

二酸化チタンに関する事前コメント

<コメントをいただきたい内容>

- ・厚生労働省からの調査結果の報告資料（参考資料2-4）で示されている二酸化チタンの遺伝毒性に関する見解。特にEFSA が信頼性及び関連性が高いと判断して評価に用いた遺伝毒性試験のデータセット（「2. 毒性試験（8）遺伝毒性試験」の項（P69～）参照）についての解釈。
- ・欧州食品安全機関（EFSA）による二酸化チタンの遺伝毒性に関する見解に対するコメント
- ・その他、上記以外の二酸化チタンに関するコメント

<いただいたコメント>

朝倉専門委員：

動物実験の結果や二酸化チタンの物質としての特性から、遺伝毒性の有無についてどう判断できるかという問題と理解しました。専門外のため、この点については特にコメントはありません。

片桐専門委員：

コメント特になし

澤田専門委員：

現時点では、疫学研究が不十分であることなど踏まえ、厚生労働省の考えに特段のコメントはありません。

田中専門委員：

主に「遺伝毒性」についてのコメントを求められているようですが、専門外ということもあり、これに関してはコメントはございません。

「生殖」の部分と、この部分に関連すると考えられる「吸収」の部分についてコメントさせていただきます。

まず、「吸収」の部分に関してです。

<参考資料2-4>別添1 p.36 EFSA(2021) の段落

EOGRT での F2 世代への投与が「乳汁を通じて暴露」とありますが、

1 これは「単に乳汁保育させた」という意味でしょうか？
2 でしたら、前世代に投与した二酸化チタンが乳汁移行するというデータはあ
3 るのでしょうか（ないのではないかと思います。これを「暴露」と表現できる
4 でしょうか）？
5 それとも、乳汁を収集して二酸化チタンを懸濁して暴露しているのしょう
6 か（そんなことはしないと思います）？
7 記載がしっくり来ません。
8 吸収全般を読ませていただいて、ほとんど吸収されていない（0.0いくつか
9 とか0.00いくつかとかのパーセンテージです）と記載してあると思います。
10 また、分布の項を読ませていただいても、どの臓器にもほとんど蓄積もして
11 いないようです。
12 これらのことが次の「生殖発生毒性」の項へのコメントにつながります。
13
14 次に「生殖・発生毒性」の部分に関してです。
15 <参考資料2-4>別添1 p.59～のEFSAの見解の部分全般に関してで
16 す。
17 ADMEの項では、ほぼ吸収もされないし、精巣への蓄積に関する記述もあ
18 りません。
19 にもかかわらず、精巣毒性（精子への影響も含む）の記載があちこちに出現
20 します。これが二酸化チタンの影響だとすると、この二酸化チタンはどこから
21 来たと考えているのかがわかりません。
22 事実としては、精巣への影響があったのですが、ADMEデータとの整
23 合性がとれていないのではないのでしょうか？
24 また、p.60のF2への暴露に関する記述では、先に「吸収」のところで書
25 いたのと同じ表記があり、私には理解が難しいです。
26

事務局より：

内容につきまして、EFSAの二酸化チタンに関する報告書（2021）を確認したところ、EOGRT試験についてはP32に以下の記載がございました。

The EOGRT study was performed in male and female rats according to OECD TG 443 and good laboratory practice (GLP) compliance. In the F0 generation, E 171 was administered in the diet at doses of 0, 100, 300 or 1,000 mg/kg bw per day from 10 weeks prior to mating until weaning of the F1 generation. The F1 generation received these diets from weaning until PND 4 or 8 of the F2 generation. The F2 generation was exposed through the milk until the termination of the study on PND 4 or PND 8.

論文の記載から推察するには、単に乳汁保育させたということだと思われる
ます。

また、P33 の以下の記載のとおり、EFSA は生後 4～7 日目の F2 の二酸化チタン血中濃度が上がったことから、胎盤又は乳汁に移行していると考えて
いますが、直接的に前世代に投与した二酸化チタンが乳汁移行するというデ
ータはないようです。

4.2.1. Assessment of internal exposure

The Panel noted that the basal diet contained an amount of Ti equivalent to approx. 1.4 mg TiO₂/kg bw per day and that there were variable measurable levels of Ti in blood and urine from control animals. The Panel considered that there were small dose-related increases in Ti concentrations in blood and urine in E 171-treated animals. In particular, the Ti blood concentration in cohort F2 at PND 4–7 was increased after correction for background. This is consistent with exposure via placenta and possibly milk, and thus, the dams must have taken up TiO₂ as well. Data on Ti concentration in urine in parental animals may be not accurate due to possible contact with Ti-containing faeces. The Panel considered that at least a small fraction of the Ti in the mothers' diet was absorbed. Further information is available on Appendix I.

1

2 確認いたしましたところ、厚労省の報告は原著に忠実に作成されているようで、私の
3 コメントは生殖発生毒性にたずさわっていたものの細かい疑問の範囲内にあるのだと
4 思います。

5 乳汁以降の詳細データはないものの、確かに F2 で TiO₂ の血中濃度が上昇
6 しているとの記載があるので、F1 母体から（胎盤もしくは乳汁を介して）移行
7 していると考えるのが妥当であることを納得いたしました。

8 これで、精巣（や精子）に観察された所見をどう判断するか（EFSA の判断に
9 従うことになると思いますが）の問題は残ると思いますが、厚労省の報告書に問
10 題はないので、コメントはありません。

11

12

13 中江専門委員：

14 参考資料 2－4 の内容は、よく整理され、科学的に十分考慮されたものと考え
15 ます。また、前回調査会における広瀬先生、小川先生、そして厚労省御担当者の
16 御説明も、参考資料 2－4 の内容の妥当性を裏付けるものと理解しました。さら

1 に、資料7記された各国当局の判断は、参考資料2-4の内容を支持するもので
2 す。特にヘルスカナダの見解は、説得力が高いと考えます。

3 EFSAの二酸化チタンの遺伝毒性に関する見解については、上記の立場から、
4 自ずと支持しないこととなります。その理由は、厚労省の評価（参考資料2-4
5 および前回調査会での御説明）と各国当局の判断（資料2-7）に記載されてい
6 る通りです。

7 以上より、食品添加物として使用される二酸化チタンの「遺伝毒性」は、その
8 存在自体が否定的であり、仮にあったとしても、少なくとも直接的DNA傷害性
9 によるものでないと考えます。

10
11
12 **前川専門委員**：

13 ・厚生労働省からの調査結果の報告資料（参考資料2-4）で示されている二酸
14 化チタンの遺伝毒性に関する見解。特にEFSAが信頼性及び関連性が高いと
15 判断して評価に用いた遺伝毒性試験のデータセット（「2. 毒性試験（8）遺
16 伝毒性試験」の項（P69～）参照）についての解釈。

17 報告資料の表現について、「あいまいな結果」という文言が何か所か出てき
18 ますが、どういう結果を「あいまいな結果」と解釈したのかが気になりました。
19 特に、参考資料2-4の2. 毒性試験（8）遺伝毒性試験」の項のP72、L6に、
20 「2件の試験（参照171：Shelby, 1993；参照172：Zirak, 2016）であいまい
21 な結果が報告されている。」とあります。

22 一方で、同じくP72、L26以降のHealth Canadaの報告に下記の記載があり
23 ます。

24 全体として、Health Canadaで確認された4件の試験のうち、食品グレー
25 ドのTiO₂がin vivoでの小核または染色体異常誘発能を評価するのに関連性
26 があると考えられたのは2件のみ（参照171：Shelby, 1993；参照170：Shelby
27 & Witt, 1995）であり、これらの試験では、食品中のTiO₂（Unitane® 0～220）
28 に匹敵する被験物質を腹腔内投与した結果、いずれも陰性であったとしてい
29 る。

30 同一の論文（参照171）に関する評価が、EFSAと、Health Canadaで異な
31 る箇所です。

32 「あいまいな結果」の意味するところが不明であり、参照171は、EFSA
33 （2021）が、in vivo小核／染色体異常試験の結果は曝露経路に関係なく主に
34 陽性である（P72、L12）とした根拠となる論文の一つだと思いますので、「あ
35 いまいな結果」を説明したほうがよいかと思いました。

- 1 ・欧州食品安全機関（EFSA）による二酸化チタンの遺伝毒性に関する見解に対
2 するコメント
- 3 EFSAの見解は、不確実性に重きを置いた判断であり、他の海外の関係機関
4 が科学的エビデンスに基づいた判断とは、少し異なるように感じました。
- 5
- 6 ・その他、上記以外の二酸化チタンに関するコメント
- 7 食品添加物としての TiO₂ の評価における妥当性を担保するには、Health
8 Canada が提案する食品グレードの TiO₂ を用いた追加のガイドライン準拠
9 試験の実施が推奨されると思います。
- 10

事務局より：

「あいまいな結果」と解釈した理由のご質問について、厚労省に確認したところ、以下のとおり回答がありました。

<回答>

- ・「あいまいな結果」というのは、「equivocal」を訳した言葉で、遺伝毒性試験などで、陽性とまではいえないグレーな結果のときによく使われる表現です。
- ・Shelby, 1993（参照 171）については、EFSA は equivocal となっており、Health Canada それぞれで専門家判断をいれていると思われまます。

●EFSA 評価書における評価

Equivocal

明確な陽性の判断基準を全て満たしているわけではない（すべての値は、この研究で観察された自然対照値の範囲内であった）。

- 1) 骨髓試験において、MN は 1,000 mg/kg bw で増加し、有意な用量依存傾向を示した。末梢血試験においても MN は増加したが有意ではなかった。
- 2) MN は 1,000 mg/kg bw で増加したが、有意な用量依存傾向は示さなかった。

●Health CANADA 評価書（Health Canada, 2022）における評価

陰性：両試験において（骨髓赤血球、末梢血網状赤血球）

実験 1.

骨髓赤血球では、統計的に有意な正の相関が観察された。最高用量で 1,000PCE あたりの小核細胞数が対照と比較して統計的に有意に増加した

が、明確な用量反応はなく、上昇した試験結果は同じ著者により報告された同じ性別および系統の対照データの範囲内であった。末梢血赤血球における小核形成の証拠はない。

実験 2.

中間用量で 1,000PCE あたりの小核細胞数が対照群と比較して統計的に有意に増加したが、最低用量および最高用量では観察されなかった。増加したデータは、同じ著者によって報告された同性・同系統の対照群のデータ範囲内であった。

試料調製法が TiO₂ 粒子の凝集状態にどのような影響を与えるかは不明である。

1

2 参考資料 2 - 4 中の添付資料 2_遺伝毒性情報一覧 P9 の該当箇所を確認いた
3 しました。

4 私は小核試験の結果の解釈については、専門的知識を持ち合わせておらず、用
5 量依存性がなく、「上昇（増加）した試験結果は同じ著者により報告された同じ
6 性別および系統の対照データの範囲内であった」ものを「あいまいな結果」とす
7 るのか「陰性」とするかという点について EFSA と Health CANADA の解釈の
8 妥当性について、判断が難しいです。

9 また、Health CANADA は、「食品グレードの TiO₂ が in vivo での小核また
10 は染色体異常誘発能を評価するのに関連性があると考えられた」ものを選別に
11 して評価しているようですが、EFSA は、評価書に記載のあるように「入手可能
12 な一連の証拠に基づき」、評価をしているように思います。

13 全体的にみて、COM の報告内容にあるように「EFSA の結論はきわめてリス
14 ク回避傾向の強いもの」という意見に同意します。

15

16

17 **増村専門委員**：

18 ・厚生労働省からの調査結果の報告資料（参考資料 2 - 4）で示されている二酸
19 化チタンの遺伝毒性に関する見解。特に EFSA が信頼性及び関連性が高いと
20 判断して評価に用いた遺伝毒性試験のデータセット（「2. 毒性試験（8）遺
21 伝毒性試験」の項（P69～）参照）についての解釈。

22 遺伝子突然変異：

23 In vitro では、細菌を用いた復帰突然変異試験は、ナノ粒子が細菌内へ取り
24 込まれないことから二酸化チタン粒子の評価には適さない。培養細胞を用い
25 た遺伝子突然変異試験では、陽性陰性結果は一貫していない。使用された二酸
26 化チタン粒子の性質（形状やサイズ等）が試験によって異なり、試験結果との

1 相関性は認められない。使用されている二酸化チタン粒子の性質がさまざま
2 であること、ナノ粒子の遺伝毒性を評価できる標準的な試験条件が確立され
3 ていないこと等の理由により、*in vitro* 試験の解釈は困難。

4 *In vivo* では、トランスジェニック動物遺伝子突然変異試験 2(静脈内投与)、
5 **Pig-a** 遺伝子突然変異試験 3(静脈内、腹腔内、気管内投与)で陰性報告。**pun**
6 マウスの飲水投与で欠失変異の報告 1 件あるものの非ガイドライン試験。

7 データからは二酸化チタン粒子は遺伝子突然変異を誘発しないと考えます。

8 小核/染色体異常：

9 *In vitro* では、標準的な試験で用いない細胞での試験も多く、陽性陰性の報
10 告があり、結果は一貫していない。使用された二酸化チタン粒子の性質(形状
11 やサイズ等)が試験によって異なり、試験結果との相関性は認められない。酸
12 化ストレスの関与が報告されている。

13 *In vivo* では、マウス経口投与試験の 4/5 で陽性。腹腔内投与は 3/7 陽性。
14 静脈内投与は 1/3 陽性。投与経路、使用された二酸化チタン粒子の性質と試験
15 結果は相関性なし。酸化ストレス、炎症の関与。

16 二酸化チタン粒子は小核/染色体異常を誘発する可能性があるが、細胞傷
17 害性の影響も示唆される。食品添加物として摂取する条件で生理学的に生じ
18 る可能性は高くないと考えます。

19 コメントアッセイ：

20 *In vitro* は標準的な試験法でない。*In vivo* も非標準的条件の試験が多い。
21 経口投与で陽性あり。多くの試験で DNA 鎖切断が報告されている。細胞傷害
22 性の関与。酸化ストレス、アポトーシス、炎症等の関与。

23 コメントアッセイ陽性は DNA 損傷性を示唆するが細胞傷害性との区別が
24 難しく、適切なフォローアップ試験がないとエビデンスのレベルは低め。

25 DNA 結合：

26 標準的な試験でない。二酸化チタンが DNA 分子と結合して変異原性を誘発
27 する証拠はない。

28 その他の試験：

29 標準的な試験でなく、結果の解釈は困難。DNA 損傷マーカーとして γ H2AX
30 フォーカス誘導を調べた *in vitro/in vivo* の報告は陽性陰性混在。酸化誘発
31 DNA 損傷マーカー 8-oxodG を調べた *in vitro* 研究の 4/5 で陽性、*in vivo* で
32 も陽性報告あり。他に ROS 関連マーカー(遺伝子発現)、DNA メチル化、細
33 胞形質転換などの報告あり。

34 機序：

35 二酸化チタン粒子が DNA に直接反応して遺伝子突然変異を誘発する明ら

1 かな証拠はない。間接的影響としては酸化損傷、アポトーシス、炎症等の関与
2 が示唆されるが、食品添加物として摂取する条件で生理学的に生じるかどう
3 かは不明。

4
5 ・欧州食品安全機関（EFSA）による二酸化チタンの遺伝毒性に関する見解に
6 対するコメント

7 二酸化チタン粒子が DNA に直接反応して遺伝子突然変異を誘発する明ら
8 かな証拠はない。遺伝毒性試験結果と二酸化チタン粒子の性質（形状やサイズ
9 等）の間に相関性がなく、二酸化チタンが遺伝毒性を誘発するとされる機序が
10 明らかでない。間接的影響としては酸化損傷、アポトーシス、炎症等の関与が
11 示唆されるが、これらが食品添加物として摂取する条件で生理学的に生じる
12 かどうか不明。

13 遺伝毒性の懸念を排除することはできないとの理由から E171 はもはや安
14 全であると判断できないとした EFSA の見解は非常に保守的な立場と考えま
15 す。

16
17 ・その他、上記以外の二酸化チタンに関するコメント

18 食品添加物で使用される二酸化チタンを評価対象にすることが適切と考え
19 ますが、現状そのようなデータは少ないです。

20 経口投与時の二酸化チタン粒子の吸収はわずかと考えられること、また、
21 試験で用いられた二酸化チタン粒子の性質・状態（調製・分散方法含む）
22 は、食品での使用形態、食品中での凝集や他の成分との吸着などを反映して
23 いない可能性があることから、試験で見られた遺伝毒性が食品添加物として
24 摂取したヒトで生じるかどうかは不確実性が高いと考えます。

25 ナノ粒子の遺伝毒性試験は確立された方法がなく、学術論文データに依存
26 するため、エビデンスとしては限定的にならざるをえません。業界サイドの
27 レビューではありますが、以下の文献（机上配付資料2）が参考になります。
28 （二酸化チタンは DNA 直接変異原ではないと結論）

29 Kirkland et al. A weight of evidence review of the genotoxicity of titanium
30 dioxide (TiO₂) Regulatory Toxicology and Pharmacology 136 (2022) 105263

31
32
33 **松井専門委員**：

34 【食品添加物安全性評価検討会による評価結果】に同意します。

35 動物試験における二酸化チタン粒子の有害影響試験結果のヒトにおける添加
36 物二酸化チタン粒子の影響への外挿は不確実性が高いと考えられます。

1 1) 投与方法

2 液状物質と固形物質の胃内の動態は異なっており、胃内半減期はラットで
3 は液状物質で 19 分、固形物質では 56 分 (PMID: 3047699)、マウスではそ
4 れぞれ 14.8 分、28.4 分 (PMID: 12843228) と報告されています。したがっ
5 て、同時に摂取された液状物質と固形物質は胃内で十分には混和されないで
6 しょう。これから、液体として投与されたかなりの部分の二酸化チタン粒子は、
7 投与した形態のまま高い濃度で小腸に達することが推察されます。

8 ヒトの食事に含まれるたん白質やその他の分子が二酸化チタン粒子に結合し
9 その結果、粒子の物理的・化学的特性が変化し、細胞、組織、臓器との相互作
10 用の仕方に影響を与えるので、Health Canada は食餌性の研究結果を最も重
11 視すべきであるとしています。

12 有害影響が認められた Trouiller (2009 参照 141) の in vivo 遺伝子突然変異
13 試験は飲水投与試験であり、in vivo 小核/染色体異常試験、in vivo コメッ
14 トアッセイはいずれも強制経口投与でした。これらは懸濁液投与だと思いま
15 す。有害影響の結果を解釈する際に、投与方法に留意する必要があると考えます。

16 2) 二酸化チタン粒子の形態

17 in vivo コメットアッセイでは、添加物である E171 を用いた 2 試験ではど
18 ちらも陰性でした。一方、Murugadoss (2020) の一部 (平均粒子径 117 nm)
19 を除き、陽性だった 6 試験は平均粒子径が 7.5-35 nm でした。有害影響の結
20 果を解釈する際に、この点にも留意する必要があると思います。

21 このように比較的粒子径が大きい場合は、一貫した結果になっていません。

22

23

24 横平専門委員 :

25 参考資料 2-4 の最後の結論部分、「現時点ではヒトの健康 に安全性上の懸
26 念を示唆する決定的な証拠は提示されておらず、直ちに使用を差し控える必要
27 はないと判断された。但し、二酸化チタンの安全性に関する情報については継続
28 的に国内外の情報を収集し、新たな科学的知見が得られた場合には適宜安全性
29 評価を行うことが推奨される。」に賛同します。

30

31 今回とりあげられている二酸化チタンは粒径や形状の条件はなく、小さいも
32 の大きいもの、球状や針状、その他をすべて含んで評価すると理解します。

33 一般的な粒子の体内動態として、粒径が大きいと消化管で吸収されにくいも
34 のの、一旦血中に入ると排泄されにくい、

1 粒径が小さいと消化管で吸収されやすいが、体外への排泄もされやすいと考
2 えます。このことから、生体内の排泄や異物処理機能の関与がほとんどない培養
3 系実験の結果は参考程度しかならないと思います。

4 また、一般的に針状の粒子はアスベストのように体内で腫瘍化に関与する危
5 険性がありますが、球状粒子はその可能性は低いとされていると思います。

6
7 その上で、

8 「国衛研で実施した一次粒径 6 nm のアナターゼ型酸化チタンを使用したラ
9 ット 90 日間強制経口投与毒性試験では、雌雄とも 1,000mg/kg 体重/日の用量
10 まで、体重、臓器重量、血液学的検査、血液生化学検査に投与に関連した変化
11 は認めなかった。」

12 という実験結果は、

13 「現時点ではヒトの健康に安全性上の懸念を示唆する決定的な証拠は提示
14 されておらず、直ちに使用を差し控える必要はないと判断された」

15 をサポートするものと考えます。

16
17 ただし、

18 * 生体への吸入暴露や血中投与など経口投与以外での発癌性評価

19 * 針状の二酸化チタンの発癌性評価

20 はデータが少なく、危険性を完全には排除できないと思います。

21 よって、冒頭で書いた結論の後半部分、

22 「但し、二酸化チタンの安全性に関する情報については継続的に国内外の情
23 報を収集し、新たな科学的知見が得られた場合には適宜安全性評価を行うこと
24 が推奨される。」」

25 についてもその通りだと考えます。

26
27
28 **梅村専門参考人**：

29 遺伝毒性のデータセットの中で陽性、陰性結果が混在しています。このよう
30 なケースはこれまでもありました。多くの試験で陰性の結果が得られている中
31 で少数の陽性結果が報告されている際に、その陽性結果を考慮する場合は、そ
32 の試験報告の年代が新しい場合で試験の質が評価に十分である場合であると思
33 います。今回はそういう観点からすると、一部の陽性結果に引きずられる必要
34 はないように思います。しかし、厳密に試験の質のところは遺伝毒性の専門家
35 ではないので私には良くわかりませんが、被験物質の性状の情報がないような
36 試験は信頼性のない試験であると思います。また、遺伝毒性の発現機序に関す

1 る EFSA のコメントはあまりに不確定な部分が多いように思います。酸化ス
2 トレスの関与を示唆していますが、この辺りは実験的に立証していくことが必
3 要であると思います。

4
5
6 **多田専門参考人**：

7 二酸化チタンに係る件、現時点で私の方からは特に意見はございません。

8
9
10 **頭金専門参考人**：

11 遺伝毒性試験の結果の解釈は遺伝毒性の専門家の意見を尊重したいと思いま
12 すが、参考資料 2 - 4 の最初のページの 2 段落目から次のページの 4 段落目に
13 記載されている遺伝毒性試験結果へのコメントは妥当と思います。

14
15
16 **戸塚専門参考人**：

17 食品添加物安全性評価検討会による評価結果を支持致します。

18 まず、二酸化チタンには直接的な DNA への結合作用（付加体生成などの）
19 はないと考えます。

20 また、二酸化チタンより起こる小核や染色体異常は炎症や酸化ストレスなど
21 による 2 次的な反応の結果、引き起こされていると考えられる。

22 さらに、ナノマテリアルの場合には一般的に粒径が小さい方が細胞内への取
23 り込みの面からも毒性が高くなることが推測されているが、食品添加物グレー
24 ドの二酸化チタンよりも粒径の小さい被検物質を使用した場合の結果から考え
25 ても、食品添加物グレードの二酸化チタンを添加物として使用する程度の微量
26 であれば、特に問題はないと考えます。

27
28
29 **北條専門参考人**：

30 専門外のことであるので私からのコメントはありません。