

第1回ナノ材料の安全・安心確保のための  
国際先導的安全性評価技術の開発  
研究開発プロジェクト 終了時評価検討会  
資料5

# ナノ材料の安全・安心確保のための 国際先導的安全性評価技術の開発事業 プロジェクト終了時評価

平成28年9月28日

製造産業局化学物質管理課

# 目次

1. 事業の概要
2. 事業アウトカム
3. 研究開発内容及び事業アウトプット
4. 当省(国)が実施することの必要性
5. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ
6. 研究開発の実施・マネジメント体制等
7. 費用対効果
8. 事前評価・中間評価の結果

# 1. 事業の概要

<b>概 要</b>	多様なナノ材料に対する効率的な有害性評価技術の構築、及びそれを支援するための基盤技術の開発を行った。効率的な評価技術は、吸入毒性のスクリーニングのための「気管内投与試験方法」と、類似のナノ材料を集約して評価する「同等性判断基準」とからなる。
<b>実施期間</b>	平成23年度～平成27年度（5年間）
<b>実施形態</b>	国からの直執行（産総研他5機関への委託事業）
<b>予算総額</b>	15.6億円 （平成23年度:3.0億円 平成24年度:3.3億円 平成25年度:3.3億円 平成26年度:3.0億円 平成27年度:3.0億円）
<b>実施者</b>	学校法人慶應義塾 慶応義塾大学、国立研究開発法人産業技術総合研究所、日本バイオアッセイ研究センター、学校法人産業医科大学、一般財団法人化学物質評価研究機構、国立大学法人広島大学、国立大学法人東京大学、国立大学法人信州大学
<b>プロジェクトリーダー</b>	慶應義塾大学 武林亨（教授）

## 2. 事業アウトカム

事業アウトカム指標 (妥当性・設定理由・根拠等)	目標値(計画)	達成状況(実績 値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
ナノ材料の効率的な有害性評価を可能にする二つの評価手法(同等性判断基準、気管内投与試験方法)について、OECDでの議論に反映されること(事業終了時)、また、ガイドライン・ガイダンス文書となること(事業目的達成時)。  これら2つの評価手法が社会に普及するためには、OECDにおいて認知される必要がある。	(事業開始時) 0	0	-
	(中間評価時) 0	0	-
	(事業終了時) 2	2	達成
	(事業目的達成時) 2	-	-

### 【同等性判断基準】

- ・ カテゴリー化等の各国状況の調査に関するパイロットプロジェクトを提案し、これをリードして「同等性判断基準」の考え方や本事業の研究開発内容を含む報告書を作成し、公開に至った。
- ・ カテゴリー化WSにて同等性判断基準の試案を紹介した。当該報告を含む報告書が公開された。

### 【気管内投与試験方法】

- ・ 「in vivo吸入毒性スクリーニング試験方法に関する情報共有セミナー」を提案・主導して開催した。当該テーマのガイダンス文書作成が、新規プロジェクトの候補となった。
- ・ トキシコキネティクスWSで発表。報告書で気管内投与方法の有用性が言及された。

### 3. 研究開発内容及び事業アウトプット

事業アウトプット指標 (妥当性・設定理由・根拠等)	目標値(計画)	達成状況(実績 値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
ナノ材料の効率的な有害性評価(同等性判断基準、気管内投与試験方法)とそれを支援する基盤技術にかかる技術解説書・手順書等の公開数 開発した技術が広く社会で用いられるためには、それらを技術解説書・手順書として公開することが必要である。	(事業開始時) 0	0	-
	(中間評価時) 0	0	-
	(事業終了時) 10	10	達成

#### 【同等性判断基準】

1) ナノ材料の同等性判断基準

#### 【気管内投与試験方法】

2) 気管内投与試験法を初期有害性情報取得の目的で用いる際のデータ解釈上の留意点

3) 手順書 ラットを用いたナノ材料の気管内投与試験の標準的手法

#### 【基盤技術】

4) ナノ材料有害性の同等性判断評価のための試料調製とキャラクターリゼーションに関する技術解説書

5) ナノ材料毒性評価のための吸入暴露試験用エアロゾル発生手法に関する手順書

6) エアロゾル液相捕集法の手順書

7) ナノ材料の体内分布及び生体反応分布の定量化技術の技術解説書

8) Peapodを応用した体内動態評価方法に関する技術解説書

9) 技術解説書：ナノ材料の体内動態の評価と数理モデル化

10) ナノ粒子の肺障害性および透過性評価のためのin vitro培養肺胞モデル構築と評価の手順

プロジェクトHP (<https://metinanojp.aist-riss.jp>)  
よりダウンロード可能

論文：50報（うち査読付41報。投稿中・準備中含む）、学会発表等：121件、特許出願：2件

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ① 「同等性判断基準」の構築

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
①(a) 気管内投与試験によるナノ材料の相互比較による同等性判断基準の構築	最終目標として、異なる化学組成や物理化学的特性のナノ材料を選択して追加・検討試験を実施し、暫定案の改良及び検証を行い、OECD等の国際的な場への提案を想定したナノ材料有害性の同等性の判定基準案を策定する。	物理化学的特性の異なる二酸化チタン7種類、酸化ニッケル4種類、二酸化ケイ素9種類について気管内投与試験を実施し、結果を比較検討した。また研究開発①(b)、③(a-1)の結果と合わせてナノ材料の同等性判断基準を作成した。	達成

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ① 「同等性判断基準」の構築

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
<p>①(b) 同等性評価のための試料調製技術とキャラクターリゼーション</p>	<p>研究開発項目①(a)を始めとする有害性試験に対してナノ材料分散液を供給と試料のキャラクターリゼーションを行い、気管内投与試験のための試料調製およびキャラクターリゼーションの方法や留意点について、技術解説書を取りまとめて公開する。</p>	<p>合計23種のナノ材料について、試験用分散液の調製と供給を行い、そのキャラクターリゼーションを行った。また、試料調製及びキャラクターリゼーションに関する手順、手法、留意点などをまとめた技術解説書を作成し、HP上に公開した。</p>	<p>達成</p>

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ② 「気管内投与試験方法」の構築

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
②(a) 吸入暴露試験と 気管内投与試験 の比較検討	吸入ばく露試験の結果と 気管内投与試験の結果を との比較及び改良・検証 のための試験を追加して 行い、初期有害性情報取 得の目的で気管内投与試 験を用いるに当たっての 技術解説書を取りまとめ て公開する。	吸入ばく露試験の結果 と気管内投与試験の結 果を論文掲載し、両試 験の比較をとおして、 両試験の反応の類似性 や相違性を論文掲載し た。これらの見解をま とめて、初期有害性情 報取得の目的で気管内 投与試験を用いるに当 たっての技術解説書 を取りまとめて公開した。	達成

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ② 「気管内投与試験方法」の構築

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
②(b-1) 手技の標準化に関する検討	最終目標として、気管内投与の技能確認法も合わせた気管内投与試験のテストガイドラインの試案を作成する。そのために、中間目標で作成されたプロトタイプ案について、必要に応じて改良や検証のための追加実験を実施する。	様々な試験条件の違いが結果に及ぼす影響について検討し、結果に影響しない標準的な試験条件の範囲を明らかにするとともに、気管内投与試験の標準的手順書(試案)としてまとめた。 また、気管内投与技術確認法のプロトタイプに基づき新規技術者の教育を行うとともに、技能確認法を改良し、気管内投与試験の標準的手順書(試案)に盛り込んだ。	達成

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ② 「気管内投与試験方法」の構築

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
②(b-2) 単回投与と複数 回投与の比較検 討	気管内投与試験の標準的 手法として適切な投与回 数に関する見解をとりま とめ、研究開発項目② (b-1)による標準的手 順書の試案に含めて公開 する。	投与回数を単回から複 数回に変えた気管内投 与試験を実施し、気管 内投与試験の標準的手 法として適切な投与回 数に関する見解をまと めた。結果は、「ラッ トを用いたナノ材料の 気管内投与試験の標準 的手順書(試案)」に 含めて公開した。	達成

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ② 「気管内投与試験方法」の構築

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
②(c) エアロゾルの安定発生手法の構築	吸入暴露試験用エアロゾルを得る手法の指針をとりまとめて公開する。	本プロジェクトで開発した吸入暴露試験用エアロゾル発生手法の装置概要や操作方法を、期間中に実施した実際の吸入暴露試験の結果とともにとりまとめ、「ナノ材料毒性評価のための吸入暴露試験用エアロゾル発生に関する技術解説書」としてプロジェクトHPに公開した。	達成

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ② 「気管内投与試験方法」の構築

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
②(d) エアロゾル液相捕集手法の構築	気管内投与試験用試料作成のためのエアロゾルの液相捕集手法に関する標準的手順書の試案をとりまとめて公開する。	任意のエアロゾル試料に適用可能な気管内投与試験用ナノ材料懸濁液作成技術として、気中ナノ粒子を液中に捕集する技術（エアロゾルの液相捕集法）を構築した。そしてこの手法に関する手順書を作成し公開した。	達成

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ③ 有害性試験・評価のための基盤技術の開発

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
<p>③(a-1) ナノ材料の体内分布及び生体反応分布の定量化技術の開発</p>	<p>中間目標の時点で確立したナノ材料の体内分布及び生体反応分布の定量化技術を研究開発項目①「ナノ材料の同等性判断のための評価技術の構築」及び研究開発項目②「初期有害性情報取得のための低コスト・簡便な有害性評価技術の構築」の気管内投与試験及び吸入暴露試験に適用する。開発した方法を整理し、技術解説書としてまとめて公開する。</p>	<p>光学顕微鏡と蛍光X線顕微鏡を用いたサブミリメートルの分解能での広範囲の観察と、透過型電子顕微鏡を用いたサブナノメートルの高分解能での観察をするための手法を確立した。ナノ材料の生体反応分布に関しては、レーザー共焦点顕微鏡と透過型電子顕微鏡を用いた免疫組織学的解析手法を確立した。開発した手法を技術解説書技術解説書としてまとめて公開した。</p>	<p>達成</p>

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ③ 有害性試験・評価のための基盤技術の開発

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
③(a-2) PEAPODの体内動態計測技術開発	CNTの体内動態試験のためのPEAPODの作製・評価・応用に関する技術解説書を取りまとめて公開する。	Peapod技術によるCNT内部への重金属の充填に成功し、画像装置による検出に成功した。試験動物の臓器内に集積したPeapodが画像装置で検出可能である事を示した。最終的には体内動態評価法の一つとして確立した技術を取りまとめ、本プロジェクトのホームページ上で技術解説書として公開した。	達成

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ③ 有害性試験・評価のための基盤技術の開発

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
<p>③(b) ナノ材料の体内動態と生体反応に関する数理モデルの構築</p>	<p>研究開発項目①及び研究開発項目②で実施した吸入暴露試験や気管内投与試験の結果を数理モデルによって記述するとともに、ナノ材料の体内動態と生体反応との関係を表す一般的な生理学的数理モデルとして構築する。</p>	<p>吸入曝露試験、気管内投与試験の結果を数理モデルで記述するとともに、ナノ材料と生体反応の肺内分布を定量化し、両者の関係を明らかにした。また、静脈注射試験による体内動態の評価を行った。これらのデータの特徴から、詳細な生理学的数理モデルの構築は行わなかったが、ナノ材料の体内動態の一般的な評価やモデル化に関する技術解説書を作成して公開した。</p>	<p>達成</p>

## 個別要素技術のアウトプット指標・目標値及び達成状況

### ③ 有害性試験・評価のための基盤技術の開発

個別要素技術	アウトプット指標・目標値	達成状況(実績値・達成度)	原因分析(未達成の場合)
③(c) 培養肺胞モデル 評価系の開発と 数理モデル化へ の利用	培養肺胞モデル評価系によるナノ材料評価の標準的手順書の試案をとりまとめ公開する。	研究の結果得られた肺胞近傍におけるin vitro評価系による暴露実験と数理モデルの組み合わせによる肺吸収率予測の手順・方法論について、「ナノ粒子の肺障害性および透過性評価のためのin vitro 培養肺胞モデル構築と評価の手順」としてとりまとめ、公開した。	達成

## 4. 当省(国)が実施することの必要性

本研究の最終成果目標は、ナノ材料の有害性評価をする際に用いる基準や試験手法を構築し、それらをとりとまとめて技術解説書等を公表することであり、国が本研究に関与することにより、公表された技術解説書等が公平・中立な手法として信頼性が確保される。

ナノテクノロジーが社会に与える幅広い利便を最大限に引き出し、産業強化を図るには、開発されるナノ材料の安全性などの潜在的な課題に関する知見を集積し、適切なリスク評価・管理を行って安全・安心な国民生活を確保する必要がある。しかしながら、ナノ材料の研究は、様々なメーカーや研究機関で、個々の材料について研究が実施されている。そのため、合理的、効率的に有害性評価体系を構築するには、国が率先して研究開発を進め、最新の知見を集積することが必要である。

このため、国が中心となって効率的に研究開発を進めることで、ナノ材料の開発・応用を円滑に推進することができ、我が国の強みであるナノテクノロジー産業の国際競争力を向上させることができる。

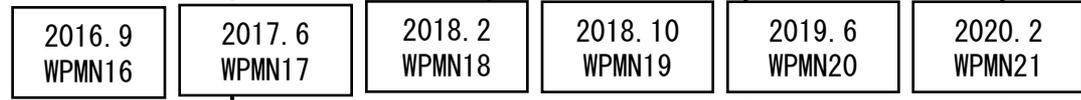
また、本研究は、行政的な取組みでの活用を想定しつつ、産業競争力を強化することを目的としており、取組みを適切に構ずる際の科学的な根拠となる有害性評価手法の開発に国自らが関与する必要がある。

将来的には本プロジェクトの成果を国際的なルール作りに活かすことのできる、知的基盤の形成を目指す研究開発であり、国が先導して開発を推進すべきものである。

# 5. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ

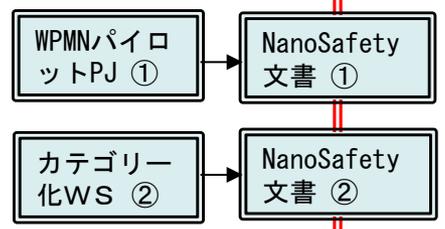
2015 2016 2017 2018 2019 2020 年度

2016.3 METIナノ安全PJ終了



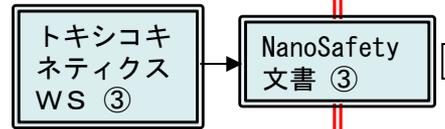
## ナノ材料の同等性判断のための評価技術の構築

アウトカム



同等性判断基準を含むカテゴリー化・グループ化の考え方がOECDのガイダンス文書として発行される

## 気管内投与試験方法の確立

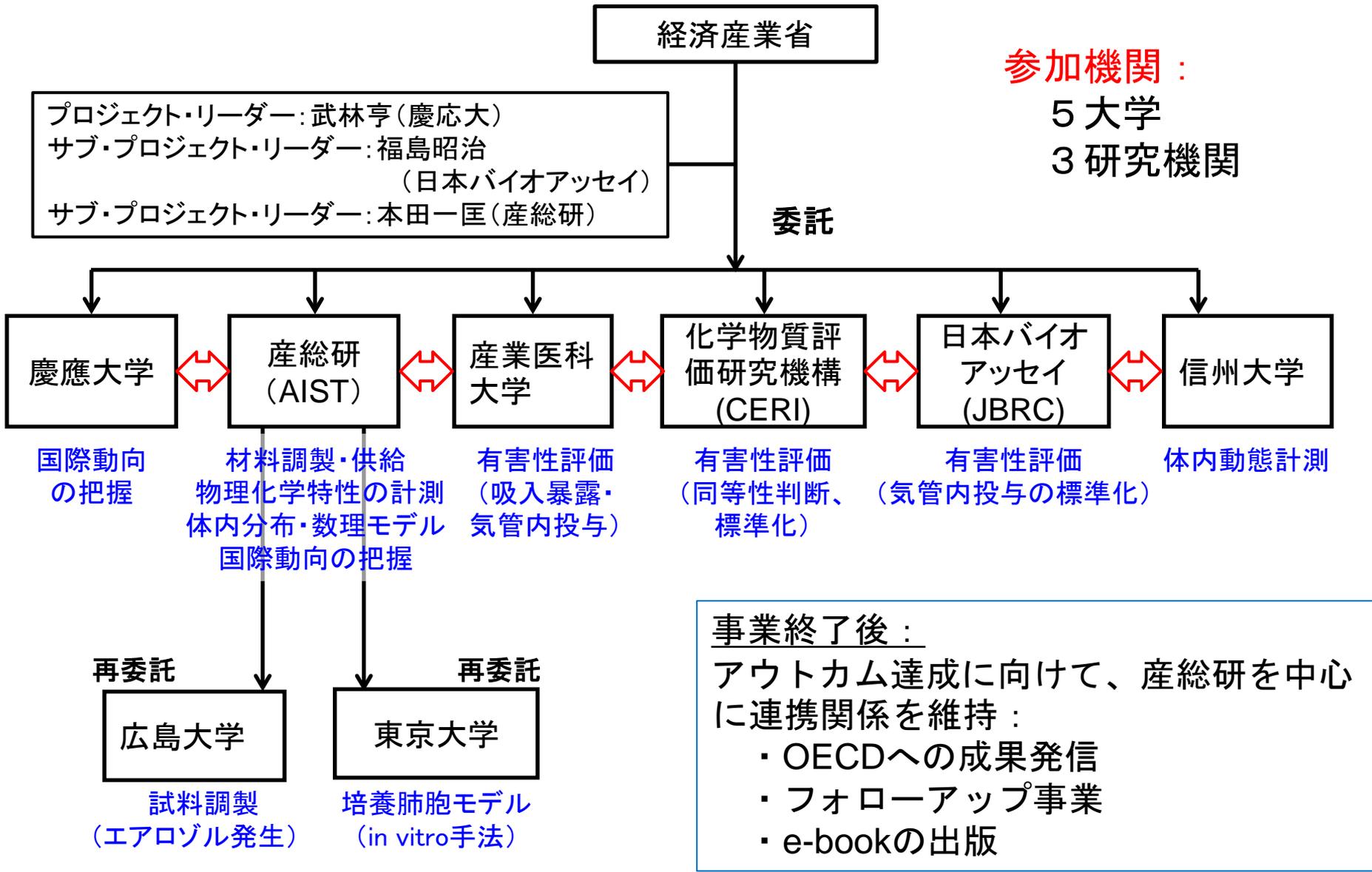


気管内投与試験の試験方法及び結果の使い方が、OECDのガイダンス文書として発行される



①~⑤ : 事業期間中の活動  
①~④ : 事業終了後のロードマップ

# 6. 研究開発の実施・マネジメント体制等



## プロジェクト運営

### 【開発推進委員会】

- ・ 外部有識者（のべ8名）からの意見を反映
- ・ 年1回、事業期間中に計5回

### 【推進調整会議】

- ・ プロジェクト進捗管理
- ・ 月1回、事業期間中に計45回

### 【その他打ち合わせ】

- ・ 課題間連携のため、案件毎に適宜開催
- ・ 面談式116回、テレビ・電話会議124回

### 【知財の考え方】

- ・ 研究成果は、論文、手順書・技術解説書の公開による利用促進を図ることを原則としたが、産業応用などが期待される技術については特許出願を行うこととした。

### 【社会経済情勢等の状況変化への対応】

- ・ プロジェクト方針の変更を要する大きな社会経済情勢等の変化はなかった。
- ・ OECDへの成果発信は、議論の動向を踏まえて臨機応変に対応した。

## 国民との科学・技術対話などのコミュニケーション

- ・ 一般向け講演会や展示会での発表を積極的に行った。
- ・ イベント数として計22件

## 資金配分(予算額)

単位:百万円

年度 平成	2 3	2 4	2 5	2 6	2 7	合計
①同等性判断基準の構築 [CERI、AIST]	84	90	90	77	52	393
②気管内投与試験方法の構築 [産医大、CERI、バイオアッ セイ、広島大、AIST]	94	106	106	98	102	506
③基盤技術の開発 [AIST、信州大、東京大]	117	130	130	125	146	648
国際動向の把握 [慶應義塾大学、AIST]	4	4	3	3	3	17
合計	299	330	329	303	303	1,564

## 7. 費用対効果

### 1) 事業アウトカムに対する費用対効果

ナノ材料の市場化の動向を踏まえ、今後、ナノ材料の有害性データを要求する動きは加速すると考えられる。

ヒトに対する暴露可能性が最も高いと考えられる呼吸器系の動物試験として、90日間の吸入暴露試験が想定される。

コストが高い：1材料に対し最低でも約5000万円の費用

難易度が高い：国内で実施できる試験機関は限られている



吸入暴露試験に要する装置

それに対し、本事業で開発された効率的な有害性評価技術により、実効的かつ適切な評価と管理を実現できる。本事業への予算投入は、十分な効果が得られると考えられる。

**同等性判断基準**：個々のナノ材料の有害性試験を行わずとも物理化学的性状（サイズ、形状等）が類似のものは集約して試験・評価できる。

**気管内投与試験**：特別な施設は必要なく、通常の動物実験設備で飼育・観察できる。90日吸入暴露試験と同等の飼育観察と評価の概算見積額は約1570万円。

### 2) 事業アウトプット（技術解説書・手順書件数：10件）の単位あたりコスト

1,564百万円（総予算額） ÷ 10件 = 156百万円/件

## 8. 事前評価・中間評価の結果

### ●事前評価 評価小委員会からのコメント及び対処方針

コメント	対処方針
<p>○我が国がリードしている分野であり、新たなナノ材料の有害性評価に向けて極めて重要な課題であり、国として取り組むべき課題である。また、国際標準の取得等、国際的な先導性獲得を目標として取り組むことが望まれる。</p>	<p>○本プロジェクトで得られた有害評価手法はOECDテストガイドライン等国际標準を視野に入れて検討しているところであり、ご指摘のとおり国際標準の取得等を目標として取り組んでまいりたい。</p>
<p>○ナノ材料のリスク評価においては、ISOでも欧州が主導的な役割を果たしており、一番キーとなるところを牛耳っているのではないかと懸念される。リスク評価や安全管理的な側面は民間主導ではなかなか進展せず、国も主導的にコミットしていくことが望まれるが、それだけに、欧州をはじめとする国際協調ありきで取り組んでいく必要がある。革新的なナノ材料開発を成し遂げても、リスク評価で市場から締めだされる可能性もあるだけに、ナノ材料のプロジェクト開発とも連携して進めていく側面が必要なかもしれない。</p>	<p>○ナノ材料のリスク評価は我が国もISOを含め国際標準において積極的に参画し、各国と協力して実施しているところである。特にOECDでは、我が国がカーボンナノチューブ及びフラーレンの評価についてリード国となり、評価するなど先導的な役割を果たしている。また、革新的な材料開発として先行実施しているプロジェクト「低炭素社会を実現する超軽量・高強度革新的融合材料プロジェクト」で実施しているカーボンナノチューブの研究開発などとも連携して進めていく方針である。</p>

## ●中間評価検討会

### 評価検討会名称

低炭素社会を実現する超軽量・高強度革新的融合材料プロジェクト  
(NEDO交付金以外分) ナノ材料の安全・安心確保のための国際先導的  
安全性評価技術の開発

### 座長

谷岡 明彦  
国立大学法人東京工業大学 大学院理工学研究科  
有機・高分子物質専攻 特任教授

金子 秀雄  
株式会社住化技術情報センター 代表取締役社長

金藤 浩司  
大学共同利用機関法人情報・システム研究機構統計数理研究所  
リスク解析戦略研究センター データ科学研究系 教授

津田 洋幸  
公立大学法人名古屋市立大学 津田特任教授研究室  
特任教授

広瀬 明彦  
国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター  
総合評価研究室 室長

### 評価検討会 委員

### 委員

## ● 中間評価検討会 総合評価(コメント)

○ナノマテリアルのリスク評価手法の開発に関して、最も重要な観点となる様々な物性情報と有害情報の関連性について、同等性の判断基準の作成や統一的な評価試験技術の確立をめざして、詳細なレベルまで検討が行われており、国際的観点からも利用価値の高い成果が得られると思われる。

○物理化学的特性をパラメータに安全性の指標を提示するという研究は非常に少ない中、本プロジェクトの研究成果が、新しい素材の普及や、わが国産業の国際競争力の強化、雇用の創出等に貢献すると言える。本プロジェクトは、行政および産業発展に大いに寄与できる可能性が高いため、今後も積極的に推進して実施すべきと考える。

○一方で、本プロジェクトは異分野連携という非常に困難な側面があるが、国際標準化に向けて、強いリーダーシップの下に事業をさらに推進すべきでないかと思う。

○また、論文発表等による積極的な対応と共に、国内的な対応にも目を配る対応が望まれる。(提言に対する対処方針の8. 参照)

## ● 中間評価検討会 評価点結果

### 【評価項目の判定基準】

評価項目 1.～5.

3点: 非常に重要又は非常によい

2点: 重要又はよい

1点: 概ね妥当

0点: 妥当でない

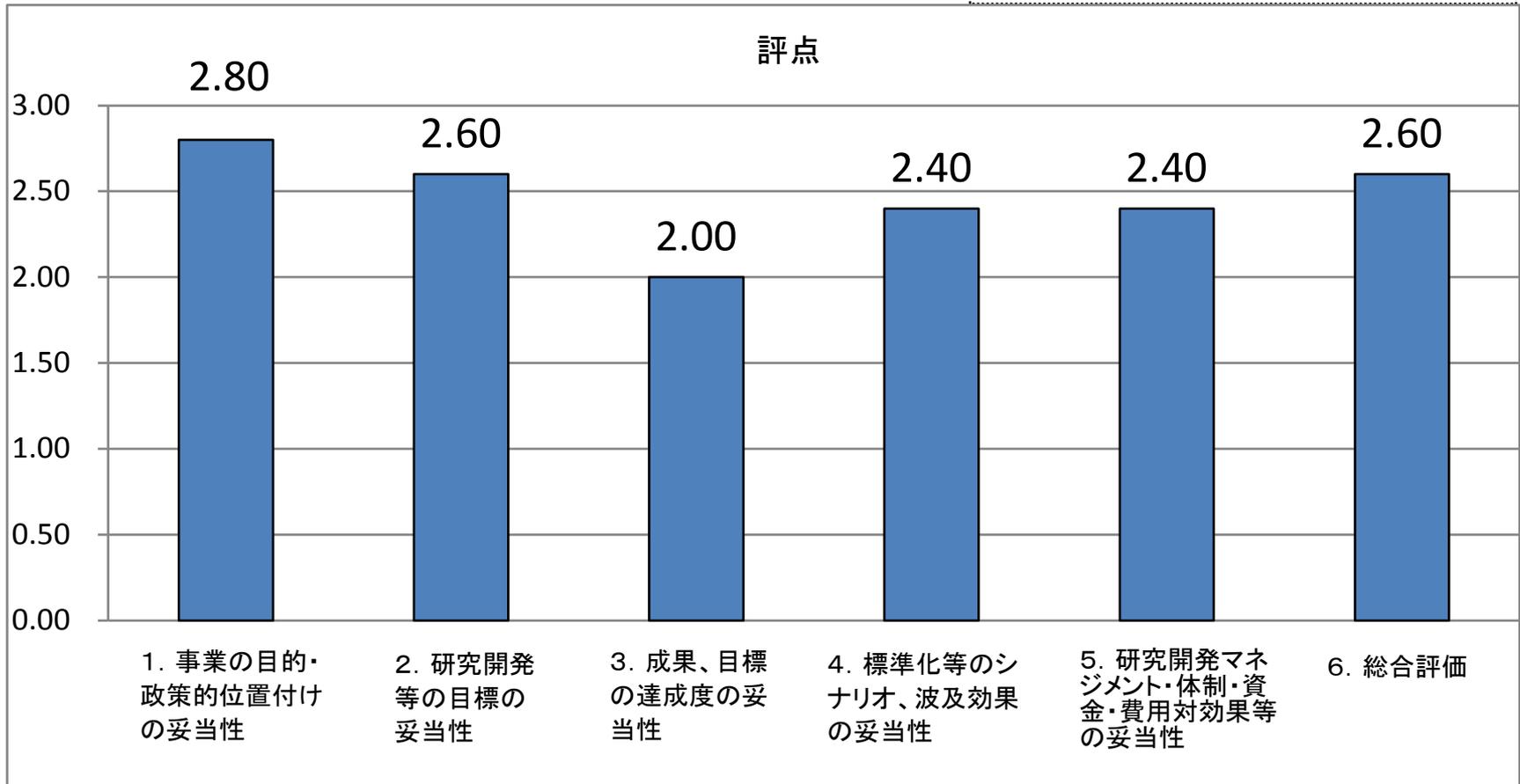
6. 総合評価

3点: 事業は優れており、より積極的に推進すべきである。

2点: 事業は良好であり、継続すべきである。

1点: 事業は継続して良いが、大幅に見直す必要がある。

0点: 事業を中止することが望ましい。



## ● 中間評価検討会 提言及び提言に対する対処方針(1)

### 今後の研究開発の方向等に関する提言

1. 新規ナノ材料の安全性については、ナノ材料の評価をどのような優先順位と手法で進めるか、さらにどこを問題とするかについて取り組んでほしい(1-1)。できればスーパーコンピュータ等によるシミュレーションで安全性が評価できるシステムを構築してほしい(1-2)。

2. 生体にすでに利用されている材料をナノ形状にしたときの安全性について、試験を行い指標を出すことは可能であるか。

### 提言に対する対処方針

(1-1)本プロジェクトは、新規ナノ材料の安全性評価の優先順位付けを行うための手段として、段階的アプローチを基本的な考え方としている。すなわち、簡易な方法から出発して、詳細な試験の必要性の優先順位付けを行うというアプローチである。また、問題とすべき有害影響としては、暴露後の保持量が最も多く、有害影響の発現可能性も高いことから、吸入暴露による肺への影響に焦点を絞り検討を行うことにした。これらのために、同等性判断基準の構築、及び、気管内投与試験の活用・標準化を課題として設定した。今後も、安全性評価の段階的アプローチを構成する評価方法として、OECDナノ材料作業部会等に発信していきたいと考えている。

(1-2)本プロジェクトでは、シミュレーションによる有害性予測を開発目標としていない。我々の考えている段階的アプローチでは、既に有害性が存在するナノ材料と同等であると考えることができないナノ材料については、有害性試験を実施することを想定しているからである。ナノ材料の有害性予測は、現在の世界的な科学的知見から考えても困難であり、長期的課題であることから、本プロジェクトの枠外で考えていくべき課題と考えられる。

(2)生体に利用されている材料をナノ形状とした時の安全性については、本プロジェクトの対象とは考えていない。理由の一つは、本プロジェクトでは、生体内での安全性という観点ではなく、吸入経路の暴露を想定した主に肺に対する有害性の材料間の比較を行っていることである。もう一つの理由は、材料をナノ材料にする技術を新たに開発する必要があり、プロジェクト期間中に実施することは非常に困難であることである。

## ● 中間評価検討会 提言及び提言に対する対処方針(2)

### 今後の研究開発の方向等に関する提言

3. 定量化の困難なカーボン系材料の定量解析法の開発(3-1)や、おそらく極微量であるものの体内に吸収された材料による蓄積性や慢性影響との関連性(3-2)についても、初期的な知見でも良いので解析の検討対象に入れてほしい。

4. 同等性評価のために、二酸化チタン、酸化ニッケル、シリカに加えてより多くのナノ材料で、かつそれぞれの試料の幅広い物理化学的性状を持つ試料で検証することが望ましいと考える。

### 提言に対する対処方針

(3-1) 生物組織中に取り込まれたフラーレンおよびMWCNT(多層カーボンナノチューブ)の定量解析手法に関しては、すでに本研究課題遂行者らにより開発され、論文発表されている(Shinohara et al. 2010、Tamura et al. 2011、Oyabu et al. 2011、Ohnishi et al. 2013)。本プロジェクトでも、DWCNTについては、内部に分子を封入するPEAPOD技術を応用した体内動態計測技術の開発を行っているものの、SWCNTに関しては現状では有効な分析手法の目処が立っておらず、プロジェクト後半2年間に定量解析手法の開発を行なうことは、時間的・費用的に実施は困難である。将来的に検討が望まれる課題と考えている。  
(3-2) 酸化ニッケルナノ粒子と二酸化チタンナノ粒子の気管内投与試験に関して、肺と一部の他の臓器で、粒子の定量と臓器の病理所見を長期的に検討している。沈着量がごく微量であることが想定されるので、蓄積量と慢性影響との関連性を明確に示すことは容易ではないと推察されるが、解析を試みる予定である。

(4) 多くの材料について、幅広い性状の物質を用いて検証することは重要と考えている。これまで、入手、調製及び定量性を考慮して試験可能な物質として二酸化チタン、酸化ニッケル及びシリカを選択した。今後、これら3材料の試験結果も合わせ、どのような特性の材料を追加試験すべきか、議論を踏まえて決定したいと考えている。

## ● 中間評価検討会 提言及び提言に対する対処方針(3)

### 今後の研究開発の方向等に関する提言

5. 金属の研究は早急に切り上げて、カーボンナノマテリアルの研究に集束すべき。

### 提言に対する対処方針

(5) 本プロジェクトで試験を行うナノ材料の選定では、次の条件を設定した；生体内での検出・定量が容易であること、多様なサイズ・形状の材料が入手できること、等。それに基づいて、まずは二酸化チタン、続いて、酸化ニッケル、二酸化ケイ素の試験を行うこととした。これは、一般的なナノ材料を対象とした同等性判断基準の構築、気管内投与試験の活用・標準化を目的としたものである。

カーボンナノマテリアル、とりわけカーボンナノチューブは、多様なサイズ・形状のカーボンナノチューブの分散液の調製が難しいことや、体内組織中に分布しているカーボンナノチューブの定量的観察ができないこと、しかも、カーボンナノチューブの有害性には、一般の粒子状ナノ材料の問題に加えて繊維状であるという問題が加わることから、試験の実施や結果の解釈の難易度は格段に上がると考えられる。また、カーボンナノチューブの有害性については、別途、国費によるプロジェクトも含め、国内外で多くの研究報告がなされているところである。

一方で、ご指摘のようにカーボンナノチューブを研究対象とすることの重要性は理解しているので、本プロジェクトでは、一般のナノ材料を対象とした同等性判断基準の構築及び気管内投与試験の標準化を中心としつつも、カーボンナノチューブについては、文献調査に基づいて既往の動物試験結果の再整理を行うとともに、気管内投与試験の標準化の検討の一部を、カーボンナノチューブを用いて実施することにする。

## ● 中間評価検討会 提言及び提言に対する対処方針(4)

### 今後の研究開発の方向等に関する提言

6. 基礎データとしてのナノ材料の物理化学特性の収集や他の機関と連帯して基礎情報の収集や公開(データベース化)を進めていただきたい。ただ、ここではやみくもに対象材料を増やす方向ではなく、限られた予算での有効な情報を集約するために実験計画法等の効果的な方法を踏まえた情報の収集に努めて欲しい。

7. 研究の一層の進展のために、他の省庁、例えば厚生労働省のナノマテリアル安全性研究班との知見や手法等の情報の共有を図るために、合同発表会を開催することが必須である。

8. プロジェクトの成果について論文化を進め、開発した手法に関する成果は、ホームページ・パンフレット等で公表してほしい。

9. プロジェクト後半の研究では、工業用ナノ材料の同等性を考える上で、毒性発現機構の同等性の解明について検討を加えられると良いと考える。

### 提言に対する対処方針

(6) 本プロジェクトで使用するナノ材料の物理化学特性については、整理の上、試料調製およびキャラクターゼーションの方法や留意点を取りまとめた技術解説書に含めるなどして公開する予定である。また本プロジェクトで使用した材料に関しては論文レベルの報告例も含めて調査を実施することを検討する。

(7) 他省庁の研究者との情報共有の重要性は認識している。これまでも、通常の学会等でのコミュニケーションに加え、プロジェクト推進委員会をお願いして適宜助言を頂いただいているところである(国立食品医薬品衛生研究所、国立環境研究所)。今後、合同発表会という形には限らないが、他機関の研究者と議論できる機会を検討したいと考えている。

(8) 論文化については、今後、積極的に行っていく。また、国内外への情報発信のために日本語と英語のホームページを立ち上げた。将来的に成果がまとまってくれば、適宜文書化して、ホームページで公開する。

(9) ご示唆のとおり、毒性発現機構からの同等性の理解は重要であると認識しており、BALFパラメータも活用した検討は行っていくが、まずは、現象論としての同等性にフォーカスしたい。詳細な毒性発現の機序の検討は将来の課題と考えている。

## ● 中間評価検討会 提言及び提言に対する対処方針(5)

### 今後の研究開発の方向等に関する提言

10. 毒性学的同等性の概念は明快であるが、この結果をリスク評価にどのように利用するのか(10-1)。細くかつ先の議論ではあるが、不純物含量(何パーセント)の上限と同等性の関連をどうするのか(10-2)。また、それぞれのナノ材料のNOAELを考える際に同等性の結果をどのように反映するのか(10-3)。さらに混合物の評価はどうするのかに対する研究が必要(10-4)かも知れない。この面での考えを少し詰めて置いた方が良く考える。

11. 上記に関連して、将来、同等性を評価する試料を選定する際に、どの試料をナノ材料とするのが問題になると考える。例えば、100nm以下の1次粒子を1%(粒子数比)含むものもナノ材料とするのか。つまり裾切り値が重要になると考えるので、この面で今後の研究で回答が得られればと考える。

### 提言に対する対処方針

ご指摘の点はいずれも重要な観点であり、今後は、それぞれ具体的に内容を詰めていく必要があると認識している。現時点では、以下の通りに考えている。

(10-1と10-3)相互に同等と判断されれば、それらのナノ材料は一括りでリスク評価することになる。これによって、リスク評価の数を削減でき、時間とコストを節約することができる。その際、相互に同等と判断されるナノ材料には、それらを代表するナノ材料の有害性評価によって決定されたNOAELが適用されることになると考えられる。

(10-2と10-4)本プロジェクトでは、物理化学的特性によるナノ材料の同等性を検討することを目標に、できる限り純度の高い物質を用いるよう努めており、同時に、試験に使用した材料の不純物量を収集している。混合物や不純物の問題は、一般化学物質での議論と同様、重要性は認識しているが、単体のナノ材料に関する検討の先にある将来的な課題と考えている。

(11)ナノ材料の裾切り値については、我々も今後の大きな課題の一つになると考えている。本プロジェクトでは、材料によっては、ナノ粒子だけでなく、サブミクロン、ミクロン粒子の生体影響も検討しているので、それらのデータの反応性の差異を観察することにより、裾切り値の検討の一助になると考えている。しかし、試験を実施できる物質数に限りのあることや、理想的な粒子径分布を有する試料を入手・調製することは困難であるため、明確な回答を得ることは困難であると考えている。

## ● 中間評価検討会 提言及び提言に対する対処方針(6)

### 今後の研究開発の方向等に関する提言

12. 表面処理(親水性もしくは疎水性処理等)によって毒性が大きく異なると考えるので、同等性を考える場合に表面状態をどう評価するかの回答を得るための研究をさらに検討してはどうか。

13. 吸入毒性試験と気管内投与試験の有害性検出力はほぼ同等であることを証明するために予算の許す限り、多くの種類の工業用ナノ材料を用いて比較検証してほしい。また、欧州で検討されている短期吸入毒性試験(5日間)と気管内投与試験の結果を比較検討することは重要と考え、短期吸入毒性試験の詳細が入手できるのであれば、早急にその有害性検出力を比較検討すべきと考える。

### 提言に対する対処方針

(12) ナノ材料の有害性については、まずはサイズや形状を代表的要因として評価しつつ、表面処理による影響の重要性も認識している。これまでも、1材料ながら、表面処理により発現する毒性が大きく異なる結果が得られている。目的に合った表面処理済みのナノ材料の入手や適切な分散液調製に困難さもあるが、表面処理の影響については、さらに検討する予定である。

(13) 本プロジェクトでは、実施期間中に4つの工業用ナノ材料について、気管内投与試験と吸入ばく露試験の比較を行う予定であるが、これ以上ナノ材料を追加することは、予算的にも設備的にも困難と考えている。但し、先行研究であるNEDOプロジェクトでは、保持量を同レベルにそろえてはいないものの、フラーレン、多層カーボンナノチューブを気管内投与と吸入ばく露の両試験(Morimoto et al. Nanotoxicol. 2012, Morimoto et al. Particle Fibre Toxicol. 2010)を行った。

短期吸入毒性試験(5日間)に関する資料を入手し、エンドポイントを確認したところ、BALFの細胞パラメータ、酵素、サイトカイン・ケモカインなど、炎症中心の項目が多いことが分かった。本プロジェクトの気管内投与試験でも、エンドポイントは同様に炎症中心であり、共通する項目も複数あるので、有害性の検出力には遜色がないものと考えている。暴露方法による違いについては、別途28日間の吸入暴露試験と比較することによって検討しているところである。

## ● 中間評価検討会 提言及び提言に対する対処方針(7)

### 今後の研究開発の方向等に関する提言

14. 今回、提案された気管内投与試験の手技が、再現性があり、多くの研究機関で実施して同じ結果を得ることができるかどうかを確認するために複数の試験機関での再試を早急に実施して欲しい。また、その際にBALF分析項目の国際的な合意を図られることを期待する。

15. OECDとの関連において、BALFで肺炎症をきちんとモニターできるか、病理像・サイトカインアレイ解析も含めて確認する必要がある。

16. 今回は主に肺毒性を中心とした検討であるが、有害性の同等性を考える場合は、遺伝毒性、生殖毒性での同等性評価をどうするかを考えておく必要があると考える。

### 提言に対する対処方針

(14) 複数の機関で実施して再現性を確認することは、重要な課題であると考えているが、本プロジェクトの中で実施するのは時間や予算の面から極めて困難であり、将来的な課題と考えている。本プロジェクトの中では、手技をきちんと文書化することや国内外に発信することに努める。BALF分析項目は、OECDのテストガイドライン改正の討議が現在進められており、近いうちに合意が得られると考えている。

(15) 本プロジェクトでも実施しているBALF検査項目と病理組織学的検査は、OECDの吸入暴露試験のテストガイドライン改正案において必須項目と位置付けられているものであり、それによって肺の炎症反応は捉えられているものと考えている。過去に実施した28種のサイトカイン計測の結果を踏まえて、炎症のモニタリングに有用なサイトカインを計測しているが、試験にかかる費用や作業量の点から、サイトカインアレイ解析の予定はない。

(16) ご指摘の通り、暴露後の保持量が最も多く、有害影響の発現可能性も高いことから、肺を同等性判断基準の主たる検討対象としている。本プロジェクトで得られる知見は、将来、肺経由の暴露による遺伝毒性、生殖発生毒性の同等性の理解に対しても貢献するものと考えている。

## ●中間評価 評価WGのコメント及びコメントに対する対処方針

### コメント

(CNT 等の取扱い)

・今後用途の拡大が見込まれるCNT 等、物質の毒性や有害性だけでなく暴露量を含めたナノ材料全体のリスク評価のあり方について整理すべきである。

(特許出願の活用)

・評価検討会の評価(中間評価報告書概要 ix ページ)においては、本プロジェクトは「国際標準化に向けて進めていくべきであり、特許の取得はあまり大きな意味をなさない」との指摘がなされている。しかし、本WGとしては、国際標準の策定にあたっては、論文化での公表の他、特許出願の情報開示制度を活用して標準化の議論をリードしていく例も海外では見られることから、本プロジェクトにおいても、権利化を目的とする特許出願ではなく、特許出願の情報開示制度を標準化の議論をリードするために活用する可能性を含めて、検討を行うべきと考える。

### コメントに対する対処方針

(CNT 等の取扱い)

今回のプロジェクトでは、多種多様なナノ材料の有害性を合理的かつ効率的に評価することを目的とし、一定の材料について有害性に関するグループ化ができるかどうかの研究(同等性評価)を実施しています。現在研究対象としている材料は、既存のナノ材料であって、様々なサイズ、形状のものが上市されて一般に入手可能なものであり、具体的には酸化チタン、酸化ニッケル、シリカ等を対象としています。他方、カーボンナノチューブ(CNT)については、サイズや形状が余りに多様であるとともに均質な市販材料の入手が困難であり、その同等性評価は現状では困難であることから次の課題の一つと認識しています。

また、CNT の有害性の評価方法については、上記の同等性評価以外のものとして、(独)産業技術総合研究所が許容暴露濃度の暫定値を提唱し、自主管理のための細胞を使った試験方法のガイダンスを産総研のホームページから公表しております。

なお、CNT 等のナノ材料を含む新規の化学物質のリスク評価については、社会に普及する前にその用途毎に有害性と暴露量に応じたリスク評価がなされることが重要です。このため、政府による化学物質安全規制を補完するものとして、事業者が自主的に消費者に対するリスクを推定し市場に商品を提供していくことが期待されます。

(特許出願の活用)

標準化の議論をリードするに際し、特許出願の情報開示制度を活用することはとても参考なるため、今後、活用ができる場面があれば活用していきたいと考えています。