

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事業
研究開発プロジェクト 終了時評価検討会
資料6

「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」
研究開発プロジェクト

評価用資料

平成 28年 9月 28日

経済産業省製造産業局化学物質管理課

研究開発実施機関：学校法人慶應義塾 慶應義塾大学、

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

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概要

プロジェクト名	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			
行政事業レビューシートとの関係	事業番号：平成 28 年度行政事業レビューシート 0039			
上位施策名	主要政策・施策： 科学技術・イノベーションイノベーション 関係する計画、通知等： 第四期科学技術基本計画（平成 23 年 8 月 19 日閣議決定）			
事業担当課	製造産業局化学物質管理課			
<p><u>プロジェクトの目的・概要</u></p> <p>ナノ材料は、サイズが小さいゆえに、その有害性が懸念されているが、有害性に影響する物理化学特性が、大きさ、形、表面処理、等々のどれなのかが明らかになっていない。また、ナノ材料は同じ化学組成であっても、物理化学特性の違いにより多数の種類があり、個々の材料に高額な吸入暴露試験（ナノ材料のエアロゾルを動物に吸入させて影響を観察する）を行うことはコスト的に困難である。また、国内には吸入暴露試験が実施可能な試験機関は極めて限られている。そのため、本事業では、</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 効率的な有害性評価技術を構築して公開すること ・ それを支援するための基盤技術を開発して技術解説書等として公開すること <p>を目標とした。これらの目標達成のため、3つの研究開発項目を掲げて研究開発を実施した。すなわち、効率的な有害性評価技術として</p> <ol style="list-style-type: none"> ①同等性判断基準の構築（有害性が変わらないと考えてよい物理化学特性の変化の範囲を規定するもの。有害性評価済みのナノ材料と同等と見なせるかを判断する） ②気管内投与試験方法の構築（ナノ材料のエアロゾルを動物に吸入させる代わりに、分散液を気管に投与する試験方法。スクリーニング評価としての位置付け） <p>を行うとともに、それらの開発を支援するため、</p> <ol style="list-style-type: none"> ③有害性試験・評価のための基盤技術の開発 <p>を行った。さらに、開発した手法が認知され、広く活用されるようにするため、OECD を中心とした成果発信活動を積極的に行った。</p>				
予算額等（委託） （単位：千円）				
開始年度	終了年度	中間評価時期	事後評価時期	事業実施主体
平成 23 年度	平成 27 年度	平成 25 年度	平成 28 年度	慶應義塾大学、 産業技術総合研究所、日本バイオアッセイ研究センター、産業

				医科大学、化学 物質評価研究機 構、広島大学、 東京大学、信州 大学
H25FY 執行額	H26FY 執行額	H27FY 執行額	総執行額	総予算額
325 百万円	299 百万円	295 百万円	1,544 百万円	1,564 百万円

I. 研究開発課題（プロジェクト）概要

1. 事業アウトカム【複数設定可】

事業アウトカム指標

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。

計画：目標を達成すべき試験法等の数、実績：目標を達成した試験法等の数

指標目標値

事業開始時（23年度）	計画：0	実績：0
中間評価時（25年度）	計画：0	実績：0
事業終了時（27年度）	計画：2	実績：2
事業目的達成時（32年度予定）	計画：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。

2. 研究開発内容及び事業アウトプット

（1）研究開発内容

ナノ材料は、サイズが小さいゆえに、その有害性が懸念されているが、有害性に影響する物理化学特性が、大きさ、形、表面処理、等々のどれなのかが明らかになっていない。また、ナノ材料は同じ化学組成であっても、物理化学特性の違いにより多数の種類があり、個々の材料に高額な吸入暴露試験（ナノ材料のエアロゾルを動物に吸入させる）を行うことはコスト的に困難である。また、国内には吸入暴露試験が実施可能な試験機関は極めて限られている。そのため、本事業では、

- ・ 効率的な有害性評価技術を構築して公開すること
 - ・ それを支援するための基盤技術を開発して技術解説書等として公開すること
- を目標とした。

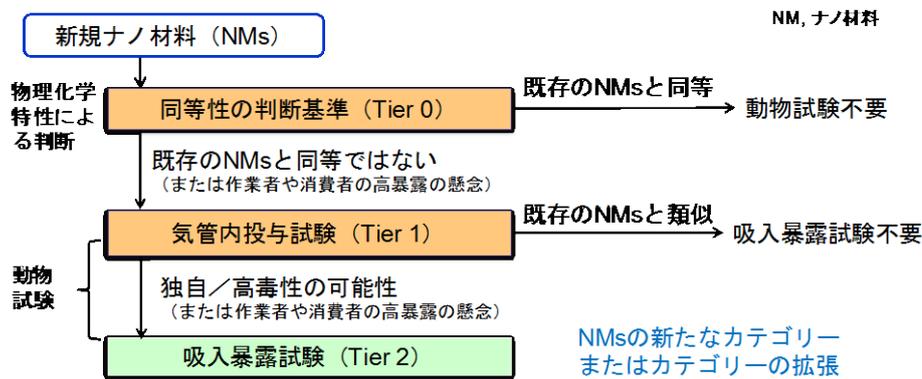
なお、研究開発では、吸入経路の暴露（現在最も懸念される暴露経路）を対象とし、最近の OECD におけるテストガイドラインでの議論に準じて、肺での炎症反応の観察と肺を中心とした体内動態（肺中残留量の経時変化等）の観察に重点を置いて評価した。

効率的な有害性評価技術の開発に際しては、有害性評価に段階的アプローチ（tiered approach）を導入した。すなわち、ゴールドスタンダードである吸入暴露試験（Tier 2）の前に二つの段階を

設定し (Tier 0: 同等性判断基準、Tier 1: 気管内投与試験)、それぞれに対応する評価技術の開発に取り組んだ。

Tier 0: 同等性判断基準: 有害性が変わらないと考えてよい物理化学特性の変化の範囲を規定するものである。対象ナノ材料の物理化学特性に基づいて、既に有害性評価済みのナノ材料と同等とみなされるかどうかを判断する。

Tier 1: 気管内投与試験: ナノ材料のエアロゾルを動物に吸入させる代わりに、分散液を気管に投与する試験方法である。Tier 0 の同等性の判断において既存のナノ材料と同等とは見なされない場合でも、まずスクリーニングとしてこの試験を実施して、吸入暴露試験が必要なナノ材料を絞り込む。



これら二つの効率的な有害性評価技術の開発のためには、試料調製、動物試験、評価解析に至る一連のプロセスでの幅広い要素技術の構築、標準化が必要である。そのため、3つの研究開発項目 (個別要素技術開発としては11) を設定した。すなわち、効率的な有害性評価技術の開発として、①同等性判断基準 (当該評価技術、及び関連する基盤技術) と②気管内投与試験方法 (当該評価技術、及び関連する基盤技術) の構築を行うこととし、また、それらの開発を支援するため、③有害性試験・評価のための基盤技術の開発を行った。

下図に、ナノ材料の有害性評価における「同等性判断基準」「気管内投与試験」の技術的位置付けを示した。本来であれば、毒性学的に信頼性が高い吸入暴露試験を使いたいが高コストの上、施設が日本に極めて少ない。そのような状況で多様なナノ材料に対応するためには、in silico 手法 (組成や物理化学特性から判断・推定する) の活用による効率化が不可欠である。しかし現在のところ、有害性推定が可能な定量的構造活性相関 (QSAR) の構築は困難である。そこで、経験論的に類似ナノ材料を一括りで評価する「同等性」の考え方を提案した。最近、OECD 等において、関連する概念である「カテゴリー化」「Read-Across」の議論が活発化しているが、本事業では、その構築に向けて先駆けとなる取り組みを行った。一方、in vitro 試験は機序の検討や社内的な材料比較ができるが、行政判断に必要な病理学的ふるい分けのためには、動物を用いたスクリーニング試験の活用が必要となる。動物を用いたスクリーニング試験として、「気管内投与試験」は、欧州で推進される「5日間短期吸入試験」に比べて費用、設備の点で優れている。



下図に、本研究開発にかかる 11 の個別要素技術開発、及び成果発信活動の連携関係を示した。「①(a)」等の記号は、研究開発項目の番号①②③と個別要素技術開発としての枝番号(a) (b) (c) 等との組み合わせからなっている)

	① 同等性判断基準の構築	② 気管内投与試験の構築									
		吸入暴露試験との比較検討	試験方法の標準化								
試料調製	①(b) 同等性評価のための試料調製技術とキャラクタリゼーション (AIST)	②(c) エアロゾルの安定発生手法の構築 (広島大)									
		②(d) エアロゾル液相捕集手法の構築 (AIST)									
動物試験	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 (CERI)	②(a) 吸入暴露試験と気管内投与試験の比較検討 (産医大)	②(b-1) 手技の標準化に関する検討 (CERI)								
			②(b-2) 単回投与と複数回投与の比較検討 (JBRC)								
③ 基盤技術	<table border="0" style="width:100%; text-align:center;"> <tr> <td colspan="2">体内動態の観察</td> <td colspan="2">動態モデルの構築</td> </tr> <tr> <td>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 (AIST)</td> <td>③(a-2) PEAPODの体内動態計測技術の開発 (信州大)</td> <td>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 (AIST)</td> <td>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 (東京大)</td> </tr> </table>			体内動態の観察		動態モデルの構築		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 (AIST)	③(a-2) PEAPODの体内動態計測技術の開発 (信州大)	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 (AIST)	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 (東京大)
体内動態の観察		動態モデルの構築									
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 (AIST)	③(a-2) PEAPODの体内動態計測技術の開発 (信州大)	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 (AIST)	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 (東京大)								
成果発信	国際動向の把握 (慶応大、AIST)										

AIST: 産業技術総合研究所、CERI: 化学物質評価研究機構、JBRC: 日本バイオアッセイ研究センター

本事業で試験に供したナノ材料は、研究開発の目的に照らして、市販のもの（入手可能性、現実の反映、社会的な関心）、不活性なものと有害性のあるもの、既往研究の知見が利用できそうなもの、検出が容易なもの（金属、金属酸化物が有利、炭素系は難しい）、多様なサイズや形状のものが入手可能なもの（同等性判断基準構築のため）という判断基準のもと、二酸化チタン、酸化ニッケル等、同等性判断基準の構築のために合計 20 材料、吸入暴露試験と気管内投与試験の比較のために合計 4 材料、気管内投与試験の標準化にかかる検討のために合計 3 材料を用いた。また、ナノ

材料とその分散液のキャラクタリゼーション（物理化学特性を計測すること）については、OECD WPMN（ナノ材料作業部会）、ISO/TC229（ナノテクノロジー）での項目に基づいて、1次粒子径、2次粒子径、ゼータ電位等の項目を測定した。

以下に、実施した研究開発内容と成果の概要を記す。

I. 気管内投与試験実施の前提となる要素技術開発の成果

イ) 試料調製・キャラクリゼーション

サイズ、形状、結晶性、表面修飾等が異なる、メーカーから入手可能な二酸化チタン、二酸化ケイ素、酸化ニッケル、二酸化セリウム、酸化亜鉛の計 23 種の試料について、有害性試験のための最適な試料調製技術、液中分散技術の開発を行うと共に、有害性評価の有効な情報となるキャラクタリゼーションを行った。試料調製技術に関しては、各ナノ材料の試料調製の基本となる標準的な調製法を確立し、その上に個別材料に合わせた調製方法を追加した。キャラクタリゼーションに関しては、二酸化シリコンの結晶性評価において、論文報告されている先端的な手法を応用するなどの技術開発を行った。また、これらの技術を用いて調製した試料は、動物試験を実施する機関（産医大、GERI、JBRC）へ安定的に供給された。さらに、これらの試料調製及びキャラクタリゼーション技術に関して、ナノ材料の気管内投与試験を実施したい事業者等が標準的な試料調製手順として活用できるように、手法や留意点を技術解説書としてとりまとめて公開した。（個別要素①(b) : AIST)

ロ) 気管内投与試験の標準化にかかる成果

気管内投与試験については、手法が標準化されておらず、各施設で得られる試験成績を比較することが困難であるとの課題が存在していることから、ナノ粒子への適用を想定した気管内投与試験の標準的手法の検討を行った。ナノ材料の初期有害性評価のための標準的な気管内投与試験手法を構築するため、気管内投与試験の操作手技の中で、試験成績に影響を与える可能性が高いと考えられた投与器具、投与液量、解剖時麻酔薬等について、その手技の違いが試験成績に影響を及ぼす影響を検討した。例えば、経口ゾンデとスプレーゾンデという 2 種類の投与器具では肺炎症及び沈着量に違いは見られなかった。また、投与液量については 0.5~2.0 mL/kg の範囲であれば試験結果は同等であることが確認された。（個別要素②(b-1) : GERI)

また、気管内投与試験においては、投与回数（単回、複数回）が結果に与える影響に違いがあるかどうかについても検討が必要である。そこで、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を検討した。投与総量が同じ場合、反応の程度は材料によって差がみられたものの、反応の質的变化においては同様であり、いずれの投与回数においても毒性影響をとらえることは可能であると考えられる。複数回投与による動物への負荷や実験デザインの煩雑さを考慮すると、スクリーニング試験としての気管内投与回数は、単回投与で評価が十分可能である。なお、被験材料の分散性等を考慮し、低濃度の分散液しか調製できない場合は、複数回投与を取り入れることで評価が十分可能である。（個別要素②(b-2) : JBRC)

得られた成果をまとめ、推奨する試験手技を、「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）」として公開した。また、気管内投与試験の信頼性を担保するため、気管内投与技術者の技能レベルを確認する方法を上記の手順書内に記載した。このような試験方法の標準的

手順が示されることにより、ナノ材料の肺毒性のスクリーニング試験として、気管内投与試験の普及と活用が促進される。

なお、動物試験に用いるラットの系統の違いによって二酸化チタンの生体反応に差異があるかの検討を、3系統のラットを用いて実施し、本プロジェクトで使用するものとした F344 ラットが、他系統と比較して、試験結果を評価する上で問題がないことが確認された。また、本プロジェクトの動物実験実施機関（産業医科大学、化学物質評価研究機構、日本バイオアッセイ研究センター）が実施した病理検査での判断が妥当であるかを確認するため、病理組織診断検討会（病理ピアレビュー）を実施した。病理組織所見の用語には各機関の間で差違がみられたが、判断はいずれも適切であることが確認された。

11. 気管内投与試験実施による成果

イ) 同等性判断基準構築のための気管内投与試験によるナノ材料の相互比較

粒子径、形状、表面処理等の物理化学的特性の異なる二酸化チタン7材料、酸化ニッケル4材料及び二酸化ケイ素9材料について、ラットを用いた単回気管内投与試験を実施した。投与3日後、28日後、13週間後に肺炎症を評価するためにBAL（気管支肺胞洗浄液）検査及び病理組織学検査を行い、各材料の物理化学的特性と肺毒性の関連を調べた。急性期の肺炎症の強さは粒子径が小さいほど強く発現する傾向がみられ、表面処理により処理無しの材料と比較し、肺炎症の強度及び持続性が異なることが明らかとなった。また、逆に、例えば二酸化チタンでの結晶型のように、肺炎症の強さと関連性が見られない物理化学特性も明らかとなった。このような肺炎症の強さと関連性が見られない物理化学特性のみが異なる材料であれば、それらは同等の有害性を有するものと考えられる（＝同等性判断基準の例）。得られた成果は、材料毎に「ナノ材料の同等性判断基準」としてまとめて公開した。（個別要素①(a)：CERI）

ロ) 吸入暴露試験と気管内投与試験の比較検討

4種類の金属ナノ粒子（二酸化チタン、酸化ニッケル、二酸化セリウム、酸化亜鉛）を用いて、気管内投与試験と吸入ばく露試験を行い、両試験における肺炎症を比較した。吸入ばく露試験において肺毒性の高いナノ粒子は好中球炎症を示したが、肺毒性の低いナノ粒子は示さなかった。一方、気管内投与試験では、肺毒性の高いナノ粒子は、持続性の炎症を認め、肺毒性の低いナノ粒子は、一過性の炎症のみであった。両試験における肺反応の質的差異はあれ、吸入ばく露試験で示した肺毒性によるナノ粒子の区別を気管内投与試験でも示すことが可能であった。また、肺内保持量が同等の場合は、気管内投与試験の肺内反応が、吸入ばく露試験の反応と比較して急性期において高いか同等であった。時間の経過とともに両者の差異は減少した。これらのことから、気管内投与試験は、吸入暴露試験のスクリーニング方法として用いることが可能であると考えられた。これらの成果に基づいて「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」を作成して公開した。気管内投与試験と吸入暴露試験の条件や有害性の評価方法を示したものであり、今後、両試験を行う検査・研究機関の一助となる。（個別要素②(a)：産医大）

ハ) ナノ材料の吸入暴露試験の実施に必要なエアロゾルの安定発生技術の構築

本研究開発における吸入暴露試験の実施に際しては、ナノ材料の吸入暴露試験の実施に必要なエ

エアロゾルの安定発生技術の構築を目指し、噴霧乾燥法にもとづいたエアロゾル調製手法の開発を行った。本手法によるエアロゾル粒子の濃度やサイズ、形状等の制御性を向上させるために、迅速蒸発法と液滴破砕法を開発した。開発したエアロゾル発生手法を、様々なナノ粒子の吸入暴露試験に適用し、エアロゾル粒子を長期間・高濃度かつ安定的に供給することに成功した。さらに複数のナノ粒子の吸入暴露試験の結果を整理することによって、エアロゾルの湿式発生に用いる粒子懸濁液中のナノ粒子の性状と発生したエアロゾルの性状との相関を明らかにした。上記の成果に基づき、吸入暴露試験の実施を検討する機関での活用を想定し、ナノ粒子全般に適用可能なエアロゾル発生装置の概要と操作方法を実施例とともに説明した「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」を作成して公開した。(個別要素②(c) : 広島大)

これと合わせて、ナノ粉体材料を気中に乾式分散することで発生したエアロゾル粒子群を液中捕集することによる気管内投与試験用懸濁液の作成技術(エアロゾル液相捕集法)を開発した。液相捕集では、過飽和水蒸気を利用し、エアロゾル化したナノ材料粉体を凝縮核とする粒径数マイクロメートルの液滴に凝縮成長させ大きな慣性(質量)を持たせた上で、液中に慣性捕集する。本手法は、ナノ材料懸濁液を作成する従来手法のように、物理的・化学的処理によりナノ材料を強制的に液中分散する手順を経ないため、これまで困難であった強疎水性粉体を分散剤なしで懸濁液とすることが可能であるとともに、吸入暴露試験をより良く模擬すると考えられる気管内投与試験用懸濁液が作製可能である。新たな技術であることから特許を出願するとともに(特願: 2015-199618)、本方法を用いて気管内投与試験用試料を作製するための標準的手順書を作成して公開した。本方法は、ナノ材料の有害性試験用懸濁液作成のみならず、医薬品製造プロセス等においても将来的な活用が期待される。(個別要素②(d) : AIST)

III. ナノ材料の体内動態の観察と数理モデル化に関する成果

イ) ナノ材料の体内分布および生体内反応分布の定量化技術の開発

ナノ材料の気管内投与試験及び吸入暴露試験を行なったラット肺に関して、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試料作製手法を確立した。これによりナノ材料の体内分布に関しては、光学顕微鏡による形態観察と蛍光X線顕微鏡によるナノ材料元素マッピングによる広視野の定量解析が可能となった。また透過型電子顕微鏡によるサブナノメートルの分解能で細胞組織内でのナノ材料の局在観察や電子分光手法による定量的元素マッピングが可能となった。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。炎症性マクロファージ(M1)の表面レセプターであるToll様受容体4(TLR4)に関して、蛍光標識によるサブミリメートルの分解能でのレーザー共焦点顕微鏡観察と、金ナノ粒子標識によるナノメートルの分解能での透過型電子顕微鏡観察によりTLR4産生の定量的解析が可能となった。今後、ナノ材料の有害性評価において体内分布及び生体内反応分布を比較検討する際に広く活用されるよう、開発した手法の技術解説書を作成して公開した。(個別要素③(a-1) : AIST)

ロ) 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

吸入暴露試験や気管内投与試験で得られた肺などの臓器中ナノ材料を分析して数理モデルで記

述することにより、肺クリアランス等に影響する物理化学特性に関する知見を得た（二酸化チタン：表面コート、酸化ニッケル：溶解性、二酸化ケイ素：結晶型）。静脈注射試験においては、投与したナノ材料はいずれも、速やかに血液中から消失し主に肝臓と脾臓に分配され、その後、溶解性の高い材料（酸化ニッケル）を除いて、顕著な消失は見られなかった。また、ナノ材料の肺内分析を定量化するため XRF（蛍光 X 線）分析による手法を開発し、免疫染色により定量化された生体反応の肺内分布との関係性を評価した。これらの知見を踏まえ、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。これは、ナノ材料の体内動態を評価・解析したい行政・企業・研究者が参照することを想定し、評価の流れ・留意点・基礎情報、プロジェクトでの実施例・既往研究をとりまとめたものである。（個別要素③(b)：AIST）

ハ) 数理モデル精緻化を支える基盤技術の開発

肺胞に沈着したナノ材料の体内移行性を細胞試験系で評価するための手法開発を目的として、ヒト細胞株およびラット初代培養細胞の膜上培養を用いる肺胞上皮・マイクロファージ共培養系を確立した。共培養系ではマクロファージの貪食能のため、ナノ粒子の上皮障害性と血液側への透過性の両者が上皮単独培養系の場合と比較して低減されることを *in vitro*（細胞試験系）で示すことに成功した。また、簡単な数理モデルにて、培養系での粒子の血液側移行性を概ね記述することに成功した。さらに、このモデルを拡張利用することでヒトの経肺吸収率を予測する手法を提案した。これらは、今後さらに詳細な検討が必要であるが、前例のない初めての試みである。開発した手法については、「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」として取りまとめて公開した。とくに特に使いやすいヒト株細胞系の標準手順は、事業者による評価にも広く役立つと期待される。（個別要素③(a-2)：東京大）

また、既存の計測技術では非破壊分析が困難な炭素材料である繊維状のカーボンナノチューブ（以下、CNT）の体内動態計測技術として、CNT の形状を活かし中空に造影物質（金属塩類）を封入した PEAPOD の開発も進めた。Peapod 技術により、二層カーボンナノチューブの中空に重金属（塩化ガドリニウム・塩化白金）を充填させることに成功した（Peapod-CNT）。作製した Peapod に対し、MRI 装置・X線画像装置（CT・三次元 X 線顕微鏡）によって検出可能なことを確認した。各装置において、Peapod-CNT が最も描出される条件及び撮影効率の向上における検討を重ね、各装置での至適条件の調整を行い、その条件下に試験動物に投与した Peapod-CNT の検出に成功した。これらの成果のうち「炭素粒子の空間分布同定方法」については特許を出願した（特開：2015-99123）。また、研究成果をとりまとめ、「Peapod を応用した体内動態評価方法に関する技術解説書」として公開した。これにより、特殊な設備がない研究施設でも、一般的な画像診断装置（CT, MRI 等）を使用して、CNT の体内動態評価が可能になる。（個別要素③(c)：信州大）

I V. 研究成果の OECD 等への展開

上記の研究成果は、OECD WPMN（ナノ材料作業部会）を中心に、積極的に発信した。（慶應大&AIST）（具体的な内容は、4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップの 2）事業実施期間の主要な活動と実績の項を参照）

成果発信の中心となる二つの評価手法について、下図にまとめた。

研究開発項目①「同等性判断基準」の構築のまとめ

「ナノ材料の同等性判断基準 二酸化チタン (TiO₂)、酸化ニッケル (NiO)、二酸化ケイ素 (SiO₂)」

二酸化チタン (TiO ₂) ナノ材料		形状、結晶型の肺毒性への影響は少ない
表面処理なし	既存のTiO ₂ ナノ材料と同等と判断できる ・肺毒性の程度は粒子径に依存	
表面処理あり	既存のTiO ₂ ナノ材料と同等とは判断できない →全ての材料で有害性評価が必要	
酸化ニッケル (NiO) ナノ材料		形状、表面処理の有害性への寄与については未検討のため不明
リソソーム液中溶解性※が低い	既存のNiONano材料と同等と判断できる ・肺毒性の程度は粒子径に依存	
リソソーム液中溶解性※が高い	既存のNiONano材料と同等とは判断できない ・肺への影響が回復する可能性有り	
※ 肺に沈着したナノ材料がマクロファージに取り込まれた後の溶解性。模擬リソソーム液にて試験。		
非晶質二酸化ケイ素 (SiO ₂) ナノ材料		形状の有害性への寄与については未検討のため不明
表面処理なし	既存の非晶質SiO ₂ ナノ材料と同等と判断できる ・肺毒性の程度は粒子径に依存	
表面処理あり	既存の非晶質SiO ₂ ナノ材料と同等とは判断できない →全ての材料で有害性評価が必要	結晶質SiO ₂ の同等性判断基準は不明

研究開発項目②「気管内投与試験方法」の構築のまとめ

「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）」

- ・再現性の高い手法で気管内投与試験を実施するための留意点、推奨される標準的な試験実施手順をまとめた。
用量、投与器具、投与液量、投与回数、解剖時麻酔など
- ・投与技術者の技能確認方法も含めた。

「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」

- ・吸入暴露試験（4週間吸入）との比較において、炎症のランク付けは一致する傾向にあった。
- ・吸入暴露試験の結果に近づけるための留意点を整理した。
試験方法：投与量を揃えること、投与液中のナノ材料の分散性を確保すること、観察期間（3～6ヶ月）をおくことなど
結果の解釈：気管内投与試験では慢性期の肺炎の消失/持続が重要

V. 関連する論文、学会発表等、特許出願

論文 50（うち査読付 41 報、投稿中・準備中 13 報を含む）、学会発表等 121、特許出願 2

（2）事業アウトプット【複数設定可】

事業アウトプット指標		
ナノ材料の効率的な有害性評価にかかる技術解説書・手順書等の公開数		
指標目標値（計画及び実績）		
事業開始時（23年度）	計画：0	実績：0
中間評価時（25年度）	計画：0	実績：0
事業終了時（27年度）	計画：10	実績：10

【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://metinano.jp.aist-riss.jp>) よりダウンロード可能

3. 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、それらを取り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。

4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ

1) 事業アウトカム達成に向けた方針

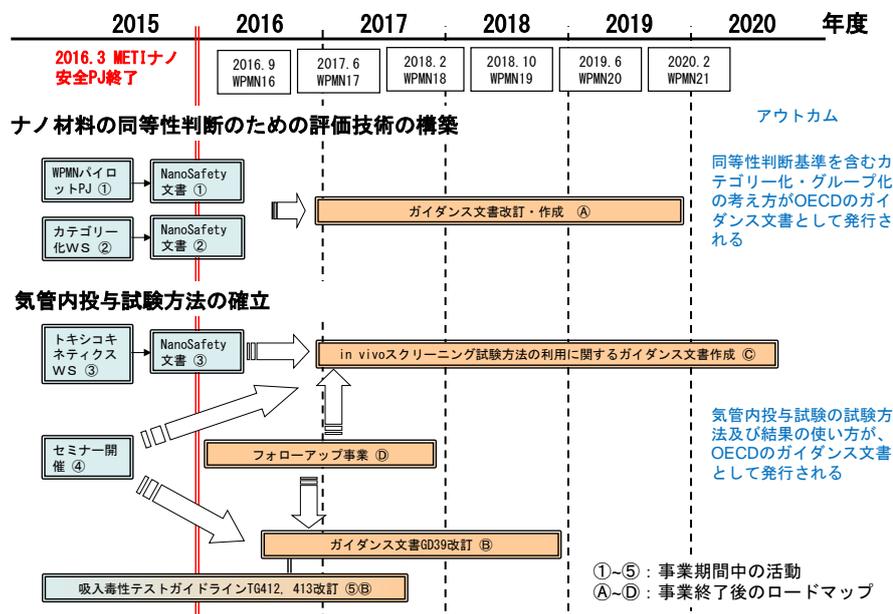
OECD テストガイドライン、GLP 原則等にみられるように、世界の化学物質管理政策を先導してきたのは、経済協力開発機構 (OECD) の環境・健康・安全 (EHS) プログラムであり、この活動が化学物質管理に係る国際標準化の舞台となってきた。工業ナノ材料の安全性への取り組みについても

化学物質管理と同様であることから、本研究開発プロジェクトでは、OECD WPMN（工業ナノ材料作業部会）を成果の国際発信先として位置付けた。

それを受けて、事業アウトカム指標として、確立すべき2つの効率的な有害性評価技術、すなわち、ナノ材料の同等性判断基準及び気管内投与試験方法について、OECD等の国際機関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（事業目標達成時）の二つを設定した。

上記のため、プロジェクト実施期間中のできるだけ早期から、OECD WPMNを中心に積極的な意見表明や成果発信を行うこととした。その他、研究成果を広く普及し社会に活用してもらうための活動も合わせて実施することとした。

事業アウトカム達成に向けて、OECD WPMNへの成果発信に関する線表（事業実施期間の主要な活動と事業終了後のロードマップ）を以下に示す。具体的な内容は次項以降に記述した。



2) 事業実施期間の主要な活動と実績

a) ナノ材料有害性の同等性判断基準の構築に関連して

本事業が開始された当初、OECD WPMNでは、代表的な13のナノ材料に関する物理化学特性データと有害性データを各国分担により取得するという「スポンサーシッププログラム」が終了しつつある時期であり、結果の取りまとめ方の議論が中心であり、ナノ材料のカテゴリー化・グループ化・同等性に関する議論は起こっていなかった。本研究事業では、下記のような活動を通じて、WPMNでの議論を喚起しつつ、情報の発信を行ってきた。

- ・OECD WPMNの運営グループの一つであるSGAP（リスク評価規制制度プロジェクト運営グループ）の第3パイロットプロジェクト「規制制度でのナノ材料のヒト・生態系有害性評価のための物理化学的特性に基づいたグルーピング・同等性・類推の概念の使用・開発に関する調査」を提案し（2013年2月）、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た。報告書は、2016年1月、化学品合同会合で了承され、ENV/JM/MONO(2016)3、OECD工業ナノ材料安全性シリーズ(NanoSafety文書)第64号として公開された。- 線表①

- ・ 2014 年 9 月米国ワシントン DC 開催のカテゴリー化ワークショップにて、「Development of Equivalence Criteria for Nanomaterials by Intratracheal Administration Study」と題して 7 種のナノ酸化チタンの試験結果に基づく同等性判断基準の試案を紹介した。当該報告の内容を含め、同ワークショップの開催報告書が 2016 年 2 月 17 日付け ENV/JM/MONO (2016)9、OECD 工業ナノ材料安全性シリーズ (NanoSafety 文書) 第 66 号として公開された。－ 線表②
- ・ その他、ISO/TC229 において、米国 NIOSH 主導で作業した技術報告書 ISO/TR 18637 「ナノ物体及びその凝集体の作業暴露限界及び作業暴露バンドを策定する利用可能な方法及び手法の概観」の「ナノ材料のカテゴリー作業暴露限界」の項に「同等性判断基準」に関する記述を盛り込んだ。同技術報告書は、2016 年内に発行される見込みである。

b) 気管内投与方法の確立に関連して

本事業が開始された当初、OECD WPMN においては、気管内投与方法は行政的に利用する方法としてほとんど認知されていなかった。本研究事業は、下記のような活動を積極的に行い、WPMN に関係する専門家の中で、吸入毒性の動物を用いたスクリーニング試験方法の一つとしての認識を勝ち取った。

- ・ 2014 年 2 月韓国ソウル開催のトキシコキネティクス（体内動態）ワークショップにて「Intratracheal Administration Study for Initial Characterization of Toxicokinetics of Nanomaterials」と題して報告した。本会合の報告書では、発表概要のみならず、「まとめ」において、体内動態の評価における気管内投与方法の有用性が言及された。－ 線表③
- ・ OECD WPMN の運営グループの一つである SGTA（試験評価プロジェクト運営グループ）のイベントとして、2015 年 9 月に「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、BASF との連携のもと、米国 EPA のサポートを受けつつ開催した。気管内投与方法に関するプロジェクト成果から 3 題と、BASF 社が中心となり進めている 5 日間短期吸入暴露試験に関する 3 題が発表された。ここでの総括議論を踏まえ、後に開催された第 15 回 WPMN 会合（2015 年 11 月）にて当該テーマに関するガイダンス文書の作成が、WPMN の新規プロジェクトの候補となった。－ 線表④

c) その他

また、研究成果を広く普及し、社会に活用してもらうため下記のような活動を実施した。

- ・ プロジェクトで得られた知見（BAL（気管支肺胞洗浄液）の評価方法、体内動態の評価方法等）を踏まえて、OECD でのナノ材料の吸入毒性評価に関するテストガイドライン（TG412 と TG413）の改訂に貢献した。当該分野での我が国のプレゼンスを向上させることができた。－ 線表⑤
- ・ OECD WPMN のスポンサーシッププログラムでドイツ・フランスが取りまとめ幹事国を務めているナノ酸化チタンのドシエについて、本プロジェクトの体内動態試験の結果を反映させた。
- ・ 2016 年 1 月に開催された Nanotech2016 にて「ナノ材料の効率的な有害性評価技術（経済産業省 ナノ安全プロジェクト研究成果報告）」を開催し、気管内投与方法に関する内容を軸に、プロジェクトで取り組んできた研究の成果を織り交ぜて紹介した。
- ・ 論文成果となりづらい試料調製や標準的試験方法などに関する発信手段として、BASF 社の研究者と連携し、日本衛生学会の英文誌のスピンオフ企画である e-book（出版社：Springer 社）の

企画を進めている。タイトルを「In vivo inhalation toxicity screening methods for manufactured nanomaterials (仮)」とし、本プロジェクトの気管内投与試験を中心とした成果に関する章、BASF 社が進めている5日吸入暴露試験に関する章から構成される予定である。

- ・プロジェクトのウェブサイト（日本語・英語）を作成公開した（日本語：<https://metinanojp.aist-riss.jp>、英語：<https://metinanoen.aist-riss.jp>）。そこでは、個別課題の成果物である技術解説書や手順書（日本語版のみ作成）を公開している。

3) 事業アウトカム達成に向けた事業終了後のロードマップ

a) ナノ材料有害性の同等性判断基準の構築に関連して

- ・ナノ材料のカテゴリー化・グループ化は、現在では、OECD WPMNにおいて最も関心の高いトピックの1つであり、これまでもワークショップが開催されるなどしてきている。ここでは、カテゴリー化・グループ化の必要性とそのためガイダンス整備の必要性が謳われている。今後の議論の動向を注視しつつ、積極的に意見表明や成果（試験データや考え方）の発信を行い、作成されるガイダンス等の文書においてプロジェクト成果を反映させる。スケジュールは具体化していないが、現時点では3年程度を要するものと想定している。－線表④
- ・それまでの期間、適宜、開催される専門家会合等に参加し、意見表明や事業成果の発信を行う。

b) 気管内投与方法の確立に関連して

- ・OECDにおいて現在進行している吸入毒性試験に関するテストガイドライン（TG412、TG413）の改訂に関連して、ガイダンス文書GD39において気管内投与方法に関する記述が追加される可能性が議論されている。テストガイドラインTG412、TG413の改訂に引き続き貢献するとともに、GD39の改訂の動きを注視しつつ、適宜働きかけを行い、当該ガイダンスの中に気管内投与試験方法の記述を盛り込む。現時点では2年程度を要するものと想定している。－線表⑤
- ・また、既に記したように、気管内投与試験方法を含むin vivo試験による吸入毒性のスクリーニング手法の利用に関するOECDガイダンスが作成される可能性が出てきている。これまで構築してきた連携関係を活用することにより、BASFを初めとする欧米の機関と共同で、当該ガイダンスを作成する。スケジュールは具体化していないが、現時点では3年～5年を要するものと想定している。－線表⑥
- ・それまでの期間、適宜、開催される専門家会合等への参加、BASF社の専門家とコミュニケーションを行うなどして、意見表明や事業成果の発信を行う。
- ・気管内投与試験方法に関する発信をさらに強力に進めるため、平成28-29年度にフォローアップ事業を実施する。平成28年度は、国内の主要な動物試験機関5機関による気管内投与試験方法の試験所間比較試験を実施して追加データの取得を行っている。これは、本事業の成果である「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）」をはじめとする技術解説書・手順書を踏まえて実施するものであり、金属酸化物（1種）とカーボンナノチューブ（2種）について、気管内投与後の肺内分布（3種の材料）と炎症反応（1種の材料）の試験所間の違いを確認するものである。－線表⑦

c) その他

・2017年度中には、既に記した e-book (出版社: Springer 社) 「In vivo inhalation toxicity screening methods for manufactured nanomaterials (仮)」の発行に至り、OECD WPMN 関係者のみならず、広く事業成果を参照・活用してもらおう。

5. 研究開発の実施・マネジメント体制等

1) 研究開発計画

本研究開発は、各研究開発項目に対して計画された平成 23 年～27 年度の実施スケジュールに沿って、計画通りに実施された。

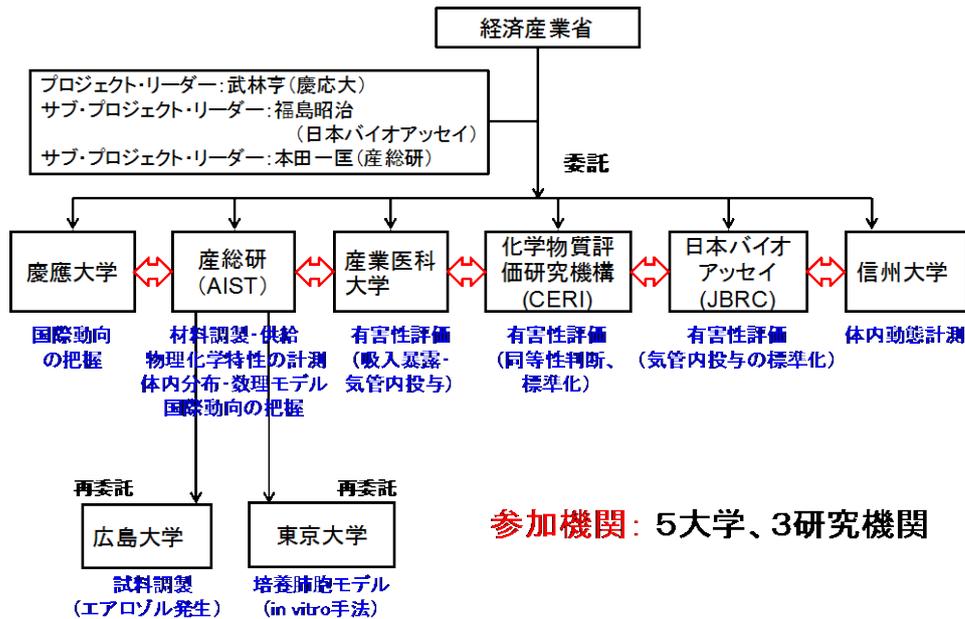


なお、①同等性判断基準においては、事業期間中、二酸化チタン（性状の異なる7種）、酸化ニッケル（性状の異なる4種）、二酸化ケイ素（性状の異なる9種）を用いた。また、②初期有害性評価技術においては、吸入暴露試験と気管内投与試験の比較のため、酸化チタン、酸化ニッケル、酸化セリウム、酸化亜鉛を用いた。気管内投与試験の標準的手順の構築のためには、二酸化チタン、酸化ニッケル、カーボンナノチューブを用いた。

2) 研究開発実施者の実施体制（機関名・役職は当時のもの）

本研究開発は、平成 23 年 3 月 1 日から 3 月 31 日に経済産業省が公募を行い、採択審査委員会での厳正かつ公平な審査を経て、研究開発実施者として学校法人慶應義塾慶應義塾大学、独立行政法人産業技術総合研究所、一般財団法人化学物質評価研究機構、学校法人産業医科大学、中央労働災害防止協会日本バイオアッセイ研究センター、国立大学法人信州大学を選定後、経済産業省との委託契約に基づく研究実施体制を構築した。また、産業技術総合研究所からの再委託先として、国立大学法人広島大学、国立大学法人東京大学が参加した（最終年度のみ、産業医科大学への再委託も行った）。医学系及び理工学系の大学研究機関、並びに経済産業省系及び厚生労働省系研究機関を加えた分野・省庁横断的な研究実施体制である。

研究開発の実施にあたっては、委託先決定後に経済産業省により、研究開発を統括するためのプロジェクトリーダーとして学校法人慶應義塾慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学教室 武林 亨教授が、サブプロジェクトリーダーとして中央労働災害防止協会日本バイオアッセイ研究センター 福島昭治 所長と独立行政法人産業技術総合研究所安全科学研究部門 本田一匡 副研究部門長が指名され、各研究機関の有する研究開発ポテンシャルを最大限に活用することによって効率的な研究開発を実施した。



参加機関: 5大学、3研究機関

武林プロジェクトリーダーは微小粒子状物質や気体状化学物質の安全性評価研究の専門家であり、ISO TG229 の国内分科会の副主査を務めており、経済産業省「ナノ物質の管理に関する検討会」の座長をはじめとして化学物質管理やナノ材料に関する委員会委員を歴任している。したがって、国際機関及び行政との連携を図るとともに、プロジェクト研究全体を適切に統括することができた。福島サブプロジェクトリーダーは実験病理学の専門家であり、厚生労働省「ナノマテリアルの安全対策に関する検討会」（平成 20 年～21 年）の座長を務め、厚生労働省からの委託として、多層カーボンナノチューブのラットに対する 2 年間吸入暴露試験を実施した。したがって、厚生労働省の施策及び有害性研究との連携を適切に図ることができた。本田サブプロジェクトリーダーは材料評価研究の専門家であり、ナノ材料の開発及びリスク評価のための大型プロジェクトの実施経験がある。したがって、プロジェクト内の連携を適切にマネジメントすることができた。

なお、事業終了後、アウトカム達成に向けては、産総研を中心として上記の連携関係を維持し、OECD への成果発信、フォローアップ事業、e-book の出版を行う。

3) プロジェクト運営

プロジェクトリーダー及びサブプロジェクトリーダーは、研究開発全体の管理・執行に責任を有する経済産業省と密接な関係を維持しつつ、本事業の目的および目標に照らして適切な運営管理を実施している。具体的には、開発推進委員会を開催して、外部有識者の意見を運営管理に反映させ

るとともに、推進調整会議等を通じてプロジェクトの進捗管理を行った。

【開発推進委員会】

外部有識者の参加を得た開発推進委員会を年間1回、事業期間中に合計5回開催した。

委員リスト（五十音順、敬称略）

神谷 秀博 東京農工大学大学院工学研究院（平成23-27年度）
菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所（平成23-27年度。平成27年度は委員長代理）
白井 智之 名古屋市総合リハビリテーションセンター（平成23-27年度。平成27年度は委員長）
堤 康央 大阪大学 薬学研究科長・薬学部長（平成25-27年度）
林 正秀 ナノテクノロジービジネス推進協議会（平成23-24年度）
安井 至 製品評価技術基盤機構（平成23-26年度。委員長）
平野 靖史郎 国立環境研究所（平成25-27年度）
米田 稔 京都大学工学研究科（平成23-27年度）

外部有識者からのアドバイスは、次年度の実施計画に柔軟に反映させた。課題共通的な指摘事項のうち代表的なものとして、カーボンナノチューブを用いた試験の実施、外部専門家による病理ピアレビューの実施があげられるが、いずれも実施した。

また、下記に示す推進調整会議において、開発推進委員から専門分野の最新研究について講演を行って戴き、最新の研究動向を把握するとともに、当事業における研究開発の内外の研究に対する相対関係を確認した。副次的な効果として、委員とのコミュニケーションがより緊密になり、踏み込んだ助言を頂戴できるようになったのは大きな収穫であった。

【推進調整会議】

本事業に参加している機関間の研究連携を強化して研究開発を推進するために、推進調整会議（平成23年度及び24年度の名称は調査報告会）を以下のとおり開催した。基本的に毎月開催し、事業期間中に合計45回開催した。

【その他打合せ】

個別の案件については、案件ごとに関係機関の間の打合せを持つことを推奨した。その際、通常の面談式会議の開催と併せ、情報交換と議論を円滑化する手段としてインターネットを利用したテレビ会議と電話会議を頻繁に活用した。事業期間中、面談式会議116回、テレビ電話・電話会議124回にのぼった。

【知財の考え方】

研究成果は、専らナノ材料の有害性評価に用いられる技術であることから、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。ただし、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。ただし、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。

4) 国民との科学・技術対話などのコミュニケーション活動

研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明するため、一般向け講演会や展示会で発表を積極的に行った。事業期間中で、イベント数として計 22 件となった。

(例)

平成 24 年 4 月 22 日 インテレクチャルカフェ「ナノ材料の利用に向けた安全性確保のための戦略～評価手法の開発と標準化～(主催:独立行政法人産業技術総合研究所/日本を元気にする産業技術会議)

平成 24 年 10 月 25 日～26 日 産総研オープンラボ 2012(主催:独立行政法人産業技術総合研究所)

平成 24 年 11 月 28 日～11 月 30 日 ナノ物質の安全な取り扱いに関するセミナー(於:国際粉体工業展東京 2012)(主催:一般社団法人日本粉体工業技術協会)

平成 26 年 6 月 6 日～6 月 7 日 東京大学 駒場リサーチキャンパス公開(生研公開 2014)(主催:東京大学 生産技術研究所・先端科学技術研究センター)

平成 28 年 1 月 27 日 ナノ材料の効率的な有害性評価技術(経済産業省ナノ安全プロジェクト研究成果報告)(主催:ナノ安全プロジェクト研究実施機関、nano tech 2016 に併催)

平成 28 年 9 月 5 日 第 23 回日本免疫毒性学会学術年会市民公開講座(主催:日本免疫毒性学会)
[予定]

5) 資金配分

本事業の平成 23 年度～27 年度の予算(実績額)の推移を下表に示す。各研究課題の進捗は計画通り順調であったことから、資金の過不足はなく、また内部配分は妥当であったと考えられる。

なお、産業医科大学及び化学物質評価研究機構は、2 年間に跨る動物試験を実施するため、国庫債務負担行為による複数年契約として予算配分した。

(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基盤技術の構築 [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

6. 費用対効果

1) 事業アウトカムに対する費用対効果

通常の化学物質であれば、同一化学式で記述できる物質の有害性については、一度有害性試験を実施すればメーカーや製法が変わっても試験結果が共用できると考えられている。一方、ナノ材料の場合は、同一化学式の場合でも粒子の大きさ、形状等の物理化学特性が変化すれば有害性が変わり得るとの見方がある。これを前提にしてしまうと、一部の物質では一物質あたり数十～百種類以上の製品が国内生産されていると言われるナノ材料の全て、さらには製品の製造ロットごとに有害性試験を実施するような非現実的な対応が求められ、ナノ材料の開発・普及を停滞させる懸念がある。

また、現時点において、人に対して最も暴露の可能性が高いと考えられる呼吸器系のための動物試験としては、化学物質において標準的に用いられている吸入暴露試験が適当と考えられている。しかし、高コストである点や技術的な難易度が高い点で、多数のナノ材料に対して実施するのは不可能である。米国有害物質規制法（TSCA）で要求される90日間の吸入暴露試験を実施する場合、一材料に対し最低でも5000万円の費用が必要と見積られている。また、新規に吸入暴露施設を整備するためには数億円レベルの資金が必要と言われており、試験の難易度も高いため、国内においてナノ材料の吸入暴露試験を実施できる試験機関は限られている。

そこで、本事業では、1) 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（大きさ、形状等）が類似のものは集約して試験・評価できるよう、ナノ材料の同等性に関する判断基準を確立するとともに、2) ナノ材料の吸入毒性のスクリーニング試験として、吸入暴露試験よりも簡便な気管内投与試験法を改良し、OECD WPMN（ナノ材料作業部会）の活動を通じて国際標準化を目指して研究開発を行った。気管内投与試験では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。上記の90日吸入暴露試験と同等の飼育観察と評価を気管内投与試験で行うことを想定して試験業者から概算見積を取得したところ、約1570万円であった。

海外では、“No data, No Market”とも言われるような、予防原則に基づきナノ材料を規制しようという動きも進んでいる。また、OECD WPMNでは、吸入暴露試験のテストガイドラインの改訂など、ナノ材料の評価のためのガイドラインやガイダンスの整備が進められている。これらの海外の動向や国内でのナノ材料の市場化の動向を踏まえると、今後、事業者による自主管理も含め、有害性データを要求する動きは加速するものと考えられる。本事業で開発された評価技術があつて初めて、実効的かつ適切な評価と管理を実現することが可能になる。従って、本事業への予算投入は、ナノ材料を取り扱う産業の健全な発展、ナノ材料の適切な管理・規制により安全・安心な国民生活の実現にも寄与することになり、十分な効果が得られると考えられる。

2) 事業アウトプットの単位あたりコスト

技術解説書・手順書件数（10件）の単位あたりコストは以下の通りである。

$$1,564 \text{ 百万円 (総予算額)} \div 10 \text{ 件} = 156 \text{ 百万円/件}$$