日本産業衛生学会が勧告する濃度
凝縮核計数器	CNC;Condensation Nucleus Counter	粒子に液体を凝縮させて粒径を大きくし、光散乱式粒子計数器で粒子個数を測る装置
凝縮粒子計数器	CPC;Condensation Particle Counter	同上
局所排気（局排）	Local exhaust ventilation	特定の場所で発生した有害物を、気流を利用して集めて外気に出す装置
光散乱式粒子計数器（光散乱カウンタ）	OPC;Optical Particle Counter	粒子からの散乱光の強度から粒径を求め、パルスから粒子数を求める装置
工学的対策	Engineering control	作業者の有害物質による健康影響を避けるために、作業場の空気中の当該物質の濃度を低く抑えるための工学的、技術的措置
最小作用量 = 最小影響量	LOEL;Lowest Observed Effect Level	安全性試験において、何らかの生物学的な影響が対照群に対して、統計的に有意な変化を示した最小の投与量
(最大)無作用量	NOEL;No-observed Effect Level	安全性試験において生物学的な全ての影響が対照群に対して統計的に有意な変化を示さなかった最高投与量
最大無有害性影響量	NOAEL ; No Observed Adverse Effect Level	毒性試験において毒性学的に全ての有害影響が認められない最大投与量
時間荷重平均値	TWA; Time-Weighted Average	濃度とその持続時間の積の総和を時間数で割った値
衝突分離法（インパクト法）	Impactor	板にノズルからエアロゾルを吹き付けると、大きな粒子は慣性で板に衝突し付着するが、小さな粒子は気流に乗り衝突しないことを利用して分級する ノズル径の大きいものから順に多段に配置したものをカスケードインパクトという

用語	英訳	解説
製品監督者責任 (製造物管理)	Product Stewardship	化学製品の開発・設計から、製造、輸送、使用、廃棄、リサイクルにいたるまでの全ての段階において、安全衛生、健康、環境に配慮する管理を行う責任
走査(又は段階)式モビリティ粒径測定器	Scanning (or Stepped) Mobility Particle Sizer	DMA と CNC を組み合わせたナノ粒子の粒径分布測定装置 SMPST TM は商品名
超微粒子	Ultrafine Particle	粒径が 0.1 μ m/100nm より小さい粒子
電子式低圧インパクトター	ELPI; Electric Low Pressure Impactor	衝突による慣性力を利用して分級する際に、低圧にして超微粒子に対処可能とし、さらにエレクトロメータで自動的に粒径分布を測定する装置
微分型移動度分析器 (静電分級器)	DMA;Differential Mobility Analyser	静電場内で帯電粒子の電気移動度がその粒径と荷電数により異なることを利用し、粒子を分級する装置
HEPA フィルタ	HEPA (High Efficiency Particulate Air) Filter	JIS Z 8122 によって、「定格風量で粒径が 0.3μm の粒子に対して 99.97%以上の粒子捕集率をもち、かつ初期圧力損失が 245Pa 以下の性能を持つエアフィルタ」と規定されているフィルタ
防護係数	Protection Factor	呼吸用保護具の全洩れ率%の逆数 欧米においては、マスクの面体と顔の密着の度合いによる漏れ等を考慮して、フィルタを含めた呼吸保護具の形式ごとに防護係数を定めており、これを指定防護係数と呼ぶ