

- 63) Pavkov KL, Turnier JC (1987). Two-year chronic toxicity and oncogenicity dietary study with SC-0224 in mice. Stauffer Laboratory Farmington, CT, USA. Study no. T-11813. Unpublished study. Submitted by Syngenta, Basel, Switzerland. (as cited in ref. 73)
- 64) Takahashi M (1999). Oral feeding carcinogenicity study in mice with AK-01, Nippon Experimental Medical Research Institute Co. Ltd., Agatsuma, Gunma, Japan. Technical project no. H-95056, 3303-58 (as cited in ref. 73)
- 65) Wood E, Dunster J, Watson P, Brooks P (2009). Glyphosate technical: Dietary carcinogenicity study in the mouse. Harlan Laboratories Limited, Shardlow, Derbyshire, England, UK. SPL project no.: 2060-0011, dated 22 April 2009. Unpublished study. (as cited in ref. 73)
- 66) Kumar DP (2001). Carcinogenicity study with glyphosate technical in swiss albino mice. Toxicology Department, Rallis Research Centre, Rallis India Limited, Bangalore, India. Data owner: Feinchemie Schwebda GmbH. Study no.: Toxi:1559. CARCI-M. Unpublished study. (as cited in ref. 73)
- 67) Bolognesi C, Bonatti S, Degan P, Gallerani E, Peluso M, Rabboni R, Roggieri P, Abbondandolo A. Genotoxic activity of glyphosate and its technical formulation Roundup. *J Agric Food Chem.* 1997;45:1957-62.
- 68) Peluso M, Munnia A, Bolognesi C, Parodi S. 32P-postlabeling detection of DNA adducts in mice treated with the herbicide Roundup. *Environ Mol Mutagen.* 1998;31:55-9.
- 69) Li AP, Long TJ. An evaluation of the genotoxic potential of glyphosate. *Fundam Appl Toxicol.* 1988;10:537-46.
- 70) Mañas F, Peralta L, Raviolo J, Ovando HG, Weyers A, Ugnia L, Cid MG, Larripa I, Gorla N. Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2009;28:37-41.
- 71) Rank J, Jensen AG, Skov B, Pedersen LH, Jensen K. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and Allium anaphase-telophase test. *Mutat Res.* 1993;300:29-36.
- 72) European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *EFSA Journal* 2015;13:4302.
- 73) Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR). Pesticide residues in food-2016: toxicological evaluations. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255000>. Accessed 10 Mar 2019.
- 74) EPA, Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential. https://a816-healthpsi.nyc.gov/ll37/pdf/carcclassJuly2004_1.pdf. Accessed 10 Mar 2019.

酸化亜鉛ナノ粒子 Zinc oxide nanoparticle CAS 番号 : 1314-13-2 許容濃度 0.5 mg/m³

1. 物理化学的特性並びに用途

酸化亜鉛 Zinc oxide (ZnO) は、無臭の白色粉末であり、六角柱様の結晶構造を持つ。ナノ粒子の定義は、3次元のうち1次元でも1-100 nmの範囲に入るものを言い、工業用ナノ材料としてのZnO粒子は、一次粒径が1-100 nmである。また、亜鉛メッキ鋼材の溶接・溶断作業等の中で、発生するZnOヒュームも、粒子サイズがナノサイズからサブミクロンであるため評価の対象とする。工業用ナノ材料としてZnOの年間使用量は約480トンであり、用途の80%は化粧品であり、他には、医薬品、家庭用品・スポーツ用品、塗料・インクなどに使用されている。

2. 吸収, 代謝, 分布, 蓄積, 排泄

ZnOの吸収については、生体内では溶解性が高いことによりナノサイズにおいても生体内で亜鉛イオンとして吸収される。ZnOヒュームに職業的に曝露された亜鉛炉の作業員において、血中および尿中の亜鉛濃度の上昇がみられたことから¹⁾、肺で吸収され、血中を介し尿中へ排泄されることが示唆される。また、500度の熱分解で発生させたZnO(空気道力学的平均粒径1μm)を雄性ラットに吸入曝露(12.8 mg/m³にて17時間)を行い、曝露後の24時間の観察期間にて肺内沈着量を測定したところ、肺の亜鉛含量の半減期は6.3時間であり、肺内から速やかに排泄された。

ZnOの全身への蓄積分布については、経口および経気道曝露のどちらも報告されている。経口試験では、ICRマウスにZnO(50 nm)の単回および反復経口投与を行っている²⁾。単回経口投与の半数致死量(LD₅₀)は、5,177 mg/kg体重と推定され、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、肺で組織障害が認められた。20日間かけた反復経口投与のLD₅₀は、単回経口投与のLD₅₀の1.9倍であり、肝臓、腎臓にZnの有意な沈着を認め、腎臓、肝臓、肺で組織障害が認められた。

また、CD-ICRマウスに20 nmと120 nmのZnOを1, 2, 3, 4, 5 g/kg体重で経口投与を行い、2週間後に解剖を実施し、全身の臓器のZn沈着量を解析した³⁾。Znの沈着は、主に骨、腎臓、脾臓でみられた。

経気道曝露に関しても、他臓器への分布が報告されている。C57Bl/6雄性マウスにZnOナノ粒子(幾何平均径36~46 nm GSD 1.8)を3.5 mg/m³で一日4時間、週5日間の曝露を13週間吸入曝露した直後に心臓におけるZn沈着量が増加したが、3週間後では非曝露群と差を認めな

かった。

3. ヒトに対する影響

3.1 急性毒性

ヒトの曝露について、ZnO ヒュームによる急性期症状としてヒューム熱（咳、疲労感、筋肉痛）が起こる報告が多いがこの症状は一過性の反応である。一方で慢性的な影響については、調査した範囲内では、報告は得られていない。

13名の健常者に ZnO ヒューム（質量中央径 0.3 μm , GSD 1.5）を 2.5, 5 mg/m^3 の濃度で 2 時間の吸入曝露を行い、血液中の炎症性サイトカインの測定、ヒューム熱の症状（咳、疲労感、筋肉痛）や体温を観察した⁴⁾。5 mg/m^3 曝露群で対照群と比較し、6 から 12 時間後で有意な体温上昇（曝露群：0.78 \pm 0.17 $^{\circ}\text{C}$ ，対照群：0.33 \pm 0.28 $^{\circ}\text{C}$ ）がみられた。筋肉痛、咳、および疲労の臨床症状は、5 mg/m^3 曝露の 9 時間後に最も多かった。なお、2.5 mg/m^3 曝露では、自覚症状は認められなかった。血漿中の IL-6 は 2.5, 5 mg/m^3 曝露の 6 時間後に有意な上昇が認められた。

ZnO ナノ粒子を 16 名の健常人に盲検的に 3 つの濃度（0, 0.5, 1.0 mg/m^3 ；電気移動度径 47.8, 62.8 nm，個数濃度 1.69 $\times 10^6/\text{cm}^3$ ，2.03 $\times 10^6/\text{cm}^3$ ）を 2 週間おきに 4 時間曝露（2 時間のエルゴメーター運動あり）し、最後の曝露から 2 週間後に 2.0 mg/m^3 （電気移動度径 85.8 nm，個数濃度 2.53 $\times 10^6/\text{cm}^3$ ）で曝露を行い、各濃度の曝露後の発熱、体調不良、筋肉痛などの感冒様症状と、血液中の好中球比率、高感度 CRP、血清アミロイド蛋白 A の評価をおこなった。1 mg/m^3 以上で血清アミロイド蛋白 A や血液中の好中球比率の上昇、体温の上昇、2 mg/m^3 にて高感度 CRP の上昇、感冒様症状を訴える人の軽度増加を認めた。著者らは、0.5 mg/m^3 が無影響量（no observed effect level (NOEL)）と報告した⁵⁾。

同研究グループが、16 名の健常者（非喫煙者）に ZnO ナノ粒子を 3 濃度（0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/m^3 ）（低濃度から電気移動度径 47.8, 62.8 nm, 85.8 nm 個数濃度 1.69 $\times 10^6/\text{cm}^3$ ，2.03 $\times 10^6/\text{cm}^3$ ，2.53 $\times 10^6/\text{cm}^3$ ）にて 4 時間曝露（2 時間のエルゴメーター運動あり）を行い、曝露前後の誘発喀痰中の好中球比率、喀痰上清中 IL-8, matrix metalloproteinase (MMP)-9, tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-1, 総蛋白, IL-6 濃度の解析を行った。曝露後の喀痰中の好中球比率, IL-8, MMP-9, TIMP-1 濃度は 0.5 mg/m^3 ，総蛋白, IL-6 濃度 1.0 mg/m^3 から増加した。曝露終了 14 日後以降に行われた最終喀痰検査では、ベースライン範囲内にもどっている。著者等は、0.5 mg/m^3 から可逆性の気道炎症を認めるとしながらも、いずれのマーカーにおいても用量依存性は認めなかったことも指摘した⁶⁾。

4 名の健常者に対して、ZnO ヒューム（空気動力学的直径 1 μm 以下）を 0, 2.5, 5.0 mg/m^3 の濃度で最大 3 時間まで吸入曝露させたところ、2 時間の 5 mg/m^3 曝露の 6 ~ 10 時間後に、参加者 4 名全員がヒューム熱の症状を少なくとも 1 つ以上訴えた⁷⁾。

15 名の健常者に対して、ZnO ヒュームの吸入曝露試験（Zn 量換算で 20 ~ 42 mg/m^3 ，10 分，15 分，30 分間で曝露）を実施し、3 時間後、20 時間後の気管支肺胞洗浄液中の炎症性サイトカインを測定したところ、3 時間後で 20 時間後と比べて有意に TNF, IL-6, IL-8 の上昇がみられた⁸⁾。

12 名の健常人に対して、ナノサイズとミクロンサイズの ZnO（亜鉛電極にプラズマで発生）を 500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で 2 時間吸入曝露したところ、両サイズとも臨床症状や血液検査、サイトカイン、痰の性状、心電図所見に変化はみられなかった⁹⁾。

中国の亜鉛鋳造工場の 20 人の労働者を対象に、胸部 X 線写真、および肺活量測定が調査され、曝露評価は、血清、尿、および個人サンプラーによる環境中の亜鉛濃度の測定を実施された¹⁰⁾。4 時間以内に最大 36.3 mg/m^3 の高濃度に曝露された労働者がいたにもかかわらず、すべての労働者で血清亜鉛濃度は基準範囲内であり、金属ヒューム熱の症状もなく X 線写真または肺機能の変化は認められなかった。一方で尿中亜鉛濃度の上昇が見られ、環境中の亜鉛濃度と尿中亜鉛との間に有意な正の相関が認められた。これらの結果から、作業者が金属ヒューム熱の発生に対する耐性が存在することが示唆された。

これまで ZnO に曝露されていない健常人 20 名（男性 17 名，女性 3 名）を 1 日曝露群 9 名と 3 日間曝露群 11 名にわけた。両群とも 5 mg/m^3 の ZnO（1 次粒子径不明，2 次粒子径 0.3 μm ）を 1 日 2 時間で前者は 1 日，後者は 3 日連続吸入曝露で実施し、自覚症状や体温、気管支肺胞洗浄液の解析をおこなった¹¹⁾。1 日曝露群では、自覚症状、発熱を認めるとともに、血漿（plasma）及び気管支肺胞洗浄液の IL-6 が上昇した。一方、3 日間連続曝露群でこれらの症状、発熱、血漿や BALF の IL-6 濃度の有意に減少した。また、慢性的に曝露されている板金労働者計 10 名（男性：日常的に低濃度の亜鉛曝露（濃度不明）平均年齢 47 歳）にマスク装着し 2 時間の ZnO，または溶接ガスを吸入後、同様の自他覚所見と血液の検査を行った。有意な症状や発熱を認めなかったが、血漿中 IL-6 濃度は、有意に増加した。以上より ZnO を吸入することにより、IL-6 濃度の増加は伴うが耐性（clinical tolerance）化を引き起こすことが示された。これらの耐性の要因として、代謝活性が亢進し、尿中に亜鉛が排泄されることが示唆された。

3.2 慢性毒性

調査した範囲内では、報告は得られていない。

3.3 生殖毒性

調査した範囲内では、報告は得られていない。

3.4 皮膚毒性

皮膚に対する影響については、ヒトの皮膚 50 cm²あたりに 26~30 nm の ZnO ナノ粒子 (19% w/w) を含む市販された日焼け止め 0.3 g を 5 分間塗布し、浸透レベルを評価した試験で、ZnO は角質層で留まるか、毛包の根底に蓄積するレベルであったことを報告している¹²⁾。

3.5 発がん性

調査した範囲内では、報告は得られていない。

4. 動物に対する影響

4.1 単回曝露による急性毒性

ZnO の単回気管内注入試験では、急性期の観察がほとんどであり、慢性毒性については報告がない。急性期の観察にて炎症がみられるが、一過性の変化である報告がほとんどである。

モルモット、ラット、ウサギを用いて、ZnO ヒューム (空気力学的直径 1 μm 以下) を 2.5~5 mg/m³ で 3 時間曝露させ、気管支肺胞洗浄液の解析や肺機能検査を実施した⁷⁾。曝露後 24 時間で、ラットとモルモットでは 2.5 mg/m³ で気管支肺胞洗浄液中の LDH、β グルクロニダーゼ、タンパクの上昇が認められた一方、ウサギでは、5 mg/m³ 曝露の 24 時間後で気管支肺胞洗浄液中の LDH、β-glucuronidase、タンパクの上昇が認められた。肺内の Zn 沈着量においても、モルモット、ラット、ウサギでそれぞれ吸入量の 20%、12%、5% と種差による違いがみられた。

SD 雄性ラット (8 週) に 35 nm (2.4, 3.7, 12.1 mg/m³)、250 nm (7.2, 11.5, 45.2 mg/m³) の ZnO を 3 群の濃度で 6 時間吸入曝露を行い、曝露後 24 時間後に解剖を行い、気管支肺胞洗浄液の解析と全身および肺の炎症性マーカーの評価を行った¹³⁾。その結果、35 nm の ZnO では、2.4 mg/m³ 以上で、250 nm の ZnO は 7.2 mg/m³ 以上で、気管支肺胞洗浄液中の LDH や好中球割合の増加を認めた。

ICR 雄性マウスに 5 μg、10 μg、20 μg (200, 400, 800 μg/kg 体重) の ZnO ナノ粒子 (平均径 60 ± 20 nm、平均長さ 100 ± 40 nm) を気管内注入し、1 週間後に解剖し、血液データ、BALF 中の細胞分画、肺組織中のマロンジアルデヒド (malondialdehyde) と nitrogen monoxide (NO) の解析、肺病理組織の評価を実施した¹⁴⁾。半数致死量 (LD50) は、493.85 μg/kg であり、200 μg/kg の曝露量で、赤血球数の減少、尿素窒素、Cre の上昇が認められ、BALF 中でも総タンパク、alkaline phosphatase (ALP)、総細胞数、肺組織中の酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒドの有意な上昇が認められた。マウスへの 5 μg (200 μg/kg) の曝露量は、ヒトの曝露濃

度 5 mg/m³ で 1 週間曝露した量に相当すると報告されている。

CrI:CD (SD) IGS BR 雄性ラットに 1 mg/kg、5 mg/kg の ZnO ナノ粒子 (一次粒子径 50~70 nm) と ZnO ミクロン粒子 (一次粒子径 ≥ 1,000 nm) をそれぞれ気管内注入し、24 時間、1 週間、1 ヶ月、3 ヶ月後の時点で気管支肺胞洗浄液中の細胞数、lactate dehydrogenase (LDH) を観察した。どちらのサイズの ZnO も 1 mg/kg 体重の曝露では、24 時間後で LDH や好中球割合の有意な上昇を認め、5 mg/kg 群では 24 時間、1 週間後と有意な上昇が観察されたが、一過性の上昇であり、1 ヶ月、3 ヶ月後では改善した¹⁵⁾。

Wistar 雌性ラットを用いて ZnO ナノ粒子 (一次粒子径 10 nm 未満) 50 cm²/rat (103 μg/rat)、150 cm²/rat (310 μg) で気管内注入し、24 時間後、1、4 週間後の BALF 中の細胞数、炎症性マーカーの解析、肺病理組織の評価を行った。24 時間後では、BALF 中の好中球と好酸球の増加を認め、肺病理組織でも好中球性と好酸球性の炎症が認められ、4 週間後では、病理所見で線維化が認められたと報告している^{16, 17)}。

F344 雄性ラットに対して、0.2 mg/rat、1 mg/rat の用量で ZnO ナノ粒子 (一次粒子径 35 nm) の気管内注入を実施し、3 日~6 ヶ月後まで評価をおこなった。3 日後から 1 週間で気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞の上昇、肺病理組織で炎症細胞浸潤が認められたが、1 ヶ月から 6 ヶ月まで炎症が認められず、ZnO ナノ粒子による肺炎は一過性の反応であった¹⁸⁾。

4.2 反復投与毒性

吸入曝露

C57Bl/6 雄性マウスに ZnO ナノ粒子 (幾何平均径 36~46 nm GSD 1.8) を 3.5 mg/m³ で一日 4 時間、週 5 日間の曝露を 2 週間、13 週間吸入曝露したのち、吸入曝露直後と 3 週間後に解剖を行い、血液や気管支肺胞洗浄液の解析を行った¹⁹⁾。曝露 2 週間では、BALF 中のマクロファージの増加、ごく軽度ではあるが好中球の増加、IL-12、macrophage inflammatory protein (MIP)-1α の上昇が認められたが、一過性であった。BALF の蛋白濃度、IL-6、GM-CSF、KC、MCP-1、TNF 濃度に変化はなかった。また、13 週間の曝露においては BALF のマクロファージの増加は認められたが、好中球やサイトカインの増加は認められなかった。著者等も 2 週間曝露によって引き起こされたごく軽度の一過性炎症は耐性が引き起こされたことを示唆している。

モルモットに 2.7、7 mg/m³ で ZnO ナノ粒子 (CMD 0.05 μm GSD 2.0) を一日 3 時間、5 日間曝露し、肺炎症や肺機能を評価した²⁰⁾。7 mg/m³ では一時的な肺機能の低下 (全肺気量 (TLC)、1 回換気量 (TV)、肺拡散能力 (DLCO)) を認めたが、2.7 mg/m³ 曝露では対照群と比較

し変化はみられなかった。

SD ラットに ZnO ナノ粒子（一次粒径 50 nm, 幾何平均径 48 nm GSD 1.8）の吸入曝露（1.1, 4.9 mg/m³ 2 週間）を実施し、曝露終了後、1, 7, 30 日後に BALF 中の炎症細胞、好中球、LDH および全タンパク質、ならびに血中の 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン（8-OHdG）の評価をおこなった²¹⁾。ZnO ナノ粒子吸入後、1 日、7 日、30 日後の観察では、1.1 mg/m³ の曝露で、BALF 中の総細胞、好中球、および総タンパク質は急激に増加し、肺病理所見で炎症性変化が見られた。4.9 mg/m³ の曝露では、曝露の 7 日後に、心臓の炎症と線維化の発症が検出され、曝露後 30 日目に、心筋の変性および壊死が検出された。

F344 雄性ラットに ZnO ナノ粒子（一次粒径 35 nm）の 4 週間の吸入曝露（曝露濃度 2, 10 mg/m³）を行い、3 日後、1 ヶ月後、3 ヶ月後で解剖を実施し、3 日後の気管支肺胞洗浄液中の好中球数や好中球ケモカインである cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC)-1, CINC-2, LDH, 酸化ストレスマーカーである heme oxygenase (HO)-1 の上昇が認められたが、1 ヶ月後には、改善しており、一過性の炎症が認められている¹⁸⁾。

酸化亜鉛曝露による耐性を調べるために、NIH-Swiss mice に酸化亜鉛 1.0 mg/m³ の濃度で 1 日、3 日、5 日間の吸入曝露を行い、各曝露終了 24 時間後に肺内の炎症を評価した。1 日曝露後に BALF の好中球数が増加したが、5 日間曝露後では、ほとんどコントロールレベルになった。一方で BALF の蛋白濃度は、曝露期間とともに上昇した。また、耐性の持続を調べるために、5 日曝露、5 日観察の後に 3 時間の吸入曝露を行うと BALF の好中球数や蛋白濃度が上昇し、耐性は認めなかった²²⁾。

経口投与／経皮投与／その他の経路等

Wistar ラットに、ZnO（一次粒径 100 nm）100 mg/kg 体重を 75 日間経口投与し、肝臓、腎臓の組織中の酸化ストレス、血中の解析をおこなった²³⁾。血中、肝臓中の肝酵素の上昇や、がん抑制タンパクである p53、炎症性サイトカインの TNF- α 、IL-6、酸化ストレスマーカーの SOD や 2-チオバルビツール酸反応性物質（TBARS）が肝臓、腎臓組織中で上昇し、病理組織所見でも肝、腎の組織障害が観察された。

ICR マウスに 50 nm の ZnO の反復経口投与を行った²⁾。単回経口投与の半数致死量（LD50）は、5,177 mg/kg·bw と推定され、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、肺で点状出血または炎症細胞の浸潤が認められた。20 日間かけた反復経口投与（1～4 日：LD50 の 0.1 倍、5 日～8 日：LD50 の 0.15 倍、9～12 日：LD50 の 0.22 倍、13～16 日：LD50 の 0.34 倍、17～20 日：LD50 の 0.5 倍）では、肝臓、腎臓に Zn の有意な沈着を認めた。

皮膚に対する影響では、2,000 mg / kg の用量レベルで、

ラットの皮膚に曝露させた試験でも、死亡、毒性の臨床徴候、体重変化、肉眼的所見は認められなかった²⁴⁾。

4.3 生殖毒性

ZnO ナノ粒子（平均粒径 35 nm）500 mg/kg/日を、SD 雄性ラットには交配前 2 週間含む計 6 週間、SD 雌性ラットには交配前 2 週間から、妊娠期間を含めて、出産後、授乳 4 日までの期間、経口投与し、ZnO の生殖毒性および次世代への移行を調査し、亜鉛濃度の体分布を評価した²⁵⁾。ZnO ナノ粒子を投与したラットは、対照群と比較し、出生児数の減少（対照群 13.1 ± 1.6 匹、投与群 5.8 ± 5.8 匹）、児動物の体重減少（生後 4 日で対照群 12.02 ± 0.97 g、投与群 7.80 ± 2.87 g）、吸収胎児（着床後胚損失）の増加（対照群 5.1%、投与群 52.8%）などを示した。ZnO ナノ粒子は、雌親ラットの乳房組織や児の肝臓や腎臓などの臓器にも分布していた。親動物への影響は雄で顕著であり、12 匹中 3 匹が投与開始後 4 日、13 日、25 日に死亡した。ただし、雌では死亡例はなかった。

ZnO ナノ粒子（ZnO NP：粒径 20 nm・表面電位をマイナスに調整）0, 100, 200 および 400 mg/kg/日を、SD ラットの妊娠 5～19 日に経口投与し、母体および妊娠中曝露後の胎児の発生に対する潜在的な影響を調べた。母動物は妊娠 20 日に帝王切開し、すべての胎児の外表、内臓および骨格の変化を観察した²⁶⁾。母動物においては、200 mg/kg 以上の投与群で肝相対重量の減少（対照群 3.79 ± 0.19%、200 mg 投与群 3.54 ± 0.20%、400 mg 投与群 3.56 ± 0.18%）および副腎重量の増加、400 mg/kg 投与群で体重増加抑制（対照群 153.8 ± 13.93 g、400 mg 投与群 140.2 ± 20.11 g）が認められた。しかしながら、黄体数、着床痕数、着床率、吸収胚数、死亡胎児数、同腹児数、胎児の死亡数、胎児と胎盤の重量、性比には、グループ間で投与に関連した違いはみられなかった。胎児の形態学的検査でも、グループ間で異常・変異の発生率に有意差はみられなかった。また対照群と高用量群の間で胎児組織の Zn 含有量に有意差は見られなかった。以上のことから、ZnO ナノ粒子の 15 日間反復経口投与では、著者らは 200 および 400 mg/kg/日 で軽微な母体毒性がみられたと報告している。

ZnO ナノ粒子（粒径 20 nm・表面電位をプラスに調整）0, 100, 200 および 400 mg/kg/日を、SD ラットの妊娠 5～19 日に経口投与し、母体および妊娠中曝露後の胎児の発生に対する潜在的な影響を調べた。母動物は妊娠 20 日に帝王切開し、すべての胎児の外表、内臓および骨格の変化を観察した²⁷⁾。母動物においては、200 mg/kg 以上の投与群で摂餌量の減少（有意となったのは妊娠 18 日のみ）、400 mg/kg 投与群で妊娠期間中の体重増加抑制（対照群 148.41 ± 6.528 g、400 mg/kg 投与群 121.27 ± 27.23 g）、肝絶対重量の減少（対照群 15.63 ± 1.46 g、400 mg/kg 投与群 14.22 ± 1.40 g）、副腎重量の増加が認めら

れた。しかしながら、黄体数、着床痕数、着床率、吸収胚数、死亡胎児数、同腹胎児数、胎児の死亡数、胎盤の重量、性比には、グループ間で投与に関連した違いはみられなかった。一方、400 mg/kg 投与群では、胎児体重に对照群との間で有意な減少が見られ（对照群雄 4.03 ± 0.30 g, 雌 3.85 ± 0.35 g, 400 mg/kg 投与群雄 3.71 ± 0.29 g, 雌 3.57 ± 0.29 g）、胎児の形態学的検査において一部変異の発生率に有意な増加がみられた（胸腺の形態異常对照群：11/169匹、400 mg/kg 投与群32/165匹、尿管の異常：对照群9/169匹、400 mg/kg 投与群20/165匹）。また对照群と高用量群の間で胎児組織の Zn 含有量に有意差は見られなかった。以上の結果から、ZnO ナノ粒子の15日間反復経口投与では、200 mg/kg/日で母体毒性があり、400 mg/kg/日で胚毒性があると報告している。

上記3論文²⁵⁻²⁷⁾では見動物への影響が認められているものの、1用量実験であり量-影響関係の解析ができない。また、雄の親動物の25%が死亡したことを考慮すると、データでは不明な母体の影響があった可能性や実験手技等の信頼性に疑問が残る。さらに、残りの2論文（同一のグループによる一連の実験）の結果をみると²⁵⁾で示されたような明確な胎児毒性は示されていない。総合的にみると生殖毒性物質として分類するには十分とは言えないと考えられた。

4.4 遺伝毒性

in vitro 試験で、ヒト肺がん細胞 (A549) およびヒトリンパ芽球細胞 (TK6) を用いた ZnO ナノ粒子 (XRD サイズ 100 nm 以下) による DNA 鎖切断試験が陽性²⁸⁾、サルモネラ菌を用いたエームス試験では、TA98, TA100株ともに、代謝活性 (S9) の有無に関わらず陰性であった²⁹⁾。

チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (V79) では、*in vitro* の小核試験では、30, 60 μM では陰性であったが120 μM で陽性であった³⁰⁾。

in vivo 試験では、BALB/cJ 雌性マウスに2つの ZnO ナノ粒子 (一次粒径13.2 ± 5.4, 36.1 ± 18.1 nm) を60分の吸入曝露後 (4, 6, 26, 53, 58, 203 mg/m³)、24時間、13週間後に評価をおこなった³¹⁾。曝露24時間後の肺組織を用いたコメットアッセイの結果は、すべての曝露群で对照群と比較し陽性結果は認められなかった。

	小核試験	ZnO ナノ粒子 (20 nm) チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (V79) S9 mix (-) 30, 60, 120 μM にて 3 時間	+
<i>In vivo</i>	DNA 鎖切断試験	2つの ZnO ナノ粒子 (一次粒径 13.2, 36.1 nm) BALB/cJ 雌性マウス 吸入曝露後 (4, 6, 26, 53, 58, 203 mg/m ³)、24時間後に評価	-

- : 陰性 + : 陽性

4.5 発がん性

マウス、ラット、モルモットに対する ZnO/ヘキサクロロエタン (混合物は花火の発火に使用) の混合物 (それぞれ44%, 47%) を1日1時間、週5日、20週曝露し (0, 1.3, 12.8, 121.7 mg/m³)、13ヶ月後に解剖を実施し、121.7 mg/m³ の曝露で、マウスにおいて肺がん (Alveolar carcinoma) が、15/50匹で有意に発生した (对照群6/78匹)。しかし、ラット、モルモットでは、有意な発がんは認められなかった³²⁾。

5. 許容濃度の提案

ZnO の疫学的調査において、長期的な影響を調査した十分な情報がない一方で、ヒトに対する急性曝露の報告は数報認められる。動物曝露試験では、13週間の慢性吸入曝露試験以外は、急性吸入曝露試験による一過性の炎症反応を示す結果が多く、発がん性試験の報告はない。以上のことからマウスの慢性吸入曝露試験の結果から許容濃度を設定する。

マウスに ZnO ナノ粒子を 3.5 mg/m³ にて13週間吸入曝露した試験では、BALF 中のマクロファージの増加が認められたが、好中球などの炎症細胞やサイトカインの増加は観察されなかった。マクロファージの増加は、生体内異物除去の生理的反応と考える。一方2週間の吸入曝露試験では、ごく軽度の好中球増加は認められたが一過性であり、BALF の蛋白濃度は変化がなかった。炎症はごく軽度であり、かつ耐性による消失と思われたので、本濃度で肺障害につながるような反応ではないと考え、マウスの NOAEL を 3.5 mg/m³ とした。Workshop report³³⁾ に基づいて種差の不確実係数を3としたこと、さらに曝露期間が短いことによる不確実係数を2とする³⁴⁾ と、ヒトに影響を及ぼさない曝露濃度は、0.583 mg/m³ と推定された。また、単回ではあるが、健常人への吸入曝露試験の結果、0.5 mg/m³ では影響がない2報告を認めた。これらの動物とヒトの知見を踏まえ、許容濃度を 0.5 mg/m³ とした。

発がん分類に関しては、ヒトの発がんに関する研究は調査した範囲では、報告されていない。動物試験において、ヘキサクロロエタンとの複合吸入曝露にて、マウス

試験方法		使用細胞種/動物種・S9の有無・濃度/用量*	結果
<i>In vitro</i>	DNA 鎖切断試験	ヒト肺がん細胞 (A549): S9mix (-) 10 μg/mL にて3時間	+
		ヒトリンパ芽球細胞 (TK6): S9mix (-) 14 μg/mL にて3時間	+
	変異原性試験 エームス試験	TA98, TA100: S9mix (+) (-) 1, 5, 10 g/l にて48時間	-

のみ有意な発がんが認められたが、ラットやモルモットなど他の動物種では認められていない。単独曝露により発がん性を認めた報告もない。遺伝毒性試験においては、一貫して遺伝毒性陽性を支持する結果はない。以上より、ヒトおよび動物試験において十分な発がん性の証拠がないと判断した。

参考提案値

許容濃度：酸化亜鉛（ミクロンサイズ） 第2種粉塵
吸入性粉塵 1 mg/m³ 総粉塵 4 mg/m³

6. 他機関の提案値

ACGIH TLV: TWA 2 mg/m³ (吸入性粉じん) STEL 10 mg/m³ (ACGIH 2003)

根拠：5 mg/m³ の3日間の曝露後、全被験者の症状は軽減したが、一部の被験者では肺炎症およびサイトカイン産生が上昇した。また、2.5 mg/m³ で2時間曝露した後に金属ヒューム熱が発生した報告を根拠としている。

DFG MAK：設定なし。

NIOSH REL: TWA 5 mg/m³ (resp) (NIOSH)

OSHA: TWA 5 mg/m³ (resp) (OSHA)

IARC 設定なし。

7. 勧告の履歴

なし

文 献

- Hamdi EA. Chronic exposure to zinc of furnace operators in a brass foundry. *Occup Environ Med.* 1969;26:126-34. doi:10.1136/oem.26.2.126.
- Kong T, Zhang SH, Zhang JL, Hao XQ, Yang F, Zhang C, et al. Acute and Cumulative Effects of Unmodified 50-nm Nano-ZnO on Mice. *Biological Trace Element Research.* 2018:1-11.
- Wang B, Feng W, Wang M, Wang T, Gu Y, Zhu M, et al. Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *J Nanoparticle Res.* 2008;10:263-76. doi:10.1007/s11051-007-9245-3.
- Fine JM, Gordon T, Chen LC, Kinney P, Falcone G, Beckett WS. Metal fume fever: characterization of clinical and plasma IL-6 responses in controlled human exposures to zinc oxide fume at and below the threshold limit value. *J Occup Environ Med.* 1997;39:722-6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9273875>.
- Monsé C, Hagemeyer O, Raulf M, Jettkant B, van Kampen V, Kendzia B, et al. Concentration-dependent systemic response after inhalation of nano-sized zinc oxide particles in human volunteers. *Part Fibre Toxicol.* 2018;15:8. doi:10.1186/s12989-018-0246-4
- Monse C, Raulf M, Hagemeyer O, van Kampen V, Kendzia B, Gering V, Marek EM, Jettkant B, Bunger J, Merget R, Bruning T. Airway inflammation after inhalation of nano-sized zinc oxide particles in human volunteers. *BMC Pulm Med* 2019;19:266.
- Gordon T, Chen LC, Fine JM, Schlesinger RB, Su WY, Kimmel TA, et al. Pulmonary effects of inhaled zinc oxide in human subjects, guinea pigs, rats and rabbits. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1992;53:503-9. doi:10.1080/15298669291360030.
- Kuschner WG, D'Alessandro A, Wong H, Blanc PD. Early Pulmonary Cytokine Responses to Zinc Oxide Fume Inhalation. *Environ Res.* 1997;75:7-11. doi:10.1006/enrs.1997.3765.
- Beckett WS, Chalupa DF, Pauly-Brown A, Speers DM, Stewart JC, Frampton MW, et al. Comparing Inhaled Ultrafine versus Fine Zinc Oxide Particles in Healthy Adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:1129-35. doi:10.1164/rccm.200406-837OC.
- Martin CJ, Le XC, Guidotti TL, Yalcin S, Chum E, Audette RJ, et al. Zinc exposure in Chinese foundry workers. *Am J Ind Med.* 1999;35:574-80. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10332510>.
- Fine JM, Gordon T, Chen LC, Kinney P, Falcone G, Sparer J, et al. Characterization of clinical tolerance to inhaled zinc oxide in naive subjects and sheet metal workers. *J Occup Environ Med.* 2000;42:1085-91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11094787>.
- Zvyagin A V., Zhao X, Gierden A, Sanchez W, Ross JA, Roberts MS. Imaging of zinc oxide nanoparticle penetration in human skin in vitro and in vivo. *J Biomed Opt.* 2008;13:064031. doi:10.1117/1.3041492.
- Ho M, Wu K-Y, Chein H-M, Chen L-C, Cheng T-J. Pulmonary toxicity of inhaled nanoscale and fine zinc oxide particles: Mass and surface area as an exposure metric. *Inhal Toxicol.* 2011;23:947-56. doi:10.3109/08958378.2011.629235.
- Wang D, Li H, Liu Z, Zhou J, Zhang T. Acute toxicological effects of zinc oxide nanoparticles in mice after intratracheal instillation. *Int J Occup Environ Health* 2017;23(1):11-9.
- Sayes CM, Reed KL, Warheit DB. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. *Toxicol Sci.* 2007;97:163-80. doi:10.1093/toxsci/kfm018.
- Cho W-S, Duffin R, Poland CA, Howie SEM, MacNee W, Bradley M, et al. Metal Oxide Nanoparticles Induce Unique Inflammatory Footprints in the Lung: Important Implications for Nanoparticle Testing. *Environ Health Perspect.* 2010;118:1699-706. doi:10.1289/ehp.1002201.
- Cho WS, Duffin R, Howie SEM, Scotton CJ, Wallace WAH, MacNee W, et al. Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn²⁺-dissolution inside lysosomes. *Part Fibre Toxicol.* 2011.
- Morimoto Y, Izumi H, Yoshiura Y, Tomonaga T, Oyabu T, Myojo T, et al. Evaluation of pulmonary toxicity of zinc oxide nanopar-

- ticles following inhalation and intratracheal instillation. *Int J Mol Sci.* 2016;17.
- 19) Adamcakova-Dodd A, Stebounova L V., Kim J, Vorrink SU, Ault AP, O'Shaughnessy PT, et al. Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. *Part Fibre Toxicol.* 2014;11:15. doi:10.1186/1743-8977-11-15.
 - 20) LAM H., CHEN LC, AINSWORTH D, PEOPLES S, AMDUR MO. Pulmonary Function of Guinea Pigs Exposed to Freshly Generated Ultrafine Zinc Oxide with and without Spike Concentrations. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1988;49:333-41. doi:10.1080/15298668891379855.
 - 21) Chuang H-C, Juan H-T, Chang C-N, Yan Y-H, Yuan T-H, Wang J-S, et al. Cardiopulmonary toxicity of pulmonary exposure to occupationally relevant zinc oxide nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2014;8:593-604. doi:10.3109/17435390.2013.809809.
 - 22) Wesselkamper SC, Chen LC, Gordon T. Development of pulmonary tolerance in mice exposed to zinc oxide fumes. *Toxicol Sci* 60: 144-51 (2001)
 - 23) Yousef MI, Mutar TF, Kamel MAE-N. Hepato-renal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats. *Toxicol reports.* 2019;6:336-46. doi:10.1016/j.toxrep.2019.04.003.
 - 24) Kim S-H, Heo Y, Choi S-J, Kim Y-J, Kim M-S, Kim H, et al. Safety evaluation of zinc oxide nanoparticles in terms of acute dermal toxicity, dermal irritation and corrosion, and skin sensitization. *Mol Cell Toxicol.* 2016;12:93-9. doi:10.1007/s13273-016-0012-3.
 - 25) Jo E, Seo G, Kwon J-T, Lee M, Lee B cheun, Eom I, et al. Exposure to zinc oxide nanoparticles affects reproductive development and biodistribution in offspring rats. *J Toxicol Sci.* 2013;38(4):525-30.
 - 26) Hong JS, Park MK, Kim MS, Lim JH, Park GJ, Maeng EH, Shin JH, Kim YR, Kim MK, Lee JK, Park JA, Lim JC, Shin HC, Effect of zinc oxide nanoparticles on dams and embryo-fetal development in rats. *Int J Nanomedicine* 2014;9(2):145-57.
 - 27) Hong JS, Park MK, Kim MS, Lim JH, Park GJ, Maeng EH, Shin JH, Kim MK, Jeong J, Park JA, Kim JC, Shin HC. Prenatal development toxicity study of zinc oxide nanoparticles in rats. *Int J Nanomedicine* 2014;9(2):159-71.
 - 28) El Yamani N, Collins AR, Rundén-Pran E, Fjellsbø LM, Shaposhnikov S, Zienolddiny S, et al. In vitro genotoxicity testing of four reference metal nanomaterials, titanium dioxide, zinc oxide, cerium oxide and silver: towards reliable hazard assessment. *Mutagenesis.* 2017;32:117-26. doi:10.1093/mutage/gew060.
 - 29) Sawai J, Saito I, Kanou F, Igarashi H, Hashimoto A, Kokugan T, et al. Mutagenicity test of ceramic powder which have growth inhibitory effect on bacteria. *J Chem Eng JAPAN.* 1995;28:352-4. doi:10.1252/jcej.28.352.
 - 30) Reis É de M, Rezende AAA de, Santos DV, Oliveria PF de, Nicolella HD, Tavares DC, et al. Assessment of the genotoxic potential of two zinc oxide sources (amorphous and nanoparticles) using the in vitro micronucleus test and the in vivo wing somatic mutation and recombination test. *Food Chem Toxicol.* 2015;84:55-63. doi:10.1016/j.fct.2015.07.008.
 - 31) Larsen ST, Jackson P, Poulsen SS, Levin M, Jensen KA, Wallin H, et al. Airway irritation, inflammation, and toxicity in mice following inhalation of metal oxide nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2016;10:1254-62. doi:10.1080/17435390.2016.1202350.
 - 32) Marrs TC, Colgrave HF, Edginton JAG, Brown RFR, Cross NL. The repeated dose toxicity of a zinc oxide/hexachloroethane smoke. *Arch Toxicol.* 1988;62:123-32. doi:10.1007/BF00570130.
 - 33) ILSI risk science institute workshop participants. The relevance of the rat lung response to particle overload of human risk assessment: A workshop consensus report. *Inhal. Toxicol.* 2000;12:1-17.
 - 34) EC (European Commission). Engineered nanoparticles: Review of health and environmental safety (ENRHES). Project final report. 2010