

二酸化チタンの安全性に関する情報収集及び評価について

厚生労働省健康・生活衛生局食品基準審査課

国立医薬品食品衛生研究所の専門家に依頼し、二酸化チタンの安全性について情報収集及び評価を実施いたしましたので、以下のとおり報告いたします。

【報告概要】

EFSA が 2021 年に食品添加物としての二酸化チタン（E171）に関する安全性評価を実施し、欧州連合（EU）において 2022 年 1 月に食品添加物としての使用の禁止が決定されたことを背景に、本邦において指定添加物である二酸化チタンの安全性について最新の情報をもとに評価を実施した。

安全性情報の評価は国立医薬品食品衛生研究所（以下「国衛研」という。）により実施し、安全性情報の収集は一般財団法人化学物質評価研究機構にて実施した。安全性情報の収集においては、国際機関及び諸外国において報告された評価書の概要作成、海外の評価書で引用された毒性試験情報の収集及び概要作成、二酸化チタンの有害性に関する主に 2021 年以降の新規文献の情報収集及びその概要作成を行った（別添 1）。さらに、それらの新規文献のうち、34 報について詳細な情報収集を行い、その収集結果に基づいた概要作成を行った（別添 2）。国衛研で実施されたナノサイズの二酸化チタンの安全性試験結果及び委託施設で作成された二酸化チタンの安全性評価のための情報収集報告書（別添 1 及び 2）に基づき、複数の専門家から構成された食品添加物安全性評価検討会において、対象品目の安全性に関する評価を実施した。

【食品添加物安全性評価検討会による評価結果】

EFSA は食品添加物としての二酸化チタン（E171）に関して、信頼できると見なされた科学的証拠に基づいて安全性評価を行なった結果、遺伝毒性の懸念が排除できず、多くの不確実性を考慮した上で、もはや安全であると見なすことができなくなると 2021 年に結論付けた¹⁾。この結論は、2009 年及び 2016 年に EFSA が公開した安全性評価に加えて 2016 年以降に得られたデータを含めて再評価した結論である。この結論を受け、欧州連合（EU）において 2022 年 1 月に食品添加物としての使用の禁止が決定されている。食品添加物安全性評価検討会（以下、「本検討会」）において、入手可能な国内外での二酸化チタンに関する安全性評価に関する資料、及び国衛研で実施されたナノサイズの二酸化チタンの安全性試験結果等を踏まえ、二酸化チタンの安全性について評価を行った。

二酸化チタンの一般毒性について、これまで報告されている毒性試験報告では、二酸化チ

タン及びそのナノ粒子による顕著な毒性を示す証拠は確認されていない（別添 1、「2.毒性試験（1）亜急性毒性試験及び慢性毒性試験」の項参照）。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ット 90 日間強制経口投与毒性試験では、雌雄とも 1,000 mg/kg 体重/日の用量まで、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は認めなかった。また、病理組織学的検査において回腸パイエル板等のリンパ組織に被験物質の沈着がみられたことから、消化管から生体内に微量ながら取り込まれることが示唆されているが、主要臓器におけるチタンの負荷量は対照群と二酸化チタン投与群との間に差は認められず、また、二酸化チタンに起因すると考えられる炎症反応や組織障害性は認められなかったことから、当該試験の NOAEL は高用量群の 1,000 mg/kg 体重/日と結論されている²⁾。

二酸化チタンの遺伝毒性は、EFSA の安全性評価において最も重視された毒性である。EFSA は、二酸化チタンナノ粒子が DNA 切断及び染色体損傷を誘発する可能性があり、安全性に関する不確実性を考慮した上で、遺伝毒性の懸念が排除できないと評価した。しかし、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（別添 1、「2.毒性試験（8）遺伝毒性試験」の項参照）には、以下に示すように疑問点がある。

- *In vitro* 遺伝子突然変異試験において、HPRT 試験及び *gpt* delta トランスジェニックマウスの初代肺線維芽細胞を用いた Spi-遺伝子突然変異試験において陽性の結果が示されている³⁻⁴⁾。一方、V79-4 細胞及びチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 の HPRT アッセイでは陰性の結果が報告されている⁵⁻⁷⁾。
- *In vivo* 遺伝子突然変異試験において、妊娠 C57BL/6Jpun/pun マウスに二酸化チタンを飲水投与し胎児の *in vivo* DNA deletion assay を行った結果、DNA 欠失がみられたとの報告があるが⁸⁾、他の *in vivo* 遺伝子突然変異試験では遺伝子突然変異誘発性を示唆する結果は確認されていない。
- *In vivo* 小核／染色体異常試験において、EFSA で評価された経口、腹腔、静脈内投与による試験については曝露経路によらず陽性の結果が示されているが⁹⁻¹⁵⁾、これらの試験に使用された二酸化チタンの性状については不明である。一方、ヘルスカナダにおいて、食品添加物グレードの二酸化チタンを用い実施された *in vivo* 小核／染色体異常試験が評価され、結果は陰性であった¹⁶⁻¹⁷⁾。ヘルスカナダでは、結果の相違は、試験に使用した二酸化チタンの性状に依存している可能性があるため、試験結果を比較することの妥当性は低く、食品グレードの二酸化チタンを経口投与し適切な標的組織を検討することが推奨されるとしている。
- 一次粒径 6 nm のアナターゼ型酸化チタンを使用したラット 90 日間強制経口投与毒性試験²⁾では、対照群を含む全ての個体の肝臓、腎臓及び脾臓で背景値と考えられる定量下限以上のチタンが検出されているが、群間に差は認められていない。このように一般的な食品添加物グレードの二酸化チタンよりも小さな粒子径サイズの酸化チタンを用

いた実験結果を考慮すると、食品添加物グレードの二酸化チタンの消化管からの吸収性は極めて低いと考えられる。そのため、経口投与された二酸化チタンが、遺伝毒性を誘発させることを説明できる濃度で骨髄などの標的組織に到達していたことが前提となる、上述の *in vivo* 遺伝子突然変異試験及び *in vivo* 小核／染色体異常試験での陽性結果を合理的に説明することは困難である。

海外における安全性評価として、EFSA が 2021 年 7 月に公開した二酸化チタンの安全性評価に関する結論に対し、英国、カナダ、ニュージーランド・豪州において二酸化チタンの安全性についての評価結果が公表されている。これらの何れの国からも EFSA の結論は支持されておらず、食品添加物としての二酸化チタンの安全性についてヒト健康に懸念を及ぼす決定的な科学的証拠はないと判断されている。なお、米国 FDA においては、二酸化チタンの食品添加物としての使用に関する規制に変更は生じていない（別添 1、「4.「国際機関等における安全性評価」の項参照」）。

以上を踏まえ、*in vitro/in vivo* 遺伝毒性試験結果と二酸化チタン粒子の物理化学的性状との関係には明らかな相関性や一貫した結果は認められないこと、食品中の二酸化チタンの物性を反映した結果といえるか疑義があること、二酸化チタン粒子によって誘発されたと報告された遺伝毒性の結果の妥当性が示されていないこと等から、EFSA が導きだした結論の根拠は稀薄である。また、2021 年以降に二酸化チタンの遺伝毒性の懸念を決定付ける新たな遺伝毒性に関する情報は確認されておらず（別添 1 及び 2）、現時点では、遺伝毒性の懸念が排除できないと結論することは困難と考えられる。

したがって、二酸化チタンの遺伝毒性を含めた安全性については、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。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が推奨される。

【参考文献】

- 1) EFSA FAF Panel (EFSA Panel on Food Additive and Flavourings), 2021. Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. EFSA Journal 2021;19(5): e06585
- 2) 令和 3 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）、分担研究報告書、ナノ酸化チタン及びナノ銀の経口反復投与毒性と体内動態解析、小川久美子
- 3) Chen Z, Wang Y, Ba T, Li Y, Pu J, Chen T, Song Y, Gu Y, Qian Q, Yang J and Jia G, 2014. Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. Toxicology Letters, 226, 314–319.

- 4) Jain AK, Senapati VA, Singh D, Dubey K, Maurya R and Pandey AK, 2017. Impact of anatase titanium dioxide nanoparticles on mutagenic and genotoxic response in Chinese hamster lung fibroblast cells (V-79): the role of cellular uptake. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 105, 127–139.
- 5) Xu A, Chai Y, Nohmi T and Hei TK, 2009. Genotoxic responses to titanium dioxide nanoparticles and fullerene in gpt delta transgenic MEF cells. *Particle and Fibre Technology*, 6, 3.
- 6) Kazimirova A, El Yamani N, Rubio L, Garc'ia-Rodr'iguez A, Barancokova M, Marcos R and Dusinska M, 2020. Effects of titanium dioxide nanoparticles on the hprt gene mutations in V79 hamster cells. *Nanomaterials*, Basel, 10.
- 7) Wang S, Hunter LA, Arslan Z, Wilkerson MG and Wickliffe JK, 2011. Chronic exposure to nanosized, anatase titanium dioxide is not cyto- or genotoxic to Chinese hamster ovary cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52, 614–622.
- 8) Trouiller B, Reliene R, Westbrook A, Solaimani P and Schiestl RH, 2009. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. *Cancer Research*, 69, 8784–8789.
- 9) Shukla RK, Kumar A, Vallabani NV, Pandey AK and Dhawan A, 2014. Titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress triggers DNA damage and hepatic injury in mice. *Nanomedicine (Lond)*, 9, 9.
- 10) Chakrabarti S, Goyary D, Karmakar S and Chattopadhyay P. 2019. Exploration of cytotoxic and genotoxic endpoints following sub-chronic oral exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology and Industrial Health*. 35: 577–592.
- 11) Manivannan J, Banerjee R and Mukherjee A. 2020. Genotoxicity analysis of rutile titanium dioxide nanoparticles in mice after 28 days of repeated oral administration. *The Nucleus*. 63: 17–24.
- 12) Lotfi A, Zirak RG, Moghadam MS and Pazooki N. 2016. Effects of the interaction of nanorutile TiO₂ with vincristine sulfate on chromosomal abnormalities in vivo. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 7: 1083–1093.
- 13) El-Ghor AA, Noshay MM, Gala A and Mohamed HRH, 2014. Normalization of nano-sized TiO₂-induced clastogenicity, genotoxicity and mutagenicity by chlorophyllin administration in mice brain, liver, and bone marrow cells. *Toxicological Sciences*, 142, 21–32.
- 14) Fadoju O, Ogunsuyi O, Akanni O, Alabi O, Alimba C, Adaramoye O, Cambier S, Eswara S, Gutleb AC and Bakare A, 2019. Evaluation of cytogenotoxicity and oxidative stress parameters in male Swiss mice co-exposed to titanium dioxide and zinc oxide

- nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 70.
- 15) Dobrzynska MM, Gajowik A, Radzikowska J, Lankoff A, Dusinska M and Kruszewski M, 2014. Genotoxicity of silver and titanium dioxide nanoparticles in bone marrow cells of rats in vivo. *Toxicology*, 315, 86–91.
 - 16) Shelby MD and Witt KL, 1995. Comparison of results from mouse bone marrow aberration and micronucleus test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 25, 302–313.
 - 17) Shelby MD, Erexson GL, Hook GJ and Tice RR, 1993. Evaluation of a three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol: results with 49 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 21, 160–179.

以上

食品添加物「二酸化チタン」の安全性評価のための
情報収集等
報告書

令和 4 年 12 月

一般財団法人化学物質評価研究機構

目 次

1. 目的	1
2. 業務内容	1
3. 調査方法	1
3.1 調査対象情報源	1
3.2 情報整理	2
4. 調査結果	2

添付資料

- 添付資料 1 二酸化チタンの概要書
- 添付資料 2 遺伝毒性情報一覧
- 添付資料 3 収集した国際機関等の評価書及び原著論文リスト

1. 目的

食品添加物「二酸化チタン」の安全性評価書（以下、「二酸化チタン評価書」）の作成に資する資料として、仕様書の別添に示された構成案に基づく情報の収集及び整理を行った。

2. 業務内容

二酸化チタンに関して、仕様書の別添に示された下記 I～IV の項目の情報の収集及び整理を行った。

- | |
|---|
| <p>I. 添加物の概要</p> <ol style="list-style-type: none">1. 名称及び用途2. 起源又は発見の経緯3. 諸外国における使用状況4. 国際機関等における安全性評価5. 物理化学的性質6. 使用基準 <p>II. 有効性に関する知見</p> <p>III. 安全性に係る知見</p> <ol style="list-style-type: none">1. 体内動態試験2. 毒性試験3. ヒトにおける知見4. 一日摂取量の推計等 <p>IV. まとめ</p> |
|---|

3. 調査方法

3.1 調査対象情報源

以下に示す情報源を対象に情報の収集及び整理を行った。

- 告示規格基準
- 食品添加物公定書;解説書
- 各国
- 委託者提供情報
 - 事象査提供資料（食品添加物 二酸化チタンに関する調査結果の報告）
 - 令和3年度指定添加物の安全性に関する試験、二酸化チタンの粒子径等の測定調査（最終報告書）、平林容子
 - 令和3年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）分担研究報告書、ナノ酸化チタン及びナノ銀の経口反復投与毒性と体内動態解析、小川久美子
- 各国評価書
 - EFSA FAF Panel (EFSA Panel on Food Additive and Flavourings), 2021. Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. EFSA Journal 2021;19(5):e06585

- Health Canada, 2022. State of the Science of Titanium Dioxide (TiO₂) as a Food Additive.
- Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Interim position paper on titanium dioxide. 2021
- FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Titanium Dioxide as a Food Additive, Food Standards Australia New Zealand 2022.
- JECFA TRS 445: Specifications for the Identity and Purity of Food Additives and their Toxicological Evaluation. 1970.

3.2 情報整理

各項目の記載事項は仕様書の別添の記載方針に従った。このうち「Ⅲ. 安全性に係る知見」の「2. 毒性試験」については、EFSA による評価書で引用された毒性試験情報のうち、「1, 体内動態試験」、「2. 毒性試験」に該当する毒性試験情報について概要を試験毎に 700 字程度までの文章でまとめた。また、遺伝毒性試験データについては、*in vitro* 試験と *in vivo* 試験別に、サンプル情報（粒径、比表面積等）、試験系、試験材料、処理（暴露）条件、用量、結果、根拠文献（信頼度含む）と引用元等をまとめた一覧表を作成した。

EFSA による評価書で引用された 2020 年の文献以降に報告された文献について PubMed を用いて検索し、二酸化チタンの有害性に関する新規文献を収集した（検索ワードとして titanium dioxide & food additives, titanium dioxide & food additives & toxicity, titanium dioxide & food additives & genotoxicity を使用）。検索で得られた各文献の文献情報（著者名、発表年、タイトル、雑誌名等の書誌情報）のリストを作成するとともに、必要に応じて概要書に含めた。

4. 調査結果

仕様書の別添に示された項目に沿って作成した二酸化チタンの概要書を添付資料 1 に示す。また、遺伝毒性試験データの整理表を添付資料 2 に、収集した国際機関等の評価書及び原著論文リストを添付資料 3 に示す。

以上

I. 添加物の概要

1. 名称及び用途

1) 名称（参照 X：第 9 版食品添加物公定書）

和名：二酸化チタン

英名：Titanium Dioxide（CAS 番号：13463-67-7）

INS 番号：171

2) 用途

二酸化チタンは、着色料としての用途が認められている。ただし、タール色素と同様にカステラ、きなこ、魚肉漬物、鯨肉漬物、コンブ類、しょう油、食肉、食肉漬物、スポンジケーキ、鮮魚介類（鯨肉を含む）、茶、のり類、マーマレード、豆類、みそ、めん類（ワシタンを含む）、野菜及びワカメ類には使用を認められていない（参照 1：食品添加物公定書解説書 2018）。

2. 起源又は発見の経緯

チタンは地表付近で 10 番目に存在量の多い元素で、たいていの岩石、土壌中に含まれている。二酸化チタンとしては鉾石のルチン、板チタン石、鋭錐石の主成分として分布している。食品添加物としてはカナダ、米国など多くの国で使用が認められており、JECFA では 1969 年において ADI の設定は必要ないと評価され、A(1)リストに収載した。わが国では昭和 58 年 8 月 27 日、食品添加物に指定された（参照 1：食品添加物公定書解説書 2018）。

3. 諸外国における使用状況

（1）コーデックス 食品添加物の一般基準

CODEX GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES CODEX STAN 192-1995

コーデックス食品添加物の一般基準（GSFA）には、二酸化チタンが着色料として収載されている。二酸化チタンを着色料として使用できる食品をまとめた基準（表 3）を以下に記載する（参照 2：CODEX 2016）。表 3 に掲載されている食品添加物は、GMP の一般原則¹に従った使い方であれば、目的の効果を達成するために必要な分だけ使用できる。二酸化チタンは 1999 年に表 3 に収載された。

TABLE THREE: Additives Permitted for Use in Food in General, Unless Otherwise Specified, in

¹ GMP（適正製造規範）の一般原則：以下の全ての条件を含む。

- a) 食品に添加する添加物の量は、目的の効果を達成するために必要とする量で、可能な限り少ない量に制限しなければならない。
- b) 食品の製造、加工又は包装において使用した結果、食品の一構成要素となり、かつ当該食品においていかなる物理的又はその他の技術的効果も意図していない添加物の量は、合理的に可能な範囲で低減する。かつ
- c) 添加物は、食品への添加に適切な品質であり、食品の原材料と同様の方法で調整し、取り扱う。

Accordance with GMP

表 3：GMP に基づき、特に指定のない限り、食品全般への使用が認められている添加物*1

食品分類 番号	食品分類
01.1.4	Flavoured fluid milk drinks 着香乳飲料
01.3	Condensed milk and analogues (plain) 練乳及び類似製品（プレーン）
01.4.3	Clotted cream (plain) クロテッドクリーム（プレーン）
01.4.4	Cream analogues クリーム類似製品
01.5	Milk powder and cream powder and powder analogues (plain) 粉乳及び粉末クリーム並びに粉末類似製品（プレーン）
01.6.1	Unripened cheese 未熟成チーズ
01.6.2	Ripened cheese 熟成チーズ
01.6.4	Processed cheese プロセスチーズ
01.6.5	Cheese analogues チーズ類似製品
01.7	Dairy-based desserts (e.g. pudding, fruit or flavoured yoghurt) 乳を主原料とするデザート（プリン、フルーツ、フレーバーヨーグルト等）
01.8.1	Liquid whey and whey products, excluding whey cheeses ホエイチーズを除く液体ホエイ及びホエイ製品
02.2.2	Fat spreads, dairy fat spreads and blended spreads ファットスプレッド、乳脂肪スプレッド、及びブレンドスプレッド
02.3	Fat emulsions mainly of type oil-in-water, including mixed and/or flavoured products based on fat emulsions 脂肪乳剤に基づく混合製品及び/または風味付けされた製品を含む、主に水中油型の脂肪乳剤
02.4	Fat-based desserts excluding dairy-based dessert products of food category 01.7 食品分類 01.7 の乳を主原料とするデザート製品を除く脂肪を主原料とするデザート
03.0	Edible ices, including sherbet and sorbet シャーベット及びソルベを含む食用氷
04.1.2	Processed fruit 加工果実
04.2.2.2	Dried vegetables (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), seaweeds, and nuts and seeds 乾燥野菜（キノコ類、根・塊茎、豆類・マメ科植物、及びアロエを含む）、海藻、並びに種実類
04.2.2.3	Vegetables (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), and seaweeds in vinegar, oil, brine, or soybean sauce

食品分類 番号	食品分類
	酢、油、塩水、又は醤油漬け野菜（キノコ類、根・塊茎、豆類・マメ科植物、及びアロエを含む）、海藻、並びに種実類
04.2.2.4	Canned or bottled (pasteurized) or retort pouch vegetables (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), and seaweeds 缶詰、瓶詰（低温殺菌済み）、又はレトルトの野菜（キノコ類、根・塊茎、豆類・マメ科植物、及びアロエを含む）及び海藻
04.2.2.5	Vegetable (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), seaweed, and nut and seed purees and spreads (e.g., peanut butter) 野菜（キノコ類、根・塊茎、豆類・マメ科植物、及びアロエを含む）、海藻、並びに種実類のピューレ及びスプレッド（ピーナッツバター等）
04.2.2.6	Vegetable (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), seaweed, and nut and seed pulps and preparations (e.g. vegetable desserts and sauces, candied vegetables) other than food category 04.2.2.5 食品分類 04.2.2.5 以外の野菜（キノコ類、根・塊茎、豆類・マメ科植物、及びアロエを含む）、海藻、並びに種実類のパल्प及び調製品（野菜のデザート及びソース、砂糖漬け野菜等）
04.2.2.8	Cooked or fried vegetables (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), and seaweeds 加熱調理又は油で揚げた野菜（キノコ類、根・塊茎、豆類・マメ科植物、及びアロエを含む）及び海藻
05.0	Confectionery 菓子類
06.3	Breakfast cereals, including rolled oats ロールドオートを含む朝食用シリアル
06.4.3	Pre-cooked pastas and noodles and like products 調理済みパスタ及び麺類並びに類似製品
06.5	Cereal and starch based desserts (e.g. rice pudding, tapioca pudding) 穀物及びデンプンを主原料とするデザート（ライスペディング、タピオカプディング等）
06.6	Batters (e.g. for breading or batters for fish or poultry) 衣用生地（魚や家禽用のパン粉又は衣用生地等）
06.7	Pre-cooked or processed rice products, including rice cakes (Oriental type only) 餅（東洋のタイプに限る）を含む加熱調理済み又は加工済みの米製品
06.8	Soybean products (excluding soybean-based seasonings and condiments of food category 12.9) 大豆製品（食品分類 12.9 の大豆を主原料とする香味料及び調味料を除く）
07.0	Bakery wares ベーカリー製品
08.2	Processed meat, poultry, and game products in whole pieces or cuts 食肉、家禽肉、及び猟鳥獣肉の加工品（ホール又はカット）
08.3	Processed comminuted meat, poultry, and game products ひき肉処理された食肉、家禽肉、及び猟鳥獣肉の加工品
08.4	Edible casings (e.g. sausage casings) 食用ケーシング（ソーセージのケーシング等）

食品分類 番号	食品分類
09.3	Semi-preserved fish and fish products, including mollusks, crustaceans, and echinoderms 軟体動物、甲殻類、及び棘皮動物を含む半保存魚類・水産製品
09.4	Fully preserved, including canned or fermented fish and fish products, including mollusks, crustaceans, and echinoderms 缶詰又は発酵したものを含めて、完全保存された軟体動物、甲殻類、及び棘皮動物を含む 魚類・水産製品
10.2.3	Dried and/or heat coagulated egg products 乾燥及び／又は加熱凝固させた卵製品
10.3	Preserved eggs, including alkaline, salted, and canned eggs アルカリ化、塩蔵、及び缶詰にした卵を含む保存卵
10.4	Egg-based desserts (e.g. custard) 卵を主原料とするデザート（カスタード等）
11.6	Table-top sweeteners, including those containing high-intensity sweeteners 高甘味度甘味料を含有するものを含む卓上甘味料
12.2.2	Seasonings and condiments 香昧料及び調味料
12.3	Vinegars 酢
12.4	Mustards マスタード
12.5	Soups and broths スープ及びブロス
12.6	Sauces and like products ソース及び類似製品
12.7	Salads (e.g. macaroni salad, potato salad) and sandwich spreads excluding cocoa- and nut-based spreads of food categories 04.2.2.5 and 05.1.3 サラダ（マカロニサラダ、ポテトサラダ等）並びに食品分類 04.2.2.5 及び 05.1.3 のココア及びナッツを主原料とするスプレッドを除くサンドイッチスプレッド
12.8	Yeast and like products 酵母及び類似製品
12.9	Soybean-based seasonings and condiments 大豆を主原料とする香昧料及び調味料
12.10	Protein products other than from soybeans 大豆由来以外のタンパク質製品
13.3	Dietetic foods intended for special medical purposes (excluding products of food category 13.1) 特殊医療用の特別食（食品分類 13.1 の製品を除く）
13.4	Dietetic formulae for slimming purposes and weight reduction 瘦身及び減量を目的とする調整食
13.5	Dietetic foods (e.g. supplementary foods for dietary use) excluding products of food categories 13.1 - 13.4 and 13.6 食品分類 13.1～13.4 及び 13.6 の製品を除く 特別食（食事用の補助食品等）

食品分類 番号	食品分類
13.6	Food supplements 食品サプリメント
14.1.4	Water-based flavoured drinks, including "sport," "energy," or "electrolyte" drinks and particulated drinks 「スポーツ」、「エネルギー」、又は「電解質」飲料、及び粒子を含む飲料などの水を主原料とする香料入り飲料
14.2.1	Beer and malt beverages ビール及び麦芽酒
14.2.2	Cider and perry リンゴ酒及びペリー
14.2.4	Wines (other than grape) ワイン（ブドウ以外）
14.2.5	Mead ハチミツ酒
14.2.6	Distilled spirituous beverages containing more than 15% alcohol アルコール分が 15%を超える蒸留アルコール飲料
14.2.7	Aromatized alcoholic beverages (e.g. beer, wine and spirituous cooler-type beverages, low alcoholic refreshers) 混成アルコール飲料（ビール、ワイン及び蒸留酒のクーラータイプの飲料、低アルコールの清涼飲料等）
15.0	Ready-to-eat savouries そのまま食べられる香味製品
16.0	Prepared foods 調理済み食品

*1 GSFA の食品分類とは別に、個別食品規格の分類においても使用が認められる食品の規格が定められている。この分類のうち、CS 319-2015（特定の果物缶詰の規格）に該当する食品では special holiday pack canned pears のみ、CS 272-1968（「Provolone」の規格）に該当する食品ではチーズ塊のみに使用できる。また、表 3 への記載はないが、GSFA の食品分類 01.1.1（乳及びバターミルク（プレーン））に該当する食品のうち加熱処理されたバターミルク及び食品分類 12.2.1（ハーブ及び香辛料）に該当する食品のうち香辛料にも使用できる（参照 2：CODEX 2016）。

（２） 欧州連合（EU）における使用状況

二酸化チタン（E 171）は、食品添加物に関する規則（EU Regulation(EC) No.1333/2008）附属書 II のパート B（添加物として食品への使用が認められる全ての物質のリスト）に収載されており、パート C でグループ II（食品添加物として適量（*quantum satis*）²の添加が認められる食品着色料）に分類されていた。しかし、2022 年 1 月 14 日付の食品添加物としての二酸化チタン（E171）に関する規則（Commission Regulation (EU) 2022/63）によって食品への使用認可が取り消され、2022 年 8 月 7 日までの段階的廃止期間を経て、二酸化チタンを使用した食品の上市は禁止された（参照 3：EC Regulation 2022）。なお、適切な代替品が開

² 適量（*quantum satis*）とは、使用限度量は設定されていないものの、物質の使用に際しては GMP に従い、意図した目的を達成するための必要量以上を使用してはならず、消費者に誤解を招くような使用の仕方はしてはならないことを意味する。

発されるまで、医薬品の着色料としての使用は認められるとして、附属書 II パート B には E 171 が引き続き収載されている。

食品への使用認可が取り消される前の EU Regulation(EC) No.1333/2008 における二酸化チタンに関する規定を以下に抜粋して記載する（参照 4：EC Regulation 2008）。

PART A Table 1 Foods in which the presence of an additive may not be permitted by virtue of the carry over principle set out in Article 18(1)(a) of Regulation (EC) No 1333/2008

パート A 表 1 Regulation (EC) No 1333/2008 の Article 18(1)(a) に規定されるキャリーオーバーの原則により、添加物の存在が認められない可能性がある食品

1	Unprocessed foods as defined in Article 3 of Regulation (EC) No 1333/2008, excluding meat preparations as defined by Regulation (EC) No 853/2004 規則(EC) No 1333/2008 の第 3 条に定義される未加工食品で、規則(EC) No 853/2004 に定義される食肉調製品を除く
2	Honey as defined in Council Directive 2001/110/EC 理事会指令 2001/110/EC に定義される蜂蜜
3	Non-emulsified oils and fats of animal or vegetable origin 動物性または植物性の非乳化油脂
4	Butter バター
5	Unflavoured pasteurised and sterilised (including UHT) milk and unflavoured plain pasteurised cream (excluding reduced fat cream) 無香料低温殺菌牛乳及び無香料低温殺菌クリーム（低脂肪クリームを除く）
6	Unflavoured fermented milk products, not heat-treated after fermentation 無加工の発酵乳製品で、発酵後に熱処理をしていないもの
7	Unflavoured buttermilk (excluding sterilised buttermilk) 無香料バターミルク（殺菌バターミルクを除く）
8	Natural mineral water as defined in Directive 2009/54/EC of the European Parliament and of the Council and spring water and all other bottled or packed waters 欧州議会及び理事会指令 2009/54/EC に定義される天然ミネラルウォーター、湧水、その他全てのボトル入りまたはパック入りの水
9	Coffee (excluding flavoured instant coffee) and coffee extracts コーヒー（インスタントのフレーバーコーヒーを除く）及びコーヒーエキス
10	Unflavoured leaf tea 無香料茶葉
11	Sugars as defined in Council Directive 2001/111/EC 理事会指令 2001/111/EC に定義される糖類

12	Dry pasta, excluding gluten-free and/or pasta intended for hypoproteic diets, in accordance with Directive 2009/39/EC of the European Parliament and of the Council 欧州議会及び理事会指令 2009/39/EC に基づく、グルテンフリー及び/又は低タンパク食用のパスタを除く乾燥パスタ
13	Foods for infants and young children as referred to in Regulation (EU) No 609/2013, including foods for special medical purposes for infants and young children 規則(EU) No 609/2013 にある乳幼児向け食品、乳幼児向けの特別な医療目的の食品を含む

PART A Table 2 Foods in which the presence of a food colour may not be permitted by virtue of the carry over principle set out in Article 18(1)(a) of Regulation (EC) No 1333/2008

パート A 表 2 Regulation (EC) No 1333/2008 の Article 18(1)(a) に規定されるキャリーオーバーの原則により、食品用着色料の存在が許可されない可能性がある食品

1	Unprocessed foods as defined in Article 3 of Regulation (EC) No 1333/2008 規則(EC) No 1333/2008 の第 3 条に定義される未加工の食品
2	All bottled or packed waters 全てのボトル入り飲料水またはパック入り飲料水
3	Milk, full fat, semi-skimmed and skimmed milk, pasteurised or sterilised (including UHT sterilisation) (unflavoured) 牛乳、全脂肪乳、半脱脂乳、脱脂乳、低温殺菌または滅菌処理（UHT 殺菌を含む）（無香料）
4	Chocolate milk チョコレートミルク
5	Fermented milk (unflavoured) 発酵乳（無香料）
6	Preserved milks as mentioned in Council Directive 2001/114/EC (unflavoured) 理事会指令 2001/114/EC に記載された保存乳（無香料）
7	Buttermilk (unflavoured) バターミルク（無香料）
8	Cream and cream powder (unflavoured) クリーム及びクリームパウダー（無香料）
9	Oils and fats of animal or vegetable origin 動物性または植物性の油脂
10	Ripened and unripened cheese (unflavoured)

	熟成または非熟成チーズ（無香料）
11	Butter from sheep and goats' milk 羊・山羊の乳から作られたバター
12	Eggs and egg products as defined in Regulation (EC) No 853/2004 規則(EC) No 853/2004 で定義された卵及び卵加工品
13	Flour and other milled products and starches 小麦粉、その他の製粉製品、でんぷん類
14	Bread and similar products パン及び類似の製品
15	Pasta and gnocchi パスタ及びニョッキ
16	Sugar including all mono- and disaccharides 全ての単糖類及び二糖類を含む糖類
17	Tomato paste and canned and bottled tomatoes トマトペースト、缶詰及び瓶詰のトマト
18	Tomato-based sauces トマトベースのソース
19	Fruit juice and fruit nectar as mentioned in Council Directive 2001/112/EC (2) and vegetable juice and vegetable nectars 理事会指令 2001/112/EC(2)で言及されたフルーツジュース及びフルーツネクター、野菜ジュース及び野菜ネクター
20	Fruit, vegetables (including potatoes) and mushrooms — canned, bottled or dried; processed fruit, vegetables (including potatoes) and mushrooms 果実、野菜（いも類を含む）、きのこ類—缶詰、瓶詰、乾燥品、果実、野菜（いも類を含む）、きのこ類の加工品
21	Extra jam, extra jelly, and chestnut purée as mentioned in Council Directive 2001/113/EC; crème de pruneaux 理事会指令 2001/113/EC に記載されたエクストラジャム（果肉を規定量以上含むジャム）、エクストラゼリー（果肉を規定量以上含むゼリー）及び栗のピューレ；クレーム・ドゥ・プルノー（プルーンの果肉ジャム）
22	Fish, molluscs and crustaceans, meat, poultry and game as well as their preparations, but not including prepared meals containing these ingredients 魚、軟体動物、甲殻類、肉、鶏肉、狩猟肉、及びそれらの調理品（ただし、これら

	の成分を含む調理済み食品は除く)
23	Cocoa products and chocolate components in chocolate products as mentioned in Directive 2000/36/EC of the European Parliament and of the Council 欧州議会及び理事会指令 2000/36/EC に記載されたココア製品及びチョコレート製品中のチョコレート成分
24	Roasted coffee, tea, herbal and fruit infusions, chicory; extracts of tea and herbal and fruit infusions and of chicory; tea, herbal and fruit infusions and cereal preparations for infusions, as well as mixes and instant mixes of these products 焙煎コーヒー、茶、ハーブ及び果実の浸出液、チコリ；茶、ハーブ及び果実の浸出液及びチコリの抽出物；茶、ハーブ及び果実の浸出液及び浸出液用のシリアル調製品、並びにこれらの製品の混合物及びインスタントミックス品
25	Salt, salt substitutes, spices and mixtures of spices 塩、塩の代用品、香辛料及び香辛料の混合物
26	Wine and other products covered by Council Regulation (EC) No 1234/2007, as listed in its Annex I, Part XII ワイン及び理事会規則(EC) No 1234/2007 の対象製品で、その付属書 I、パート XII に記載されているもの
27	Spirit drinks defined in Annex II, paragraphs 1-14 of Regulation (EC) No 110/2008 of the European Parliament and of the Council, spirits (preceded by the name of the fruit) obtained by maceration and distillation and London gin (Annex II paragraphs 16 and 22 of, respectively) Sambuca, Maraschino, Marrasquino or Maraskino and Mistrà as defined in Annex II, paragraphs 38, 39 and 43 of Regulation (EC) No 110/2008, respectively 欧州議会及び理事会規則(EC) No 110/2008 の付属書 II 段落 1-14 に定義される蒸留酒、浸漬及び蒸留により得られる蒸留酒（果実の名称が先行）及びロンドンジン（それぞれ付属書 II 段落 16 及び 22） 規則(EC) No 110/2008 の付属書 II、38、39 及び 43 にそれぞれ定義されるサンブーカまたはマラスキーノ及びミストーラ
28	Sangria, Clarea and Zurra as mentioned in Council Regulation (EEC) No 1601/91 理事会規則(EEC) No 1601/91 に記載のサングリア、クラレア及びズーラ
29	Wine vinegar covered by Regulation (EC) No 1234/2007, as listed in its Annex I, Part XII Regulation (EC) No 1234/2007 の対象となるワインビネガーで、その付属書 I、パート XII に記載されているもの
30	Foods for infants and young children as mentioned in Directive 2009/39/EC including foods

	for special medical purposes for infants and young children 指令 2009/39/EC に記載の乳幼児用食品（乳幼児用の特別な医療目的の食品を含む）
31	Honey as defined in Directive 2001/110/EC 指令 2001/110/EC に定義される蜂蜜
32	Malt and malt products モルト及びモルト製品

PART E AUTHORISED FOOD ADDITIVES AND CONDITIONS OF USE IN FOOD CATEGORIES

パート E 食品カテゴリーにおける認可された食品添加物及び使用条件

カテゴリー 番号	E 番号	名称	最大許容濃度 (mg/L または mg/kg)	補足 事項	制限・例外
04.2.4.1	Fruit and vegetable preparations excluding compote コンポートを除く、果物及び野菜の調理品				
	E 171	Titanium dioxide 二酸化チタン	<i>quantum satis</i> 適量		Only seaweed based fish roe analogues 海藻由来の魚卵類似製品のみ
09.2	Processed fish and fishery products including molluscs and crustaceans 軟体動物、甲殻類を含む魚介類の加工品				
	E 171	Titanium dioxide 二酸化チタン	<i>quantum satis</i> 適量		only fish paste and crustacean paste 魚及び甲殻類の練り物のみ
	E 171	Titanium dioxide 二酸化チタン	<i>quantum satis</i> 適量		only precooked crustacean 調理済みの甲殻類のみ
	E 171	Titanium dioxide 二酸化チタン	<i>quantum satis</i> 適量		

(3) 英国における使用状況

英国では、二酸化チタン（E 171）の使用基準について、食品への使用が禁止される前の

食品添加物に関する EU 規則 (EU.Regulation(EC) No.1333/2008) の規定が保持されている。二酸化チタンは本規則の附属書 II パート B に収載されており、食品添加物として制限なしに使用できる。

なお、EU 離脱協定の北アイルランド議定書の規定に従い、北アイルランドでは EU と同様、二酸化チタンの食品への使用認可が取り消されている (参照 5 : FSA 2022)。

(4) 米国における使用状況

米国では、連邦行政規則集 (Code of Federal Regulations) 第 21 巻第 1 章 A 節パート 73 A 項により、認証なしで使用可能な食品用着色料とその規格や使用基準が規定されている (参照 6 : FDA 21CFR 2011)。

二酸化チタンは一般に食品用着色料として使用可能だが、以下の制限が適用される。

- ・二酸化チタンの量は、食品の重量の 1%を超えてはならない。
- ・連邦食品・医薬品・化粧品法 (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act) セクション 401 に基づき識別基準が定められている食品の着色には、当該基準により着色を許可されたものを除き、使用してはならない。

(5) ニュージーランド・豪州における使用状況

ニュージーランド・豪州では、1991 年オーストラリア ニュージーランド食品基準法 (Food Standards Australia New Zealand Act 1991) に基づき、オーストラリア ニュージーランド食品基準コード (Australia New Zealand Food Standards Code) によって食品添加物の規格や使用基準が規定されている。二酸化チタンは、GMP で許可された着色料を定めた付則 16-3 に収載されている (参照 7 : FSANZ 2019)。食品添加物の使用基準 (最大許容レベル、その他の条件) は付則 15-5 に規定されており、GMP で許可された着色料を添加できる食品を以下に抜粋して記載する (参照 8 : FSANZ 2021)。

S15-5 Table of permissions for food additives

表 15-5 食品添加物の許可一覧表

Food category number 食品分類番号	Description 説明	Conditions 条件
0.2	Colourings 着色料	
0.3	Flavourings 香料	

Food category number 食品分類番号	Description 説明	Conditions 条件
1.1.2	Liquid milk products and flavoured liquid milk 液乳、風味付けされた液乳	
1.2.2	Fermented milk products and renneted milk products 発酵乳製品、レンネット処理した乳製品	
1.3	Condensed milk and evaporated milk 加糖練乳、無糖練乳	
1.4.2	Cream products (flavoured, whipped, thickened, sour cream etc) クリーム製品（風味付けされたクリーム、ホイップクリーム、生クリーム、サワークリームなど）	
1.5	Dried milk, milk powder, cream powder 粉ミルク、粉乳、粉末クリーム	
1.6	Cheese and cheese products チーズ及びチーズ製品	
2.1	Edible oils essentially free of water 実質的に水分を含まない食用油	
2.2.1.2	Butter products バター製品	
2.2.1.3	Margarine and similar products マーガリン及び類似の製品	
2.2.2	Oil emulsions (<80% oil) 油乳剤（油分80%未満）	
3	Ice cream and edible ices アイスクリーム及び食用氷	
4.3	Processed fruits and vegetables 加工された果物及び野菜	
5.1	Chocolate and cocoa products チョコレート、ココア製品	Permitted on the surface of chocolate only チョコレート表面にのみ許可される
5.2	Sugar confectionery	

Food category number 食品分類番号	Description 説明	Conditions 条件
	砂糖菓子	
5.4	Icings and frostings アイシング及びフロスティング	
6.3	Processed cereal and meal products 加工されたシリアル及び粗びき粉製品	
6.4	Flour products (including noodles and pasta) 小麦粉製品（麺類、パスタを含む）	
7	Breads and bakery products パン及びベーカリー製品	
8.2	Processed meat, poultry and game products in whole cuts or pieces 加工された肉、鶏肉、狩猟肉製品（塊肉または一部）	
8.3	Processed comminuted meat, poultry and game products, other than products listed in item 8.3.2 8.3.2項に掲げる製品以外の挽き肉、鶏肉及び狩猟肉加工品	Not for sausage or sausage meat containing raw, unprocessed meat 生肉、未加工の肉を含むソーセージまたはソーセージ肉は不可
8.4	Edible casings 食用ケーシング	
8.5	Animal protein products 動物性タンパク質製品	
9.2	Processed fish and fish products 加工された魚及び魚製品	
9.3	Semi preserved fish and fish products 半乾燥状態の魚及び魚製品	
9.4	Fully preserved fish including canned fish products 魚の缶詰を含む完全な保存状態の魚	
11.1.1	Rainbow sugar シュガースプレー	
11.4	Tabletop sweeteners	

Food category number 食品分類番号	Description 説明	Conditions 条件
	卓上用甘味料	
12.1.2	Reduced sodium salt mixture 減塩の塩混合物	
12.1.3	Salt substitute 食塩の代用品	
12.3	Vinegars and related products 酢及びその関連製品	
12.5	Yeast and yeast products 酵母及び酵母製品	
12.6	Vegetable protein products 植物性タンパク質製品	
13.3	Formulated meal replacements and formulated supplementary foods 調理済み食品及び補助食品	
13.4	Formulated supplementary sports foods スポーツ補助食品	
13.5	Food for special medical purposes 特殊医療用食品	
14.1.1.2	Carbonated, mineralised and soda waters 炭酸水、ミネラルウォーター、ソーダ水	
14.1.2.1	Fruit and vegetable juices 果実及び野菜のジュース	
14.1.2.2	Fruit and vegetable juice products 果実及び野菜のジュース製品	
14.1.3	Water based flavoured drinks 水性フレーバー飲料	
14.1.4	Formulated Beverages 調合飲料	
14.2.3	Wine based drinks and reduced alcohol wines ワインベースの飲料、低アルコールワイン	
14.2.4.1	Fruit wine products and vegetable wine products 果実酒・野菜酒	
14.2.5	Spirits and liqueurs	

Food category number 食品分類番号	Description 説明	Conditions 条件
	蒸留酒及びリキュール	
14.3	Alcoholic beverages not included in item 14.2 14.2項に含まれないアルコール飲料	
20	Foods not included in items 0 to 14 0～14品目に含まれない食品	

(6) カナダにおける使用状況

カナダでは、食品添加物は、基本法である食品医薬品法（Food and Drugs Act）の下に定められた食品医薬品規則（Food and Drug Regulations）により、使用できる食品添加物とその使用基準が規定されている（参照 9：Health Canada 2022a、参照 10：Health Canada 2021）。

二酸化チタンの使用基準を以下に抜粋して記載する。

3. List of Permitted Colouring Agents

3. 許可された着色料のリスト

Item No.	Column 1 Additive 添加物	Column 2 Permitted in or Upon 使用許可食品等	Column 3 Maximum Level of Use and Other Conditions 最大許容濃度・その他使用条件
1.	Titanium Dioxide 二酸化チタン	(1) Apple (or rhubarb) and (naming the fruit) jam; Bread; Butter; Concentrated (naming the fruit) juice except frozen concentrated orange juice; Fig marmalade with pectin; Fish roe (caviar); Ice cream mix; Ice milk mix; Icing sugar; Liqueur; Lobster paste; (naming the flavour) Milk; (naming the flavour) Partly skimmed milk; (naming the flavour) Partly skimmed milk with added milk solids; (naming the flavour) Skim milk; (naming the flavour) Skim milk with added milk solids; (naming the fruit) Jam with pectin; (naming the fruit) Jelly with pectin; Pickles; Pineapple	(1) Good Manufacturing Practice (1) 製造・品質管理基準

Item No.	Column 1 Additive 添加物	Column 2 Permitted in or Upon 使用許可食品等	Column 3 Maximum Level of Use and Other Conditions 最大許容濃度・その他使用条件
		marmalade with pectin; Relishes; Sherbet; Smoked fish; Tomato catsup (1) リンゴ（またはルバーブ）と（記載の果物の）ジャム；パン；バター；オレンジの凍結濃縮果汁を除く（記載の果物の）濃縮果汁；ペクチン入りイチジクマーマレード；魚卵（キャビア）；アイスクリームミックス；アイスマルクミックス；アイシングシュガー；リキュール；ロブスターペースト；（記載のフレーバーの）ミルク；（記載のフレーバーの）部分脱脂乳；（記載のフレーバーの）一部乳固形物を加えた脱脂乳；（記載のフレーバーの）スキムミルク；（記載のフレーバーの）乳固形物を加えた脱脂乳；（記載のフレーバーの）ペクチン入りジャム；（記載のフレーバーの）ペクチン入りゼリー；ピクルス；ペクチン入りパイナップルマルマレード；レリッシュ（訳注：甘酢漬け野菜）；シャーベット；くん製魚；トマトケチャップ	
		(2) Unstandardized foods (2) 基準化されていない食品類	(2) Good Manufacturing Practice (2) 製造・品質管理基準
		(3) A blend of prepared fish and prepared meat referred to in paragraph B.21.006(n) (3) B.21.006(n)項に記載の調理済み魚肉混合物	(3) Good Manufacturing Practice (3) 製造・品質管理基準

4. 国際機関等における安全性評価

(1) JECFA における評価

JECFA は、1969 年 5-6 月開催の第 13 回会合で、他の着色料とともに二酸化チタンを評価している。二酸化チタンはその不溶性及び不活性により毒性がないことを示す証拠があるとして、1 日摂取許容量 (ADI) を「GMP を除いて制限しない」と設定した。(参照 11: JECFA TRS 1970)。

(2) 米国における評価

食品に使用されるアナターゼ型の二酸化チタンについて、米国国立がん研究所 (NCI) が実施した 2 年間げっ歯類がん原性バイオアッセイの結果が報告されている。混餌投与により最大 50,000 ppm の二酸化チタンに 2 年間曝露したラットやマウスで、曝露に関連する所見は認められなかった。この結果に基づき、この試験条件下では「経口曝露による Fischer 344 ラット及び B6C3F1 マウスへの発がん性はない」と結論付けられている (参照 12: NCI, 1979)。

(3) EU における評価

1975 年及び 1977 年、食品科学委員会 (SCF) は、食品添加物として使用される二酸化チタンの評価を行っている。二酸化チタンは、1975 年の評価では ADI が設定されなかったが、1977 年の評価により「ADI が設定されていないが食品に使用できる着色料」のカテゴリーに分類された (参照 13: SCF, 1975、参照 14: SCF, 1977)。

2016 年 9 月、EFSA は、2009 年 1 月 20 日以前に EU で認可された食品添加物の再評価プログラムの一環として二酸化チタンの再評価結果を公表している。再評価の結果、ラットの発がん性試験から特定された NOAEL は 2,250 mg/kg 体重/日 (二酸化チタンとして) であった。EFSA は、食品添加物として使用される二酸化チタン (E 171) は遺伝毒性に関して懸念がなく、経口投与後の発がん性もないとした。二酸化チタンの吸収が限定的と推定されることを考慮し、NOAEL から算出した安全マージン、使用量及び曝露量に基づき、E 171 は懸念なしと結論づけている。但し、当時入手可能な毒性学的データには不足があるとして、生殖・発生毒性に関するデータの欠如に対処するため、EFSA は拡大一世代生殖毒性 (EOGRT) 試験の実施を勧告した (参照 15: EFSA ANS Panel, 2016)。また、2018 年 8 月には、再評価のフォローアップとして、E 171 の物理化学的特性 (粒子径及び粒度分布を含む) に関する不確定性に対応するための追加情報を募集した。

2017 年、二酸化チタンナノ粒子への食事曝露により、結腸において前がん病変である異常腺窩巢 (ACF) が誘発されるとの研究報告があった。2017 年 4 月、フランス食品・環境・労働安全衛生庁 (ANSES) はこの研究を評価し、入手可能なデータは EFSA が実施した E 171 のリスク評価に疑問を生じさせるものではないと結論づけた (参照 16: ANSES, 2017)。

2018 年 3 月、欧州委員会は EFSA に対し、E 171 の健康への悪影響の可能性を示した 4 件

の新たな研究の評価を要請した。EFSA はこれらの研究結果について、E 171 の安全性に関する EFSA の既存の意見を再検討するに値しないと結論づけた（参照 17：EFSA ANS Panel, 2018）。しかし同時に、2016 年の再評価時に EFSA が実施を勧告した EOGRT 試験のプロトコルに、パラメータとして ACF のバイオマーカーの追加を検討するよう勧告した。

2019 年 4 月、ANSES は 2018 年に公表した意見について最新の科学的知見を考慮した見直しを公表し、*in vivo* 遺伝毒性に関するさらなる調査の実施を勧告した（参照 18：ANSES, 2019）。2019 年 5 月、EFSA はこの見直しについてレビューし、*in vivo* 遺伝毒性に関する追加調査は E 171 の物理化学的特性の評価後に再検討する必要があるとした（参照 19：EFSA, 2019）。

2019 年 7 月、EFSA は、2018 年の勧告に基づいて産業界から提出された E 171 の物理化学的特性データを考慮し、2016 年に公表された EFSA による E 171 の再評価の結論が引き続き有効であることを示した。さらに、E 171 の特性は、再評価における遺伝毒性についての結論を修正する理由にはならないことを示した。しかしその一方で、E 171 の EU 仕様（specification）に「電子顕微鏡で測定した最小外形寸法の粒子数に基づく中央値が 100 nm より大きく、最小外形寸法が 100nm 未満の構成粒子数が 50%以下である」というパラメータを含めるよう勧告した。さらにこれに基づき、E 171 の毒性学的データについて「食品及び飼料チェーンにおいて適用されるナノ材料のリスク評価に関するガイダンス（Guidance on risk assessment of nanomaterials to be applied in the food and feed chain）」に示されたデータ要件に沿った再検討が勧告された（参照 20：EFSA FAF Panel, 2019）。

2021 年、EFSA は、2016 年の勧告に基づいて産業界から提出された、ラットにおける EOGRT 試験の結果を用いて E 171 の再評価を行っている。EOGRT 試験では、明確な毒性や異常陰窩巣（aberrant crypt foci：ACF）の誘発はみられなかった。EFSA は、ナノ粒子の凝集を防ぐために液体中に分散・安定化された二酸化チタンを経口投与した場合に、雄ラットにおいて 10 mg/kg/日の用量で ACF を誘発する可能性があると結論づけた。また、二酸化チタン粒子は DNA 鎖切断や染色体損傷を誘発する可能性はあるが、遺伝子突然変異は誘発しないと結論づけた。二酸化チタン粒子の遺伝毒性については複数の作用機序が並行して作用している可能性があるが、分子メカニズムの相対的な寄与度は不明であり、閾値の有無は特定できなかった。したがって、EFSA は、利用可能な全ての証拠に基づき、遺伝毒性の懸念を排除することはできないとし、多くの不確実性を考慮し、E 171 を食品添加物として使用する場合、もはや安全とは見なされないと結論づけた（参照 21：EFSA FAF Panel, 2021）。

（４） 英国における評価

本品の英国独自の評価結果は公表されていない。しかし 2021 年、同年に EFSA 意見書が発表されたことを踏まえ、英国食品基準庁（FSA）の科学諮問委員会（変異原性委員会（COM）及び毒性委員会（COT））によって EFSA 意見書の評価が行われた。その結果 COM は、二

酸化チタン粒子の変異原性について、より信頼性が高く堅牢なデータセットが必要であるとし、EFSA の意見書に示された情報から結論を導き出すことを認めなかった。COT は COM の見解に同意した上で、毒性学的な観点からさらに複数の点を指摘し、「E 171 を食品添加物として使用する場合、もはや安全とは見なされない」とした EFSA の結論を支持しないと判断した（参照 22 : COT, 2021）。

なお、FSA は、COM 及び COT による EFSA 意見書の評価結果を考慮し、食品添加物としての二酸化チタンの安全性について独自の評価を開始することを決定した。

（５） カナダにおける評価

カナダ保健省（Health Canada）は、2022 年に、利用可能な科学的データのレビューに基づいて食品用途の二酸化チタンの有害性評価を実施している。

食品中の二酸化チタンに対する曝露では食品マトリックスが影響するとの証拠があるとして、評価では食事に関する研究結果が重視された。さらに、信頼性及び品質の観点から、GLP 及び OECD ガイドラインに準拠した試験結果も重視された。収集されたデータの一部はさらなる調査が必要と考えられたが、証拠の重み付け（weight of evidence）に基づき、顕著なバイオアベイラビリティ、発がん性、遺伝毒性、免疫毒性、生殖・発生毒性及び神経毒性を示す証拠は確認されず、データの不足についてもより予防的なアプローチを正当化するほど重大なものではないと判断された。

以上より、カナダ保健省は、食品添加物としての二酸化チタンがヒト健康に懸念を及ぼすという決定的な科学的根拠はないと結論付けている（参照 23 : Health Canada, 2022b）。

（６） ニュージーランド・豪州における評価

オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）は、2021 年に EFSA が公表した二酸化チタンの再評価結果を受けて、食品添加物としての二酸化チタンの安全性に関する評価結果を 2022 年に公表した。

FSANZ は、食品添加物としての二酸化チタンの安全性に懸念があったとした研究結果について、主にナノスケールの二酸化チタンを用いた研究や、食品グレードの酸化チタンを溶液中で超音波処理した後に強制経口投与または飲水投与した研究であることを指摘し、食事経路での曝露によるヒト健康リスクへの関連性は限定的であるとしている。

食品用二酸化チタンの混餌投与による *in vivo* 遺伝毒性試験は十分ではないものの、他の方法（強制経口投与や腹腔内注射）で投与された食品用酸化チタンが *in vivo* で遺伝毒性を示すという証拠はないと判断されている。食品用二酸化チタンの *in vitro* 試験においても、遺伝毒性を示す証拠はみとめられていない。

2022 年時点で入手可能なデータに基づき、FSANZ は、食品用酸化チタンの食事からの曝露がヒトの健康にとって懸念すべきものであることを示唆する証拠はないと結論づけている（参照 24 : FSANZ, 2022）。

5. 物理化学的性質

(1) 構造式等（参照 1：第 9 版-食品添加物公定書より引用、一部追加）

TiO₂

分子量：79.87

INS 番号：171

Titanium dioxide（CAS 番号：13463-67-7）

国により実施された二酸化チタン 5 検体の（SampleA~E）の粒子径等の測定結果を以下に示す（参照 25：平林容子, 2022）。

① 透過電子顕微鏡（TEM）による粒径測定結果

TEM による粒径測定結果を表 1 に示す。TEM 測定の結果、Sample A と C では 30 から 50%程度が 100 nm 以下の粒子で構成されていたが、Sample B、D および E は 100 nm 以下の粒子の割合は 1 割に満たなかった。なお、Sample C は球形粒子が癒着した不定形の粒子が主体であった。

表 1 TEM による粒径測定結果

測長方法	試料名	試料 総数 (個)	100 nm 以下		粒子径		
			個数 (個)	割合 (%)	平均 (nm)	最小 (nm)	最大 (nm)
フェレ径 水平	Sample A	417	192	46.0	117	15	343
	Sample B	371	26	7.0	186	45	425
	Sample C	370	120	32.4	137	30	388
	Sample D	336	20	6.0	197	67	396
	Sample E	345	32	9.3	196	15	537
フェレ径 垂直	Sample A	417	185	44.4	116	7	358
	Sample B	371	33	8.9	187	30	396
	Sample C	370	117	31.6	135	30	381
	Sample D	336	20	6.0	196	60	396
	Sample E	345	22	6.4	195	52	470
円相当径	Sample A	417	198	47.5	111	19	283
	Sample B	371	33	8.9	179	40	396
	Sample C	370	121	32.7	129	32	295
	Sample D	336	19	5.7	188	64	360
	Sample E	345	29	8.4	186	43	428

測長方法	試料名	試料 総数 (個)	100 nm 以下		粒子径		
			個数 (個)	割合 (%)	平均 (nm)	最小 (nm)	最大 (nm)
絶対 最大長	Sample A	417	109	26.1	136	25	392
	Sample B	371	14	3.8	217	55	479
	Sample C	370	73	19.7	161	42	453
	Sample D	336	8	2.4	228	79	426
	Sample E	345	7	2.0	229	62	544
対角幅	Sample A	417	204	48.9	111	7	328
	Sample B	371	36	9.7	173	31	393
	Sample C	370	126	34.1	125	30	281
	Sample D	336	26	7.7	179	59	347
	Sample E	345	34	9.9	178	15	443

② 動的光散乱法（DLS）による粒度分布測定結果

動的光散乱法による粒度分布の結果（参考値）を表 2 に示す。測定の結果、日本薬局方試験液第 1 液および第 2 液において、ほぼすべての試料で分布の端部が測定最大径（φ 6 μm）を超えていたことから、いずれの試料も得られた測定値は正確な粒径を示していないと考えられた。つまり、どちらの溶媒においても粗大な二次粒子の形成が推察され、第 1 液と第 2 液を比較すると、平均粒径が大きいことと 5 μm 以上のモード値が頻出したことから、第 1 液の方が粒子の凝集傾向が強いと考えられた。

表2 DLSによる粒度分布測定結果

試験液	試料名	粒子径 (μm)				100 nm 以下粒子
		測定番号	メジアン	平均	モード	
日本薬局方 試験液 第1液	Sample A	n1	1.8	2.3	1.2	不検出
		n2	1.5	2.0	1.1	不検出
		n3	1.5	2.6	5.4	不検出
		平均	1.6	2.3	2.5	
	Sample B	n1	2.6	2.9	2.1	不検出
		n2	1.5	2.2	1.1	不検出
		n3	1.8	2.6	5.3	不検出
		平均	2.0	2.6	2.8	
	Sample C	n1	1.7	2.1	1.2	不検出
		n2	1.5	2.6	5.4	不検出
		n3	1.5	2.2	1.1	不検出
		平均	1.6	2.3	2.6	
	Sample D	n1	2.0	2.9	5.4	不検出
		n2	1.9	2.1	2.4	不検出
		n3	1.6	2.3	1.1	不検出
		平均	1.8	2.4	3.0	
	Sample E	n1	2.0	2.6	5.2	不検出
		n2	2.7	3.0	5.2	不検出
		n3	1.8	2.3	1.1	不検出
		平均	2.2	2.6	3.8	
日本薬局方 試験液 第2液	Sample A	n1	1.3	1.7	0.94	不検出
		n2	1.1	1.5	0.72	不検出
		n3	1.1	1.8	0.82	不検出
		平均	1.2	1.7	0.83	
	Sample B	n1	1.3	1.9	0.94	不検出
		n2	1.5	1.7	1.2	不検出
		n3	1.5	2.2	0.95	不検出
		平均	1.4	1.9	1.0	
	Sample C	n1	1.2	1.7	0.82	不検出
		n2	1.2	1.9	0.82	不検出
		n3	1.1	1.7	0.82	不検出
		平均	1.1	1.8	0.82	
	Sample D	n1	1.8	2.1	1.2	不検出
		n2	1.5	2.1	1.1	不検出
		n3	1.7	2.1	1.2	不検出
		平均	1.7	2.1	1.2	
	Sample E	n1	1.5	1.8	0.94	不検出
		n2	1.5	1.8	1.1	不検出
		n3	1.5	1.9	1.1	不検出
		平均	1.5	1.9	1.0	

③ 細孔分布・比表面積測定

窒素吸着多点法測定結果を

表 3 に示す。本試料はメソ孔領域に明確な細孔は確認できなかった。各試料の比表面積値を比較すると、Sample A が最も大きく、次いで Sample C、残りの Sample B、D および E は同等の低い値を示した。つまり、粒子径は Sample A が最も小さく、次いで Sample C、残りの 3 サンプルが同等となる。この傾向は TEM 観察結果とよく一致していた。

表 3 窒素吸着多点法測定結果

試料名	測定番号	比表面積 (m ² /g)	メソポア領域 BJH 解析 (1～100 nm)	
			細孔容積 (cm ³ /g)	細孔径 (nm)
Sample A	n1	10.4	-	-
	n2	10.1	-	-
	n3	10.3	-	-
	平均	10.3		
Sample B	n1	7.8	-	-
	n2	7.4	-	-
	n3	7.2	-	-
	平均	7.5		
Sample C	n1	9.7	-	-
	n2	9.1	-	-
	n3	9.4	-	-
	平均	9.4		
Sample D	n1	7.1	-	-
	n2	7.3	-	-
	n3	7.3	-	-
	平均	7.2		
Sample E	n1	7.9	-	-
	n2	7.4	-	-
	n3	7.6	-	-
	平均	7.6		

④ 成分分析

EDX による定性分析結果を

表 4、ICP 発光分光分析法による定量分析結果を表 5 にそれぞれ示す。Sample A はやや不純物が含まれているが、他の 4 試料はほぼ純粋な酸化チタンであることが分かった。

表 4 蛍光 X 線分析結果（推定存在比）＊

	推定存在比（％）					
	Ti	K	Zr	Nb	P	Ge
Sample A	99.6	0.2	<0.1	<0.1	0.2	<0.1
Sample B	>99.9	不検出	不検出	不検出	不検出	<0.1
Sample C	>99.9	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
Sample D	>99.9	不検出	不検出	不検出	不検出	<0.1
Sample E	>99.9	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出

＊ Na から U までの元素を定性分析して検出された元素を記載し、合計が 100%となるように計算

表 5 定量分析結果

	化学成分（wt.％）								
	Fe	Si	P	Al	Cr	Zr	Ca	Mg	Ti
Sample A	<0.01	<0.05	0.12	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	59.7
Sample B	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	60.3
Sample C	0.02	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	60.3
Sample D	0.08	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	60.3
Sample E	0.01	<0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	60.4

⑤ 溶出成分分析

溶出分析結果を表 6 に示す。各試料を 0.5N 塩酸 50ml で 15 分間煮沸し、液中に溶出した元素を ICP 質量分析法（Sb、As、Cd および Pb）と還元気化－原子吸光法（Hg）を用いて測定した。一般に有害とされる元素は定量下限以下の結果となった。

表 6 溶出成分分析結果

	溶出成分（mg/kg）				
	Sb	As	Cd	Pb	Hg
Sample A	<1	<1	<1	<1	<1
Sample B	<1	<1	<1	<1	<1
Sample C	<1	<1	<1	<1	<1
Sample D	<1	<1	<1	<1	<1
Sample E	<1	<1	<1	<1	<1

(2) 製造方法

① 公定書解説書に記載された製造方法

チタン鉱石に硫酸を加えて溶解させ、水抽出を行う。この抽出液にくず鉄、リン酸塩などを加えて煮沸すると $\text{TiO}(\text{OH})_2$ が生成する。この沈脱物をよく洗浄し、焙焼。粉碎し二酸化チタンとする（参照 1：食品添加物公定書解説書, 2018）。

② 事業者提供情報

顔料酸化チタンの工業的製造方法は、下記の図 1 に示すように、合成ルチルを塩素化して精製する塩素法と、鉱石を硫酸に溶解して精製する硫酸法の二通りが実用化されている。塩素法では、合成ルチルをコークス、塩素ガスと反応させることで得られた四塩化チタンを、高温で酸化することで酸化チタンが生成される。一方、硫酸法では、鉱石を濃硫酸で溶解させ、鉱石に含まれる鉄分を分離する工程からスタートし、この際にチタン分として得られた硫酸チタニルを加水分解することで、白色の含水酸化チタンを得る。その後、焼成工程を経ることで、酸化チタンが生成される。ナノ酸化チタンは実験室的には多くの製法があるが、工業製品の製法の主流は顔料酸化チタンの製法と類似し、一般的に塩素法と硫酸法に大別される。塩素法は、四塩化チタンを原料とし、顔料酸化チタン製造の酸化工程において、水蒸気量、予熱温度、反応温度などの条件を調整することにより、ルチル形やアナターゼ形の微粒子を作製する。硫酸法は、顔料酸化チタン製造用の含水酸化チタンを化学処理・加熱してルチル形およびアナターゼ形の微粒子を作る。また、顔料やナノといったサイズを問わず、上述した製法をベースにして粒子径や表面処理を変えることで、様々な用途に応じたバリエーションが備わる（参照 26：日本酸化チタン工業会, 2014）。

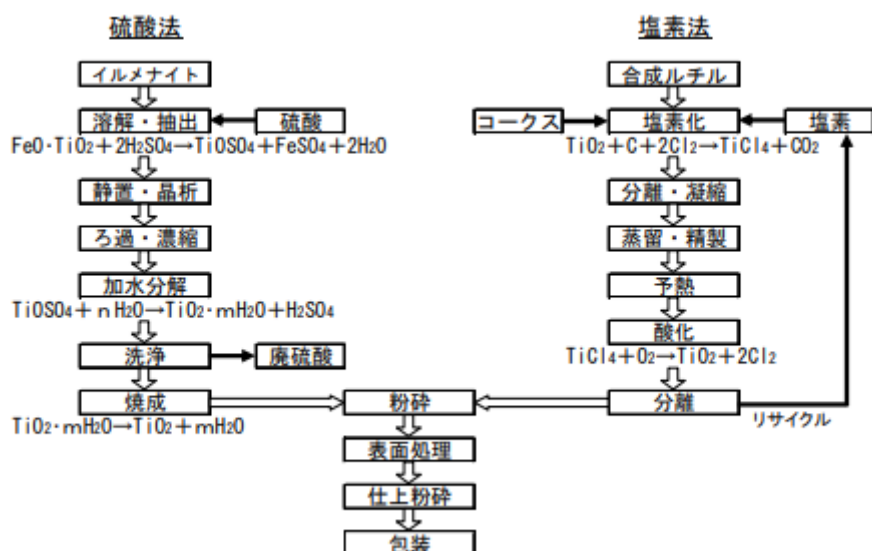


図 1 顔料酸化チタンの製造方法

（参照 26：日本酸化チタン工業会, 2014 より抜粋）

(3) 成分規格

① 厚生省告示第 370 号の成分規格

二酸化チタンの成分規格は昭和 34 年厚生省告示第 370 号により以下の成分規格が定められている（昭和 58 年 8 月 27 日、第四版食品添加物公定書に規格新設）。

含量：本品を乾燥したものは、酸化アルミニウム及び二酸化ケイ素を除き、二酸化チタン（ TiO_2 ）99.0%以上を含む。

性状：本品は、白色の粉末であり、においがなく、味がない。

確認試験：本品 0.5 g に硫酸 5 mL を加え、硫酸の蒸気が発生するまで穏やかに加熱する。冷後、水を徐々に加えて約 100 mL とし、ろ過する。このろ液 5 mL に過酸化水素試液を加えるとき、黄赤～橙赤色を呈する。

純度試験：(1) 水可溶物 0.25%以下、(2) 塩酸可溶物 0.50%以下、(3) 鉛 Pb として 10 $\mu\text{g/g}$ 以下（4.0 g、比較液鉛標準液 4.0 mL、フレイム方式）、(5) ヒ素 As として 1 $\mu\text{g/g}$ 以下（10 g、標準色ヒ素標準液 3.0 mL、装置 B）、(6) 酸化アルミニウム及び二酸化ケイ素 2.0%以下

乾燥減量：0.5%以下（105℃、3 時間）

強熱減量 0.5%以下（乾燥物、775～825℃）

② JECFA の規格

JECFA モノグラフ 13 に規定された規格を以下に示す（参照 27: JECFA Monograph, 2012）。

同定：

溶解性：水、塩酸、希硫酸、有機溶剤に不溶。 フッ酸、熱濃硫酸に徐々に溶ける。

呈色反応：試料 0.5 g に硫酸 5 mL を加え、硫酸の煙が出るまで静かに加熱し、冷却する。 水とフィルターで約 100 mL に慎重に希釈する。この透明な濾液 5 mL に過酸化水素を数滴加えると、直ちに橙赤色を呈色する。

純度：

乾燥減量：0.5%以下（105℃、3 時間）

強熱減量：乾燥重量で 1.0%以下（800℃）

酸化アルミニウムおよび/または二酸化ケイ素：2%以下（単体でも組み合わせでも）

酸可溶性物質：0.5%以下； アルミナまたはシリカを含む製品は 1.5% 以下

水溶性物質：0.5%以下

0.5N 塩酸に可溶な不純物：アンチモン：2 mg/kg 以下；ヒ素：1 mg/kg 以下；カドミウム：1 mg/kg 以下；鉛：10 mg/kg 以下

水銀：1 mg/kg 以下

③ EU の規格

EU では、二酸化チタン (E 171) の使用基準は、食品添加物に関する規則 (EU.Regulation(EC) No.1333/2008) (参照 4 : EC Regulation, 2008) で規定されており、以下の食品カテゴリー用の着色料として *quantum satis* (適量) の使用が認められていた。

04.2.4.1 Fruit and vegetable preparations excluding compote (コンポートを除く、果物及び野菜の調理品) (海藻由来の魚卵類似製品のみ)

09.2 Processed fish and fishery products including molluscs and crustaceans (軟体動物、甲殻類を含む魚介類の加工品) (魚及び甲殻類の練り物、調理済みの甲殻類のみ)

参考として、COMMISSION REGULATION (EU) No 231/2012 に規定された食品添加物としての二酸化チタンの規格を以下に示す (参照 28 : EC Regulation, 2012)。

定義 :

基本的に純粋なアナターゼ型および/またはルチル型の二酸化チタンからなり、製品の技術的特性を向上させるために少量のアルミナ及び/又はシリカでコーティングされている場合がある。アナターゼ型の顔料用二酸化チタンは、副産物として大量の硫酸を生成する硫酸塩プロセスによってのみ製造できる。ルチル型の二酸化チタンは、通常、塩化物法で製造される。二酸化チタンのルチル型の一部は、基本的な平板構造を形成するテンプレートとしてマイカ (ケイ酸アルミニウムカリウム) を使用して製造される。マイカの表面は、特許を取得した特殊なプロセスにより、二酸化チタンでコーティングされている。ルチル型二酸化チタンは、二酸化チタン (ルチル型) でコーティングされた雲母真珠顔料を酸で抽出溶解し、その後アルカリで抽出溶解することにより製造される。この工程で雲母はすべて除去され、板状の二酸化チタンが得られる。

アッセイ : アルミナおよびシリカを含まず、99%以上の含有率

同定 :

溶解性 : 水及び有機溶媒に不溶。フッ酸、熱濃硫酸に徐々に溶ける。

純度 :

乾燥減量 : 0.5%以下 (105°C、3 時間)

強熱減量 : 乾燥重量で 1.0%以下 (800°C)(揮発性物質を含まない)

酸化アルミニウムおよび/または二酸化ケイ素 : 合計 2.0%以下

0.5 N 塩酸に可溶な物質 : アルミナ及びシリカを含まない基準で 0.5%以下、さらにアルミナ及び/又はシリカを含む製品については、販売時の製品基準で 1.5%以下

水溶性物質 : 0.5%以下

カドミウム : 0.5 N 塩酸での抽出後、1 mg/kg 以下

アンチモン : 0.5 N 塩酸での抽出後、2 mg/kg 以下

ヒ素：0.5 N 塩酸での抽出後、1 mg/kg 以下

鉛：0.5 N 塩酸での抽出後、10 mg/kg 以下

水銀：0.5 N 塩酸での抽出後、1 mg/kg 以下

しかし、食品添加物としての二酸化チタン（E171）に関する規則（COMMISSION REGULATION (EU) 2022/63）によって食品への使用認可が取り消され、2022 年 8 月 7 日までの段階的廃止期間を経て、二酸化チタンを使用した食品の上市は禁止された（参照 3：EC Regulation, 2022）。

④ 米国の規格

米国では、連邦行政規則集 21 CFR 73.575 において食品用着色料として以下の規格が定められている（参照 6：FDA 21CFR, 2011）。

§ 73.575 Titanium dioxide

(a) 同定

(1) 着色添加剤の二酸化チタンは、合成により調製された TiO_2 であり、他の物質との混合物は含まれない。

(2) 二酸化チタンで作られた食品用着色添加物混合物は、適切であり、食品着色用着色添加物混合物で安全であるとしてこのサブパートにリストされている。希釈剤、および以下のもののみを含むことができる：分散助剤としての二酸化ケイ素 SiO_2 および/または酸化アルミニウム Al_2O_3 (合計で 2%以下)。

(b) 規格

二酸化チタンは、次の規格に適合するものとする。

鉛 (Pb として)：10 ppm 以下

ヒ素 (As として)：1 ppm 以下

アンチモン (Sb として)：2 ppm 以下

水銀 (Hg として)：1 ppm 以下

強熱残量 (800°C、105°Cで 3 時間乾燥後)：0.5%以下

水溶性物質：0.3%以下

酸可溶性物質：0.5%以下

TiO_2 ：105°Cで 3 時間乾燥後、99.0%以上

鉛、ヒ素、およびアンチモンは、二酸化チタン 10 グラムを 0.5N 塩酸 50 mL 中で 15 分間沸騰させて得た溶液で測定するものとする。

(c) 用途及び制限

着色添加物である二酸化チタンは、一般的に食品の着色に安全に使用できるが、次の制限が適用される。

- (1) 二酸化チタンの量は、食品の重量の 1%を超えないこと。
- (2) 着色が許可されていない限り、同法第 401 条に基づいて公布された識別基準がある食品の着色に使用することはできない。

(d) 表示

着色添加物およびそれから調製された着色目的のみまたは部分的に意図された混合物は、本章の§ 70.25 の要件に適合した表示を行わなければならない。

(e) 認証の免除

当該着色添加物の認証は、公衆衛生の保護には必要ないため、§ 721(c) の認証要件は免除される。

(4) 安定性

酸化チタンには、ルチル形、アナターゼ形、ブルカイト形の 3 種の結晶形態があるが、工業的に利用されているのはルチル形とアナターゼ形のみとなる。ルチル形、アナターゼ形ともに正方晶系に属し、ルチル形はアナターゼ形に比べて原子配列が緻密で物理的性質もより安定している。また、共に熱濃硫酸、フッ酸、熔融アルカリ塩には溶解するが、それ以外の酸、アルカリ、有機溶媒、水には溶解せず、化学的にも安定な物質である（参照 26：日本酸化チタン工業会, 2014）。

二酸化チタンは熱、光に対して安定である（参照 29：委託者提供資料）。

(5) 食品中の分析法

第 2 版 食品中の食品添加物分析法（平成 12 年 3 月 30 日付衛化第 15 号厚生省生活衛生局食品化学課長通知、最終改正：令和 3 年 11 月 11 日）に記載された分析法を以下に示す。

分析法の概要

食品中の二酸化チタンは、灰化後、硫酸に溶かし、過酸化水素を作用させて生ずるペルオキシチタン酸が呈する黄色を測定する比色法により定量する（2021 年改正）。

分析法（比色法）

1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

2) 試験溶液の調製

試料約 5 g を精密に量り、灰化容器に入れ、徐々に加熱して炭化させる。残留物がほとんど白色となるまで 550℃～650℃に強熱して灰化させる。黒色の炭素粒が残っている場合は同じ条件で再灰化を行う。冷後、無水硫酸ナトリウム 0.75 g 及び硫酸 5 mL を加え、

注意しながら徐々に加熱して残留物を完全に溶かす。冷後、灰化容器内の残留物を、あらかじめ水を約 10 mL 入れた 50 mL メスフラスコに徐々に加え、さらに灰化容器内を水約 10 mL ずつで 3 回洗い、洗液はメスフラスコに加え、水を加えて正確に 50 mL とし、試験溶液とする。また、試料を用いずに同様に操作して、空試験溶液とする。

3) 検量線用標準溶液の調製

チタン標準原液（濃度 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ）10 mL を正確に量り、100 mL メスフラスコに入れ、硫酸（1→10）を加えて正確に 100 mL とし、チタン標準溶液とする（濃度 100- $\mu\text{g/mL}$ ）。チタン標準溶液 1.5、5、10 及び 15 mL をそれぞれ正確に量り、硫酸（1→10）を加えてそれぞれ正確に 25 mL とし、検量線用標準溶液とする（濃度 6～60 $\mu\text{g/mL}$ ）。

4) 測定溶液の調製

検量線用標準溶液及び試験溶液を正確に 10 mL ずつ量り、それぞれに、過酸化水素 0.2 mL を加え、よく振り混ぜたのち、測定溶液とする。硫酸（1→10）10 mL に過酸化水素 0.2 mL を加え、よく振り混ぜた液を対照として、吸光度を測定する。

5) 測定法

①測定条件

分光光度計を用い、波長 408 nm における吸光度を測定する。

②検量線

検量線用標準溶液の測定溶液それぞれにつき吸光度を測定し、得られた吸光度から検量線を作成する。

③定量

試験溶液及び空試験溶液につきその吸光度を測定し、両者の値の差を求め、その値と検量線から試験溶液中のチタン濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）を求め、次式)によって試料中の二酸化チタン濃度（g/kg）を計算する。

$$\text{二酸化チタン顔料 (g/kg)} = \frac{C}{W \times 20} \times 1.669$$

C：試験溶液中のチタン濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）

W：試料の採取量（g）

④定量限界

0.1g/kg

6. 使用基準

着色の目的以外に使用してはならない。また、カステラ、きなこ、魚肉漬物、鯨肉漬物、こんぶ類、しょう油、食肉、食肉漬物、スポンジケーキ、鮮魚介類（鯨肉を含む。）、茶、の

り類、マーマレード、豆類、みそ、めん類（ワンタンを含む。）、野菜及びわかめ類に使用してはならない（告示第 370 号「F. 使用基準」）。

II. 有効性に関する知見

(1) 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

公定書解説書には二酸化チタンの食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較に関する記載はない。

(2) 食品中の安定性

二酸化チタンの食品中の安定性に関して、食品および生体試料中に存在するタンパク質やその他の高分子が二酸化チタン粒子に迅速かつ強く吸着し、粒子サイズおよび腸管環境との相互作用を支配する表面特性を変化させる「コロナ」を形成するとの情報がある（参照 23：Health Canada, 2022b）。

(3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

食品中の糖質、脂質、ビタミン、若しくはミネラル類などの栄養成分に対する二酸化チタンの影響に関する知見は見出せなかった。

III. 安全性に係る知見

1. 体内動態試験

(1) 吸収

EFSA (2016) が引用している Hussain ら (2001) の報告によれば、一般に、1 μm (1,000 nm) 未満の微粒子は高い吸収率を示すが、1 μm を超える粒子は、パイエル板に捕捉され、全身循環に移行しない (参照 30 : Hussain, 2001)。また、経口吸収では、様々な粒子特性 (直径、表面化学、表面リガンド、形状及び弾性、物理的及び化学的安定性) の影響を受ける。3 μm (3,000 nm) を超える粒子は貪食され、吸収されなかったとの報告がある (参照 31 : Emond, 2011)。

1) *in vitro*

EFSA (2016) が引用している McCracken ら (2013) の研究では、TiO₂ ナノ粒子 (粒子径 21 nm、表面積 35~65 m²/g、純度>99.5%) を模擬消化液に分散させ、10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の用量で Caco-2 細胞単層 (C2BBel) に添加したところ、二酸化チタン粒子は毒性を示さなかったものの、上皮細胞による粒子の取り込みにより、粒子が体内の他の部位に循環・移動する可能性が示された。なお、二酸化チタン粒子は模擬腸内消化液中では強く負に帯電し、粒子上に胆汁酸塩/タンパク質からなるコロナが確認され、二酸化チタン粒子の内部化が起こっていることが確認されたと報告されている。(参照 32 : McCracken, 2013)

EFSA (2016) が引用している Chaudhry ら (2013) の研究では、オボアルブミン溶液に分散させた二酸化チタンのナノ及び微粒子の透過性をトランスウェルシステムを用いて検討したところ、粒子サイズに関わらず、二酸化チタンの透過はみられなかった。(参照 33 : Chaudhry, 2013)

2) *in vivo*

EFSA (2016) が引用している Gu ら (2015) の研究では、CD-1 マウスに微小化二酸化チタン (サイズ 100 nm 以上) 64 mg/kg/日を経口投与した結果、血中、肝臓、脾臓のチタン濃度は変化しなかったと報告されている。肝臓や脾臓の病理組織学的な変化も観察されなかった。この結果は、マイクロサイズの二酸化チタンが経口投与で吸収されないことを示すとされている。(参照 34 : Gu, 2015)

EFSA (2016) 及び JECFA (1970) が引用している Fournier (1950) の研究において、ラット (種、性別、匹数は明記されていない) に 0.2、1、2%の二酸化チタンを7日間投与したところ、消化管から二酸化チタンは吸収されないようであると報告されている。同試験において二酸化チタン 660 mg/kg/日 15 日間投与したラットの血液、肝臓、腎臓及び尿ではチタンは認められなかったと報告されている (分析感度 10 μg)。 (参照 35 : Fournier, 1950)

EFSA(2016) が引用している Jani ら (1994) の研究では、ルチル型二酸化チタン粒子 (粒子径 500 nm) のラット消化管からの取り込みが検討された。Sprague-Dawley ラット (平均体重 : 150 g、年齢 : 12-14 週) の成熟雌 6 匹に 12.5 mg/kg/日 (2.5% w/v 懸濁液 0.1 mL) を 10 日間経口投与した結果、病理組織学的検査により、全ての主要な腸管関連リンパ組織 (GALT) に二酸化チタンを含む粒子がみられ、二酸化チタン粒子が肝臓や脾臓などの全身臓器に移動していることが実証された。誘導結合プラズマ法によるチタン濃度の測定結果より、二酸化チタン粒子の 10 日間の総投与量の 6.5% が取り込まれたと算出された。ルチル型二酸化チタン粒子の取り込みは主にパイエル板を介して起こり、その後、粒子は腸間膜ネットワークに移動し、腸間膜リンパ節に集積すると結論づけられた。その後、一部の粒子は全身循環に入り、肝臓と脾臓に取り込まれたとされている。(参照 36 : Jani, 1994)

EFSA(2016) が引用している Onishchenko ら (2012) の研究では、ルチル型二酸化チタンナノ粒子の水分散液 (50 mg/cm³) を Wistar ラット小腸の分離ループに投与し、二酸化チタンナノ粒子の浸透が観察された。3 時間の曝露後、ルチル型ナノ粒子は、細胞のアピカル領域の細胞膜下及び細胞質のより深い部分に、孤立した物体または小さな凝集体として確認された。これにより、ルチル型二酸化チタンナノ粒子を消化管に投与すると、小腸の上皮バリアを通過することが示された。(参照 37 : Onishchenko, 2012)

EFSA (2016) が引用している Chaudhry ら (2013) の研究では、ラット (系統不明、材料の種類ごとに 5 群/6 匹) に二酸化チタンのナノサイズ粒子 (アナターゼ型 2 種類及びルチル型 1 種類) 及びマイクロサイズ粒子 (ルチル型) 4.6 mg/kg を単回経口投与した。投与後、適切な時間間隔で血液、尿および糞便の試料を採取したところ、チタンの大部分 (定量されていない) は糞便中に見出され、血液、尿及び組織中のチタン濃度に有意な増加はみられなかった。よって、血液、尿および糞便への吸収・移行ならびに各臓器 (肝臓、腎臓、脾臓、心臓、脳、消化管) への分布は非常に限定的であると結論づけられた。(参照 33 : Chaudhry, 2013)

EFSA (2016) 及び Health Canada (2022) が引用している Cho ら (2013) の研究では、二酸化チタンの球状ナノ粒子 (アナターゼ型 80%、ルチル型 20%、SEM による測定径 : 26.4 ± 6.1 nm、流体力学的径 : 37.8 ± 0.4 nm) 0、260.4、520.8、1,041.5 mg/kg/日を蒸留水懸濁液として雌雄 Sprague-Dawley ラット (11 匹/群) に 13 週間 (7 日/週) 経口投与し、二酸化チタンナノ粒子の吸収、分布、排泄を調べている。剖検時に血液、組織 (肝臓、腎臓、脾臓、脳)、尿、糞便のサンプルを採取した。組織分布データから、最高用量投与群であっても、採取した臓器において二酸化チタンナノ粒子の有意な増加はみられなかった。尿中のチタン濃度も有意に増加せず、糞便中に非常に高濃度のチタンが検出された (糞便中のチタン濃度は尿

中より約 4 桁高かった)。以上より、Cho らは、二酸化チタンナノ粒子はヒトの曝露量より数桁高い濃度で反復投与してもラットにおける吸収は極めて低く、消化管を介した有意な全身移行はないと結論づけている。(参照 38 : Cho, 2013)

EFSA (2016, 2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Geraets ら (2014) の研究では、4 種類の二酸化チタン (NM-100、NM-101 (アナターゼ型、一次粒子径 6 nm)、NM-102 (アナターゼ型、一次粒子径 20 nm)、NM-103 (ルチル型、一次粒子径 20 nm、酸化アルミニウムとポリシロキサンポリマー層でコーティング)、NM-104 (ルチル型、一次粒子径 20 nm、酸化アルミニウムでコーティング)) 2.3 mg/動物/日を Wistar ラット (単回投与群 : 材料の種類ごとに雄 3 匹/群、反復投与群 : NM-101 は雌 3 匹/群、その他の材料では材料の種類ごとに雄 3 匹/群) に強制経口投与または静脈内投与し、二酸化チタンナノ粒子の組織分布、排泄、経口吸収を調べている。各粒子はプローブ超音波処理によりエタノールとラット血清アルブミンに分散させ、10%PBS で希釈したものが投与された。

経口投与群では、単回投与 (投与量 : 6.8~8.6 mg/kg 相当) または反復投与 (5 日間連続投与、累積投与量 : 雄 34.1~42.4 mg/kg 相当、雌 54.5~59.9 mg/kg 相当) の最後の投与から 24 時間後に肝臓、脾臓及び腸間膜リンパ節を採取した。全ての組織の結果に基づき、Geraets らは経口投与群では投与量の約 0.02%が吸収されたと推定し、二酸化チタンナノ粒子の経口アベイラビリティが非常に限られていると結論付けている。

静脈内投与群では、単回投与 (投与量 : 雄 8.4~9.8 mg/kg 相当、雌 12.4~14.1 mg/kg 相当) または反復投与 (5 日間連続投与、累積投与量 : 雄 42.3~49.4 mg/kg 相当、雌 61.2~71.9 mg/kg 相当) の投与 2 日目から 90 日目まで血液及び組織サンプルを採取した。

EFSA パネル及び Health Canada は、本試験で用いられた二酸化チタンのうち NM-100 と NM-102 のみが E 171 の評価に関連するとみなしている。同様の結果は、Janer ら (2014) 及び MacNicoll ら (2015) によっても報告されている。(参照 39 : Geraets, 2014)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Coméra ら (2020) の研究では、絶食させた C57BL/6 マウス (性別は特定せず) に E 171 40 mg/kg を水懸濁液として単回経口投与した後の吸収動態を調べている。腸 (空腸、回腸、結腸) 及び血液中の二酸化チタン粒子の存在は、投与後 2、4、8 及び 24 時間後に共焦点顕微鏡または TEM で測定された。Coméra らは、投与 4 時間後の時点で投与量の約 0.007%が空腸と回腸絨毛に吸収されたと推定しているが、8 時間後にはチタン濃度は基底値に戻り、結腸では比較的ほとんど吸収が起こらなかった。パイエル板では、チタンは 4 時間後には検出されなかったが、8 時間後には有意に増加した。二酸化チタン粒子と推定される血液中の反射性粒子は 4 時間後及び 8 時間後にそれぞれ基底値の 3.5 倍と 4.1 倍と有意に増加したが、ICP-MS による定量では、血中チタン濃度はいずれの時点でも LOD (<0.02 mg/kg) 未満であった。腸内のチタン含有量とマウス組織の重量から、投与後 4 時間の時点で投与したチタンの約 0.007%が腸全体に存

在すると計算された。Coméra らは、二酸化チタンは大部分が回腸で吸収され、残りの一部が空腸で、少量が結腸で吸収されたと結論づけた。さらに表面積の考察から、二酸化チタンは主に大部分が小腸の絨毛領域で吸収され、パイエル板からはそれほど吸収されないと考えた。*ex vivo* 実験では細胞間隙経路を阻害すると二酸化チタンの吸収が減少したが、細胞間隙経路阻害剤で吸収が完全に阻害されなかったことから、Coméra らは、細胞間隙経路のほかに、エンドサイトーシスも腸管内腔から血液への二酸化チタンの輸送に関与している可能性があるとして結論づけた。但し、Health Canada (2022) では、腸管ループ試験では、洗浄による消化管粘膜バリアの破壊や、食物マトリックスがないことなど、結果の解釈が難しいことが指摘されている。(参照 40 : Coméra, 2020)

EFSA (2021) で報告されている拡張世代生殖毒性 (EOGRT) 試験で血中及び尿中チタン濃度を測定している。本試験は OECD TG443 及び GLP に従って雌雄ラットで実施され、E 171 (アナターゼ型、粒子径 40-200 nm (粒子数に基づく中央値 : 90 nm) ³) 0、100、300 または 1,000 mg/kg/日を F0 世代では交配 10 週前から F1 世代の離乳まで、F1 世代では離乳から F2 世代の生後 4 日目または 8 日目まで混餌投与した。F2 世代は生後 4 日目または 8 日目に試験が終了するまで乳汁を通じて二酸化チタンに曝露した。投与期間は各コホートの評価エンドポイントに依存し、最長 18 週間であった。

EFSA パネルは、飼料中に二酸化チタンとして約 1.4mg/kg/日相当のチタンが含まれており、対照群の血中及び尿中の測定可能なチタン濃度にばらつきがあることを指摘しているものの、E 171 投与群の血中及び尿中のチタン濃度に用量依存性のわずかな上昇がみとめられたと判断している。(参照 21 : EFSA FAF Panel, 2021)

EFSA (2016) が引用している West & Wyzan (1963) の研究では、男性ボランティア 5 名に対して、二酸化チタン (米国薬局方 (National Formulary) 規格) 5 g の牛乳分散液を 3 日間連続で経口投与した。尿中のチタン濃度に検出可能な変化はなく、体内での蓄積を排除することはできないものの、チタンイオンの有意な吸収がないことが示唆された。

これに対し Health Canada (2022) は、Cho ら (2013) を引用し、技術進歩により生体マトリックス中のチタンの検出能力が当時よりも向上していることや、尿はチタンの主要な排泄経路ではないと考えられることを指摘している。(参照 41 : West & Wyzan, 1963、参照 38 : Cho, 2013)

EFSA (2016) が引用している Böckmann ら (2000) の研究では、24~66 歳の男性に対して、ゼラチンカプセルに入れたアナターゼ型二酸化チタン (粒径中央値 : 160 nm) または粉末二酸化チタン (粒径中央値 : 380 nm) 23 または 46 mg を経口投与し、投与後 24 時間 (0、15、30 分及び 1、2、4、8、12、24 時間) にわたって血中チタン濃度を測定した。著者らは血中

³ 被験物質として使用された市販の二酸化チタンと同一ブランドについての独立した分析結果による。

濃度－時間データを示し、持続的な吸収メカニズムに特徴的な曲線を示したと報告している。

EFSA パネルはこのデータに基づき血中濃度－時間曲線下面積（AUC）を算出した。その結果、ゼラチンカプセルを投与された 5 名の AUC は粉末を投与された 2 名よりも高いことが示された（ゼラチンカプセル：17,573.25 $\mu\text{g/L} \times \text{分}$ vs 粉末：9,384, 10,519.5 $\mu\text{g/L} \times \text{分}$ ）。このことは二酸化チタンの吸収に粒子径が影響する可能性を示しているが、検討された二酸化チタンの粒径はいずれも 100 nm 以上であった。（参照 42：Böckmann, 2000）

EFSA (2016) 及び Health Canada (2022) が引用している Jones ら (2015) による研究では、ヒトボランティア（男性 4 名、女性 5 名；30～56 歳）に、粒子径 15 nm（アナターゼ型、50 nm 未満の粒子数～100%）、100 nm（ルチル型、48～154 nm の粒子数が 95%を占める）、<5,000 nm（ルチル型、100 nm 超の粒子数が 100%を占める）の 3 種類の二酸化チタン 5 mg/kg を水に分散させて単回経口投与した。投与は少なくとも 4 週間間隔で行い、連続的に血液（ベースライン、投与後 2、4、24、48 時間）及び尿（24 時間ベースラインから投与後 72 時間まで）を採取し、加水分解後のチタン含有量を測定した。血中及び尿中チタン含有量は ICP-MS で測定した。また、投与前及び投与 2、4、24、48 時間後に血液サンプルを採取し、チタン含有量、全血球数、肝機能について分析した。その結果、用いた全ての粒子径の二酸化チタンについて、経口投与後にほとんど胃腸から吸収されず、粒子径による吸収率の差もみられなかった（吸収率の最大推定値は投与量の 0.1%）。

Health Canada (2022) では、Jones らの研究における血中チタン濃度の平均ベースラインは 13.7 ng/mL であり、Pele ら (2015) で摂取後に観察されたピークレベルより高いことを指摘している。高分解能 ICP-MS を用いた最近の調査では、血清及び全血中の基礎チタン濃度は一貫して 1 ng/mL 未満と報告されており（Balcaen ら、2014；Swiatkowska ら、2019）、汚染又は干渉の可能性が示唆される。さらに Swiatkowska ら (2019) は、Pele ら (2015) と Jones ら (2015) でチタンの定量に使用された標準 ICP-MS は、生体試料中のチタン濃度の測定に対して適切な方法ではないとしている。（参照 43：Jones, 2015、参照 44：Swiatkowska, 2019）

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Pele ら (2015) による研究では、ヒトボランティア 7 名に E 171 (D_{50} 260 nm) 100 mg を含有するカプセルを 250 mL の水とともに単回経口投与し、投与後 0、30 分、1、1.5、2、3、6、8、10 時間の血液を採取した。血中の二酸化チタン粒子は暗視野顕微鏡によって識別され、チタン濃度は高分解能（HR）-ICP-MS による同位体希釈分析で測定された。血中チタン濃度は 6 時間後に最大値（約 11 ng/mL）を示し、10 時間後には 5 $\mu\text{g/mL}$ まで低下した。血中粒子数を示す反射率の指標も、測定された濃度と相関があった。血中チタン濃度のベースラインレベルは約 2 ng/mL であり、吸収された粒子の大きさは定量されていない。Pele らは、ヒトの腸には 2 つの粒子取り込み経路が存在する可能性を指摘した。1 つは近位（十二指腸/十二指腸での取り込み）、も

う 1 つは遠位（回腸パイエル板での取り込み）である。

EFSA パネルは、本研究結果より、二酸化チタンの経口全身バイオアベイラビリティが示されたと結論づけた。（参照 45 : Pele, 2015）

（２） 分布

EFSA(2016) が引用している Wang ら (2007b) の研究では、異なるサイズの二酸化チタン粒子 (25、80 及び 155 nm) 5 g/kg を CD-1 (ICR) マウス (雌雄各 40 匹/群) に単回強制経口投与した。投与 2 週間後に雄マウスから採取した様々な組織サンプル中の二酸化チタン濃度を測定した結果、チタンは主に肝臓に蓄積することが示された (25 nm 群 : 106 ± 8 ng チタン/g、80 nm 群 : $3,970 \pm 1,670$ ng チタン/g、155 nm 群 : 107 ± 25 ng チタン/g)。その他の組織におけるチタン濃度は、腎臓で 80 nm 群 : ~ 440 ng チタン/g (対照群と統計的有意差 a あり ; $p < 0.05$)、25 nm 群 : ~ 375 ng チタン/g、155 nm 群 : ~ 170 ng チタン/g、対照群 : ~ 150 ng チタン/g であった。155 nm 粒子懸濁液を投与された動物のチタン濃度は、脾臓で最も高く、次いで肺と脳で高かった。赤血球中のチタン濃度は、25 nm 群 : ~ 130 ng チタン/g、80 nm 及び 155 nm 群 : ~ 120 ng チタン/g、対照群 : ~ 80 ng チタン/g であった。生体内分布に関しては、二酸化チタンが主に肝臓、脾臓、腎臓、肺に保持されることが実験により示され、二酸化チタン粒子が消化管を介して取り込まれた後に他の組織や器官に輸送されることが示された。（参照 46 : Wang, 2007）

EFSA (2016) が引用している Lloyd ら (1955) の研究では、二酸化チタン (粒子径不明) をラット用飼料の消化率を決定するための指標物質として用いている。60 日齢のアルビノ雄ラット 30 匹に 0.25%二酸化チタン (~ 295 mg/kg/日相当) を含む飼料を 6 日間与え、このうち 10 匹については投与期間を含めて 13 日間、毎日個別に糞を回収した。残りの 20 匹は 5 匹ずつ 4 つの群に分け、投与期間後 7 日間、群ごとの糞を回収した (総食餌量も記録した)。ラット 30 匹について、投与した二酸化チタンの平均 92%が回収され、一部 (8%) は吸収されたものとして扱われた。排泄の遅れは消化管の一部へのチタンの蓄積によるものと仮定された。（参照 47 : Lloyd, 1955）

EFSA(2016) が引用している West & Wyzan (1963) の研究では、二酸化チタン (粒子径は不明) を 100 g/kg の割合で含む飼料を雌雄ラットに 32 間与えた結果、統計的に有意な量のチタンは筋肉のみで検出され (雄 : 0.06 mg/kg 湿重量、雌 : 0.11 mg/kg 湿重量)、肝臓、脾臓、腎臓、骨、血漿、赤血球には保持されないことが示された。（参照 41 : West & Wyzan, 1963）

EFSA(2016) が引用している Colorcon (2003) のバイオアベイラビリティ試験では、4 種類の二酸化チタン (ルチル型 (厚い平板状粒子)、ルチル型 (薄い平板状粒子)、ルチル型 (非

晶質) 及びアナターゼ型 (非晶質) : いずれも粒子径は不明) を 200 mg/kg の割合で含む飼料 (投与量は~30 mg/kg 体重/日相当) または対照飼料 (平均二酸化チタン濃度 9 mg/kg 湿重量) を 6~10 週齢の Sprague-Dawley (Cr:CD® BR) ラット (各屠殺時点につき雌雄各 3 匹/群) に不断給餌で連続 7 日間与えた。その後、屠殺前最大 72 時間は二酸化チタン投与群にも対照飼料 (平均二酸化チタン濃度 7 mg/kg 湿重量) を与えた。ラットは二酸化チタン飼料の給餌中止後 1、24 または 72 時間後に屠殺し、肝臓、腎臓、筋肉、全血、尿及び糞便中のチタン含有量を測定した。チタンの主な排泄経路は糞便であり、各採取間隔 (0-24 時間、24-48 時間、48-72 時間) における糞便排泄量は全ての二酸化チタン投与群で同程度であった。二酸化チタン飼料の給餌中止後 0~72 時間の二酸化チタンの糞便中排泄量は雄で 1.4~2.2 mg/動物、雌で 1.1~1.3 mg/動物であり、1 日投与量の 39~63% であった。尿中排泄量は全ての群で 1 日投与量の 2% 未満であり、多くは定量限界以下 (<0.4 mg/L) であった。全血中のチタン濃度は全ての群で <0.4 mg/L、肝臓、腎臓及び筋肉中のチタン濃度も多くは定量限界 (< 0.1~< 0.2 mg/kg 湿重量) 以下または 0.1~0.3 mg/kg 湿重量の範囲であった。バイオアベイラビリティ試験では、飼料投与後の 4 種類の二酸化チタンの全身吸収に差はなかった。(参照 48 : Colorcon, 2003)

EFSA (2016) が引用している Onishchenko ら (2012) による研究では、アナターゼ構造の二酸化チタンナノ粒子 (詳細不明) とマイクロサイズ二酸化チタン粒子 (食品添加物 E 171 ; 結晶構造は不明) の水分散液を低用量 (1mg/kg) と高用量 (100mg/kg) で Wistar ラットに 28 日間投与した。その結果、いずれの群も、対照群と比較して肝臓組織のチタン量の顕著な増加はみられなかった。ルチル型の二酸化チタンナノ粒子を同様に投与した場合、低用量群では肝臓組織のチタン量の顕著な増加はみられなかったが、高用量を胃内投与した群では肝臓のチタン濃度が著しく (約 2 倍) 増加した。著者らは、これは二酸化チタンが腸管バリアを通過することを示している可能性があるとした。(参照 37 : Onishchenko, 2012)

EFSA (2016) が引用している Chaudhry ら (2013) による研究では、二酸化チタンのナノサイズ粒子 (アナターゼ型 2 種類及びルチル型 1 種類) 及びマイクロサイズ粒子 (ルチル型) の水分散液をラットに単回投与した。投与後 96 時間までのいずれかの時点で屠殺し、肝臓、脳、心臓、腎臓、脾臓を採取したが、いずれの組織においても二酸化チタンの移行はみられなかった。(参照 33 : Chaudhry, 2013)

EFSA (2016, 2021) が引用している Tassinari ら (2014) による研究では、2 種類のアナターゼ型二酸化チタンナノ粒子 (一次径が 20~60 nm の球状粒子及び 40~60 nm の不規則な形状の粒子) 0、1 及び 2 mg/kg/日を Sprague-Dawley ラット (雌雄 14 匹/群) に 5 日間連続で経口投与し、6 日目 (最終投与から 24 時間後) に血液と臓器を採取した。2 mg/kg/日投与群の脾臓と卵巣を除き、対照群と投与群で組織中チタン濃度に差はみとめられなかった。脾

臓中チタン濃度は 2 mg/kg/日 で $0.046 \pm 0.008 \mu\text{g/g}$ 、対照群で $0.036 \pm 0.009 \mu\text{g/g}$ 、卵巣中チタン濃度は 2 mg/kg/日 で $0.28 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$ 、対照群で $0.12 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$ であった。SEM-EDX で二酸化チタン粒子の凝集体（直径 200-400 nm）が同定され、二酸化チタン粒子の質量濃度を単粒子 ICP-MS で定量したところ、誘導結合プラズマ動的反応セル質量分析法(ICP-DRC-MS)で測定した総チタン濃度と一致した。

EFSA パネルはこの結果から、被験物質の吸収は低いと結論付けている。(参照 49:Tassinari, 2014)

EFSA (2016, 2021) が引用している Geraets ら (2014) による研究では、5 種類の二酸化チタン (NM-100、NM-101、NM-102、NM-103、NM-104) 2.3 mg/動物/日を Wistar ラット (単回投与群：材料の種類ごとに雄 3 匹/群、反復投与群：NM-101 は雌 3 匹/群、その他の材料では材料の種類ごとに雄 3 匹/群) に強制経口投与または静脈内投与し、二酸化チタンナノ粒子の組織分布、排泄、経口吸収が調べられた。その結果、二酸化チタンは全身循環から組織 (肝臓、脾臓、腎臓、肺、心臓、脳、胸腺、生殖器について評価) に急速に分布すると結論づけられた。主な標的組織は肝臓であり、次いで脾臓及び肺であった。投与終了後 24 時間で測定した総回収率は公称投与量に対し 64~95%の範囲であった。様々なシナリオによる計算から、Geraets らは、投与された二酸化チタンの 0.02%が組織内に分布していると推定し、EFSA パネルもこの結論に同意している。

EFSA パネルは本試験で用いられた二酸化チタンのうち NM-100 と NM-102 のみが E 171 の評価に関連するとみなした。(参照 50 : Geraets, 2014)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Talamini ら (2019) による研究では、マウス (4 匹) に E 171 5 mg/kg/日を 3 週間 (3 日/週、21 日間で 9 回、平均 2 mg/kg/日) 投与した。投与 21 日目に屠殺し、マウス組織中のチタン濃度をトリプル四重極 ICP-MS によって測定した。胃、小腸、大腸、肝臓の総チタン濃度は、他の臓器に比べて 1 桁大きかった。投与群の組織中のチタン濃度は、肺、脾臓、胃、小腸では対照群と比較して統計的に有意な差はなかったが、肝臓と大腸では有意な増加が観察された (対照群に対してそれぞれ 1.8 倍、3.6 倍の増加)。大腸では二酸化チタンナノ粒子も観察されたが、粒子は主にマイクロスケールであると判断された。脳、腎臓、精巣のチタン濃度は LOQ ($0.03 \mu\text{g Ti/g}$ 組織) 以下であった。

EFSA パネルは保守的なアプローチを採用し、結腸に関連するチタンは全て吸収されると仮定し、本研究において、二酸化チタンの総投与量の 0.1%が吸収されたと計算した。(参照 51 : Talamini, 2019)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Riedle ら (2020) の研究では、主にパイエル板における免疫細胞への E 171 の影響を調べることを目的として、6 週齢の雌雄

C57BL/6 マウスに E 171 (アナターゼ型、D₅₀ 119 nm、範囲 50~350 nm) 0、1、10 及び 100 mg/kg bw/日を 6、12 及び 18 週間混餌投与した。18 週間後、パリエル板基底部における粒子の存在を共焦点顕微鏡で確認し、走査型電子顕微鏡 (SEM) /エネルギー分散型 X 線分析装置 (EDX) でチタンを多く含む粒子が特定された。パリエル板基底部への二酸化チタン粒子の取り込みは用量依存的と考えられるが、定量的な情報は提供されていない。粒子が消化管以外の組織で検出されるのかも調べられていない。(参照 52 : Riedle, 2020)

EFSA (2021) が引用している Disdier ら (2015) の研究では、Fisher 雄ラット (投与群及び対照群各 6 匹) に二酸化チタンナノ粒子の懸濁液 1 mg/kg を注射し、注射後 30 分、1、2、6 および 24 時間、及び 7、28、90 および 356 日に、血液、肝臓、脳、脾臓、腎臓及び肺を含む検体を採取した。さらに追加検体として、注射後 5 分及び 15 分の血液と脳を採取した。ICP-MS で測定した結果、血球及び血漿中のチタン濃度は、いずれの時点においても処理群と対照群で差がみられなかった。脳チタン濃度は非常に低く、最初の 24 時間で投与群が対照群よりも高くなったが、7 日目以降は差がみられなかった。腎臓中チタン濃度は最初の 24 時間で投与群が対照群よりも数倍高くなったが、7 日目以降は差がみられなかった。脾臓、肝臓及び肺では、チタン濃度は時間とともに減少したが、356 日目でも投与群が対照群よりも高い値を示した。Disdier らは、6 時間後に全投与量の約 44%が肝臓に、10%が肺に、2%が脾臓に存在すると推定した。

半減期は肝臓と肺で 83 日、脾臓で 350 日と推定された。EFSA パネルは、これらの推定値は高い不確実性を持つと指摘している。肝臓の蓄積係数は 134.7 であり、約 1.5 年後に定常状態に達すると算出された。肺についても同様であった。脾臓の蓄積係数は 350 であり、約 5 年後に定常状態に達すると算出された。これらの結果は、臓、肺、脾臓における二酸化チタンナノ粒子の蓄積の可能性を示した。(参照 53 : Disdier, 2015)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Kreyling ら (2017a) の研究では、雌 Wistar-Kyoto ラットに可溶性の [⁴⁸V] 二酸化チタンナノ粒子 (一次粒子径 : 7~10 nm、水/組織中粒子径 : 88nm) の懸濁液を静脈内投与し、その生体内運命を調べている。24 時間までの実験には 1.0 MBq/mg (二酸化チタン質量当たりの ⁴⁸V 放射能) の放射性同位体、7 日及び 28 日の実験には 2.35 MBq/mg の放射性同位体を使用した。投与 1、4、24 時間後及び 7、28 日後に、各時点で 4 匹のラットを麻酔下で失血させて安楽死させた。血液、すべての臓器、組織、排泄物を採取し、⁴⁸V 放射活性を測定した。注射後 4 時間では、放射性線量の 99.5% が肝臓で検出され、28 日では 88.9%が肝臓で検出された。脾臓と腎臓からは数%の線量が検出された (脾臓では 2.5~4%、腎臓では 0.05~0.2%)。他の組織はすべて含有量が少なく、骨 (骨髄を含む) 及び残りの組織からは 1%及び 0.7%が検出された。⁴⁸V は尿中に排泄され、その排泄量は 28 日間で約 1%になり、1 日目に最も多く排泄された。胆汁性排泄物である糞便からの排泄は 28 日間で 3%であった。

EFSA パネルは、最後の測定が投与後 28 日目であり、その間の放射能の減少がわずか 10% であったことから、外挿には高い不確実性があるとして $[^{48}\text{V}]$ 二酸化チタンナノ粒子の半減期を推定していない。しかし、このデータは半減期が長く、数週間ではなく数ヶ月のオーダーである可能性を示している。(参照 54 : Kreyling, 2017a)

EFSA (2021) が引用している Hendrickson ら (2016) の研究では、ラット (投与群及び対照群各 6 匹) に二酸化チタンナノ粒子 250 mg/kg/日を 28 日間経口投与した後、腹部静脈血、肺、肝臓、脾臓、脳、睾丸、小腸、心臓、胃及び腎臓を採取した。組織中チタン濃度は、投与群では肝臓>脾臓、小腸>腎臓の順で高く、肺、脳、精巣、心臓、血液では LOD 以下であった。対照群では全ての組織及び血液で LOD 以下であった。

EFSA パネルはこれらのデータから 28 日間投与後の体内チタン量を 3.4 μg と推定した。これを累積チタン投与量 (60 mg/日 $\times$ 28 日) で除すと、経口全身バイオアベイラビリティは $2.1 \times 10^{-4}\%$ と算出された。(参照 55 : Hendrickson, 2016)

EFSA (2021) が引用している Ammendolia ら (2017) の研究では、雌雄 Sprague-Dawley ラット (10 匹/群/性) に二酸化チタンナノ粒子 0、1 または 2 mg/kg/日を水懸濁液として 5 日間連続で経口投与し、最終投与から 24 時間後に小腸を採取した。小腸組織のチタン濃度 ($n=4$ の平均値) は対照群で $0.08 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$ 、1 mg/kg/日群では $0.09 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$ 、2 mg/kg/日群では $0.13 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ であった。対照群のチタン濃度を差し引くと、二酸化チタンナノ粒子の総投与量の 0.01% が小腸に存在すると計算された。(参照 56 : Ammendolia, 2017)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Kreyling ら (2017b) の研究では、雌 Wistar-Kyoto ラットに可溶性の $[^{48}\text{V}]$ 二酸化チタンナノ粒子 (一次粒子径 : 7~10 nm、水/組織中粒子径 : 88nm) の懸濁液を強制経口投与し、1、4、24 時間後及び 7 日後に血液、すべての臓器、組織及び排泄物を採取し、放射活性を測定した。放射能の大部分は糞便中に排泄された。投与後 1 時間以内に投与線量の約 0.6% が吸収され、7 日後の組織内残存割合は投与線量の約 0.05% であった。Kreyling らは、個体によって分布パターンが異なることを指摘している。測定可能な沈着は、脾臓、腎臓、心臓及び子宮で 4 時間後のみ観察された。脾臓、腎臓及び心臓では、投与後 24 時間で保持量が最大となった。肝臓、肺及び血液では、ナノ粒子の保持は 4 時間から 7 日後まで減少した。脳、子宮、腎臓では、7 日後に最も高い濃度が観察された。肝臓と脾臓における濃度のピークは、それぞれ吸収量の 12.5% (4 時間) と 2.6% (24 時間) であった。Kreyling らは、排泄速度が遅いため、二酸化チタンナノ粒子に慢性的に曝露された個体では、全身循環する粒子が特定の細胞や臓器に蓄積すると考えられるとしている。

経口投与による $[^{48}\text{V}]$ 二酸化チタンナノ粒子の生体内分布を静脈内投与 (Kreyling ら、2017a) で得られた分布と比較し、Kreyling らは、動態パターンが大きく異なるため、二酸

化チタンの生体内分布の評価において、静脈内投与は経口投与の適切な代替とは考えられないと結論付けている。

EFSA パネルは、 ^{48}V が二酸化チタンナノ粒子の忠実なトレーサーであるという仮定に基づき、経口投与された二酸化チタンナノ粒子の全身バイオアベイラビリティが 0.6%であることを本研究が実証していると考えた。さらにパネルは、この研究が曝露経路間の分布の有意な違いを示していると考えた。(参照 57 : Kreyling, 2017b、参照 54 : Kreyling, 2017a)

EFSA (2021) が引用している Hendrickson ら (2020) の研究では、二酸化チタンナノ粒子 50 mg/kg を Wistar ラットに分離腸管ループ法 (isolated intestinal loop technique) で単回投与した。投与 3 時間後に肝臓と脾臓及び分離ループを採取した。組織中に 100 nm 以上の大きさの緩やかな凝集体がみられ、回折分析により、これが二酸化チタンであることが確認された。小腸の粘膜細胞表面や微絨毛の間、粘膜組織内にも二酸化チタンナノ粒子が検出された。パイエル板では、20~60 nm の大きさの単一ナノ粒子と凝集体が検出された。肝臓では、実質組織で二酸化チタンナノ粒子の凝集 (150~200 nm、最大 300 nm) がみられ、脾臓の赤髄では、単一のナノ粒子 (20~30 nm)、凝集体 (最大 100 nm) 及び集合体 (最大 800 nm) が観察された。

EFSA パネルは、この研究が、腸、肝臓、脾臓において、単一粒子または様々な大きさの凝集体として二酸化チタンナノ粒子が存在することを実証しているとした。しかし、定量的なデータは提供されていない。(参照 58 : Hendrickson, 2020)

EFSA (2021) が引用している Chen ら (2020a,b) の研究では、4 週齢の Sprague-Dawley ラット (6 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 0、2、10、50 mg/kg/日の水懸濁液を 90 日間強制経口投与し、91 日目に血液、肝臓、胃、小腸、大腸、脾臓、心臓、肺、腎臓及び精巣を採取した。臓器及び血液中のチタン濃度は高分解能 ICP-MS で測定した。脾臓と心臓では、チタン濃度は LOD (32 ng/g 組織) 以下であった。血液、肝臓、腸、肺、腎臓及び精巣では、投与群と対照群でチタン濃度の統計的な差はなかった。大腸では、50 mg/kg 投与群は、対照群及び 2、10 mg/kg 投与群よりも高濃度であった。Chen らは、50 mg/kg 投与群でみられた高濃度は、粘膜細胞ではなく大腸粘膜組織の表面に付着した二酸化チタンナノ粒子によるものであると考察し、この研究における二酸化チタン吸収率は非常に低いと結論付けた。

EFSA パネルは、粒子の化学的特性評価 (EDX など) を行わない TEM による観察は、粒子の同一性の不確実性につながると考えた。(参照 59 : Chen, 2020a、参照 60 : Chen, 2020b)

Health Canada (2022b) で報告されている OECD TG417 及び GLP 準拠試験の情報は、産業界から Health Canada に提出された未公表試験の報告書の要約に基づく。この試験では、雌雄 CD ラット (試験ガイドラインでは雌雄各 4 匹以上/群とされているが、実際の使用動物数は不明) に 5 種類の二酸化チタン 1,000 mg/kg を単回強制経口投与し、投与 96 時間後の

全血中チタン濃度を測定した。使用した二酸化チタンは E 171-E（中央粒径 99.9 ± 2.0 nm、ナノスケールの粒子を約 50～51%含有）、G6-3（アルミナと疎水性有機物でコーティングされたルチル型ナノ粒子、 $D_{50} = 9.2 \pm 2.0$ nm）、G2-5（コーティングされていないアナターゼ型ナノ粒子、 $D_{50} = 5.5 \pm 2.0$ nm）、G3-1（コーティングされていないルチル型顔料、 $D_{50} = 146.9 \pm 5.9$ nm）及び G4-19（アルミナ及びポリオールでコーティングされたルチル型顔料、 $D_{50} = 177.5 \pm 3.9$ nm）であった。投与 0、0.5、1、2、4、8、12、24、48、72、96 時間後に血液を採取し、全血試料について硫酸で酸分解した後に ICP-MS/MS でチタン濃度を測定した。この方法は、可溶性チタンだけでなく、粒子状の二酸化チタンのバイオアベイラビリティも考慮できる。対照群の血中チタン濃度は大きく変動し、数匹の雄は統計的異常値とみなされ、データ処理から除外された。投与群の雌雄ラットの平均血中チタン濃度は $0.2 \mu\text{g/g}$ 以下であった。最も高い血中チタン濃度は E171-E 投与群でみられ、血中濃度時間曲線下面積（AUC）を静脈内投与したラットの AUC と比較した結果、E171-E の最大相対経口バイオアベイラビリティは 0.0013%と算出された。他の 4 種類の二酸化チタンのバックグラウンド補正後の血中チタン濃度は LOD 以下であった。LOD は明記されていないが、著者らは、試験した全ての二酸化チタンの経口バイオアベイラビリティは、分析システムの LOD に近いと結論づけている。（参照 23 : Health Canada, 2022b）

Health Canada (2022) が引用している Bettini ら (2017) の研究では、雄の Wistar ラット (10 匹/群) に E 171 10 mg/kg/日を 7 日間強制経口投与し、二酸化チタンの体内運命を検討した。その結果、投与群でのみ、小腸パイエル板、大腸粘膜及び肝臓に光回折性の二酸化チタン粒子がみとめられた。投与時に分散した粒子が腸内や腸管通過中に再凝集することにはなかったと報告されている。

Health Canada は、本研究では分散した粒子の安定化に粒子間及び他のリガンドとの結合親和性の変化を誘発することが知られている BSA を用いており、食事による曝露の一般的な条件下での粒子の分布を反映しない可能性があることを指摘している。（参照 61 : Bettini, 2017）

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Guillard ら (2020) の研究では、合併症なく正期産した女性 22 名から採取した胎盤及び新生児 18 名の糞便のチタン及び二酸化チタン粒子の濃度を測定した。この研究で用いた胎盤と糞便の検体に関連性はなかった。ICP-MS で測定した胎盤中チタン濃度は $0.01 \sim 0.48$ mg/kg（中央値 : 0.05 mg/kg）、糞便中チタン濃度は 18 検体中 9 検体のみが LOQ (0.01 mg/kg) を上回り、中央値は 0.25 mg/kg であった。胎盤及び糞便各 2 検体をエネルギー分散型 X 線結合走査型透過電子顕微鏡 (SEM-EDX) で分析した結果、二酸化チタン粒子の存在が確認された。

本研究ではさらに、*ex vivo* ヒト胎盤灌流試験で二酸化チタンの経胎盤移動を定量評価した。アンチピリンテストによって胎盤膜の完全性と機能が確認された胎盤を用い、 $15 \mu\text{g}$

E171/mL (n=13) または対照群 (n=2) を灌流した結果、二酸化チタン粒子の分布が確認された。胎盤 2 検体で粒子を同定しサイズを測定したところ、二酸化チタン粒子 34 個のうち 53%が 100 nm 以上、47%が 100 nm 以下であった。SEM-EDX を用いた分析により、胎盤滲出液中の粒子数は 1 時間の胎盤灌流のうち最初の 40 分間で増加することが示された。4~6 回の独立した実験の平均として、粒子数は顕微鏡領域あたり 6~8 個であった。

EFSA パネルはこれらの研究結果について、チタンが胎盤に低濃度で存在し、二酸化チタンが全身に利用可能であり、胎盤に分布し、胎盤膜を通過する能力があることを示すものとみなした。*ex vivo* 試験については、二酸化チタンの移行の程度は小さく、短い実験期間では測定不可能であることを指摘している。また、新生児の糞便中チタンについては、採取期間が出生後 48 時間までであったこと、50%の糞便サンプルで Ti が測定されず、粒子も特定されなかったことから、パネルは、二酸化チタン粒子が、糞便を採取するために使用したおむつや母乳などの他の供給源から生じた可能性を排除できないことを指摘している。(参照 62 : Guillard, 2020)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Heringa ら (2018) の研究では、ヒト 15 名の献体 (男性 6 名、女性 9 名 ; 56~104 歳) の肝臓及び脾臓のチタン濃度を測定した。肝臓の 15 検体及び脾臓の 1 検体で総チタン濃度は LOD (10 ng/g 組織) 以下であり、チタン濃度が測定できた検体の平均濃度は肝臓で 40 ng/g、脾臓で 80 ng/g であった。平均粒子径は肝臓で 86-426 nm、脾臓で 88-445 nm であり、小さい方の粒子径は検出下限であった。独立した手法で測定した臓器中の粒子状チタンの濃度と総チタン濃度が重なっていたことから、ほぼすべてのチタンが粒子として存在していることが示された。

EFSA パネルによる計算では、LOD を超えた検体について、肝臓中チタン量は男性で $72 \pm 25 \mu\text{g}$ 、女性で $56.0 \pm 37 \mu\text{g}$ 、脾臓中チタン量は男性で $5.5 \pm 4 \mu\text{g}$ 、女性で $12 \pm 17 \mu\text{g}$ であり、男女の肝臓と脾臓のチタン量の和は $83 \pm 51 \mu\text{g}$ であった。ヒトを最も代表する年齢層における E 171 の平均曝露量は 200~2,800 $\mu\text{g/kg/日}$ であり、チタンとして約 8.4~117 mg/日に相当する。体内のチタンの大部分が肝臓と脾臓に存在し、それらが全て食事由来の E 171 であると仮定すると、ヒトにおける E 171 の経口全身バイオアベイラビリティは最大でも 1% 未満であると推定している。(参照 63 : Heringa, 2018)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Peters ら (2020) の研究では、ヒト 15 名の献体 (男性 7 名、女性 8 名 ; 64~97 歳) の肝臓、脾臓及び腎臓中のチタン含有量を測定した。さらに、男性 5 名、女性 7 名については空腸と回腸についても測定した。各組織 15 検体中、肝臓 4 検体、脾臓 2 検体、腎臓 1 検体で、総チタン濃度は LOD (0.01 $\mu\text{g/g}$ 組織) 以下であった。空腸 12 検体中 1 検体で、総チタン濃度は LOD 以下であった。定量可能な検体における平均総チタン濃度は、肝臓で 0.03 $\mu\text{g/g}$ 、脾臓で 0.06 $\mu\text{g/g}$ 、腎臓で 0.08 $\mu\text{g/g}$ 、空腸で 0.34 $\mu\text{g/g}$ 、回腸で 0.43 $\mu\text{g/g}$ であった。spICP-MS で測定した粒子径は各組織で 50~

500 nm の範囲であった（検出下限：50 nm）。Peters らは、総チタン濃度のうち二酸化チタン粒子が約 80% を占めると考えている。定量可能な検体における各臓器中のチタン含有量は、脾臓では男性 $11 \pm 13 \mu\text{g}$ 、女性 $78 \pm 5 \mu\text{g}$ 、腎臓では男性 $16 \pm 13 \mu\text{g}$ 、女性 $33 \pm 34 \mu\text{g}$ 、肝臓、脾臓及び腎臓の含有量の合計は男女で $105 \pm 83 \mu\text{g}$ 、空腸と回腸の合計は男女で $262 \pm 185 \mu\text{g}$ であった。

この報告に基づき、EFSA パネルは、チタンがヒトの肝臓、脾臓、腎臓、空腸及び回腸に低濃度で粒子状で存在する可能性があることを指摘している。（参照 64：Peters, 2020）

（３） 排泄

EFSA (2016, 2021) が引用している Geraets ら (2014) による研究では、5 種類の二酸化チタン（NM-100、NM-101、NM-102、NM-103、NM-104）2.3 mg/動物/日を Wistar ラット（単回投与群：材料の種類ごとに雄 3 匹/群、反復投与群：NM-101 は雌 3 匹/群、その他の材料では材料の種類ごとに雄 3 匹/群）に強制経口投与または静脈内投与し、二酸化チタンナノ粒子の組織分布、排泄、経口吸収が調べられた。単回及び反復静脈内投与後 90 日間にわたって臓器のチタン濃度が観察されたが、最終的には投与量の 50% 以上がまだ体内に存在し、長い半減期（肝臓で 28～248 日）を示すと結論づけられた。単回投与と反復投与の速度論的プロファイルにはわずかな違いしかなかった。また、糞便及び尿中のチタン濃度については、投与群と対照群に明確な差がないことが示された。投与 90 日目の臓器中チタン濃度は肝臓よりも脾臓で高く、これは、肝臓と脾臓の間で二酸化チタンナノ粒子が再分配され、ゆっくりと排泄されていることと一致した。

EFSA パネルは本試験で用いられた二酸化チタンのうち NM-100 と NM-102 のみが E 171 の評価に関連するとみなしている。得られたデータから、二酸化チタンナノ粒子の全身半減期は NM-100 で約 200 日、NM-102 で 450 日、蓄積係数はそれぞれ 290 及び 450、定常状態に達するまでの時間は NM-100 で 3 年、NM-102 で 5 年と推定された。

本研究について EFSA パネルは、投与後のサンプリング回数がわずかであることや、組織半減期は推定されたものの、排泄経路を決定することはできないことを指摘している。（参照 39：Geraets, 2014）

Health Canada (2022) が引用している Farrell & Magnuson (2017) の OECD TG417 準拠試験では、飼料中の二酸化チタンの吸収、分布、排泄を評価している。食品グレードの二酸化チタン（アナターゼ型、 D_{50} 133～146 nm）を公称濃度 200 ppm で飼料に配合し、雌雄 Sprague Dawley ラット（10 匹/群・性）に 7 日間混餌投与した。対照食（二酸化チタン無添加）のバックグラウンド濃度は 7-9 ppm であり、投与群の二酸化チタン投与量は 200 g ラットが 30 g 食/日を毎日消費すると仮定した場合 30 mg /kg/日相当であった。7 日後、二酸化チタン含有飼料の投与を中止して対照飼料に置き換え、1 時間後、24 時間後、72 時間後に各性 3 匹のラットを屠殺した。排泄物、全血、肝臓、腎臓及び筋肉中のチタン含有量を ICP-AES で

測定した。尿中のチタン濃度は、1匹の0～24時間尿サンプル（0.05 mg/L）を除く全てのサンプルでLOQ（<0.04 mg/L; <2%日用量/Lに相当）未満であり、大部分のチタンは糞便中に排泄された。但し、尿および糞便の採取は試験食の中止後開始したためマスバランスの回復が推定されていない。全血中のチタン濃度は投与群、対照群ともにLOD以下であった。組織では、合計270の組織試料（肝臓、腎臓、筋肉から各90）のうち、176検体（65%）がLOD（0.1～0.2mg/kg 湿重量）未満であった。LODを超える検体も0.1～0.3 mg/kg 湿重量の範囲であり、対照群と投与群で同程度の濃度及び頻度であった。Farrell & Magnuson は、食餌で投与された食品グレードの二酸化チタンは、哺乳類の組織で顕著に吸収・分布されず、7日間の反復経口投与後も肝臓、腎臓、筋肉への蓄積の証拠はないと結論づけている。（参照 65：Farrell & Magnuson, 2017）

2. 毒性試験

（1）亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

1) 急性毒性

EFSA (2016) が引用している Hallagan ら (1995) による報告及び SCCNFP (2000) の意見書では、二酸化チタンの経口 LD₅₀ 値はマウスで >10 g/kg/日、ラットで >25 g/kg/日とされている。（参照 66：Hallagan, 1995）

EFSA (2016) 及び Health Canada (2022) が引用している Wang ら (2007b) による研究では、OECD TG420 に従って CD-1 (ICR) マウスに二酸化チタン（粒子サイズ：25、80 または 155 nm、結晶構造：特定せず）5,000 mg/kg を単回強制経口投与した結果、2週間後までに明らかな急性毒性は示さなかった。ナノサイズの二酸化チタンを投与した雌では、肝臓の損傷を示すアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）/アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）比及び乳酸脱水素酵素（LDH）活性の変化、中心静脈周辺の水腫性変性及び肝細胞の巣状壊死を特徴とする肝障害がみられた。さらに、これらの群では腎毒性（血中尿素窒素濃度（BUN）の上昇）も観察された。これらの変化は粒子サイズ 155 nm の二酸化チタンを投与したマウスではみられなかった。（参照 46：Wang, 2007）

Health Canada (2022) が引用している Warheit ら (2007) による研究では、ラットに二酸化チタン（ルチル型 79%、アナターゼ型 21%、中央粒径 140 nm）最大 5,000 mg/kg を単回強制経口投与した結果、LD₅₀ は 5,000 mg/kg 超と推定された。（参照 67：Warheit, 2007）

Kurtz ら (2020) による研究では、7～8 週齢の雌の C57/BL6Tac マウス（投与群 16 匹、対照群 8 匹）に二酸化チタンナノ粒子（不規則な形状のナノスケール粒子）1 g/kg を単回強制経口投与した。試験は 1 か月の間隔を空けて 2 回実施した。投与後 24、48 時間後、7、14 日

後に各 4 匹（対照群は各 2 匹）を屠殺し、二酸化チタンナノ粒子の腸内細菌叢及び免疫反応、体重への影響を調べた。腸内細菌 *Firmicutes* 門は回腸では投与後 24 時間から 14 日目まで増加傾向を示した一方、24 日後も 14 日目も対照群と同等であり、大腸では 24 時間後に劇的に増加したが、14 日目には減少した。投与群では投与後 4 日目までは体重増加抑制がみられたが、6 日目以降は対照群よりも高い体重増加率がみられた。また、大腸上皮細胞の主要なエネルギー源である酪酸を含むマウス糞便中の総短鎖脂肪酸は周期的な変動を示し、投与 1、5、9、14 日目にピークがみられた。Kurtz らは、既報に基づき、*Firmicutes* 門の変動と体重増加傾向の変化に関連があることを示唆している。免疫反応について、分泌型ムチンの発現は投与 24 時間後には減少したが、その後増加した。サイトカインレベルは、投与 24 時間後に回腸における IL-4 産生が 10 倍増加した。Kurtz らは、これは回腸における *Lactobacillus* 種が対照群の 3 分の 1 に減少したことと関連すると考えている。また、SFB と Th17 細胞の宿主-微生物相互作用が知られていることから、回腸における IL-17A の 48 時間後の減少とその後の回復は、二酸化チタンナノ粒子による SFB のダメージとその後の回復を示唆すると考えている。Kurtz らは、これらの結果は、二酸化チタンナノ粒子の摂取が腸内細菌叢と免疫反応に影響を与え、マウスの代謝障害とそれに続く体重増加につながることを支持するものであるとしている。（参照 68 : Kurtz, 2020）

2) 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

委託者提供資料「ナノ酸化チタン及びナノ銀の経口反復投与毒性と体内動態解析」に報告された 28 日間反復投与毒性試験及び 90 日間反復投与毒性試験の結果を以下に示す。

0.2%リン酸水素二ナトリウムに懸濁した結晶子径 6 nm のアナターゼ型ナノサイズ酸化チタン (TiO₂) を F344/DuCrj ラット雌雄 (1 群 5 匹) に 10、100、1,000 mg/kg/日の用量で 28 日間反復経口投与し、病理組織学的検査及び肝臓、腎臓及び脾臓中の Ti 濃度定量実施した結果、雌の 1,000 mg/kg/日でみられたトリグリセリド (TG) の有意な増加の他に、投与に関連する可能性のある変化はみとめられず、当該試験の無毒性量 (NOAEL) は 1,000 mg/kg/日と結論されている。なお、28 日試験の臓器における Ti 量については、雌の 1000 mg/kg/日群で肝臓中 Ti 量の有意な増加が見られたが、極めて微量であった。また腎臓および脾臓中の Ti 含量に対照群との差異は見られなかった。（参照 69 : 小川ら, 2022）

0.2%リン酸水素二ナトリウムに懸濁した結晶子径 6 nm のアナターゼ型ナノサイズ酸化チタン (TiO₂) を F344/DuCrj ラット雌雄 (1 群 10 匹) に 90 日間の強制経口投与した結果、病理組織学的検査において投与物質と考えられる黄褐色物質が頸部リンパ節、縦隔リンパ節、肺 (BALT)、気管 (上皮下) 及び回腸 (パイエル板) にみられたが、炎症反応や組織障害等の反応性変化は認められず、当該試験の NOAEL は 1,000 mg/kg/日と結論されている。また、90 日試験の主要臓器における Ti 量を測定したところ、肝臓、腎臓および脾臓中の Ti

含量に对照群との差異は見られなかった。90 日間の反復投与によって、28 日間投与では確認されなかった回腸パイエル板等のリンパ組織に被験物質と考えられる黄褐色粒子の沈着が見られ、経口暴露によって消化管から生体内に TiO₂ が微量ながら取り込まれることが示唆された。(参照 69 : 小川ら, 2022)

その他の亜急性毒性試験及び慢性毒性試験情報を以下に示す。

NCI (1979) による研究では、マウスを用いた二酸化チタンの発がん性試験の最大耐量 (MTD) を推定するため、B6C3F1 マウスで 90 日間の用量範囲探索試験を実施している。マウス (雌雄各 10 匹/群) に二酸化チタン (アナターゼ型、粒子径不明) 6,250、12,500、25,000、50,000、100,000 mg/kg diet (雄マウスでは 1,056、2,113、4,225、8,450、16,900 mg/kg/日、雌マウスでは 1,344、2,688、5,375、10,750、21,500 mg/kg/日に相当) を 13 週間連続投与した結果、死亡例はなく、投与した動物の平均体重増加は对照群と同等であった。二酸化チタンの投与に関連する肉眼的または顕微鏡的な病理学的所見はみとめられなかった。

EFSA パネルは本試験について、血液学的パラメータ及び尿、血液の生化学的パラメータの測定が欠如していることを指摘している。(参照 12 : NCI, 1979)

EFSA (2021) が引用している Talamini ら (2019) の研究 (NSC スコア 1) は、マウス (投与群 4 匹、对照群 2 匹) に E 171 (5 mg/kg/日) を 3 週間 (3 日/週 ; 21 日間で 9 回投与し、平均 2 mg/kg/日に相当) 投与している。その結果、体重、飼料摂取量及び臓器重量には影響がみられなかったが、胃、腸及び肝臓で炎症性バイオマーカーの上昇がみられた。投与群の肝臓の壊死性炎症領域の総面積は、对照群よりも大きかった。

EFSA パネルは、この試験が 1 用量に限定されていること、組織学的検査の対象が少数のマウスであること及び E 171 投与群の壊死性炎症領域の増加は、肝臓障害の証拠を示す他のエンドポイントを伴っていないことを指摘している。(参照 70 : Talamini, 2019)

EFSA (2021) が引用している Talbot ら (2018) の研究 (NSC スコア 1) は、消化管における微生物による短鎖脂肪酸 (SCFA) 生産とムチン型 *O*-グリコシル化に焦点を当て、ラットに E 171 (0、0.1、10 mg/kg/日) を 60 日間投与した場合の影響を調査している。

EFSA パネルは本研究結果について、最高用量群において、SCFA 産生及び腸管粘液バリアに E 171 が影響を及ぼさないことが示されたと考察している。(参照 71 : Talbot, 2018)

EFSA (2021) が引用している Han ら (2020a) の研究 (NSC スコア 2) は、ラットに E 171 (0、10、100 または 1,000 mg/kg/日) を 90 日間投与した場合の影響を調査しており、高用量群雄の摂餌量増加 (6~10%)、低用量及び高用量群の雄の相対リンパ球数減少 (それぞれ 8%減少) が観察されたと報告している。

EFSA パネルは、全体として、高用量群においても臨床的外観、生存、体重、摂餌、血液学、臨床化学、尿検査、内臓重量、肉眼及び顕微鏡学的病理に悪影響はみとめられなかったと判断した。(参照 72 : Han, 2020a)

EFSA (2021) が引用している Vasantharaja ら (2015) の研究 (NSC スコア 2) は、ラットに二酸化チタンナノ粒子 (0、50、100 mg/kg/日) を 14 日間経口投与した場合の臨床化学検査パラメータへの影響を調査している。複数の変化が報告されているが、EFSA パネルは、唯一の大きな変化は、両投与群における血清トリアシルグリセロールの減少 (対照群と比較して 64%に減少) であるとした。(参照 73 : Vasantharaja, 2015)

EFSA (2021) が引用している El-Din ら (2019) の研究 (NSC スコア 4) は、ラットに二酸化チタンナノ粒子 (0、1,200 mg/kg/日) を 90 日間経口投与した場合の心室の形態への影響を調査しており、投与群において心筋の組織学的変化が報告されている。しかし、報告された情報が限られているため、EFSA パネルは報告された病理組織学的変化と二酸化チタンナノ粒子投与の関係について結論づけることができなかった。(参照 74 : El-Din, 2019)

EFSA (2021) が引用している Warheit ら (2015a) の研究 (NSC スコア 4) は、ラットに 2 種類の二酸化チタン (11%ナノ粒子) 24,000 mg/kg/日を 29 日間経口投与した場合の影響を調べている。本試験では、OECD TG 407 試験で設定されているすべてのエンドポイントが検討された。EFSA パネルは、いずれのエンドポイントにおいても処理に関連した有害事象はみとめられなかったと判断した。さらに、NSC スコアが 4 であり、内部曝露が証明されなかったことに言及した。(参照 75 : Warheit, 2015a)

EFSA (2021) が引用している Hu ら (2015) の研究は、雄の CD-1 マウスに二酸化チタンナノ粒子 (26 nm) 0、64、320 mg/kg/日を 14 週間経口投与し、血糖値のホルモン制御への影響を検討している。投与群において 10 週目から空腹時血糖値の上昇がみられ、耐糖能異常 (用量反応なし) もみとめられたが、血中インスリン及び脂質の変化はみられなかった。

EFSA パネルは、これらの観察結果には矛盾があるとみなしている。(参照 76 : Hu, 2015)

EFSA (2021) が引用している Yu ら (2016) の研究は、雌の CD-1 (ICR) マウスに二酸化チタンナノ粒子 (5~6 nm) 0、2.5、5 または 10 mg/kg/日を 90 日間連続で経口投与し、心臓への影響を検討している。全ての投与群で用量依存的な体重増加抑制がみられたが、限られた報告であり、EFSA パネルは、体重増加抑制及び組織学的変化と二酸化チタンナノ粒子の投与との関係について結論づけることができなかった。(参照 77 : Yu, 2016)

EFSA (2021) が引用している Hong ら (2016) の研究は、雄の CD-1 (ICR) マウスに二酸

化チタンナノ粒子（5～6 nm）0、2.5、5、10 mg/kg/日を 90 日間連続で経口投与し、肝臓への影響を検討している。全ての投与群で用量依存的な体重増加抑制（約 5～7%）がみられ、中用量群及び高用量群で統計的有意差がみとめられた。肝臓では相対重量の増加（10～15%）がみられたが、絶対重量の変化はみとめられなかった。また、肝臓では組織学的変化（リンパ球の浸潤及び類壊死）及び炎症関連タンパク質の発現変化が報告されている。

EFSA パネルは、肝臓の病理組織学的データに他のパラメータ等の検査が伴っていないことに注目し、本研究で報告された影響は二酸化チタンナノ粒子に対する肝炎反応である可能性が高いとみなした。（参照 78：Hong, 2016）

EFSA (2021) が引用している Yang ら（2017）の研究は、雄の C57BL/6 マウスに二酸化チタンナノ粒子（21nm）0、250、500 mg/kg/日を 14 日間連続で経口投与し、肝臓への影響を検討している。高用量群では、炎症、アポトーシス、壊死及びビリルビン代謝における分子欠損がないにも関わらず、血清ビリルビン（総ビリルビン及び間接ビリルビン）が 3 倍増加した。

EFSA パネルは、定量化されていない肝細胞の構造変化を指摘した。しかし、これらの変化は、相対肝重量の変化、他の肝障害の血清マーカーの変化、肝臓の定量的な病理組織学的変化を伴っておらず、偶発的または適応的なものであると考えられた。（参照 79：Yang, 2017）

EFSA (2021) が引用している Chen ら（2015a）の研究（NSC スコア 2）は、グルコース（1.8 g/kg/日）あり/なしの条件でラットに二酸化チタンナノ粒子（24 nm）0、2、10、50 mg/kg/日を 30 日または 90 日間投与した場合の影響を調べている。血液学的パラメータに変化がみられたが、毒性学的な意義はないと判断された。また、高用量群の肝臓では、肝損傷を反映する血清酵素活性がないにもかかわらず、水腫、脂肪変性及び壊死がみられたと報告されている。

EFSA パネルは、肝臓の病理組織学的変化の報告には限界があると考え、肝障害を反映する血清酵素活性の変化がない場合、肝臓への影響は有害ではないと判断している。（参照 80：Chen, 2015a）

EFSA (2021) が引用している Chen ら（2015b）の研究（NSC スコア 1）は、ラットに二酸化チタンナノ粒子（24 nm）0、2、10、50 mg/kg/日を最大 90 日間投与した場合の影響について、循環器系への影響に焦点を当てて検討している。

著者らにより若干の変化が報告されたが、EFSA パネルは、二酸化チタンナノ粒子を 50 mg/kg/日までの用量でラットに最大 90 日間経口投与しても、投与に関連する影響は誘発されなかったと判断した。（参照 81：Chen, 2015b）

EFSA (2021) が引用している Grissa ら（2015）の研究（NSC スコア 2）は、ラットに二酸

化チタンナノ粒子（5～12nm）0、50、100、200 mg/kg/日を蒸留水に混ぜたものを 60 日間連続経口投与している。血液学的変化が報告されたが、これについて EFSA パネルは、毒性学的な意義がないと判断している。（参照 82：Grissa, 2015）

EFSA (2021) が引用している Chen ら（2020a）の研究（NSC スコア 2）は、雄ラットに二酸化チタンナノ粒子（29 nm）0、2、10、50 mg/kg/日を 90 日間連続経口投与している。10 及び 50 mg/kg/日投与群では、8 週目から体重増加抑制（最大約 15%）がみられたが、摂餌量には影響がなかった。10 及び 50 mg/kg/日群では血清トリグリセリド（TG）濃度の有意な低下がみられたが、血清総コレステロール、高密度リポ蛋白質コレステロール（HDL-C）及び低密度リポ蛋白質コレステロール（LDL-C）には影響がなかった。

EFSA パネルは、体重増加に関する影響は有害である可能性があるが、報告された他の影響には毒性学的な意義はないとした。（参照 83：Chen, 2020a）

EFSA (2021) が引用している Chen ら（2020b）の研究（NSC スコア 2）は、二酸化チタンナノ粒子（24 nm）0、2、10、50 mg/kg/日をグルコース（1.8 g/kg bw/日）と共に、またはグルコースを含まない状態でラットに 90 日間投与した場合の影響について調査している。血糖値、血中糖タンパク質（糖化ヘモグロビン（HbA1c）、糖化血清タンパク質（GSP））、血中インスリン、C-ペプチド、経口ブドウ糖負荷試験（OGTT、90 日目に実施）に二酸化チタンナノ粒子の影響がみられた。

EFSA パネルは、血糖値、HbA1c、GSP、インスリン、C-ペプチド、グルカゴン及び耐糖能の変化について、被験物質に関連しないか、E 171 の安全性評価には無関係であると判断した。（参照 84：Chen, 2020b）

EFSA (2021) が引用している Grissa ら（2017）の研究（NSC スコア 3）は、雄ラットに二酸化チタンナノ粒子（5～10 nm）100 mg/kg/日を 8 週間経口投与した場合の影響について報告している。投与群では有意な体重増加抑制がみられ、血清コレステロール、グルコース、TG 濃度の有意な上昇がみられた。血漿中の酸化ストレスマーカーの有意な変化もみられ、血漿中インターロイキン-6（IL-6）の増加が報告されている。

EFSA パネルは、グルコースレベルの変化は潜在的に有害であると指摘し、コレステロールと TG の変化は毒性学的な関連性が不明であるとした。（参照 85：Grissa, 2017）

EFSA (2021) が引用している Hassanein & El-Amir（2017）の研究（NSC スコア 3）は、ラットに二酸化チタンナノ粒子（21 nm）150 mg/kg/日を 1%Tween 80 溶液として経口投与した場合の影響について報告している。。対照群には 1%Tween 80 を投与した。

本研究について、試験報告の多くの欠点に基づき、EFSA パネルはいかなる結論も下すことができなかった。（参照 86：Hassanein & El-Amir, 2017）

EFSA(2021) が引用している Heo ら (2020) の研究 (NSC スコア 3) は、ラットに二酸化チタンナノ粒子 (21 nm) 0、250、500、1,000 mg/kg/日をリン酸ナトリウム緩衝液として 28 日または 90 日間反復経口投与した場合の影響について報告している。体重増加、摂餌量、摂水量については統計的に有意な差はみとめられなかった。投与期間中に死亡及び臨床症状はみられなかった。90 日間の試験の最終週に行われた機能観察バッテリー (FOB) においても影響はみられなかった。眼科検査及び尿検査についても、群間で有意な差はみられなかった。血中好中球数、血中リンパ球数、血中尿素窒素数および血中 Na 数の変化には、明確な用量反応が伴ってなかった。投与動物の剖検では、異常な肉眼所見はみとめられなかった。複数の臓器重量の変化がみられたが、投与とは無関係であると考えられた。病理組織学的検査では、対照群と 1,000 mg/kg/日投与群の間に違いがみとめられたが、EFSA パネルは、報告された変化は正常範囲内であり、毒性学的な意義はないと判断した。(参照 87:Heo, 2020)

Health Canada (2022) が引用している Bettini ら (2017) の研究では、雄の Wistar ラット (投与群 : 11 匹/群、対照群 : 12 匹/群) に E 171 投与開始 7 日前に 1, 2-ジメチルヒドラジン (DMH) を静脈内投与した上で公称用量 0、200 µg/kg/日または 10 mg/kg/日の E 171 を超音波処理で飲料水中に分散させて 100 日間経口投与し、結腸における前がん病変の誘発及び促進について調べている。実際の投与量は 225 µg/kg/日 (200~250 µg/kg/日) 及び 11.97 mg/kg/日 (10.65~13.84 mg/kg/日) であった。E 171 高用量群は、DMH 処置のみの対照群と比べて平均異常腺窩 (ABC) 及び大型の異常腺窩巣 (ACF ; 1 つの ACF につき ABC が 3 個以上と定義) の数が有意に増加した。E 171 低用量群と DMH 処置のみの群では ABC 及び大型 ACF の個数に差はみられなかった。結腸あたりの ACF の平均個数はいずれの群も約 200 個であり、有意差はみとめられなかった。以上の結果から、Bettini らは、DMH を投与したラットの大腸において、超音波処理により水中に分散させた E 171 は ABC 及び ACF の形で前がん病変の発生を促進すると結論づけた。(参照 88 : Bettini, 2017)

Health Canada が本試験について評価している。DMH のみの対照群における結腸あたりの ACF の平均個数は低用量及び高用量群と差がなく、大型 ACF の平均個数は、高用量群と比較して有意差がみとめられたが (~35 vs. ~45)、この差は大きさとしては小さいものであった。さらにこれらの病変のうち腫瘍に進行するものは非常に少なく、齧歯類 (参照 89 : Choi, 2015 ; 参照 90 : Shpitz, 1996) 及びヒト (参照 91 : Schoen, 2008) においてほとんどの病変は時間とともに自然退縮すると報告されていることや、齧歯類の DMH 前処置は ACF 形成において約 20~40%の個体間変動を示す可能性がある (参照 92 : Blevins, 2019 ; 参照 93 : Rodrigues, 2002 ; 参照 94 : Won, 2012) ことを考慮すると、高用量群における大型 ACF のわずかな増加は、毒性学的には重要ではないと Health Canada は結論付けている。また、DMH 処理せずに E 171 を投与した群において、11 匹中 4 匹に ACF の発生 (結腸あたり 1~3 個) がみられたと報告されている。これに基づき、Bettini らは、超音波処理により飲料水

中に分散した E 171 は、大腸において前がん病変を発生させると結論づけた。しかし、Health Canada は ACF の自然発生に関する複数の知見（参照 95 : Furukawa, 2002 ; 参照 96 : Singh, 2022）やほとんどの病変が時間とともに自然退縮することを考慮し、これを有害性の決定的証拠とはみなしていない。Health Canada は、意図的に分散させた E 171 粒子への経口曝露という実験条件は食物マトリックスの寄与を考慮していないことから、食品成分としての二酸化チタンへのヒトの曝露を完全に代表するものとは考えていない。よって、本研究は、試料調製法や曝露様式が食品からの二酸化チタンのヒトへの曝露に適用できるかどうかは不明であり、食品添加物としての二酸化チタンのハザード特性との関連性は不明であると判断された。

Duan ら（2021）の研究では、二酸化チタンの経口毒性について、元素のホメオスタシス及び組織に及ぼす影響を評価した。3 週齢の雄の ICR マウス（6 匹/群）に通常飼料、二酸化チタンナノ粒子（一次粒子径 38.3 ± 9.3 nm、BET 法による比表面積 61.87 m²/g）混合飼料、二酸化チタンサブミクロン粒子（一次粒子径 128.0 ± 33.4 nm、BET 法による比表面積 9.35 m²/g）混合飼料を 1、3 または 6 か月間摂取させた。混合飼料は、通常飼料（市販ペレット）に 1 質量%の二酸化チタンナノ粒子またはサブミクロン粒子を混合し、調製した。マウスの肝臓、腎臓、脾臓及び血球におけるチタン及びその他 23 元素の分布、元素間の相関、並びに病理学的変化を測定した。その結果、全ての投与群のうち二酸化チタンサブミクロン粒子混合飼料を 6 か月間投与した群の血球のみにチタンの蓄積がみとめられた。その一方で、二酸化チタンにより 12 種類の元素の組織含有量が変化することが明らかになった。ナノ粒子投与群では、肝臓で Fe、Cu、Mg 及び P の減少、血球で Zn 及び Se の増加、脾臓で B の増加がみられ、サブミクロン粒子投与群では、肝臓で V の減少、腎臓で Co、Zn の増加及び Ca、Mg の減少がみられた。二酸化チタンナノ粒子は血球と肝臓で、二酸化チタンサブミクロン粒子は腎臓で、より多くの元素の変化を誘発した。チタンと他の元素の間には、肝臓以外の臓器で正の相関がみとめられた。臓器への影響はナノ粒子投与群のほうが重篤であり、特に肝臓で明らかな病理学的影響（肝細胞の浮腫、壊死、炎症性細胞の浸潤等）がみられた。臓器へのチタンの蓄積はみられなかったことから、Duan らは、経口投与した二酸化チタンは元素のホメオスタシスに影響を与えることで組織に影響する可能性がある」と指摘している。（参照 97 : Duan, 2021）

Mortensen ら（2021）の研究では、離乳前のラットの胃液が E 171 に及ぼす影響を評価する目的で、雌雄の Sprague-Dawley 仔ラット（5 匹/性/群）に E 171（動的光散乱法（DLS）で測定した水中における直径 322 ± 38.3 nm）10 mg/kg/日を水とともに強制経口投与した。投与は生後 7～10 日目に 4 日間連続で 1 日 4 回行われた。最終投与から 4 時間後に腸の断面のハイパースペクトルイメージングによって E 171 の腸への取り込みを評価した結果、E 171 粒子の取り込み量は雄よりも雌のほうが多かったが、いずれもごく低レベルであり、粘液層

が効果的なバリアとなっている可能性が示唆された。明視野顕微鏡による観察では、E 171 投与後に腸組織で免疫細胞（腸管上皮細胞間リンパ球及び顆粒球）の数が増加することが示された。この結果から、幼少期に E 171 を経口投与すると、刺激や軽度の炎症が起こる可能性が示唆された。本研究では、E 171 の試験と独立して、同じ条件下で酸化銅ナノ粒子（DLS で測定した水中における直径 441 ± 68.2 nm）を経口投与した場合の影響も調べられており、酸化銅投与群でも E 171 投与群と同様に腸で免疫細胞の増加がみられた。Mortensen らは、生後間もない時期に腸管で免疫細胞が増加した場合の長期的な影響については不明であるとしている。（参照 98 : Mortensen, 2021）

Ranjan ら（2020）による研究では、用量探索の目的で 6～8 週齢の雌の Wistar ラット（5 匹/群）に二酸化チタンナノ粒子 500、1,000 及び 2,000 mg/kg/日を水懸濁液として 14 日間強制経口投与した。いずれの用量でも、死亡や投与に関連した臨床症状は観察されず、体重、飼料及び水の摂取量に有意な変化はみられなかった。試験終了後、屠殺したラットから採取した血清において、用量依存的な ALT の増加がみられた。

Ranjan らによる研究ではさらに、6～8 週齢の雌の Wistar ラット（5 匹/群）に二酸化チタンナノ粒子 20、40、60、80 及び 100 mg/kg/日を水懸濁液として 12 週間強制経口投与した。いずれの用量でも、死亡や投与に関連した臨床症状は観察されなかった。80 mg/kg 以上の投与群で体重減少がみられたが、飼料及び水の摂取量に有意な変化はみられなかった。血液学的パラメータでは 100 mg/kg 群で白血球数、平均赤血球容積、好中球数の増加及び平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数、好酸球数、好塩基球数の減少がみられた。生化学パラメータでは 80 mg/kg 以上の投与群で血清中のコレステロール、グルコース及びトリグリセリドの増加及び乳酸脱水素酵素（LDH）の減少、100 mg/kg 群ではさらに血清アルブミンの減少がみられ、肝臓への影響が示唆された。投与群では間接ビリルビンについては有意差がみとめられなかったが、総ビリルビン及び直接ビリルビンについて 60 mg/kg 以上の投与群で増加がみられた。高用量投与群では総ビリルビンの大部分が抱合型（直接型）ビリルビンであり、肝細胞障害が発生した可能性が示唆された。60 mg/kg 以上の投与群ではアスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）活性、80 mg/kg 以上の投与群ではアルカリフォスファターゼ（ALP）活性及びアラニンアミノ基転移酵素（ALT）活性の増加がみられた。100 mg/kg 群の肺、肝臓、腎臓、脾臓及び心臓の病理組織学的検査では、二酸化チタンの蓄積は肺と肝臓に多く、ICP-MS による測定では肝臓で最大値が示された。肝臓では単核球の浸潤とうっ血及び肝細胞における粒子の沈着がみられ、腎臓では尿細管の変性及び拡張が観察された。

Ranjan らは、二酸化チタンナノ粒子は肝臓及び腎臓の機能に影響を与え、主要臓器に捕捉された二酸化チタンナノ粒子は酸化ストレスと活性酸素により染色体異常や DNA 損傷を引き起こす可能性がある」と指摘している。しかし、本研究で得られたデータに基づき、40 mg/kg までは安全な用量であり、使用が推奨されると結論づけている。（参照 99 : Ranjan, 2020）

Conde ら (2022) による研究では、二酸化チタン投与による腸管の炎症が、骨髄系細胞における炎症性大腸炎 (IBD) リスク遺伝子 *Ptpn2* の機能に依存するかどうかを調べている。骨髄系細胞における *Ptpn2* の発現をノックアウトした遺伝子組み換えマウス (*Ptpn2^{LysMCre}*) または野生型同腹仔 (*Ptpn2^{fl/fl}*) (10~12 週齢の雌、4~5 匹/群) に 1.5%デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を含有する飲料水を 7 日間摂取させて急性大腸炎を誘発し、その後 DSS を含まない飲料水を 2 日間摂取させた。さらに、DSS の飲水投与初日から 9 日連続で二酸化チタン 500 mg/kg/日の水懸濁液を強制経口投与した。9 日目に大腸炎の重症度を内視鏡で評価し、マウス内視鏡大腸炎重症度スコアリングシステム (murine endoscopic index of colitis severity scoring system; MEICS) を用いてスコア化した。その結果、*Ptpn2^{LysMCre}* マウスでは、DSS 投与群と比較して二酸化チタン投与群で有意に高スコアであり、より深刻な炎症の徴候を示した。*Ptpn2^{LysMCre}* マウス及び *Ptpn2^{fl/fl}* マウスの両遺伝子型において、DSS 投与群と比較して二酸化チタン投与群でわずかに脾臓重量が増加する傾向を示した。また、病理組織学的評価では、DSS 投与群では上皮バリアの損傷と粘膜下層への免疫細胞の浸潤が誘発され、DSS+二酸化チタン投与群では免疫細胞の浸潤がさらに増加し、上皮障害がより深刻化する傾向がみられた。これは、*Ptpn2^{fl/fl}* マウスよりも *Ptpn2^{LysMCre}* マウスでより顕著であった。大腸組織への免疫細胞の浸潤についてフローサイトメトリーを用いて詳細に調べたところ、*Ptpn2^{LysMCre}* マウスでは大腸粘膜固有層において抗炎症性マクロファージの数の減少がみられたが、野生型同腹仔ではこれは観察されなかった。本研究では、二酸化チタンが腸の炎症の重症度に及ぼす影響が個体の遺伝的背景に依存しうることが示された。(参照 100: Conde, 2021)

Hu ら (2020) による研究では、成長期 (3 週齢) 及び成体 (10 週齢) の雄の CD-1 (ICR) マウス (5 匹/群) に 50 mg/kg/日の二酸化チタンナノ粒子の PBS 懸濁液を 26 週間にわたり強制経口投与した。その結果、成長期のマウスでは成体マウスよりも早く高血糖が誘発され (5 週目対 12 週目)、二酸化チタンナノ粒子はインスリン分泌には影響を与えなかったが、耐糖能に影響することが示された。また、二酸化チタンナノ粒子の 8 週間の投与によって成長期及び成体マウスの肝臓において生体異物の生分解が活性化された。8 週目の時点では成長期マウスでのみ小胞体ストレスが引き起こされ、肝臓及び血清中の活性酸素種が増加した。この小胞体ストレスと活性酸素は、炎症反応とミトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK) 経路を活性化し、その結果、成長期のマウスの肝臓におけるインスリン抵抗性を誘導した。26 週目までには成体マウスでも同様の影響がみとめられた。(参照 101: Hu, 2020)

Zhang ら (2021) による研究では、二酸化チタンナノ粒子とリポ多糖 (LPS) の腸管バリアへの複合影響を明らかにする目的で、3 週齢の雄の ICR マウス (6 匹/群) に二酸化チタンのナノ粒子 (一次粒径 33.6±11.5 nm) またはマイクロ粒子 (一次粒径 124.5±46.1 nm) を

1%含有する飼料を1、3、6ヶ月間与えた後に LPS 10 mg/kg の単回経口投与を実施し、その4時間後に、二酸化チタンの輸送量、腸管バリア機能、炎症反応を評価した。投与期間中、二酸化チタンナノ粒子投与群の1匹が43日目に肛門の腫脹を示し、2日後に腸閉塞で死亡したが、他の全てのマウスには異常はみられなかった。二酸化チタン投与群では、1ヶ月及び3ヶ月の曝露で、腸絨毛の高さ/陰窩の深さの比率が顕著に増加し、1ヶ月の曝露で回腸タイトジャンクションタンパク質 (ZO-1 及びオクルディン) の発現量が増加した。6ヶ月の曝露では、二酸化チタンナノ粒子投与群で摂餌量の減少がみられ、二酸化チタンマイクロ粒子投与群では小腸微絨毛がまばらになり、血球中のチタン含有量が上昇した。両二酸化チタン粒子投与群において、腸管透過性には変化がみられなかった。LPS 投与後、両投与群 (二酸化チタン+LPS) で腸絨毛の高さ/陰窩の深さの比率の変化、腸管透過性の低下、回腸 ZO-1 の発現上昇が観察された。LPS のみの投与群では、血清 TNF- α 値が高くなった以外、回腸及び血清サイトカインに有意な変化はみられなかった。食品添加物としての二酸化チタンの長期摂取は、腸管バリア機能に影響しないものの、腸管上皮の構造を変化させる可能性が示された。また、二酸化チタンと LPS の共摂取は、顕著な炎症反応を引き起こすことなく腸管バリア機能を向上させ、二酸化チタンナノ粒子と LPS の間には拮抗作用が存在することが示された。Zhang らは、観察されたすべての軽度影響は、二酸化チタンを穏やかな投与方法 (混餌投与) であったことと関連している可能性を示唆している。(参照 102 : Zhang, 2021)

Zhu ら (2022) による研究では、食事による E 171 の慢性的な摂取が高コリン性西洋型飼料 (HCD) によるアテローム性動脈硬化 (AS) の誘発に関連する腸内代謝産物に与える影響を調べるため、4~5 週齢の C57BL/6J 系統の雌 APOE^{-/-}マウス (6 匹/群) に E 171 の水懸濁液を 40 mg/kg/日の用量で 4 ヶ月間強制経口投与した。餌は HCD を与える群と通常の穀物原料飼料を与える群を設定した。その結果、投与期間後には特に HCD 群で動脈硬化性病変面積が有意に増加した。メカニズムに関する研究から、E171 は、食事性コリンをグリシルラジカル反応によりトリメチルアミン (TMA) に変換するコリン TMA リアーゼ (CutC/D) の腸内細菌における発現を増加させることで、動脈硬化促進物質であるトリメチルアミン-N-オキシド (TMAO) の産生を大幅に増加させることが明らかとなった。抗生物質の投与により腸内細菌叢が枯渇したマウスでは、HCD 誘発性 AS の進行における E171 の影響がみられなかった。以上より、E171 が APOE^{-/-}マウスの腸内細菌叢の構造を変化させ、TMA 及び TMAO の生成を増加させることにより、HCD 誘発性 AS を悪化させることが明らかになった。(参照 103 : Zhu, 2022)

(2) 発がん性試験

Health Canada (2022) が引用している NCI (1979) の研究では、現在の食品用二酸化チタンの形態と一致する顔料グレードの二酸化チタン Unitane[®] 0-220 (98%以上がアナターゼ型)

を用いて発がん性試験が実施されている。Health Canada は、Unitane® 0-220 の物理化学的性状や不純物に関する情報から、Unitane® 0-220 は食品グレードの二酸化チタンへの経口曝露に関連する潜在的な健康障害を特徴付けるために適切な試験品と見なされるとしている。本試験では、NCI guidelines for carcinogenicity testing in small rodents⁴に従い、雄雌の B6C3F1 マウス及び Fischer 344 ラット（50 匹/性/群）に Unitane® 0-220 を 0、25,000、50,000 ppm の濃度で 103 週間混餌投与した（二酸化チタン投与量はマウスで 0、3,250、6,500 mg/kg/日相当、ラットで 0、1,450、2,900 mg/kg/日相当）。雌マウスでは試験期間中の死亡率に用量依存的な傾向がみられた。雌雄のマウス及びラットで複数の非腫瘍性病変の発生率増加がみられたが、治療に関連したものではないと結論付けられている。投与群の雄ラット（副腎髄質の褐色細胞腫及び皮下組織の線維腫）及び雌ラット（子宮内膜間質ポリープ、甲状腺濾胞傍細胞腺腫または甲状腺がん）で腫瘍性病変の発生率増加が報告されているが、いずれも投与関連とはみなされていない。以上より、Unitane® 0-220 は食餌中濃度 50,000 ppm までの用量で雌雄マウス及びラットに対する発がん性はないと結論づけられた。（参照 12：NCI, 1979）

EFSA (2021) で報告されている拡張一世代生殖毒性 (EOGRT) 試験において、大腸がんの前がん病変である異常腺窩巢 (ACF) の誘発について調べている。F0 世代ラット（雌雄各 10 匹/群）に E 171（アナターゼ型、粒子径 40-200 nm（粒子数に基づく中央値：90 nm）⁵）0、100、300 または 1,000 mg/kg/日を交配 10 週前から F1 世代の離乳まで最長 18 週間混餌投与した結果、対照群及び投与群の結腸における病理学的検査では、Shwter ら（2016）が示した ACF の定義である複数の異常腺窩を含む病巣はみとめられなかった。対照群（雌雄各 1 匹）、中用量群（雌雄各 1 匹）及び高用量群（雄 1 匹、雌 2 匹）で大腸尾部の腺窩に軽度の形態学的変化がみられたが、これは Shwter ら（2016）が示した ACF の定義及び外観と矛盾しており、これらの腺窩の発生率は対照群と投与群で有意差がなかった。再調査として無作為に抽出された対照群（雄 4 匹、雌 5 匹）及び高用量群（雄 3 匹、雌 5 匹）について透過光顕微鏡による観察を行った結果、腺窩の軽度の形態学的変化が対照群 9 匹中 8 匹（雌雄各 4 匹）及び高用量群 8 匹中 6 匹（雌雄各 3 匹）でみとめられた。

EFSA パネルは、E 171 を 1,000 mg/kg/日までの用量で経口曝露した場合、結腸の ACF は誘発されないと結論付けた。（参照 21：EFSA FAF Panel, 2021；参照 104：Shwter, 2016）

（3） 生殖毒性試験

EFSA (2021) が引用している Karimipour ら（2018）の研究（NSC スコア 2）は、マウスに二酸化チタンナノ粒子（10～25 nm）100 mg/kg/日を 5 週間経口投与し、雌マウスの卵巣組織、エストロゲン及びマロンジアルデヒド (MDA) の血清レベル（7 匹/群）、生殖能（10 匹

⁴ 1976 年の NCI ガイドラインは、現在の OECD 及び ICH の試験ガイドラインより前に公表されたものだが、多くの要素は類似しており、最大の違いとしては、2 用量群ではなく 3 用量群での試験実施が推奨されている点が挙げられる。

⁵ 被験物質として使用された市販の二酸化チタンと同一ブランドについての独立した分析結果による。

/群) 及び IVF 率 (10 匹/群) に及ぼす影響について検討している。試験した唯一の用量で雌の生殖能力への影響がみとめられた。(参照 105 : Karimipour, 2018)

EFSA (2021) が引用している Khorsandi ら (2016) の研究 (NSC スコア 2) は、若齢期の雄 NMRI マウスに二酸化チタンナノ粒子 (粒子径不明) 0、75、100 及び 300 mg/kg/日を 35 日間経口投与し、精巣パラメータに対する影響を検討した。100 mg/kg 群以上で用量依存的な精巣重量の減少がみられ、より高用量群ではさらに精巣パラメータへの影響がみられた。

EFSA パネルは、二酸化チタンナノ粒子 (粒子径不明) は 100 mg/kg/日から精巣重量に影響を及ぼすと判断した。(参照 106 : Khorsandi, 2016)

EFSA (2021) が引用している Khorsandi ら (2017) の研究 (NSC スコア 2) は、若齢期の雄 NMRI マウス 8 匹に二酸化チタンナノ粒子 (20~30 nm) 300 mg/kg/日を 35 日間経口投与した結果を報告している。投与群では、精巣重量、血中及び精巣テストステロン、精巣カタラーゼ (CAT) 及びスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 濃度、精子数及び精子運動性が有意に低下した。また、異常または変性精細管の割合、生殖細胞のアポトーシス、精巣 MDA 濃度、形態異常のある精子の割合について、有意な増加がみとめられた。

EFSA パネルは、唯一の試験用量である 300 mg/kg/日において精巣毒性がみられたと判断した。(参照 107 : Khorsandi, 2017)

EFSA (2021) が引用している Karimi ら (2019) の研究 (NSC スコア 2) は、6~8 週齢の雄 NMRI マウス 8 匹に二酸化チタンナノ粒子 (< 30 nm) 50 mg/kg/日を 35 日間経口投与した結果を報告している。二酸化チタンナノ粒子は、血清テストステロンの減少を伴う精巣重量の減少、精細管径及び上皮の背高の減少、生殖上皮の成熟度の減少を有意に示した。また、精子数の減少、精子異常の増加、精子運動率の低下などの有害事象が観察された。

EFSA パネルは、唯一の試験用量である 50 mg/kg/日において精巣への悪影響がみられたことを指摘している。(参照 108 : Karimi, 2019)

EFSA (2021) が引用している Lu ら (2020) の研究 (NSC スコア 4) は、6~8 週齢の雄 ICR マウス (15 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 (7 nm) 0、10、50、100 mg/kg/日を 30 日間経口投与した結果を報告している。50 及び 100 mg/kg 群で血液精巣関門 (BTB) のタイトジャンクションの損傷が報告されているが、提供された病理組織写真の解釈は困難であった。血清テストステロン濃度は、50 及び 100 mg/kg 群で 50%減少した。精子運動性は用量に関係なく低下し、精子奇形率の上昇を伴っていた。

EFSA パネルは、二酸化チタンナノ粒子 (7 nm) を 50 または 100 mg/kg/日で反復経口投与することで、精巣の組織像や BTB 関連タンパク質レベルの変化、MAPK 関連 mRNA レベルの変化、血中テストステロン濃度の減少が生じ、用量依存的な精子運動率の低下と精子奇

形の増加がもたらされるとした。(参照 109 : Lu, 2020)

EFSA (2021) で報告されている拡張一世代生殖毒性 (EOGRT) 試験は、OECD TG443 及び GLP に従って雌雄ラットで実施された。E 171 (アナターゼ型、粒子径 40-200 nm (粒子数に基づく中央値 : 90 nm) ⁶) 0、100、300 または 1,000 mg/kg/日を F0 世代では交配 10 週前から F1 世代の離乳まで、F1 世代では離乳から F2 世代の生後 4 日目または 8 日目まで混餌投与した。F2 世代は生後 4 日目または 8 日目に試験が終了するまで乳汁を通じて二酸化チタンに曝露した。投与期間は各コホートの評価エンドポイントに依存し、最長 18 週間であった。

いずれの世代の投与群においても、早期死亡、全身行動または外観の変化はみとめられなかった。性機能および生殖能に対する E 171 の影響は、雌雄ともに認められなかった。出生前及び出生後の発生に対する E 171 の影響も観察されなかった。雄の思春期到達の指標として OECD TG 443 で要求されている陰茎亀頭包皮分離ではなく陰茎亀頭包皮分泌腺開裂が用いられているが、他のパラメータで影響がみられていないことから、EFSA パネルは、この試験法からの逸脱は重要ではないと判断している。(参照 21 : EFSA FAF Panel, 2021)

Health Canada (2022) で報告されている Rodríguez-Escamilla ら (2019) の研究では、雄の BALB/c マウス (4 匹/群) に基礎飼料または濃度 0.1、0.5 及び 1% (100、680 または 1300 mg/kg/日相当) の E 171 を含む飼料を 7 週間投与した。さらに、食物マトリックスの影響を評価するため、水に懸濁した E 171 をマウス (4 匹/群) に 5 mg/kg/日の用量で 10 週間経口投与した。その結果、E 171 を懸濁液として投与した群と 680 または 1300 mg/kg/日を混餌投与した群で、精細管における胚細胞剥離及び炎症細胞の浸潤の増加、ならびに血液精巣関門の破壊など、同様の所見がみられた。Rodríguez-Escamilla らは、このことは飼料を介して二酸化チタンに曝露された場合には食物マトリックスが酸化チタンの毒性を減弱させることを示唆しているとしている。

但し、Health Canada は、この研究で観察された精巣への影響は、同じ著者らが飲料水中に懸濁した E 171 を雄の C57BL/6 マウスに同量 (5 mg/kg/日)、16 週間投与した場合には再現されなかった (Medina-Reyes et al., 2020) ことを指摘している。また、これらの所見は、ガイドラインに準拠したより大規模な EOGRT 試験や、食品グレードの二酸化チタンを飲料投与、強制経口投与または混餌投与で同程度以上の用量で曝露した多くの亜慢性試験 (OECD ガイドライン準拠試験を含む) のいずれにおいても観察されなかった。(参照 110 : Rodríguez - Escamilla, 2019 ; 参照 111 : Medina-Reyes, 2020)

(4) 出生前発生毒性試験

EFSA (2021) が引用している Warheit ら (2015b) の研究 (NSC スコア 4) では、5 種類の

⁶ 被験物質として使用された市販の二酸化チタンと同一ブランドについての独立した分析結果による。

二酸化チタン（二酸化チタンナノ粒子またはナノ粒子画分を含む二酸化チタン）について出生前発生毒性試験を実施している。妊娠 6～15 日目のラットに二酸化チタンを経口投与したが、1,000 mg/kg/日（試験した最高用量）までで母子発生影響はみとめられなかった。（参照 112：Warheit, 2015b）

EFSA (2021) が引用している Lee ら (2019) の研究 (NSC スコア 3) では、雌 Sprague-Dawley ラット (12 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 (21 nm) 0、100、300、1,000 mg/kg/日を妊娠 6～19 日目に強制経口投与した。一般臨床症状、体重、臓器重量（体重に対する絶対値及び相対値）、巨視的所見に統計的に有意な差はなかった。帝王切開のパラメータ、胎児の外見及び内臓の検査においても、統計的に有意な差はみとめられなかった。

EFSA パネルは、最高用量である 1,000 mg/kg/日までの母体及び発育への悪影響は報告されなかったとした。（参照 113：Lee, 2019）

（５） 発達免疫毒性

EFSA (2021) で報告されている拡張世代生殖毒性 (EOGRT) 試験において、発達免疫毒性について調べている。E 171（アナターゼ型、粒子径 40-200 nm（粒子数に基づく中央値：90 nm）⁷）0、100、300 または 1,000 mg/kg/日を F0 世代では交配 10 週前から F1 世代の離乳まで、F1 世代では離乳から F2 世代の生後 4 日目または 8 日目まで混餌投与した。

外来抗原に対する抗体反応の増強能力を調べることで、E 171 の発達上の免疫毒性に対する影響を判断した。生後 53～61 日目の F1 コホート 3 のラット（10 匹/群、性）を感作し、感作抗原（キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）抗原）に対する一次 IgM 抗体反応を測定した。被験物質による血清中の抗 KLH 抗体価への影響は、発生的な免疫毒性作用を示唆するものであると考えられる。KLH の尾静脈内ボラス投与後 5 日目に屠殺し、血清中の抗 KLH IgM レベルを測定した。最高用量群の雄で抗原特異的 IgM 値の有意な減少（-9%）がみられたが、明らかな用量依存性はみられなかった。陽性対照として、生後 55 日目のサテライト群 F1 ラットに KLH を尾静脈内ボラス投与するとともに、免疫反応抑制のためにシクロホスファミド（CY）40 mg/kg を単回経口投与した。EFSA パネルは、陽性対照群への処置が投与群の一部のみと同時に進行されており、その結果は有効ではないと指摘している。また、文献（Gore et al., 2004）と比較して KLH に対する抗体反応が明らかに低いため、著者らも測定条件に問題があった可能性を指摘している。著者らはさらに、本試験における全ての被験動物で KLH に対する免疫原性反応が弱く、E 171 の T 細胞依存性免疫毒性作用を特定するには不十分であるとして、E 171 の発達免疫毒性については結論が出ないとし、EFSA パネルもこれに同意した。

剖検では、リンパ器官、血液、脾臓のリンパ球垂集団について調べた。全被験動物の脾臓を 2 つに切断し、生後 87～96 日目の F1 コホート 1A（20 匹/群、性）の各脾臓の半分のみ

⁷ 被験物質として使用された市販の二酸化チタンと同一ブランドについての独立した分析結果による。

を病理組織学的検査に供した。脾臓のリンパ球亜集団の分析には、F1 コホート 1A の残りの半分の脾臓及び KLH に感作した生後 53～61 日目の F1 コホート 3 (10 匹/群、性) の脾臓を用いた。F1 コホート 1A のリンパ器官の病理組織学的検査では、用量依存的な影響はみられなかった。脾臓リンパ球亜集団の分析では、F1 コホート 1A のいずれの投与群においても T 細胞、ヘルパー T 細胞、サブレッサー T/細胞傷害性細胞、NK 細胞及び B 細胞の割合に有意な影響はみられなかった。一方、KLH に感作し F1 コホート 3 ではリンパ球亜集団の変化 (B 細胞の増加) がみられた。CY を投与した陽性対照群では影響がみられなかったことから、著者らは、これは KLH への感作による影響としている。しかし EFSA パネルは、F1 コホート 1A と F1 コホート 3 の屠殺時の日齢が異なることから、比較は正しくないと判断した。また、リンパ球亜集団の分析において脾臓細胞懸濁液の FACS 解析が異なるラウンドで行われており、これが定量に影響した可能性があるとした。

EFSA パネルは全体として、E 171 に関する発達免疫毒性について結論づけることはできないと判断している。(参照 21 : EFSA FAF Panel, 2021)

(6) 神経毒性試験

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Ebrahimzadeh ら (2017) の研究 (NSC スコア 3) では、雌 Wistar ラット (6 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 (アナターゼ型、粒子径 100 nm 未満、表面積 150 m²/g 以上) 0 または 100 mg/kg/日を妊娠 2～21 日目 (妊娠群) または産後 2～21 日目 (授乳群) に強制経口投与した。投与後、無作為に選ばれた雄の哺育児 (妊娠群 : 生後 1 日目、授乳群 : 生後 22 日目) において、海馬のアポトーシスの増加および海馬の神経新生の減少が観察された。また、海馬では Bax 及び Bcl-2 の転写産物の発現がそれぞれ増加及び減少したことも報告されている。

但し、Health Canada は、E 171 の表面積は約 8～10 m²/g であるのに対し、使用した二酸化チタンナノ粒子の表面積は 150 m²/g 以上であり、粒子径が異なる可能性を指摘している。そのため、Health Canada は、本研究結果と食品用二酸化チタンのヒトへの曝露との関連性は不明であるとしている。(参照 114 : Ebrahimzadeh, 2017)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Kandeil ら (2020) の研究 (NSC スコア 3) では、成熟雄アルビノラット (20 匹/群) に高エネルギーボールミル (HEBM) 処理で調整した二酸化チタンナノ粒子 (90 nm、範囲 40-140 nm) 0 または 500 mg/kg/日を 14 日間経口投与した。500 mg/kg/日の単回投与により、酸化ストレスに関連すると思われる中枢神経系への悪影響が観察された。

Health Canada は、本研究で使用された二酸化チタンナノ粒子はその調整方法から食品グレードの二酸化チタンとは異なる特性を持っていると考え、これらの知見を E171 に外挿することはできないとしている。(参照 115 : Kandeil, 2020)

EFSA (2021) が引用している Rahnama ら (2020) の研究 (NSC スコア 4) では、成熟雄マウス (20 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 (21 nm) 0、2.5、5 または 10 mg/kg/日を 35 日間投与した結果、全ての用量群で、海馬及び歯状回多形層の体積減少、歯状回顆粒細胞の密度及び総数の減少が報告されている。(参照 116 : Rahnama, 2020)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Zhang ら (2020) の研究 (NSC スコア 3) では、若齢の雄 C57BL/6J マウス (明記されていないが 15 匹/群と推定される) に二酸化チタンナノ粒子 (21 nm) 0 または 150 mg/kg/日を 30 日間強制経口投与した。粒子は 2%熱不活化マウス血清に超音波処理で分散させて投与した。その結果、腸内細菌叢の多様性と均一性の有意な減少、腸管 HuC/D 及び TuJ1 の上昇、腸のセロトニン作動性マーカー Sstr1 及び Sstr2 の顕著な減少がみられたが、大脳皮質には影響がなく、腸神経系への作用が示唆された。内分泌細胞や腸管神経細胞から分泌される脳腸ペプチド及び炎症性サイトカインには影響がみられなかった。運動活性をみるオープンフィールドテストでは中央区画での活動が投与により有意に減少し、不安様行動と一致したが、空間学習・記憶能力 (モリス水迷路試験) には影響がなかった。

EFSA パネルは、唯一の試験用量である 150 mg/kg/日において小腸と脳に病理学的変化はなく、腸内細菌叢に変化を与えたとみなした。Health Canada は、オープンフィールドテストは 5 分間しか実施されておらず、試験時間が不十分であった可能性を指摘している。(参照 117 : Zhang, 2020)

EFSA (2021) が引用している Canli ら (2020) の報告 (NSC スコア 4) では、雌の成熟アルビノラット (6 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 (21 nm) 0、0.5、5 または 50 mg/kg/日を 14 日間強制経口投与した結果、全ての用量で脳に二酸化チタンナノ粒子が観察され、脳内コリンエステラーゼ活性の低下 (約 35~50%) や脳内 Na, K-ATPase 活性の上昇 (約 2 倍) がみられた。(参照 118 : Canli, 2020)

EFSA (2021) が引用している Grissa ら (2016) の研究 (NSC スコア 3) では、雌成熟ラットに二酸化チタンナノ粒子 (5~10 nm) 0、50、100 または 200 mg/kg/日を 60 日間強制経口投与した結果、100 及び 200 mg/kg 投与群で脳コリンエステラーゼ活性が低下し、全ての用量で血漿コリンエステラーゼ活性が低下したことが報告された。(参照 119 : Grissa, 2016)

EFSA (2021) が引用している Grissa ら (2020) の研究 (NSC スコア 2) では、雌成熟ラットに二酸化チタンナノ粒子 (5~12 nm) 0、50、100 または 200 mg/kg/日を 60 日間強制経口投与した結果、全ての用量で脳前頭皮質において SOD 及び CAT が減少し、NO 及び腫瘍壊死因子- α (TNF- α) が増加したことを報告している。(参照 120 : Grissa, 2016)

EFSA (2021) が引用している Hassanein & El-Amir (2017) の研究 (NSC スコア 3) では、雄の成熟 Sprague-Dawley ラット (10 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 (21 nm) 0 または 150 mg/kg/日を 6 週間経口投与した結果、投与群において、総白血球数、リンパ球数及び好中球数、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、脂質過酸化 (LPO)、TNF- α 及びコメットアッセイによる肝臓 DNA 損傷の増加、グルタチオン (GSH) 減少、肝臓、脳、肺、腎臓、心臓及び精巣の病理学的変化が報告されている。

神経毒性に関しては、組織凍結法が脳組織の組織学に適しておらず (非灌流ホルムアルデヒド凍結)、EFSA パネルは脳組織の異常所見が排除できないとしている。(参照 86: Hassanein & El-Amir, 2017)

EFSA (2021) が引用している Zhou ら (2017) の研究 (NSC スコア 2) では、雌 CD-1 マウス (6 匹/群) に二酸化チタンナノ粒子 (6~7 nm) 0、1、2 または 3 mg/kg/日を妊娠 7 日目から産後 21 日目まで経口投与した結果、児の *ex vivo* 海馬 CA1 ニューロンにおいて、樹状突起伸長の阻害、オートファジー及び酸化ストレスの増加、ミトコンドリア機能の減少が報告されている。(参照 121 : Zhou, 2017)

EFSA (2021) が引用している Mohammadipour ら (2016) の研究 (NSC スコア 3) では、授乳期の雌ラットに二酸化チタンナノ粒子 (10 nm) 100 mg/kg/日を投与した結果、児の受動回避行動に変化が生じたと報告されている。(参照 122 : Mohammadipour, 2016)

Health Canada (2022) が引用している Medina-Reyes ら (2020) の研究では、E 171 を 6 週齢の雄 C57BL/6 マウス (9 匹/群) に 5 mg/kg/日の用量で 16 週間飲水投与した。E 171 粒子は超音波処理で分散し投与した。マウスには E 171 含有または非含有の普通食または高脂肪食を与え、1、8、16 週目に高架式十字迷路試験により不安行動を評価した。E 171 非含有の高脂肪食及び E 171 含有通常食を投与した群では不安行動が同様に増加したが、高脂肪食に E 171 を添加した群では不安の減少がみられた。このことから、Medina-Reyes らは高脂肪食がマウスの不安を有意に増加させると報告している。

Health Canada は、反対の結果を示す報告 (Yoshizaki *et al.* 2020) もあることや、E 171 が普通食のマウスで不安を増加させたが、高脂肪食のマウスでは一見すると抗不安作用を示したという観察結果から、この研究から推論を導くことは困難であるとした。(参照 111 : Medina-Reyes, 2020 ; 参照 123 : Yoshizaki, 2020)

EFSA (2021) で報告されている拡張一世代生殖毒性 (EOGRT) 試験 (OECD TG443 及び GLP 準拠) では、雌雄ラットに対し、E 171 (アナターゼ型、粒子径 40-200 nm (粒子数に基

づく中央値：90 nm)⁸⁾ 0、100、300 または 1,000 mg/kg/日を F0 世代では交配 10 週前から F1 世代の離乳まで、F1 世代では離乳から F2 世代の生後 4 日目または 8 日目まで混餌投与した。F2 世代は生後 4 日目または 8 日目に試験が終了するまで乳汁を通じて二酸化チタンに曝露した。F1 コホート 2A の児動物（雌雄）について生後 23～25 日目に聴覚性驚愕反応と握力評価を含む機能観察バッテリーを行い、生後 58～64 日目に自発運動量を定量した。聴覚性驚愕反応では対照群と投与群の差はみとめられなかった。100 及び 1,000 mg/kg 投与群の雌で後肢開脚の有意な増加がみられ、300 mg/kg 群の雌雄では前肢の平均握力の有意な増加がみとめられたが、用量依存性はなく、観察された事象間で矛盾があることや他の変化（筋緊張、正向反射、歩行、ワイヤー操作、姿勢）との相関がないこと、機能観察バッテリーの測定値や自発運動量に他の変化はみとめられないことから、これらは E 171 の投与による影響ではないと判断された。脳や末梢神経（坐骨神経）にも顕著な組織病理学的所見はみとめられなかった。

EFSA パネルは、F1 コホート 2A の児動物において、E 171 は 1,000 mg/kg/日までの用量で神経機能に有害影響を及ぼさないと判断した。（参照 21：EFSA FAF Panel, 2021）

Sofranko ら（2021）の研究では、雌雄の C57BL/6J マウスに二酸化チタンを 10 mg/g 含有する飼料を 28 日間不断給餌し、ナノマテリアルが 14 日間の回復期間後の行動及び神経病理に及ぼす影響を調べた。行動評価は、十字迷路試験、オープンフィールドテスト、ひも懸垂試験（string suspension test）、ロータロッド試験で行った。組織学的変化は免疫組織化学によって分析し、酸化ストレス、炎症、血液脳関門の破壊のマーカーは脳組織のホモジネートを用いて調べた。マウス脳内のチロシンおよびセリン・スレオニンプロテインキナーゼ活性の変化も調べた。生化学的及び免疫組織化学的分析では神経炎症に関する病理学的変化は観察されず、不安や認知に関する行動学的変化もみられなかった。（参照 124：Sofranko, 2021）

（7） アレルギー毒性

1) まとめ

単純なマトリックスによく分散された二酸化チタン粒子は、炎症や免疫学的かく乱を生じ、腸内細菌叢と代謝を変化させる可能性があることを示す報告がある。しかし、特に食品用酸化チタンを用いた研究では、二酸化チタンが安定した分散状態で飲水投与された場合には炎症と免疫調節障害に対するいくつかの効果が観察されたが、混餌投与された場合にはこれらの知見は再現されなかった。これに基づき、Health Canada は、食品グレードの二酸化チタンが炎症や免疫毒性を引き起こす可能性があるという懸念は、経口投与パラダイムに大きく依存すると考えられると結論付けている。食品用二酸化チタンを単純なマトリックスに安定的に分散させて投与した研究結果が食品添加物としての二酸化チタンの有害性特性評価に関連するかどうかを判断するには、GIT の局所毒性に対する食品マトリックス

⁸⁾ 被験物質として使用された市販の二酸化チタンと同一ブランドについての独立した分析結果による。

の潜在的な緩和効果に関するさらなる情報が必要であるとしている。

また、Health Canada では、二酸化チタンは本質的に免疫原性ではないと考えられるが、*in vitro* ではアジュバント様特性によりアレルギータンパク質の免疫反応に関与する可能性があるとしている。Health Canada は、二酸化チタンが食物アレルギーに及ぼす潜在的影響をよりよく理解するためには動物モデルを用いた追加研究が必要であるとしている。

2) 個別の試験結果

Health Canada (2022) が引用している Pinget ら (2019) の研究では、雄の C67Bl/6J Ausb マウス (5-6 匹/群) に E 171 を 0、2、10 または 50 mg/kg/日の用量で 4 週間、飲水投与した。二酸化チタンは超音波処理を用いて飲料水中に分散させ (詳細は記載せず)、ケージごとに測定した水摂取量から投与量を算出した。二酸化チタンは、試験した最高用量では腸内細菌叢の構成にわずかな影響を及ぼし、10 mg/kg 群から細菌の代謝産物に変化が観察された。また、10 mg/kg 群以上の用量では、腸管粘液層の重要な構成要素である Muc2 遺伝子の発現低下と、抗菌防御に関連する遺伝子 Defb3 の発現上昇が観察され、二酸化チタン投与が腸管恒常性の変化と関連していることが示唆された。グランザイム B、カテリン関連抗菌ペプチド (CRAMP)、再生膝島由来タンパク質 3 γ (REG3 γ)、p-リゾチーム (PLYz) などの抗菌ペプチドの発現に変化はなかった。Muc2 及び Defb3 の発現量の変化は、結腸陰窩長の減少、大腸マクロファージおよび CD8+ T 細胞の増加、ならびにインターロイキン (IL) -10、腫瘍壊死因子 (TNF) - α 及び IL-6 のサイトカインの mRNA 転写物の増加を伴い、E171 投与に対する適応免疫応答を示唆すると報告されたが、一貫した用量反応関係は明らかにされなかった。(参照 125 : Pinget, 2019)

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Talamini ら (2019) の研究では、マウスに食品用二酸化チタン (E171、アナターゼ型、 $D_{50}=201.2\pm 8.5$ nm) 0 または 5 mg/kg/日を分散処理せずに 3 日/週、3 週間飲水投与した (1 日平均投与量 $\sim$ 2 mg/kg)。マウスは 21 日目 (最終投与から 3 日後) に安楽死させた。IL-1b の mRNA 転写物の有意な増加が胃 ($\sim$ 75%) 及び全腸組織 ($\sim$ 75%) でみられ、肝臓では IL-10 mRNA 転写物の有意な減少がみられた ($\sim$ 40%)。

EFSA パネルは、これらの変化は酸化ストレスに対する適応反応を示すものであると結論付けている。(参照 51 : Talamini, 2019)

Health Canada (2022) が引用している Bettini ら (2017) の研究では、急性免疫毒性を調べるために、雄の Wistar ラット (10 匹) に E 171 10 mg/kg/日を 7 日間経口投与した。投与した E 171 は市販品であり、20 $\sim$ 340 nm の粒度分布 (TEM-EDX による D_{50} 118 $\pm$ 53 nm) を有し、主にアナターゼから構成されていた。数に基づく割合では、粒子の 44.7%が直径 $<$ 100 nm であった。経口投与の結果、制御性 T 細胞 (Treg) 及びヘルパー T 細胞 (Th) の減少がみら

れた。7日後に消化管（GIT）常在性のCD103+樹状細胞（DC）の頻度の増加が観察されたが、これは一過性の影響であった。Bettini らは GIT 常在性 DC の増加は二酸化チタン投与により誘発された局所炎症に対する代償である可能性を示唆したが、Health Canada は、報告された抗炎症性 Treg 及び炎症性 Th 細胞の減少との矛盾を指摘している。E171 投与は、小腸及び大腸の粘膜における好中球浸潤のマーカーやサイトカインレベルに変化をもたらさなかった。

E171 に暴露したラットの培養細胞では、IFN- γ の分泌がパイエル板から分離した細胞では減少し、脾臓の細胞で増加した。脾臓細胞では炎症性サイトカイン IL-17 の増加も報告され、免疫調節に対する全身性の影響が示唆されると解釈された。しかし、これらのパラメータの変動は大きさが小さく、ANSES パネルは、免疫恒常性の障害を肯定するには不十分であると結論付けている。（参照 61：Bettini, 2017）

Health Canada (2022) が引用している Blevins ら (2019) の研究では、雄 Wistar Han IGS (Crl:WI (Han))ラット (15 匹/群) に公称濃度 0、40、400 または 5000 ppm の E171 を 7 日または 100 日間混餌投与した。二酸化チタン投与量は、7 日間の試験では 1.81、4.76、31.43 または 373.86 mg/kg/日、100 日間の試験では 1.1-1.5、3.0-4.1、19.0-25.7 または 236-300 mg/kg/日に相当した。Bettini ら (2017) の結果とは対照的に、E 171 混餌投与では、いずれの投与期間後も、パイエル板、脾臓または末梢血単核細胞（PBMC）、あるいは全身または GIT 常在性 CD103+樹状細胞集団における CD4+ Th 細胞または活性化 Th 細胞（CD4+、CD25+）は有意に変化せず、局所炎症が増加しないことが示唆された。同様に、急性及び亜慢性 E 171 混餌投与においても、これらの組織における Treg 細胞集団に影響を与えず、血漿、GIT 組織、末梢血、脾臓、パイエル板から分離したリンパ球における炎症性サイトカインレベルの有意な変化はみられなかった。Blevins らは、Bettini ら (2017) の知見を再現できなかったのは、投与方法に起因する可能性が高く、混餌投与は食品添加物としての E 171 へのヒトの曝露経路に近いと考えている。（参照 92：Blevins, 2019；参照 61：Bettini, 2017）

EFSA (2021) 及び Health Canada (2022) が引用している Han ら (2020) の研究では、OECD TG408 に準拠し、超音波で蒸留水に分散させた E 171（アナターゼ型、直径約 150 nm）を雌雄 SD ラット（10 匹/群）に 0、10、100 または 1000 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。死亡率や体重、臨床化学、尿検査、臓器重量、肉眼的または病理組織学的なエンドポイントへの影響は観察されなかった。遺伝子プロファイル解析により、免疫反応に関連するマイクロ RNA の変化が E171 の曝露に関連していることが示された。高用量群及び低用量群の雄では相対リンパ球数の有意な減少（～8%）が観察され、最高用量群では雌の顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）及び雌雄の血漿 IgM の変化が観察されたが、用量依存性がないことやこれらのパラメータの自然変動を考えると、これらの変化を有害とみなせるかどうかは不明確である。

EFSA パネルは、本試験の最高用量を NOAEL と見なしている。その一方で、Health Canada は E 171 粒子の分散に超音波を使用していることから、業界に対し、これが食品製造における E 171 の使用を反映していないことを確認した。また、食品マトリックスの影響を考慮しない投与方法であることから、本研究は食品添加物としての二酸化チタンの有害性評価との関連性が不明であると判断している。(参照 72 : Han, 2020a)

Health Canada (2022) が引用している Urrutia-Ortega ら (2016) の研究では、大腸組織における免疫のバイオマーカー (IL-2、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10、GM-CSF) に対する食品用二酸化チタンの影響を評価している。雄の BALB/c マウスを、(i) 無処置対照群、(ii) E171 のみ投与群、(iii) 発がん物質誘発大腸炎関連がん (CAC) モデル、(iv) CAC+E171 群の 4 群 (6 匹/群) に分け、E 171 を投与した。CAC モデルでは、アゾキシメタン (AOM) /デキストラン硫酸ナトリウム塩 (DSS) を用いて化学的に大腸がんを誘導した。E 171 群には二酸化チタン 5 mg/kg/日 (超音波処理により水に分散) を 5 日/週、10 週間経口投与した。E 171 のみ投与した群と非投与の対照群との間では、これらのマーカーのいずれについても変化はみとめられなかった。しかし、CAC 群では、E 171 投与群で全てのサイトカインレベルが対照群に比べて低い傾向を示した。(参照 126 : Urrutia-Ortega, 2016)

Health Canada (2022) が引用している Phue ら (2022) の研究では、乳タンパク質と二酸化チタン粒子の相互作用による乳タンパク質の抗原性やアレルギー誘発性の変化について調べている。中国の CNMI industrial corporation から購入した食品グレードの二酸化チタン (TEM による一次粒子径 $\sim$ 120 nm、結晶形の記載なし) 及び英国の Minerals-Water から得た E 171 (TEM による一次粒子 50 $\sim$ 300 nm、結晶形の記載なし) を 10 mg/mL で脱イオン水に分散させ、スキムミルクまたは対照として 20 mM PBS (pH 6.5) 中で 1 時間インキュベートした。間接-ELISA アッセイを用いて、食餌性粒子存在下での乳タンパク質の抗原性を同定した結果、乳タンパク質である β -ラクトグロブリンとカゼインの抗原性は、E 171 存在下では非干渉タンパク質と比較して増加するが、120 nm 粒子では減少することが報告された。アレルギー性の代替としてヒト肥満細胞脱顆粒アッセイ (LAD2) を用いたところ、いずれの二酸化チタン粒子も、ミルクとの相互作用によって LAD2 の脱顆粒が統計的に有意に増加した。粒子を含有するミルクを 3-コンパートメントの体外模擬消化器系を通過させてから肥満細胞脱顆粒アッセイに適用した場合も、同様の結果が得られた。Phue らは、二酸化チタン粒子が媒介するタンパク質構造の変化が乳タンパク質のアレルギー性を高める可能性がある結論づけている。

二酸化チタンは本質的に免疫原性ではないようだが、*in vitro* ではアジュバント様特性によりアレルギータンパク質の免疫反応に関与する可能性が示された。Health Canada は、ナノ粒子のアレルギー性に関する *in vitro* 研究の結果を *in vivo* の毒性学的反応に外挿することは複雑であるとし、これらの知見が食物アレルギーに及ぼす潜在的影響をよりよく理解す

るためには動物モデルを用いた追加研究が必要であるとした Phue らの結論に同意している。
(参照 127 : Phue, 2022)

(8) 遺伝毒性試験

①遺伝子突然変異

a) *in vitro* 遺伝子突然変異試験

EFSA (2021) では哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験のうち、関連性が高いまたは限定的な関連性があると考えられた 7 件を対象に評価を行っている。このうちチャイニーズハムスターV79 肺線維芽細胞を用いた 2 件の HPRT 試験 (参照 128 : Chen, 2014 ; 参照 129 : Jain, 2017) および gpt delta トランスジェニックマウスの初代胚線維芽細胞を用いた Spi-遺伝子突然変異試験 (参照 130 : Xu, 2009) で陽性の結果、V79-4 細胞 (V79 由来の細胞株)(参照 131 : Kazimirova, 2020) とチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (参照 132 : Wang, 2011) の 2 件の HPRT アッセイでは陰性の結果が報告されている。マウスリンフォーマ試験については、1 件であいまいな結果 (参照 133 : Demir, 2017)、別の試験 (参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013) では陰性の結果が報告されている。なお、細菌を用いた復帰突然変異試験については、細菌細胞壁を通過する粒子の浸透に限界があり、細菌内への取り込みがないため、関連性が低いとしている (参照 135 : EFSA Scientific Committee, 2018a)。

Health Canada (2022) では、TDMA が委託した E171 を用いた未発表の細菌復帰突然変異試験 (OECD TG471 準拠)、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞用いた遺伝子突然変異試験 (OECD TG476 準拠) をレビューしたが、細菌細胞によるナノマテリアルおよび不溶性粒子の取り込みは制限されており、TiO₂-NP は抗菌/静菌特性を有することが知られているため、細菌復帰突然変異試験はナノマテリアルの潜在の変異原性の評価には適していない可能性があること、遺伝子突然変異試験では陰性結果が得られたが、E171 の CHO 細胞への取り込みが確認できなかったことから、レビューにおいてこれらの結果を考慮していない。(参照 23 : Health Canada, 2022b)

b) *in vivo* 遺伝子突然変異試験

EFSA (2021) において *in vivo* 遺伝子突然変異誘発性を検討した研究のうち関連性が高いまたは限定的な関連性があると判断された 6 件の研究は、TiO₂ NP (<30nm) を用いて実施されたものである。マウスに静脈内投与した 3 件の *in vivo* 遺伝子突然変異試験があり、雄 Delta トランスジェニック C57BL/6J マウスに TiO₂ NP (<30nm) を 50 mg/kg までの用量で週 1 回 4 週間投与し、赤血球および肝臓の gpt および Spi-突然変異を解析した試験 (参照 136 : Suzuki, 2016)、同実験室で実施された別の試験で、最後の注射から 90 日後の肝臓における gpt および Spi-遺伝子を調べた研究 (参照 137 : Suzuki, 2020)、C57BL/6 トランスジェニックマウスに静脈内投与し、肝臓および脾臓における LacZ 突然変異を調べた研究 (参照 138 : Louro, 2014) は、いずれも陰性であった。末梢血網状赤血球および総赤血球を用いた 2 件の試験

(雄 B6C3F1 マウスに腹腔内投与 (参照 139 : Sadiq, 2012)、雄 Sprague-Dawley ラットに気管内投与 (参照 140 : Relier, 2017) で Pig-a 遺伝子変異を調べた結果、いずれの試験でも変異原性は報告されていない。

一方、妊娠 C57BL/6Jpun/pun マウスに飲料水に懸濁した TiO₂ (P25) を 10 日間投与し、胎児の eyespot-assay を行った結果、大きな DNA 欠失がみられたと報告がある (参照 141 : Trouiller, 2009)。

EFSA (2021) では、入手可能な実験データからは、*in vivo* での TiO₂ NP (<30nm) の遺伝子突然変異誘発性の可能性について確証できないと結論している。

Health Canada (2022) では、Health Canada の評価で確認した 5 件の *in vivo* 変異原性試験はいずれも平均粒子径 12.1~22nm の TiO₂-NP を用いており (参照 138 : Louro, 2014 ; 参照 138 : Sadiq, 2012 ; 参照 136 : Suzuki, 2016 ; 参照 137 : Suzuki, 2020 ; 参照 141 : Trouiller, 2009)、いずれも陰性であったが、これらの被験物質は食品グレードの TiO₂ の物理化学的性質と著しい差があるため、変異原性を検討するのに適した情報ではないとしている。食品グレードの TiO₂ が *in vivo* で遺伝子突然変異を誘発する可能性に関して結論を出すことはできず、食品グレードの TiO₂ が *in vivo* で変異原性を示すかどうかを確認するためには、さらなる研究が推奨されるとしている。

②小核／染色体異常試験

a) *in vitro* 小核／染色体異常試験

EFSA (2021) では、*in vitro* 小核／染色体異常試験のうち関連性が高いまたは限定的な関連性があると判断された 43 件を対象に評価を行っている。

ヒト初代培養リンパ球を用いて実施された 7 件の研究のうち 3 件で陽性結果が示された。関連性が高いと判断された研究では、健常被験者および結腸癌患者の末梢血リンパ球で濃度依存的な小核出現頻度の増加が観察された (参照 142 : Kurzawa-Zegota, 2017)。限定的な関連性があると判断された 2 件でも陽性結果が報告されている (参照 143 : Turkez & Geyikoglu, 2007 ; 参照 144 : Kang, 2008)。4 件の研究では、陰性またはあいまいな結果が報告されている (参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013 ; 参照 145 : Tavares, 2014 ; 参照 146 : Andreoli, 2018 ; 参照 147 : Osman, 2018)。

腸細胞を用いた試験のうち関連性が高いと判断された研究では、種々の濃度の TiO₂ NP に曝露した Caco-2 細胞を用いた小核試験で陰性の結果が示され (参照 148 : Zijno, 2015)、同じ細胞株を用いた NANOGENOTOX Project, 2013 (参照 133 : NANOGENOTOX project, 2013) の結果と一致した。ヒト結腸腺癌由来細胞株 (HCT116) を用いた 1 件の研究で小核出現頻度の濃度依存的な増加が示された (参照 149 : Proquin, 2017)。

肺細胞を用いて実施された試験では、ヒト肺上皮細胞 (BEAS-2B) を用いた 5 件の研究のうち 4 件で、小核試験陰性であった (参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013 ; Vales et al., 2015 ; 参照 150 : Vales, 2015 ; 参照 151 : Di Buccianico, 2017 ; 参照 152 : Zijno, 2020)。Falck

ら (2009) では、陰性 (ルチル、5,000 nm) およびあいまいな結果 (アナターゼ、<25nm) が報告されている (参照 153 : Falck, 2009)。陽性結果は、ナノ粒子凝集を最小限に抑えた処理培地を用いた試験でのみ報告された (参照 154 : Prasad, 2013)。ヒト肺癌細胞株 (A549) を用いた試験では、一貫性のない結果が報告されている。5 件の研究のうち 2 件で陽性 (参照 155 : Srivastava, 2013 ; 参照 156 : Stoccoro, 2017)、3 件で陰性 (参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013 ; 参照 157 : Brandao, 2020 ; 参照 158 : Jugan, 2012) が報告されている。

ヒト表皮細胞株 (A431, NHEK) を用いた 2 件の試験では陽性であった (参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013 ; 参照 159 : Shukla, 2011)。

小核試験では、チャイニーズハムスター肺細胞株 (CHL/IU 細胞) を用いた試験で陰性と報告されている (参照 160 : Nakagawa, 1997)。

EFSA (2021) では、種々の試験で観察された結果の差は、結晶形、粒子サイズ、凝集の程度、使用した処理媒体、適用した濃度および処理時間のような特定のパラメータに起因するものではなかったとしている。利用可能な結果の約 60% が 30 nm 未満の TiO₂ NP で得られたことに言及し、大部分の *in vitro* 小核/染色体異常試験は、試験粒子の大きさに関係なく陰性結果を示したとしている。

Health Canada (2022) では、EFSA (2021) に収載されたデータの他に、ヒト結腸腺癌由来細胞株 (HT29-MTX-E12 細胞) を E171 (超音波処理により分散) に 48 時間曝露した研究で、小核または低二倍体の証拠は認められなかったとの報告がある (参照 161 : Franz, 2020)。当該 E171 懸濁液は、食品マトリックス中の E171 の粒子サイズ分布により近い、より大きな凝集体を生成するために意図的に調製されたが、これらの凝集体の存在により小核の検出を妨害し、結果の解釈は困難であるとしている。この他、ヒト末梢血リンパ球を用いた小核試験 (OECD TG487) の結果、E171-E は代謝活性化の有無にかかわらず小核誘発を増加させなかったとの報告がある (参照 162 : BioReliance, 2021c)。E171-E が HPBLs に取り込まれたかどうかを確認するために、電子顕微鏡イメージング分析のために細胞試料を採取したが、分析の結果はレビューの時点では入手できなかったため、遺伝毒性の欠如が E171-E の細胞内移行の欠如または真の陰性結果と関連しているかどうかは不明であったとしている。

b) *in vivo* 小核/染色体異常試験

EFSA (2021) では、TiO₂ の小核および構造的染色体異常誘発について検討した *in vivo* 試験のうち、信頼性および結果の関連性に関するスクリーニングの結果、関連性が高い 1 件及び限定的な関連性がある 14 件の計 15 件を評価対象とした。

経口経路による 5 件はいずれも TiO₂ NP の反復強制経口投与 (14~90 日間) により実施され、このうち 4 件において、マウスの小核 (参照 163 : Shukla, 2014 ; 参照 82 : Grissa, 2015 ; 参照 164 : Chakrabarti, 2019)、染色体異常 (参照 165 : Manivannan, 2020) の誘発に対して陽性と評価された。1 件では、H2AX 病巣の同時分析により骨髓曝露の証拠が得られたものの、骨髓小核誘発性は陰性であった (参照 166 : Chen, 2014)。

腹腔内投与を用いた 7 件の試験では、TiO₂ NP を単回投与 (参照 167 : Lotfi, 2016) または反復投与 (参照 168 : El-Ghor, 2014 ; 参照 169 : Fadoju, 2019) 後、マウス骨髄における小核発生率の増加が観察された。TiO₂ NP を 3 日間腹腔内投与したマウス末梢血小核試験 (参照 139 : Sadiq, 2012) および TiO₂ (>100nm) を単回腹腔内投与したマウスの骨髄細胞染色体異常試験 (参照 170 : Shelby & Witt, 1995) で陰性の結果が報告されている。2 件の試験 (参照 171 : Shelby, 1993 ; 参照 172 : Zirak, 2016) であいまいな結果が報告されている。

3 件の静脈内投与試験のうち、十分な信頼性があった 1 件の試験は陽性であった。この試験では、ラットに TiO₂ NP を単回投与した結果、骨髄多染性赤血球で小核発生率の増加が観察された (網状赤血球では認められなかった) (参照 173 : Dobrzynska, 2014)。マウスを用いた他の 2 件の試験では、1 日 2 回 (参照 138 : Louro, 2014) または週 4 回 (参照 136 : Suzuki, 2016) の注射を行ったが、末梢血網状赤血球中の小核の有意な増加は報告されなかった。

EFSA (2021) では、*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陽性であるとした。比較可能な用量範囲、動物種、エンドポイントを用いた一部の試験で矛盾した結果が報告されているが、これらについて被験物質の大きさや他の特異性の情報をたどれず、むしろ、ほとんどの研究で十分報告されていない TiO₂ NP の取扱いおよび分散プロトコルの違いが重要な変動要因であった可能性があるとしている。全体として、入手可能な一連の証拠に基づき、EFSA パネルは、TiO₂ NP は小核／染色体異常を誘発する可能性があると判断した。試験の大部分が 30 nm 未満の TiO₂ NP を用いて実施されているが、TiO₂ 粒子が 30 nm を超える場合も一部で陽性結果が観察され、小核／染色体異常試験では、粒子径と陽性反応との明確な依存性は観察されなかったとしている。

Health Canada (2022) では、EFSA (2021) に収載された試験の他に、3 種類の色素グレードの TiO₂ を用いたラット単回経口投与による *in vivo* 小核試験の結果陰性 (参照 174 : Donner, 2016)、化粧品グレードの TiO₂ 粒子を用いたマウス反復経口投与による *in vivo* 小核試験の結果陰性 (参照 175 : Sycheva, 2011) の情報が記載されているが、これらの被験物質と食品グレードの TiO₂ と合理的に比較することはできず、食品添加物としての TiO₂ の評価における妥当性は疑わしいとしている。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があると考えられたのは 2 件のみ (参照 171 : Shelby, 1993 ; 参照 170 : Shelby & Witt, 1995) であり、これらの試験では、食品中の TiO₂ (Unitane® 0~220) 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る。腹腔内注射による TiO₂ 粒子への曝露の生理学的関連性については疑問があるが、いずれの試験でも、食品グレードの TiO₂ の *in vivo* 小核／染色体異常誘発能は示されなかった。これらの知見を確認するために、追加の研究、特に食品グレードの TiO₂ を経口投与し、食事 (例えば、結腸上皮) を介した TiO₂ 粒子への曝露を評価するための適切な標的組織を調べるガイドラインに準拠した研究が推奨されるとしている。

③コメットアッセイ

a) *in vitro* コメットアッセイ

コメットアッセイを用いた *in vitro* 試験のうち 106 件の研究が、関連性が高いか限定的な関連性があると判断され評価対象となった。試験した TiO₂ 粒子サイズの範囲は 2.3 nm から 5 μm であった。

評価対象試験の大部分は結腸上皮 (Caco-2、HT-29、または両者の共培養)、血液または肺組織由来のヒト細胞株を用いて行われた。その他のヒト細胞は、肝臓、リンパ系、内皮、表皮、腎臓、またはマクロファージ細胞系由来であった。ラット、マウス、ハムスターのげっ歯類細胞も用いられた。

大部分の研究 (参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013 ; 参照 148 : Zijno, 2015 ; 参照 149 : Proquin, 2017 ; 参照 176 : Schneider, 2017 ; 参照 177 : Garcia-Rodriguez, 2018 ; 参照 178 : Brown, 2019 ; 参照 179 : Murugadoss, 2020) は、結腸癌細胞 (Caco-2, HT-29 単独または共培養) で陽性であり、DNA 損傷、すなわち、鎖切断または鎖切断とホルムアミドピリミジン DNA グリコシラーゼ (Fpg) 感受性部位 (Fpg は酸化プリンを検出) の増加を示した。一部の試験で陰性 (参照 180 : Dorier, 2019) またはあいまいな結果 (参照 181 : Vila, 2018) であった。

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を用いた 5 件の試験は全て陽性であり、そのほとんどは鎖切断 (参照 182 : Demir, 2013 ; 参照 183 : Cowie, 2015 ; 参照 142 : Kurzawa-Zegota, 2017 ; 参照 146 : Andreoli, 2018 ; 参照 184 : Kazimirova, 2019) および Fpg 感受性部位および Endo III 感受性部位に対して陽性であった (参照 182 : Demir, 2013)。これらのうち 1 件では、一部のドナーで陰性反応が示された (参照 184 : Kazimirova, 2019)。

ヒトリンパ芽球様 TK6 細胞を用いて実施された 2 件の研究 (参照 183 : Cowie, 2015 ; 参照 185 : El Yamani, 2017) では、TiO₂ 粒子への曝露後に DNA 損傷を示し、2 件の研究 (参照 186 : Magdolenova, 2012 ; 参照 187 : Woodruff, 2012) では陰性であった。

肺モデル (細胞株 A549、BEAS-2B、16HBE14o、HB) を用いた 14 件の研究 (9 件は関連性が高く、5 件は限られた関連性あり) の大部分では鎖切断について陽性の結果 (参照 153 : Falck, 2009 ; 参照 188 : Karlsson, 2009 ; 参照 158 : Jugan, 2012 ; 参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013 ; 参照 154 : Prasad, 2013 ; 参照 183 : Cowie, 2015 ; 参照 189 : Wang, 2015 ; 参照 190 : Biola-Clier, 2017 ; 参照 185 : El Yamani, 2017 ; 参照 156 : Stocco, 2017 ; 参照 179 : Murugadoss, 2020 ; 参照 152 : Zijno, 2020) および酸化 DNA 損傷 (参照 151 : Di Bucchianico, 2017 ; 参照 185 : El Yamani, 2017 ; 参照 156 : Stocco, 2017 ; 参照 152 : Zijno, 2020) が示された。鎖切断が陰性であった試験は 2 件のみであった (参照 150 : Vales, 2015 ; 参照 151 : Di Bucchianico, 2017)。

HepG2、THP-1、BeWo b30 胎盤、HEK293、脳内皮細胞、HeLa、HUVEC、THP-1、TH-1、GM07492、MCF-7、L-02 ヒト胎児肝細胞、NHEK 正常角化細胞、HeLa 由来の HEP-2、A431 角化細胞、EUE ヒト胚性上皮細胞などの様々なヒト細胞型を用いて、多くの他のコメットアッセイが実施された。これらの研究の大部分は陽性結果を示したが (参照 191 : Osman,

2010 ; 参照 159 : Shukla, 2011 ; 参照 192 : Shukla, 2013 ; 参照 182 : Demir, 2013 ; 参照 134 : NANOGENOTOX project, 2013 ; 参照 183 : Cowie, 2015 ; 参照 193 : Shi, 2015 ; 参照 194 : Ferraro, 2016 ; 参照 178 : Brown, 2019 ; 参照 195 : Liao, 2019 ; 参照 179 : Murugadoss, 2020 ; 参照 196 : Kumar, 2020)、一部は陰性結果を示した (参照 187 : Woodruff, 2012 ; 参照 197 : Franchi, 2015 ; 参照 198 Sramkova, 2019 ; 参照 199 : Elje, 2020) か、あいまいであった(参照 186 : Magdolenova, 2012 ; 参照 200 : Brzicova, 2019)。

サル、ラット、マウスまたはハムスター由来の細胞を用いて実施した *in vitro* コメットアッセイの結果も類似の反応パターンを示し、大部分は陽性であった (参照 160 : Nakagawa, 1997 ; 参照 201 : Barillet, 2010 ; 参照 202 : Guichard, 2012 ; 参照 183 : Cowie, 2015 ; 参照 203 : Stocco, 2016 ; 参照 129 : Jain, 2017 ; 参照 178 : Brown, 2019 ; 参照 164 : Chakrabarti, 2019)。Nakagawa ら (1997) がマウスリンパ腫 L5178Y 細胞で試験した 4 種類の TiO_2 のうち 3 種類 (アナターゼ 21 nm、ルチル 255 nm、ルチル 420 nm) は陰性で、1 種類 (アナターゼ 25.5 nm) は陽性であった (参照 159 : Nakagawa)。Brown ら (2019) の研究では、E 171 は検討したすべての細胞株で鎖切断陽性であり、そのうちの 1 つ (HepG2) でのみ酸化 DNA 損傷陽性であった(参照 178 : Brown, 2019)。

EFSA (2021) では、利用可能な結果の約 57%が 30 nm 未満の TiO_2 NP の結果であると指摘した。コメットアッセイにおける粒子サイズの陽性結果への影響の明確な依存性はみられず、大部分の *in vitro* コメットアッセイでは、試験粒子の大きさに関わらず陽性結果が得られた (TiO_2 粒子が 30nm を超える場合は 87%、 TiO_2 NP が 30nm 未満の場合は 78%陽性)。 *In vitro* コメットアッセイにより E 171 処理の影響を検討した試験のうち関連性の高い、または限定された関連性がある 5 件の研究では、4 件が鎖切断に対して陽性、1 件が陰性であった。

Health Canada (2022) では、EFSA (2021) に記載された試験の他、腸細胞株 (粘液分泌 HT29-MTX-E12 細胞) に E171 を 0.5、5、50 $\mu\text{g/mL}$ の非細胞毒性濃度で 48 時間曝露した結果、DNA 鎖切断の証拠は観察されなかったとの記載がある (参照 161 : Franz, 2020)。当該研究の E171 懸濁液は、食品マトリックス中の E171 の粒子サイズ分布に類似する大きな凝集体を選択するために意図的に調製した (10 分間超音波処理した) が、曝露媒体中の粒子の凝集状態は確認されず、粒子の細胞内取り込みも評価されていないとしている。Health Canada では、Caco-2 細胞の分化と遺伝毒性の関連について考察しているが、分化 Caco-2 細胞および未分化 Caco-2 細胞における E171 の潜在的な遺伝毒性作用に関して明確なパターンは観察されなかったとしている。

b) *in vivo* コメットアッセイ

ANS Panel (参照 15 : EFSA ANS Panel, 2016) で以前に検討された 10 件に加え、2015 年から 2020 年までに発表された 34 件の研究が今回の評価で評価された。44 件中 18 件の試験は、関連性が高いか限定的な関連性がある試験であった。

強制経口投与試験で評価対象とされた9件のうち6件(参照175:参照163:Shukla, 2014; 参照82:Grissa, 2015; 参照193:Shi, 2015; 参照165:Manivannan, 2020; 参照179:Murugadoss, 2020)で陽性、3件(参照61:Bettini, 2017; 参照204:Martins, 2017; 参照205:Jensen, 2019)で陰性であった(このうち参照61:Bettini, 2017; 参照205:Jensen, 2019の2件はE171で試験実施)。

これらの試験結果が異なった要因を解析するため、EFSA パネルではTiO₂ NPの物理化学的特性(結晶形、構成粒子の大きさ、形状および凝集状態)、曝露期間、用量及び標的組織を考慮した。TiO₂ NPの結晶形態、サイズおよび凝集状態はすべて、遺伝毒性ポテンシャルに関与すると仮定されている。結晶形が示されている大部分のコメットアッセイはアナターゼ形で90%以上のTiO₂を含んでいた。純粋なルチルを用いた研究は1件のみであった(参照164:Manivannan, 2020)。TiO₂粒子の特異的な物理化学的性質と試験結果との間に明らかな相関関係は同定できなかった。数日間(3~7日間)から数週間(4~10週間)までの範囲の曝露時間も、投与されたTiO₂粒子の用量も、陽性と陰性結果を区別するものではなかった。さらに、当委員会は、投与量と投与時間を統合して累積投与量を算出したが、この因子だけでは、試験結果の主要な決定因子ではないようであった。

コメットアッセイはいくつかの標的組織で実施された。肺(参照205:Jensen, 2019)、空腸および回腸パイエル板の免疫細胞(参照61:Bettini, 2017)および脳(参照175:Sycheva, 2011)で陰性結果が報告されている。白血球(参照82:Grissa, 2015; 参照204:Martins, 2017; 参照179:Murugadoss, 2020)および肝臓(参照175:Sycheva, 2011; 参照163:Shukla, 2014; 参照193:Shi, 2015; 参照204:Martins, 2017; 参照205:Jensen, 2019)では矛盾する結果が報告された。骨髄(参照175:Sycheva, 2011; 参照166:Manivannan, 2020)、胸腺および輸入リンパ節(参照166:Manivannan, 2020)ならびに腎臓(参照193:Shi, 2015)および脾臓(参照165:Manivannan, 2020)で陽性結果が観察された。委員会は、陽性結果の大部分は細網内皮系の臓器から得られたものであると指摘した。

静脈内投与について、TiO₂ NP(アナターゼまたはアナターゼ/ルチルがアナターゼ>80%、サイズが30 nm未満)に関する4件の研究から追加情報が得られた。TiO₂ NP(P25)で処理した肝臓では陰性結果が報告されたが(参照136:Suzuki, 2016)、TiO₂ NP(アナターゼ、10~20nm)で処理した脳では陽性結果が報告された(参照206:Meena, 2015b)。同じ被験物質(NM-105、アナターゼとルチルの混合物)、実験条件、および採取時間を用いて、末梢血白血球で陽性結果が得られたが(参照184:Kazimirova, 2019)、骨髄白血球では陰性であった(参照173:Dobrzynska, 2014)。

TiO₂ NPの腹腔内投与は、肝臓、肺、脳、骨髄に広範囲の用量および比較的短時間の暴露(50~2,000mg/kg、3~5日間)でSSBを誘発した(参照168:El-Ghor, 2014; 参照207:Li, 2017b)。

気管内投与による2件の試験結果は陰性であり、気管支肺胞洗浄(BAL)(参照208:Wallin, 2017)および肺(参照209:Naya, 2012)(1~5mg/kgの範囲で単回および反復曝露)でDNA損

傷は観察されなかった。対照的に、Wallin ら (2017) および Relier ら (2017) は、肝臓および肺で陽性結果を報告した (参照 208 : Wallin, 2017 ; 参照 140 : Relier, 2017)。気管内注入後の肝臓における DNA 損傷の誘発は、おそらく肺で観察された炎症反応によって誘発される全身作用を示している。

EFSA (2021) は、*in vitro* および *in vivo* コメットアッセイの結果に基づき、TiO₂ 粒子が DNA 損傷を誘発する可能性があるとして結論した。EFSA パネルは、試験の大部分が 30 nm 未満の TiO₂ NP を用いて実施されたが、TiO₂ 粒子が 30 nm を超える場合にもいくつかの陽性結果が観察され、コメットアッセイでは、粒子径の陽性結果への明確な依存性は観察されなかったとした。

Health Canada (2022) では、全体として、食品グレードの TiO₂ が *in vivo* で DNA 損傷を誘発する可能性を評価するのに適切と考えられる入手可能な証拠は非ガイドラインコメットアッセイ (参照 61 : Bettini, 2017) に限られるとし、当該試験にはいくつかの限界 (単回投与試験、陽性対照の欠如) があるが、食品グレードの TiO₂ への食事を介した暴露の標的組織 (パイエル板細胞) を評価し、この組織への暴露が確認されていることから、当該試験の結果は妥当であると考えられるとした。当該試験は、食品グレードの TiO₂ への経口曝露が *in vivo* で DNA 損傷を誘発することを示すものではないが、コメットアッセイは、修復されるかもしれない、または突然変異もしくは染色体損傷をもたらすかもしれない DNA 損傷のインジケータ試験に過ぎないことに留意すべきであるとしている。Bettini ら (2017) で観察された陰性結果を確認するために、食品グレードの TiO₂ を用いた追加のガイドライン準拠試験の実施が推奨されるとしている。

④DNA 結合試験

TiO₂ NP (アナターゼ、5 nm) の *in vivo* での DNA 結合能を調べた試験で、TiO₂ NPs で処理 (5, 10, 50, 100, 150 mg/kg/day、14 日間腹腔内投与) した ICR マウスの肝臓から調製したゲノム DNA への結合能を UV-Vis 吸収分光法、円偏光二色性 (CD)、拡張 X 線吸収微細構造 (EXAFS) 分光法およびゲル電気泳動法により検討した。ICP-MS による測定で、肝臓 DNA 中の TiO₂ NP 含量の用量依存的増加が示された。CD 分光法では、50~150 mg/kg/day の用量範囲で DNA 構造の変化が生じることが示された。加えて、EXAFS 分光法では、ナノアナターゼ TiO₂ NP が DNA 中の塩基対のヌクレオチドおよび窒素原子の酸素またはリン原子と結合し得ることが示された (参照 210 : Li, 2010)。

Sprague-Dawley ラットに TiO₂ 粒子 (a) ナノアナターゼ (d < 25 nm); b) ミクロルチル (d < 5 μm); c) 5~10% ルチル、90~95% アナターゼ (d < 100 nm) の混合物) を鼻腔内投与 (300 μg/ラット、45 日間) 後、TiO₂ 粒子と肝臓 DNA との相互作用を UV - Vis 吸収分光法、原子間力顕微鏡 (AFM)、TEM、マイクロシンクロトロン放射 X 線蛍光 (m-SRXRF) およびゲル電気泳動により調べた。DNA 結合は、TiO₂ NPs アナターゼ a) および TiO₂ NPs ルチル/アナターゼ混合物 c) で観察されたが、ミクロルチル b) では観察されなかった。著者らによれば、

TiO₂ NP アナターゼは、DNA 塩基対間に自身を挿入したり、P-O-Ti-O 結合を介して DNA スクレオチドに共有結合することができるとしている (参照 211 : Jin, 2013)。

UV-Vis 分光法により TiO₂ NPs (< 100 nm) の *in vitro* DNA 結合能を評価した結果、ヒトゲノム DNA と TiO₂ NPs との強いスタッキング相互作用によると考えられる高色素効果が観察された。また、TiO₂ NP の濃度を増加させてインキュベートしたインターカレートされたエチジウムブロマイドおよびヒトゲノム DNA の蛍光発光スペクトルから、これらの NP が DNA 鎖もインターカレートすることが示された (参照 212 : Patel, 2016 ; 参照 213 : Patel, 2017)。著者らは、これらの結果はすべて DNA と TiO₂ NP 間の静電的相互作用によるものであり、DNA のコンホメーション変化をもたらすことを示唆している。蛍光分光法により TiO₂ NP のヒトゲノム DNA との強い結合親和性 (DNA 結合定数 : $4.1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) が示された。

TiO₂ NP のヒトゲノム DNA との結合親和性を調べた研究で、仔牛胸腺 DNA と TiO₂ NP (14 nm) 相互作用を UV-Vis 分光法および分子ドッキング分析により検討した結果、UV-Vis 分光法で観察した高色素挙動は二本鎖 DNA の巻き戻しを確認した。DNA 結合定数は $5.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ であった。分子ドッキング分析により DNA の副溝における A-T 塩基と TiO₂ NP の選択的結合が明らかとなった (参照 214 : Ali, 2018)。

TiO₂ NPs アナターゼ (< 10 nm) とドキソルビシン (DOX) の複合曝露および単一成分による仔牛胸腺 DNA の構造変化を調べた研究で、UV-Vis および CD 分光法、熱変性および蛍光発光スペクトルより、DNA と TiO₂ NP の相互作用により DNA ヘリックスの二次構造の変化をもたらすことが示された (参照 215 : Hekmat, 2013)。

同様の方法で、同グループが TiO₂ NPs アナターゼ (< 10 nm) とパクリタキセル (PTX) の複合曝露による仔牛胸腺 DNA の構造変化を調べた結果、DNA 溶液に TiO₂ NP を添加すると、高色素性が観察され、DNA と TiO₂ NP の間の複合体形成が示唆された (参照 216 : Hekmat, 2020)。

他の分析技術 (UV および Fourier 変換赤外分光法と組み合わせたキャピラリー電気泳動) により、TiO₂ NP (21 nm) と DNA (サケ精子由来) の相互作用が確認された。糖-リン酸骨格を介する TiO₂ NP の静電相互作用が二本鎖および一本鎖 DNA の両方で実証され、一本鎖 DNA とはより強い相互作用を示した (参照 217 : Alsudir & Lai, 2017)。

EFSA パネルは、TiO₂ NP と DNA との相互作用は、*in vitro* (色度亢進) または *in vivo* (色度低下) 曝露後に UV-VIS 分光法で検討した場合に、スペクトル的に対照的な効果をもたらしたと指摘した。結論として、*in vitro* および *in vivo* 研究の両方から、TiO₂ NP と DNA との相互作用の証拠があるとしている。しかしながら、共有結合が関与するか非共有結合が関与するかは確立できなかったとしている。

⑤ その他の試験

a) DNA 損傷マーカー

TiO₂ 粒子による DNA 二本鎖切断のマーカー (γH2AX フォーカス) の誘導を調べた 4 つの *in vitro* 研究および 2 つの *in vivo* 研究の報告がある。

ヒト一次表皮角化細胞において γH2AX フォーカスを有する細胞の割合がわずかではあるが統計学的に有意に増加し、同時に細胞内 ROS も増加した (参照 218 : Kathawala, 2015)。

A549 ヒト肺癌細胞における γH2AX フォーカスの誘導がマクロ粒子および (より顕著に) ナノ粒子により濃度依存的に増加し、同時に二本鎖切断が誘発されることを、バイアス正弦電場ゲル電気泳動 (BSFGE) によって検出された (参照 219 : Toyooka, 2012)。

一方、Jugan ら (2012) の研究では、同じ細胞株において、γH2AX フォーカスの誘導に対する同様の影響はみられなかった (参照 158 : Jugan, 2012)。

NRK-52E ラット腎細胞に TiO₂ 粒子 (12、24 および 142 nm) を曝露した研究では、腎細胞の核における γH2AX フォーカスの量の増加はみられなかった (参照 201 : Barillet, 2010)。

In vivo 試験では、C57BL/6Jpun /pun マウスの骨髄において、γH2AX フォーカスを有する細胞の用量依存性の増加が報告された (参照 141 : Trouiller, 2009)。

別の試験でも、雄 Sprague-Dawley ラットの骨髄において、小核誘発がみられない状態で、γH2AX フォーカスを有する細胞の用量依存性の増加が報告された (参照 166 : Chen, 2014)。

DNA 損傷および酸化ストレスに応答する遺伝子の発現の分析を含む ToxTracker アッセイの結果、初代マウス胚性線維芽細胞のすべてのエンドポイントで陰性であった (参照 178 : Brown, 2019)。

EFSA (2021) では、これらの試験はいずれも関連性は限定的であるとしている。

b) DNA 塩基の酸化

TiO₂ 粒子による 8-oxodG (酸化誘発 DNA 損傷のマーカー) の誘導を調べた 5 つの *in vitro* 研究 (限定的関連性ありと判断されたもの) のうち、4 つは陽性であった。

TiO₂ NP およびナノおよびマイクロサイズの TiO₂ 粒子 (アナターゼ、ルチルおよびアナターゼとルチルの混合物) で処理したヒト末梢血単核細胞 (PBMC、リンパ球と単球の混合集団) において、DNA 中の 8-oxodG の有意な増加が報告された (参照 145 : Andreoli, 2018)。

また、ヒト結腸癌 Caco-2 細胞では、アナターゼ NP (20~60 nm) 処理後、対照と比較して 8-oxodG の基底レベルの有意な増加が報告された (参照 148 : Zijno, 2015)。

2 種のヒト細胞系 (BEAS-2B 正常気管支肺細胞と A549 肺癌肺細胞) を TiO₂ NP (21±9 nm) で処理した結果、8-oxodG レベルの増加がみられた (参照 190 : Biola-Clier, 2017)。

A549 肺癌肺細胞を用いた別の研究では、TiO₂ NP (アナターゼ 12 nm、P25 およびルチル 21 nm) に曝露された細胞において、酸化塩基は 8-oxodG のみ検出され、チミジングリコール類、5-(ヒドロキシメチル)-2'-デオキシウリジン、5-ホルミル 2'-デオキシウリジンまたは 8-オキソ-7,8-ジヒドロ-2'-デオキシアデノシンのような他の傷害は、検出限界未満または処理時に高頻度には産生されなかった。この試験では、TiO₂ (アナターゼ、140 nm) による酸化塩基の誘導は認められなかった (参照 158 : Jugan, 2012)。

対照的に、Caco-2 結腸および HT-29 ヒト結腸がん細胞の共培養を E 171 および 2 種の TiO₂ NP (12 ± 3nm および 24 ± 6nm) で処理した研究では、HPLC-MS/MS 測定による 8-oxodG レベルの有意な増加はみられなかった (参照 180 : Dorier, 2019)。

In vivo 試験として、TiO₂ NP 処理マウスおよび未処理マウスの肝臓から単離した DNA 中の 8-oxo dG のレベルを測定することにより、酸化誘発 DNA 損傷を検討した報告がある。TiO₂ NP (P25) を 100 mg/kg/day の用量で 5 日間飲水投与したところ、NP 投与マウスでは対照群と比較して 8-oxo dG 濃度が 1.5 倍に増加した (参照 141 : Trouiller, 2009)。

別の *in vivo* 試験 (参照 220 : Rehn, 2003) は、気管内注入後の分析に基づいているため、評価には適切ではないと考えられた。

EFSA (2021) では、全体として、入手可能な *in vitro* 試験に基づくと、アナターゼおよびルチルのナノ粒子および微粒子は DNA の酸化を誘導し、8-oxo dG を生じる可能性があると考えられるとしている。

c) ROS

種々の細胞株を用いた *in vitro* 試験において、TiO₂ 粒子による ROS の誘導が観察されている (参照 144 : Kang, 2008 ; 参照 130 : Xu, 2009 ; 参照 159 : Shukla, 2011 ; 参照 192 : Shukla, 2013 ; 参照 132 : Wang, 2011 ; 参照 221 : Wang, 2019 ; 参照 202 : Guichard, 2012 ; 参照 158 : Jugan, 2012 ; 参照 222 : Saquib, 2012 ; 参照 218 : Kathawala, 2015 ; 参照 223 : Khan, 2015 ; 参照 193 : Shi, 2015 ; 参照 224 : Tomankova, 2015 ; 参照 129 : Jain, 2017 ; 参照 180 : Dorier, 2019 ; 参照 195 : Liao, 2019 ; 参照 225 : Santonastaso, 2019)。これらの研究の一部で、ROS の生成は抗酸化剤 (参照 144 : Kang, 2008 ; 参照 130 : Xu, 2009) 又は SOD (参照 132 : Wang, 2011) の添加によって阻害されることが示された。Guichard ら (2012) が実施した研究では、SHE 細胞における ROS の誘導は、160 nm サイズの TiO₂ アナターゼ粒子および 530 nm サイズのルチル粒子よりも TiO₂ NP (アナターゼおよびルチル < 100nm) で高かった。

対照的に、アナターゼ TiO₂ NP (NM-102) への 1 週間の曝露後の BEAS-2B 正常気管支肺細胞を用いた *in vitro* 試験 (参照 150 : Vales, 2015) では、細胞内 ROS の誘導は観察されず、ヒト結腸癌 Caco-2 細胞中の 0.143 または 1.43 µg/cm² の濃度の E 171 では、ROS の有意な増加は観察されなかった (参照 149 : Proquin, 2017)。

In vivo では、TiO₂ NP (アナターゼ) を 50 mg/kg までの用量で週 1 回 4 週間静脈内投与したラットで、ROS、NO、MDA、IFN- γ 、TNF- α および NF- κ B 活性の増加、SOD および GSH-Px の減少、ならびにアポトーシスマーカー (p53、Bax、Bcl-2 および cyto c) 発現が認められた (参照 206 : Meena, 2015b)。

TiO₂ NP は、マウスの気管内注入後も ROS レベルを上昇させた (参照 226 : Danielsen, 2020)。

マウスに TiO₂ NP (アナターゼ) を 100 mg/kg/day までの用量で 14 日間強制経口投与した試験でも ROS レベルが上昇した (参照 163 : Shukla, 2014)。

TiO₂ NP (アナターゼ) をマウスに 500、1,000、2,000 mg/kg/day の用量で 7 日間強制経口投

与した試験で、1,000 および 2,000 mg/kg/day で用量依存的に肝臓および腎臓の ROS レベルの増加が認められた一方、500 mg/kg/day 投与群では、これらの臓器の ROS レベルに変化は認められなかった (参照 193 : Shi, 2015)。

Nrf2(-/-)マウス (抗酸化遺伝子の発現の調節因子である Nrf2 をノックアウトしたマウス) に TiO₂ NP を 1,000 mg/kg/day の用量で投与した結果、野生型マウスに同用量を投与した場合と比較して、肝臓および腎臓における ROS レベルが高かった (参照 193 : Shi, 2015)。

d) エピジェネティックな DNA メチル化

TiO₂ NP (P25) を用いた数種の哺乳類細胞培養では、全体的な DNA メチル化の低下が観察された一方、Pogribna ら (2020) が実施した試験では、一部の特異的遺伝子プロモーターのメチル化が増加した。この研究では、DNA メチル化の調節に関与するいくつかの遺伝子の発現レベルの変化も観察された (参照 227 : Pogribna, 2020)。

ヒト肺癌細胞株 A549 に TiO₂ NP (P25) を 72 時間暴露後、統計的に有意な脱メチル化を誘導したが、48 時間後には影響は観察されなかった (参照 156 : Stocco, 2017)。

ヒト肺癌細胞株 A549 およびヒト気管支上皮細胞株を TiO₂ NP (60nm) で処理後、ゲノム DNA メチル化レベルの有意な低下が認められた (参照 228 : Ma, 2017)。

TiO₂ 粒子(1 μm) を用いた *in vitro* 試験の結果、一部の特定の遺伝子座のメチル化の双方向性の変化が観察された (参照 229 : Emi, 2020)。

特に遺伝子プロモーター領域におけるエピジェネティック修飾は、DNA 修復遺伝子の発現の変化をもたらすことが示されている。Biola-Clier ら (2017) は TiO₂ NP (21 nm) 曝露後の全 DNA 及び DNA 修復遺伝子プロモーターのメチル化について検討した結果、ヌクレオチド除去修復、塩基除去修復、ミスマッチ修復、および二本鎖切断修復等の一部の DNA 修復経路に関与する遺伝子上流 DNA 調節因子 44 個中 31 個がダウンレギュレートされることを見出した (参照 190 : Biola-Clier, 2017)。

EFSA (2021) では、これらの研究から、エピジェネティックなエンドポイントに取り組む価値がある可能性があるとして、これらは遺伝毒性評価の裏付け情報と考えられるとした。

e) 細胞形質転換

TiO₂ NPs (P25) 処理により形態学的に形質転換された Balb/c 3T3 細胞 (マウス胚線維芽細胞) の頻度の統計的に有意な増加がみられた (参照 203 : Stocco, 2016)。

同じ細胞株を用いたさらなる細胞形質転換試験では、ルチル (マイクロおよびナノサイズ) では形質転換コロニー (病巣 III 型) の有意な誘導が観察されたが、アナターゼ (マイクロおよびナノサイズ) では有意な影響は観察されなかった (参照 230 : Uboldi, 2016)。

ヒト胚腎細胞およびマウス胚線維芽細胞 (NIH/3T3) において、軟寒天中で増殖するコロニー数の増加が TiO₂ NPs (アナターゼ、21 および 50 nm) で観察された。この影響は濃度依存性であり、1,000 μg/mL では統計的に有意であったが、10 および 100 μg/mL では有意で

はなく、マイクロ粒子でも有意ではなかった (参照 231 : Demir, 2015)。

別の研究では、TiO₂ NP (アナターゼ、22 nm) に 20 µg/mL までの濃度で曝露した場合、コロニーの合計と中型大型コロニーの両方について、ヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B 細胞) の軟寒天上で増殖するコロニー数の統計的に有意な濃度依存性の増加が示された(参照 150 : Vales, 2015)。

EFSA (2021) では、細胞形質転換試験は、遺伝毒性事象と非遺伝毒性事象の両方を含み得る発がんの初期段階に関する情報を提供するものであり、細胞形質転換試験の結果は、遺伝毒性の評価との関連性は限られていると考えられるとしている。また、発がん性評価との関連性も限られるとしている。

⑥作用機序

EFSA (2021) では、遺伝毒性の発現機序として、二酸化チタン粒子が引き起こす炎症反応やミトコンドリア機能への干渉による活性酸素種 (ROS) や活性窒素種 (RNS) の生成、二酸化チタンナノ粒子の本質的な特性による ROS の直接生成による DNA 損傷が挙げられている。また、二酸化チタンナノ粒子と DNA の相互作用によって DNA の二次構造が変化する可能性についても示されている。さらに、二酸化チタン粒子がゲノム機能の維持に関与する遺伝子の発現に影響を与えるエピジェネティックな修飾 (例 : DNA 修復に関わる遺伝子のダウンレギュレーション) を誘発したり、染色体分離及び紡錘体装置の制御に関わるタンパク質と相互作用する可能性を示唆する研究結果があることも示されている。

以上を踏まえて、EFSA パネルは、二酸化チタン粒子が引き起こすゲノム毒性に対する各作用機序の相対的な寄与は不明であり、閾値の有無を判断したり閾値を設定することはできないとして、二酸化チタン粒子の遺伝毒性の懸念は排除できないと結論づけている。EFSA (2021) は、複数の研究結果より、結晶形、粒子の大きさ、形状、凝集状態等の二酸化チタンナノ粒子の物理化学的特性と *in vitro* または *in vivo* 遺伝毒性試験の結果との間には明確な相関関係は認められないとし、遺伝毒性に関する二酸化チタン粒子サイズのカットオフ値も特定していない。

一方、Health Canada (2022) は、*in vitro* の研究結果より、ごく微小の二酸化チタンナノ粒子 (<30 nm) でさえ細胞核に容易に取り込まれることはなく、より大きな粒子や食品マトリックス中の二酸化チタンナノ粒子の核内移行について説得力のある証拠は存在しないとしている。Health Canada は、二酸化チタンナノ粒子と DNA の直接的な相互作用について生物学的妥当性を裏付ける証拠が非常に限られていることから、食品用二酸化チタンへの経口曝露が直接的な遺伝毒性メカニズムと関連することを示す証拠は存在しないと結論付け、二酸化チタンによる遺伝毒性は、ROS の生成と持続的な炎症の結果としての二次的なものであるとしている。

(9) 一般薬理試験

二酸化チタンについて、一般薬理試験の結果は確認できなかった。

3. ヒトにおける知見

二酸化チタンは、動物実験における十分な証拠とヒトの疫学研究における不十分な証拠に基づき、吸入曝露経路でヒトに対して発がん性がある（IARC グループ 2B）と分類されている（参照 232 : IARC, 2010）。Health Canada (2022) はこれについて、利用可能な証拠のほとんどは、細胞増殖と酸化ストレスの炎症に依存した増加をもたらす粒子の過負荷を含む二次的な遺伝毒性メカニズムを介して生じる肺腫瘍と整合性があるとしている（参照 233 : Schins & Knaapen, 2007 ; 参照 234 : ECETOC, 2013 ; 参照 235 : Warheit, 2016 ; 参照 236 : Bevan, 2018）。二酸化チタンを含む難溶性の低毒性粒子の研究では、ラットにおける肺の炎症と腫瘍反応を最もよく予測したのは粒子表面積量であった（参照 237 : Driscoll, 1997 ; 参照 238 : Dankovic, 2007）。吸入曝露経路は食品添加物としての二酸化チタンに関する検討の対象ではないため、Health Canada (2022) では肺における発がん性の作用機序についてこれ以上論じていない。

4. 一日摂取量の推計等

(1) 日本国内

1) 食品由来二酸化チタン摂取の現状

①マーケットバスケット方式調査による加工食品及び未加工食品由来の二酸化チタン摂取量

二酸化チタンのマーケットバスケットデータは得られていない。

②食品中の二酸化チタン含有量調査

公表された情報の中では、食品中の二酸化チタン含有量について利用可能な情報は得られなかった。

③食品添加物の生産流通量調査に基づく推計

国内の食品添加物製造所を対象とした食品添加物西安・流通調査（令和 2、3 年度調査）の結果、令和元年度の二酸化チタンの食品向け出荷量は 12,740 kg、輸出量は 0 kg と報告されている（参照 239 : 佐藤, 2022）

(2) 海外

1) 欧州連合

EFSA (2021) において、ヨーロッパ 23 カ国で実施された 40 件の食事調査から入手した摂取量データに基づく曝露評価結果が報告されている（参照 21 : EFSA FAF Panel, 2021）。乳

児、幼児、小児、青年、成人および高齢者の各集団における E 171 への慢性的な食事由来曝露量の推定結果を表 7 に示す。

表 7 6つの集団への最大曝露レベル評価シナリオ及び精緻化した曝露シナリオにおける食事由来の食品添加物 E171 への一日推定曝露量（最小値-最大値、mg/kg/day）

	乳児 (12週～11ヵ月)	幼児 (12-35ヵ月)	小児 (3-9歳)	青少年 (10-17歳)	成人 (18-64歳)	高齢者 (65歳以上)
最大曝露レベル評価シナリオ						
平均	0.06-3.6	0.9-12.8	1.9-11.5	1.3-6.2	0.7-6.7	0.4-4.9
95パーセンタイル	0.2-15.8	2.9-31.4	5.9-31.3	4.0-18.6	2.4-15.9	1.9-12.7
精緻化した曝露シナリオ						
Brand-loyal scenario						
平均	0.05-3.5	0.8-10.0	1.7-9.7	1.1-5.0	0.6-5.5	0.4-4.2
95パーセンタイル	0.1-14.3	2.6-28.0	5.2-25.4	3.3-14.9	2.0-13.1	1.7-10.4
Non-brand-loyal scenario						
平均	0.03-2.9	0.6-6.0	0.9-6.9	0.6-3.6	0.3-3.8	0.2-2.8
95パーセンタイル	0.1-9.9	1.9-27.5	2.5-23.7	1.6-13.2	1.2-9.5	0.9-7.1

最大曝露レベル評価シナリオでは、食品添加物としての使用による E 171 の平均曝露量は、乳児の 0.06 mg/kg/day から幼児の 12.8 mg/kg/day の範囲であった。95 パーセンタイル値は乳児の 0.2 mg/kg/day から幼児の 31.4 mg/kg/day の範囲であった。

ブランドロイヤルティを考慮した曝露評価シナリオでは、食品添加物としての使用による E 171 の平均曝露量は、乳児の 0.05 mg/kg/day から幼児の 10.0 mg/kg/day の範囲であった。95 パーセンタイル値は乳児の 0.1 mg/kg/day から幼児の 28.0 mg/kg/day の範囲であった。ブランドロイヤルティを考慮しないシナリオでは、平均曝露量は乳児で 0.03 mg/kg/day から小児で 6.9mg/kg/day の範囲であった。95 パーセンタイル値は乳児の 0.1 mg/kg/day から幼児の 27.5mg/kg/day までの範囲であった。

E 171 への曝露に寄与した主な食品カテゴリーについては、ブランドロイヤルティを考慮しない曝露シナリオでは、乳児、幼児、青少年では、ファインベーカリー製品、スープ・ブロス・ソース、そして小児、成人、高齢者ではスープ・ブロス・ソース、サラダ、セイボリーサンドイッチスプレッドであった。加工されたナッツもまた、成人および高齢者に対する主要な寄与食品カテゴリーであった。

IV まとめ

食品添加物用二酸化チタン（E171）について、EFSA ではナノ粒子のデータ及び新たに実施されたラットの EOGRT 試験の結果を用いて 2021 年に再評価を実施した。この結果 EFSA は、E171 中の二酸化チタン粒子の吸収及び毒性について以下のように結論している。

- ・二酸化チタン粒子の吸収率は低い、半減期が長いこと体内に蓄積する可能性がある。
- ・新たに実施された E 171 の EOGRT 試験の結果を含め、一般毒性試験および臓器毒性試験では 1,000mg/kg/日まで有害影響はみられず、文献検索の結果、> 30 nm の二酸化チタンナノ粒子についても試験された最高用量である 100 mg/kg/日まで影響はみられなかった。
- ・EOGRT 試験では、試験した最高用量である 1,000mg/kg/日まで、生殖および発生に対する影響はみられず、文献検索の結果でも、E 171 の生殖発生毒性を示す信頼できるデータはない。
- ・E 171 による免疫毒性および炎症、ならびに二酸化チタンナノ粒子による神経毒性に関するいくつかの所見は、有害作用を示唆している可能性がある。
- ・E 171 による ACF 誘発の徴候がある。
- ・二酸化チタンナノ粒子の発がん性を検討するために適切に計画され実施された試験は得られなかった。
- ・遺伝毒性に関して入手可能なエビデンスを組み合わせると、二酸化チタンナノ粒子は DNA 鎖切断および染色体損傷を誘発する可能性があるが、遺伝子突然変異は誘発しない。二酸化チタン粒子の物理化学的性状（結晶形、構成粒子の大きさ、形状および凝集状態など）と *in vitro* または *in vivo* 遺伝毒性試験結果との間に明らかな相関はみられなかった。
- ・E 171 中に含まれる可能性のある二酸化チタン粒子について遺伝毒性の懸念は除外できなかった。
- ・遺伝毒性に対する複数の作用メカニズムが並行して作用する可能性がある。二酸化チタン粒子によって誘発される種々の分子メカニズムの相対的な寄与は不明であり、閾値を仮定できるかどうかは不確実性がある。
- ・遺伝毒性に関する二酸化チタン粒子サイズのカットオフ値は確認できなかった。

全体として、現在入手可能なすべての証拠に加え、すべての不確実性、特に遺伝毒性の懸念を排除できないことから、EFSA は E 171 の食品添加物として使用はもはや安全とみなすことはできないと結論付けた。

Health Canada が 2022 年に実施した食品用途の二酸化チタンの有害性評価では、食品中の二酸化チタンに対する曝露では食品マトリックスが影響するとの証拠があるとして、評価では食事に関する研究結果が重視された。さらに、信頼性及び品質の観点から、GLP 及び OECD ガイドラインに準拠した試験結果も重視された。収集されたデータの一部はさらなる調査が必要と考えられたが、証拠の重み付け（weight of evidence）に基づき、食品用途の二酸化チタンについて顕著なバイオアベイラビリティ、発がん性、遺伝毒性、免疫毒性、生

殖・発生毒性及び神経毒性を示す証拠は確認されず、データの不足についてもより予防的なアプローチを正当化するほど重大なものではないと判断された。以上より、**Health Canada**は、食品添加物としての二酸化チタンがヒト健康に懸念を及ぼすという決定的な科学的根拠はないと結論付けている。

引用文献

- 参照 1 : 食品添加物公定書解説書第 9 版: 二酸化チタン. 谷村顕雄編, 廣川書店, 2018; D-1663
- 参照 2 : Codex Alimentarius: General standard for food additives CODEX STAN 192-1995. Adopted in 1995. Revision 2016;
<https://www.fao.org/gsfaonline/additives/details.html?id=184>
- 参照 3 : Commission Regulation (EU) 2022/63 of 14 January 2022 Official Journal of the European Union L 11/1, amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council as regards the food additive titanium dioxide (E 171)
- 参照 4 : Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives OJ L 354 31.12.2008, p.16
- 参照 5 : FSA Web ページ <https://www.food.gov.uk/business-guidance/approved-additives-and-e-numbers>
- 参照 6 : FDA 21CFR: CFR Title21 Chapter I Subchapter A Part 73 SubpartA-Sec.73.575 Titanium dioxide. April 1, 2011
- 参照 7 : FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.3.1 - Food Additives-Schedule 16 - F2019C00128. 5 Feb. 2019; 1-8
- 参照 8 : FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.3.1 - Food Additives-Schedule 15 - F2021C00607. 8 Jul. 2021
- 参照 9 : Health Canada. Food and Drug Regulations (C.R.C., c. 870). 27 Sep. 2022
- 参照 10 : Health Canada. List of Permitted Colouring Agents (Lists of Permitted Food Additives). 8 Feb. 2021
- 参照 11 : JECFA TRS 445: Specifications for the Identity and Purity of Food Additives and their Toxicological Evaluation. 1970
- 参照 12 : NCI Carcinogenesis Technical Report Series 97: Bioassays of Titanium Dioxide for Possible Carcinogenicity. 1979
- 参照 13 : Commission of the European Communities Reports of the Scientific Committee for Food, First series. 31 Dec. 1975
- 参照 14 : Commission of the European Communities Reports of the Scientific Committee for Food, Fourth series. 1977
- 参照 15 : EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrients Sources added to Food), 2016. Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. EFSA

Journal 2016;14(9):4545, 83 pp.

- 参照 16 : ANSES (Agence nationale de se'curite' sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), 2017. Relatif a' une demande d'avis relatif a' l'exposition alimentaire aux nanoparticules de dioxyde de titane. Referral No. 2017-SA-0020. [フランス語]
- 参照 17 : EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrients Sources added to Food), 2018. Evaluation of four new studies on the potential toxicity of titanium dioxide used as a food additive (E 171). EFSA Journal 2018;16 (7):5366, 27 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5366>
- 参照 18 : ANSES (Agence nationale de se'curite' sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), 2019. Relatif aux risques lie's a' l'ingestion de l'additif alimentaire E 171. Referral No. 2019-SA-0036. [フランス語]
- 参照 19 : EFSA (European Food Safety Authority), 2019. statement on the review of the risks related to the exposure to the food additive titanium dioxide (E 171) performed by the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (ANSES). EFSA Journal 2019;17(6):5714, 11 pp.
- 参照 20 : EFSA FAF Panel (EFSA Panel on Food Additive and Flavourings), 2019. Scientific opinion on the proposed amendment of the EU specification for titanium dioxide (E 171) with respect to the inclusion of additional parameters related to its particle size distribution. EFSA Journal 2019;17(7):5760, 23 pp.
- 参照 21 : EFSA FAF Panel (EFSA Panel on Food Additive and Flavourings), 2021. Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. EFSA Journal 2021;19(5):e06585
- 参照 22 : Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Interim position paper on titanium dioxide. 2021
- 参照 23 : Health Canada. State of the Science of Titanium Dioxide (TiO₂) as a Food Additive. 2022
- 参照 24 : FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Titanium Dioxide as a Food Additive, Food Standards Australia New Zealand 2022.
- 参照 25 : 平林容子、令和 3 年度指定添加物の安全性に関する試験、二酸化チタンの粒子径等の測定調査（最終報告書）
- 参照 26 : 日本酸化チタン工業会, 2014. 酸化チタン（ナノ酸化チタンを含む）の安全性等について. <https://www.sankatitan.org/cms/wp-content/uploads/2022/08/2016.12ansen.pdf>
- 参照 27 : JECFA Monographs 13: Compendium of Food Additive Specifications, Joint

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 76th Meeting, Geneva, Switzerland, 5-14 June 2012.

- 参照 28 : Commission Regulation (EU) No 231/2012 of 9 March 2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council Text with EEA relevance., OJ L 83, 22.3.2012, p. 1–295
- 参照 29 : 委託者提供情報
- 参照 30 : Hussain N, Jaitley V and Florence AT, 2001. Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50, 107–142.
- 参照 31 : Emond C, 2011. Kinetic behaviour of nanoparticles across the biological physiology. *Journal of Physics: Conference Series*, 304, 012089.
- 参照 32 : McCracken C, Zane A, Knight DA, Dutta PK and Waldman WJ, 2013. Minimal intestinal epithelial cell toxicity response to short- and long-term food-relevant inorganic nanoparticle exposure. *Chemical Research in Toxicology*, 26, 1514–1525.
- 参照 33 : Chaudhry Q, MacNicoll A, Kelly M, Semizer H, Kramer E, Herrera Hernandez Z, et al., 2013. A study of the toxicokinetics of nano-titanium dioxide TiO₂ using in vitro and in vivo models of oral intake. FERA Report, T01062.
- 参照 34 : Gu N, Hu H, Guo Q, Jin S, Wang C, Oh Y, Feng Y and Wu Q, 2015. Effects of oral administration of titanium dioxide fine-sized particles on plasma glucose in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 86, 124–131.
- 参照 35 : Fournier P, 1950. De l'emploi de l'oxyde de titane pour l'étude quantitative de l'absorption intestinale. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences (Paris)*, 231, 1343, cited in JECFA, 1970.
- 参照 36 : Jani PU, McCarthy DE and Florence AT, 1994. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *International Journal of Pharmaceuticals*, 105, 157–168. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), 1970. Thirteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation. WHO Technical Report Series, No 445. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- 参照 37 : Onishchenko GE, Erokhina MV, Abramchuk SS, Shaitan KV, Raspopov RV, Smirnova VV, Vasilevskaya LS, Gmoshinski IV, Kirpichnikov MP and Tutelyan VA, 2012. Effects of titanium dioxide nanoparticles on small intestinal mucosa in rats. *Byulleten' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny*, 154, 265–270.

- 参照 38 : Cho W-S, Kang B-C, Lee JK, Jeong J, Che J-H and Seok SH, 2013. Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. *Particle and Fibre Toxicology*, 10, 9.
- 参照 39 : Geraets L, Oomen AG, Krystek P, Jacobsen NR, Wallin H, Laurentie M, Verharen HW, Brandon EF and de Jong WH, 2014. Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats. *Part Fibre Toxicol*, 11, 30.
- 参照 40 : Coméra, C., Cartier, C., Gaultier, E., Catrice, O., Panouille, Q., El Hamdi, S., Tirez, K., Nelissen, I., Théodorou, V. and Houdeau, E., 2020. Jejunal villus absorption and paracellular tight junction permeability are major routes for early intestinal uptake of food-grade TiO₂ particles: an in vivo and ex vivo study in mice. *Particle and fibre toxicology*, 17(1), pp.1-15.
- 参照 41 : West, B. & Wyzan, H. (1963) Unpublished report by American Cyanamid Company [As cited in JECFA 1969]. [非公表データ]
- 参照 42 : Böckmann J, Lahl H, Eckert T and Unterhalt B, 2000. Titan-Blutspiegel vor und nach Belastungsversuchen mit Titandioxid. *Pharmazie*, 55, 140–143.
- 参照 43 : Jones K, Morton J, Smith I, Jurkshat K, Harding AH and Evans G, 2015. Human in vivo and in vitro studies on gastrointestinal absorption of titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology Letters*, 233, 95–101.
- 参照 44 : Swiatkowska, I., Martin, N. and Hart, A.J., 2019. Blood titanium level as a biomarker of orthopaedic implant wear. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 53, pp.120-128.
- 参照 45 : Pele LC, Thoree V, Bruggraber S, Koller D, Thompson RP, Lomer MC and Powell JJ, 2015. Pharmaceutical/food grade titanium dioxide particles are absorbed into the bloodstream of human volunteers. *Particle and Fibre Toxicology*, 12, 26.
- 参照 46 : Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T, Ma Y, Jia G, Gao Y, Li B, Sun J, Li Y, Jiao F, Zhao Y and Chai Z, 2007. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology Letters*, 168, 176–185.
- 参照 47 : Lloyd LE, Rutherford BE and Crampton EW, 1955. A comparison of titanite oxide and chromic oxide as index materials for determining apparent digestibility. *Journal of Nutrition*, 56, 265–271.
- 参照 48 : Colorcon, 2003. Titanium dioxide absorption, distribution and excretion in the rat. Report CNO 010/032886. Huntingdon Life Sciences Ltd, Huntingdon, England, cited in EFSA, 2005.

- 参照 49 : Tassinari R, Cubadda F, Moracci G, Aureli F, D'Amato M, Valeri M, De Berardis B, Raggi A, Mantovani A, Passeri D, Rossi M and Maranghi F, 2014. Oral, short-term exposure to titanium dioxide nanoparticles in Sprague-Dawley rat: focus on reproductive and endocrine systems and spleen. *Nanotoxicology*, 8, 654–662.
- 参照 50 : Geraets L, Oomen AG, Krystek P, Jacobsen NR, Wallin H, Laurentie M, Verharen HW, Brandon EF and de Jong WH, 2014. Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats. *Part Fibre Toxicol*, 11, 30.
- 参照 51 : Talamini L, Gimondi S, Violatto MB, Fiordaliso F, Pedica F, Tran NL, Sitia G, Aureli F, Raggi A, Nelissen I, Cubadda F, Bigini P and Diomede L, 2019. Repeated administration of the food additive E171 to mice results in accumulation in intestine and liver and promotes an inflammatory status. *Nanotoxicology*, 13, 1087–1101.
- 参照 52 : Riedle, S., Wills, J.W., Minitier, M., Otter, D.E., Singh, H., Brown, A.P., Micklethwaite, S., Rees, P., Jugdaohsingh, R., Roy, N.C. and Hewitt, R.E., 2020. A Murine Oral-Exposure Model for Nano-and Micro-Particulates: Demonstrating Human Relevance with Food-Grade Titanium Dioxide. *Small*, 16(21), p.2000486.
- 参照 53 : Disdier C, Devoy J, Cosnefroy A, Chalansonnet M, Herlin-Boime N, Brun E, Lund A and Mabondzo A, 2015. Tissue biodistribution of intravenously administrated titanium dioxide nanoparticles revealed blood-brain barrier clearance and brain inflammation in rat. *Particle and Fibre Toxicology*, 12, 24.
- 参照 54 : Kreyling, W.G., Holzwarth, U., Schleh, C., Kozempel, J., Wenk, A., Haberl, N., Hirn, S., Schäffler, M., Lipka, J., Semmler-Behnke, M. and Gibson, N., 2017. Quantitative biokinetics of titanium dioxide nanoparticles after oral application in rats: part 2. *Nanotoxicology*, 11(4), pp.443-453.
- 参照 55 : Hendrickson OD, Pridvorova SM, Zherdev AV, Klochkov SG, Novikova OV, Shevtsova EF, Bachurin SO and Dzantiev BB, 2016. Size-dependent differences in biodistribution of titanium dioxide nanoparticles after sub-acute intragastric administrations to rats. *Current Nanoscience*, 12, 228–236.
- 参照 56 : Ammendolia MG, Iosi F, Maranghi F, Tassinari R, Cubadda F, Aureli F, Raggi A, Superti F, Mantovani A and De Berardis B, 2017. Short-term oral exposure to low doses of nano-sized TiO₂ and potential modulatory effects on intestinal cells. *Food and Chemical Toxicology*, 102, 63–75.
- 参照 57 : Kreyling, W.G., Holzwarth, U., Haberl, N., Kozempel, J., Hirn, S., Wenk, A., Schleh, C., Schäffler, M., Lipka, J., Semmler-Behnke, M. and Gibson, N., 2017. Quantitative biokinetics of titanium dioxide nanoparticles after intravenous injection in rats: Part 1. *Nanotoxicology*, 11(4), pp.434-442.

- 参照 58 : Hendrickson OD, Platonova TA, Piidvorova SM, Zherdev AV, Gmoshinsky IV, Vasilevskaya LS, Shumakova AA, Hotimchenko SA and Dzantiev BB, 2020. Electron-microscopic investigation of the distribution of titanium dioxide (rutile) nanoparticles in the rats' small intestine mucosa. Liver, and Spleen Current Nanoscience, 16, 268–279.
- 参照 59 : Chen Z, Zheng P, Han S, Zhang J, Li Z, Zhou S and Jia G, 2020. Tissue-specific oxidative stress and element distribution after oral exposure to titanium dioxide nanoparticles in rats. Nanoscale, 12, 20033–20046.
- 参照 60 : Chen Z, Han S, Zheng P, Zhou D, Zhou S and Jia G, 2020. Effect of oral exposure to titanium dioxide nanoparticles on lipid metabolism in Sprague-Dawley rats. Nanoscale, 12, 5973–5986.
- 参照 61 : Bettini S, Boutet-Robinet E, Cartier C, Comera C, Gaultier E, Dupuy J, Naud N, Tache S, Grysan P, Reguer S, Thieriet N, Refregiers M, Thiaudiere D, Cravedi JP, Carriere M, Audinot JN, Pierre FH, Guzylack-Pirou L and Houdeau E, 2017. Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. Scientific Reports, 7, 40373.
- 参照 62 : Guillard, A., Gaultier, E., Cartier, C., Devoille, L., Noireaux, J., Chevalier, L., Morin, M., Grandin, F., Lacroix, M., Coméra, C. and Cazanave, A., 2020. Basal Ti level in the human placenta and meconium and evidence of a materno-foetal transfer of food-grade TiO₂ nanoparticles in an ex vivo placental perfusion model. Particle and fibre toxicology, 17(1), pp.1-15.
- 参照 63 : Heringa MB, Peters RJB, Bleys R, van der Lee MK, Tromp PC, van Kesteren PCE, van Eijkeren JCH, Undas AK, Oomen AG and Bouwmeester H, 2018. Detection of titanium particles in human liver and spleen and possible health implications. Particle and Fibre Toxicology, 15, 15.
- 参照 64 : Peters, R.J., Oomen, A.G., van Bommel, G., van Vliet, L., Undas, A.K., Munniks, S., Bleys, R.L., Tromp, P.C., Brand, W. and van der Lee, M., 2020. Silicon dioxide and titanium dioxide particles found in human tissues. Nanotoxicology, 14(3), pp.420-432.
- 参照 65 : Farrell, T.P. and Magnuson, B., 2017. Absorption, distribution and excretion of four forms of titanium dioxide pigment in the rat. Journal of food science, 82(8), pp.1985-1993.
- 参照 66 : Hallagan JB, Allen DC and Borzelleca JF, 1995. The safety and regulatory status of food, drug and cosmetics colour additives exempt from certification. Food and Chemical Toxicology, 33, 515–528.

- 参照 67 : Warheit, D.B., Hoke, R.A., Finlay, C., Donner, E.M., Reed, K.L. and Sayes, C.M., 2007. Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO₂ particles as a component of nanoparticle risk management. *Toxicology letters*, 171(3), pp.99-110.
- 参照 68 : Kurtz CC, Mitchell S, Nielsen K, Crawford KD, Mueller-Spitz SR, 2020. Acute high-dose titanium dioxide nanoparticle exposure alters gastrointestinal homeostasis in mice. *Journal of applied toxicology*, 40(10), pp.1384-1395
- 参照 69 : 令和 3 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）分担研究報告書、ナノ酸化チタン及びナノ銀の経口反復投与毒性と体内動態解析、小川久美子
- 参照 70 : Talamini L, Gimondi S, Violatto MB, Fiordaliso F, Pedica F, Tran NL, Sitia G, Aureli F, Raggi A, Nelissen I, Cubadda F, Bigini P and Diomedea L, 2019. Repeated administration of the food additive E171 to mice results in accumulation in intestine and liver and promotes an inflammatory status. *Nanotoxicology*, 13, 1087–1101.
- 参照 71 : Talbot P, Radziwill-Bienkowska JM, Kamphuis JBJ, Steenkeste K, Bettini S, Robert V, Noordine ML, Mayeur C, Gaultier E, Langella P, Robbe-Masselot C, Houdeau E, Thomas M and Mercier-Bonin M, 2018. Food-grade TiO₂ is trapped by intestinal mucus in vitro but does not impair mucin O-glycosylation and short-chain fatty acid synthesis in vivo: implications for gut barrier protection. *Journal of Nanobiotechnology*, 16, 53.
- 参照 72 : Han HY, Yang MJ, Yoon C, Lee GH, Kim DW, Kim TW, Kwak M, Heo MB, Lee TG, Kim S, Oh JH, Lim HJ, Oh I, Yoon S and Park EJ, 2020. Toxicity of orally administered food-grade titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Applied Toxicology*.
- 参照 73 : Vasantharaja D, Ramalingam V and Reddy GA, 2015. Oral toxic exposure of titanium dioxide nanoparticles on serum biochemical changes in adult male Wistar rats. *Nanomedicine Journal*, 2, 46–53.
- 参照 74 : El-Din EAA, Mostafa HE, Samak MA, Mohamed EM and El -Shafei DA. 2019. Could curcumin ameliorate titanium dioxide nanoparticles effect on the heart? A histopathological, immunohistochemical, and genotoxic study. *Environmental Science and Pollution Research*. 26: 21556–21564.
- 参照 75 : Warheit DB, Brown SC and Donner EM, 2015. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 208–224.
- 参照 76 : Hu H, Guo Q, Wang C, Ma X, He H, Oh Y, Feng Y, Wu Q and Gu N, 2015. Titanium dioxide nanoparticles increase plasma glucose via reactive oxygen species-induced insulin resistance in mice. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 35, 1122–1132.
- 参照 77 : Yu X, Hong F and Zhang YQ, 2016. Cardiac inflammation involving in PKC ϵ or ERK1/2-activated NF- κ B signalling pathway in mice following exposure to titanium

- dioxide nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials*, 313, 68–77.
- 参照 78 : Hong J, Hong FS, Ze YG and Zhang YQ, 2016. The nano-TiO₂ exposure can induce hepatic inflammation involving in a JAK-STAT signalling pathway. *Journal of Nanoparticle Research*, 18, 9.
- 参照 79 : Yang J, Luo M, Tan Z, Dai M, Xie M, Lin J, Hua H, Ma Q, Zhao J and Liu A, 2017. Oral administration of nano- titanium dioxide particle disrupts hepatic metabolic functions in a mouse model. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 49, 112–118.
- 参照 80 : Chen Z, Wang Y, Zhuo L, Chen S, Zhao L, Chen T, Li Y, Zhang W, Gao X, Li P, Wang H and Jia G, 2015. Interaction of titanium dioxide nanoparticles with glucose on young rats after oral administration. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 11, 1633–1642.
- 参照 81 : Chen Z, Wang Y, Zhuo L, Chen S, Zhao L, Luan X, Wang H and Jia G, 2015. Effect of titanium dioxide nanoparticles on the cardiovascular system after oral administration. *Toxicology Letters*, 239, 123–130.
- 参照 82 : Grissa I, Elghoul J, Ezzi L, Chakroun S, Kerkeni E, Hassine M, El Mir L, Mehdi M, Ben Cheikh H and Haouas Z, 2015. Anemia and genotoxicity induced by sub-chronic intragastric treatment of rats with titanium dioxide nanoparticles. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 794, 25–31.
- 参照 83 : Chen Z, Zheng P, Han S, Zhang J, Li Z, Zhou S and Jia G, 2020. Tissue-specific oxidative stress and element distribution after oral exposure to titanium dioxide nanoparticles in rats. *Nanoscale*, 12, 20033–20046.
- 参照 84 : Chen Z, Han S, Zheng P, Zhou D, Zhou S and Jia G, 2020. Effect of oral exposure to titanium dioxide nanoparticles on lipid metabolism in Sprague-Dawley rats. *Nanoscale*, 12, 5973–5986.
- 参照 85 : Grissa I, Ezzi L, Chakroun S, Mabrouk A, Saleh AB, Braham H, Haouas Z and Cheikh HB, 2017. *Rosmarinus officinalis* L. ameliorates titanium dioxide nanoparticles and induced some toxic effects in rats' blood. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24, 12474–12483.
- 参照 86 : Hassanein KM and El-Amir YO, 2017. Protective effects of thymoquinone and avenanthramides on titanium dioxide nanoparticles induced toxicity in Sprague-Dawley rats. *Pathology, Research and Practice*, 213, 13–22.
- 参照 87 : Heo MB, Kwak M, An KS, Kim HJ, Ryu HY, Lee SM, Song KS, Kim IY, Kwon JH and Lee TG, 2020. Oral toxicity of titanium dioxide P25 at repeated dose 28-day and 90-day in rats. *Part Fibre Toxicol*, 17, 34.

- 参照 88 : Bettini S, Boutet-Robinet E, Cartier C, Comera C, Gaultier E, Dupuy J, Naud N, Tache S, Grysan P, Reguer S, Thieriet N, Refregiers M, Thiaudiere D, Cravedi JP, Carriere M, Audinot JN, Pierre FH, Guzylack-Piriou L and Houdeau E, 2017. Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. *Scientific Reports*, 7, 40373.
- 参照 89 : Choi JW, Kim P, Kim JK, Kim YR, Fukumura D, Yun SH. 2015. Longitudinal tracing of spontaneous regression and anti-angiogenic response of individual microadenomas during colontumorigenesis. *Theranostics*. 5(7):724–32.
- 参照 90 : Shpitz B, Hay K, Medline A, Bruce WR, Bull SB, Gallinger S, Stern H. 1996. Natural history of aberrant crypt foci. A surgical approach. *Diseases of the Colon and Rectum*. 39(7):763-767.
- 参照 91 : Schoen RE, Mutch M, Rall C, Dry SM, Seligson D, Umar A, and Pinsky P. 2008. The natural history of aberrant crypt foci. *Gastrointestinal Endoscopy*. 67(7):1097–102.
- 参照 92 : Blevins LK, Crawford RB, Bach A, Rizzo MD, Zhou J, Henriquez JE, Khan D, Sermet S, Arnold LL, Pennington KL, Souza NP, Cohen SM and Kaminski NE, 2019. Evaluation of immunologic and intestinal effects in rats administered an E 171-containing diet, a food grade titanium dioxide (TiO₂). *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 133.
- 参照 93 : Rodrigues MAM, Silva LAG, Salvadori DMF, de Camargo JLV, Montenegro MR. 2002. Aberrant crypt foci and colon cancer: comparison between a short- and medium-term bioassay for colon carcinogenesis using dimethylhydrazine in Wistar rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 35: 351-355.
- 参照 94 : Won HS, Maeng LS, Chae HS, Kim HK, Cho YS, Kang J-H, Jang HS, Ryu M-R. 2012. Sequential changes in aberrant crypt foci and lectin expression in the early and late stages of DMH-induced colon carcinogenesis in rats. *Gut Liver*. 6(2): 229-234.
- 参照 95 : Furukawa F, Nishikawa A, Kitahori Y, Tanakamaru Z, Hirose M. 2002. Spontaneous development of aberrant crypt foci in F344 rats. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*. 21(2):197-201.
- 参照 96 : Singh N, Dev I, Pal S, Yadav SK, Idris MM, Ansari KM. 2022. Transcriptomic and proteomic insights into patul in mycotoxin-induced cancer-like phenotypes in normal intestinal epithelial cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*. <https://doi.org/10.1007/s11010-022-04387-3>
- 参照 97 : Duan SM, Zhang YL, Gao YJ, Lyu LZ and Wang Y, 2021. The influence of long-term dietary intake of titanium dioxide particles on elemental homeostasis and tissue structure of mouse organs. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 21(10),

pp.5014-5025.

- 参照 98 : Mortensen NP, Moreno Caffaro M, Aravamudhan S, Beeravalli L, Prattipati S, Snyder RW, Watson SL, Patel PR, Weber FX, Montgomery SA and Sumner SJ, 2021. Simulated gastric digestion and in vivo intestinal uptake of orally administered CuO nanoparticles and TiO₂ E171 in male and female rat pups. *Nanomaterials* 11(6), p.1487.
- 参照 99 : Ranjan S, Dasgupta N, Verma P and Ramalingam C, 2020. Acute and sub-chronic toxicity of titanium dioxide nanoparticles synthesized by microwave-irradiation-assisted hybrid chemical approach. *J Indian Chem Soc*, 97, pp.483-491.
- 参照 100 : Conde J, Schwarzfischer M, Katkeviciute E, Häfliger J, Niechcial A, Brillant N, Manzini R, Bähler K, Atrott K, Lang S, Scharl M, 2021. Titanium Dioxide Presents a Different Profile in Dextran Sodium Sulphate-Induced Experimental Colitis in Mice Lacking the IBD Risk Gene *Ptpn2* in Myeloid Cells. *International journal of molecular sciences*, 22(2):772
- 参照 101 : Hu H, Zhang B, Li L, Guo Q, Yang D, Wei X, Fan X, Liu J, Wu Q, Oh Y, Feng Y, Chen K, Wang C, Hou L, Gu N, 2020. The toxic effects of titanium dioxide nanoparticles on plasma glucose metabolism are more severe in developing mice than in adult mice. *Environmental toxicology*, 35(4), pp.443-456.
- 参照 102 : Zhang Y, Duan S, Liu Y, Wang Y, 2021. The combined effect of food additive titanium dioxide and lipopolysaccharide on mouse intestinal barrier function after chronic exposure of titanium dioxide-contained feedstuffs. *Particle and fibre toxicology*, 18(1), pp.8.
- 参照 103 : Zhu X, Zhao L, Wang Y, Hu X, Zhu Y, Yang X, 2022. Dietary titanium dioxide particles (E171) promote diet-induced atherosclerosis through reprogramming gut microbiota-mediated choline metabolism in APOE^{-/-} mice. *Journal of hazardous materials*, 436, pp.129179.
- 参照 104 : Shwter AN, Abdullah NA, Alshawsh MA, El-Seedi HR, Al-Henhena NA, Khalifa SA and Abdulla MA, 2016. Chemopreventive effect of *Phaleria macrocarpa* on colorectal cancer aberrant crypt foci in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 193, 195–206.
- 参照 105 : Karimipour M, Zirak JM, Ahmadi A and Jafari A, 2018. Oral administration of titanium dioxide nanoparticle through ovarian tissue alterations impairs mice embryonic development. *International Journal of Reproductive Biomedicine (Yazd, Iran)*, 16, 397–404.
- 参照 106 : Khorsandi L, Orazizadeh M, Mansouri E, Hemadi M and Moradi-Gharibvand N, 2016. Morphometric and stereological assessment of the effects of titanium dioxide nanoparticles on the mouse testicular tissue. *Bratislavske lekarske listy*, 117, 659–664.

- 参照 107 : Khorsandi L, Orazizadeh M, Moradi-Gharibvand N, Hemadi M and Mansouri E, 2017. Beneficial effects of quercetin on titanium dioxide nanoparticles induced spermatogenesis defects in mice. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24, 5595–5606.
- 参照 108 : Karimi S, Khorsandi L and Nejaddehbashi F, 2019. Protective effects of Curcumin on testicular toxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in mice. *JBRA Assisted Reproduction*, 23, 344–351.
- 参照 109 : Lu T, Ling C, Hu M, Meng X, Deng Y, An H, Li L, Hu Y, Wang H, Song G and Guo S, 2020. Effect of nano-titanium dioxide on blood-testis barrier and MAPK signaling pathway in male mice. *Biological Trace Element Research*.
- 参照 110 : Rodríguez-Escamilla, J.C., Medina-Reyes, E.I., Rodríguez-Ibarra, C., Déciga-Alcaraz, A., Flores-Flores, J.O., Ganem- Rondero, A., Rodríguez-Sosa, M., Terrazas, L.I., Delgado-Buenrostro, N.L. and Chirino, Y.I., 2019. Food-grade titanium dioxide (E171) by solid or liquid matrix administration induces inflammation, germ cells sloughing in seminiferous tubules and blood-testis barrier disruption in mice. *Journal of Applied Toxicology*, 39(11), pp.1586- 1605.
- 参照 111 : Medina-Reyes, E.I., Delgado-Buenrostro, N.L., Díaz-Urbina, D., Rodríguez-Ibarra, C., Déciga-Alcaraz, A., González, M.I., Reyes, J.L., Villamar-Duque, T.E., Flores-Sánchez, M.L., Hernández-Pando, R. and Mancilla-Díaz, J.M., 2020. Food-grade titanium dioxide (E171) induces anxiety, adenomas in colon and goblet cells hyperplasia in a regular diet model and microvesicular steatosis in a high fat diet model. *Food and Chemical Toxicology*, 146, p.111786.
- 参照 112 : Warheit DB, Boatman R and Brown SC, 2015b. Developmental toxicity studies with 6 forms of titanium dioxide test materials (3 pigment-different grade & 3 nanoscale) demonstrate an absence of effects in orally-exposed rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73, 887–896.
- 参照 113 : Lee J, Jeong JS, Kim SY, Park MK, Choi SD, Kim UJ, Park K, Jeong EJ, Nam SY and Yu WJ, 2019. Titanium dioxide nanoparticles oral exposure to pregnant rats and its distribution. *Particle and Fibre Toxicology*, 16, 31.
- 参照 114 : Ebrahimzadeh Bideskan, A, Mohammadipour, A., Fazel, A., Haghiri, H., Rafatpanah, H., Hosseini, M. and Rajabzadeh, A., 2017. Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy and lactation alters offspring hippocampal mRNA BAX and Bcl-2 levels, induces apoptosis and decreases neurogenesis. *Experimental and toxicologic pathology*, 69(6), pp.329-337.

- 参照 115 : Kandeil MA, Mohammed ET, Hashem KS, Aleya L and Abdel -Daim MM, 2020. Moringa seed extract alleviates titanium oxide nanoparticles (TiO₂-NPs)-induced cerebral oxidative damage, and increases cerebral mitochondrial viability. *Environmental Science and Pollution Research*. 27: 19169-19184.
- 参照 116 : Rahnama S, Hassanpour A, Yadegari M, Anvari M and Hosseini-sharifabad M, 2020. Effect of titanium dioxide nanoparticles on the stereological parameters of the dentate gyrus and the morphology of granular hippocampal neurons in mice. *International Journal of Morphology*, 38, 1623–1630.
- 参照 117 : Zhang S, Jiang X, Cheng S, Fan J, Qin X, Wang T, Zhang Y, Zhang J, Qiu Y, Qiu J, Zou Z and Chen C, 2020. Titanium dioxide nanoparticles via oral exposure leads to adverse disturbance of gut microecology and locomotor activity in adult mice. *Archives of Toxicology*, 94, 1173–1190.
- 参照 118 : Canli EG, Gumus C, Canli M and Ila HB, 2020. The effects of titanium nanoparticles on enzymatic and non- enzymatic biomarkers in female Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 1–9.
- 参照 119 : Grissa I, Guezguez S, Ezzi L, Chakroun S, Sallem A, Kerkeni E, Elghoul J, El Mir L, Mehdi M, Cheikh HB and Haouas Z, 2016. The effect of titanium dioxide nanoparticles on neuroinflammation response in rat brain. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23, 20205–20213.
- 参照 120 : Grissa I, ElGhoul J, Mrimi R, Mir LE, Cheikh HB and Horcajada P, 2020. In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO₂ nanoparticles. *Brain Research Bulletin*, 155, 119–128.
- 参照 121 : Zhou Y, Hong F, Tian Y, Zhao X, Hong J, Ze Y and Wang L, 2017. Nanoparticulate titanium dioxide-inhibited dendritic development is involved in apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in offspring mice. *Toxicology Research*, 6, 889–901.
- 参照 122 : Mohammadipour A, Hosseini M, Fazel A, Haghiri H, Rafatpanah H, Pourganji M and Bideskan AE, 2016. The effects of exposure to titanium dioxide nanoparticles during lactation period on learning and memory of rat offspring. *Toxicology and Industrial Health*, 32, 221–228.
- 参照 123 : Yoshizaki, K., Asai, M. and Hara, T., 2020. High-fat diet enhances working memory in the Y-maze test in male C57BL/6J mice with less anxiety in the elevated plus maze test. *Nutrients*, 12(7), p.2036.
- 参照 124 : Sofranko A, Wahle T, Heusinkveld HJ, Stahlmecke B, Dronov M, Pijnenburg D, Hilhorst R, Lamann K, Albrecht C and Schins RP, 2021. Evaluation of the neurotoxic effects of engineered nanomaterials in C57BL/6J mice in 28-day oral exposure studies.

NeuroToxicology, 84, pp.155-171.

- 参照 125 : Pinget G, Tan J, Janac B, Kaakoush NO, Angelatos AS, O'Sullivan J, Koay YC, Siirro F, Davis J, Divakarla SK, Khanal D, Moore RJ, Stanley D, Chrzanowski W and Macia L, 2019. Impact of the food additive titanium dioxide (E171) on gut microbiota-host interaction. *Frontiers in Nutrition*, 6, 57.
- 参照 126 : Urrutia-Ortega IM, Garduno-Balderas LG, Delgado-Buenrostro NL, Freyre-Fonseca V, Flores-Flores JO, Gonzales- Robles A, Pedraza Chaverri J, Hernandez-Pando R, Rodriguez-Soza M, Leon-Cabrera S, Leon-Terrazas L, van Loveren H and Chirino YI, 2016. Food-grade titanium dioxide exposure exacerbates tumor formation in colitis associated cancer model. *Food and Chemical Toxicology*, 93, 20–31.
- 参照 127 : Phue, W.H., Xu, K. and George, S., 2022. Inorganic food additives nanomaterials alter the allergenicity of milk proteins. *Food and Chemical Toxicology*, p.112874.
- 参照 128 : Chen Z, Wang Y, Ba T, Li Y, Pu J, Chen T, Song Y, Gu Y, Qian Q, Yang J and Jia G, 2014. Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicology Letters*, 226, 314–319.
- 参照 129 : Jain AK, Senapati VA, Singh D, Dubey K, Maurya R and Pandey AK, 2017. Impact of anatase titanium dioxide nanoparticles on mutagenic and genotoxic response in Chinese hamster lung fibroblast cells (V-79): the role of cellular uptake. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 105, 127–139.
- 参照 130 : Xu A, Chai Y, Nohmi T and Hei TK, 2009. Genotoxic responses to titanium dioxide nanoparticles and fullerene in gpt delta transgenic MEF cells. *Particle and Fibre Technology*, 6, 3.
- 参照 131 : Kazimirova A, El Yamani N, Rubio L, Garc'ia-Rodr'iguez A, Barancokova M, Marcos R and Dusinska M, 2020. Effects of titanium dioxide nanoparticles on the hprt gene mutations in V79 hamster cells. *Nanomaterials*, Basel, 10.
- 参照 132 : Wang S, Hunter LA, Arslan Z, Wilkerson MG and Wickliffe JK, 2011. Chronic exposure to nanosized, anatase titanium dioxide is not cyto- or genotoxic to Chinese hamster ovary cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52, 614–622.
- 参照 133 : Demir E, Creus A and Marcos R, 2017. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles are not mutagenic in the mouse. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26, 1001–1016.
- 参照 134 : NANOGENOTOX 2013. Available online at <https://www.anses.fr/en/content/nanogenotox-final-report> Nature Nanotechnology (unsigned editorial). 2020. The risks of nanomaterial risk assessment. *Nat. Nanotechnol.* 15, 163.

- 参照 135 : EFSA Scientific Committee, 2018. Guidance on risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: part 1, human and animal health. *EFSA Journal* 2018;16(7):5327, 95 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5327>
- 参照 136 : Suzuki T, Miura N, Hojo R, Yanagiba Y, Suda M, Hasegawa T, Miyagawa M and Wang RS, 2016. Genotoxicity assessment of intravenously injected titanium dioxide nanoparticles in gpt delta transgenic mice. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 802, 30–37.
- 参照 137 : Suzuki T, Miura N, Hojo R, Yanagiba Y, Suda M, Hasegawa T, Miyagawa M and Wang RS, 2020. Genotoxicity assessment of titanium dioxide nanoparticle accumulation of 90 days in the liver of gpt delta transgenic mice. *Genes Environ*.
- 参照 138 : Louro H, Tavares A, Vital N, Costa PM, Alverca E, Zwart E, de Jong W, Fessard V, Lavinha J and Silva MJ, 2014. Integrated approach to the in vivo genotoxic effects of a titanium dioxide nanomaterial using LacZ plasmid based transgenic mice. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 55, 500–509. <https://doi.org/10.1002/em.21864>
- 参照 139 : Sadiq R, Bhalli JA, Yan J, Woodruff RS, Pearce MG, Li Y, Mustafa T, Watanabe F, Pack LM, Biris A, Khan QM and Chen T, 2012. Genotoxicity of TiO₂ anatase nanoparticles 383 in B6C3F1 male mice evaluated using Pig-a and flow cytometric micronucleus assays. *Mutation Research*, 745, 65–72.
- 参照 140 : Relier C, Dubreuil M, Lozano Garc'ia O, Cordelli E, Mejia J, Eleuteri P, Robidel F, Loret T, Pacchierotti F, Lucas S, Lacroix G and Trouiller B, 2017. Study of TiO₂ P25 nanoparticles genotoxicity on lung, blood, and liver cells in lung overload and non-overload conditions after repeated respiratory exposure in rats. *Toxicological Sciences*, 156, 2.
- 参照 141 : Trouiller B, Reliene R, Westbrook A, Solaimani P and Schiestl RH, 2009. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. *Cancer Research*, 69, 8784–8789.
- 参照 142 : Kurzawa-Zegota M, Sharma V, Najafzadeh M, Reynolds PD, Davies JP, Shukla RK, Dhawan A and Anderson D, 2017. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage in peripheral blood lymphocytes from polyposis coli, colon cancer patients and healthy individuals: an ex vivo/in vitro study. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17, 9274–9285.
- 参照 143 : Turkez H and Geyikoglu F, 2007. An in vitro blood culture for evaluating the genotoxicity of titanium dioxide: the responses of antioxidant enzymes. *Toxicology and Industrial Health*, 23, 19–23.

- 参照 144 : Kang SJ, Kim BM, Lee YJ and Chung HW, 2008. Titanium dioxide nanoparticles trigger p53-mediated damage response in peripheral blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 49, 399–405.
- 参照 145 : Tavares AM, Louro H, Antunes S, Quarre S, Simar S, De Temmerman P-J, Verleysen E, Mast J, Jensen KA, Norppa H, Nesslany F and Silva MJ, 2014. Genotoxicity evaluation of nanosized titanium dioxide, synthetic amorphous silica and multi-walled carbon nanotubes in human lymphocytes. *Toxicology In Vitro*, 28, 60–69.
- 参照 146 : Andreoli C, Leter G, De Berardis B, Degan P, De Angelis I, Pacchierotti F, Crebelli R, Barone F and Zijno A, 2018. Critical issues in genotoxicity assessment of TiO₂ nanoparticles by human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 38, 1471–1482.
- 参照 147 : Osman IF, Najafzadeh M, Sharma V, Shukla RK, Jacob BK, Dhawan A and Anderson D, 2018. TiO₂ NPs induce DNA damage in lymphocytes from healthy individuals and patients with respiratory diseases-an ex vivo/in vitro study. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18, 544–555.
- 参照 148 : Zijno A, De Angelis I, De Berardis B, Andreoli C, Russo MT, Pietraforte D, Scorza G, Degan P, Ponti J, Rossi F and Barone F, 2015. Different mechanisms are involved in oxidative DNA damage and genotoxicity induction by ZnO and TiO₂ nanoparticles in human colon carcinoma cells. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published In Association With BIBRA*, 29, 1503–1512.
- 参照 149 : Proquin H, Rodriguez-Ibarra C, Moonen CG, Urrutia Ortega IM, Briede JJ, de Kok TM, van Loveren H, Chirino YI. 2017. Titanium dioxide food additive (E171) induces ROS formation and genotoxicity: contribution of micro and nano-sized fractions. *Mutagenesis*, 32, 139–149.
- 参照 150 : Vales G, Rubio L and Marcos R, 2015. Long-term exposures to low doses of titanium dioxide nanoparticles induce cell transformation, but not genotoxic damage in BEAS-2B cells. *Nanotoxicology*, 9, 568–578.
- 参照 151 : Di Bucchianico S, Cappellini F, Le Bihanic F, Zhang Y, Dreij K and Karlsson HL, 2017. Genotoxicity of TiO₂ nanoparticles assessed by mini-gel comet assay and micronucleus scoring with flow cytometry. *Mutagenesis*, 32, 127–137.
- 参照 152 : Zijno A, Cavallo D, Di Felice G, Ponti J, Barletta B, Butteroni C, Corinti S, De Berardis B, Palamides J, Ursini CL, Freseigna AM, Ciervo A, Maiello R and Barone F, 2020. Use of a common European approach for nanomaterials' testing to support regulation: a case study on titanium and silicon dioxide representative nanomaterials. *Journal of Applied Toxicology*.

- 参照 153 : Falck GCM, Lindberg HK, Suhonen S, Vippola M, Vanhala E, Catalan J, Savolainen K and Norppa H, 2009. Genotoxic effects of nanosized and fine TiO₂. *Human and Experimental Toxicology*, 28, 339–352.
- 参照 154 : Prasad RY, Wallace K, Daniel KM, Tennant AH, Zucker RM, Strickland J, Dreher K, Kligerman AD, Blackman CF and DeMarini DM, 2013. Effect of treatment media on the agglomeration of titanium dioxide nanoparticles: impact on genotoxicity, cellular interaction, and cell cycle. *ACS Nano*, 3, 1929–1942.
- 参照 155 : Srivastava RK, Rahman Q, Kashyap MP, Singh AK, Jain G, Jahan S, Lohani M, Llantow M and Pant AB, 2013. Nanotitanium dioxide induces genotoxicity and apoptosis in human lung cancer cell line, A549. *Human and Experimental Toxicology*, 32, 153–166.
- 参照 156 : Stoccoro A, Di Bucchianico S, Coppede F, Ponti J, Ubaldi C, Blosi M, Delpivo C, Orтели S, Costa AL and Migliore L, 2017. Multiple endpoints to evaluate pristine and remediated titanium dioxide nanoparticles genotoxicity in lung epithelial A549 cells. *Toxicology Letters*, 276, 48–61.
- 参照 157 : Brandao F, Ferna'ndez-Berto'lez N, Rosa'rio F, Bessa MJ, Fraga S, Pa'saro E, Teixeira JP, Laffon B, Valdiglesias V and Costa C, 2020. Genotoxicity of TiO₂ nanoparticles in four different human cell lines (A549, HEPG2, A172 and SH-SY5Y). *Nanomaterials*, Basel, 10.
- 参照 158 : Jugan M-L, Barillet S, Simon-Deckers A, Herlin-Boime N, Sauvaigo S, Douki T and Carriere M, 2012. Titanium dioxide nanoparticles exhibit genotoxicity and impair DNA repair activity in A549 cells. *Nanotoxicology*, 6, 501–513.
- 参照 159 : Shukla RK, Sharma V, Pandey AK, Singh S, Sultana S and Dhawan A, 2011. ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicology In Vitro*, 25, 231–241.
- 参照 160 : Nakagawa Y, Wakuri S, Sakamoto K and Tanaka N, 1997. The photogenotoxicity of titanium dioxide particles. *Mutation Research*, 394, 125–132.
- 参照 161 : Franz P, Burkle A, Wick P, Hirsch C. 2020. Exploring flow cytometry-based micronucleus scoring for reliable nanomaterial genotoxicity assessment. *Chemical Research in Toxicology*. 33: 2538-2549.
- 参照 162 : BioReliance. 2021. In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL). Titanium dioxide E171-E. Unpublished study report from BioReliance Corporation. Study Number: AG28TA.348.BTL. 19/10/2021, submitted to Health Canada by the TDMA.
- 参照 163 : Shukla RK, Kumar A, Vallabani NV, Pandey AK and Dhawan A, 2014. Titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress triggers DNA damage and hepatic injury

in mice. *Nanomedicine (Lond)*, 9, 9.

- 参照 164 : Chakrabarti S, Goyary D, Karmakar S and Chattopadhyay P. 2019. Exploration of cytotoxic and genotoxic endpoints following sub-chronic oral exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology and Industrial Health*. 35: 577–592.
- 参照 165 : Manivannan J, Banerjee R and Mukherjee A. 2020. Genotoxicity analysis of rutile titanium dioxide nanoparticles in mice after 28 days of repeated oral administration. *The Nucleus*. 63: 17–24.
- 参照 166 : Chen Z, Wang Y, Ba T, Li Y, Pu J, Chen T, Song Y, Gu Y, Qian Q, Yang J and Jia G, 2014. Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicology Letters*, 226, 314–319.
- 参照 167 : Lotfi A, Zirak RG, Moghadam MS and Pazooki N. 2016. Effects of the interaction of nanorutile TiO₂ with vincristine sulfate on chromosomal abnormalities in vivo. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 7: 1083–1093.
- 参照 168 : El-Ghor AA, Noshay MM, Gala A and Mohamed HRH, 2014. Normalization of nano-sized TiO₂-induced clastogenicity, genotoxicity and mutagenicity by chlorophyllin administration in mice brain, liver, and bone marrow cells. *Toxicological Sciences*, 142, 21–32.
- 参照 169 : Fadoju O, Ogunsuyi O, Akanni O, Alabi O, Alimba C, Adaramoye O, Cambier S, Eswara S, Gutleb AC and Bakare A, 2019. Evaluation of cytogenotoxicity and oxidative stress parameters in male Swiss mice co-exposed to titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 70.
- 参照 170 : Shelby MD and Witt KL, 1995. Comparison of results from mouse bone marrow aberration and micronucleus test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 25, 302–313.
- 参照 171 : Shelby MD, Erexson GL, Hook GJ and Tice RR, 1993. Evaluation of a three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol: results with 49 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 21, 160–179.
- 参照 172 : Zirak RG, Lotfi A and Moghadam MS, 2016. Effects of the interaction of nanoanatase TiO₂ with bleomycin sulfate on chromosomal abnormalities in vivo. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 7, 1094–1108.
- 参照 173 : Dobrzynska MM, Gajowik A, Radzikowska J, Lankoff A, Dusinska M and Kruszewski M, 2014. Genotoxicity of silver and titanium dioxide nanoparticles in bone marrow cells of rats in vivo. *Toxicology*, 315, 86–91.
- 参照 174 : Donner EM, Myhre A, Brown SC, Boatman R and Warheit DB, 2016. In vivo micronucleus studies with 6 titanium dioxide materials (3 pigment-grade & 3 nanoscale)

in orally-exposed rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*: RTP, 74, 64–74.

- 参照 175 : Sycheva LP, Zhurkova VS, Iurchenko VV, Daugel-Dauge NO, Kovalenko MA, Krivtsova EK and Durnev A, 2011. Investigation of genotoxic and cytotoxic effects of micro- and nanosized titanium dioxide in six organs of mice in vivo. *Mutation Research*, 726, 8–14.
- 参照 176 : Schneider T, Westermann M and Glei M, 2017. In vitro uptake and toxicity studies of metal nanoparticles and metal oxide nanoparticles in human HT29 cells. *Archives of Toxicology*, 91, 3517–3527.
- 参照 177 : Garcia-Rodriguez A, Vila L, Cortes C, Hernandez A and Marcos R, 2018. Effects of differently shaped TiO₂NPs (nanospheres, nanorods and nanowires) on the in vitro model (Caco-2/HT29) of the intestinal barrier. *Particle and Fibre Toxicology*, 15, 33.
- 参照 178 : Brown DM, Danielsen PH, Derr R, Moelijker N, Fowler P, Stone V, Hendriks G, Moller P and Kermanizadeh A, 2019. The mechanism-based toxicity screening of particles with use in the food and nutrition sector via the ToxTracker reporter system. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*, 61.
- 参照 179 : Murugadoss S, Brassinne F, Sebaihi N, Petry J, Cokic SM, Van Landuyt KL, Godderis L, Mast J, Lison D, Hoet PH and van den Brule S, 2020. Agglomeration of titanium dioxide nanoparticles increases toxicological responses in vitro and in vivo. *Part Fibre Toxicol*, 17, 10.
- 参照 180 : Dorier M, Tisseyre C, Dussert F, Beal D, Arnal ME, Douki T, Valdiglesias V, Laffon B, Fraga S, Brandao F, Herlin-Boime N, Barreau Rabilloud T and Carriere M, 2019. Toxicological impact of acute exposure to E171 food additive and TiO₂ nanoparticles on a co-culture of Caco-2 and HT29-MTX intestinal cells. *Mutation Research*, 845.
- 参照 181 : Vila L, Garcia-Rodriguez A, Marcos R and Hernandez A, 2018. Titanium dioxide nanoparticles translocate through differentiated Caco-2 cell monolayers, without disrupting the barrier functionality or inducing genotoxic damage. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 38, 1195–1205.
- 参照 182 : Demir E, Burgucu D, Turna F, Aksakal S and Kaya B, 2013. Determination of TiO₂, ZrO₂, and Al₂O₃ nanoparticles on genotoxic responses in human peripheral blood lymphocytes and cultured embryonic kidney cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues*, 76, 990–1002.

- 参照 183 : Cowie H, Magdolenova Z, Saunders M, Drlickova M, Correia CS, Halamoda KB, Gombau L, Guadagnini R, Lorenzo Y, Walker L, Fjellsbo LM, Huk A, Rinna A, Tran L, Volkovova K, Boland S, Juillerat-Jeanneret L, Marano F, Collins AR and Dusinska M, 2015. Suitability of human and mammalian cells of different origin for the assessment of genotoxicity of metal and polymeric engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 9, 57–65.
- 参照 184 : Kazimirova A, Baranokova M, Staruchova M, Drlickova M, Volkovova K and Dusinska M, 2019. Titanium dioxide nanoparticles tested for genotoxicity with the comet and micronucleus assays in vitro, ex vivo and in vivo. *Mutation Research*, 843, 57–65.
- 参照 185 : El Yamani N, Collins AR, Runden-Pran E, Fjellsbo LM, Shaposhnikov S, Zienolddiny S and Dusinska M, 2017. In vitro genotoxicity testing of four reference metal nanomaterials, titanium dioxide, zinc oxide, cerium oxide and silver: towards reliable hazard assessment. *Mutagenesis*, 32, 117–126.
- 参照 186 : Magdolenova Z, Bilani D, Pojana G, Fjellsbø LM, Hudecova A, Hasplova K, Marcomini A and Dusinska M, 2012. Impact of agglomeration and different dispersions of titanium dioxide nanoparticles on the human related in vitro cytotoxicity and genotoxicity. *Journal of Environmental Monitoring*, 14, 455.
- 参照 187 : Woodruff RS, Li Y, Yan J, Bishop M, Jones MY, Watanabe F, Biris AS, Rice P, Zhou T and Chen T, 2012. Genotoxicity evaluation of titanium dioxide nanoparticles using the Ames test and Comet assay. *Journal of Applied Toxicology*, 32, 934–943.
- 参照 188 : Karlsson HL, Gustafsson J, Cronholm P and Møller L, 2009. Size-dependent toxicity of metal oxide particles – a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicology Letters*, 188, 112–118.
- 参照 189 : Wang Y, Cui H, Zhou J, Li F, Wang J, Chen M and Liu Q, 2015. Cytotoxicity, DNA damage, and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Environmental Science and Pollution Research International*, 22, 5519–5530.
- 参照 190 : Biola-Clier M, Beal D, Caillat S, Libert S, Armand L, Herlin-Boime N, Sauvaigo S, Douki T and Carriere M, 2017. Comparison of the DNA damage response in BEAS-2B and A549 cells exposed to titanium dioxide nanoparticles. *Mutagenesis*, 32, 161–172.
- 参照 191 : Osman IF, Baumgartner A, Cemeli E, Fletcher JN and Anderson D, 2010. Genotoxicity and cytotoxicity of zinc oxide and titanium dioxide in HEP-2 cells. *Nanomedicine*, 5, 1193–1203.
- 参照 192 : Shukla RK, Kumar A, Gurbani D, Pandey AK, Singh S and Dhawan A, 2013. TiO₂ nanoparticles induce oxidative DNA damage and apoptosis in human liver cells.

Nanotoxicology, 7, 48–60.

- 参照 193 : Shi Z, Niu Y, Wang Q, Shi L, Guo H, Liu Y, Zhu Y, Liu S, Liu C, Chen X and Zhang R, 2015. Reduction of DNA damage induced by titanium dioxide nanoparticles through Nrf2 in vitro and in vivo. *Journal of Hazardous Materials*, 298, 310–319.
- 参照 194 : Ferraro D, Anselmi-Tamburini U, Tredici IG, Ricci V and Sommi P, 2016. Overstimulation of nanoparticles-induced DNA damage determined by the comet assay. *Nanotoxicology*, 10, 861–870.
- 参照 195 : Liao F, Chen L, Liu Y, Zhao D, Peng W, Wang W and Feng S, 2019. The size-dependent genotoxic potentials of titanium dioxide nanoparticles to endothelial cells. *Environmental Toxicology*, 34, 1199–1207.
- 参照 196 : Kumar S, Hussain A, Bhushan B and Kaul G, 2020. Comparative toxicity assessment of nano- and bulk-phase titanium dioxide particles on the human mammary gland in vitro. *Human and Experimental Toxicology*, 39, 1475–1486.
- 参照 197 : Franchi LP, Manshian BB, de Souza TA, Soenen SJ, Matsubara EY, Rosolen JM and Takahashi CS, 2015. Cyto- and genotoxic effects of metallic nanoparticles in untransformed human fibroblast. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in ASSOCIATION with BIBRA*, 29, 1319–1331.
- 参照 198 : Sramkova M, Kozics K, Masanova V, Uhnakova I, Razga F, Nemethova V, Mazancova P, Kapka-Skrzypczak L, Kruszewski M, Novotova M, Puentes VF and Gabelova A, 2019. Kidney nanotoxicity studied in human renal proximal tubule epithelial cell line TH1. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 845, 9.
- 参照 199 : Elje E, Mariussen E, Moriones OH, Bastu's NG, Puentes V, Kohl Y, Dusinska M and Runde'n-Pran E, 2020. Hepato (geno)toxicity assessment of nanoparticles in a HEPG2 liver spheroid model. *Nanomaterials*, Basel, 10.
- 参照 200 : Brzicova T, Javorkova E, Vrbova K, Zajicova A, Holan V, Pinkas D, Philimonenko V, Sikorova J, Klema J, Topinka J and Rossner Jr P, 2019. Molecular responses in THP-1 macrophage-like cells exposed to diverse nanoparticles. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*. 9 pp.
- 参照 201 : Barillet S, Simon-Deckers A, Herlin-Boime N, Mayne-L'Hermite M, Reynaud C, Cassio D, Gouget B and Carriere M, 2010. Toxicological consequences of TiO₂, SiC nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes exposure in several mammalian cell types: an in vitro study. *Journal of Nanoparticle Research*, 12, 61–73.
- 参照 202 : Guichard Y, Schmit J, Darne C, Gate L, Le Goutet M, Rousset D, Rastoix O wrobel R, Witschger O, Martin A, Fierro V and Binet S, 2012. Cytotoxicity and genotoxicity of nanosized and micro-sized titanium dioxide and iron oxide particles in Syrian hamster

embryo cells. *Annals of Occupational Hygiene*, 56, 631–644.

- 参照 203 : Stoccoro A, Di Bucchianico S, Uboldi C, Coppede F, Ponti J, Placidi C, Blosi M, Ortelli S, Costa AL and Migliore L, 2016. A panel of in vitro tests to evaluate genotoxic and morphological neoplastic transformation potential on Balb/3T3 cells by pristine and remediated titania and zirconia nanoparticles. *Mutagenesis*, 31, 511–529.
- 参照 204 : Martins Jr ADC, Azevedo LF, de Souza Rocha CC, Carneiro MFH, Venancio VP, de Almeida MR, Antunes LMG, de Carvalho Hott R, Rodrigues JL, Ogunjimi AT, Adeyemi JA and Barbosa Jr F, 2017. Evaluation of distribution, redox parameters, and genotoxicity in Wistar rats co-exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 80, 1156–1165.
- 参照 205 : Jensen DM, Lohr M, Sheykhzade M, Lykkesfeldt J, Wils RS, Loft S and Moller P, 2019. Telomere length and genotoxicity in the lung of rats following intragastric exposure to food-grade titanium dioxide and vegetable carbon particles. *Mutagenesis*, 34, 203–214.
- 参照 206 : Meena R, Kumar S and Paulraj R, 2015. Titanium oxide (TiO₂) nanoparticles in induction of apoptosis and inflammatory response in brain. *Journal of Nanoparticle Research*, 17, 14.
- 参照 207 : Li Y, Yan J, Ding W, Chen Y, Pack LM and Chen T, 2017b. Genotoxicity and gene expression analyses of liver and lung tissues of mice treated with titanium dioxide nanoparticles. *Mutagenesis*, 32, 33–46.
- 参照 208 : Wallin H, Kyjovska ZO, Poulsen SS, Jacobsen NR, Saber AT, Bengtson S, Jackson P and Vogel U, 2017. Surface modification does not influence the genotoxic and inflammatory effects of TiO₂ nanoparticles after pulmonary exposure by instillation in mice. *Mutagenesis*, 32, 47–57.
- 参照 209 : Naya M, Kobayashi N, Ema M, Kasamoto S, Fukumuro M, Takami S, Nakajima M, Hayashi M and Nakanishi J, 2012. In vivo genotoxicity study of titanium dioxide nanoparticles using comet assay following intratracheal instillation in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 62, 1–6.
- 参照 210 : Li N, Ma L and Wang J, 2010. Interaction Between Nano-Anatase TiO₂ and Liver DNA from Mice In Vivo. *Nanoscale Research Letters*, 108.
- 参照 211 : Jin C, Tang Y, Fan XY, Ye XT, Li XL, Tang K, Zhang YF, Li AG and Yang YJ, 2013. In vivo evaluation of the interaction between titanium dioxide nanoparticle and rat liver DNA. *Toxicology and Industrial Health*, 29.
- 参照 212 : Patel S, Patel P, Sachin B, Undre SR, Pandya MS and Sonal B, 2016. DNA binding and dispersion activities of titanium dioxide nanoparticles with UV/vis spectrophotometry, fluorescence spectroscopy and physicochemical analysis at physiological temperature. *Journal of Molecular Liquids*, 213.

- 参照 213 : Patel S, Patel P and Bakshi SR, 2017. Titanium dioxide nanoparticles: an in vitro study of DNA binding, chromosome aberration assay, and comet assay. *Cytotechnology*, 69, 245–263.
- 参照 214 : Ali K, Abul QF, Dwivedi S, Abdel-Salam EM, Ansari SM, Saquib Q, Faisal M, Al-Khedhairi AA, Al-Shaeri M and Musarrat J, 2018. Titanium dioxide nanoparticles preferentially bind in subdomains IB, IIA of HSA and minor groove of DNA. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36, 2530–2542.
- 参照 215 : Hekmat A, Saboury AA, Divsalar A and Seyedarabi A, 2013. Structural effects of TiO₂ nanoparticles and doxorubicin on DNA and their antiproliferative roles in T47D and MCF7 cells. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 13.
- 参照 216 : Hekmat A, Afrough M, Tackallou SH and Ahmad F, 2020. Synergistic effects of Titanium dioxide nanoparticles and Paclitaxel combination on the DNA structure and their antiproliferative role on MDA-MB-231 cells. *Journal of Nanoanalysis*, 7, 152–165.
- 参照 217 : Alsudir S and Lai EPC, 2017. Electrosteric stabilization of colloidal TiO₂ nanoparticles with DNA and polyethylene glycol for selective enhancement of UV detection sensitivity in capillary electrophoresis analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409.
- 参照 218 : Kathawala MH, Yun Z, Chu JJH, Ng KW and Loo SCJ, 2015. TiO₂-nanoparticles shield HPEKs against ZnO-induced genotoxicity. *Materials & Design*, 88, 41–50.
- 参照 219 : Toyooka T, Amano T and Ibuki Y, 2012. Titanium dioxide particles phosphorylate histone H2AX independent of ROS production. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 742, 84–91.
- 参照 220 : Rehn B, Seiler F, Rehn S, Bruch J and Maier M, 2003. Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: untreated and surface treated. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 189, 84–95.
- 参照 221 : Wang J, Wang J, Liu Y, Nie Y, Si B, Wang T, Waqas A, Zhao G, Wang M and Xu A, 2019. Aging-independent and size-dependent genotoxic response induced by titanium dioxide nanoparticles in mammalian cells. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 85, 94–106.
- 参照 222 : Saquib Q, Al-Khedhairi AA, Siddiqui MA, Abou-Tarboush FM, Azam A and Musarrat J, 2012. Titanium dioxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in human amnion epithelial (WISH) cells. *Toxicology In Vitro*, 26, 351–361.
- 参照 223 : Khan M, Naqvi AH and Ahmad M, 2015. Comparative study of the cytotoxic and genotoxic potentials of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology Reports*, 2, 765–774.

- 参照 224 : Tomankova K, Horakova J, Harvanova M, Malina L, Soukupova J, Hradilova S, Kejlova K, Malohlava J, Licman L, Dvorakova M, Jirova D and Kolarova H, 2015. Reprint of: cytotoxicity, cell uptake and microscopic analysis of titanium dioxide and silver nanoparticles in vitro. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 85, 20–30.
- 参照 225 : Santonastaso M, Mottola F, Colacurci N, Iovine C, Pacifico S, Cammarota M, Cesaroni F and Rocco L, 2019. In vitro genotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles (n-TiO₂) in human sperm cells. *Molecular Reproduction and Development*, 86, 1369–1377.
- 参照 226 : Danielsen PH, Knudsen KB, Strancar J, Umek P, Koklic T, Garvas M, Vanhala E, Savukoski S, Ding Y, Madsen AM, Jacobsen NR, Weydahl IK, Berthing T, Poulsen SS, Schmid O, Wolff H and Vogel U, 2020. Effects of physicochemical properties of TiO₂ nanomaterials for pulmonary inflammation, acute phase response and alveolar proteinosis in intratracheally exposed mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 386.
- 参照 227 : Pogribna M, Koonce NA, Mathew A, Word B, Patri AK, Lyn-Cook B and Hammons G, 2020. Effect of titanium dioxide nanoparticles on DNA methylation in multiple human cell lines. *Nanotoxicology*, 1–20.
- 参照 228 : Ma Y, Guo YS, Wu S, Lv ZQ, Zhang Q and Ke YB, 2017. Titanium dioxide nanoparticles induce size-dependent cytotoxicity and genomic DNA hypomethylation in human respiratory cells. *Rsc Advances*, 7, 23560–23572.
- 参照 229 : Emi T, Rivera LM, Tripathi VC, Yano N, Ragavendran A, Wallace J and Fedulov A, 2020. Transcriptomic and epigenomic effects of insoluble particles on J774 macrophages. *Epigenetics*, 1–18.
- 参照 230 : Ubaldi C, Urban P, Gilliland D, Bajak E, Valsami-Jones E, Ponti J and Rossi F, 2016. Role of the crystalline form of titanium dioxide nanoparticles: Rutile, and not anatase, induces toxic effects in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Toxicology In Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 31, 137–145.
- 参照 231 : Demir E, Akca H, Turna F, Aksakal S, Burgucu D, Kaya B, Tokgun O, Vales G, Creus A and Marcos R, 2015. Genotoxic and cell-transforming effects of titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Research*, 136, 300–308.
- 参照 232 : IARC Work. Group Eval. Carcinog. Risks Hum. 2010. Carbon black, titanium dioxide, and talc. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 93:1–413
- 参照 233 : Schins RP and Knaapen AM, 2007. Genotoxicity of poorly soluble particles. *Inhalation toxicology*, 19(sup1), pp.189-198.

- 参照 234 : ECETOC. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. 2013. Poorly Soluble Particles/Lung Overload. Brussels, Belgium. Technical Report number 122.
- 参照 235 : Warheit DB, Kreiling R, Levy LS. 2016. Relevance of the rat lung tumor response to particle overload for human risk assessment-Update and interpretation of new data since ILSI 2000. *Toxicology*. 374:42-59.
- 参照 236 : Bevan RJ, Kreiline R, Levy LS, Warheit DB. 2018. Toxicity testing of poorly soluble particles, lung overload and lung cancer. *Regul Toxicol Pharmacol*. 100:80-91.
- 参照 237 : Driscoll KE, Deyo LC, Carter JM, Howard BW, Hassenbein DG and Bertram TA, 1997. Effects of particle exposure and particle-elicited inflammatory cells on mutation in rat alveolar epithelial cells. *Carcinogenesis*, 18, 423–430.
- 参照 238 : Dankovic D, Kuempel E and Wheeler M, 2007. An approach to risk assessment for TiO₂. *InhALTion Toxicology*, 19, 205–212.
- 参照 239 : 佐藤恭子「生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定」研究グループ:生産量統計調査を基にした摂取量の推定に関わる研究 その1 指定添加物品目 (第13回令和3年度報告). 令和3年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業). 令和4年3月(2022)

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
1	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	Hprt 遺伝子又はHGPRT遺伝子を用いるは乳腺培養細胞の <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験	粒子の取込み: 0, 10, 50, 100 µg/ml MTT 細胞毒性試験: 1, 10, 25, 50, 100 µg/ml ROS アッセイ: 1, 10, 25, 50, 100 µg/ml ばく露期間: HGPRT gene mutation in V-79 cells: 6 時間 粒子の取込み: up to 24 時間 MTT 細胞毒性試験: up to 24 時間 アッセイ: 6 時間	TiO2NPs, アナターゼ型, 12-25nm (TEM)	NSC: 1 媒体中の分散を測定し, 小さい凝集体の存在を確認した。細胞への取込みを測定し, NPと凝集体の内在を確認した。	陰性 HPRRT遺伝子の変異頻度は50 µg/ml及び100 µg/mlで有意に増加した。 粒子の取込, 細胞への取込: フローサイトメトリーで検出し, TEMで確認した。 ROS生成量 (DCFH-DA): 1 µg/mlを除く全ての濃度でROS生成量が有意に増加した。	Reliability: 2 OECD TG 476 からの逸脱点: 遺伝子突然変異試験において細胞毒性 (相対生存率) が評価されていない 細胞数の報告がない	Limited			Jain et al., 2017
2	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	チミジンキナーゼ遺伝子を用いた哺乳類細胞の <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験 (OECD TG 490)	粒子の取込 TEM: 0, 1, 100 µg/ml (TiO2-NPs < 25 nm マウスリンフォーマ試験: 0, 1, 10, 100 µg/ml (微粒子状TiO2, TiO2 NPs (24.23 nm), TiO2 NPs (50 nm)) ばく露: 粒子の取込 TEM: 24 時間	1) TiO2NPs, アナターゼ型 24.2 nm (TEM) 2) TiO2NPs, アナターゼ型 50.2 nm (TEM) 3) micro-TiO2, (その他の情報なし)	NSC: 1 Nanogenotox protocolに従い分散を測定し, TEMで細胞内への取込を確認した。NPとアグロメレートの方方がばく露した細胞で確認された。	あいまいな結果(Equivocal) (あいまいな結果) 陰性対照と比較して, 有意な増加はみられなかった。Global Evaluation Factor (GEF) を超えなかった。6つの試験において統計的に有意な濃度/効果の傾向がみられた。	Reliability: 2 方法について詳細不明 6件の報告への言及のみ	Limited			Demir et al., 2017
3	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	CD59 遺伝子座突然変異試験 ヒトハムスター hybrid AL 細胞 (ヒトの11染色体を導入した CHO-K1 細胞), 細胞内のROS産生	CD59 遺伝子座突然変異試験: 1 又は 10 µg/ml (24 時間) MTT 細胞毒性試験: 細胞内 ROS: 1 µg/ml TiO2 NPs (24 時間)	TiO2NPs, アナターゼ型, 15 nm	NSC: 1 分散レベルを測定 NPと凝集体の細胞内への取込みは, TEMで確認。	CD59遺伝子座変異試験: TiO2NPs 単独 (〜10 µg/mL) では影響なし。1 µg/mL TiO2 NPs 及び 2 µg/mL As (III) の同時処理により, As (III) の変異原性がわずかであるが有意に増加した。 MTT細胞毒性試験: 1 µg/mLと10 µg/mLのTiO2 NPsは, 細胞生存率にわずかな影響がみられた。ROS産生の増加はみられなかった。	Reliability: 5 TiO2 NPsとAs(III)の相互作用にフォーカスした研究。TiO2NPs単独では変異原性はみられなかったが, 使用濃度が低く, 陰性対照群がない。	Low			Wang et al., 2017
4	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	CD59 遺伝子座突然変異試験 (ヒトの11染色体) 細胞: AL human-hamster hybrid 細胞 (ヒト染色体11を導入した CHO-K1細胞) Phospho-histone H2AX (γ-H2AX) を免疫蛍光染色で検出し, ウェスタンブロットで定量化し	CD59 遺伝子座突然変異試験: 10 µg/ml (fresh and aged TiO2 NPs) 72時間 γ-H2AX検出のための免疫蛍光染色: 10 µg/ml (fresh and aged TiO2 NPs) ミトコンドリア機能障害: 50 µg/ml (fresh and aged TiO2 NPs) 細胞内ROSレベル (DCFDA分析): 10 µg/ml (fresh and aged TiO2 NPs) 72時間	1)TiO2NPs, アナターゼ型, 5 nm 2)TiO2NPs, アナターゼ型, 15 nm, 3) TiO2NPs, アナターゼ型とルチル型の混合物, <100 nm,	NSC:1 ばく露した濃度より分散濃度が低かったが, NPと凝集体の細胞内への取込みはTEMで確認された。	CD59遺伝子座変異試験: 陰性 CD59遺伝子の変異がわずかながら有意に増加 (最大1.41 x対照群) (p 0)AL細胞 (ミトコンドリアDNAが95%枯死) ではγH2AXの増加が少なく, DNA損傷したミトコンドリアによる可能性が示唆された TiO2 NPは細胞内ROSレベルを増加させた (DCFDA分析)	Reliability: 3 遺伝毒性及び変異原性の検出法は, 規制目的として検証された方法ではない。 1用量試験, 陰性対照なし 同じ著者らは, 2年前にこの濃度 (10 µg/mL)でCD59効果を観察していない (Wang et al., 2017) ため, 結果の再現性は疑わしい。	Low			Wang et al., 2019
5	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	L5178Y マウスリンフォーマ細胞を用いた遺伝子突然変異試験	2, 0.5, 0.125, 0.0312 mg/mL ばく露: 4 時間 (+/- S9), 24 時間 (- S9)	TiO2NPs, 40 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 3 分散に関する情報がない。 試験デザインが難溶性物質には適切でない。	Inconclusive 変異の増加はみられなかった。 細胞毒性を誘発したが, 細胞内への取込みは確認されなかった。	Reliability: 3	Low			Du et al., 2019
6	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	は乳腺培養細胞の遺伝子突然変異試験 (Hprt) OECD TG 476 チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞 (V79-4)	3, 15, 75 µg/cm2 24時間 陰性対照: MMS	TiO2NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC:1 プロトコル1は良好な分散性, プロトコル2は凝集性が高く, 48時間後の粒度分布と分散安定性が異なる。	陰性 分散プロトコルに関わらず変異原性なし	Reliability: 1	High			Kazimirova et al., 2020
7	<i>in vitro</i>	Gene mutation (Bacterial assays)	Umu試験 <i>Salmonella typhimurium</i>	8.35-667 µg/mL ばく露: 1h	1)TiO2NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm 2)TiO2NPs, アナターゼ型, 15 nm	NSC:1 異なるNPsサイズと代表的な濃度における分散と安定性を, ばく露条件下で測定した。	紫外線存在下でTiO2-NPsはROSを誘導したが, 紫外線そのものがS. typhimuriumに細胞毒性及び遺伝毒性障害を引き起こした。可視光 (100 µg/mLまで) 及び暗黒条件下 (667 µg/mLまで) では, 遺伝毒性はみられなかった。	Reliability: 5 細菌を用いる試験はナノマテリアルには適さない。試験法は規制目的で推奨される方法ではない。	Low			Cupi and Baun, 2016
8	<i>in vitro</i>	Gene mutation (Bacterial assays)	復帰突然変異試験(Ames試験) <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100 <i>E. coli</i> (細胞毒性試験のみ)	0, 100, 200, 300, 400, 500; 陰性対照: 2-nitrofluorene, sodium azide	TiO2NPs, 28 nm (結晶型不明)	NSC: 3 ばく露条件下での分散レベル不明。	両菌株でAmes 試験 陰性。 著者らは, この結果を TiO2 NPの抗菌作用によるものとしている	Reliability: 5 細菌を用いる試験はナノマテリアルには適さない。	Low			Ranjan and Ramalingam, 2016
9	<i>in vitro</i>	Gene mutation (Bacterial assays)	復帰突然変異試験 (Ames試験) <i>Salmonella typhimurium</i> TA97a, TA98, TA100, TA102, TA1535	78, 156, 312, 625, 1250 µg/plate +/- S9; 高濃度において沈殿物が生じた	TiO2NPs, 40 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 3 分散に関する情報なし。試験法が難溶性物質には不適切。高用量の濃度が非常に高い。	陰性	Reliability: 5 細菌を用いる試験はナノマテリアルには適さない。	Low			Du et al., 2019
10	<i>in vitro</i>	Genomic instability	ヒト羊水細胞におけるゲノム不安定性の誘導 (RAPD PCR)	-10 µg/L TiO2NPs -10 µg/L TiO2NPs+ 100 mg/L リンコマイシン ばく露時間: 48及び72時間	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 超音波処理とUVスペクトルを用いて凝集度を測定したが, 吸光度を得るためにどの程度の凝集度が必要かを結論づけるには情報が不十分であった。	RAPD-PCR test: TiO2 NPsへのばく露により有意な影響がみられた。 細胞毒性: 細胞生存率の低下 (青色トリンパン) 及びアポトーシスの誘導 (拡散アッセイ)。	Reliability: 5 規格外の方法で影響を評価 影響がゲノムの不安定性に関連しているかどうかは不明	Low			Mottola et al., 2019
11	<i>in vitro</i>	Genomic instability	ヒト精子細胞におけるゲノム不安定性 (RAPD PCR) の誘導	1 µg/L 及び10 µg/L ばく露時間: 15, 30, 45, 90 分間	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散安定性の確認と, EMによる粒子へのばく露の確認のための具体的なプロトコル。 30分までに安定性が確認され, それ以上のばく露時間では若干の凝集が観察された。EMにより細胞内にNPと小さな凝集体が存在することが確認された	RAPD-PCR test: TiO2 NPsへのばく露により有意な影響がみられた。 ROSの誘導はDCFアッセイによって検出された。	Reliability: 5 規格外の方法で影響を評価 影響がゲノムの不安定性に関連しているかどうかは不明	Low			Santonastaso et al., 2019

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		文献
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	
12	<i>in vitro</i>	Genomic instability	テロメア長(TL) ヒト肝細胞 L-02 (cat# GNHu 6), 肝細胞癌細胞 QGY (cat# TCHu 43)	0, 40, 80 µg/mL ばく露時間: 24, 72時間	TiO2NPs, 21 nm (結晶型不明)	NSC: 3 分散度や安定性に関する情報が無い。	L-02細胞ではTLが減少しているが、QGY細胞では減少していない。 L-02細胞でNrf-2及びshelterin componentの発現が低下した。 QGY細胞では、Nrf-2及びshelterin componentの発現が増加した。	Reliability: 5 各サンプルは3回分析されたが、分析されたサンプル数は不明 したがって、テロメア長への影響について報告された統計的有意性の意義は不明である。	Low (この研究は遺伝毒性を厳密に扱っていないため)。 テロメア長への影響は老化現象の指標とされ、寛性疾患などと関連すると考えられていたため、このような影響はTiO2の総合評価と関連性があると考えられる。しかし、本研究で限			Wang et al., 2018
13	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	遺伝子突然変異試験 (ggt デルタ トランスジェニックマウス幼体胚嚢嚢芽細胞 (MEF)) 酸化ストレス	0.11, 10, 30 µg/mL ばく露: 3日間 (-S9) 陽性対照なし	1) TiO2NPs, アナターゼ型, 5 nm 2) TiO2NPs, アナターゼ型, 40 nm 3) TiO2, アナターゼ型, 325 mesh	NSC: 2 超音波処理とフローサイトメトリーにより、粒子へのばく露の間接評価を行っている。	1), 2) 陽性: 5 nmおよび40 nm では、0.1 µg/mL 以上で変異頻度が大幅に増加した。著者らによる報告の通り、TiO2 NP (40 nm) の濃度との相関がみられたが、統計分析や目視検査による裏付けはない。この影響は、エンドサイトーシス阻害剤であるナイスタチンの併用により無効化された。 MTT アッセイで分析した場合、TiO2 NP (40 nm) で MEF 細胞を処理すると、細胞生存率が濃度依存的に低下した。 3) 陰性: TiO2 -325 mesh 酸化ストレス: TiO2 NP (5 nm) または TiO2 NP (40 nm) (TiO2 -325 meshではない) で MEF 細胞を処理すると、peroxynitrite (過酸化亜硝酸塩) アニオン ONOO- が濃度依存的に生じた。 粒子エンドサイトーシス: 24 時間のインキュベーション後、TiO2NP および TiO2 粒子にばく露された MEF 細胞の細胞粒数は、濃度依存的に増加した。	Reliability: 2 陽性対照なし。統計分析の結果が詳細に報告されておらず、試験方法は規制目的で検証されていない。	Limited			Xu et al., 2009
14	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	哺乳類細胞遺伝子変異アッセイ HPRT locus CHO-K1細胞	10, 20, 40 µg/mL ばく露: 60日間 (-S9)	TiO2NPs, アナターゼ型, < 25 nm (XRD)	NSC: 1 分散に関する情報はありなが、EM および Ti 測定によりばく露が確認された。	陰性: 遺伝子変異の有意な増加はみられず、コロニー形成能への影響はない。細胞毒性なし (XTT アッセイ)。 細胞のばく露が示された。	Reliability: 2 陽性対照なし。細胞毒性は観察されなかった。	Limited			Wang et al., 2011
15	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	哺乳類細胞遺伝子変異アッセイ チャイニーズハムスター肺線芽細胞(V79細胞)のHPRT遺伝子	0, 5, 20 and 100 µg/mL ばく露: 2時間 (-S9) 陽性対照: EMS (OECD TG 476)	TiO2NPs, アナターゼ型, 75 nm	NSC: 2 細胞培養でのDLS測定により、凝集を確認。	陰性: HPRT 遺伝子の変異頻度が統計的に有意かつ濃度依存的に増加した。	Reliability: 1	High			Chen et al., 2014
16	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	マウスリンパ腫遺伝子変異アッセイ L5178Y TK+/- 細胞	NM-102: 1) 0, 32, 64, 128, 256 µg/ml 2) 0, 312.5, 625, 1,250, 2,500 µg/ml NM-105: 1) 0, 32, 64, 128, 256 µg/ml	1) TiO2NPs (NM102), アナターゼ型, 21-22 nm 2) TiO2NPs (NM-105), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 Nanogenotox Project分散プロトコルを適用	陰性: 試験したすべてのTiO2 NPsが陰性を示した。	Reliability: 1 データ報告にわずかな不備があるのみ。	High			NANOGENOTOX Project, 2013 (Documentation provided to EFSA No. 7 and 8)
17	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	OECD TG 471 HPRT遺伝子座を用いた哺乳類細胞の前遺伝子突然変異試験 (チャイニーズハムスター卵巣)	濃度: 0.156, 0.313, 0.625, 1.25, 2.50, 7.5, 15, 30 µg/ml (+S9), 0.0781, 0.313, 0.625, 1.25, 2.50, 7.5, 15, 30 µg/ml (-S9)	E171-E (アナターゼ型, D50: 99.9 ± 2.0 nm; 50-51% < 100 nm) 試験品は、ボルテックスを用いて攪拌し、無血清培養に懸濁させた。	-	-	-	-	30 µg/ml までの濃度での前方変異は陰性 (+/- S9)。しかし、その後の TEM 画像解析では、CHO 細胞への被験物質の細胞取り込みの証拠はなく、遺伝毒性効果の欠如が観察されたことは、試験物質の DNA へのばく露性 (+/- S9) であり、粒子の取り込みは評価されておらず、細胞毒性に関する情報は無い。 TiO2 は 4 時間の処理期間後に細胞と共ベレット化されたため、実際のばく露は 2 日間の発現期間を通じて継続した。		BioReliance, 2021b
18	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	チミジンキナーゼ遺伝子座を用いた哺乳類細胞の遺伝子突然変異試験 L5178Yマウスリンパ腫細胞	Aroclor 1254誘発ラット肝S9の存在下および非存在下 (Fischer 344雄ラット) 濃度: 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/ml ばく露: 2日間 (+/- S9) 陰性対照: 培地 陽性対照: 5 nl/ml MMS or 250 nl/ml EMS	TiO2 (Unitane® 0-220) 試験品は、発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTPリポジトリ (Radian Corporation) から入手したため、NCI two-yearのTiO2がんバイオアッセイで使した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型)	-	-	-	-	陰性 しかし、粒子の取り込みは評価されておらず、細胞毒性に関する情報は報告されていない。		Myhr and Capary, 1991
19	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	哺乳類細胞の遺伝子突然変異試験 L5178Y マウスリンパ腫細胞	濃度: ~1.6 µg/plate ばく露期間は不明 (-S9) 陽性対照および陰性対照の情報なし	TiO2 (Unitane® 0-220) 試験品は、発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTPリポジトリ (Radian Corporation) から入手したため、NCI two-yearのTiO2がんバイオアッセイで使した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型, SEM 113-135nm, TEM 109-124nm)	-	-	-	-	陰性 しかし、粒子の取り込みは評価されておらず、細胞毒性に関する情報は報告されていない。		Tennant et al., 1987
20	<i>in vitro</i>	Gene mutation (in mammalian cells)	哺乳類細胞の遺伝子突然変異試験 健康な非喫煙女性から採取したヒト末梢血リンパ球 (HPBL) OECDガイドライン487	濃度: 0.3, 1, 10, 30 µg/ml ばく露: 4時間 (+/- S9), 24時間 (-S9) 溶媒: 水 陽性対照: マイトマイシンCおよびビンブラスチン (-S9), シクロホスファミド (+S9)	E171-E (アナターゼ型, D50: 99.9 ± 2.0 nm; 50-51% < 100 nm) 試験品は、水中において、約5 - 50 mg/mlの濃度で作業性の良い懸濁液を形成することが報告されている。	-	-	-	-	陰性: 小核の誘発 (30 µg/ml までの濃度で4時間 (+/- S9) および24時間 (-S9)) しかし、試験物質の細胞への取り込みは確認されていないため、陰性結果はばく露不足に関連している可能性がある。どのばく露条件においても、どの処理濃度でも細胞毒性を示す証拠はない。		BioReliance, 2021c
21	<i>in vitro</i>	Mutagenicity assays	OECD TG 471 細菌を用いる復帰突然変異試験 Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, Escherichia coli WP2 <i>uvrA</i> のトリプトップ遺伝子座	Aroclor 1254誘発ラット肝S9の存在下および非存在下 濃度: 33.3, 100, 333, 1000, 3333, 5000 µg/plate ばく露: 48~72時間 陽性対照: 2-アミノアントラセン (全株、+S9)、2-ニトロロファレン (TA98, -S9)、アジ化ナトリウム (TA100 & TA1535, -S9)、9-アミノアクリジン	E171-E (アナターゼ型, D50: 99.9 ± 2.0 nm; 50-51% < 100 nm) 試験品は、ボルテックス混合により水に懸濁させた (すなわち、試験品は「投与製剤調製中...及び均一な混合物	-	-	-	-	5,000 µg/plateまでの濃度でフレームシフトまたは塩基置換型変異に対して陰性(+S9)。 しかし、細菌を用いる復帰突然変異試験は、ナノ材料 (または一般に不溶性粒子) がこの試験で使される細菌細胞に容易に取り込まれない可能性があるため、ナノ材料の評価に適していると言えない (Doak, et al.		BioReliance, 2021a

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
22	<i>in vitro</i>	Mutagenicity assays	細菌を用いる復帰突然変異試験 <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	Aroclor 1254誘発ラット等肝S9の存在下および非存在下 (Fischer 344 ラット、B6C3F1 マウス、シリアンハムスターの雄) 濃度: ~10 mg/plate ばく露期間は不明 陽性対照および陰性対照を使用	TiO2 (Unitane® 0-220) 試験品は、発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTPリポジトリ (Radian Corporation) から入手したため、NCI two-yearのTiO2がんバイオアッセイで使用した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型, SEM 113-135nm, TEM 109-124nm,	-	-	-	-	陰性 (+/- S9) しかし、細菌復帰突然変異試験は、使用される細菌細胞により容易に取り込まれない可能性があるため、ナノ材料 (または一般に不溶性粒子) の評価に適していると言い難い (Doak et al. 2012; OECD 2014; Kumari et al. 2010). TiO2-NP は、抗菌/静菌特性を示すことが知られており (Khashan et al. 2021; Lopez de Dicastillo et al., 2020 を参照)、これらの物質を評価す		Dunkel et al., 1985
23	<i>in vitro</i>	Mutagenicity assays	細菌を用いる復帰突然変異試験 <i>S. typhimurium</i> /microsome	濃度: ~10 mg/plate ばく露期間は不明 (+/- S9) 陽性対照および陰性対照の情報なし	TiO2 (Unitane® 0-220) 試験品は、発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTPリポジトリ (Radian Corporation) から入手したため、NCI two-yearのTiO2がんバイオアッセイで使用した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型, SEM 113-135nm, TEM 109-124nm, 100nm未満の粒子の割合は最大44%) と同等とみられる。 Unitane® 0-220は、元素組成、粒子径	-	-	-	-	陰性 (+/- S9) しかし、細菌逆突然変異試験は、ナノ材料 (または一般に不溶性粒子) がこの試験で使用する細菌細胞に容易に取り込まれない可能性があるため、ナノ材料の評価には適していると言い難い (Doak, et al. 2012; OECD 2014; Kumari et al. 2010) 。TiO2-NPはまた、抗菌/静菌特性を有することが知られており (Khashan et al. 2021; Lopez de Dicastillo et al. 2020参照)、これらの物質の評価に対する細菌復帰突然変異試験の適合性をさらに制限している。粒子の取り込みは評価されておらず、細胞毒性に関する情報は		Tennant et al., 1987
24	<i>in vivo</i>	Gene mutation	gpt4及びSpi遺伝子突然変異試験 (肝臓) 雄マウス (C57BL/6J gpt delta) 6 匹/群	0, 2, 10, 50 mg/kg 静脈内投与 ばく露: 週に1回, 4週間連続投与。マウスは、TiO2NPの最終投与後90日目に安楽死させた。 投与経路は、食餌摂取には関連しないが、ADME/(geno)tox には関連する。	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散性、安定性、細胞の内在性を測定した。	陰性 gpt4及びSpi遺伝子突然変異試験。Gpt4及びSpiの変異頻度は、全用量においても、溶媒対照群と比較して有意差はなかった。これらの結果から、TiO2NPsは最終投与から90日後のマウスの肝細胞に対して変異誘発しないことが示唆された。	Reliability: 2 陽性対照も過去の陽性対照のDNAも用いらなかった (ただし、同じ著者による以前の研究 (Suzuki et al., 2016) では、陽性対照は期待通りの結果を示した)	Limited	陰性 (肝細胞) すでに同じ著者らが陽性対照を含む変異試験を報告している (Suzuki et al. 2016) : N-ethyl-Nitrosourea(70 mg/kg)またはdiethylnitrosamine(160 mg/kg)を腹腔内注射。ただし、陽性対照のデータの報告はない。カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Suzuki et al., 2020
25	<i>in vivo</i>	Gene mutation	Pig-a遺伝子突然変異試験 (赤血球) gp4及びSpi遺伝子突然変異試験 (肝臓) 雄マウス (gpt Delta transgenic C57BL/6J) 5 匹/群	2, 10, 50 mg/kg bw, 静脈内投与。 ばく露: 週に1回, 4週間連続投与 陽性対照: ENU 又は DEN	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC:1 各用量で分散度を測定し、Ti検出によるEMで細胞内在性を確認した。	陰性 赤血球におけるPig-a変異体頻度、肝臓におけるgpt4及びSpi変異体頻度に有意な増加はみられなかった。 TiO2NPは肝臓に蓄積し、主にKupffer細胞に局在した。	Reliability: 1	Limited 投与経路は経口投与には関連していない	陰性 (肝細胞) Pig-a 遺伝子変異 (末梢血赤血球) 陰性。gpt4およびSpi- 遺伝子変異 (肝細胞) 陰性。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Suzuki et al., 2016
26	<i>in vivo</i>	Gene mutation	Pig-a遺伝子突然変異試験 雄ラット (Sprague- Dawley)	ばく露: 気管内投与3回 8 日以上: 0.5, 2.5, 10 mg/kg bw (a total particle surface area lung deposition of 87, 437, 1700 cm2/lung); ラット6匹にMNU (N-methyl-N- nitrosourea) を殺処分の35日前に1回腹腔内に注射し突然変異試験の陽性対照とした。 60 mg/kgの用量で投与した	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 各用量において凝集のレベルが報告され、組織中の測定によりばく露が確認された。	陰性 赤血球及び網状赤血球の変異の頻度増加はみられなかった (血中コメット試験の陽性結果に基づき標的組織へのばく露が実証された)。	Reliability: 2 各投与群につき雄ラット3匹のみ過去の対照データなし	Limited 限られた研究内容 非経口経路でのばく露			Relier et al., 2017
27	<i>in vivo</i>	Other in vivo assays Genomic instability	Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)-PCR マウス 10匹/群	腹腔内投与 100, 200, 400 mg/kg 陽性対照: シクロホスファミド 腹腔内半回投与 週1回投与 1ヵ月間	TiO2, アナターゼ型 その他の情報なし	NSC: 3 分散性、安定性に関する情報がない。	ISSR分析: 雄マウスを対象に6種類のアンカープライマーを用いて実施。400 mg/kg bwで処理したマウスでのみ有意差がみられた。	Reliability: 3 ゲノム不安定性への影響は、非標準的な方法で評価された	Low 限られた研究内容 投与経路が食事からの摂取に関連しない			El-Bassyouni et al., 2017
28	<i>in vivo</i>	Gene mutation	Pig-a遺伝子突然変異試験 (末梢血網状赤血球および全赤血球) 雄マウス (B6C3F1)	腹腔内投与 0.5, 5.0, 50 mg/kg bw/day 3日間 陽性対照: 140 mg/kg ENU 細胞解析 6週間	TiO2NP, アナターゼ型, 楕円形, 短軸 12.1 ± 3.2 nm (TEM)	NSC: 1 超音波処理を行って各濃度における凝集を観察し、Ti 測定によりばく露を確認した。	陰性	Reliability: 2 報告は投与経路 (腹腔内または静脈内) について一貫していないが、著者らへの確認により、腹腔内投与であることを確認した。	Limited 投与経路が食事からの摂取に関連しない。	陰性 (末梢血網状赤血球) 投与が静脈内または腹腔内投与で行われたか不明であったが、EFSA EFSA FAF Panel (2021)は、腹腔内投与であることを著者に確認した。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Sadiq et al., 2012
29	<i>in vivo</i>	Gene mutation	LacZ遺伝子突然変異試験 (肝臓・脾臓) マウス C57BL/6 transgenic (LacZ)	静脈内投与 0, 10, 15 mg/kg bw 2日間 最終投与の 28 日後に屠殺 陽性対照: ENU 120 mg/kg bw 腹腔内投与	TiO2NPs (NM-102), アナターゼ型, 21-22 nm	NSC:1 Nanogenotox プロトコルと EM によるばく露の確認 (ただし、すべてのデータが報告されているわけではなく、EM には Ti の検出は含まれない)。	陰性	Reliability: 1	Limited 投与経路が食事からの摂取に関連しない。	陰性 (肝臓と脾臓の細胞) カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Louro et al., 2014
30	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒトクロモソーム腫瘍細胞株 (HCT116)	5, 10, 50, 100 µg/cm2 (50, 100, 500, 1000 µg/mL) In triplicate ばく露: 24時間, wash out, CytoB 24 時間添加	E171, アナターゼ型, 39% ナノ粒子	NSC: 2 分散性、安定性を測定し、ある程度の凝集を確認した。凝集は特に高濃度において顕著であったが、BSA又はFBSの使用により軽減された。粒子に対する細胞質量の情報があるが、検証は困難。	陽性 濃度依存性 (5-50 µg/cm2), 100 µg/cm2 は凝集体が存在するため評価不能。 細胞生存率の低下なし (トリパンプルーアッセイ)。 E171は、有糸分裂時にキネトコア極のセントロメア領域と相互作用する。	Reliability: 2 陽性対照群がない 独立した複製なし	Limited	5, 10, 50 µg/cm2 で二核細胞 1000 個当たりの微小核発生率が濃度依存的に増加した。最高濃度 (100 µg/cm2) にばく露した細胞は、微小核の固定を妨害する凝集粒子の存在により、評価できなかった。 試験条件下では細胞毒性の証拠は報告されていない。著者は、「E171 (と推測される) は、有糸分裂中にキネトコア極のセントロメア領域と相互作用した」と報		Proquin et al., 2017

No.	in vivo/ in vitro	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価			文献
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考		
31	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒトPBMCS	0, 10, 50, 100, 200 µg/ml 1.Delayed co-treatment: lymphocytes stimulationの24時間後に処理, 20時間後に CytoB添加, 72時間後採取 2. co - treatment の方法: lymphocytes stimulation45時 間後に処理, 30分後にCytoB添加, 72時間後採取	TiO2 NPs, アナターゼ型, 球状, 20-60 nm (TEM) TiO2 NPs, ルチル型: rod-like, 30x 100 nm (TEM) TiO2, アナターゼ型/ルチル型, 45-262 nm (TEM), 3種の形態・球状, 不規則, 棒状 TiO2, アナターゼ型, 50-270 nm (TEM).	NSC: 1 5種のマテリアル。 凝集体中で十分なエネルギーと安定性を持つ分 散を測定し, 構成粒子と凝集体の両方の存在を 確認。	陰性 共培養法を用いた50 µg/mlのTiO2ルチル型処理後, 単一ドナーにおいてのみ, 小 核を持つ二核リンパ球の有意な増加がみられた (MNBN= 12.0 ± 4.24, 対 コ ントロール 6.0 ± 1.41) (生物学的関連性はない)。 どの処理条件においてもCBPIは減少しなかった。	Reliability: 1	High			Andreoli et al., 2018	
32	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 Human colon carcinoma Caco-2 cells コメット試験 (Table 3)*	1, 2, 5, 10, 20 µg/cm2 NPs (corresponding to 6.4-128.0 µg/ml) 独立した3試験 ばく露: 6 時間, 24時間 処理24時間後にCytoBを添加	TiO2 NPs, アナターゼ型, 20-60 nm (TEM)	NSC: 2 分散性, 安定性を測定し凝集を確認。	陰性 RI の有意な減少はみられなかった。 TiO2 NP処理後, 最高濃度 (20 µg/cm2) で細胞表面上に粒子が存在すると, 小核 の確実な同定ができず分析可能な2核細胞の数が減少した。この条件において は, 24時間処理した培養物のスライドにのみ, 一定数の二核細胞が記載された。	Reliability: 1	High			Zijno et al., 2015	
33	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 末梢血リンパ球	whole blood: 0, 45, 90, 180 µg/mL, 72時間 (three replicates)	TiO2 NPs, アナターゼ型, 40-110 nm (TEM)	NSC: 3 分散性, 安定性に関する情報なし。	解釈不能 末梢血リンパ球: 濃度依存的な染色体異常の増加 (p≤0.05) 分裂指数 (MI) 及び胚発生指数 (BI) の低下	Reliability: 3 方法と結果の記載が不十分で評価できない 染色体異常の種類に関する情報なし	none			Haleem et al., 2019	
34	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 TK-6細胞	小核試験 (顕微鏡): 0, 100, 200 µg/ml 小核試験 (フローサイトメトリー): 0, 10, 50, 100, 200, 400, 800 µg/ml ばく露: 28時間 (1.5 – 2 cell cycle lengths), CytoB添加な し	TiO2 NPs, アナターゼ型 8.9-15.3 nm,	NSC: 2 場合によってはばく露条件と若干異なる条件 で最高濃度の分散が測定された。凝集が確認 され, アッセイ期間中良好な安定性を示した。	小核試験 (顕微鏡): 陽性。高用量の2群において小核の有意な増加, 及びRPDの 濃度依存的な減少がみられた。 小核試験 (フローサイトメトリー): 細胞毒性及び小核誘導に関して, TiO2NPが サイトメトリー装置による蛍光検出に干渉するため, 結論できない結果であっ た。	Reliability: 1 (顕微鏡に基づいた結果)	High			Li et al., 2017a	
35	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 FISHによる小核試験 In Situ ハイブリダイゼーション (FISH) ヒト肺癌細胞株 (A549)	32, 64, 128 µg/ml, ばく露: 48 時間 FISH: 1用量: 64 µg/ml, 48時間 44時間後にCytoB添加, 72時間後に採取	TiO2 NPs (P25), アナターゼ型/ルチル 型, 15-24 nm.	NSC: 1 分散が報告され, EMにより細胞への取込みが 確認された。凝集レベル及びばく露した細胞 における凝集体の内在化も観察された。	陽性 TiO2NPs全用量で小核形成が誘導された。 NPBs, NBUDs, necrotic and apoptotic indexの有意な増加がみられた。 TiO2 NPs全用量でNPB (核小胞体核) の形成が誘導されたが, NBUDの有意な誘 導はみられなかった。 FISH: 試験したすべてのTiO2 NPは, 主に染色体異常を誘発することが示され た。 細胞毒性: TiO2 NPs全用量において, CBPIとreplication indexを統計的に有意で はあるが, 弱い減少を示した。	Reliability: 1	High			Stocco et al., 2017	
36	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 FISHによる小核試験 ヒト末梢血リンパ球 健康人20人; 大腸癌ポリポーシス 症患者 (PLP)19人; 大腸がん患者 20人 (CRC).	10, 40, 80 µg/ml ばく露: 培養開始後24時間 採取: 72時間後	TiO2 NPs, アナターゼ型, 34 nm (20- 64 nm) (SEM)	NSC: 2 分散測定し凝集を確認, 濃度及び時間を増やし た。	陽性 用量依存的な小核の増加。全てのばく露群の二核化リンパ球におけるMN, NPB, BUDの頻度及び単核化リンパ球におけるMNの頻度が濃度依存的に増加した。二 核化細胞の割合のわずかな低下。 CBPIは全ばく露群で有意に減少した。 FISHの結果, 試験した全ての TiO2 NPは主にクラスター形成障害を引き起こすこと が示された。シグナルを有する小核は全群で用量依存的に増加した。	Reliability: 1	High			Kurzawa-Zegota et al., 2017	
37	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 抹消血リンパ球 (PBL), リンパ芽 球ヒトTK-6細胞	3, 15, 75 µg/cm2, (5, 4, 27, 135 µg/ml (TK-6及びPBL)) 処理 TK6細胞: 4, 24 時間, CytoB (6 µg/ml) を続く24時間, 細 胞培養物に添加した。 血液リンパ球 (13人のドナー由来): G0で24時間処理後, phytohemagglutinin刺激, 72時間培養, 最後の28時間 cytoBを添加した。	TiO2 NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチ ル型, 15-24 nm	NSC: 1 (in vitro 小核試験) 分散のプロトコール(DP1)はNanoTESTプロ ジェクトで開発された。	In vitro 小核試験 (TK-6 細胞): 陰性。 MNBN細胞数増加はみられなかった。 CBPIの変化なし。 in vitro 小核試験 (PBL): 陰性。 TiO2 NPによる二核細胞及び単核細胞の小核数 の増加はみられず, CBPIにも影響を与えなかった。	Reliability: 1 (TK-6細胞の小核試験) Reliability: 3 (PBLの小核試験) ヒトリンパ球の処理 (G0およびG0) のプロ トコルは, OECD TG 487にも, ナノ材料の 評価に関するEFSA SC勧告 (EFSA	High (TK6細胞を用いた小核試験) Low (PBLを用いた小核試験)			Kazimirova et al., 2019	
38	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒト胚性腎細胞 (HEK293), マウ ス胚性線維芽細胞 (NIH/3T3)	10, 100, 1000 µg/mL, 48時間, duplicated cultures CytoBは細胞採取の24時間前に添加した。	1) TiO2 NPs, アナターゼ型, 21 nm (TEM) 2) TiO2 NPs, アナターゼ型, 50 nm (TEM). 3) 微粒子化したTiO2 (詳細不明)	NSC: 1 Nanogenotoxプロジェクトに準拠した分散プ ロトコルで媒体中の分散を測定し, 一部凝集が 確認された。分散剤にはBSAを使用。	陽性 2つの細胞株 (HEK293及びNIH/3T3) の最高用量において, CBPIの有意な減少 に関連するMNBN頻度の有意な増加がみられた。 微粒子化したTiO2では, MNBNの頻度の増加はみられなかった。	Reliability: 1	High			Demir et al., 2015	
39	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒト気道上皮細胞株 (BEAS-2B 細胞)	TiO2 NP原液 (0.1 mg/ml) を0.05% BSAで希釈し, 最終濃 度1, 5, 15 µg/ml (CBMN) 及び1, 5, 15, 30 µg/ml (フ ローサイトメトリー) を添加した。 処理: CBMNアッセイ: 48回処理, CytoBは20時間後に添加。 フローサイトメトリー: 48時間処理	TiO2 (NM-100), アナターゼ型, 50- 150 nm	NSC: 1 NanoRegプロジェクトに基づき, ばく露媒体で の分散・安定性を測定し, 凝集が確認された。 凝集体の細胞内への取込みを示す間接的な方 法により細胞への取込を確認した。	陰性 小核試験: CBMNアッセイ及びフローサイトメトリーによる小核試験陰性。 フローサイトメトリーにより低倍散性の増加は, みられなかった。 フローサイトメトリーによる粒子取込み解析において, TiO2 NPばく露細胞から の核の側方散乱 (side scatter) が有意に増加し, BEAS-2B細胞による用量依存的 な粒子取込みが示唆された。	Reliability: 1	High			Di Buccianico et al., 2017	
40	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs)	1, 5, 25 µg/mL 小核試験: 24時間処理後, CytoBを添加し24時間培養 細胞内ROSと抗酸化物質の産生量の測定: 24時間 GSHの測定: 24時間	1)TiO2 NPs, アナターゼ型, 100 ± 14.3 nm 2)TiO2 NPs, アナターゼ型, 50 ± 7.6 nm 3) TiO2 NPs, アナターゼ型, 30 ± 5.1 nm 4)TiO2 NPs, アナターゼ型, 10 ± 2.3	NSC: 2 全ての用量の細胞増殖で超音波処理を実 施。分散性, 安定性の実測値は報告されてい ない。	陽性 1 µg/ml TiO2 NPs 100 nm を除き, 全てのTiO2 NPs サイズで用量依存的かつ統 計的に有意な小核の増加がみられた。 TiO2-NPsサイズが小さいほど, 誘導される小核の割合は高かった (10 > 30 > 50 > 100 nm) 細胞内ROSの測定: 全てのTiO2 NPsサイズ, 全ての用量で統計的に有意な増加が みられた (小核頻度%) (濃度依存性, NPsサイズ依存性)	Reliability: 2 OECD TG 487で推奨されているような細胞 毒性の同時評価は実施されなかった。	Limited			Liao et al., 2019	

EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価							Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価					
No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
41	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒト抹消血リンパ球	呼吸器疾患患者36名 (肺がん患者16名, 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 11名, 喘息9名) 及び健康対照者15名からリンパ球を採取した。 CBMN: リンパ球の培養は, stimulationから24時間後, 5及び10 µg/mlのTiO2で処理した。44時間後にCytoBを加え, 72時間まで培養した。	TiO2 NPs, アナターゼ型, 40-70 nm (SEM)	NSC: 2 希釈後の超音波処理, マイクロフィルトレーションなどの分散を検討したが, 実測値の報告が不十分。	陰性 CBMNアッセイ: 金ばく露群においてTiO2 NPs処理による小核発生率が増加したが, 有意ではなかった。 核分裂指数 (NDI) 及び二核化細胞の割合は, TiO2 NPs処理による影響を受けなかった。	Reliability: 2 この研究では, 低濃度2用量のみの試験であり, 固的なプロトコルを使用している。 NPsの安定性に関するデータがない。 内化に関するデータがない。 この研究の目的はTiO2遺伝毒性評価ではなく, 異なる呼吸器疾患患者の末梢血リンパ球を用いた。	Limited			Osman et al., 2018
42	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 BEAS-2B 正常気管支肺細胞	1, 10, 20 µg/mL; ばく露: 48時間, 1, 3週間 ROS産生 (DCFH-DAアッセイ); ばく露: 24時間及び1週間	TiO2NPs (NM-102), アナターゼ型, 21-22 nm	NSC: 1 Nanogenotoxのプロトコルに従い分散を確認し, TEMで細胞内への取込みを確認した。個々の粒子と一定の凝集が観察された。細胞内のばく露は観察された。	陰性 急性ばく露及び慢性ばく露において小核を有する二核細胞の有意な頻度増加はみられなかった。 細胞内ROSの誘導はみられなかった。フローサイトメトリーで評価した細胞内ばく露は観察された。	Reliability: 1	High			Vales et al., 2015
43	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 Balb/c 3T3 (マウス胚性線維芽細胞)	各TiO2 NPsへ10 µg/ml, 72時間ばく露 TiO2の取込み: 0.5 mg/ml TiO2 NPs	1) TiO2NPs, アナターゼ型, 11-18 nm (TEM) 2) TiO2, アナターゼ型, 60-400 nm (TEM), different geometry (TEM) 3) TiO2NPs, ルチル型, 10-35 nm (TEM), 菱形 (TEM)	NSC: 1 分散はばく露条件下で測定, 4種のTiO2で72時間までの良好な安定性が確認された。	TiO2NPsアナターゼ型とルチル型は, 分散はばく露条件下で測定, 4種のTiO2で72時間までの良好な安定性が確認された。	Reliability: 2 一用量試験	Limited			Ubaldi et al., 2016
44	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒト肝細胞 L-02 (cat# GNHu 6), 肝細胞癌細胞 QGY (cat# TCHu 43)	0, 40, 80 µg/mL ばく露: 72時間 処理後にCytocalasinを添加 処理後26時間後に採取	TiO2NPs, 21 nm (結晶形不明)	NSC: 3 分散度や安定性に関する情報なし。	陽性 ヒト肝細胞L-02細胞では, MN, NPB, BUDが統計的に有意に増加した。 肝細胞癌細胞QGYでは増加はみられなかった。	Reliability: 2 陽性対照群なし 結果がグラフで記載されている。数値や繰り返し回数の情報がない。	Limited			Wang et al., 2018
45	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 L-929 マウス線維芽細胞	15, 30, 60 µg/mL 24時間培養	TiO2NPs, ルチル型, 90 nm (TEM)	NSC: 3 分散に関する情報なし。高い凝集傾向が報告されている。	陰性 MTT及びCBPIアッセイによる細胞毒性がない。	Reliability: 2 分散及び取込みに関する情報が不足している。	Limited			Pittol et al., 2018
46	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	染色体異常試験 ヒト末梢血リンパ球 (ヒト由来)	25, 75, 125 µM (2, 6, 10 µg/ml) TiO2 NPs ばく露: 24時間	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 21 nm	NSC: 2 分散はばく露条件下で測定 (培地はFBS使用)。凝集体の存在が確認され, 24時間まで良好な安定性を示した。	Inconclusive ギャップを含む構造異常の割合のみ用量依存的に有意に増加した。	Reliability: 3 信頼性不十分 データ解析と結果の記載に基づく	Low			Patel et al., 2017
47	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 Target cells: ヒトハムスター hybrid AL細胞 (CHO-K1)。	CBMN (cytokinesis-block micronucleus) 小核試験: 1又は10 µg/mL, 24時間ばく露 細胞内ROS種 (ROS): 1 µg/mL TiO2 NPs, 24時間	TiO2NPs, アナターゼ型, 15 nm	NSC: 1 分散を測定。NPと凝集体の細胞内への取込みをTEMで確認。	陰性 TiO2 NPs処理した細胞において, 未処理対照群と比べて小核の増加はみられなかった	Reliability: 5 TiO2 NPsとAs(III)の相互作用の調査を目的とした研究。TiO2 NPs単独で処理したものを対照群とした。低濃度のTiO2 NPs処理のみであり, 陽性対照群がない	Low			Wang et al., 2017
48	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 細胞株4種: 肺上皮細胞 A549, ヒトグリオプラストーマ A172, ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y, ヒト肝細胞癌	10, 50, 100, 200 µg/mL 3-24 時間処理に続き新鮮な培地で24 時間培養 小核形成はフローサイトメトリーにより評価 陽性対照: MMC	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 細胞への取込みはフローサイトメトリーで確認した。	陰性 TiO2 NPsは全ての細胞株で濃度及び時間依存的な傾向とともに取り込まれた。	Reliability: 1	High			Brandao et al., 2020
49	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 ヒト気管支上皮 BEAS-2B細胞	10, 100 µg/ml, 48時間; シトカラシンBは処理6時間後に添加 陽性対照: MMC 2つの独立した試験において, 各用量濃度につき2000個の二核細胞の小核をスコア。	TiO2 (NM-100), アナターゼ型, 50-150 nm	NSC: 1 NANOGENOTOXプロジェクトの分散プロトコル。 細胞内への取込みを確認。	陰性 NM-100は, いずれの用量においても小核の有意な増加を誘発しなかった。 Proliferation Indexによる生存率及び細胞複製率は, 全ての用量において処理後に低下しなかった。	Reliability: 1	High			Zijno et al., 2020
50	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 大腸がん細胞株HT29-MTX-E12	0.5, 5, 50 µg/ml フローサイトメトリーにより小核をスコアリング	1) E171, アナターゼ型, 170 nm 2) TiO2NPs, アナターゼ型, < 25 nm	NSC: 2 プロトコルは意図的に大きな凝集を受け入れている。 培地における凝集の情報がない。	陰性 E171とTiO2 NPsの両方で小核誘導はみられなかった。 E171はフローサイトメトリーのMN検出に大きく影響し, 小核発生率を90%以上減少させた。 著者によると, 小核の定量化を妨げない低い干渉がTiO2 NPsでみられた。 著者らが異種性のマーカーとして提唱している低二倍体細胞の増加は, E171とTiO2 NPs処理群で観察されなかった。	Reliability: 3 フローサイトメトリーによる測定は, TiO2 E171はフローサイトメトリーのMN検出を妨害していた。 (ナノ) 粒子に対して十分な信頼性ないと考えられる。	Low	小核および低倍体数は陰性だったが, 本研究で用いたフローサイトメトリーによるスコアリング法では, 凝集体の存在が小核の検出を妨害していた。 ばく露媒体中の粒子の凝集状態は確認されておらず, 粒子の細胞への取り込みは評価されていない。 24時間後および48時間後に細胞毒性を示す証拠はない。	Franz et al., 2020	
51	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (CBMN) (ヒト表皮細胞株(A431)) MTTおよびニュートラルレッドの取り込みアッセイ (細胞毒性) フローサイトメトリーおよびTEM (細胞への取り込み)	0.008, 0.08, 0.8, 8, 80 µg/mL, 6時間 (-S9) 処理後CytoBを添加し, さらに18時間培養 陽性対照: エチルメチルサルホン酸エチル (6 mM)	TiO2NPs, アナターゼ型, 50 nm (TEM)	NSC: 1 メディアで測定されたサイズ分布から, 凝集の度合いを確認 EMおよびフローサイトメトリーによりばく露を確認	陽性 0.8 µg/ml 以上の濃度では, 6 時間の曝露で統計的に有意な MN 形成の誘導が観察されたが, CBPI には影響を与えなかった。 細胞毒性は, MTTおよびニュートラルレッドの取り込みアッセイによって試験された。 48時間曝露後, 細胞毒性はほとんど認められなかった。 フローサイトメトリーおよびTEMによる細胞取り込み測定: 有意な細胞取り込みや凝集は観察されなかった。	Reliability: 1	High			Shukla et al., 2011
52	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	染色体異常試験 (チャイニーズハムスター肺細胞株(CHL/IU細胞))	25- 800 µg/mL, w/o UV; 0.78- 28.5 µg/mL with UV (-S9) TiO2粒子とともに暗所で1時間培養後, 1.25 J/cm ² , 2.50 J/cm ² , 5 J/cm ² で50分間UV/vis光を照射 20時間培養後, 2時間デモルシン (0.1 µg/ml) を添加して測定	TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 1524 nm [パネルは, 著者が試験物質がアナターゼと記述していることに注目している]	NSC: 3 分散に関する情報がない。	UV/vis存在下: 陰性 (最小有効濃度12.5 µg/mL) 構造異常 (染色体切断, 交換) が統計的に有意に増加。 さらに, 6.25 µg/mlを超える濃度では倍体形成が増加することが報告されている。 TiO2 NP (P25) は, UV/vis存在下では, 非存在下に比べて50倍以上の細胞毒性を示した	Reliability: 2 取り込みは直接実証されていないが, 細胞毒性は報告されている。	Limited			Nakagawa et al., 1997

No.	in vivo/ in vitro	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価			Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考
53	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (CBMN法) (ヒト気管支上皮BEAS2B細胞) コメット試験	1.5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/cm ² ばく露: 24, 48, 72 時間(- S9) 粒子と同時にCytoBを細胞培養に添加 陽性対照: マイトマイシンC	1)TiO ₂ , rutileルチル型、<5000 nm 2) TiO ₂ NP _s , アナターゼ型、 < 25 nm	NSC: 2 高レベルの凝集が観察され、TEMによりナノ粒子の存在が測定されたが、データは報告されていない。 TiO ₂ : 陰性 MNの減少が観察された。CBPIに対する影響なし。	アナターゼ型TiO ₂ NP _s : Equivocal 10 µg/cm ² 及び60µg/cm ² で陽性、72時間ばく露後、小核細胞の統計的に有意な増加を誘発 (濃度依存性なし)、CBPIに影響なし。 TiO ₂ : 陰性 MNの減少が観察された。CBPIに対する影響なし。	Reliability: 1 CytoBは粒子と同時に細胞培養に添加された。	Limited 明確な陽性結果の基準をすべて満たしているわけではない。		Falck et al., 2009
54	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (CBMN法) (ヒト気管支上皮BEAS2B細胞)	10 -100 µg/ml (- S9) 24時間後にCytoBで18時間処理 陽性対照: メタンスルホン酸メチル 3種類の処理増地: (a) 低濃度のタンパク質 (0.1% BSA) を含むKB (b) 低濃度のタンパク質 (0.6% BSA) と0.001%の界面活性剤を含むDM, (c) KF、10%FBSを含む	TiO ₂ NP _s (P25), アナターゼ/ルチル型、 1524 nm	NSC: 1 3つの分散プロトコルと各濃度の分散レベルが報告されている。フローサイトメトリーと暗視野顕微鏡で評価した高い凝集度と細胞インターナリゼーションが確認された。	KF増地でTiO ₂ NP _s を処理した細胞 (KBおよびDM増地と比較して凝集度が低い): 陽性 統計的に有意なMN誘導 (濃度依存性) KBまたはDM増地中のTiO ₂ NP : 陰性 いずれの濃度で処理したBEAS-2B細胞においてMN形成の増加は観察されなかった。CBPIでは、細胞増殖に対する処理増地の差はみられなかったが、濃度の影響が確認された。 細胞に送達されたTiO ₂ NP _s の濃度とフローサイトメーターで検出された側方散乱の直接的な関係が示された。0時間および24時間のDLS (動的光散乱) データに基づく処理増地の凝集サイズの順位は、KB > DM > KFであった。SEM (走査型電子顕微鏡) からも結果が確認された。	Reliability: 1 ☒	High		Prasad et al., 2013
55	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (CBMN法) (ヒト肺がん細胞株 A549) TiO ₂ NP _s のインターナリゼーション 細胞毒性 (MTT, LDH) 酸化ストレスマーカー (ROS, GSH, LPO, カタラーゼ) アポトーシスマーカー (RT-PCR, western immunoblotting) ☒	1-50 µg/mlで24時間処理した後、CytoBを添加して20時間培養(- S9) 陽性対照: EMS ばく露: 1-100 µg/ml, 6, 24, 48時間 酸化ストレスマーカー: 1-50 µg/ml, 6, 12, 24時間 アポトーシスマーカー: 1-50 µg/ml, 24,48時間	TiO ₂ NP _s , アナターゼ型, 25 nm	NSC: 1 DLSサイズにより高い凝集性を確認。EMにより細胞インターナリゼーションを確認。	陽性 10-50 µg/ml, 24時間で、統計的に有意かつ濃度依存的に増加した。1000 個以上の二核細胞をスコア化した。 TiO ₂ NP _s の濃度依存的なインターナリゼーションが確認された。30分間の培養で粒子は細胞表面に付着し、さらに長時間の培養では皮質細胞質の小空胞に、48時間ばく露ではミトコンドリアとゴルジ装置付近の細胞深部空胞にインターナリゼーションが認められた。 細胞毒性: 統計的に有意であり、濃度依存的であった。 酸化ストレスマーカー: 統計的に有意で濃度依存的な ROSおよびLPOの増加、GSHおよびカタラーゼの減少がみられた。 アポトーシス: 48時間後に顕著な統計的に有意なアポトーシス細胞の増加がみられた。P53, p21, caspase3 の発現が増加し、bcl2の発現が減少した。baxは変化なし。	Reliability: 2 細胞毒性 (CBPI) は測定されていない。 酸化的マーカー: 遺伝毒性に関するエンドポイントには言及されていないが、メカニズムに関しては考慮される可能性がある。	Limited		Srivastava et al., 2013
56	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (CBMN法) (ヒト末梢血リンパ球)	20-300 mg/mlで 6 時間処理した後、CytoB を添加して 24 時間培養 陽性対照: MMC 2つの別の培養から二核細胞2,000個と単核細胞1,000個を採取	1)TiO ₂ NP _s (NM102), アナターゼ型、 21-22 nm 2) TiO ₂ NP _s (NM-105), アナターゼ/ルチル型、15-24 nm	NSC: 1 安定性も考慮した分散プロトコルによりナノレベルの凝集体を確認。	Equivocal NM-102: 125mg/mlで、小さいが (MNBN細胞1.6%対陰性対照1.05%) 統計的に有意な増加が見られた。濃度との相関はない。 NM-105: Inconclusive (TiO ₂ NP _s の取り込みの証拠がないため陰性) 細胞生存率および細胞周期の進行に影響はない。	Reliability: 2 (NM-102) 粒子取り込みの分析が行われていない。 Reliability: 3 (For NM-105)	Limited (NM-102) Low relevance (NM-105)		Tavares et al., 2014
57	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血リンパ球(PBL))	20, 50, 100 µg/ml リンパ球刺激24時間後、TiO ₂ NP _s 処理 CytoB処理20時間後、72時間後採取	TiO ₂ NP _s (P25), アナターゼ/ルチル型、 15-24 nm	NSC: 2 増地への超音波照射を含む分散プロトコルがあるが、結果は公表されていない。	陽性 濃度依存的に増加した。 細胞毒性: 濃度および時間に依存して細胞生存率が低下した。	Reliability: 2 陽性対照がない。 細胞増殖 (CBPIまたはRI) を同時に測定していない。	Limited		Kang et al., 2008
58	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 肺 (気管支上皮BEAS 2Bおよび 16 HBE、肺胞A549) 腸 (Caco-2、主に未分化細胞を 使用) ヒト初代リンパ球	濃度: BEAS 2B, NM-102, NM 105: 0, 32, 64, 128, 256 µg/ml 16 HBE, NM-102: 0, 20, 40, 60 µg/ml 16 HBE, NM-105: 0, 8, 12 and 16 µg/ml A549, NM-102: 0, 16, 32, 64 and 128 µg/ml A549, NM-105: 0, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg/ml	1) TiO ₂ NP _s (NM102), アナターゼ型、 21-22 nm 2) TiO ₂ NP _s (NM-105), アナターゼ/ルチル型、15-24 nm	NSC: 1 Nanogenotox Project分散プロトコルを適用	TiO ₂ NP _s (NM-102 and NM-105) In NHEK cells: 陽性 TiO ₂ NP _s NM-102 in lymphocytes: Equivocal TiO ₂ NP _s NM-105 in lymphocytes: 陰性	Reliability: 1	High		NANOGENOTOX Project, 2013 (Documentation provided to EFSA No. 7 and 8)
59	in vitro	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	染色体異常試験(フローサイト) 染色体異常試験 チャイニーズハムスター-卵巣 (CHO)細胞	濃度: 15, 20, 25 µg/ml 陽性対照: マイトマイシンC (- S9), シクロホスファミド (+ S9)	TiO ₂ (Unitane® 0-220) 試験品は、発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTPリポジトリ (Radian Corporation) から入手したため、NCI two-yearのTiO ₂ がんバイオアッセイで使した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型、	-	TiO ₂ NP (NM-102 and NM105) in BEAS 2B 16 HBE A549 Caco-2 H	-	陰性 (+/- S9) しかし、粒子の取り込みは評価されておらず、細胞毒性に関する情報は報告されていない。 溶解度により最高用量が制限される。最初の試験では 20 µg/mlで陽性結果が得られたが (+ S9)、その後の試験では反応が報告されず、陰性と判断された。		Ivett et al., 1989

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		文献
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	
60	<i>in vitro</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	染色体異常試験 チャイニーズハムスター-卵巣 (CHO)細胞	濃度: ~25 µg/ml ばく露期間は不明 (- S9) 陽性対照および陰性対照の情報なし	TiO ₂ (Unitane® 0-220) 試験品は、発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTP) ポジトリ (Radian Corporation) から入手したため、NCI two-yearのTiO ₂ がんバイオアッセイで使用した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型, SEM 113-135nm, TEM 109-124nm, 100nm未満の粒子の割合は最大44%) と同等とみられる。 Unitane® 0-220は、元素組成、粒子径	-	-	-	-	陽性 しかし、粒子の取り込みは評価されておらず、細胞毒性に関する情報は報告されていない。		Tennant et al., 1987
61	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄) 雄マウス (swiss) 6- 8週齢 酸化ストレス反応	腹腔内投与 5日間連続投与 9. 38, 18.75, 37.50, 75, 150 mg/kg bw	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, < 25 nm	NSC: 2 分散性、安定性を測定し、一定のレベルの凝集を確認。	陽性-5日間の投与後、小核化した多色赤血球 (MNPCEs) が有意かつ用量依存的に増加し、PCE : NCE比が減少した。 最終投与から 5 日間の回復期間後 (10 日目の屠殺)、MNPCEs の増加は、高用量で有意であった。 すべての動物は、ばく露期間中健康であった。 動物の体重に有意な変化はなかった。	Reliability: 1	Limited 投与経路が食事からの摂取と関連性がない	陽性 (骨髄赤血球) すべての用量で 5 日目に小核化 PCE が増加、PCE/NCEs 比が減少。試験した最高用量でのみ 10 日目に小核化 PCE が増加、37.5 mg/kg bw/d 以上の用量から 10 日目に PCEs/NCEs 比が減少。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Fadoju et al., 2019
62	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄) 雄マウス (Albino)	腹腔内投与 0, 150, 250, 500 mg/kg bw 20-25 匹/群 投与: 7, 15, 45 日間投与 (daily)	TiO ₂ NPs, 83.4 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 2 分散性、安定性を測定し、一定のレベルの凝集を確認。	方法には、小核試験のプロトコルが記載されているが、結果で報告されているデータは、極めて少数の分裂中期の細胞の染色体異常に関するものである。 本研究で報告された結果の重要性を評価することはできない。	Reliability: 4 方法と結果の記述が不十分で、評価できない。	None 報告された結果と方法が矛盾している 投与経路が食事からの摂取と関連性がない	解釈が困難 (方法と結果の不一致) 最低投与量が 50mg/kg bw/d か 150mg/kg bw/d か不明 (おそらく 50mg/kg bw/d) 陽性対照がない。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Rizk et al., 2020
63	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	染色体異常試験 (骨髄) 雄マウス (Swiss-Albino)	強制経口投与 生理食塩水中の TiO ₂ NP 6.1 日 5 日間連続投与 Group 1: 溶液対照 (0.5 ml saline solution), Groups 2-4: 50, 250, 500 mg/kg bw TiO ₂ NPs (21nm) Groups 5-7: 50, 250, 500 mg/kg bw TiO ₂ NPs (80 nm) 15 匹/群 1 匹あたり 100 個の細胞分裂中期の染色体異常 (ギャップ切断、フラグメント、欠失) を解析	TiO ₂ NPs, 21 nm (結晶型不明) TiO ₂ NPs, 80 nm (結晶型不明)	NSC: 4 高用量、分散に関する情報がない。	陽性。染色体異常の割合が用量依存的に増加した。	Reliability: 3 細胞分裂中期の細胞数が研究プロトコールと一致しない。ギャップが異常値の計算に含まれる。 陽性対照なし。	Low	陽性 (骨髄細胞) 染色体異常を有するメタフェースの平均割合が、両試験物質とも最低用量から用量依存的に増加した。 陽性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Ali et al., 2019
64	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	染色体異常試験 (骨髄) 雄マウス (Swiss-Albino) 5 匹/群	腹腔内投与 50, 250, 500 mg/kg bw 7, 14, 45 日間投与 (daily) 投与24時間後に骨髄を採取	TiO ₂ NPs, 21 nm (結晶型不明)	NSC: 3 分散に関する情報はないが、ヒドロキシルプロピルメチルセルロース (HPMC) を溶媒に使用することで、凝集抑制に貢献した可能性がある。	Inconclusive 45日間投与後の染色体異常の用量依存的な増加 投与7日後および14日後には染色体異常の有意な増加はみられなかった (データの記載なし)	Reliability: 3 陽性対照なし。 解析した分裂中期の細胞数が少ない (300/group) 結果が全体に対する割合で報告されている。 染色体異常の割合にギャップが含まれる。	Low 限られた研究内容 投与経路は食事からの摂取とは関連性がない	45 日で陽性 (骨髄細胞) 45日後、試験した最低用量から統計的に有意な異常の増加が見られ、用量反応性が示唆された。 7 日間および 14 日間は陰性。 赤血球は1匹あたり300個しか分析されていない (OECDガイドラインでは、骨髄では少なくとも500 個の赤血球が必要)。		Rizk et al., 2017
65	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄) 雄マウス (Balb/c) 4 匹/群	腹腔内投与 0.1, 1, 3 g/kg bw 単回投与 投与24時間後に骨髄を採取 1 g/kg bw 単回投与 投与 24, 48, 72, 96時間後に骨髄を採取	TiO ₂ NPs, ルチル型, 28.88 nm (XRD), 5-45 nm (TEM)	NSC: 2 使用前に15分間超音波処理を実施。	陽性 用量依存的なMNPCEの増加。 1 g/kg bw投与群における時間依存的なMNPCEの減少。 24, 48, 72時間後の投与群における小核頻度の割合は、対照群よりも高かった (p< 0.05)。96時間後は、投与群では対照群に対する有意差はなかった。	Reliability: 2 MNPCE のベースライン発生率が極めて低いこと。 表とグラフのデータの不一致。	Limited 限られた研究内容 投与経路は食事からの摂取とは関連性がない	両試験で陽性 (骨髄細胞) 試験 1 : 24 時間で1000 mg/kg bw/d から 多染色赤血球の小核頻度が増加。 試験 2 : 24, 48, 72 時間後で多染色赤血球における小核頻度が増加、96 時間後では増加しない。 陽性対照なし。著者らは、陽性対照は滅菌水による処理 (真の陽性対照はない)、陰性対照は無処理と報告している。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンと見なしている。 Untreated control group also	Single intraperitoneal injection of vehicle control (sterile water) or doses of 100, 1000, or 3000 mg/kg bw/d TiO ₂ in sterile water in the first experiment and vehicle control (sterile water) or 1000 mg/kg bw/d TiO ₂ in sterile water in the second experiment.	Lotfi et al., 2016
66	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄) 雄マウス (Balb/c) 4 匹/群	腹腔内投与 10, 100, 500 mg/kg bw 単回投与 投与24時間後に骨髄を採取	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 20.17 nm (XRD), 1-25 nm (TEM),	NSC: 2 懸濁液を水中に分散させ超音波処理を実施。	あいまいな結果 (Equivocal) 最高用量においてのみ、小核頻度の有意な増加 (p< 0.05) がみられた。 低用量では一貫性のない結果であった。	Reliability: 2 Single samplingにより、ベースラインのMNPCE発生率が極めて低い。 表とグラフのデータに一貫性がない	Limited 限られた研究内容 投与経路は食事からの摂取とは関連性がない	陽性 (骨髄細胞) 多色赤血球における小核形成の頻度が統計的に有意に増加したが、用量反応性は認められなかった。 陽性対照なし。著者らは、陽性対照を滅菌水による処理 (真の陽性対照ではない)、陰性対照は無処理と報告している。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Zirak et al., 2016

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
67	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄) 染色体異常試験 (骨髄) マウス (Swiss-Albino)	強制経口投与 90日間 200, 500 mg/kg bw/day 5 匹/性/群	TiO ₂ NPs, 58.25 8.11 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 4 分散に関する情報が不十分、高用量のみの実施。	小核試験：陽性。最高用量におけるMNPCeの平均%の有意な増加 (P<0.01)。PCE/全赤血球の比率は、どの用量においても、投与による影響を受けなかった。 染色体異常試験：陽性。最高用量で染色体異常の発生率が有意に増加した (P<0.01)。	Reliability: 2 MNPCeや異常細胞の総数とその頻度の比較において、データに矛盾がみられる。	Limited	陽性 (骨髄細胞) 最高用量で小核化した多染性赤血球の割合が統計的に有意に増加し、用量反応性の証拠が示された。 試験した最高用量で染色体異常の総数が統計的に有意に増加し、用量反応性の証拠が示された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Chakrabarti et al., 2019
68	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄) 雄ラット (Wistar)	強制経口投与 重複性(60日間) 50, 100, 200 mg/kg bw/dayを蒸留水に懸濁 6匹/群	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 5-12 nm	NSC: 2 追加情報なしで超音波処理が実施されている。	陽性 最高用量2回で、MNPCeに有意かつ用量に関連した増加がみられた。最高用量でPCE/全赤血球比が有意に減少した。	Reliability: 2 投与によりハインツ小体を持つ異常な形状の赤血球の形成を伴う、明確な血液毒性が確認された。骨髄におけるMNPCeのスコアリングにバイアスをかけているかは不明。	Limited	陽性 (骨髄赤血球) 100 mg/kg bw/d から小核化したPCEの発生率が増加。試験した最高用量で%PCEが減少。陽性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Grissa et al., 2015
69	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄) ラット (Wistar) 雄 6-8 匹/群	単回投与 0.59 mg/kg bw (= 1% of LD50) 静脈内投与 1日後, 1週間後, 2週間後, 3週間後, 4週間後に屠殺 骨髄細胞 (未熟赤血球) の小核MN判定	TiO ₂ NPs (NM- 105), アナターゼ型/ルチル型, 15- 24 nm	NSC: 1 粒子の二峰性分布の結果が報告されており、61%が84nmであることから、 <i>in vivo</i> では凝集が少ないことが示唆された。	Inconclusive 未熟赤血球 (PCE) の小核発生率は増加せず、投与に関連する細胞毒性も認められない (未熟赤血球の割合の減少)。	Reliability: 3 サンプリングスケジュールが不適切、低用量単回投与、陽性対照なし	Low 限られた研究内容 食事からの摂取に関連しない 投与経路	全時点で陰性 (骨髄赤血球) 陽性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Kazimirova et al., 2019
70	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血網状赤血球 (RETs)) 雄ラット (Wistar) 6 匹/群	5, 25, 50 mg/kg/bw 静脈内投与 1週間おきに30日間投与 最終投与後に採血。	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 10-26 nm (TEM) (粒子表面の化学組成について、18%の銅が報告されている)	NSC: 1 良好なレベルの分散を確認したが、静脈投与で使用する濃度より100~1000倍低い濃度であったため、使用量での凝集の可能性は排除できない。Tiは組織で測定されたが、細胞内への取込みに関する情報は無い。	陽性 用量依存的なMN- RETsの増加 (p<0.05)	Reliability: 3 陽性対照が含まれていない 研究デザインの報告が不十分	Low 限られた研究内容 食事からの摂取に関連しない 投与経路 試験物質の化学組成。	陽性 (末梢血細胞) 25 mg/kg bw/d から小核形成が増加。試験方法・結果の詳細が不十分である。 陽性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Kumar et al., 2016
71	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血網状赤血球 (RETs)) 雄マウス (got Delta transgenic C57BL/6J) 5 匹/群	2, 10, 50 mg/kg bw/week 4週連続投与 静脈内投与 最終投与後2日目と9日目に採取した血液検体中の小核頻度を測定した。	TiO ₂ NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15- 24 nm	NSC: 1 各濃度で分散度を測定し、Ti検出によるEMで細胞内在性を確認。	陰性 網状赤血球の減少はみられなかった 50mg/kgのTiO ₂ NP投与群の%RETは、2日目に対照群に比べ有意に高い値を示した	Reliability: 2 陽性対照群がない	Limited 投与経路は食事からの摂取と関連がない	特性 (末梢血網状赤血球) 陽性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Suzuki et al., 2016
72	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (bone marrow) 雄マウス (albino)	100, 200, 400 mg/kg bw; 腹腔内投与 (週1回投与, 1ヵ月間) 10 匹/群 陽性対照: シクロホスファミド (CP)	TiO ₂ , アナターゼ型 (その他の情報なし)	NSC: 3 分散性, 安定性に関する情報は提供されていない。	陽性 最高用量においてのみ、MNPCeが有意に増加した。	Reliability: 3 サンプリング時間が報告されていない 結果の報告が不十分	Low 試験材料の特性評価不足。 限られた研究内容 投与経路は食事からの摂取と関連がない	陽性 (骨髄細胞) 小核化したPCEの発生率は、試験した最高用量で増加したが、低用量または中用量では増加しなかった。容量反応の証拠。 各処理群につき5匹または10匹のマウスを試験したかは不明。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンと関連性があると見なしていない。		El-Bassyouni et al., 2017
73	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	染色体異常試験 雄マウス (Swiss albino) 5 匹/群	強制経口投与 28日間 0.2, 0.4, 0.8 mg/kg/day 陽性対照: MMC (腹腔内投与) 最終投与から 18 時間後に骨髄を採取 1 匹あたり 150 個の細胞分裂中期を解析	TiO ₂ NPs, ルチル型, 21-31 nm (TEM), 球状及び棒状粒子 (TEM), 21-31 nm (TEM)	NSC: 2 分散測定により高い凝集度を確認した。	陽性 染色体異常 (ギャップを除く) を有する細胞の用量依存的な増加がみられ、高用量の2用量で有意であった。有糸分裂指数はそれぞれ40%と65%減少した。	Reliability: 2 表1のデータが、方法に記載にある減数分裂中期の細胞数750 (150×5匹) のスコアと整合していない。	Limited	陽性 (骨髄細胞) 0.4 mg/kg bw/d 以上から染色体異常細胞の割合と細胞あたりの染色体異常数が統計的に有意に増加し、用量反応性が示された。 染色体異常は、染色体切断と等染色体切断が最も多く観察された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Manivannan et al., 2020
74	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (bone marrow cells) 雄マウス (Swiss albino) 5 匹/群	強制経口投与 14 日間 10, 50, 100 mg/kg bw/day 陽性対照 EMS 半回腹腔内投与 100 mg/kg b.w.	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 20-50 nm	NSC: 1 各用量について超音波照射と凝集レベルが報告された。	陽性 MNPCes の用量依存的な増加は、最高用量においてのみ有意であった。 骨髄毒性に関するデータは報告されていない。	Reliability: 1	high	陽性 (骨髄細胞) 試験した最高用量で小核形成が増加し、用量反応を示す証拠がある。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Shukla et al., 2014
75	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (peripheral blood) 雄ラット (SD) 4 匹/群	8日間で3回間の気管内投与 雄ラット (SD) 分析: ばく露2 時間後及び35日後	TiO ₂ NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15- 24 nm	NSC: 1 各用量及びばく量について組織中の測定値で確認された凝集度が報告されている。	あいまいな結果 (Equivocal) ばく露2時間後: 投与後35日目には小核頻度の増加はみられなかった。 用量反応関係なしに、すべての用量で小核頻度が有意に増加した。	Reliability: 3 対照群がない 適切な研究計画がない	Low			Reier et al., 2017

		EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価					Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価					
No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
76	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血および骨髓赤血球) 雄マウス (B6C3F1) 5匹/群	腹腔内注射 3日間 最終投与の48時間後に屠殺 1) 250, 500, 1,000 mg/kg bw (骨髓、末梢血) 2) 500, 1,000, 1,500 mg/kg bw (骨髓)	TiO2NPs (Unitane® 0220) アナターゼ型, > 100 nm	NSC: 3 分散に関する情報はない。	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。	Reliability: 2 不明瞭な結果 陰性対照なし	Limited 投与経路が食事からの摂取に関連しない。 明確な陽性結果の基準のすべてが満たされているわけではない。	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		Shelby et al., 1993
77	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血および骨髓赤血球) 雄マウス (B6C3F1)	Shelby et al, 1993と同様	TiO2NPs (Unitane® 0220) アナターゼ型, > 100 nm	Shelby et al, 1993と同様	Shelby et al, 1993と同様	Shelby et al, 1993と同様	Shelby et al, 1993と同様	高時点で陰性(骨髓細胞)		Shelby and Witt, 1995
78	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血網状赤血球) 雄マウス (B6C3F1)	腹腔内投与 0.5, 5.0, 50 mg/kg/day 3日間 陽性対照：140 mg/kg ENU腹腔内投与 最終投与の1日後に%MN-RET 頻度を観察	TiO2NPs, アナターゼ型、楕円形、 短軸 12.1 ± 3.2 nm (TEM)	NSC: 1 超音波処理を行い、各濃度における凝集、および組織内の Ti レベルを測定してばく露を確認した。	陰性	Reliability: 2 報告は投与経路 (腹腔内または静脈内) について一貫していないが、著者らは腹腔内を確認した。 骨髓中の TiO ₂ も測定された: 標的組織のばく露が実証された。	Limited 投与経路が食事からの摂取に関連しない。	陰性 (末梢血網状赤血球) 投与が静脈内または腹腔内投与で行われたか不明だが、EFSA FAF Panel (2021)は、腹腔内投与であることを著者に確認した。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Sadiq et al., 2012
79	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髓) 雄ラット (SpragueDawley) 7匹/群	胃内投与 1回/日 0, 10, 50, 200 mg/kg 30日間	TiO2NPs, アナターゼ型, 75 ± 15 nm	NSC: 2 超音波処理を行い、凝集を確認した (報告されたサイズ 473.6 nm) 。	陰性 PCE/NCE に変化はみられなかったが、投与終了時に上から2用量で骨髓細胞の γH2AX 病巣の用量依存性の有意な増加がみられ、骨髓ばく露が確認された。	Reliability: 2 陰性対照なし	Limited	陰性 (骨髓細胞) 陰性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Chen et al., 2014
80	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血) マウス C57Bl/6 transgenic (LacZ)	静脈内投与 0, 10, 15 mg/kg bw 2日間 最終投与の42時間後に採血 陽性対照：120 mg/kg ENU腹腔内投与	TiO2NPs (NM102), アナターゼ型, 21-22 nm	NSC: 1 Nanogenotox プロトコルと EM によるばく露の確認 (ただし、すべてのデータが報告されているわけではない。EM には Ti の検出は含まれない)	陰性	Reliability: 2 サンプリングは1回のみ	Limited	陰性(末梢血網状赤血球) カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Louro et al., 2014
81	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髓PCEおよび網状赤血球) 雄ラット (Wistar) 7匹/群	静脈内投与 5 mg/kg bw 半回 投与 24 時間後、1 週間後、および 4 週間後に屠殺 PCE における MN の誘導を推定するために、細胞を MayGrunwald および Giemsa 染色液により染色 網状赤血球におけるMNの誘導を評価するために、細胞をアクリンオレンジにより染色	TiO2NP (P25), アナターゼ/ルチル型, 15 - 24nm	NSC: 2 投与前に超音波処理を行った。	陽性 MN 細胞の頻度は 24 時間後にのみ多染色赤芽球 (PCE) で増加し、PCE%の変化はみられなかった。同じ血液塗抹標本において網状赤血球の MN は増加しなかった。	Reliability: 2 陰性対照なし	Limited 投与経路が食事からの摂取に関連しない。	陽性 (骨髓細胞) 24時間後にPCE1,000個あたりの微小核の数が増加したが、1週間および4週間では増加しなかった。PCE%には影響がなく、すべての時点において染色体体損傷は陰性であった。 陰性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化		Dobrzynska et al., 2014
82	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髓) 雄ラット (Swiss Webster) 5匹/群	腹腔内投与 0, 500, 1000, 2000 mg/kg bw/day 5日間 24時間後に屠殺 陽性対照：cyclophosphamide	TiO2NP, ルチル型とアナターゼ型の混合物 (XRD), 44 nm (XDR), 多面体形態 (TEM)	NSC: 1 組織中の Ti 測定によってばく露を確認した。分散方法の情報なし。	陽性 PCE/NCEの減少	Reliability: 1	Limited この試験で適用された腹腔内投与経路は、非生理学的であるため、OECD ガイドラインでは推奨されていない。さらに、投与経路が食事からの摂取に関連しない。	陽性 (骨髓細胞) 小核化した PCE の発生率が増加、PCE/NCE 比が最低用量から減少し、用量反応性の証拠が示された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		El-Ghor et al., 2014
83	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血網状赤血球) 雄雄ラット (Sprague-Dawley Cri:CD) 雄雄各5匹/群	強制経口投与 500, 1,000 or 2,000 mg/kg bw 投与の48, 72時間後に末梢血を採取 20,000 RET/動物をフローサイトメトリーにより分析 陽性対照：Cyclophosphamide	5種のTiO2 1) TiO2NP、混合物 (89% アナターゼ型/11% ルチル型)、流体力学的径43 nm (XSDC)、形状不規則 (TEM) 2) TiO2NP、アナターゼ型、流体力学的径42 nm (XSDC)、形状不規則 (TEM) 3) TiO2NP、ルチル型、流体力学的径 47 nm (XSDC)、形状は棒状(TEM) 4) TiO2 (27% nano) (TEM)、アナター	1) NSC: 4 TiO2NP、特に TiO2NP混合物 (89% アナターゼ型/11% ルチル型) および TiO2NP (ルチル型) について、高用量で高レベルの凝集が報告されている。 2) NSC: 4 TiO2NPs、混合物 (89%アナターゼ型/11%ルチル型)、TiO2NPs (ルチル型) について、高用量で高レベルの凝集が報告されている。 4) NSC: 4	1) Inconclusive どの用量またはサンプリング時間でも、小核網状赤血球 (MN-RET) の統計的に有意な増加はみられなかった。しかし、全赤血球の %RET に統計的に有意な減少はなく、どの用量でも毒性の徴候は認められなかった。TiO2 NP の投与後、血中 (48 または 72 時間) または肝臓 (72 時間) で、対照よりも用量依存的な TiO2 NP 含有量の増加は確認されなかった。 2) Inconclusive 標的組織へのばく露が証明されなかったため、投与 48 時間後及び最高用量 72 時間後に 1000 mg/kgで雄に、2000mg/kgで雌に、統計的に有意なMNのわずかな増加が報告されたが、これは同じ試験の陰性対照群と同程度であった。従っ	1)～5) Reliability: 3 %RETの測定では、標的組織へのばく露は確認されなかった。 TiO2への全身ばく露は確認されなかった。	Low	陰性(末梢血網状赤血球) カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。	Donner et al., 2016	
84	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	雄 F1 (CBAaB6) マウス 小核試験 (前胃および結腸の上皮細胞): -MNの存在、核突出、異型核、有糸分裂、二核細胞、凝縮クロマチン及び前胃における核濃縮 -アポトーシス指数 小核試験 (精巣): -精子細胞について、小核細胞、二核細胞、多核細胞、およびアポトーシス小体を持つ細胞、す	強制経口投与 TiO2 40, 200, 1,000 mg/kg 7日間 最終投与の24 時間後に屠殺	TiO2, アナターゼ型, 160 nm ± 59.4 nm	NSC: 3 分散方法に関する情報がない。	陰性 (すべての組織)	Reliability: 5 "poly-organ karyological assay"は、リスク評価の試験として検証された試験ではない。さらに、評価されたパラメーター(有糸分裂指数、アポトーシス、精子細胞の核異常)は、遺伝毒性を評価する上で不十分である。" (EFSA ANS Panel, 2016 年)	Low	陰性 (前胃上皮および結腸上皮、精巣精子) 最高用量において、骨髓PCEにおける小核形成が統計的に有意に増加した。しかし、増加程度が小さく、生物学的意義は不明であった。骨髓PCEにおける小核発生率の分析は、OECD試験ガイドライン (474 : 1997) から逸脱しており、推奨される2,000個以上のPCEではなく、1,000個のPCEについて計測されている。また、骨髓PCEでは細胞毒性の証拠は観察されず、骨髓への全身ばく露は確認されなかった。 前胃上皮や結腸上皮の細胞では小核、核突起、典型的な核の証拠や精子細胞に小核が誘導された証拠はな		Sycheva et al., 2011

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
85	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (赤血球) 7-8週齢の雄マウス (Crl:CD(SD) または Wistar Crl:WI(Han)) OECD ガイドライン474	強制経口投与 濃度: 500, 1,000, 2,000 mg/kg bw 最終投与から48時間および72時間後に末梢血サンプルを採取 溶媒対照: シクロホスファミド (10 mg/kg bw, 腹腔内注射)	試験品3点: 1) TiO2 (着色用, pg-1): 中央粒径120 nm, 100 nm未満の粒子27%, アナターゼ型, 質量比表面積 8.1 m ² /g, 等電点 pH4前後, 粒子全体および表面の元素組成はK、P、Nbを含む (出典不明)	-	-	-	-	Equival: 3つの試験品すべて (末梢血網状赤血球) しかし、血液と肝臓で測定されたTi濃度は一貫して低く (血液 ≤1.14 µg/g, 肝臓 ≤0.316 µg/g)、投与量に関わらずpg-1の経口バイオアベイラビリティは低いことが示された。また、用量反応の証拠もなく、pg-1投与群および陰性対照群間で同程度の Ti 濃度が測定さ		Donner et al., 2016
86	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (赤血球) 雄マウス (CBAXB6) 6匹/群	強制経口投与 濃度: 40, 200, 1,000 mg/kg bw/d ばく露: 7日間 溶媒: 水 最終投与から24時間後に屠殺	TiO2 (化粧品用), 160 ± 59.4 nm, アナターゼ型 (ロシアにおいて化粧品原料として販売されている) TiO2 粒子を蒸留水に分散して使用 (その他の詳細情報はない)	-	-	-	-	Equival (骨髄赤血球) 最高用量において、骨髄PCEにおける小核形成が統計的に有意に増加したが、増加程度は小さく、生物学的意義は不明である。骨髄PCEにおける小核発生率の解析はOECDガイドライン (474:1997) から逸脱しており、推奨されるPCE 2,000個以上ではなく、PCE 1,000個が評価されている。また、骨髄PCEでは細胞毒性の証拠は観察されず、骨髄への全身ばく露は確認されなかった。 陰性対照なし。 投与された試験品は、食品添加物の二酸化チタンの形態と比較できるほど十分に特徴づけられていない		Sycheva et al., 2011
87	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (骨髄細胞) 雄マウス (CBAXB6) 6匹/群	強制経口投与 濃度: 40, 200, 1,000 mg/kg bw/d ばく露: 7日間 溶媒: 蒸留水 最終投与から24時間後に屠殺	TiO2-NPs, 33 ± 16.7 nm, アナターゼ型 (供給元: ロシアの化粧品会社) TiO2 粒子を蒸留水に分散して使用 (その他の詳細情報はない)	-	-	-	-	陰性 (骨髄細胞) 骨髄PCEにおける小核発生率の解析はOECD試験ガイドライン (474:1997) から逸脱しており、推奨されるPCE 2,000個以上ではなく、PCE 1,000個が評価されている。 陰性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なさない。		Sycheva et al., 2011
88	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (末梢血赤血球) 4-5月齢の雄マウス (C57BL/6Jp ^{+/+}) 5匹/群	飲水投与 濃度: 60, 120, 300, 600 µg/mL (10, 20, 50, 100 mg/kg bw/d)に相当、平均体重30gのマウス1匹の平均水摂取量 5mL/日に基づく) 末梢血サンプルの採取時期は不明	TiO2-NPs, mean 21 nm, アナターゼ型 75%, ルチル型25% (Degussa-Evonik) 使用直前に水中の粒子を15分間超音波処理することにより、安定した分散液を調製	-	-	-	-	陰性 (末梢血赤血球) 最高用量で多色赤血球あたりの小核の頻度が増加したが、用量反応を示す証拠はない。 陰性対照なし。 等価用量は 50, 100, 250, 500 mg/kg bw/d と報告されているが、著者の報告によると、実際には 10, 20, 50-100 mg/kg bw/dであった		Trouiller et al., 2009
89	<i>in vivo</i>	Chromosomal aberrations/ mammalian cell micronucleus test	小核試験 (赤血球) 雌雄マウス (ICR) 雌雄各4匹/群	静脈投与 濃度: 140, 300, 645 mg/kg bw 投与14日後に屠殺して骨髄を採取 溶媒: 生理食塩水 陽性対照: シクロホスファミド 20 mg/kg bw (屠殺する)	TiO2-NPs, 42.50 ± 60 nm, anataseアナターゼ型 (Hangzhou Wanjing materials Co, Ltd) 生理食塩水中の粒子を400Wで 3分間超音波処理することにより、安定した	-	-	-	-	陰性 (骨髄細胞) カナダ保健省食品局は、この試験品物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Xu et al., 2013
90	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 Caco-2細胞	0.143 µg/cm2 (corresponding to 1 µg/mL) 24時間 陽性対照: H ₂ O ₂ 4回繰り返し、二重試験 解析した細胞数: 50細胞/slide/experiment	E171 (39% nano)	NSC: 2 分散性、安定性を測定し、一定の凝集を確認した。 特に高濃度での凝集が懸念されるが、BSAやFBSの使用により軽減される。	陽性 統計的に有意な増加 (comet tail及び強度の中央値) 生存率 (トリパンプルー) > 80% の濃度の選択 生存率の低下: 14.3 µg/cm2 で27%, 143 µg/cm2 で73%。 ROS: 0.143 µg/cm2 及び 1.43 µg/cm2 では有意な増加なし	Reliability: 2 一用量試験	Limited	陽性、E171 および E171+AOM 条件で同様のレベルの DNA 損傷。 試験したE171およびAOMの濃度では、細胞毒性を示す証拠はない。 スライド作成、溶解、電気泳動は、さらなるDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。		Proquin et al., 2017
91	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 Caco-2 細胞	0.143, 1.43 µg/cm2 (corresponding to 1 µg/mL, 10 µg/mL) 24時間 陽性対照: H2O2 4回繰り返し、二重試験 解析した細胞数: 50細胞/slide/experiment	TiO2NPs, アナターゼ型, 10-30 nm (SEM)	NSC: 2 分散性、安定性を測定し、一定の凝集を確認した。 特に高濃度での凝集が懸念されるが、BSAやFBSの使用により軽減される。	陽性 統計的に有意な増加 (comet tail及び強度の中央値) 生存率の低下: 143 µg/cm2 で48.4%。 ROS: 0.143 µg/cm2 及び 1.43 µg/cm2 では有意な増加なし	Reliability: 1 二用量のみ	High			Proquin et al., 2017
92	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 + ROS産生 Caco-2 細胞	0.143 µg/cm2 (corresponding to 1 µg/mL) 24時間 陽性対照: H2O2 4回繰り返し、二重試験 解析した細胞数: 50細胞/slide/experiment	TiO2, 535 nm, > 100 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 2 分散性、安定性を測定し、一定の凝集を確認した。 特に高濃度での凝集が懸念されるが、BSAやFBSの使用により軽減される。	陽性 統計的に有意な増加 (comet tail及び強度の中央値) 生存率の低下: 143 µg/cm2 で33%。 ROS: 1.43 µg/cm2 で有意に増加	Reliability: 2 一用量試験	Limited			Proquin et al., 2017
93	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト末梢血単核細胞 (PBMCs)) (2人由来)	0, 10, 50, 100, 200 µg/mL 24時間 陽性対照: H2O2 細胞生存確認: トリパンプルー 2試験, Duplicate slides/用量 解析した細胞数: 100細胞/用量 DNA 8-oxodGの定常レベル: HPLC:ECD	TiO2NPs, アナターゼ型, 20-60 (TEM)	NSC: 1 5種のマテリアル。媒体中で十分なエネルギーと安定性を有する分散が確認され、粒子と凝集体の存在が確認された。	陽性 アナターゼ型の50 µg/mLからNPのSSB (% DNA in tail)が統計的に有意に増加した。細胞毒性はみられなかった。 DNA 8-oxodGは100 µg/mlで6時間後と24時間後に有意に増加した。	Reliability: 1	High DNA損傷に対してより敏感な細胞の亜集団 (半群) の同定			Andreoli et al., 2018

EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価								Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価				
No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
94	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト末梢血単核細胞 (PBMCs)) (2人由来)	0, 10, 50, 100, 200 µg/mL 24時間 陽性対照: H2O2 細胞生存確認: トリパンブルー 2試験, Duplicate slides/用量 解析した細胞数: 100細胞/用量	TiO2NPs, ルチル型: rod-like, 30-100 (TEM)	NSC: 1 5種のマテリアル。媒体中で十分なエネルギーと安定性を有する分散が確認され、粒子と凝集体の存在が確認された。	陽性 ルチル型NPのSSBは100 µg/mLから統計的に有意に増加した。 細胞毒性はみられなかった。 DNA 8-oxodGは100 µg/mlで6時間後と24時間後に有意に増加した。	Reliability: 1	High			Andreoli et al., 2018
95	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト末梢血単核細胞 (PBMCs)) (2人由来)	0, 10, 50, 100, 200 µg/mL 24時間 陽性対照: H2O2 細胞生存確認: トリパンブルー 2試験, Duplicate slides/用量 解析した細胞数: 100細胞/用量 DNA 8-oxodGの定常レベル: HPLC:ECD	TiO2, アナターゼ型/ルチル型, 3種の形態 (球状, 不規則, 棒状) 45-262 nm (TEM)	NSC: 1 5種のマテリアル。媒体中で十分なエネルギーと安定性を有する分散が確認され、粒子と凝集体の存在が確認された。	陽性 混合物NPのSSBは、50 µg/mLから統計的に有意に増加した。 細胞毒性はみられなかった。 DNA 8-oxodGは100 µg/mlで6時間後と24時間後に有意に増加した。	Reliability: 1	High			Andreoli et al., 2018
96	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト末梢血単核細胞 (PBMCs)) (2人由来)	0, 10, 50, 100, 200 µg/mL 24時間 陽性対照: H2O2 細胞生存確認: トリパンブルー 2試験, Duplicate slides/用量 解析した細胞数: 100細胞/用量 DNA 8-oxodGの定常レベル: HPLC:ECD	TiO2, アナターゼ型, 50-270 nm (TEM), TEMによるNPsと異なる形態	NSC: 1 5種のマテリアル。媒体中で十分なエネルギーと安定性を有する分散が確認され、粒子と凝集体の存在が確認された。	陽性 アナターゼ型MPのSSBが200 µg/mLから統計的に有意に増加した。 細胞毒性はみられなかった。 DNA 8-oxodGは100 µg/mlで6時間後と24時間後に有意に増加した。	Reliability: 1	High			Andreoli et al., 2018
97	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト末梢血単核細胞 (PBMCs)) (2人由来)	0, 10, 50, 100, 200 µg/mL 24時間 陽性対照: H2O2 細胞生存確認: トリパンブルー 2試験, Duplicate slides/用量 解析した細胞数: 100細胞/用量 DNA 8-oxodGの定常レベル: HPLC:ECD	TiO2, ルチル型, 50-3000 nm (TEM), TEMによるNPsと異なる形態	NSC: 1 5種のマテリアル。媒体中で十分なエネルギーと安定性を有する分散が確認され、粒子と凝集体の存在が確認された。	陽性 ルチル型MPで200 µg/mLからSSBが有意に増加した。 細胞毒性はみられなかった。 DNA 8-oxodGは100 µg/mlで6時間後と24時間後に有意に増加した。	Reliability: 1	High			Andreoli et al., 2018
98	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg and Endo III Caco-2細胞 酸化ストレス (OGG1 expression)	1, 2.5 µg/cm2 (6.4, 16.0 µg/mL) 2, 4, 6, 24 時間 陽性対照: H2O2 両濃度も sub-toxic (データなし) HPLC/ECDによるDNA 8-oxodGの定常レベルの測定 ウエスタンブロットによるOGG1発現測定: 2.5 µg/cm2 NPs (16.0 µg/ml) 6時間投与	TiO2NPs, アナターゼ型, 20-60 nm (TEM)	NSC: 2 分散性、安定性を測定し、一定の凝集を確認。	陽性 わずかな実験において濃度と時間に関する効果の情報がない Fpgで2.5 µg/cm2に2時間ばく露した後、SSBが3倍増加した。 1 µg/cm2 の Endo III に 24 時間ばく露した後、SSBs が 2 倍に増加した。 6時間 (主に) 及び24時間の処理で、DNA 8-oxodGの基底レベルが対照群と比較して有意に増加した。陽性対照で生成された酸化レベルに匹敵する増であった。 OGG1タンパク質の統計的に有意な過剰発現がみられた。	Reliability: 2 二用量のみ 細胞毒性情報がない	Limited (より機能的な試験)		Zijno et al., 2015	
99	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト皮膚微小血管内皮細胞株 (HMEC-1) + ROS測定	10 mg/L NPs 24時間 細胞毒性 乳酸脱水素酵素 (LDH) 遊離測定 Olive tail moment (OTM) 測定	1) TiO2NPs, ルチル型, 1-3 nm, 2) TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 30 nm	NSC: 1 細胞内への取込みを測定し、凝集が十分に考慮され、結果に反映されている。	陽性 両方のTiO2 NPsでOTMが統計的に有意に増加した。 細胞毒性: 40 mg/mLで13% ROS:	Reliability: 3 陰性対照細胞の損傷レベルが高い (50%)。一用量試験 実験の詳細の説明が不十分。	Low			Bayat et al., 2015
100	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト抹消血リンパ球 (whole blood)) (3人の健康人由来)	0, 50, 100, 150 mM (0, 3995, 7990, 11985 µg/mL) ばく露: 1時間 陰性対照: リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (溶液) 100倍/用量 コメット型ヌクレオイドの目視によるスコアリング DNA損傷を受けた細胞の平均数	TiO2NPs, アナターゼ型, 45 angstrom (4.5 nm),	NSC: 4 分散と高濃度投与に関する情報がない。	TiO2 NPアナターゼ型/ルチル型 (30 nm) は、細胞培養液中でわずかなROSを発生させた。 Inconclusive PBSと比較して、統計的に有意なDNA損傷の増加はみられなかった。	Reliability: 3 不適切な研究デザイン 1時間のみばく露 陽性対照なし 低感度のスコアリング種類 細胞毒性および取込みに関する情報が提供されていない。	Low			Bajic et al., 2017
101	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 BEAS-2B 正常ヒト気管支肺細胞 A549 ヒト肺癌基底上皮癌細胞 + 8-オキソ-2'-dGuo及び5'-メチルデオキシシチシン(5'-Me-dC)	TiO2 NPs 0, 10, 100 µg/mL ばく露: 4, 24, 48 時間 FBSフリー培養液 comet tail強度の測定 陰性対照: FBSフリー培養液	TiO2NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 ばく露前及びばく露条件下で分散と安定性を評価した。流体力学的直径は720±20nm, PDIは0.50±0.02にシフトし、特にばく露48時間後に凝集が示唆された。	陽性 両細胞株の全てのばく露時間で、100 µg/mL で SSB 及び/又は alkalilabile sites を誘導した。 4時間後: A549細胞でBEAS-2Bよりも有意に高いレベルのDNA損傷が発生した。	Reliability: 2 陽性対照なし 4時間後に細胞毒性を観察していない。	Limited			Biola-Clier et al., 2017
102	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト抹消血リンパ球 (1 donor)	25, 75, 125 µM TiO2 NPs (2, 6, 10 µg/mL) ばく露: 24時間 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: mitomycin C (MMC) Olive tail moment (µm) とTailに含まれるDNAの割合の測定	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 21 nm	NSC: 2 ばく露条件下で分散性を測定 (場地はFBSを使用)。凝集体の存在を確認し、24時間まで良好な安定性を示した。	陽性 75, 125 µMで% Tail DNAとOlive Tail Momentが有意に増加した。 25 µMで% Tail DNAのみ有意に増加した。	Reliability: 3 単一ドナーから提供された細胞のみを分析 細胞毒性の情報は提供されていない。 プロトコルの説明が不十分 50細胞/濃度のみ分析	Low			Patel et al., 2017
103	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト肺癌基底上皮癌細胞 (A549)	10, 20, 40 µg/cm2 (32, 64, 128 µg/mL) ばく露: 48 時間 Trevisan protocol: DNA in the tail (%) の測定 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: H2O2 2回の実験で100細胞/濃度を分析 細胞毒性: コロニー形成効率 (CFE) : (1.25-80 µg/cm2 = 8.3-266.6 µg/L 24-48-72時間ばく露)	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm.	NSC: 1 分散が報告され、電子顕微鏡で細胞への取込みが確認された。凝集レベルが観察され、ばく露した細胞における凝集体の内在化も観察された。	陽性 tail DNA%は、用量依存的に有意に増加した。Fpg: 128 µg/mL で 陽性、Endo III: すべての濃度で 陽性。 25 µg/cm2 TiO2NPsで24時間後の最大低下%CFEは約60%)。	MMCはコメット試験の陽性対照物質に適合 Reliability: 1	High			Stocco et al., 2017

EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価						Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価						
No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
104	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト末梢血単核細胞 PBMC 健康者 (HI) ; 大腸ポリローシス患者 (PLP) ; 結腸癌患者 (CRC) 複数ドナー (20サンプル/ドナー)	10, 40, 80 µg/mL ばく露: 30 分間 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: H2O2 olive tail moment (OTM) 及びtail DNA (%) の測定	TiO2NPs, アナターゼ型, 34 nm (20-64 nm) (SEM)	NSC: 2 分散測定し凝集を確認のうえ、用量及びばく露時間を共に増加させた。	陽性 HI: 統計的に有意ではない用量依存性OTMのDNA損傷の誘発は及び tail DNAの増加がみられた。 PLP:	Reliability: 2 短期ばく露: 30分間	Limited 疾患の患者における感受性の増加との関連性は定かではないが、興味深い情報である。			Kurzawa-Zegota et al., 2017
105	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/ -Fpgテスト Caco-2細胞 ヒト肝芽腫HepG2細胞株 mES細胞 (初代マウス胚性線維芽細胞 + 細胞内 GSH の枯渇の測定 + ToxTracker アッセイ	0, 0.98, 1.95, 3.9, 7.8, 15.6 µg/cm2 (3.13, 6.25, 12.5, 25, 50 µg/ml) ばく露: 4時間 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: H2O2 及び KBrO3 細胞毒性: WST-1 (細胞増殖薬) 24時間ばく露, LC20 (細胞の20%が死滅した粒子濃度) tail DNA (%) 及び Fpg sensitive sites の測定 2試験, 3回繰り返し	E 171, アナターゼ型 (0.2% ルチル型), 390 nm (DLS)	NSC: 2 媒体での分散性, 安定性を測定し、一定の凝集が確認された。高濃度 (50 µg/mL, 15.6 µg/cm2相当) で24時間までの良好な安定性が確認された。	陽性 マウス幹細胞は最高用量において陽性であった。 HepG2及びCaco-2: 統計的有意性 - 線形回帰 (両細胞株) 及びグループされたばく露群 (HepG2) についてのANOVA +Fpg: 陽性: HepG2細胞株におけるFpg感受性部位の統計的有意な増加 Caco-2細胞株及びマウス幹細胞株において陰性 わずかな細胞毒性: HepG2 = 15.6 µg/cm2; Caco-2細胞 = 31.25 µg/cm2	Reliability: 1	High Caco-2細胞 (未分化) : DNA銀切断およびFpg感受性部位の増加は陰性。細胞毒性を示す証拠なし。核のDNA損傷の評価には視覚的スクロアリング法を使用 (ブラインドで実施した場合は不明)。粒子の細胞への取り込みは確認されていない。 ヒトHepG2肝細胞: DNA銀切断及びFpg感受性部位の増加は陰性。試験した最高用量 (15.6 µg/cm2) で細胞毒性の証拠が報告された。	4つの試験について表が分割されて記載されていたので、1行あけて転記しました。	Brown et al., 2019	
106	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 THP-1細胞 (ヒト単球由来細胞) +/ - Fpg試験 + ROS測定	1, 10, 25 µg/mL ばく露: 24時間 MTSアッセイによる細胞毒性試験 tail DNA (%) 及び Fpg sites sensitive の測定 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: CdSO4	TiO2 (NM-100), アナターゼ型, 50-150 nm	NSC:1 Nanogenotoxプロトコルに従い試験期間中、媒体中の分散と安定性を測定した。小さく安定した凝集体の存在が確認された。細胞内への取込みを測定し、エンドソームで凝集体の存在を確認した。	あいまいな結果(Equivocal) 弱いDNA損傷の誘発 (有意差のない濃度依存性DNA銀切断の増加)。 +Fpg: 陰性 Fpg感受性部位の形成に有意な影響はない。 100 µg/mLまで細胞生存率への影響は観察されなかった。 ROSレベルへの影響は弱く、24時間培養後でも有意な増加はみられなかった。	Reliability: 1	Limited			Brzicova et al., 2019
107	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/ - Fpg ヒト末梢血単核細胞 (PBMCs) 13人のドナー	3, 15, 75 µg/cm2 (6.75, 33.75, 168.75 µg/mL) ばく露: 4時間又は24時間 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: H2O2 tail DNA (%) 及び Fpg sites sensitive の測定 スライド複製/サンプル 100細胞/サンプル	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 凝集評価のための2つの分散プロトコル (DP1, DP2) 分散プロトコール1 (DP1) NSC:1 分散に関して不十分な情報しか示されていないが、DLSを用いて十分な分散度 (102 (±15) nm と285 (±67) nmの二峰性の分布) と分散安定性 (Size stability Stable ~ 2 days) が確認	DP1を使用した13人中9人のドナーで陽性 DP1ブル解析: 4時間ばく露後75 µg/cm2, 24時間ばく露後15 µg/cm2及び75 µg/cm2でDNA銀切断が有意に増加した。Fpg感受性部位は4時間又は24時間ばく露後も増加しなかった。 DP2: DNA損傷に有意な増加は観察されなかった。	Reliability: 1	High			Kazimirova et al., 2019
108	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト肝芽腫 HepG2 細胞, 前処理なし, 及び tert-butylhydroquinone で 16 時間前処理した細胞 (tBHQ 細胞) + Nf2Z(-)ノックアウトHepG2	Wild type cell line: 0.1, 1, 10 µg/mL Knock out cell line: 1 µg/mL ばく露: 24時間又は 6-24時間 3回繰り返し 100 細胞/サンプル Olive tail moment (OTM) の測定	TiO2NPs, アナターゼ型, 10-25 nm (SEM, TEM)	NSC: 2 ばく露条件下ではないが、分散とzeta 電位を測定したところ、zeta 電位の絶対値が高く、非常に低い濃度を使用していることから、直接測定してなくても良好な分散が期待できる。	陽性 コメット試験: HepG2細胞の1 µg/mLでOTMの増加 (6-24時間)。 Nf2Z (-) HepG2細胞ではOTMが3.4倍, tBHQ-HepG2細胞では1.1倍に増加した (1 µg/mLばく露)。 HepG2細胞におけるROSの生成: 濃度及び時間依存的な増加。	Reliability: 2 OTMが評価に用いられた。 実験の詳細が不十分 陽性対照なし	Limited			Shi et al., 2015
109	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/ - Fpg PMBC及びリンパ芽球株TK6細胞 (血球系細胞) ヒト脳内皮細胞 (HCEC) (血管/中枢神経系) 陽性対照: 未処理細胞及び Endorem® 陰性対照: H2O2, 肝細胞には7000 µW/cm2のUV照射 フラット肝細胞及びKupffer細胞 (肝臓)	0.12, 0.6, 3, 15, 75 µg/cm2 (0.57, 2.9, 14.4, 72.0, 360.2 µg/mL) ばく露: 30分, 1, 2, 4, 24 時間 Kupffer細胞は4時間のみ 細胞毒性は4時間のみ 陰性対照: 未処理細胞及び Endorem® 陽性対照: H2O2, 肝細胞には7000 µW/cm2のUV照射 50 comets/slide (100 comets/サンプル) のスコアリング	TiO2NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC:2 EUプロジェクトNanoTestの異なるレベルの分散を持つ2つの分散プロトコル (Vedisp と UPdisp) を用いて検討したもの。 Vedisp分散液は、凝集レベルが低く、安定性が確認され、100 nm付近に1つのピーク, 300 nm以下に2つのピークを持つ二峰性のサイズ分布が確認された。 段々依存的な影響が確認され	陽性 Vedisp: TK6, リンパ球, BeWo, Cos-1, Kupffer細胞 UPdisp: 16HBE14o, HCEC, TK6, Cos-1, HEK293, 肝細胞 DNA損傷の誘発は、NPの構築, ばく露時間, 濃度と関連している。 陽性の濃度-反応相関の証拠が弱い。細胞株間で用量反応相関に有意差なし。 TiO2NPsのVedispでは、細胞毒性非存在下で有意なレベルのSSBsが誘導された。	Reliability: 1 結果の詳細は本出版物において報告されていないが、他の出版物にて確認することができる。	High			Cowie et al., 2015
110	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 Caco-2細胞	50 µg/mL ばく露: 6, 24, 48 時間 tail DNA%の測定 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: なし 細胞生存率: ばく露24時間後のMTTアッセイ (0-200 µg/mL)	1) TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型 (95/5%), 12 ± 3 nm (TEM) [A12] 2) TiO2NPs ルチル型/アナターゼ型 (90/10%), 22 ± 4 (TEM) [R20]	NSC: 1 ばく露条件下での分散性, 安定性を測定。特にR20で不安定な凝集体の存在が確認された。細胞への取込みが測定された。 R20は水中及び媒体中で高い凝集度を示す >1000 nm, Pdi >0.8	陰性 SB (銀切断) やalkali labile sitesの誘発はない 過度の細胞毒性はない	Reliability: 3 一用量試験 陽性対照なし R20の高い凝集が存在し、結果の信頼性に影響を与えた	Low			Dorier et al., 2015
111	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/ - Fpg Caco-2 細胞 Caco-2 細胞及び HT29-MTX mucus-secreting細胞の共培養 ROSの定量 (CAT, GSR, SOD1 and 2) 遺伝子発現	ばく露: -急性ばく露: 6, 48時間, 10, 50 µg/mL -反復ばく露: 3 週間 (2回/週), 10, 50 µg/mL 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: Fpgの試験系のH2O2 検証: リボフラビン+UVAにばく露したA549細胞 3回繰り返し % tail DNAの測定 細胞毒性: -Caco-2細胞: WST-1アッセイ, 0-200 µg/mLに6時間又は	1) E171, >95% アナターゼ型, 118 ± 53 nm % of NPs 30-55% (5バッチを分析) 2) TiO2NPs, アナターゼ型, 12 ± 3 nm (TEM) [A12] 3) TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 ばく露条件下での分散性, 安定性を測定。小さな凝集体が存在する可能性があるが、48時間まで良好な安定性が確認された。細胞への取込みが測定された。	急性ばく露: 陰性 A12XはE171にばく露したCaco-2XはCaco-2/HT29-MTX: Fpgの有無にかかわらず、有意なDNA損傷はみられなかった。 反復ばく露: 陰性 E171にばく露したCaco-2: Fpg感受性部位が有意に増加した。 E171にばく露したCaco-2/HT29-MTX細胞: 50 µg/mLでFpg感受性部位が有意に増加した。 陰性: 単培養, 共培養ともに銀切断は増加しなかった。 急性濃度のE171に48時間ばく露したCaco-2細胞では、試験したすべての濃度で細胞内ROS含量が有意に増加した。Caco-2/HT29-MTX細胞においても、3つの	Reliability: 3 結果が十分に報告されていない。 %tail DNA は、コントロールセルの %tail DNAと比較した倍率変化として表された。 ばく露群では絶対値が報告されており、自然損傷を評価することはできない。	Low 急性ばく露試験ではDNA銀切断とFpg感受性部位の増加、慢性ばく露試験ではDNA銀切断が単培養と共培養の両方で陰性であった。 単培養では用量で陽性、Fpg感受性部位がわずかに増加したが、慢性ばく露試験では共培養で50 µg/mlの場合のみ陽性であった。 DNA 損傷は陰性対照からの変化率として報告された (処理群, 陰性対照, 陽性対照の絶対値は不明)。適用されたばく露濃度は、「ヒトが1日に受けると推定されるTiO2ばく露量を約10,000倍上回った」。	Health CANADAでは、ばく露時間が異なるようです Acute: exposed to E171 at concentrations of 10 or 50 µg/ml for 6, 24 or 48 hours; DNA 損傷は陰性対照からの変化率として報告された (処理群, 陰性対照, 陽性対照の絶対値は不明)。適用されたばく露濃度は、「ヒトが1日に受けると推定されるTiO2ばく露量を約10,000倍上回った」。	Dorier et al., 2017	
112	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/ - Fpg Caco-2細胞/HT29 MTX 共培養 その他の試験: ROS, 8-oxo-dGuo (HPLC, MS/MS), 遺伝子発現 (DNA修復など), DSB及び53BP1 foci count	50 µg/mL ばく露: 24時間 (comet) 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: MMS for SSBs Fpgテスト検証: リボフラビン+UVAにばく露したA549細胞 tail DNA (%) の測定 HPLC/MS-MSによる8-oxo-dGuoレベルの測定	1) E171, 118 ± 53 nm 2) TiO2NPs, アナターゼ型, 12 ± 3 nm [A12] 3) TiO2NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 分散はばく露条件下で測定した。DLSを用いて分散性はあるが安定性がないレベルを実証した。	陰性 試験濃度において、SSB及びFpg感受性部位は検出されなかった。 200 µg/mLまで生存率に影響はみられなかった。 53BP1 foci immunostainingを介して検出されたDSBの有意な増加はなかった。 8-oxodGuoレベルの有意な増加はなかった。 ROSレベルは有意に増加した。	Reliability: 2 一用量試験	Limited DNA二本鎖切断について陰性 (+/- S9) (細胞内の53BP1免疫染色および8-oxo-dGuoレベルによって測定); DNA修復メカニズムが影響を受けたという証拠はない。 6時間後 または 48 時間後における細胞毒性の証拠はない。 粒子の細胞への取り込みは確認されていない。 単一濃度のみの評価である。	Dorier et al., 2019		

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
113	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 -/+ Fpg A549 (ヒト肺癌基底上皮腺癌細胞) TK6 (ヒトリンパ芽球様細胞)	0.01 - 75 µg/cm2 (A549)(0.14-140 µg/mL) 0.14 - 140 µg/mL (TK6) 3時間又は24時間ばく露 (comet) tail DNA (%) の測定 陽性対照: H2O2 (SB) Ro19-8022 + 可視光 (Fpg感受性部位) 細胞毒性: アラマブルー 生存率・増殖率・形成効率 (9-12日)	TiO2 (NM-100), アナターゼ型, 50-150 nm	NSC: 1 Nanogenotoxプロトコルに従い分散性と安定性を検討し、溶媒 (懸濁液にBSAを使用) 中で測定した。24時間までの良好な分散性と安定性が確認された。	陽性 3時間ばく露で用量依存的なDNA損傷がSBとFpg感受性部位の両方でみられた。24時間では減少した。 A549細胞では、TK6細胞よりも損傷が顕著であった。 細胞毒性: A549細胞: 細胞生存率に影響なし。 TK6: 3時間後に生存率がわずかに低下し、24時間後には回復した。	Reliability: 1	High			El Yamani et al., 2017
114	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験, HeLa細胞	50及び200 µg/mL ばく露: 48時間 全細胞と単離した核の比較 細胞毒性アッセイ - MTT 細胞内への取込み 目視によるスコアリング 陽性対照: H2O2	TiO2NPs, 20.3±2.1 nm (TEM) (結晶型不明)	NSC: 2 分散と安定性についての情報は不十分だが、難溶性物質に対する試験デザインは適切である。NPsの細胞内への取込みが測定されたが、画像の報告はない。	陽性 50 µg/mL 及び 200 µg/mL で DNA SBs が増加した。これらの濃度では、細胞毒性は観察されなかった。	Reliability: 2 実験の詳細は与えられていない。 二用量のみ	Limited			Ferraro et al., 2016
115	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg Caco-2細胞/ HT29共培養	0, 12.5, 50, 150, 350 µg/mL ばく露: 24 及び 48時間 陽性対照: MMS 及びKBrO3 生存率: 増殖試験	1) TiO2NPs, アナターゼ型, 70-80 nm (TEM) 2) TiO2NPs, ルチル型, rods, 40-70 nm (TEM)	NSC:1 Nanogenotoxプロトコルに基づき、溶媒 (懸濁液にBSAを使用) での分散性を測定。凝集体の存在を確認し、48時間まで良好な安定性を測定した。細胞への取込みと移行が測定された。	陽性 24時間後の生存率は80%以上。48時間後には低下したが70%以上であった。 DNA SBは、用量依存的に24時間で統計的に有意に増加し、48時間ではアナターゼ型より減少した。 ルチル型は、12.5, 50, 150 µg/mLで24時間、すべての用量で48時間において統計的に有意な増加がみられた。 Fpg感受性部位は、両試験とも有意な増加は認められなかった。	Reliability: 1	High			Garcia-Rodriguez et al., 2018
116	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 1人のドナー由来PBMCs 測定: - 抗酸化酵素 - ROS - 酸化ストレスマーカー	50, 100, 250, 500 ppm (50, 100, 25, 500 µg/mL) ばく露: 1時間 細胞毒性試験: 赤血球 (haemolysis) tail length測定 陽性対照: なし	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 17.8 nm (XRD), 46-60 nm (TEM)	NSC: 3 分散に関する情報が不十分。	陽性 溶血: 50 ppm から濃度依存的 (250 ppm で 52.5%) 。 DNA損傷は50ppmから濃度依存的に増加した。 細胞毒性濃度で DNA 損傷がみられた。 酸化ストレスマーカー: 濃度依存的なカタラーゼ (CAT) , SODの増加, 脂質過酸化 (LPO): 濃度依存的なMDAの増加 GST, GSH: 濃度依存的な活性低下	Reliability: 3 限られた実験の詳細 不適切なデザイン: - ばく露時間が1つのみ、短過ぎる。 - 陽性対照なし。	Low			Khan et al., 2015
117	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg HT-29 (ヒト大腸腺癌細胞)	0, 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL ばく露: 24時間 細胞への取込み: 24時間 細胞毒性: トリパンプブルー 及びMTT 陽性対照: H2O2	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散プロトコルを適用し、全用量における細胞取込みを定量化した (ICP-MS) 。最高用量は細胞取込みのプラトー付近だと考えられる。	陽性 細胞毒性: トリパンプブルー、MTT ともに影響なし。 8及び10 µg/mL では、DNA SBs に統計的に有意な増加はみられなかった。 fpg存在下, 8及び10 µg/mLでDNA SBsの増加。 細胞への取込み: 金属含有量の有意な増加。 アポトーシス: すべての濃度で同程度のレベルで、% early 及び late アポトーシス細胞の有意な増加がみられた。	Reliability: 1 Fpg 感受性部位の評価に用いる陽性対照としてH2O2は適していない。	High			Schneider et al., 2017
118	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 NIH/3T3 マウス線維芽細胞 SVK14ヒトケラチノサイト BJヒト線維芽細胞 (foreskin) ROS産生	TiO2 NPs IC50: 508.6-5659.8 µg/mL ばく露: 1時間 (ROS), 6 時間 (コメット試験, ミトコンドリア膜電位変化, 細胞周期決定) 24/48 時間 (MTT, Raman spectroscopy) 生存率 (MTT) 3試験	1) TiO2NPs, 28 nm (結晶型不明) 2) TiO2NPs ("Nanorutil"), 128 nm	NSC: 1 両方の試験物質において、粒子の特性評価と細胞内への取込みをラマン分光顕微鏡で確認し、細胞内で凝集体を観察した。	Inconclusive IC50はTiO2 NPsサンプルと細胞株によって500から5700 µg/mLの範囲。 TiO2NPs (28 nm) (より高いIC50): NIH/3T3細胞で顕著な損傷。 TiO2NPs ("nanorutil"): ほとんど損傷なし。 TiO2 NPs (28 nm) で最も高いDNA SBs。 細胞内ROSの生成: TiO2NPsはすべての細胞株でIC50濃度で有意な効果を示した。 アポトーシス: すべてのTiO2NPsのIC50濃度で、SVK14細胞株を除くすべての細胞株で有意な増加がみられた。	Reliability: 3 実験の詳細がほとんどない。 単一のばく露時間時点が用いられた。 非常に高い IC50 細胞毒性濃度での試験 陽性対照の報告なし	Low			Tomankova et al., 2015
119	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg Caco-2細胞 (分化及び未分化)	10, 25, 100 µg/mL (生細胞増殖の結果に基づく) ばく露: 24時間 取込み 生存率: 処理24時間後に細胞測定 陽性対照: MMS 及びKBrO3 tail DNA (%) の測定	TiO2 (NM-100), アナターゼ型, 50-150 nm	NSC: 1 Nanogenotoxプロトコルに基づき、分散と安定性を測定。NPの細胞内への取込みが確認された。	あいまいな結果(Equivocal) 1-200 µg/mLの範囲で80%以上の生存率 10 µg/mLでは、SBがわずかに増加し、Fpg感受性部位が減少した。高濃度では、SB及びFpg感受性部位の増加はみられなかった。	Reliability: 1	Limited			Vila et al., 2018
120	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 A549 ヒト肺癌基底上皮腺癌細胞 + 形態学的変化, 細胞周期進行 (PI染色によるフローサイトメトリー) , ミトコンドリア膜電位及びアポトーシスの解析	0, 50, 100, 200 µg/mL (0, 13, 26, 52 µg/cm2) ばく露: 48時間 陽性対照: なし Tail length測定: OTM及びtail DNA (%) 生存率 (MTT): 24, 48, 72時間ばく露 (25, 50, 100, 200 µg/mL) 形態学的変化: 顕光顕微鏡, SEM	TiO2NPs, アナターゼ型, 15 nm (TEM)	NSC:2 ばく露条件下で分散を測定した。その結果、凝集が示唆されたが、FBSの存在下では凝集は安定であり、サイズは100nm以下であった。	陽性 生存率: 50 µg/mL, 24, 48, 72 時間で影響がみられた (100 µg/mL では 80% 生存率以下) 。 濃度及び時間依存的な細胞増殖の抑制。 50 µg/mL 以上で DNA SBs の有意な増加。 50及び100 µg/mLでの細胞の形態学的変化。 (細胞収縮の典型的なアポトーシス形態学的変化)	Reliability: 1	Limited 試験物質との関連性は明確ではない			Wang et al., 2015

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
121	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 Caco-2細胞 + アポトーシス	50, 100, 200, 500 µg/mL ばく露: 24時間 細胞生存率: Calcein AM/propidium iodide染色 (CCK-8kit アッセイ) 陰性対照: 未処理細胞 陽性対照: UV OTM as descriptor 3試験	TiO2NPs, アナターゼ/ルチル型 (95/5%), 15 ± 3 nm (SEM)	NSC: 2 ばく露条件下で分散を測定した。凝集が確認され、凝集体の大きさは用量依存的に増加した。著者らは、高用量濃度ではより大きな凝集体が形成され、ばく露が制限されることが見かけ上の非単調な反応と関連している可能性を示している。	陰性 DNA 損傷なし (SB)。 生存率: 24時間又は48時間では影響なし。 アポトーシス: 50及び100 µg/mLのTiO2-NPsにばく露した細胞でわずかに増加。	Reliability: 3 実験の詳細はほとんど与えられていない。 コメット試験 (UV)の不適切な管理	Low			Yang et al., 2018
122	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 6人のドナー由来の全血白血球	0.4, 0.8, 1.2, 4, 8 mg/mL (i.e. up to 100 mM). アガロースに埋め込んだ細胞を、NPで1時間処理 陽性対照: H2O2 6試験 生存率: トリパンブルー	TiO2NPs, アナターゼ型, 45 A (4.5 nm)	NSC:3 ばく露条件下での分散・凝集に関する情報提供が不十分。	Inconclusive 非常に高濃度であったが、生存率は90%以上であった。濃度に依存したSBsが実質的に増加した有意差はなかった(おそらく crudeなスコアリング方法のため)。	Reliability: 3 実験の説明の詳細が不十分 短期かつ単一のばく露時間が用いられた。 非感受性の視覚的採点システムを使用 (明らかに、あらゆるレベルの損傷を伴う様様	Low			Lazic et al., 2019
123	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg HEK293 (ヒト胚性腎臓) NIH/3T3 (マウス胚性線維芽細胞)	抗酸化剤: 10, 100, 1000 µg/mL ばく露: 1時間 陰性対照: 水 陽性対照: EMS 独立した2試験	1) TiO2 NPs, アナターゼ型, 21 nm (TEM) 2) TiO2 NPs, アナターゼ型, 50 nm (TEM) 3) TiO2超微粒子 (詳細不明)	NSC:1 Nanogenotoxプロジェクトに準拠した分散プロトコルで、媒体中での分散を測定し、一部凝集が確認された。分散剤にはBSAを使用した。	Inconclusive 生存率: 1000 µg/mLでHEK293が82%, NIH/3T3が85%。 TiO2 NPs: 陽性, 超高濃度 (1000 µg/mL) のみでSBを誘導。 TiO2超微粒子化: 陰性 結果は、使用した両細胞株で同様であった。	Reliability: 2 短期かつ単一のばく露時間が用いられた	Low Inconclusiveの結果			Demir et al., 2015
124	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg, ±light. Mini- gels. 不活化ヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B細胞)	1, 5, 15 µg/mL ばく露: 3時間, 24時間 Light exposure after lysis 50 細胞のスコア/サンプル tail DNA (%) の測定 陽性対照: Ro 19-8022 光増感剤+光照射 生存率: アナターゼ型	TiO2 (NM-100), アナターゼ型, 50-150 nm	NSC:1 NanoREG プロジェクトに基づき、溶液中の分散性、安定性を測定。 一定の凝集が確認された。間接的な方法 (フローサイトメトリ) で細胞の取込みを確認し、凝集体の細胞内への取込みを裏付した。	Reliability: 1 SBの誘導: 陰性 Fpg感受性部位への誘導: 陽性。 生存率-わずかな影響のみ; 常に80%以上であり、48時間では有意な影響はみられなかった。 3時間後、24時間後ともにSBの増加はみられなかった。 3時間後、2つの高用量においてFpg感受性部位が増加した。 光照射後、SBの増加がみられた。	Reliability: 1	High			Di Buccianico et al., 2017
125	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト臍帯静脈内皮 HUVECs細胞 + ROS測定	1, 5, 25 µg/mL ばく露時間: 4時間 各濃度を3回に分けて調製 細胞内ROS (DCFDAプローブ) 及び抗酸化物質産生の測定: 24時間後 GSH測定 (Sigma kit): 24時間 細胞毒性 (CCK-8 assay): 24時間 – results described in Zeng C, Feng Y, Wang W, et al Environ Toxicol. 2018;33(12):1221-1228 陽性対照: なし	1)TiO2 NPs, アナターゼ型, 100 ± 14.3 nm 2)TiO2 NPs, アナターゼ型, 50 ± 7.6 nm 3) TiO2 NPs, アナターゼ型, 30 ± 5.1 nm 4)TiO2 NPs, アナターゼ型, 10 ± 2.3 nm	NSC: 2 細胞培地中で行う超音波処理。分散性、安定性の実測値は報告されていない。	陽性 コメット試験: 1 µg/mLのTiO2 NP (100 nm) を除くすべてのTiO2サイズの全用量において、有意な影響 (OTM) (用量依存性、サイズ依存性の効果関係 (T100 < T50 < T30 < T10)) がみられた。 細胞毒性: 試験した最低用量 (1 µg/mL) から有意な影響がみられた。 ROSの有意な生成: 用量依存性、サイズ依存性。	Reliability: 2 陽性対照なし DNA OTMとして報告された損傷 分散に関するデータは提供されていない。 細胞内在化に関するデータは提供されていない。	Limited			Liao et al., 2019
126	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 PBMC1 (健康人及び肺疾患ドナー: 肺がん (w/o chemotherapy), 閉塞性肺疾患 (COPD), 喘息)	Comet: DNA損傷と修復 - 30分間処理し、その後30分間培養 用量: 10, 30, 50 µg/mL. 陰性対照: 溶媒 陽性対照: H2O2 Gopalan, 2009 によるコメット法 1スライドあたり50細胞をスコア化。実験は3回繰り返した。	TiO2 NPs, アナターゼ型, 40-70 nm (SEM)	NSC:2 DLS測定について記載がある結果の報告がない。DNMSO中での超音波処理と精密な過 (0.2 µm) が行われたが、培養液中での実測値については十分な情報がない。	健康なドナー: Inconclusive tail DNAの割合に有意な増加はみられなかったが、30及び50 µg/mLのOTMを使用することで有意に増加した。 肺疾患ドナー: 陽性 30又は50 µg/mLでtail DNAの有意な増加がみられた。 OTM使用時: 呼吸器疾患患者において、健康者と比較して有意なDNA SBがみられた	Reliability: 2 30分間の短期ばく露が用いられた。 NPの安定性に関するデータは提供されていない。 内在化に関するデータは提供されていない。	Low 評価は健康なドナーから提供された細胞に焦点を当てていた。 30分間の短期ばく露が用いられた。			Osman et al., 2018
127	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg BEAS-2B 正常気管支肺細胞	1, 10, 20 µg/mL ばく露時間: 24 時間, 1週間, 3週間 陽性対照: EMS (0.5 mM). Soft-agar anchorage- independent colony formation assay (発がん性): 4 週間ばく露 tail DNA (%) の測定	TiO2NPs (NM-102), アナターゼ型, 21-22 nm	NSC: 1 Nanogenotoxプロトコルに従い分散を検証し、TEMで細胞内へ取込みを確認した。個々の粒子と一定の凝集が観察され、細胞内のNPと凝集物も観察された。	陰性 Fpg酵素を用いた場合も、24時間後にDNA SBは検出されなかった。 1週間及び3週間のばく露後、一次及び酸化的DNA損傷レベルの有意な増加はみられなかった。 コロニー形成アッセイでは、細胞毒性は認められなかった。 TEMによる細胞への取込み: BEAS-2B細胞において、用量及び時間依存的な細胞	Reliability: 1	High			Vales et al., 2015
128	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 V-79	0, 1, 10, 25, 50, 100 µg/mL ばく露: 6時間 陽性対照: なし 粒子の取込み: 0, 10, 50, 100 µg/mL 細胞毒性: MTT試験 (3, 6, 24時間): 1, 10, 25, 50, 100 µg/mL Flow cytometry with PI staining (6, 24時間) 粒子の取込み: FACS – 6 h; TEM/EDX – 2, 4, 6, 24時間 ROS産生 (6時間): 1, 10, 25, 50, 100 µg/ml	TiO2NPs, アナターゼ型, 12-25nm (TEM)	NSC: 1 NPsを懸濁し超音波処理を行った後、cDMEM ばく露媒体中の分散を測定したが、測定時間が示されていない (0時間又は24時間)。 小さな凝集体の存在が確認された。細胞への取込みを測定し、NPsと凝集体の内在化を確認した。	陽性 コメット試験: 25, 50, 100 µg/mLで、DNA tail (%)とOTMの有意な増加が観察された。 濃度ごとにわずか 50 セルのスコアリング (25cell/slides) 陽性対照なし。 TEMによるTiO2NPの細胞内への取込みと局在の評価では、TiO2NPsが時間依存的に出現し、細胞内に局在していることが明らかになった。核やミトコンドリアへの移行は不明であった。SEM/EDX分析により、内化が確認された。 10 µg/mLから用量依存的にROSの産生を増加させた。 細胞毒性: MTTアッセイでは、10 µg/mLでは24時間後、25及び50 µg/mLでは6及び24時間後に、100 µg/mLでは3, 6, 24時間ばく露後において、% MTTが統計的	Reliability: 2 6時間のばく露が用いられた。 濃度ごとにわずか 50 セルのスコアリング (25cell/slides) 陽性対照なし。	Limited			Jain et al., 2017
129	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 マウスマクロファージ細胞株 RAW 264.7	10, 25, 50, 75, 100 µg/mL ばく露時間: 24時間 細胞毒性 (24時間): resazurin 10, 25, 50, 75, 100 µg/mL 陽性対照: なし 100 コメットのスコア/用量	TiO2 NPs, 58.25 ± 8.11 nm, (SEM) (結晶型不明)	NSC: 3 分散に関する情報の提供が不十分。	陽性 コメット試験: 全パラメータで用量依存的に有意に増加した。 細胞毒性: 用量依存的に細胞生存率が有意に低下した (100 µg/mL で 37%, 10 µg/mL で 78%)。	Reliability: 2 陽性対照なし 内在化に関するデータは提供されていない。	Limited			Chakrabarti et al., 2019
130	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト半水細胞	10 ³ µg/L TiO2NPs ばく露時間: 48及び72時間 陽性対照: H2O2 Including diffusion assay (i.e. コメット試験 w/o electrophoresis) 細胞毒性: トリパンブルー	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 溶液中の超音波処理 (3時間) と凝集度測定に用いたUVスペクトル	Inconclusive (高い細胞毒性のため) コメット試験: 48時間及び72時間のばく露後、DNA損傷が有意に増加した。 拡散アッセイ: 48時間及び72時間のばく露後、羊膜細胞のアポトーシスが有意に増加した。 細胞生存率: 48時間及び72時間のばく露により、羊膜細胞の生存率が有意に低下した (約半分)	Reliability: 3 一用量試験 採点された細胞数に関する情報なし 高い細胞毒性	Low			Mottola et al., 2019

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
131	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト精子細胞	1 µg/L 及び 10 µg/L ばく露時間: 15, 30, 45, 90分 細胞毒性 (15, 30, 45, 90 分): 精子の生存性と運動性 陽性対照: ベンゼン	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散と安定性を確認するための具体的プロトコル, EMIによる粒子へのばく露の確認. 90分まで安定性が確認され, それ以上のばく露時間では凝集が観察された. EMIにより細胞内にナノ粒子と小さな凝集体が存在することを示した.	陽性 コメット試験: 用量依存性の有意な増加. DNA tailは15分間ばく露することにより, 用量依存的に有意に増加した. 精子の運動性: 1 µg/L と 10 µg/L に 15 分間, 30 分間, 45 分間, 90 分間ばく露した.	Reliability: 3 採点された細胞数に関する情報なし ベンゼンはコメット試験の陽性対照として適していない.	Low			Santonastaso et al., 2019
132	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg及びEndo III Balb/c 3T3 (マウス胚性線維芽細胞)	コメット試験 (2, 24, 48, 72時間ばく露) 10, 20, 40 µg/cm2 (32, 64, 128 µg/mL); with EndoIII and Fpg enzymes (2及び24時間) 細胞毒性: コロニー形成能率 (24, 48, 72時間ばく露) - 10, 20, 40 µg/cm2 陽性対照/ H2O2 取込み測定	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散性 (DLS) は脱イオン水とcMEM培地で報告され (0-72時間), 細胞への取込みはEMで確認された. cMEMにより, コーティングされていないTiO2 NPsは, 0時間後にすでに高いレベルの凝集が観察された. 24時間後の細胞内における凝集体の取込みが	陽性 コメット試験: 2時間及び24時間の処理後, TiO2NPs (P25) は一次DNA損傷の有意な増加を誘発した. 48時間及び72時間後のDNA損傷のレベルは非常に低くコントロールレベルであった. TiO2NPs(P25)は, 2時間後及び24時間後の低濃度において, すべての試験濃度でFpg感受性部位を有意に増加させた. すべての濃度において, Endo III感受性部位が統計的に有意に増加した. 2時間後のTiO2NPs(P25)の濃度で統計的に有意な増加がみられた.	Reliability: 1	High			Stocco et al., 2016
133	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg TH1 (ヒト腎臓近位尿管上皮細胞株)	コメット試験 (3, 24時間): 2.2, 22, 165 µg/mL (1, 10, 75 µg/cm2); static and dynamic conditions. DNA銀切断の陽性対照: なし Fpg酸化的損傷の陽性対照: RO 19-8022 細胞毒性 (3, 24時間): アラマープブルー	TiO2NPs, 5- 10 nm (TEM) (結晶型不明)	NSC: 1 分散性と安定性が測定, 報告された. NPや凝集体の細胞内への取込みを定量的に確認(ICP-MS).	陰性 コメット試験: static及びdynamic条件下で, DNA銀切断及び酸化的DNA損傷の有意な増加は認められなかった. 細胞毒性: 3時間後及び24時間後に影響はみられなかった. TiO2 NPs (2.2 µg/mL, 24時間)の取込み効率: 0.389% (全適用濃度).	Reliability: 2 実験と複製が何回試験されたか明らかにない	Limited			Sramkova et al., 2019
134	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- OGG1 (酸化的DNA 8-OHグアニン損傷) ヒト繊維芽細胞 (GM07492)	0.01, 0.1, 1, 10 µg/mL 細胞毒性は100 µg/mLまで測定 ばく露: 24時間 harvesting times (0, 24, 48, 72時間) 陰性対照: 溶媒 陽性対照: メタンスルホン酸メチル(MMS)及び臭素酸カリウム(KBrO3) tail DNA (%) の測定 ミトコンドリア活性 繊維芽細胞のミトコンドリア活性をXTT試験で評価し, 間接的に細胞生存率を測定した. XTT試験の結果は, ViaCount試験によって確認された.	TiO2NPs, 28-49 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 1 ばく露条件下 (FBS添加懸濁液) で測定した分散度. 特に24時間後, 凝集体が存在する可能性がある. 細胞への取込み 濃度依存的なNPと凝集体の取込みが確認された.	陰性 Genotoxicity: コメット試験 +/-OGG1: 陰性. 細胞毒性: 10 µg/mLまで細胞生存率に有意な低下はみられなかったが, 100 µg/mLで有意に減少した. 細胞質で自由に凝集体が観察された. フローサイトメトリー(SSC): GM07492細胞におけるTiO2NPsの取込みレベルに対する明確な用量依存的な影響がみられた.	Reliability: 1	High			Franchi et al., 2015
135	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg ヒト気管支上皮BEAS-2B細胞	0, 0.1, 1, 10, 100 µg/mL ばく露: 24時間 陰性対照: 未処理 陽性対照: H2O2 for SB 分析: 100 randomly selected Comets tail DNA (%) の測定 細胞生存率: トリパンブルー	TiO2 (NM-100), アナターゼ型, 50-150 nm	NSC: 1 NANOGENOTOXプロジェクトの分散プロトコル. 細胞内への取込みの確認.	陽性 1 µg/mL から tail DNA (%) が有意に増加し, 1 µg/mL と 10 µg/mL で Fpg 陽性部位が有意に増加した. 細胞毒性: 細胞生存率の低下はみられなかった.	Reliability: 1 Fpg の陽性対照 がない	High			Zijno et al., 2020
136	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト精子細胞 (125健康者 = pooled sample)	1 µg/L ばく露: 15, 30, 45, 90 分間 陰性対照: 未処理 陽性対照: ベンゼン tail DNA (%) の測定 TUNEL: 断片化したDNAを有する精子%	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 分散を溶媒中で測定したが, どの基準も完全に満たせなかった.	陽性 30分, 45分, 90分後のtail DNA (%) の有意な増加. TUNEL: DNA fragmentation indexの有意な増加.	Reliability: 3 採点された細胞数に関する情報なし ベンゼンはコメット試験の陽性対照として適していない. 一用量試験 短いばく露時間 取込みはなく, 細胞外の凝集率のみが示された.	Low			Santonastaso et al., 2020
137	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト乳腺癌細胞 (MCF-7細胞)	コメット試験 1, 10, 100 µg/mL nano-TiO2 コメット試験のばく露: 12時間 細胞毒性試験のばく露: 6, 12, 24, 48時間 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 µg/mL nano-TiO2 陰性対照: 未処理 陽性対照: なし 細胞毒性: 水溶性テトラゾリウム(WST)アッセイによる測定	1) TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 56 nm (TEM) 2) TiO2, アナターゼ型, 325 mesh.	NSC: 2 分散に関する情報が不完全. SEMが提供されているが内在化について記載がない. DLSの結果が提示されているが, PBS又は溶媒のどちらで実施されたかは不明.	陽性 TiO2NPs: 10 µg/mL (約30%細胞毒性) 及び100 µg/mL (50%細胞毒性) において, tail DNA (%) が有意に増加, 100 µg/mLにおけるcomet areaが有意に増加. TiO2: 100 µg/mLでtail DNA (%) 及びcomet areaが有意に増加. 細胞毒性: TiO2NPsへのばく露により, 6時間で20 µg/mL, 12時間で5 µg/mL, 24時間で5 µg/mL, 48時間で2 µg/mLの生存率が有意に低下した. アポトーシス (10, 50, 100, 200 µg/mL) 及びネクロシス (50, 100, 200 µg/mL) の増加.	Reliability: 2 陽性対照なし, コメット試験の手順に関する情報なし (Tice et al, 2000 のみ参照).	Limited			Kumar et al., 2020
138	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg 2D monolayer and 3D spheroid cultures of HepG2 human 肝臓 cells	0, 1, 10, 30, 75 µg/cm2 (0, 2.82, 28.2, 84.8, 212 µg/mL) ばく露: 24時間 陰性対照: 未処理 陽性対照: H2O2 for SB and Ro 19-8022 plus light for Fpg positive sites tail DNA (%) の測定 細胞毒性: アラマープブルー 及び共焦点顕微鏡	TiO2NPs, アナターゼ型, 5.45 nm (TEM)	NSC: 2 分散が考慮されている. 限定的な情報.	陰性 細胞毒性はなく, DNA SBやFpg 陽性部位の増加もなし	Reliability: 1	High			Elje et al., 2020
139	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 ヒト気管支上皮細胞(HBE), Caco-2細胞, 単球細胞 (THP-1) +ROS産生	0, 5, 25, 50, 100 µg/mL ばく露: 24時間 陰性対照: BSA 陽性対照: MMS 50 comets/wellの分析 3試験 tail DNA (%) の測定	1) TiO2NPs (JRCNM10202a), アナターゼ型, 17 nm 2) TiO2 (JRCNM102200a), アナターゼ型, 117 nm	NSC: 1 NANOREG プロトコルと詳細な分散評価.	TiO2NPs (17nm) 及びTiO2 (117nm) で異なる細胞株における陽性反応がみられた HBEとCaco-2細胞: TiO2NPs 17 nm-LAと17 nm-SA, TiO2 117 nm-LAと117 nm-SAに差はない. THP-1細胞: TiO2NPs 17 nm-LAはTiO2NPs 17 nm-SAより強力, TiO2 117 nm-LAと117 nm-SAとの間には差はない	Reliability: 1	High			Murugadoss et al., 2020

EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価										Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価			
No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献	
140	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 大腸がん細胞株 HT29- MTX-E12	0, 0.5, 5, 50 µg/mL ばく露: 48時間 陰性対照: 未処理 陽性対照: EMS及びMMS Measure of tail intensity 細胞生存率: MTS試験	1) E171, アナターゼ型, 170 nm 2) TiO2NPs, アナターゼ型, < 25 nm	NSC: 2 プロトコルは意図的に大きな凝集を受け入れている。ばく露媒体中の凝集に関する情報は提供されていない。	Inconclusive (内在化の実証がない陰性) 24時間又は48時間後のE171及びTiO2NPsの低い細胞毒性 (コントロール値と比較して88%以上)。	Reliability: 3	Low			Franz et al., 2020	
141	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (マウスリンパ腫 L5178Y 細胞) TiO2の光遺伝毒性を評価	WA, WR, TP-3: 50-3,200 µg/mL (- S9) p-25: 12.5・800µg/mL UV/vis光の存在下および非存在下 (UV/vis光のスペクトルは太陽自然光とほぼ同等) TiO2粒子とともに陰所で1時間培養後、細胞を0.61 J/cm ² , 1.25 J/cm ² , 2.50 J/cm ² , 5 J/cm ² で50分間 UV/vis 光で照射。その後20時間培養	1) TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm [バネルは、著者が試験物質をアナターゼと記述していることに留意] 2) TiO2, アナターゼ型, 255 nm [WA] 3) TiO2, ルチル型, 255 nm [WR] 4) TiO2, ルチル型, 420 nm [TP-3]	NSC: 3 分散に関する情報がない。	陽性: WAは3,200 µg/mLでDNA損傷を誘発した。UV/vis存在下では、より低濃度において影響が見られた。 P25およびTP-3は、それぞれ12.5, 200 µg/mLの濃度でUV/vis照射とTiO2ばく露を行った場合のみ、平均tail lengthの増加を誘発した。 陰性: WR (50-3200 µg/mL)とUV/vis照射の併用または併用しない場合光遺伝毒性を誘発する濃度では、細胞生存率が低下してい他。	Reliability: 2 陽性対照なし。 結果の統計的解析が行われていない (実験は繰り返し行われず、各処理に単一の培養物のみが使用されたとみられる)	Limited		Nakagawa et al., 1997		
142	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 陰性対照: DNA 損傷および酸化の両方) ヒト膀胱 II 型様細胞株 A549	40, 20 µg/cm ² (40, 80 µg/mL), 4 時間 (- S9) 酸化的DNA損傷の解析: 酵素のホルムアミドピリミジン DNAグリコシラーゼを添加した場合と非添加しない場合の結果を比較 陽性対照なし	1)TiO2NPs, ルチル/アナターゼ型, 20-100 nm (TEM) 2) TiO2, ルチル型, 300-1,000 nm (TEM)	NSC: 2 凝集のレベルを確認するために提供されるた情報が限定的である。	1) TiO2NP 陽性: DNA 損傷が統計的に有意に増加した (40 µg/cm ²) 2) TiO2, ルチル型 DNA 損傷が統計的に有意に増加した (20 および 40 µg/cm ² で処理)。酸化的 DNA 損傷については TiO2NP と TiO2 の両方で酸化チタンの有意な増加が観察された。	Reliability: 2 光照射時間が単一の設定。 陽性対照なし。各サンプルについて、35個の細胞を2回試験した。	Limited		Karlsson et al., 2009		
143	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト気管支上皮BEAS-2B細胞) 細胞生存率: 48 時間の回復後のトリパン ブルーアッセイ	1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/cm ² 24, 48, 72 時間ばく露(- S9) 生毒性試験に基づき濃度を設定 陽性対照: 過酸化水素 サンプルあたり100細胞 (2反復、各50細胞/スライド) を分析 % tail DNAを測定	1)TiO2, rutileルチル型, <5,000 nm 2) TiO2NPs, アナターゼ型, < 25 nm	NSC: 2 高レベルの凝集が観察され、TEMにより分散液中のナノ粒子の存在が測定されたが、データは報告されていない。	TiO2NP: 陽性(限定的なエビデンス) TiO2: 陽性 アナターゼ型TiO2NPsによる処理は、すべての処理時間において80 µg/cm ² から細胞生存率を減少させた。72時間の処理後、約120 µg/cm ² で生存細胞数の50%が減少した。	Reliability: 2	Limited		Falck et al., 2009		
144	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (HEp-2細胞 (HeLa細胞系株)) 細胞毒性: ニュートラルレッドおよびMTTアッセイ (2, 4, 24時間)	10, 20, 50, 100 µg/ml, 4時間ばく露 (- S9) (繰り返し3回試験) 陰性対照: 未処理 陽性対照: 過酸化水素 各濃度50個の細胞を分析 3回の独立した実験を実施	TiO2NPs, アナターゼ型 (詳細情報なし)	NSC: 2 分散と安定性についての情報が不十分。	陽性: 濃度に依存して、DNA損傷 (OTMと% tail DNAに基づく) が統計的に有意に増加した。 濃度は生毒性試験 (すべての濃度で生存率70%および85%) に基づいており、100 µg/mLでは65%の生存率。	Reliability: 2 各濃度において、50個の細胞のみを分析。	Limited			Osman et al., 2010	
145	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/Fpg (ホルムアミドピリミジンDNAグリコシラーゼ修飾コメット: 酸化的DNA塩基損傷の検出、8-oxodG) ヒト表皮細胞株 (A431)	0.008, 0.08, 0.8, 8 and 80 µg/ml, 6時間 (- S9) 陽性対照: 過酸化水素(25 µM) 各試験について、無作為に選んだ50個の細胞 (各25個/スライド) の画像を分析 データ解析は、細胞単位ではなく試験単位で実施	TiO2NPs, アナターゼ型, 50 nm (TEM)	NSC: 1 凝集のレベルは検定で測定されたサイズ分布により確認した。EMおよびフロッサイトメリーによりばく露を確認した。	陽性: 0.8 µg/mL TiO2NPs, + Fpg および 8 µg/mL TiO2・Fpg の OTM および % tail DNA に基づく DNA 損傷が統計的に有意に誘導された。 細胞毒性: 48時間ばく露でやや有意な細胞毒性反応を示した。6時間および24時間のばく露では、有意な細胞毒性は見られなかった。	Reliability: 2 分析した細胞数が不十分である。	Limited		Shukla et al., 2011		
146	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (CHO-K1細胞) 細胞生存率: XTTアッセイ(24時間、48時間) 細胞周期解析: PI (フローサイトメトリ)	0, 10, 20 or 40 µg/mL, 60日間 2週で培養 溶媒: DMSO 陽性対照なし サンプルあたり75個の核を測定 (tail length)	TiO2NPs, アナターゼ型, < 25 nm (XRD)	NSC: 1 拡散に関する情報はないが、EMとTiの測定によりばく露が確認された。	コメット試験: 陰性 tail lengthの有意な増加は認められなかった (結果は対数変換して報告)。 XTT、トリパンブルー、コロニー形成アッセイ: 細胞生存率に影響なし。	Reliability: 3 陽性対照なし。細胞毒性は観察されなかった。慢性ばく露のみの評価。結果が対数変換として報告された。プロトコルの説明が不十分である。	Low			Wang et al., 2011	
147	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験またはヒト肺がん細胞 (A549)ヒト肺がん細胞 HPLCタンデム質量分析法 (HPLC-MS/MS) による8-oxodGおよびその他の酸化塩基損傷の検出	0, 100 µg/mL, 4, 24, 48時間ばく露 陽性対照なし 50個/スライド以上のコメットを分析, 繰り返し3回 8-oxodG: 100 µg/ml 4, 24, 48時間ばく露 MTTアッセイ: 25, 50, 75, 100 µg/ml	1) TiO2NPs, アナターゼ型, 12 nm (TEM) [A12] 2) TiO2NPs, ルチル型, 21 nm (TEM) [R20] 3) TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 21 nm (TEM)	NSC: 1 分散に関する情報は少ないが、EMによりNPの細胞内への取り込みが確認された。	細胞毒性: 48時間ばく露で、TiO2 NP [R20]、TiO2 NP [A12]、TiO2 NP [P25]、TiO2 NP [R20]、48時間ばく露したTiO2 NP [A12]: 陽性 8-oxodG: TiO2 NP [A12], TiO2 NP [P25]: 陽性 チオラクトン: TiO2 NP [R20]: 陽性 酸化塩基: 陽性	Reliability: 2 単一度のみの試験である。陽性対照なし。	Limited		Jugan et al., 2012		
148	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト羊膜上皮(WISH)細胞) 細胞毒性: MTT, ニュートラルレッド (NRU) カタラーゼ活性 GSHレベル ROS産生	コメット試験: 1 to 100 µg/mL 0.625-20 µg/ml, 6時間 陽性対照: EMS OTM, tail length, tail intensityの測定 細胞毒性, カタラーゼ活性, GSHレベル, ROS産生, 細胞周期の進行: 0.625-10 µg/mL, 24時間	TiO2NPs, ルチル型, 30 nm (TEM)	NSC: 1 2 番目に高い濃度の塩で粒の分布が報告され、EMによりばく露が確認された。構成粒子と凝集体の両方が観察された。	10, 20µg/mlでtail intensityの統計的に有意な増加が認められた (最高濃度で最大5倍、ただし10µg/mlまでは境界線上的効果)。 細胞毒性: NRUおよびMTTアッセイにおいて、10 µg/mLでそれぞれ42.5%および24.5%の細胞生存率の低下が見られた。 分析した細胞切片の85%以上で、内容されたTiO2NPsの凝集体が見られた。 カタラーゼ活性: 5, 10 µg/mlで統計的に有意な減少が見られた。	Reliability: 3 細胞毒性の測定は10 µg/mlまでで、20 µg/mlでは測定されていない。	Low		Saquib et al., 2012		
149	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト羊膜上皮(WISH)細胞) 細胞毒性: MTT, ニュートラルレッド (NRU) カタラーゼ活性 GSHレベル ROS産生	0, 50, 100, 150, 200 µg/mL, 24時間 陽性対照: MMS 3週の塩で実施 100細胞/スライドを測定 コメットの測定は tail lengths, width, intensity, (%) DNA in the tailで実施	TiO2NPs, アナターゼ型, 楕円形 (TEM), 10x 30 nm, 短軸 12.1 ± 3.2 nm	NSC: 1 分散に関する情報が複数あり、EDSを用いたTEMによりNPsのインターナリゼーションの確認とTiの同定を行っている。	コメット試験: 陰性 TK6細胞において、TiO2NPsの濃度依存的な細胞毒性が観察された。TK6細胞によるTiO2NPsの取り込みが確認された。200 µg/mLで約55%の細胞生存率が確認された。	Reliability: 1	High			Woodruff et al., 2012	

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
150	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (シリアンハムスター胚(SHE)細胞) 相対細胞数に基づく細胞毒性 (24時間または72時間暴露) 細胞への取り込み	0.10, 25, and 50 µg/cm ² , 24時間 (-S9) 陽性対照: MMS 細胞100個/スライドを分析 % DNA in tailの測定 1 µg/cm ² , 24時間 粒子懸濁液の希釈: 250 µg/ml	1) TiO2NPs, アナターゼ型, 14 ± 4 nm (TEM) 2) TiO2, アナターゼ型, 160 ± 48 nm (TEM), 3) TiO2, ルチル型, 530 ± 216 nm (TEM) 4) TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 媒体中で測定された分散度 (高い凝集度を示電) と EMによる細胞への取り込みが確認されたが、1 µg/cm ² のみであった。	陽性: 中程度の細胞毒性 最高濃度では、すべてのTiO2粒子がDNA損傷の増加を引き起こした。 TiO2 NPs (P25) のみが、すべての濃度で有意な効果を誘発した。最も高レベルのDNA損傷はアナターゼ型TiO2で見られ、TiO2NPsとTiO2の間に有意差はなかった。ルチル型TiO2は、最高濃度で有意なDNA損傷を誘発した。すべての試験物質はDNA損傷を増加させ、濃度依存的な細胞毒性が確認された。TiO2NPsはTiO2よりも有意に細胞毒性が高かった。 細胞への取り込みが認められ、TiO2NPsまたはTiO2は、個々の粒子および凝集体の形態で細胞に浸透することが示された。	Reliability: 1 無細胞系ROSアッセイ: 遺伝毒性エンドポイントを持った試験ではないが、メカニズムについては検討される可能性がある。 細胞内ROSアッセイ: 遺伝毒性に関するエンドポイントを持った試験ではないが、メカニズムに関して考慮される可能性がある。	High			Guichard et al., 2012
151	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg (DNA酸化損傷: 8-oxodG) (TK6細胞) 細胞毒性: トリパンプルーアッセイ 増殖活性 (24時間間隔での細胞数カウント)	0.12, 0.6, 3, 15, 75 µg/cm ² , 2および24時間 (-S9) (0.57, 2.9, 14.4, 72.0, 360.2 µg/ml NPsに相当) 陽性対照: 過酸化水素、光増感剤 Ro 19-8022 + 可視光線 % tail intensityの測定	TiO2NPs (NM-105), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	(DP1) NSC: 1 NanoTestプロトコルで凝集が確認された。 (DP2) NSC: 2 大きな凝集が確認された (ゼータ電位 30.2 mV)。 2種類の分散プロトコルを使用。 1) DP1: PBS中の牛胎児血清 (FBS) 中のTiO2NPs分散液を100 Wattで15分間超音波処理	DP1 (TiO2NPs, NanoTest project): アルカリ、Fpg処理 (2および24時間) ともに 陰性 (%tail強度) DP2 (TiO2NPs): コメット: 陰性 酸化ストレス: 陽性 、最高濃度への2時間ばく露後、Fpgレベルが統計的に有意に上昇した。 DP1: "より不安定な(2日まで)二峰性の分散で、ナノサイズ範囲に2つのピークが	Reliability 1	High			Magdolenova et al., 2012
152	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg (DNA酸化損傷: 8-oxodG) (TK6細胞) 細胞毒性: トリパンプルーアッセイ 増殖活性 (24時間間隔での細胞数カウント)	0.12, 0.6, 3, 15, 75 µg/cm ² , 2, 24時間 (-S9) 陽性対照: 過酸化水素、光増感剤 Ro 19-8022 + 可視光線 増殖活性: 24時間ばく露し、24時間間隔で2-3日間細胞数をカウント コロニー形成率: 24時間TiO2にばく露した細胞を約10日間培養し、コロニーを形成	TiO2NPs (NM-105), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 大きな凝集が確認された。 分散プロトコルDP2で分散させたTiO2NPsのみの試験である ("凝集が大きく、分散が安定しない") 。	コメット: Equivocal 2時間ばく露: Fpg非存在下で、75 µg/cm ² でのみ統計的に有意に増加した。 24時間暴露: - Fpg非存在下で、75 µg/cm ² (細胞毒性あり) のみで統計的に有意に増加した。 酸化ストレス: - Fpg存在下で 24 時間, 3 µg/cm ² でのみ統計的に有意に増加した。 24時間暴露後、75 µg/cm ² での増殖活性とコロニー形成率の同時低下が見られ	Reliability 2 Equivocal results	Limited			Magdol enova et al., 2012
153	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (EUE細胞) (ヒト胎児上皮細胞)	0, 0.12, 0.6, 3, 15, 75 µg/cm ² , 24時間 (-S9) 陽性対照: 過酸化水素、光増感剤 Ro 19-8022 + 可視光線	TiO2NPs 105), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	(DP1) NSC: 1 NanoTest プロトコルで観察された凝集のレベル。 (DP2) NSC: 2 大きな凝集が確認された。	Equivocal DP1: 陰性 DP2: 75 µg/cm ² でのみ統計的に有意した。	Reliability 2 陽性対照の結果のに関する報告が不明確である。試験した最高濃度での細胞毒性に関する情報がない。	Limited			Magdolenova et al., 2012
154	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト胎児腎細胞 (HEK293)) (ヒト末梢血リンパ球 (HPBL)) 細胞生存率アッセイ: フルオレセインジアセテート (FDA)/エチジウムブロマイド (EB)	0, 1, 10, 100 µg/ml, 3時間 (-S9) 陽性対照: EMS	1) TiO2NPs, 2.3 nm (結晶形と形状は不明) 2) Sigma Aldrich社 の「イオン」形態のTi, E171 の評価に対する試験物質の関連性は不明確	NSC: 3 細胞塊または PBS での分散に関する情報がない。	コメット試験: - TiO2 NP: 陰性 細胞毒性がない場合、両方の細胞株で 100 µg/ml でのみ DNA 損傷 (tail intensityおよび tail moment) が統計的に有意に増加した。 - 「イオン」形態のTi: 両方の細胞株で 陰性 細胞毒性は観察されなかった。	Reliability: 1	High			Demir et al., 2013
155	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (Endo IIIまたはFpgを含むヒト胚性腎細胞 (HEK293)) (ヒト末梢血リンパ球 (HPBL))	0, 100 µg/ml, 3時間 (-S9) 陽性対照: EMS	TiO2NPs, 2.3 nm (結晶形と形状は不明)	NSC: 3 細胞塊または PBS での分散に関する情報がない。	陽性 TiO2 NP: 100 µg/ml で両方の細胞株における DNA 損傷 (tail intensityおよび tail moment) が統計的に有意に増加した。Endo III 処理で検出された損傷は Fpg 処理よりも強く、プリンよりもピリミジンへの損傷の誘導が大きいことが示された。細胞毒性は観察されなかった。	Reliability: 1	High			Demir et al., 2013
156	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (ヒト肺上皮細胞 (BEAS-2B)) 細胞毒性: トリパンプルー 細胞取り込み 細胞周期 (PI染色)	0, 10 -100 µg/ml, 24時間 (-S9) 陽性対照: MMS 3 種類の増殖地: (a) KB: 低濃度のタンパク質 (0.1% BSA) を含む (b) DM: 低レベルのタンパク質 (0.6% BSA) と 0.001% 界面活性剤を含む (c) KF: 10% FBS を含む	TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 3 つの分散プロトコルが適用され、各濃度について分散レベルが報告されている。フローサイトメトリーと EMにより細胞のインターナライゼーションを確認した。	陽性 3種類の処理環境すべてにおいて、DNA損傷 (% tail DNA) の弱いながらも有意な濃度依存的増加が確認され、回帰分析により統計的に有意であると認められた (p = 0.0006, R2 = 0.38) 。 -細胞に送達されたナノ粒子の濃度とフローサイトメーターで検出された側方散乱のとの間で相関関係が認められた。KBおよびDMで処理した細胞は、KF増殖地	Reliability: 1	High			Prasad et al., 2013
157	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 +/- Fpg (HepG2細胞) 細胞への取り込み (FACS解析) 細胞毒性 (MTTおよびNRU) 酸化ストレスマーカー: GSH, LPO (脂質過酸化反応)、ROS	0, 1, 10, 20, 40, 80 µg/ml, 6 時間 (-S9) 陽性コントロール: 過酸化水素 各試験についてコメット50個 (25個/スライド) を分析 OTM と %DNA tail を測定 酸化ストレス: 0, 1, 10, 20, 40, 80 µg/mL, 6, 24, 48時間 アネキシンV結合アッセイ: 0, 20, 40, 80 µg/mL, 24時間 イムノブロット分析: 0, 20, 40, 80 µg/mL, 24時間	TiO2NPs, アナターゼ型, 30-70 nm (TEM)	NSC: 1 DLSで増地中の凝集を確認し、フローサイトメトリーとEMにより細胞のインターナライゼーションを確認した。	陽性 Fpg非存在下では20µg/mlから、Fpg存在下では10µg/mlから、統計的に有意なDNA損傷の増加が観察された。 酸化DNA損傷が統計的に有意に増加した (tail DNAの値は、Fpg非存在下よりもFpg存在下の方が有意に高い) 。 細胞内への取り込み: 細胞質および核内のTiO2 NPsで、6時間後に有意な濃度	Reliability: 2 分析されたコメットの数が限られている。	Limited			Shukla et al., 2013
158	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (浮力密度遠心法 (Ficoll-paque) により分離したヒト末梢血単核細胞 (PBMC))	0, 50, 100 µg/mL, 0, 6, 12, 24時間 抗酸化物質の保護効果を確認するため、TiO2 NPs処理前に1 mM N-acetylcysteineでリンパ球を1時間前処理 Olive tail moment (OTM)の測定 細胞生存率: トリパンプルー ROS: DCFDAブローブ蛍光	TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 増地への超音波処理を含む分散プロトコルがあるが、結果は公表されていない。 細胞毒性: 濃度および時間依存的に細胞生存率が低下した。 ROSは増加するが、NAC処理により減少した。	OTMは、統計的に有意に濃度依存的に増加した。 NAC/TiO2 NPsによるDNA切断を有意に減少させた。 細胞毒性: 濃度および時間依存的に細胞生存率が低下した。 ROSは増加するが、NAC処理により減少した。	Reliability: 3 陽性対照がなく、OTMのみが報告されている。方法論が十分に説明されていない。各濃度のサンプル数 (つまり細胞数) が不明。NPの安定性に関するデータがない。	Low			Kang et al., 2008

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
159	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (NRK-52E ラット腎臓近位細胞 (CRL-1571)) 細胞毒性: MTT およびLDHアッセイ ROS生成: 2',7-dichlorodihydro-fluorescein diacetate acetyl ester (H2DCF-DA) プローブによる	20 to 200 µg/mL コメット試験: 24時間 細胞毒性: 48時間 陽性対照: エトポシド 陰性対照: 未処理細胞	TiO2NPs, アナターゼ型, 12 nm (TEM)	NSC: 1 特定の分散プロトコルで、異なるレベルの凝集が観察されたが、細胞へのインターナライゼーションは確認された (図3にTiO2NPs (12nm) だけを報告しているが、本文ではすべてのNPsについて確認している)。	陽性 コメット: Tail momentが報告されており、統計的に有意で濃度依存的な増加が見られた。 細胞毒性: 低い。NPsサイズ (最小のNPsはより細胞毒性が高い) および結晶相 (アナターゼが最も細胞毒性が高い) に依存する。 ROSの産生: ROSは増加するが、細胞毒性との相関はない。 NPsは小胞内あるいは単離された状態で細胞質内に観察され、非特異的吸着性エンドサイトーシスあるいは直接拡散によって細胞内に侵入する可能性が	Reliability: 2 陽性対照、陰性対照の結果は報告されておらず、tail momentのみ報告されている。	Limited			Sarillet et al., 2010
160	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	アルカリコメット試験 肺 (気管支上皮 BEAS 2B および 16 HBE; 肺細胞 A549) 腸 (Caco-2、主に未分化細胞を使用) (NHEK ケラチノサイト) 再構成された3次元ヒト全層皮膚モデル	濃度: BEAS 2B, A549, Caco-2: 0. 50, 100, 256 µg/ml 16 HBE: 0. 2, 8, 32, 128, 512 µg/ml NHEK: 0. 15, 33, 65 µg/ml 3D-皮膚: 0. 82, 164, 246 µg/cm ² ばく露時間: 3, 24 時間 SB の陽性対照: 過酸化水素 またはメチルメタン sulfoネート (MMS) Fpgの陽性対照なし	1) TiO2 (NM100), アナターゼ型, 50-150 nm 2) TiO2NPs (NM102), アナターゼ型, 21-22 nm 3) TiO2NPs (NM-105), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 Nanogenotox Project 分散プロトコルを適用	陽性 TiO2 粒子 (NM100) は 16 HBE 細胞でのみ試験が行われ、陽性を示した。 TiO2 NP (NM-102 および NM-105) はすべての細胞株で試験が行われ、3 時間または 24 時間の処理で陽性を示した。 3 次元のヒト再構築全層皮膚モデル: 陰性 TiO2 NP、NM102 および NM-105 はすべて陰性を示した。	Reliability: 1	High			NANOGENOTOX Project, 2013 (Documentation provided to EFSA No. 7,8 and 10)
161	<i>in vitro</i>	DNA damage (Comet assay)	アルカリコメット試験 ヒト気管支上皮細胞 (BEAS-2B 細胞)	濃度: 20, 50, 80, 120, 160 µg/ml (5.2, 13.0, 20.7, 31.2, 41.6 µg/cm ² に相当) ばく露: 24時間 (明所/暗所) 陰性対照: 1% DMSO	食品用二酸化チタン (E171); 150 nm, アナターゼ型 (Faravelli Group) 試験品を 100 分間超音波処理することにより安定した懸濁液が生成される (その他の詳細は不明)	-	-	-	-	陽性 明所では50 µg/mlからDNA切断、Fpg感受性部位、酸化損傷が用量依存的に増加した。暗所では80 µg/mlからDNA切断とFpg感受性部位が用量依存的に増加し、暗所における最高用量 (160 µg/ml) でのみ酸化損傷が発生した。 DMSOの存在が酸化反応に影響を与えた可能性があり、24時間との間でDNAが修復した可能性がある。		Gea et al., 2019
162	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (whole blood cells) 雄マウス (NMRI/Han) 7週齢, 5 匹/群	強制経口投与 1000, 2000 mg/kg bw 24時間 コメット試験: 投与終了後2時間及び24時間に尾静脈より全血を採取 急性毒性試験: 投与後14日目に評価	TiO2NPs, アナターゼ型, 45A (4.5 nm)	NSC: 4 分散に関する情報なし。	コメット試験: 陰性。DNA損傷を受けた細胞の平均数増加はみられなかった。 急性毒性: 肝臓肥大と血性腹水を伴う体重増加。肝臓: 広範な組織学的変化, ASTとALTの増加。血清: 尿素, クレアチニンの増加。	Reliability: 3 DNA損傷の評価に用いられるパラメータの非標準であるコメット試験 陽性対照なし	Low	両法の時点でDNA損傷は陰性 (血球) マウスは実験前に4時間絶食させ、最終投与から2時間後に飼料と飲用水を与えた。 スライド作成、溶解、電気泳動は、DNA損傷の追加を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 陽性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Dekanski et al., 2018
163	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (白血球) 雄ラット (Wistar albino) (4ヶ月齢) 6 匹/群	強制経口投与 100 mg/kg bw , 1日1回, 60日間投与	TiO2NPs, アナターゼ型, 5-10 nm	NSC: 4 高用量で分散に関する情報がない。	コメット試験: 陽性 (DNA損傷に関する総スコアの有意な増加) 毒性: 体重増加減少, コレステロール, グルコース, トリグリセリド及びIL-6値の上昇, SOD, 抗酸化活性及びカタラーゼ活性の低下。	Reliability: 3 「DNA損傷スコア、任意の単位」として表されるデータ (定義が異常) 半回投与による評価 陽性対照なし	Low	陽性 (末梢白血球) 処理ラットは、対照群と比較してDNA損傷の証拠があるが、従来とは異なるDNA損傷スコアが報告されている。 陽性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Grissa et al., 2017
164	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肝臓) 雄マウス (albino) (20-25 g) 10-14匹/群	強制経口投与 150mg/kg/日, 2週間 (肝障害を示す過去の文献情報に基づいた投与量)	TiO2NPs, アナターゼ型, 21nm (SEM)	NSC: 4 分散に対処するプロセスは報告されているが、結果の記載がない。	Inconclusive 肝毒性による影響は不明だが、肝臓におけるtail DNA(%)が3倍増加した。 肝毒性マーカー (ALT, AST, MDA) の増加, 単核球浸潤を伴う肝臓の大規模な局所変性。 炎症カスケード (IL-6, TNFα, マクロファージ活性化), アポトーシス (カスパーゼ3活性, 核因子-β血球2関連因子2の発現上昇, 核因子κB, 核因子κBの発現上昇)。	Reliability: 3 半回投与による評価 陽性対照なし イデベン、カルノシン、ビタミンEによって誘発される効果の調節に主に焦点を当てて重度の肝臓損傷 コメット試験 (ghost, halo cells) での細胞毒性特定について測定されていない	Low	DNA損傷は陽性 (tail moment) (肝臓) 陽性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐために、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Azim et al., 2015
165	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (+/- Fpg in Peyer's patches (PP) 免疫細胞) 成熟雄ラット (Wistar) (175-200 g) 10-12 匹/群	強制経口投与 in vivo試験: TiO2 NPs (NM-105) 及び E171 (10 mg/kg bw, 7日間投与) 対照群: 水	1) E 171, アナターゼ型, 20-340 nm (118 nm) (TEM); 44.7% (<100 nm2) TiO2NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散と安定はNano genotoxプロトコルに準拠。 in vivo実験では細胞内への取込みが確認された。	コメット試験 +/- Fpg in PP cells: E171及びTiO2 NPs (NM-105)において陰性	Reliability: 2 陽性対照なし	Limited	陰性 (Peyer's patch cells) スライド作成、溶解、電気泳動中に周囲の光を制御しているかどうか、試験方法に記載されていない。 陽性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Bettini et al., 2017
166	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (心臓) 成熟雄ラット (albino) 8匹/群	強制経口投与 1日 1 回投与 (90日間) 0. 1200 mg/kg bw day 対照群: 無処置, 生理食塩水	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, < 100 nm	NSC: 4 投与前の超音波処理 × 10分。 追加情報なし。	Inconclusive % of tailed nuclei, tail length, tail DNA(%), tail momentが増加した。 心毒性への影響は不明であった。 病理組織学: disorganized, degenerated, アポトーシスを示す心筋細胞 + 酸化的負荷の証拠 (3-ニトロラノシン増加)。	Reliability: 3 半回投与による分析 (1/10 LD50) 陽性対照なし 重度の組織損傷	Low	Equival (心筋細胞) DNA損傷の証拠があるが、明らかな組織損傷と並行してのみ。 陽性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、DNA 損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		El-Din et al., 2019

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
167	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (精巢) 雄ラット (albino) (150-200 g) 10 匹/群	強制経口投与 1200 mg/kg bw/day 12 週間 Group I: 陰性対照 Group II: 5%アサシアガム溶液 (TiO2 NPs溶液) Group III: N- acetylcysteine (NAC) (100 mg/kg) Group IV: TiO2 NPs Group V: NAC + TiO2 NPs	TiO2NPs, 21 nm (結晶型不明)	NSC:4 アサシアガムが分散剤として使用されている (溶媒として記載されている)。分散のレベルに関する記載なし。分散性及び安定性に関する追加情報なし。高用量 (1200 mg/kg bw/日) の強制経口投与。	Inconclusive 精巣における DNA 損傷の誘発 (写真のみ) 精巣毒性への影響は不明 TNF-α の活性化とともに精巣に病理組織学的変化が確認された。 酸化ストレス: 血中MDA濃度の上昇, GSH及びテストステロンの減少。	Reliability: 4 単回投与; 陰性対照なし; 数値データなし NACの抗酸化作用に注目	Low	Equivocal(精巣細胞) 著者らは、TiO2処理ラットにおいて、処理および未処理のコントロールと比較して、DNA損傷が陽性に増加したと報告しているが、この記述を確認するための定量的データは提供されていない。 陰性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、さらなるDNA損傷を防ぐために、薄暗く黄色い光の下で実施された。		Enagari et al., 2018
168	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肝臓) 雄ラット (Wistar) (albino) (180-200 g) 5 日間 Group I: 対照群 (1% Tween) Group II: TiO2 NPs Group III: TiO2 NPs + メタノン (50 mg/kg) Group IV: TiO2 NPs + カルノシン (200 mg/kg) メタノン及びカルノシンを3週間投与	強制経口投与 600 mg/kg bw/day 5 日間 Group I: 対照群 (1% Tween) Group II: TiO2 NPs Group III: TiO2 NPs + メタノン (50 mg/kg) Group IV: TiO2 NPs + カルノシン (200 mg/kg) メタノン及びカルノシンを3週間投与	TiO2 NPs, アナターゼ型, 60 ± 10 nm (TEM) (粒子47 ± 8%; 残りの粒子は 100-500 nm の凝集体)	NSC:4 分散が考慮されているが、実際のばく露条件とは異なる条件 (溶媒を含む) で測定されたものである	Inconclusive 肝毒性への影響は不明だが、肝細胞の損傷レベルの増加 (tail length, tail moment, tail部分の相対的なDNA量) がみられた。 肝臓: ALT, MDA, カスパーゼ 3 の増加, GSH の減少。 血清: TNF-α, IL-6, C-反応性タンパク質 (CRP) , IgG, 一酸化窒素 (NO) , 血管内皮増殖因子 (VEGF) の増加。 肝細胞の組織像: すべての肝細胞の壊死, ビクノーシス, カリオレシス, 空胞化した細胞質。	Reliability: 3 コメット試験における物質及び試験方法の詳細なし 単回投与, 陰性対照なし カルノシンとメタノンの抗酸化作用に着目 重度の肝臓障害	Low	Equivocal (肝細胞) 。 DNA損傷の証拠があるが、明らかな組織損傷と炎症と並行してのみ。 陰性対照または溶媒対照群なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、DNA 損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Fadda et al., 2019
169	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肝臓) 雄ラット (Wistar) (albino)(150-170 g) 10 匹/群	強制経口投与 1 g/kg bw/day 21日間 Group 1: 対照群 (1% CMC) Group 2: TiO2-NPs Group 3: TiO2 NPs +Quercetin (200 mg/kg bw) Group 4: TiO2 NPs +イデベノン (200 mg/kg bw)	TiO2 NPs, アナターゼ型, 60 ± 10 nm (TEM) (粒子47 ± 8%; 残りの粒子は 100-500 nm の凝集体)	NSC: 4 高用量。 提供された特性は説得力がない。	Inconclusive 肝臓においてtail length及びtail DNA(%)が増加したが、肝毒性への影響は不明。 肝臓: MDA及びカスパーゼ-3レベルの増加 血清: ALT, グルコース, TNF-α, CRP, IgG, NO, VEGFが増加。 病理組織学 TiO2 NPは、ほとんどの肝細胞に重度の変性 (核のビクノーシス, カリオレシス, 細胞質の空胞化) を誘発した。 クエルセチンとイデベノンの併用により、観察された効果は減少した。	Reliability: 3 単回投与, 陰性対照なし クエルセチンとイデベノンの抗酸化作用に着目 DNA損傷の増加を伴う重度の毒性および炎症	Low	Equivocal (肝細胞) 。 DNA損傷の証拠があるが、明らかな組織損傷と炎症と並行してのみ、陰性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 DNAの損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光で行われた。 カナダ保健省食品局は、この試験品を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Fadda et al., 2018
170	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肝臓) 雄ラット (SD) (albino, 160-200 g) 10 匹/群	強制経口投与 150 mg/kg bw 6週間 Group 1: TiO2 NPs Group 2: TiO2 NPs + チモキノン (20 mg/kg bw) Group 3: TiO2 NPs + アペナントラミド (20 mg/kg bw) Group 4: チモキノン Group 5: アペナントラミド	TiO2 NPs, 21nm (結晶型不明)	NSC: 4 高用量。 分散に関する情報不足。 強制経口投与に Tween 80 を使用している。	Inconclusive 肝毒性への影響が不明な DNA 損傷の増加 (tail length及びtail moment) 。 肝臓, 脳, 肺, 腎臓, 心臓及び精巣に病理組織学的変化がみられた。 血液学: 総白血球数, リンパ球及び好中球の増加 血清: AST, ALT, LPO, TNF-α の増加, GSH とテストステロンの減少	Reliability: 3 単回投与, 陰性対照なし DNA損傷の増加を伴う重度の毒性および炎症	Low	Equivocal (肝細胞) 。 DNA損傷の証拠があるが、明らかな組織損傷と炎症と並行してのみである。 陰性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動中に周囲の光を制御しているかどうか、試験方法には記載がない。 カナダ保健省食品局は、この試験品を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Hassanein et al., 2017
171	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肺の +/- Fpg 及び肝臓と肺のOgg1酵素) 雄ラット (Lean Zucker) 8 -13週齢 10匹/群	強制経口投与 50及び500 mg/kg bwを週1回10週間投与; 最終投与から24時間後に屠殺 陰性対照: KBrO3処理THP-1細胞	E171, アナターゼ型 (0.2% ルチル型), 3つの粒子サイズグループ: 135 ± 46 nm, 305 ± 61, 900 ± 247 nm (TEM image)	NSC: 2 ENPRAプロジェクトの分散プロトコルによると、TEMでは3群とも100nm以上であり、媒体中の流体力学的サイズは270nm, Z 電位は -37.2mVと報告されている。しかし、これらの測定はすべてかなり低い濃度で行われており、凝集の兆候が観察された。	肝及び肺のコメット試験 +/- Fpg 又は Ogg1 酵素: 陰性 肺の酸化損傷DNAの修復能力 (修正コメット試験): 陰性 肝, 肺, 脾臓のテロメア長: 肺で短縮 (p<0.05) 大腸粘膜のタイトジャンクションタンパク質 (TJP1) 発現: TJP1の発現低下 (p<0.01)	Reliability: 1	High	Equivocal (肝臓および肺の細胞) 肝臓および肺の細胞では、DNA断片およびFpg-またはhOGG1感受性部位の証拠はなく、E171処理は肺組織におけるKBrO3誘発酸化損傷の修復に影響を与えなかった。 しかし、以下に示した限界点により、試験結果の信頼性に疑問が生じ、陰性結果の解釈は困難である。 肝臓および肺における試験物質の全身ばく露が確認さ		Jensen et al., 2019
172	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 肝臓と肺の +/- Ogg1o及びEndoIII酵素 雄マウス (B6C3F1, 6- 7週齢) 5匹/群	腹腔内投与 50 mg/kg bw/day, 3日間 最終投与から4時間後に屠殺 陰性対照: MMS	TiO2 NPs, アナターゼ型, 8.9-15.3 nm (TEM)	NSC:1 単用量のばく露条件下で分散が考慮され、一定の凝集が確認された。組織への蓄積を定量的に確認 (腹腔内投与により肝臓と肺に存在) し、組織への全身的なばく露を確認した。	コメット試験 +/- Ogg1及びEndoIII 酵素: 酵素なしの肝臓において陰性; 酵素を含む肝臓及び肺において陰性 tail DNA(%) の分析, MMS 陰性対照 肝臓及び肺における TiO2 NPs の蓄積がみられた 遺伝子発現: 肝臓では代謝の恒常性が変化し、肺では酸化ストレス, 炎症反応, アポトーシスが誘発された。	Reliability: 2 単回投与 毒性の病理組織学的評価なし	Limited	陰性: 肝臓の DNA 損傷 (% DNA in tailの増加) 陰性: 肺組織 (標準アルカリコメット試験) 陰性: 肝臓および肺組織の DNA 損傷 (% DNA in tailの増加) (hOGG1 および EndoIII 改良アルカリコメット試験) スライド作成、溶解、電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験品を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Li et al., 2017b
173	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (血液及び肝臓) 雄ラット (Wistar, 220 g), 6匹/群	強制経口投与 0.5 mg/kg bw/day, 45日間	TiO2 NPs, 42 nm (TEM) (結晶型不明)	NSC:1 分散性, 安定性に関する情報不足, 凝集 (大) の可能性があるが低用量。 強制経口投与 組織蓄積量 (肝臓, 血液, 腎臓) を定量化し、経口投与による臓器への全身ばく露を確認した。	陰性 (% tail DNA) 血中Redox parameters: GSH濃度, GPx活性, CAT活性に変化なし ADME: 血中Ti濃度, 腎臓, 肝臓は対照群と比較し有意に増加した。	Reliability: 2 低用量での単回投与 陰性対照なし	Limited	陰性 (血液、肝臓) 陰性対照なし。 スライド作成、溶解および電気泳動は、DNA の損傷を防ぐために薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Martins et al., 2017

EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価						Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価						
No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
174	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (精子) 雄ラット (Wistar, 8週齢) 6 匹/群	静脈内投与 0.5, 25, 50 mg/kg bw 30日間 (1週間隔投与)	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 10-20 nm (TEM)	NSC: 1 静脈内投与における分散性及び安定性に関する情報は不十分であるが、精巣における用量依存的な蓄積性が確認された	陰性: 25及び50 mg/kgでDNA切断の増加 (tail length, tail movement, tail migration)。 精巣細胞中に生物濃縮。 精子数の減少, アポトーシスの増加 (DNA断片化, カスパーゼ-3)、クレアチンキナーゼ。 抗酸化酵素: CAT, GSH- Px, SODの減少, 脂質ペルオキシダーゼの増加。	Reliability: 3 限られた数の細胞 (50cell/slide) コメット試験 (尾の動き) による DNA 損傷を測定するための確かなパラメーター 陰性対照なし	Low 限られた研究内容 投与経路が食事からの摂取に関連しない	陰性 (精子細胞)。 DNA損傷 (tail length, tail movement, tail migration) の有意な増加が中間用量から観察され、用量反応の証拠がある。 陰性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Meena et al., 2015a
175	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肝臓及び肺) 雄マウス (C57BL/6 (B6)BOM-F) 6週齢 9匹/群	気管内注入, 静脈内投与, 強制経口投与 162 µg/匹 TiO ₂ NPs 半回投与から1, 28, 180日後に屠殺	TiO ₂ NPs, 10.5 nm (結晶型不明)	NSC: 1 ばく露条件下で分散が測定された。 小さな凝集体が存在する可能性がある。	肝臓 陰性: すべてのばく露条件において、DNA切断 (tail DNA及びtail length) は増加しなかった。 肺 あいまいな結果 (Equivocal): 単一の時点 (180日) で気管内注入により統計的に有意なわずかな増加。	Reliability: 3 陰性対照なし カウントされた細胞数が不明 半回投与	Low 陰性 (肝臓) 陰性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動中に周囲の光を制御しているかどうか、試験方法に記載がない。 OECD ガイドラインでは、投与後 2〜6 時間で試料を採取することを推奨している。		Modzynska et al., 2018	
176	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (心臓、肝臓、腎臓) マウス (Kun Ming, 6-8週齢) 8匹/性/群	強制経口投与 2 g/kg bw, 7日間 対照群 group 1: TiO ₂ NPs (2 g/kg bw), group 2: TiO ₂ NPs + GSPE (167 mg/kg bw) group 3: TiO ₂ NPs + GSPE (500 mg/kg bw)	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 10-25 nm (TEM, SEM)	NSC: 2 PBSで懸濁液の超音波処理を実施。 実際の投与量よりはるかに低い濃度で分散を測定している。 試験した高用量 (2g/kg) より低濃度でも凝集は確認されるレベルである	組織毒性: ROSの増加 陰性: 25及び50 mg/kgでtail DNA(%)及びtail momentが増加した。組織毒性への影響は不明であった。 グレーンードブロンアネジン抽出物 (GSPE) により影響は減少した。 病理組織学: 心臓: 心筋細胞の構造異常とわずかな空胞変性、間質性充血と浮腫などのわずかな変化がみられた。	Reliability: 3 半回投与 陰性対照なし 軽度 (心臓) から中等度 (肝臓、腎臓) の標的組織損傷なし	Low カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタン (TiO ₂) (肝臓、腎臓、心臓) 3臓器すべてにおいて、tail DNA % およびolive tail momentが対照と比較して統計的に有意に増加したが、臓器毒性が存在する場合のみ。 陰性対照なし。		Niu et al., 2017	
177	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肝臓、腎臓) ICR 及び ICR NrlZ(-/-) ノックアウトマウス 6-8週齢, 20 g 12匹(wt)/性/群 8匹 (knock-out)/性/群	強制経口投与 1日1回, 7日間投与 Wild type (wt) マウス: 500, 1000, 2000 mg/kg bw Knock-out (ko) マウス: 1000 mg/kg bw 投与前の一晩絶食 最後投与から1日後に屠殺	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 10-25 nm (SEM, TEM)	NSC: 4 非常に高い用量で、適切な分散を確認するための指標がない。	肝臓及び腎臓のROSレベル: 用量依存的にwtよりkoで強く増加した。 肝臓と腎臓のROSレベル: 用量依存的にwtよりkoで強く増加した。 酸化ストレス 肝臓及び腎臓のMDA量は用量依存的に増加, SOD及びGSH-Px活性は低下, wtマウスよりもkoマウスで強い変化がみられた。	データ不足 Reliability: 2 陰性対照なし 病理組織学に関する情報は報告されていない 不十分なパラメータの測定 (Olive tail moment)	Limited スライド作成、溶解および電気泳動は 付加的なDNA損傷を防ぐために薄暗く黄色い光の下で実施され		Shi et al., 2015	
178	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (気管支肺胞洗浄 (BAL) 細胞, 肺, 肝臓) 雄マウス (C57BL/6J BomTac, 6-7週齢) 8匹/群	気管内注入による肺へのばく露 18, 54, 162 µg/マウスを半回投与 (1.5, 5, 15 日間労働におけるばく露に相当, デンマークのTiO ₂ 職業ばく露レベル (6 mg Ti/m ³ -10 mg TiO ₂ /m ³)) 投与後1,3,28日目に屠殺 H2O2 陰性対照	TiO ₂ NPs, ルチル型, 10 nm,	NSC:1 すべてのばく露条件において分散性が測定され、投与量による差異は認められなかった。 TiO ₂ NPsは良好な分散性が確認された。	コメット試験 陰性: i) BAL 細胞: 陰性, tail DNA(%) の結果: 3 日目にtail lengthが増加 (低用量及び中用量; p<0.001)。 ii) 肺: すべての用量で28 日目にtail DNA(%) とtail lengthが全用量で増加 (用量反応なし) (p<0.001)。	Reliability: 1 コメット試験による	Limited ばく露経路による		Wallin et al., 2017	
179	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脳) 雄ラット (Wistar, 8週間) 6匹/群	静脈内投与 (尾静脈) 0.5, 25, 50 mg/kg bw, 週1回, 4週間投与	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 10-20 nm (TEM)	NSC:1 ばく露条件下で測定した分散度 (静脈内注射にPBSを使用)。 Tiの脳内蓄積量を用量依存的に測定。	コメット試験: 脳細胞におけるtail length, tail movement, olive tail momentの増加 (25及び50mg/kg)。 酸化ストレス: ROS, NO, MDA, IFN-γ, TNF-αの増加及びNF-κBの活性化。 SOD及びGSH-Pxの減少。アポトーシスマーカーの発現 (p53, Bax, Bcl-2, cyto c)	Reliability: 2 陰性対照なし コメット試験 (tail movement) によるDNA損傷を測定する確かなパラメーター 病理組織学に関する情報は報告されていない	Limited 投与経路が食事によるばく露とは関係ない	陰性 (脳細胞) DNA損傷 (tail length, tail movement, tail migration) の有意な増加が中間用量から観察され、用量反応を示す証拠がある。 陰性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、DNA損傷の追加を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Meena et al., 2015b
180	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (血液) 雄ラット (Long-Evans, 10-12週間) 3匹/群	腹腔内投与 5 mg/kgbwのTiO ₂ を1 mLのキシロカインに溶解し3日間投与 (毎日腹腔内投与) G1群: 48時間後に屠殺 G2群: 72時間後に屠殺	TiO ₂ NPs, 21 nm (結晶型不明)	NSC: 3 腹腔内投与懸濁液の分散条件と分散レベルに関する情報が無い。	コメット試験 (lymphocytes): G1, G2群では、細胞毒性及びDNA切断の誘発は認められなかった。 病理組織学: G1群では肝細胞の細胞質に空胞がみられた。G2群では泡状の細胞質と粒状のクロマチンを有する核を有する肝細胞がみられた。 腎臓: わずかな糸球体の後退と中程度の血管のうっ血がみられた。	Reliability: 4 データ提供なし (細胞の写真のみ) 陰性対照なし	Low 投与経路が食事からの摂取に関連しない	陰性 (リンパ球) 陰性対照なし。 スライド作成、溶解および電気泳動は、DNAのさらなる損傷を防ぐために薄暗く黄色い光の下で実施。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Moran-Martinez et al., 2018
181	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (+/- Fpg in 肝臓、腎臓、精巣) 野生型及びOgg1-/-マウス	静脈内投与 半回投与 5 mg/kg bw; 投与後1日目及び7日目に屠殺	TiO ₂ NPs, 21 nm [試験材料の記載からP25/NM-105である可能性がある(アナターゼ型/ルチル型, 15-24nm)]	NSC: 1 試験溶液 (懸濁液にBSAとPBSを使用) の分散性と安定性を測定。	コメット試験 +/- Fpg (肝臓、腎臓) 1日目: DNA損傷なし 7日目: 陰性; tail DNA(%)のみ増加 + 精巣のFpg増加 (wtマウスのみ) 陰性対照 X線処理マウス 精子DNA断片化アッセイ: 変化なし 遺伝子発現	Reliability: 2 半回投与 結果の解釈が難しい (すなわち、精巣のみで遅いharvest timeの場合のみ陰性)	Low WTマウスではFpg感受性部位の増加により7日目に陰性、しかしDNA切断の証拠はない (精巣細胞)。 KOマウスとWTマウスでは1日目に陰性 (肺、精巣、肝臓細胞)、KOマウス (肺、精巣、肝臓細胞) およびWTマウス (肺、肝臓細胞) では7日目に陰性。 スライド作製時、溶解時、電気泳動時の環境光制御の		Asare et al., 2016	
182	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肝臓、腎臓) マウス (Swiss-Albino, 7-8週齢) 5匹/性/群	強制経口投与 200 及び500 mg/kg bw/day, 90日間 (OECD TG 408, 1998年版) 陰性対照: シクロホスファミド (CP)	TiO ₂ NPs, 58.25 ± 8.11 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 4 分散に関する情報が不十分。 高用量しか使用されていない。	Inconclusive: 高用量でtail DNA(%)の増加 肝臓と腎臓 (200及び500 mg/kg bw) の組織毒性への影響は不明: S期細胞の減少, G2/M細胞の増加, 細胞生存率の減少。 慢性経口毒性: 500mg/kgで重篤な毒性: 顕著な肝臓及び腎臓内出血 生化学・血液学的 高用量群: 肝酵素, トリアシルグリセロール, 総コレステロールの増加, 赤血球数, ヘモグロビン濃度の減少, 血小板数の減少, 白血球数の増加が認められた。 病理組織学: 高用量群- 肝臓: 肝細胞に出血の徴候を伴う異常な細胞構造。腎臓:	Reliability: 3 陰性対照なし 標的組織の重篤な損傷、肝臓及び腎臓	Low 腎臓 (肝臓と腎臓の細胞)。 最高用量において DNA 損傷 (tail length, % tail DNA, tail moment, Olive moment) が統計的に有意に増加した。 スライド作成、溶解および電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐために薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なして		Chakrabarti et al., 2019	

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
183	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (白血球) 雄ラット (Wistar, 4ヶ月齢) 6匹/群	強制経口投与 50, 100, 200 mg/kg bw/day, 60日間	TiO2 NPs, アナターゼ型, 5-12 nm	NSC: 2 追加情報なしで超音波処理を実施。	コメット試験 (白血球): 陽性: 100及び200 mg/kg bw群でDNA損傷 (Tail moment) が増加。 血液学的パラメータ: TiO2 NPは、RBCとHCTを減少させ、MCV, PLT, MPV及びWBCを用量依存的に増加させた。 血液塗抹標本分析: 50 mg/kg bw 群: 異常形状の赤血球, 100 及び 200 mg/kg bw 群: 同上 + 異常形状核及びhypersegmented nucleiを有するリンパ球及び好中球。	Reliability: 2 陽性対照なし 不十分な報告パラメータ (tail moment); コメット試験における細胞毒性の情報なし	Limited			Grissa et al., 2015
184	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (PBMC) 雄ラット (Wistar, 8週齢) 6-8匹/群	静脈内投与 0.59 mg/kg bw 半回ばく露, 1日後, 1, 2, 4週間後に屠殺 陽性対照 (ex vivo exposure): H2O2	TiO2NPs (NM-105), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 二峰性分布の結果が報告されて, 61%が84nmにあり,凝集が少ないことが示唆された。	コメット試験 +/- Fpg (PBMCs): 陽性: Fpgを使用しない場合, tail DNA(%)は1日目のみ増加 (凝集の少ない分散液)	Reliability: 2 半回投与試験	Limited 投与経路は食事からの摂取に関連しない	陽性 (末梢血単核球) Fpg非存在下で最終処理後1日目の% tail DNAが増加したが, Fpg存在下や他の時点では増加しなかった。 スライド作成、溶解および電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験品を食品用二酸化チタン (TiO2) と見なしている。		Kazimirova et al., 2019
185	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓) 雄ラット (Wistar, 8週齢(220 g)) 6匹/群	静脈内投与 TiO2NPs 5, 25, 50 mg/kg bw, 週1回, 30日間投与	TiO2NPs, アナターゼ型, 10- 26 nm (TEM) (粒子表面の化学組成について 18% の銅が報告されている)	NSC: 1 分散プロトコルで良好な分散性が確認されたが, 静脈内投与で用いられる濃度の100~1000分の1であったため, 試験された用量における凝集の可能性は排除できない。Tiは組織で測定されたが, 細胞内への取込みに関する情報は無い。	コメット試験 (脾臓): Inconclusive; 25及び50 mg/kg b.w. でのコメットパラメータ (tail moment, length, migration) の増加。組織毒性への影響は不明。 脾臓における Ti の用量依存的な蓄積 脾臓の病理組織学: 死細胞の用量依存的割合と白血球の減少, アポトーシス/ネクローシス, 巨核核の浸潤。 ROSの増加 血液学的パラメータ: 50mg/kg b.w.で好中球, IFN-γ, IL-4分泌CD4+細胞の増	Reliability: 3 陽性対照なし 2つの最高用量濃度で中等度から重度の標的組織損傷	Low 限られた研究内容 投与経路は食事からの摂取に関連しない	陽性 (脾臓細胞) 25 mg/kg bw/dからDNA損傷の証拠 (tail length, tail moment, tail migration) が見られたが, 組織損傷と炎症と並行してのみであった。 スライド作成、溶解、電気泳動は、さらなるDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタン (TiO2) と見なしている。		Kumar et al., 2016
186	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓) 雄マウス (gpt Delta transgenic C57BL/6J, 8週齢) 5匹/群	静脈内投与 2, 10, 50 mg/kg bw/week 4週間 (maximum dose selected stably dispersed for a long period) コメット試験: 最終投与3日後 陽性対照なし	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 各濃度について分散レベルを測定し, Ti確認によるEMで細胞内化を確認した。	コメット試験 (脾臓): 陰性; 陰性: %tail intensityの増加はみられなかった。TiO2 NPsの局在。Tiは肝実質細胞とクッパー細胞で検出された (核にも存在する)	Reliability: 2 陽性対照なし OECD TG 489に準拠していない屠殺のタイミング ただし、粒子の存在が実証されているため、この場合は小さな制限と見なされる	Limited	陰性 (脾臓) 陽性対照なし。 スライド作成、溶解および電気泳動は、DNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Suzuki et al., 2016
187	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓) 雄マウス (albino) 10匹/群	腹腔内半回投与 1週間に1回, 1ヶ月間投与 400 mg/kg bw TiO2 アナターゼ型 陽性対照: シクロホスファミド	TiO2, アナターゼ型 (その他の情報なし)	NSC: 3 分散性, 安定性に関する情報がない。	コメット試験 (脾臓): 陽性; DNA損傷を受けた細胞の割合 (損傷は0-3のスコアで細胞に視覚的に割り当てられた); 最高用量で増加 (19%) 対 対照群 (9%) 酸化ストレス: 最高用量でグルタチオンペルオキシダーゼ活性, アルブミン, グロブリン, A/G比, ALT 及び AST, B-細胞集団の最高用量で有意な増加がみられた。	Reliability: 3 コメット試験のパラメータを分析するための標準的な方法ではない。 サンプリング時間が報告されていない。	Low 限られた研究内容 投与経路は食事からの摂取に関連しない	陽性 (脾臓) 最高用量で、DNA損傷が統計的に有意に増加した。 スライド作成、溶解、電気泳動中に周囲の光を抑制しているかどうか、試験方法には記載されていない。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		El-Bassyouni et al., 2017
188	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脳) 雄マウス (Swiss Webster), 10-12週間 3匹/群	強制経口投与 500 mg/kg bw/day 5日間ばく露 24時間後, 7日後, 14日後に屠殺	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 46.23 ± 3.45 nm (TEM)	NSC: 4 高用量ばく露のみ。 分散性, 安定性に関する情報不足。	コメット試験: Inconclusive; 14日後にtail lengthとtail momentが有意に増加した; tail DNA(%)は増加せず。 組織毒性への影響は不明であった。 病理組織学: 細胞外及び細胞内の脳浮腫 (24時間後及び7日後), 神経細胞の空胞化 (14日後)	Reliability: 3 半回投与 陽性対照なし 中程度から重度の標的組織損傷	Low	Equivalocal (脳細胞) DNA損傷の証拠があるが、明らかな組織損傷と並行してのみ。 陽性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、DNA 損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Mohamed and Hussein, 2016
189	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓, 骨髄, 脾臓, 胸腺, リンパ節) 雄マウス (Swiss albino, 20-25 g) 5匹/群	強制経口投与 0.2, 0.4, 0.8 mg/kg bw; 28日間	TiO2NPs, ルチル型, 21-31 nm (TEM) 球状・棒状粒子 (TEM) 21-31 nm (TEM)	NSC: 2 分散を測定し, 高い凝集度を確認した。	陽性 脾臓 (全用量), 脾臓, 胸腺及びリンパ節 (0.4 及び 0.8 mg/kg bw), 骨髄 (最高用量のみ) でtail DNA(%)が増加した。	Reliability: 2 コメット試験における陽性対照なし 臓器毒性に関する情報なし 不十分な報告、不明確なプロトコル (スコア化された細胞/動物の数)	Limited	陽性 (脾臓、骨髄、脾臓、胸腺、リンパ節) 脾臓では最低用量から、脾臓、リンパ節、胸腺では中間用量から、骨髄では最高用量から、% tail DNAの統計的に有意な増加が観察された。大部分の組織において用量反応を示す証拠がある。 組織/臓器毒性に関する情報はない。 陽性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験品を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Manivannan et al., 2020

EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価								Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価				
No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
190	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓) ラット (Wistar) 10 匹/群	強制経口投与 20, 40 mg/kg bw/day 90日間	TiO2 (成分の粒度分布及び結晶形に関する情報なし)	NSC: 3 0.5 % ヒドロキシプロピルメチルセルロースへの懸濁液の分散度, 安定性が不明。	陽性 解析した3つのパラメータ (tail length, tail DNA(%), tail moment) の用量依存的な増加がみられた。 脾臓の病理組織学的検査では, 組織損傷の用量依存的な増加が示された (リンパ球の壊死, white and red pulp expansion, マクロファージの増加, haemorrhage及びヘモセドリン沈着, 繊維化)。 免疫反応の抑制 (いくつかの免疫毒性及び細胞毒性パラメータの解析) がみられた。	Reliability: 3 陽性対照なし 実験の詳細なし (カウントされた細胞数を含む) 不十分な報告 標的組織の軽度から中等度の損傷	Low	Equivocal(脾臓細胞) DNA損傷の証拠。ただし、組織損傷と炎症に付随するもののみ。 陽性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、DNA 損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見していない。		Hashem et al., 2020
191	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (白血球, 気管支肺胞洗浄細胞) 雄マウス (C57BL/6J), 8週齢	半回強制経口投与及び口腔咽頭吸引 17, 117 nm (10, 50, 250 µg/マウス) 投与3日後に気管支肺胞洗浄細胞及び白血球中の分析 コメット試験の陽性対照: H2O2	1) TiO2NPs (JRCNM1020 2a), アナターゼ型, 17 nm 2) TiO2 (JRCNM1022 00a), アナターゼ型, 117 nm	NSC: 1 NANOREGに基づくプロトコルにより様々なレベルの凝集を得ることができる。	陽性 血液 (TiO2 NPs 17 nm と TiO2 117 nm) TiO2 NPs 17 nm (小凝集体)及びTiO2 117 nm(大・小凝集体)は、すべての用量で、117 nmの大凝集体によるtail DNA(%) の増加が大きかった。 BAL細胞: 結果が示されていない。	Reliability: 2 用量-反応なし	Limited	陽性 (白血球) 小さな凝集体では、すべての処理群で% tail DNAの統計的に有意な増加が観察されたが、用量反応の証拠はなかった。 大きな凝集体については、どの処理群でも%tail DNA に統計的に有意な差は観察されなかった。 スライド作成、溶解、電気泳動中に周囲の光を制御しているか、試験方法に記載されていない。 カナダ保健省食品局は、この試験品を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見していない。		Murugados et al., 2020
192	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (BAL細胞, 肺, 脾臓) 雄マウス (C57BL/6J), 7週齢 BAL細胞及び組織採取: 7匹/群 組織学的検査: 5匹/群 溶媒対照群: 2-4匹/群	気管内投与 18, 54, 162 µg/マウス BAL細胞, 肺, 脾臓: 投与後1, 3, 28, 90, 180日目に評価 陽性対照: H2O2処理したA549細胞 病理組織学的検査: 投与後28, 90, 180日目	1) TiO2NPs, アナターゼ型 (11% ルチル型) (XRD), 12-50 nm (TEM) 2) TiO2NPs, アナターゼ型 (6% ルチル型) (XRD), 16-28 nm (TEM)	NSC: 1 分散プロトコルと分散レベルに関する情報が提供されている。 ばく露及び細胞内への取込み確認において、粒子がTiを含むことの確認がない。	コメット試験: 陰性 統計的に有意な減少がみられ、陽性の結果はわずかであった。用量との関連はなかった (tail DNA%) 及び tail length) ROS 測定: 両方の TiO2 NPs によって用量依存的な増加が誘発された。 肺組織におけるTiO2 NPsの可視化 病理組織学: 気管支肺胞洗浄液の細胞組成: 急性炎症は好中球数で測定; 肺及び脾臓の急性期反応。	Reliability: 3 コメット試験に関する報告は限られており、炎症反応に焦点が当てられている	Low 投与経路 限られた研究内容		Danielsen et al., 2020	
193	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓, 腎臓, 肺) ラット (SD) 15 匹/群 (対照群1群, 投与群2群)	気管内注入 0.2 及び1.0 g/kg bw 半回投与 投与後1,3,7日目に分析	TiO2NPs, アナターゼ型, 10-25 nm (SEM, TEM)	NSC:1 組織中のTiを測定することで分散を測定し、ばく露を確認。	コメット試験: 陽性 (Olive tail moment 及び tail DNA%)の用量依存的な増加) 。ばく露後1,3,7日目では差はなかった。1g/kg bwのばく露後、脾臓、腎臓及び肺にのみTiO2 NPsの局在化がみられ、ばく露1日後にピークに達した。 酸化ストレスマーカー: すべての組織において、用量依存的にMDAが増加し、GSHとSODが減少した。 PI3K- AKT/FOXO3a シグナル伝達経路の活性化がみられた。 遺伝子発現: XRCC1, CHK2, GADD45 α の用量依存的な増加。 組織病理学 肺: 両群で炎症性変化, 高用量群ではより重篤であった。 肝臓と腎臓についても病理組織学的所見が報告されているが、不十分である	Reliability: 3 結果の限定的な報告: 粒子の気管内投与に不適切な高用量 標的組織 (肺) の中程度から重度の損傷; 陽性対照なし	Low 投与経路 限られた研究内容			Han et al., 2020b
194	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓 +/- Fpg) 雄マウス (Swiss albino) 5 匹/群	強制経口投与 10, 50, 100 mg/kg bw/day 14日間 分析: 投与後24時間 陽性対照: EMS, 半回腹腔内投与 100 mg/kg b.w. 酸化ストレスの陽性対照: K2Cr2O7	TiO2NPs, アナターゼ型, 20-50 nm	NSC: 1 各投与量について超音波照射と凝集レベルが報告され、凝集レベルが観察された。	コメット試験: 陽性 -Fpg: 最も高い2つの用量のtail DNA(%), すべての用量のOTMにおいて陽性を示した。 +Fpg: -Fpgと同じ用量で DNA 損傷が増加した。 病理組織学: 10 mg/kg bw と 50 mg/kg bw では有意差はなかった。 酸化ストレスマーカー: 50 及び 100 mg/kg bw で MDA, ROSが増加; 最高用量で GSH が減少した。	Reliability: 1	High	陽性 (肝細胞) 50 mg/kg bw 以上の濃度において、統計的に有意な% tail DNA の用量依存的増加が認められ、用量反応性が示唆された (Fpgの有無に関わらず)。 Olive tail moment の用量依存的な増加が全投与群で認められ、用量反応性が示唆された (Fpgの有無を問わず)。		Shukla et al., 2014
195	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (脾臓, 末梢血, 脾臓) 雄ラット (SD) 4匹/群	8日間にわたり3回の気管内投与 0.5, 2.5, 10 mg/kgw 投与2時間後及び35日後に分析 陽性対照: MMS (150 mg/kg)	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 各用量で凝集レベルが報告され、組織の測定によりばく露が確認された。	群毒性の生物学的評価 - カ - ALT, ALP (50及び100 µlで有意に増加) コメット試験: 2時間後及び35日後に脾に陽性反応, 中高用量で2時間後及び35日後に脾臓に陽性反応, 中高用量で35日後に血液に陽性反応 ヘッジホッグ細胞: 標的組織での毒性はみられなかった。 毒性マーカー - BAL細胞中のLDH: 2時間, 中・高用量でのみ有意に増加。 炎症マーカー (インターロイキン, TNF-α, IFN-γ, KC-GRO): 血液及びBAL細胞で2時間後にのみ有意に増加。 BAL細胞で2時間後の最高用量のみ有意な増加がみられた。	Reliability: 2 陰性対照は報告されていない (陰性対照への正規化後に表される DNA 損傷パラメーター)	Limited 報告されていない過去に用いられた対照範囲に関して評価された結果の生物学的関連性 非経口ばく露経路		Relier et al., 2017	

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
196	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (骨髄、肝臓、脳) 雄F1 (CBAxB6) マウス 5匹/群	強制経口投与 40, 200 mg/kg bw, 7日間 最終投与の24時間後に屠殺 ランダムに選択した100個のコメット/臓器/動物を分析	TiO ₂ , アナターゼ型, 160 nm ± 59.4 nm	NSC: 3 分散方法の情報なし	骨髄: 陽性 肝臓と脳: 陰性	Reliability: 2 陽性対照なし。 分析を行ったのは 100 個のコメット/臓器のみ。 骨髄の MN アッセイで報告された未変化の <i>PCF/NCE</i> を除いて、 <i>一般的臓器毒性に関する</i> Reliability: 1	Limited	Equivocal (骨髄細胞) 陰性 (脳および肝細胞) 骨髄細胞では、いずれの用量でも % tail DNA の割合が統計的に有意に増加したが、増加程度は小さく、用量反応を示す証拠もないため、生物学的意義は不明である。		Sycheva et al., 2011
197	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (肺) 雄CrI: CD(SD) ラット	1) 単回投与 気管内 (INT) 注入: 1.0, 5.0 mg/kg bw ラットは投与後 3 時間または 24 時間で屠殺 2) 反復投与 気管内注入: 0.2 または 1.0 mg/kg bwを1回/週1 回、5 週間 最終投与の 3 時間後にラットを屠殺 陽性対照: EMS (屠殺の3時間前に経口投与)	TiO ₂ NPs, アナターゼ型, 5 nm	NSC: 1 分散と安定性に関する情報の提供	1) 単回投与: 陰性 2) 反復投与: 陰性	Reliability: 1	Limited 投与経路が食事からの摂取に関連しない			Naya et al., 2012
198	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (骨髄白血球) 雄ラット (Wistar) 7匹/群	静脈内単回投与 5 mg/kg bw 投与の24時間後、1週間後、および4週間後に屠殺	TiO ₂ NPs (NM-105), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 投与前に超音波処理を実施	陰性	Reliability: 2 陽性対照なし; 1 つの用量のみ; サンプルング時間 OECD TG 489 に完全には準拠していない。	Limited 投与経路が食事からの摂取に関連しない。	陰性: DNA損傷 (骨髄白血球) スライド作成、溶解および電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐために薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Dobrzynska et al., 2014
199	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	コメット試験 (骨髄、肝臓、脳) 雄マウス (Swiss Webster) 5匹/群	腹腔内投与 0, 500, 1,000, 2,000 mg/kg bw/day 5日間 24時間後に屠殺 陽性対照: cyclophosphamide	TiO ₂ NPs, ルチル型とアナターゼ型の混合物 (XRD), 44 nm (XDR), 多面体形態 (TEM)	NSC: 1 組織中の Ti 測定によりばく露が確認された。 分散方法に関する情報なし。	陽性 (すべての組織)	Reliability: 2 "細胞毒性の適切な測定が行われていない状況で、tail length, %DNAおよびtail moment の有意な用量依存的増加が見られた"(EFSA ANS Panel, 2016)	Limited この研究で適用された腹腔内投与経路は、非生理学的であるため、OECD ガイドラインでは推奨されていない。投与経路が食事からの摂取に関連しない。	陰性: すべての用量における3種類の細胞 (骨髄、脳、肝臓) のDNA損傷 (tail length, % DNA in tail mean, tail moment) スライド作成、溶解および電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		El-Ghor et al., 2014
200	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	アルカリコメット試験 (肝臓) 雄アルビノマウス 10匹/群	腹腔内投与 濃度: 100, 200, 400 mg/kg bw/d ばく露: 週1回4週間 屠殺時期は不明 溶媒: 生理食塩水 陽性対照: シクロホスファミド 40 mg/kg bw (腹腔内投与)	TiO ₂ -NPs, 粒子サイズ不明, アナターゼ型(BDH) 試料調製に関する情報なし	-	-	-	-	陰性 (肝臓) 最高用量でDNA損傷が統計的に有意に確認された。 スライド作成、溶解、電気泳動中に周囲の光を制御しているかどうか、試験方法に記載されていない。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		El-Bassayoni et al., 2017
201	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	アルカリコメット試験 (肝臓、脾臓) 3ヶ月齢のマウス (C57Bl/6-Tg (LacZ)、性別不明) 5 - 6匹/群	静脈注射 濃度: 10, 15 mg/kg bw/d ばく露: 2日間 最終投与から28日後に屠殺 陽性対照: N-エチル-N-ニトロソ尿素 120 mg/kg/bw (腹腔内注射)	TiO ₂ -NPs, mean 22nm, アナターゼ型 (NM-102; JRC nanomaterial) NANOGENOTOX分散プロトコルに従い、0.05% w/v BSA溶液を400 W、16 分間超音波処理を行い、安定した分散液を調製	-	-	-	-	陰性 (肝臓、脾臓) スライド作成、溶解、電気泳動は、付加的なDNA損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。 OECDガイドラインでは、投与後2 - 6時間後に検体を採取することを推奨している。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Louro et al., 2014
202	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	アルカリコメット試験 (胃) 10 - 12 週齢の雄マウス (Swiss Webster) 5匹/群	強制経口投与 濃度: 5, 50, 500 mg/kg bw/d ばく露: 5日間 最終投与から24時間後、7日後、14日後に屠殺	TiO ₂ -NPs, 46.23 ± 3.45 nm, アナターゼ型 (Sigma) 超音波処理を行い、安定した分散液を調製 (その他の詳細情報はなし)	-	-	-	-	Equivocal (胃細胞) すべての投与群でDNA損傷の証拠が示されたが、明確な細胞毒 (様々な酸化ストレスマーカーで測定) と並行してのみ認められた。用量反応の証拠と同時に、		Mohamed, 2015
203	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	アルカリコメット試験 (骨髄、脳、肝臓) 雄マウス (CBAxB6) 5匹/群	強制経口投与 濃度: 40, 200, 1,000 mg/kg bw/d ばく露: 7日間 最終投与から24時間後に屠殺 溶媒: 蒸留水	TiO ₂ -NPs, 33 ± 16.7 nm, アナターゼ型 (供給元: ロシアの化粧品会社) 蒸留水により分散液を調製 (その他の詳細情報はなし)	-	-	-	-	陰性 (骨髄、肝臓) 陰性 (脳) 陰性結果 (% tail DNA) は、骨髄では最低用量から、肝臓では最高用量で観察された。 陽性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動は、DNAの追加損傷を防ぐため、薄暗く黄色い光の下で実施された。		Sycheva et al., 2011

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
204	<i>in vivo</i>	DNA damage (Comet assay)	アルカリコメット試験 (末梢白血球) 4-5月齢の雄マウス (CBAxB6) 5匹/群	飲水投与 濃度: 飲料水中の500 mg/kg bw/d (他の遺伝毒性試験の用量計算が不正確であるため、マウスがばく露された TiO2-NPsの濃度は不明) ばく露期間は不明 溶媒: 蒸留水	TiO2-NPs, mean 21 nm, アナターゼ型-75%, ルチル型 25% (Degussa-Evonik) 使用直前に蒸留水中の粒子を15分間超音波処理することにより、安定な分散液を調製	-	-	-	-	Equivalent (末梢白血球) tail momentを増加させるが、細胞毒性は評価されていないため、結果の解釈は難しい。 陰性対照なし。 スライド作成、溶解、電気泳動中に周囲の光を制御しているかどうか、試験方法に記載されていない。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化		Trouiller et al., 2009
205	<i>in vitro</i>	DNA binding	ヒトゲノムDNAへの結合 (<i>in vitro</i>)	方法: 紫外可視分光法と臭化エチジウム (EtBr) 蛍光発光スベクトルの消光法	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, <100 nm	NSC: 2 水と塩地について、異なる濃度での一連の関連特性が報告されているが、凝集レベルを直接測定していない。	陽性 UV-visible study: TiO2 NPsは紫外線吸収度を増加させた。これは、リン酸骨格との静電的相互作用により、DNAのコンフォメーションが変化したためと思われる。 Quenching study: DNA塩基間に挿入されたTiO2 NPによるEtBr蛍光の減少がみられた。	Reliability: 2	Limited			Patel et al., 2016
206	<i>in vitro</i>	DNA binding	リンノ球由来のDNAへの結合 (ヒトドナー) ヒトゲノムDNAへのDNA結合 (<i>in vitro</i>)	ばく露: 蛍光測定によるDNA結合度 2-3分 方法: 臭化エチジウム (EtBr) 蛍光スペクトルの消光によるDNA結合の測定	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 21 nm	NSC: 2 ばく露条件下で分散性を測定 (塩地はFBSを使用)。 凝集体を確認し、24時間まで良好な安定性を示した。	陽性 DNAの塩基間に挿入されたEtBrがTiO2 NPsによって置換されることから、インターカレーション型の結合様式であることが示された。 TiO2 NPsとDNAの強い結合親和性。(結合定数(Kb) =4.158 x 106 M-1)	Reliability: 2	Limited			Patel et al., 2017
207	<i>in vitro</i>	DNA binding	子牛胸腺DNAへの結合	方法: 1) 紫外線-可視分光法 2) 蛍光消光法 3) 円偏光二色性 (CD) 4) ドッキング解析	TiO2NPs, ルチル型, 14 nm (XRD)	NSC: 2 濃定に使用した溶液は、Milli Q水に分散させ、超音波処理をおこなった。	紫外線-可視光で陽性。二本鎖DNAの巻き戻しによるハイパークロミズム; 強い結合親和性 (結合定数 (Kb) =5.4 x103 M-1。 ドッキング解析: マイナグループ、特にA-T塩基対への結合がみられた。	Reliability: 2 試験項目の説明が不十分	Limited			Ali et al., 2018
208	<i>in vitro</i>	DNA binding	一本鎖DNA (ssDNA) 及び二本鎖DNA (dsDNA) へのTiO2-NPの結合性 (サケ精巣由来)	方法: キャピラリー電気泳動法とUV検出及び赤外分光法の組合せ	TiO2 NPs, 21 nm (その他の情報なし)	NSC: 2 超音波処理と部分的な情報あり。 平均流体力学的直径の測定により凝集を確認、分布に関する情報なし。	陽性: 1) dsDNAとssDNAの両方に結合する 2) 赤外分光法では、DNAのリン酸骨格を介して結合相互作用が起こることが示された。 3) ssDNAはdsDNAよりもDNAに吸収されやすい。 4) DNAとTiO2 NPsの結合は、DLSによって測定される流体力学的直径の減少をもたらした。	Reliability: 2	Limited			Alsudi rand Lal, 2017
209	<i>in vitro</i>	DNA binding	TiO2NPs単独及びDoxorubicin (DOX) 併用による <i>in vitro</i> での子牛胸腺DNAへの結合性 <i>In vivo</i> T47D 及び MCF7 乳癌細胞における TiO2NPs+ DOX の組合せの抗増殖作用	方法: UV-Vis吸収分光法及び円偏光二色性 (CD) , DNA熱変性試験, フローサイトメトリー及び蛍光顕微鏡による <i>in vitro</i> 試験	TiO2NPs, アナターゼ型, nominal size<10 nm	NSC: 1 結合試験 NSC: 3 細胞試験 (超音波処理において細胞増殖での安定性や分散に関する情報がない)	陽性 1) TiO2NP とDNAの結合はUV吸収度の増加によって示された 2) TiO2NP とDOXはDNAと熱的に安定な複合体を形成した 3) CDスペクトルによってTiO2単独及び組み合わせによって引き起こされるDNA構造の変化が確認された 4) TiO2NP とDOXの組み合わせで細胞を処理するとDOXの吸収が増加し単独化合物の毒性を増加させることが示された	Reliability: 1	High			Hekmatet al., 2013
210	<i>in vitro</i>	DNA binding	<i>in vitro</i> におけるTiO2NPs単独及びバクテリアセル (PTX) 併用時の子牛胸腺DNAへの結合性 <i>In vivo</i> MB- 231乳癌細胞におけるTiO2 NPs+PTXの組合せの抗増殖作用	方法: 紫外-可視吸収分光法及び円偏光二色性 (CD) , 臭化エチジウム (EtBr) 存在下での蛍光分光法	TiO2NPs, アナターゼ型, < 10 nm	NSC: 1 結合試験 NSC: 3 細胞試験 (超音波処理において細胞増殖での安定性や分散に関する情報がない)	陽性 1) TiO2NP とDNAの結合はUV 吸収度の増加によって示された 2) TiO2NP とPTX はDNAと熱的に安定な複合体を形成した 3) CD スペクトルはTiO2 単独及び併用によって引き起こされるDNA 構造変化を示した 4) 蛍光結果はPTX+ TiO2 NP がnon-intercalativeなメカニズムで複合体を形成することが示唆された 5) TiO2NP とPTX を組み合わせで用いることで、MB- 231 細胞の毒性が増加した。	Reliability: 1	High			Hekmat et al., 2020
211	<i>in vivo</i>	Other <i>in vivo</i> assays DNA binding	肝細胞へのDNA結合 Sprague-Dawley ラットへのTiO2-NPsの経鼻投与 (<i>in vivo</i> 試験)	経鼻投与 300 µg/ラット/day 45日間 1) UV-VIS吸収スペクトル 2) アガロースゲル中のDNAのマイクロ放射光蛍光X線分析 (m-SRXRF) 3) 原子間力顕微鏡	1)TiO2NPs, アナターゼ型 < 25 nm 2) TiO2, ルチル型 < 5µm 3) TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型 (95-90/5-10%), < 100 nm	NSC: 1 超音波処理を行い、DNA中のTiを測定することでばく露を確認した。	陽性 (DNAへの結合): TiO2 NPs アナターゼ型とTiO2 NPs アナターゼ型/ルチル型混合物 陰性: TiO2粒子。 DNA断片: TiO2 NPs アナターゼ型は存在するが、TiO2粒子は存在しなかった。 AFMによるDNA分子内のTiO2NP凝集体 (networks of tangled DNA strands) 。 TiO2ルチル型粒子では、このような構造はみられなかった。	Reliability: 1	High			Jin et al., 2013
212	<i>in vivo</i>	Other <i>in vivo</i> assays DNA binding	腹腔内投与されたICRマウスの肝DNAへの結合 (<i>in vivo</i> 試験)	腹腔内投与 5, 10, 50, 100, 150 mg/kg bw/day 14日間 方法 1) UV-Vis吸収分光法 2) 拡張X線吸収収縮細構造 (EXAFS) 分光法 (EXAFS) 分光法 3) 円偏光二色性 (CD) 分光法 DNA中のTiO2- NPの <i>in vivo</i> 測定法: 誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS)	TiO2 NPs, アナターゼ型 5 nm (XRD)	NSC: 1 超音波処理を行い、肝細胞DNA中のTiを測定することでばく露を確認した。	陽性: 静電相互作用によるDNAの構造変化 EXAFS: TiO2 NPsは、DNAの3つの酸素/窒素原子と2つのリン原子と結合した。肝重量の増加 (50-150 mg/kgの範囲) ICP- MSによる肝DNA中のTiO2-NPsの用量依存的な増加がみられた。	Reliability: 1	High	陽性: DNA結合 (肝細胞) DNAの塩基対に挿入するか、DNAの酸素または窒素原子3個とリン原子2個と結合したDNAヌクレオチドに結合して肝臓DNAに蓄積された。50 mg/kg bw/d以上の用量でDNAのコンフォメーションに変化。 陰性対照なし。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Li et al., 2010

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
213	<i>in vitro</i>	DNA damage response	成長停止及びDNA損傷誘導性45 a タンパク質の発現上昇 (Gadd45 a マウス胚線維芽細胞 (PW)) HIF-1 a (+/-)細胞 HIF-1 a (-/-)細胞	0, 1.25, 2.5, 5, 7.5, 10, 20 µg/ml	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型 (90/10), 28 nm, 10-60 nm (TEM)	NSC: 3 生理食塩水で超音波処理 (30分) により分散させた。 追加情報なし。	TiO2NPsは有意なGadd45 a のアップレギュレーションを誘導しなかった。 また全ての濃度、ばく露時間において有意な細胞毒性は観察されなかった。	Reliability: 5 コバルトナノ材料に焦点を当て、TiO2NPs が陰性対照として使用された。エンドポイント は、遺伝毒性の一義的なマーカーではない (Gadd45 a は、DNA損傷によってのみ誘導されるわけではない)。最高濃度 (20 µg/ml) は、関連する影響を除外するには低すぎる。 標的細胞に関する情報が不十分。 陽性対照物質が使用されていない。	Low			Feng et al., 2015
214	<i>in vitro</i>	DNA damage response	ATM リン酸化及びγH2AX (フローサイトメトリー) ヒト繊維芽細胞 (GM07492) (未交換細胞)	0.01, 0.1, 1, 10 µg/mL ばく露: 24時間 +回復時間 (0, 24, 48, 72 時間)	TiO2NPs, 28-49 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 1 ばく露条件下 (FBS添加懸濁液) で測定した分散度。特に24時間後、凝集体が存在する可能性がある。 細胞への取込みを測定し、用量依存的なNP及び凝集体の内在化を確認。	10 µg/mLでの解析のみで結論は出ていない。この濃度においてリン酸化ATMとγH2AXに変化はみられなかった。細胞生存率の指標となるミトコンドリア酵素活性 (XTT アッセイ) は、10 µg/mLまでは有意な低下は認められなかったが、100 µg/mLで約65 %まで低下した (計算上のIC50: 168.9 µg/mL)。	Reliability: 3 試験濃度が低すぎる	Low			Franchi et al., 2015
215	<i>in vitro</i>	DNA damage response	標的細胞: ヒト初代表皮角化細胞 Phospho-histone H2AX (γH2AX)測定 免疫蛍光試験	γ-H2AXアッセイ: 1, 100 µg/ml 粒子の内在化、局在化 100 µg/ml ROS産生: 50 µg/ml, 100 µg/ml ばく露: γ-H2AX アッセイ: 24時間 ROS産生: 4, 8時間	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散を測定し、凝集が観察された。 TEMで細胞内への取込みが確認された。	γ-H2AXアッセイ、γ-H2AX fociを有する細胞の割合: 陽性 1 µg/mlでは有意な増加は認められず、100 µg/mlではわずかな有意な増加がみられた。 ROS産生 (CellROX dye, 蛍光試験): 亜致死濃度では、濃度及び時間に依存したROSの誘導、特にミトコンドリアでの局在化がみられた。 核内にはNPは検出されず、核周辺に検出された。	Reliability: 2 γ-H2AXアッセイはDNA損傷を示す研究であるが、標準化された試験ではない。	Limited			Kathawala et al., 2015
216	<i>in vitro</i>	DNA damage response	ToxTrackerアッセイ Tracker reporter細胞Bsc12- GFP 及びRtkn-GFP (DNA複製ストレス)、Btg2-GFP (p53-関連細胞ストレス 細胞ストレス)、Srxn1-GFP 及び Blnrb- GFP (酸化ストレス)、Ddit-GFP (タンパク質損傷)、mES細胞 (マウス初代胚性繊維芽細胞)	ToxTrackerアッセイ: フローサイトメトリーによる観察 ToxTrackerレポーター細胞 (胚性幹細胞ベース)、初代マウス胚性繊維芽細胞存在下 0, 0.98, 1.95, 3.9, 7.8, 15.6 µg/cm2 (0, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50 µg/ml) ばく露: 24時間 陽性対照: 発がん性のクオーツ DQ12 (酸化ストレス及び炎症)、シスプラチン、マレイン酸ジエチル、ツニカマイシン、KBrO3	E 171, アナターゼ型 (0.2% ルチル型), 390 nm (DLS)	NSC:2 分散と安定性はばく露媒体中で測定されたが、異なる濃度範囲を得るための希釈は後で実施した。一定の凝集が確認された。高濃度 (50 µg/ml, 15.6 µg/cm2相当) で24時間までの良好な安定性が確認された。	ToxTrackerアッセイ: 陰性 いずれの用量においても、レポーターの活性化に有意差はみられなかった。 7.8 µg/cm2以上の濃度において細胞毒性(50%以上)	Reliability: 2 (同じ研究で、3つの細胞株のコメット試験と1つの細胞株のFPGコメットで陽性結果が報告された。この不一致は、コメット試験と比較してDNA切断とDNA酸化損傷の検出におけるToxTrackerの感度が低いことを強調している。)	Limited			Brown et al., 2019
217	<i>in vitro</i>	DNA damage response	DNA損傷マーカーとしてのGADD45A及びDDIT3の発現解析	GFPの発現測定 最大25.8 µg/cm2	TiO2NPs (P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散に関する情報あり。 細胞粒子の取込みをフローサイトメトリーで確認。	陰性 GADD45A及びDDIT3遺伝子の発現パターンにTiO2 NPsの影響はみられなかった。	Reliability: 5 GADD45A 及び/または DDIT3 の誘導は酸化的 DNA 損傷を反映している可能性があるが、DNA 損傷の明確なマーカーではない。	Low			Hufnagel et al., 2020
218	<i>in vitro</i>	DNA methylation	ゲノムDNAメチル化	100 µg/mL TiO2 ばく露: 24時間および72時間	TiO2NPs(P25), アナターゼ型/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散と安定性の測定と報告、細胞内への取り込みの確認	TiO2 NPはin vitroの複数の哺乳類細胞株においてDNAメチル化パターンに影響を与えた。全体的なDNAメチル化の減少、いくつかの特定遺伝子のプロモーターメチル化の増加、DNAメチル化の制御に関わるいくつかの遺伝子の発現レベルの変化が見られた。	Reliability: 5 この研究は遺伝毒性エンドポイントを選っていないが、TiO2 の総合評価で考慮されるべきである	Low (遺伝毒性に関するものだが、エピジェネティックなエンドポイントも取り上げる価値がある可能性がある)			Pogribna et al., 2020
219	<i>in vitro</i>	DNA methylation	ゲノムDNAメチル化、細胞内ROS生成 (ヒト肺癌細胞株A549) (ヒト気管支上皮細胞株) (16HBE)	濃度: 0.1, 1, 10, 100 µg/mL 試験時間: 48時間	TiO2NPs, アナターゼ型, 60 nm	NSC: 2 培養液で分散を測定しているが、単一濃度であり、ある程度の凝集が確認された。試験系にFBSが存在するため、分散が促進される可能性がある。100 nm前後の粒子とそれ以上の粒子の2つのクラスターが報告されているが、試験濃度についての情報は報告されていない。安定性に関する情報はない。低濃度も試験されている。	両細胞株において、TiO2 NPs処理後に、細胞内ROS量の有意な増加とともにゲノムDNAメチル化レベルが有意に減少した (DCFH-DAアッセイ)	Reliability: 5 この研究は遺伝毒性エンドポイントを選っていないが、TiO2 の総合評価で考慮されるべきである	Low (遺伝毒性に関するものだが、エピジェネティックなエンドポイントも取り上げる価値がある可能性がある)			Ma et al., 2017
220	<i>in vitro</i>	DNA methylation	トランスクリプトームとエピゲノムの変化 (マウス食細胞株J774)	10 µg/well 24時間後、RNA単離と分光光度計による分析	TiO2, 1 µm (詳細不明)	NSC: 3 超音波処理を行ったが、試験培地中の凝集・安定性についての情報なし	DNAメチル化の全体的な減少、複数の特定の遺伝子座のメチル化における双方向の変化。いくつかのケース (免疫および炎症シグナルに関する遺伝子座) では、転写とDNAメチル化の両方の変化が同時に起こっていた。	Reliability: 5 この研究は遺伝毒性エンドポイントを選っていない DNA メチル化パターンの解析はTiO2 の総合評価で考慮されるべきものである	Low (遺伝毒性に関するものだが、エピジェネティックなエンドポイントも取り上げる価値がある可能性がある)			Emi et al., 2020

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
221	<i>in vitro</i>	DNA damage response	γH2AX fociアッセイ (A549ヒト肺がん細胞)	50, 100, 200 μg/ml, 24時間	1)TiO2NPs, アナターゼ型, 12 nm (TEM) 2) TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 1 分散に関する情報は不十分だが、EMによりNPsの細胞インターナライゼーションが確認されている。	陰性	Reliability: 2 γH2AXアッセイは標準化された試験ではないが、DNA損傷の指標となる可能性がある。この方法は、規制目的のために検証されていない。	Limited			Jugan et al., 2012
222	<i>in vitro</i>	DNA damage response	γH2AX (ウェスタンブロット、免疫蛍光法) (A549ヒト肺がん細胞) TiO2 NPsの細胞内取り込み (FACS解析)	γH2AX: 100, 250, 500, 750, 1000 μl/ml, 1時間 TiO2 NPsの細胞内取り込み: 250, 500, 750, 1000 μg/ml TiO2 NPsまたはTiO2 MPs, 1時間	1) TiO2NPs, アナターゼ型, .5 nm 2) TiO2, アナターゼ型, 5,000 nm	NSC: 2 2つのプロトコルがあり、1つはBSAでコーティングし、フローサイトメトリーでインターナライゼーションを測定している。	濃度依存的に γH2AX fociが増加した (特にTiO2 NPs) 。 TiO2 NPsの取り込みは濃度依存的であり、TiO2 NPsではTiO2よりも高い取り込みが見られた。 TiO2 NPs (TiO2も) は、すべての細胞相で等しく取り込まれた。γH2AXの生成はTiO2粒子の取り込みに比例していた。TiO2 NPはTiO2よりもDSBを誘発していない。	Reliability: 2 γH2AXアッセイは標準化された試験ではないが、DNA損傷の指標となる可能性がある。この方法は、規制目的のために検証されていない。	Limited			Toyooka et al., 2012
223	<i>in vitro</i>	DNA damage response	バイアス正電電場ゲル電気泳動システム (BSFGE) を用いてDSBを評価	50, 100, 250 μg/ml TiO2 NpsまたはTiO2 MPs, 1時間	1) TiO2NPs, アナターゼ型, .5 nm 2) TiO2, アナターゼ型, 5,000 nm	NSC: 2 2つのプロトコルがあり、1つはBSAでコーティングし、フローサイトメトリーでインターナライゼーションを測定している。	著者らによると、TiO2処理によるγH2AX生成はDSBの形成に起因する (阻害剤を用いて確認)。	Reliability: 2 規制のために検証された試験ではない。	Limited			Toyooka et al., 2012
224	<i>in vitro</i>	DNA damage response	ROSの生成: 6carboxy- 2,7' diclorodihydrofluorescein diacetate, di(acetoxyster) (DCFH-DA)	50, 100, 250, 500, 750, 1000 μg/ml nano-TiO2, 1時間 陽性対照: 過酸化水素	1) TiO2NPs, アナターゼ型, .5 nm 2) TiO2, アナターゼ型, 5,000 nm	NSC: 2 2つのプロトコルがあり、1つはBSAでコーティングし、フローサイトメトリーでインターナライゼーションを測定している。	750 μg/mlと1000 μg/mlでは、ROSのわずかな増加が観察されたが、統計的に有意ではなかった。	Reliability: 5 本試験では遺伝毒性に関するエンドポイントには触れていないが、メカニズムに関しては検討される可能性がある。	Low			Toyooka et al., 2012
225	<i>in vitro</i>	DNA damage response	表面コーティング (BSA) がγH2AXの生成に与える影響を評価	(原文に記載なし)	1) TiO2NPs, アナターゼ型, .5 nm 2) TiO2, アナターゼ型, 5,000 nm	NSC: 2 2つのプロトコルがあり、1つはBSAでコーティングし、フローサイトメトリーでインターナライゼーションを測定している。	TiO2 NPsの取り込みは、1時間培養後のA549細胞で減衰した。BSAコーティングTiO2 NPはγH2AXの生成を引き起こさなかったが、8時間培養後、非コーティングおよびBSAコーティングTiO2の両方でγH2AXが生成された。非コーティングTiO2処理後の生成は顕著であった。	Reliability: 2 γH2AXアッセイは標準化された試験ではないが、DNA損傷の兆候を示す可能性がある。この方法は、規制目的では検証されていない。	Limited			Toyooka et al., 2012
226	<i>in vitro</i>	DNA damage response	γH2AX免疫染色 NRK-52Eラット腎臓近位細胞 (CRL-1571)	20 to 200 μg/mL 陽性対照: エトポシド 陰性対照: 未処理細胞	1) TiO2NPs, アナターゼ型, 12 nm (TEM) 2) TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm 3) TiO2, アナターゼ型, 142 nm (TEM)	NSC: 1 特定の分散プロトコルで、異なるレベルの凝集が観察されたが、細胞インターナライゼーションが確認された (図3はTiO2NPs (12nm) だけを報告しているが、本文はすべてのNPについて確認している)。	γH2AX fociへの影響はない。	Reliability: 1	Limited γH2AXアッセイは標準化された試験法ではなく、規制目的での検証は行われていない。			Barillet et al., 2010
227	<i>in vivo</i>	Other in vivo assays DNA damage	DNA 雄ラットの脳におけるDNA断片化	強制経口投与 500 mg/kg bw 30日間 20 匹/群 ジフェニルアミン染色による比色定量	TiO2NPs, 90 nm (40-140 nm) TEM (結晶型不明)	NSC: 4 高用量 (500mg/kgbw, 強制経口投与) の半回投与前に分散を検討した。 分散レベルに関する結果がない	TiO2NPs投与により、対照群に比べNrf2濃度及びNQO1 mRNA発現が有意に低下し、同時にiNOS及びDNA断片化%が増加した。	Reliability: 3 方法と結果の報告が不十分 使用される方法は標準化されていない。	Low	陽性 (脳細胞) 対照群と比較して、DNA断片化が増加した。 陽性対照なし。 DNA損傷の検出に標準化されていない方法を使用している。 方法と結果の両方に関して詳細な情報が不足している。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Kandell et al., 2020

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	文献
228	<i>in vivo</i>	Other <i>in vivo</i> assays DNA damage	DNA損傷応答に関するタンパク質発現: GADD45 α, XRCC1, Chk2 酸化ストレス: (DCFH-DA), MDA, SOD, GSH-ペルオキシダーゼ 肝臓, 脾臓, 腎臓, SDラット	気管内注入 0.2, 1.0 g/kg body weight 単回投与 投与後1日目, 3日目, 7日目に屠殺	TiO2 NPs, アナターゼ型, 10-25 nm (SEM, TEM)	NSC: 1 組織中のTiを測定することで分散を測定し, ばく量を確認。	ラットの肝臓, 脾臓, 腎臓では, TiO2 NPsばく露により, XRCC1, Chk2, GADD45 αの発現が用量依存的に上昇した。 酸化ストレスマーカー: 全組織において, 用量依存的にMDAが増加し, GSHとSODが減少した。 病理組織学 肝臓: 両群で炎症性変化がみられ, 高用量群ではより重篤であった。 脾臓と腎臓でも病理組織学的所見がみられたが, 報告は不十分であった	Reliability: 3 結果の限定的な報告 粒子の気管内投与に不適切な高用量	Low 限られた研究内容 投与経路が経口ばく露に関連しない			Han et al., 2020b
229	<i>in vivo</i>	Other <i>in vivo</i> assays DNA deletion assay	DNA deletion assay <i>p</i> ^{wt} locusマウス (C57Bl/6J <i>p</i> ^{wt} / <i>p</i> ^{wt}) C57Bl/6J <i>p</i> ^{wt} / <i>p</i> ^{wt} マウス; pink-eyed unstable (<i>p</i> ^{wt}) 遺伝子座 (遺伝子内重複) 野生型 <i>p</i> 遺伝子の再構成は, トランスジェニックマウスの色素のない網膜色素上皮 (RPE) 上	胎児発育期に500 mg/kgで処理 仔マウスは20 日齢で屠殺 陰性対照: 水	TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型15-24 nm	NSC: 2 水中での超音波処理と凝集に関する情報は不十分だが, 粒子と凝集体の両方の存在を確認した。	陽性 TiO2 NP は, 胎児の DNA 欠失頻度を増加させた。	Reliability: 2 「発生中の胚における遺伝毒性の評価は, 組織内で開発された方法に基づいており, 検証されていない」 (EFSA ANS Panel, 2016)	Limited	陽性: 胎児におけるDNA欠失頻度の増加 (網膜色素上皮あたりの眼点数) 陰性対照なし。 等価用量は 500 mg/kg bw/d と報告されているが, 著者から報告された情報によると, 実際には 50 mg/kg bw/d であった。 カナダ保健省食品局は, この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Trouiller et al., 2009
230	<i>in vivo</i>	DNA damage	クロマチン構造アッセイ (精子) 8-12 週齢の雄マウス (Ogg1-/-ノックアウト (KO) および Ogg1+/+ 野生型 (WT)) 6匹/群	静脈内単回投与 濃度: 5 mg/kg bw/d 投与から1日または7日後に屠殺 溶媒: dH2O/10X BSA/10X PBS	TiO2-NPs, 21 nm, 結晶形不明 (Degussa-Evonik) dH2O/10X BSA/10X PBS中の粒子を超音波処理を行うことにより, 安定な分散液を調製 (その他の詳細情報はなし)	-	-	-	-	陰性 (精子細胞) KOマウスおよびWTマウスの精子DNA断片化 カナダ保健省食品局は, この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Asare et al., 2016
231	<i>in vivo</i>	DNA damage	一本鎖コンフォメーション多型解析 (プレセリニン1遺伝子) 0 - 12週齢の雄マウス (Swiss Webster) 5匹/群	強制経口投与 濃度: 5, 50, 500 mg/kg bw/d 最終投与から24時間, 7日, 14日後に屠殺 溶媒: 蒸留水	TiO2-NPs, 46.23 ± 3.45 nm, アナターゼ型(22%, ルチル型 77% (Sigma) 超音波処理を行い安定した分散液を調製 (その他の詳細情報はなし)	-	-	-	-	Equivocal 標準化されていない遺伝毒性アッセイおよび試験方法が適用されており, 感度が低い。 陰性対照なし。 カナダ保健省食品局は, この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Mohamed, 2015
232	<i>in vitro</i>	Sister Chromatid Exchange (SCE)	姉妹染色分体交換アッセイ (SCE) (ヒト末梢血リンパ球)	1, 2, 3, 5, 7.5, 10 μM (- S9) 5-bromo-2'-deoxyuridine (20 μM) を培養開始時に添加 Colcemid (0.5 μg/ml) を採取の1.5時間前に添加 陽性対照なし	TiO2 (詳細情報なし)	NSC: 3 分散に関する情報がない。	陽性: 濃度に関係なく, 統計的に有意にSCEが増加した。 酸化ストレスマーカーを赤血球で測定: TiO2は, 赤血球中の抗酸化酵素, グルタチオンペルオキシダーゼ, グルタチオン還元酵素, スーパーオキシディスムターゼ, カタラーゼの濃度を濃度依存的に有意に減少させた。	Reliability: 5 OECDテストガイドライン479は, SCEの生成メカニズムが解明されていないため, 2014年に削除された。	Low SCEはハザード評価のために検証されていない			Turkez and Geyikoglu, 2007
233	<i>in vitro</i>	Sister Chromatid Exchange (SCE)	姉妹染色分体交換アッセイ チャイニーズハムスター卵巣 (CHO)細胞	Aroclor 1254誘発ラット肝S9の存在下および非存在下 (Fischer 344雄ラット) 濃度: 2.5, 8.5, 25 μg/ml ばく露: 2時間 (+S9), 25時間 (- S9) 陽性対照: マイトマイシンC(- S9), シクロホスファミド (+ S9)	TiO2 (Unitane® 0-220) 試験品は, 発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTPリポジトリ (Radian Corporation) から入手したため, NCI two-yearのTiO2がんバイオアッセイで使用した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型),	-	-	-	-	陰性 (+/- S9) しかし, 哺乳類細胞におけるin vitro姉妹染色分体交換アッセイは「試験で検出される効果の作用機序の知見不足」のため, 2014年にOECDによって削除された (OECD 2017)。 最高用量は溶解性によって制限され, 粒子取り込みは評価されず, 細胞毒性に関する情報は報告されていない。		Ivett et al., 1989
234	<i>in vitro</i>	Sister Chromatid Exchange (SCE)	姉妹染色分体交換アッセイ チャイニーズハムスター卵巣 (CHO)細胞	濃度: ~25 μg/ml ばく露期間は不明 (- S9) 陽性対照および陰性対照の情報なし	TiO2 (Unitane® 0-220) 試験品は, 発がん性バイオアッセイで試験された全化学物質のNTPリポジトリ (Radian Corporation) から入手したため, NCI two-yearのTiO2がんバイオアッセイで使用した物質 (Unitane® 0-220, アナターゼ型),	-	-	-	-	陰性 しかし, 哺乳類細胞におけるin vitro姉妹染色分体交換アッセイは「試験で検出される効果の作用機序の知見不足」のため, 2014年にOECDによって削除された (OECD 2017)。 粒子の取り込みは評価されておらず, 細胞毒性に関する情報は報告されていない。		Tennant et al., 1987
235	<i>in vivo</i>	Other <i>in vivo</i> assays Genomic instability	PCR-SSCP 雄マウス (Swiss Webster) 10-12週間 3匹/群	強制経口投与 500 mg/kg bw/day 5日間投与 24時間後, 7日後, 14日後に屠殺	TiO2NPs, アナターゼ型/ルチル型, 46.23 ± 3.45 nm (TEM)	NSC: 4 蒸用量のみ, 分散性, 安定性に関する情報不足。	サンプリング期間 7 日間及び 14 日間のうち 1 頭/群にプレセリニン 1 (PSEN1) 遺伝子のエクソン 5 における変異が検出された: PSEN1 遺伝子の変異 病理組織学: 細胞外及び細胞内の脳浮腫 (24時間後及び7日後), 神経細胞の空胞化 (14日後)。	Reliability: 3 適用される SSCP 技術は, 変異原性処理によって誘発された変異を検出するのに限られた価値 無関係な結果	Low 限られた研究内容 投与経路が食事からの摂取に関連しない	Equivocal 標準化されていない遺伝毒性試験法であり, 試験法の感度が低い。 陰性対照なし。 カナダ保健省食品局は, この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Mohamed and Hussein, 2016
236	<i>in vivo</i>	Other <i>in vivo</i> assays Genomic instability	ランダム増幅多型DNA(RAPD) 血球核反応試験 雄ラット, 最小12匹/群	0.5 mg/ml 腹腔内投与 18回投与 (約2.5 mg/kg bw) 18 回/6週間 ランダムプライマーによるDNA増幅	TiO2NPs, 27 nm (SEM) (結晶型不明)	NSC: 3 分散に関する情報が限定的であり, 安定性に関する情報がない。	ゲノムDNA断片化係数 (Ch) の増加, 0.4328 + 0.00548 (TiO2NPs) ゲノムDNA断片化係数 (Ch) の増加, 0.4328 + 0.00548 (TiO2NP) vs 0.4023 + 0.0064 (コントロール) 統計的に有意 (ANOVA テストによる p < 0.05)	Reliability: 3 ゲノム不安定性への影響が非標準的な方法で評価された。 フラグメンテーション係数が幅なパラメータ 単回投与のみ 陽性対照なし, 結果の報告が不十分	Low 限られた研究内容 投与経路が食事からの摂取に関連しない	陽性 (血液中の有核細胞) 投与したラットのDNA断片化係数が, 対照群と比較してわずかな増加が見られた。 陰性対照なし。 標準化されていない遺伝毒性試験を用いている。DNA損傷の程度を特徴付けるためにDNA断片化係数を使用している (頭部の放射能に対する全尾部画分の総放射能の比)。		Minigaleva et al., 2018

No.	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	試験分類 ¹⁾	試験法 ¹⁾	ばく露条件 ¹⁾ (用量/期間/代謝活性化)	対象物質 ¹⁾	EFSA評価書 (EFSA FAF Panel, 2021) における評価				Health CANADA評価書 (Health Canada, 2022) における評価		文献
						ナノスケールを考慮したスコア (dispersion and/or confirmation of internal exposure), assigned according to Appendix E	結果	信頼性/コメント	結果の妥当性	結果/コメント	備考	
237	<i>in vivo</i>	Other in vivo assays	γH2AX アッセイ (骨髄細胞) C57Bl/6Jp ^{+/+} /p ^{+/+} マウス	飲用水に添加して投与 50, 100, 250, 500 mg/kg 5日間	TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 水中での超音波処理と凝集の考察、報告は不十分だが、粒子と凝集体の両方の存在を示している。	陽性 用量依存的な γH2AX陽性細胞の増加	Reliability: 2 陽性対照なし。 方法の情報が不十分。	Limited γH2AX は標準化されたテスト試験ではない。	陽性 (骨髄) γ-H2AX陽性細胞の割合が有意に増加した (用量反応の証拠)。 標準化されていない遺伝毒性試験が用いられた。 試験方法に関する詳細な情報がない。 陽性対照なし。 等価用量は 50、100、250、500 mg/kg bw/d と報告		Trouiller et al., 2009
238	<i>in vivo</i>	Other in vivo assays	γH2AX アッセイ (骨髄細胞) (DNA 鎖切断を評価するため) マウス雄ラット (Sprague-Dawley) TIE/群	胃内投与 0, 10, 50, 200 mg/kg bw/day 連続30日間	TiO2NPs, アナターゼ型, 75 ± 15 nm	NSC: 2 超音波処理2回により凝集を確認 (報告サイズ 473.6 nm) した。	陽性 投与終了時に、2つの高用量群において、骨髄細胞における γH2AX果の有意かつ用量依存的な増加が観察された。	Reliability: 2 陽性対照なし。	Limited γH2AX は標準化されたテスト試験ではない。	陽性 (骨髄) 対照群と比較して、DNA断片化が増加した。 陽性対照なし。 標準化されていない遺伝毒性試験が用いられた。 カナダ保健省食品局は、この試験物質を食品用二酸化チタンのハザード特性評価と関連性があると見なしていない。		Chen et al., 2014
239	<i>in vivo</i>	Other in vivo assays Genomic instability	雄ラット (Wistar) 気管支肺胞洗浄液 (BALF) の細胞 BALF の無細胞上清の分析: - BALF中のフィブロネクテン -細胞溶解アッセイによるTNF-α活性の測定 -リン脂質	気管内注入 0.15, 0.3, 0.6, 1.2 mg	TiO2NPs (P25), アナターゼ/ルチル型, 15-24 nm	NSC: 2 懸濁液は超音波処理され、高い凝集が確認されたとの情報が提供されている。	8-oxoguanineの増加なし。 一部の炎症バイオマーカーは増加した。	Reliability: 5 “パネルは、そのような研究、特にナノ粒子との直接接触部位での遺伝毒性を評価する場合、TiO2への経口暴露の安全性評価との関連性が限られていることに留意した。” (EFSA ANS Panel, 2016)	Low 研究の限界点および投与経路のため、食事からの摂取に関連しない。			Rehn et al., 2003

No.	書誌情報	発行年	備考
-	EFSA FAF Panel (EFSA Panel on Food Additive and Flavourings), 2021. Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. EFSA Journal 2021;19(5):e06585	2021	評価書
-	Health Canada, 2022. State of the Science of Titanium Dioxide (TiO ₂) as a Food Additive.	2022	評価書
-	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Titanium Dioxide as a Food Additive, Food Standards Australia New Zealand 2022.	2022	評価書
-	JECFA TRS 445: Specifications for the Identity and Purity of Food Additives and their Toxicological Evaluation.	1970	評価書
1	Baranowska-Wójcik, E., 2021. Factors Conditioning the Potential Effects TiO ₂ NPs Exposure on Human Microbiota: a Mini-Review. Biological Trace Element Research volume 199, pages4458–4465 (2021)	2021	
8	Brand, W., Peters, R.J., Braakhuis, H.M., Maślankiewicz, L. and Oomen, A.G., 2020. Possible effects of titanium dioxide particles on human liver, intestinal tissue, spleen and kidney after oral exposure. Nanotoxicology, 14(7), pp.985-1007.	2020	
15	EFSA FAF Panel (European Food Safety Authority Panel on Food Additives and Flavourings). 2020. Re-evaluation of sodium aluminium silicate (E 554) and potassium aluminium silicate (E 555) as food additives. EFSA J.	2020	EFSA評価書
16	Gao, Y., Ye, Y., Wang, J., Zhang, H., Wu, Y., Wang, Y., Yan, L., Zhang, Y., Duan, S., Lv, L. and Wang, Y., 2020. Effects of titanium dioxide nanoparticles on nutrient absorption and metabolism in rats: distinguishing the susceptibility of amino acids, metal elements, and glucose. Nanotoxicology, 14(10), pp.1301-1323.	2020	
17	Geiss, O., Ponti, J., Senaldi, C., Bianchi, I., Mehn, D., Barrero, J., Gilliland, D., Matissek, R. and Anklam, E., 2020. Characterisation of food grade titania with respect to nanoparticle content in pristine additives and in their related food products. Food Additives & Contaminants: Part A, 37(2), pp.239-253.	2020	
23	Li, Y., Jiang, K., Cao, H., Yuan, M. and Xu, F., 2021b. Influences of a standardized food matrix and gastrointestinal fluids on the physicochemical properties of titanium dioxide nanoparticles. RSC Advances, 11(19), pp.11568-11582.	2021	
32	Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Mora, V., Gasbarrini, A. and Mele, M.C., 2021. Impact of Food Additive Titanium Dioxide on Gut Microbiota Composition, Microbiota-Associated Functions, and Gut Barrier: A Systematic Review of In Vivo Animal Studies. International journal of environmental research and public health, 18(4), p.2008.	2021	
43	Akhter, M.H., Khalilullah, H., Gupta, M., Alfaleh, M.A., Alhakamy, N.A., Riadi, Y. and Md, S., 2021. Impact of Protein Corona on the Biological Identity of Nanomedicine: Understanding the Fate of Nanomaterials in the Biological Milieu. Biomedicines, 9(10), p.1496.	2021	
44	Arruda, T.R., Vieira, P., Silva, B.M., Freitas, T.D., do Amaral, A.J.B., Vieira, E.N.R. and Leite Júnior, B.R.D.C., 2021. What are the prospects for ultrasound technology in food processing? An update on the main effects on different food matrices, drawbacks, and applications. Journal of Food Process Engineering, 44(11), p.e13872.	2021	
45	Barui, A.K., Oh, J.Y., Jana, B., Kim, C. and Ryu, J.H., 2020. Cancer - targeted nanomedicine: Overcoming the barrier of the protein corona. Advanced Therapeutics, 3(1), p.1900124.	2020	
46	Bettencourt, A., Gonçalves, L.M., Gramacho, A.C., Vieira, A., Rolo, D., Martins, C., Assunção, R., Alvito, P., Silva, M.J. and Louro, H., 2020. Analysis of the characteristics and cytotoxicity of titanium dioxide nanomaterials following simulated In Vitro digestion. Nanomaterials, 10(8), p.1516.	2020	
47	Braakhuis, H.M., Gosens, I., Heringa, M.B., Oomen, A.G., Vandebruiel, R.J., Groenewold, M. and Cassee, F.R., 2021. Mechanism of Action of TiO ₂ : Recommendations to reduce uncertainties related to carcinogenic potential. Annual review of pharmacology and toxicology, 61, pp.203-223.	2021	
48	Breznica, P., Koliqi, R. and Daka, A., 2020. A review of the current understanding of nanoparticles protein corona composition. Medicine and Pharmacy Reports, 93(4), p.342.	2020	
49	Cao, X., Zhang, T., DeLoid, G.M., Gaffrey, M.J., Weitz, K.K., Thrall, B.D., Qian, W.J. and Demokritou, P., 2020. Evaluation of the cytotoxic and cellular proteome impacts of food-grade TiO ₂ (E171) using simulated gastrointestinal digestions and a tri-culture small intestinal epithelial model. NanoImpact, 17, p.100202.	2020	
50	Carrière M, Arnal M-E and Douki T. 2020. TiO ₂ genotoxicity: An update of the results published over the last six years. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 854-855: 503198.	2020	
51	Chu LY, Guo DM, Chen JT, Fang WK, Xie JJ, Peng YH, Xu YW & Li XX. 2020. The Diagnostic Value of Serum L1CAM in Patients with Colorectal Cancer. Technology in Cancer Research & Treatment. 19: 1533033820920971.	2020	
52	Coreas, R., Cao, X., DeLoid, G.M., Demokritou, P. and Zhong, W., 2020. Lipid and protein corona of food-grade TiO ₂ nanoparticles in simulated gastrointestinal digestion. NanoImpact, 20, p.100272.	2020	
53	COT 2022. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment Interim position paper on titanium dioxide. Available online at https://cot.food.gov.uk/sites/default/files/2022-01/TiO2%20COT%20Interim%20position%20paper.pdf	2022	Committee on Toxicity (英) ポジションペーパー
54	de Dicastillo CL, Correa MG, Martinez FB, Streitt C, Galotto MJ. 2020. Antimicrobial Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles. In: Mareş M, Lim SHE, Lai K, Cristina R, editors. Antimicrobial Resistance - A One Health Perspective. London: IntechOpen. Available online at: https://www.intechopen.com/chapters/70919 [Accessed 19 April 2022].	2020	

No.	書誌情報	発行年	備考
55	Duan, S.M., Zhang, Y.L., Gao, Y.J., Lyu, L.Z. and Wang, Y., 2021. The influence of long-term dietary intake of titanium dioxide particles on elemental homeostasis and tissue structure of mouse organs. <i>Journal of Nanoscience and Nanotechnology</i> , 21(10), pp.5014-5025.	2021	
56	Dudefoi, W., Rabesona, H., Rivard, C., Mercier-Bonin, M., Humbert, B., Terrisse, H. and Ropers, M.H., 2021. In vitro digestion of food grade TiO ₂ (E171) and TiO ₂ nanoparticles: physicochemical characterization and impact on the activity of digestive enzymes. <i>Food & Function</i> .	2021	
57	ECHA (European Chemicals Agency). 2022a. Reach registration dossier for titanium dioxide. Repeated dose toxicity: oral. Available online. https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/15560/7/6/2/?documentUUID=4dee57a2-3cd7-4dcb-8b53-a34c53c06569 [Accessed 22 March 2022].	2022	REACH登録情報
58	ECHA (European Chemicals Agency). 2022b. Reach registration dossier for titanium dioxide. Toxicity to reproduction. Available online. https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/15560/7/9/2 [Accessed 23 March 2022].	2022	REACH登録情報
59	EFSA Scientific Committee, More, S., Bampidis, V., Benford, D., Bragard, C., Halldorsson, T., Hernández - Jerez, A., Hougaard Bennekou, S., Koutsoumanis, K., Lambré, C. and Machera, K., 2021b. Guidance on risk assessment of nanomaterials to be applied in the food and feed chain: human and animal health. <i>EFSA Journal</i> , 19(8), p.e06768.	2021	EFSAガイダンス
60	Fasoli, E., 2020. Protein corona: Dr. Jekyll and Mr. Hyde of nanomedicine. <i>Biotechnology and Applied Biochemistry</i> . 2021 Dec;68(6):1139-1152.	2020	
61	Foerster, M., Schreiber, I., Luch, A. and Schüz, J., 2020. Tattoo inks and cancer. <i>Cancer epidemiology</i> , 65.	2020	
62	Geiss O, Bianchi I, Senaldi C, Bucher G, Verleysen E, Waegeneers N, Brassinne F, Mast J, Loeschner K, Vidmar J, Aureli F, Cubadda F, Raggi A, Iacoponi F, Peters R, Undas A, Muller A, Meinhardt AK, Walz E, Graf V and Barrero-Moreno J, 2021. Particle size analysis of pristine food-grade titanium dioxide and E171 in confectionery products: Interlaboratory testing of a single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry screening method and confirmation with transmission electron microscopy. <i>Food Control</i> , 120,107550.	2021	
63	Ghebretatios, M., Schaly, S. and Prakash, S., 2021. Nanoparticles in the food industry and their impact on human gut microbiome and diseases. <i>International Journal of Molecular Sciences</i> , 22(4), p.1942.	2021	
64	Gilbert, J.D., Neubauer, K. and Byard, R.W., 2021. Macroscopic identification of visceral titanium pigment in an intravenous drug user. <i>Journal of Forensic Sciences</i> . 2021 Sep;66(5):2024-2028.	2021	
65	Kämpfer, A.A., Busch, M., Büttner, V., Bredeck, G., Stahlmecke, B., Hellack, B., Masson, I., Sofranko, A., Albrecht, C. and Schins, R.P., 2021. Model Complexity as Determining Factor for In Vitro Nanosafety Studies: Effects of Silver and Titanium Dioxide Nanomaterials in Intestinal Models. <i>Small</i> , 17(15), p.2004223.	2021	
66	Kandeil MA, Mohammed ET, Hashem KS, Aleya L and Abdel-Daim MM, 2020. Moringa seed extract alleviates titanium oxide nanoparticles (TiO ₂ -NPs)-induced cerebral oxidative damage, and increases cerebral mitochondrial viability. <i>Environmental Science and Pollution Research</i> . 27: 19169-19184.	2020	
67	Khashan KS, Sulaiman GM, Abdulameer FA, Albukhaty S, Ibrahim MA, Al-Muhimeed T, AlObaid AA. 2021. Antibacterial Activity of TiO ₂ Nanoparticles Prepared by One-Step Laser Ablation in Liquid. <i>Applied Sciences</i> . 11(10): 4623.	2021	
68	Lee, H., 2021. Molecular Modeling of Protein Corona Formation and Its Interactions with Nanoparticles and Cell Membranes for Nanomedicine Applications. <i>Pharmaceutics</i> , 13(5), p.637.	2021	
69	Li, B., Chua, S.L., Yu, D., Chan, S.H. and Li, A., 2021a. Separation and size characterization of highly polydisperse titanium dioxide nanoparticles (E171) in powdered beverages by using Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation hyphenated with Multi-Angle Light Scattering and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. <i>Journal of Chromatography A</i> , 1643, p.462059.	2021	
70	Liu, N., Tang, M. and Ding, J., 2020. The interaction between nanoparticles-protein corona complex and cells and its toxic effect on cells. <i>Chemosphere</i> , 245, p.125624.	2020	
71	Martínez-Negro, M., González-Rubio, G., Aicart, E., Landfester, K., Guerrero-Martínez, A. and Junquera, E., 2021. Insights into colloidal nanoparticle-protein corona interactions for nanomedicine applications. <i>Advances in Colloid and Interface Science</i> , p.102366.	2021	
72	Marucco, A., Prono, M., Beal, D., Alasonati, E., Fiscaro, P., Bergamaschi, E., Carriere, M. and Fenoglio, I., 2020. Biotransformation of Food-Grade and Nanometric TiO ₂ in the Oral-Gastro-Intestinal Tract: Driving Forces and Effect on the Toxicity toward Intestinal Epithelial Cells. <i>Nanomaterials</i> , 10(11), p.2132.	2020	
73	Medina-Reyes, E.I., Delgado-Buenrostro, N.L., Díaz-Urbina, D., Rodríguez-Ibarra, C., Déciga-Alcaraz, A., González, M.I., Reyes, J.L., Villamar-Duque, T.E., Flores-Sánchez, M.L., Hernández-Pando, R. and Mancilla-Díaz, J.M., 2020. Food-grade titanium dioxide (E171) induces anxiety, adenomas in colon and goblet cells hyperplasia in a regular diet model and microvesicular steatosis in a high fat diet model. <i>Food and Chemical Toxicology</i> , 146, p.111786.	2020	
74	Mortensen, N.P., Moreno Caffaro, M., Aravamudhan, S., Beeravalli, L., Prattipati, S., Snyder, R.W., Watson, S.L., Patel, P.R., Weber, F.X., Montgomery, S.A. and Sumner, S.J., 2021. Simulated gastric digestion and in vivo intestinal uptake of orally administered CuO nanoparticles and TiO ₂ E171 in male and female rat pups. <i>Nanomaterials</i> 11(6), p.1487.	2021	
75	Nature Nanotechnology (unsigned editorial). 2020. The risks of nanomaterial risk assessment. <i>Nat. Nanotechnol.</i> 15, 163.	2020	

No.	書誌情報	発行年	備考
76	Parrino F and Palmisano F (eds). 2020. Titanium Dioxide (TiO ₂) and Its Applications. Metal Oxides Series. Elsevier.	2020	
77	Phue, W.H., Xu, K. and George, S., 2022. Inorganic food additives nanomaterials alter the allergenicity of milk proteins. Food and Chemical Toxicology, p.112874.	2022	
78	Ramoju, S., Andersen, M.E., Nong, A., Karyakina, N., Shilnikova, N., Krishnan, K. and Krewski, D., 2020. Derivation of whole blood biomonitoring equivalents for titanium for the interpretation of biomonitoring data. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 114, p.104671.	2020	
79	Rampado, R., Crotti, S., Caliceti, P., Pucciarelli, S. and Agostini, M., 2020. Recent advances in understanding the protein corona of nanoparticles and in the formulation of “Stealthy” Nanomaterials. Frontiers in bioengineering and biotechnology, 8.	2020	
80	Ranjan, S., Dasgupta, N., Verma, P. and Ramalingam, C., 2020. Acute and sub-chronic toxicity of titanium dioxide nanoparticles synthesized by microwave-irradiation-assisted hybrid chemical approach. J Indian Chem Soc, 97, pp.483-491.	2020	
81	Singh N, Dev I, Pal S, Yadav SK, Idris MM, Ansari KM. 2022. Transcriptomic and proteomic insights into patulin mycotoxin-induced cancer-like phenotypes in normal intestinal epithelial cells. Molecular and Cellular Biochemistry. https://doi.org/10.1007/s11010-022-04387-3	2022	
82	Sofranko, A., Wahle, T., Heusinkveld, H.J., Stahlmecke, B., Dronov, M., Pijnenburg, D., Hilhorst, R., Lamann, K., Albrecht, C. and Schins, R.P., 2021. Evaluation of the neurotoxic effects of engineered nanomaterials in C57BL/6J mice in 28-day oral exposure studies. NeuroToxicology, 84, pp.155-171.	2021	OECD TG424
83	Souza, M.R., Mazaro-Costa, R. and Rocha, T.L., 2021. Can nanomaterials induce reproductive toxicity in male mammals? A historical and critical review. Science of The Total Environment, p.144354.	2021	
84	Tampakis A, Tampakis EC, Nonni A, Tsourouflis G, Posabella A, Patsouris E, Kontzoglou K, von Flüe M, Nikiteas N and Kouraklis G. 2020. L1CAM expression in colorectal cancer identifies a high-risk group of patients with dismal prognosis already in early-stage disease. Medical Oncology. 59(1): 55-59.	2020	
85	Yoshizaki, K., Asai, M. and Hara, T., 2020. High-fat diet enhances working memory in the Y-maze test in male C57BL/6J mice with less anxiety in the elevated plus maze test. Nutrients, 12(7), p.2036.	2020	

食品添加物（二酸化チタン）の安全性評価のための
追加文献調査
報告書

令和 4 年 12 月

一般財団法人化学物質評価研究機構

目 次

1. 目的	1
2. 業務内容	1
3. 調査結果	1

添付資料

- 添付資料 1 文献リスト
- 添付資料 2 文献の要約

1. 目的

食品添加物「二酸化チタン」の安全性評価書（以下、「二酸化チタン評価書」）の作成に資する資料として、二酸化チタンの安全性に関連する公表文献（34 報）について収集及び整理を行った。

2. 業務内容

委託者から提供された二酸化チタンの安全性に関連する公表文献（34 報）（添付資料 1）について情報整理を行った。

3. 調査結果

調査結果を添付資料 2 に示す。

以上

No.	書誌情報	発行年	概要書 記載
A1	Baranowska-Wójcik, E., Gustaw, K., Szwajgier, D., Oleszczuk, P., Pawlikowska-Pawłęga, B., Pawelec, J., Kapral-Piotrowska, J., 2021. Four Types of TiO ₂ Reduced the Growth of Selected Lactic Acid Bacteria Strains. <i>Foods</i> (Basel, Switzerland), 10(5)	2021	-
A2	Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Gustaw, K., 2022. Effect of TiO ₂ on Selected Pathogenic and Opportunistic Intestinal Bacteria. <i>Biological trace element research</i> , 200(5), pp.2468-2474.	2022	-
A3	Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Winiarska-Mieczan, A., 2022. A review of research on the impact of E171/TiO ₂ NPs on the digestive tract. <i>Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)</i> , 72, pp.126988	2022	-
A4	Barreau, F., Tisseyre, C., Ménard, S., Ferrand, A., Carriere, M., 2021. Titanium dioxide particles from the diet: involvement in the genesis of inflammatory bowel diseases and colorectal cancer. <i>Particle and fibre toxicology</i> , 18(1), pp.26.	2021	-
A5	Benbow, N.L., Rozenberga, L., McQuillan, A.J., Krasowska, M., Beattie, D.A., 2021. ATR FTIR Study of the Interaction of TiO ₂ Nanoparticle Films with β -Lactoglobulin and Bile Salts. <i>Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids</i> , 37(45), pp.13278-13290.	2021	-
A6	Blaznik, U., Krušić, S., Hribar, M., Kušar, A., Žmitek, K., Pravst, I., 2021. Use of Food Additive Titanium Dioxide (E171) before the Introduction of Regulatory Restrictions Due to Concern for Genotoxicity. <i>Foods</i> (Basel, Switzerland), 10(8).	2021	-
A7	Cao, X., Khare, S., DeLoid, G.M., Gokulan, K., Demokritou, P., 2021. Co-exposure to boscalid and TiO ₂ (E171) or SiO ₂ (E551) downregulates cell junction gene expression in small intestinal epithelium cellular model and increases pesticide translocation. <i>NanoImpact</i> , 22, pp.100306.	2021	-
A8	Colin-Val, Z., Vera-Márquez, C.D., Herrera-Rodríguez, M.A., Del Pilar Ramos-Godinez, M., López-Saavedra, A., Cano-Martínez, A., Robledo-Cadena, D.X., Rodríguez-Enríquez, S., Correa, F., Delgado-Buenrostro, N.L., Chirino, Y.I., López-Marure, R., 2022. Titanium Dioxide (E171) Induces Toxicity in H9c2 Rat Cardiomyoblasts and Ex Vivo Rat Hearts. <i>Cardiovascular toxicology</i> , 22(8), pp.713-726.	2022	-
A9	Conde, J., Schwarzfischer, M., Katkeviciute, E., Häfliger, J., Niechcial, A., Brillant, N., Manzini, R., Bähler, K., Atrott, K., Lang, S., Scharl, M., 2021. Titanium Dioxide Presents a Different Profile in Dextran Sodium Sulphate-Induced Experimental Colitis in Mice Lacking the IBD Risk Gene Ptpn2 in Myeloid Cells. <i>International journal of molecular sciences</i> , 22(2):772	2021	○
A10	Dudefoi, W., Rabesona, H., Rivard, C., Mercier-Bonin, M., Humbert, B., Terrisse, H., Ropers, M.H., 2021. In vitro digestion of food grade TiO ₂ (E171) and TiO ₂ nanoparticles: physicochemical characterization and impact on the activity of digestive enzymes. <i>Food & function</i> , 12(13), pp.5975-5988.	2021	-
A11	Gerasimidis, K., Bryden, K., Chen, X., Papachristou, E., Verney, A., Roig, M., Hansen, R., Nichols, B., Papadopolou, R., Parrett, A., 2020. The impact of food additives, artificial sweeteners and domestic hygiene products on the human gut microbiome and its fibre fermentation capacity. <i>European journal of nutrition</i> , 59(7), pp.3213-3230.	2020	-
A12	Hofseth, L.J., Hebert, J.R., Chanda, A., Chen, H., Love, B.L., Pena, M.M., Murphy, E.A., Sajish, M., Sheth, A., Buckhaults, P.J., Berger, F.G., 2020. Early-onset colorectal cancer: initial clues and current views. <i>Nature reviews. Gastroenterology & hepatology</i> , 17(6), pp. 352-364.	2020	-
A13	Hu, H., Zhang, B., Li, L., Guo, Q., Yang, D., Wei, X., Fan, X., Liu, J., Wu, Q., Oh, Y., Feng, Y., Chen, K., Wang, C., Hou, L., Gu, N., 2020. The toxic effects of titanium dioxide nanoparticles on plasma glucose metabolism are more severe in developing mice than in adult mice. <i>Environmental toxicology</i> , 35(4), pp.443-456.	2020	○
A14	Kurtz, C.C., Mitchell, S., Nielsen, K., Crawford, K.D., Mueller-Spitz, S.R., 2020. Acute high-dose titanium dioxide nanoparticle exposure alters gastrointestinal homeostasis in mice. <i>Journal of applied toxicology : JAT</i> , 40(10), pp.1384-1395.	2020	○
A15	Lamas, B., Martins Breyner, N., Houdeau, E., 2020. Impacts of foodborne inorganic nanoparticles on the gut microbiota-immune axis: potential consequences for host health. <i>Particle and fibre toxicology</i> , 17(1), pp.19.	2020	-
A16	Luo, K., Park, H., Adra, H.J., Ryu, J., Lee, J.H., Yu, J., Choi, S.J., Kim, Y.R., 2020. Charge-switchable magnetic separation and characterization of food additive titanium dioxide nanoparticles from commercial food. <i>Journal of hazardous materials</i> , 393, pp.122483.	2020	-
A17	Luo, K., Yoon, Y.L., Park, H., Choi, S.J., Kim, Y.R., 2022. Effect of organic acids on the morphology and particle size of titanium dioxide (E171) in processed food. <i>Journal of hazardous materials</i> , 432, pp.128666.	2022	-

No.	書誌情報	発行年	概要書 記載
A18	Malik, M., Subedi, S., Marques, C.N.H., Mahler, G.J., 2020. Bacteria Remediate the Effects of Food Additives on Intestinal Function in an in vitro Model of the Gastrointestinal Tract. <i>Frontiers in nutrition</i> , 7, pp.131.	2020	-
A19	Medina-Reyes, E.I., Delgado-Buenrostro, N.L., Díaz-Urbina, D., Rodríguez-Ibarra, C., Déciga-Alcaraz, A., González, M.I., Reyes, J.L., Villamar-Duque, T.E., Flores-Sánchez, M.L., Hernández-Pando, R., Mancilla-Díaz, J.M., Chirino, Y.I., Pedraza-Chaverri, J., 2020. Food-grade titanium dioxide (E171) induces anxiety, adenomas in colon and goblet cells hyperplasia in a regular diet model and microvesicular steatosis in a high fat diet model. <i>Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association</i> , 146, pp.111786.	2020	-
A20	Medina-Reyes, E.I., Rodríguez-Ibarra, C., Déciga-Alcaraz, A., Díaz-Urbina, D., Chirino, Y.I., Pedraza-Chaverri, J., 2020. Food additives containing nanoparticles induce gastrototoxicity, hepatotoxicity and alterations in animal behavior: The unknown role of oxidative stress. <i>Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association</i> , 146, pp.111814.	2020	-
A21	Medina-Reyes, E.I., Rodríguez-Ibarra, C., Díaz-Urbina, D., Déciga-Alcaraz, A., Delgado-Buenrostro, N.L., Chirino, Y.I., Pedraza-Chaverri, J., 2022. Food-grade titanium dioxide decreases hematocrit and hemoglobin and increases compulsive-like behavior in male mice. <i>Journal of applied toxicology : JAT</i> , 42(8), pp.1411-1419.	2022	-
A22	Putra, C., Bello, D., Tucker, K.L., Kelleher, S.L., Mangano, K.M., 2022. Estimation of Titanium Dioxide Intake by Diet and Stool Assessment among US Healthy Adults. <i>The Journal of nutrition</i> , 152(6), pp.1525-1537.	2022	-
A23	Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Gasbarrini, A., Mele, M.C., 2020. Food Additives, Gut Microbiota, and Irritable Bowel Syndrome: A Hidden Track. <i>International journal of environmental research and public health</i> , 17(23).	2020	-
A24	Salou, S., Larivière, D., Cirtiu, C.M., Fleury, N., 2021. Quantification of titanium dioxide nanoparticles in human urine by single-particle ICP-MS. <i>Analytical and bioanalytical chemistry</i> , 413(1), pp.171-181.	2021	-
A25	Shabbir, S., Kulyar, M.F., Bhutta, Z.A., Boruah, P., Asif, M., 2021. Toxicological Consequences of Titanium Dioxide Nanoparticles (TiO ₂ NPs) and Their Jeopardy to Human Population. <i>BioNanoScience</i> , 11(2), pp.621-632.	2021	-
A26	Shi, J., Han, S., Zhang, J., Liu, Y., Chen, Z., Jia, G., 2022. Advances in genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. <i>NanoImpact</i> , 25, pp.100377.	2022	-
A27	Sungur, Ş., Kaya, P., Koroglu, M., 2020. Determination of titanium dioxide nanoparticles used in various foods. <i>Food additives & contaminants. Part B, Surveillance</i> , 13(4), pp.260-267.	2020	-
A28	Vian, R., Salehi, H., Lapierre, M., Cuisinier, F., Cavallès, V., Balme, S., 2021. Adsorption of proteins on TiO ₂ particles influences their aggregation and cell penetration. <i>Food chemistry</i> , 360, pp.130003.	2021	-
A29	Vitolo, M., Gnodi, E., Meneveri, R., Barisani, D., 2022. Interactions between Nanoparticles and Intestine. <i>International journal of molecular sciences</i> , 23(8)	2022	-
A30	Wang, Y., Chen, Z., Chen, S., Zhuo, L., Zhao, L., Jia, G., 2021. Effect of Short-Term Exposure to Titanium Dioxide Nanoparticles on Intestinal Absorption of Glucose by Ex Vivo Everted Rat Gut Sac Model. <i>Journal of nanoscience and nanotechnology</i> , 21(9), pp.4586-4595.	2021	-
A31	Zhang, Y., Duan, S., Liu, Y., Wang, Y., 2021. The combined effect of food additive titanium dioxide and lipopolysaccharide on mouse intestinal barrier function after chronic exposure of titanium dioxide-contained feedstuffs. <i>Particle and fibre toxicology</i> , 18(1), pp.8.	2021	○
A32	Zhao, Y., Liu, S., Tang, Y., You, T., Xu, H., 2021. Lactobacillus rhamnosus GG Ameliorated Long-Term Exposure to TiO ₂ Nanoparticles Induced Microbiota-Mediated Liver and Colon Inflammation and Fructose-Caused Metabolic Abnormality in Metabolism Syndrome Mice. <i>Journal of agricultural and food chemistry</i> , 69(34), pp.9788-9799.	2021	-
A33	Zhu, X., Zhao, L., Wang, Y., Hu, X., Zhu, Y., Yang, X., 2022. Dietary titanium dioxide particles (E171) promote diet-induced atherosclerosis through reprogramming gut microbiota-mediated choline metabolism in APOE ^{-/-} mice. <i>Journal of hazardous materials</i> , 436, pp.129179.	2022	○
A34	Zhang, T., Zhu, G., Lu, B., Qian, Z. and Peng, Q., 2021. Protein corona formed in the gastrointestinal tract and its impacts on oral delivery of nanoparticles. <i>Medicinal Research Reviews</i> , 41(3), pp.1835-1850.	2021	-

【有害性情報の整理結果（計 34 報）】

文献番号	A1	分類	消化管内細菌叢への影響	
著者	Baranowska-Wójcik, E., Gustaw, K., Sz wajgier, D., Oleszczuk, P., Pawlikowska-Pawłęga, B., Pawelec, J., Kapral-Piotrowska			
ジャーナル	Foods (Basel, Switzerland)	10(5)	pp.939	2021
タイトル	Four Types of TiO ₂ Reduced the Growth of Selected Lactic Acid Bacteria Strains.			
要約	ナノ粒子画分 (TiO₂ NPs -ナノ粒子) を含む食品用の二酸化チタン (TiO₂) は、食品添加物 (EU では E171) として広く使用されている。近年、消化管内細菌叢に対する有害作用の有無について、ますます議論を引き起こしている。ヒトの消化管に存在する微生物叢の複雑性かつ多様性が、この生態系に与える食品添加物による影響の評価を妨げている。単細胞生物である細菌は、ナノ粒子の毒性を調べるための非常に便利な研究モデルである。我々は、TiO₂ (3 種類の食品用 E171 と 1 種類の TiO₂ NP、21 nm) がヒト消化管に定着する 17 株の乳酸菌の増殖に与える影響について調べた。各菌株は 4 つの濃度の TiO₂ (60、150、300、600 mg/L TiO₂) で処理された。個々の菌株の増殖の違いは、TiO₂ の種類と濃度に起因していた。E171 と TiO₂ NP の適用により、すでに 150 および 300 mg/L の濃度で、解析対象株の大部分の増殖が低下していることが示された。ナノ粒子の最高用量 (600 mg/L) では、実験に使用した異なる種類の TiO₂ に対する細菌の反応にばらつきが見られた。			

文献番号	A2	分類	消化管内細菌叢への影響	
著者	Baranowska-Wójcik, E., Sz wajgier, D., Winiarska-Mieczan, A.			
ジャーナル	Biological trace element research	200(5)	pp.2468-2474	2022
タイトル	Effect of TiO ₂ on Selected Pathogenic and Opportunistic Intestinal Bacteria.			
要約	ナノ粒子画分 (TiO ₂ NPs -ナノ粒子) を含む食品用の二酸化チタン (TiO ₂) は、食品添加物 (EU では E171) として広く使用されている。近年、消化管内細菌叢に与える影響に関する疑問が提起されている。本研究では、細菌と二酸化チタンの相互作用について調べた。6 種類の病原性/非病原性細菌株と 4 種類の異なるサイズの TiO ₂ (3 種類の食品用 E171 化合物と TiO ₂ NP (21 nm)) を用いて、各菌株を 4 つの濃度の TiO ₂ (60、150、300、600 mg/L TiO ₂) で処理した。その結果、TiO ₂ の種類と濃度による解析対象菌株の増殖の違いが観察された。300 および 600 mg/L の食品グレードの E171 および TiO ₂ NP に曝露した後、大部分の菌株の増殖が阻害されることが示された。			

文献番号	A3	分類	消化管内細菌叢への影響	
著者	Baranowska-Wójcik, E., Sz wajgier, D., Winiarska-Mieczan, A			
ジャーナル	Journal of trace elements in medicine and biology	72	pp.126988	2022
タイトル	A review of research on the impact of E171/TiO ₂ NPs on the digestive tract.			
要約	ナノテクノロジーは、1～100 nm の粒子を利用した技術であり、近年、様々な分野で応用が進んでいる。その一方で、ナノ粒子が人体に与える影響への懸念も高まっている。二酸化チタンのナノ粒子は、最も有望なナノ材料の一つであり、すでに化粧品、医薬品、食品産業で広く使用されている。ナノサイズ（直径 100 nm 未満）の二酸化チタンは、食品添加物として一般的に使用されている E171（EU 域内）着色料に一定の割合で含まれており、その存在が、健康に有害影響を与える可能性があるという点で特に懸念されている。E171 食品添加物の摂取は、腸内細菌の異常など、腸内バリアの傷害とますます関連性が高まっている。E171 は、一次栄養素（脂質、タンパク質、炭水化物）の酵素消化などの消化管の正常な機能を破壊する可能性がある。このレビューの目的は、ヒトおよび動物の消化器系に有害影響を及ぼす可能性のある物質に関して、近年行われた研究の包括的かつ信頼できる概要を提供することである。			

文献番号	A4	分類	腸管バリア機能への影響	
著者	Barreau, F., Tisseyre, C., Ménard, S., Ferrand, A., Carriere, M.			
ジャーナル	Particle and fibre toxicology	18(1)	pp.26	2021
タイトル	Titanium dioxide particles from the diet: involvement in the genesis of inflammatory bowel diseases and colorectal cancer.			
要約	消化管は、外部環境と免疫系との複雑なインターフェースである。粘膜を介した取込みを制御し、内腔からの有害物質の傷害から身体を保護する機能は、腸管バリア機能（IBF）と定義される。IBF は、腸内細菌叢、粘液層、上皮、免疫系の 4 つの要素から構成されている。その機能不全は、炎症性疾患、代謝性疾患、感染症、自己免疫疾患、神経疾患などのヒトの病気と関連している。これらの疾患の多くは、遺伝的、心理的、環境的要因が関与する複雑なものである。過去 10 年間で、炎症性腸疾患（IBD）の素因となる多くの遺伝子多型が特定されてきた。しかし、これらの慢性疾患の発症を説明するには不十分であることは明らかである。タバコや炭水化物の摂取などの環境要因が IBD と関連していることが証明されているが、その他の環境要因もまた腸管バリア機能の 4 つの要素を変化させることにより、ミネラル粒子で構成されたものなどの人間の食事に導入された食品添加物の摂取などの潜在的な健康リスクをもたらす可能性がある。このレビューの目的は、特に食品添加物として使用される酸化チタン粒子が腸管バリア機能の 4 つの要素を変化させる可能性について批判的意見を提供し、その結果、この添加物が IBD の発症や悪化に関与している可能性を評価することである。			

文献番号	A5	分類	タンパク質の吸着	
著者	Benbow, N.L., Rozenberga, L., McQuillan, A.J., Krasowska, M., Beattie, D.A.			
ジャーナル	Langmuir	37(45)	pp.13278-13290	2021
タイトル	ATR FTIR Study of the Interaction of TiO ₂ Nanoparticle Films with β-Lactoglobulin and Bile Salts.			
要約	粒子膜減衰全反射フーリエ変換赤外分光法（ATR FTIR）の技術を用いて、二酸化チタン（TiO ₂ ）ナノ粒子表面への一般的な食品タンパク質（β ラクトグロブリン、BLG）および 2 つの代表的な胆汁酸塩（タウロコール酸およびグリココール酸、略称：TCA および GCA）の（連続的な）吸着および共同吸着を調べた。（現在では一部の国で）一般的に使用されている食品添加物と食品成分、および体内の消化化学物質との結合相互作用を評価することは、消化とバイオアベイラビリティにおけるコロイド現象の役割を理解する上で重要なステップである。TCA は TiO ₂ に吸着するが、水相に存在しない場合は大きな保持能力を持たないことが明らかになった。また、GCA は 2 つの異なる結合メカニズムで吸着し、1 つのタイプの吸着種は除去されにくいことが確認された。BLG は吸着し、不可逆的に結合し、pH 2（胃の条件）で吸着した時の形態 pH 6.5（小腸の条件）で吸着した時の形態に変化させた。この変化した形態は界面依存的ではなく、BLG の溶液スペクトルにも反映されている。TCA と GCA は TiO ₂ ナノ粒子表面に吸着し、BLG の有無にかかわらず同程度の可逆性と結合性を示すことが連続的な共吸着試験で確認された。			

文献番号	A6	分類	曝露	
著者	Blaznik, U., Krušič, S., Hribar, M., Kušar, A., Žmitek, K., Pravst, I			
ジャーナル	Foods (Basel, Switzerland)	10(8)	pp.1910	2021
タイトル	Use of Food Additive Titanium Dioxide (E171) before the Introduction of Regulatory Restrictions Due to Concern for Genotoxicity.			
要約	食品用二酸化チタン (TiO₂ ; E171) は着色用の食品添加物である。2021 年 5 月、欧州食品安全機関により、TiO₂ はもはや安全な食品添加物と見なすことはできないと結論付ける科学的見解が発表された。本研究は、食品供給における TiO₂ の使用動向を調査することを目的とした。スロベニアにおいて、ブランド食品に関する 2 つの全国代表的な横断的データセットを用いてケーススタディを実施した。TiO₂ が食品添加物として検出された 15 の食品サブカテゴリの N = 12,644 食品 (2017 年に 6,012、2020 年に 6,632) に対して分析を行った結果、TiO₂ の使用量に有意な減少が見られた (3.6% vs. 1.8%、p < 0.01)。TiO₂ は、2017 年にはチューインガム類 (36.3%)、2020 年にはチョコレート・菓子類 (45.9%) で最も多く使用されていた。一方、2017 年の TiO₂ 含有食品のシェアは、チューインガム類が 70.3%と最も多く、これらの製品は市場シェアの 85%以上を占めた。2020 年には、チューインガムの 24.6%にしか TiO₂ が含まれておらず、市場シェアのわずか 3%であった。結論として、TiO₂ が食品添加物の認可リストから削除されていないにもかかわらず、TiO₂ の使用は全体的に減少していることが明らかになった。			

文献番号	A7		分類	遺伝子発現解析	
著者	Cao, X., Khare, S., DeLoid, G.M., Gokulan, K., Demokritou, P.				
ジャーナル	NanoImpact.		22	pp.100306	2021
タイトル	Co-exposure to boscalid and TiO ₂ (E171) or SiO ₂ (E551) downregulates cell junction gene expression in small intestinal epithelium cellular model and increases pesticide translocation.				
要約	最近発表された研究により、広く使用されているナノ化食品添加物である TiO₂ (E171) と SiO₂ (E551) が、一般的に使用されている農薬であるボスカリドの転座をそれぞれ 20%と 30%増加させることが示された。食品中の人工ナノ材料 (ENM) の存在による農薬の吸収の増加は、これらの食品添加物に対する健康への懸念を生じさせるものである。本研究では、ボスカリド (150 ppm) を含む空腹時食物の模擬消化物 (リン酸緩衝液) に、TiO₂ または SiO₂ (1% w/w) を添加したもの/添加しないものを曝露した後の小腸上皮細胞モデルにおける細胞接合に関連する遺伝子の mRNA 発現を分析した。前回の研究で観察されたボスカリドの転座の増加の根底にある、あるいは一因となる細胞バリア機能の特異的な変化を評価した。その結果、ボスカリドの単独曝露は、細胞接合遺伝子に有意な影響を及ぼさないが、ボスカリドと TiO₂ の共曝露は細胞-マトリックス接合焦点接着関連遺伝子、例えば Cav1 (-1.39-fold, p < 0.05) をダウンレギュレート、Cav3 (+3.30-fold, p < 0.01) および Itga4 (+3.30-fold, p < 0.05) のアップレギュレーションを有意に制御することが示された。同様に、ボスカリドと SiO₂ への同時曝露は、タイトジャンクション遺伝子 (Cldn1、Cldn11、Cldn16、Cldn18、Jam3)、アドヘレンスジャンクション遺伝子 (Notch1、Notch3、Pvr11)、ギャップジャンクション遺伝子 (Gja3、Gjb2) などの複数の細胞間接合遺伝子や細胞母接合部接着遺伝子 (Itga4、Itga6、Itga7) などが有意に低下することが示された。これらの知見は、ボスカリドと TiO₂ (E171) または SiO₂ (E551) の共摂取が細胞接合および細胞間接着の弱化を引き起こし、その結果、傍細胞輸送の調節不全を引き起こす可能性を示しており、これらの ENM 存在下で以前に観察されたボスカリドの転位の増加に寄与したことを示唆している。この新しい知見は、一般的な食品添加物に対する健康上の安全性に対する懸念を高めるものである。				

文献番号	A8	分類	心臓細胞への影響	
著者	Colin-Val, Z., Vera-Márquez, C.D., Herrera-Rodríguez, M.A., Del Pilar Ramos-Godínez, M., López-Saavedra, A., Cano-Martínez, A., Robledo-Cadena, D.X., Rodríguez-Enríquez, S., Correa, F., Delgado-Buenrostro, N.L., Chirino, Y.I., López-Marure, R.			
ジャーナル	Cardiovascular toxicology	22(8)	pp.713-726	2022
タイトル	Titanium Dioxide (E171) Induces Toxicity in H9c2 Rat Cardiomyoblasts and Ex Vivo Rat Hearts.			
要約	循環器系疾患は、世界的な死因の上位を占めている。食品用二酸化チタン（E171）は、食品産業において最も広く使用されている添加物である。既存の証拠によると、二酸化チタンナノ粒子は生物学的バリアを通して全身循環に達し、細胞膜を透過し、種々の臓器の細胞に蓄積し、損傷を与える。しかし、心臓細胞への影響と心臓疾患の発症はまだ未解明である。そこで、本研究では、ラット心筋芽細胞および心臓を対象に、E171の毒性を検証した。H9c2細胞を用いて、E171の細胞内移行と細胞生存率、増殖、ミトコンドリア、リソゾーム、F-アクチン分布、細胞形態への影響を評価した。さらに、E171の心機能への影響を <i>ex vivo</i> のラット心臓で測定した。E171は細胞に取り込まれ、細胞質内に移行した。E171粒子は細胞の形態を変化させ、増殖と代謝活性を低下させた。E171の曝露によりカスパーゼ-3およびカスパーゼ-9の発現が増加し、Tunel陽性細胞はアポトーシス死を示唆した。ミトコンドリアとリソゾームは、それぞれ24時間および48時間の曝露後にマイトファジーに起因する変化が検出された。さらに、高濃度のE171は、F-アクチン細胞骨格の再配列を引き起こした。最後に、E171に曝露された心臓は、心機能に障害を示した。これらの結果は、<i>in vitro</i> の心臓細胞におけるE171の毒性が、<i>ex vivo</i> モデルにおける心機能を変化させることを裏付けており、この食品添加物の摂取が有害であり、心血管疾患の発症につながる可能性があることを示している。			

文献番号	A9	分類	腸の免疫機能への影響	
著者	Conde, J., Schwarzfischer, M., Katkeviciute, E., Häfliger, J., Niechcial, A., Brillant, N., Manzini, R., Bähler, K., Atrott, K., Lang, S., Scharl, M.			
ジャーナル	International journal of molecular sciences	22(2)	pp.772	2021
タイトル	Titanium Dioxide Presents a Different Profile in Dextran Sodium Sulphate-Induced Experimental Colitis in Mice Lacking the IBD Risk Gene Ptpn2 in Myeloid Cells.			
要約	炎症性腸疾患（IBD）の発症には、環境因子と遺伝因子が関与していることが明らかにされている。最近の研究では、食品添加物である二酸化チタン（TiO₂）が本疾患の原因物質として関与している可能性が示唆されている。本研究では、食品添加物である TiO₂ と IBD のリスク遺伝子であるプロテインチロシンホスファターゼ非受容体 2 型（Ptpn2）の相互作用と腸の炎症発生における役割を調べることを目的とした。骨髓系細胞における Ptpn2 の発現を欠損したマウス（Ptpn2LysMCre）またはその野生型同腹仔（Ptpn2fl/fl）を用い、微粒子 TiO₂ に曝露してデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘発急性腸炎を生じさせた。骨髓由来マクロファージ（BMDM）を用いて、TiO₂ シグナル伝達経路および TiO₂ 誘導 IL-1β と IL-10 レベルに対する Ptpn2 の影響を検討した。TiO₂ に曝露された Ptpn2LysMCre は、野生型に比べてより深刻な腸の炎症を示した。この効果は、TiO₂ が腸管マクロファージの分化に影響を与え、Ptpn2 欠損マウスの抗炎症マクロファージの数が抑制されたためと考えられる。さらに、TiO₂ がマイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）を介して IL-1β の分泌を誘導し、MAPK 非依存経路で骨髓由来マクロファージの IL-10 の発現を抑制することも確認した。この知見は、遺伝的リスク因子 Ptpn2 と環境因子 TiO₂ が腸の炎症の制御において協力関係にあることを示す最初の証拠である。本稿で示した結果は、特に遺伝的リスクの高い人において、ある種の工業用化合物の摂取を考慮する必要があることを示唆している。			

文献番号	A10	分類	胃腸管における挙動、消化酵素への影響	
著者	Dudefoi, W., Rabesona, H., Rivard, C., Mercier-Bonin, M., Humbert, B., Terrisse, H., Ropers, M.H.			
ジャーナル	Food & function	12(13)	pp.5975-5988	2021
タイトル	Titanium Dioxide Presents a Different Profile in Dextran Sodium Sulphate-Induced Experimental Colitis in Mice Lacking the IBD Risk Gene Ptpn2 in Myeloid Cells.			
要約	二酸化チタン（TiO ₂ ）は、ナノ粒子の存在により、人体への影響が懸念されている食品添加物である。著者らは、胃腸管における TiO ₂ 粒子の動態と、消化酵素に対する潜在的な影響に関する知見を求めている。本研究では、この目的のために、2 種類の食品グレードの TiO ₂ サンプル（E171）と 1 種類のナノサイズの TiO ₂ サンプル（P25）の挙動について、酵素を含む適切な分泌液で口腔、胃、腸の段階をシミュレートした標準化静的 <i>in vitro</i> 消化プロトコルを用いて評価した。E171 と P25 の TiO ₂ 粒子はどちらも消化液中で損傷がない状態であったが、大きな凝集体を形成し、特に腸液中では最大 500 μm サイズの粒子が確認された。これらの凝集体の形成は、主に α-アミラーゼと 2 価の陽イオンの吸着によって媒介されている。ペプシンも TiO ₂ 粒子に吸着することが確認されたが、シリカで覆われた E171 の場合のみであった。唾液中では、TiO ₂ は α-アミラーゼの酵素活性を阻害する作用を示した。この活性は酵素濃度に依存した係数で低下したが（1 mg mL ⁻¹ で最大 34%）、この阻害作用は腸液では僅か 10%に減少した。胃の段階では、ペプシンはどのような形態の TiO ₂ によっても影響を受けなかった。この結果は、食品グレードの TiO ₂ が炭水化物とタンパク質の全体的な消化に与える影響が限定的であることを示唆している。しかし、特に経口段階で観察された活性の低下は、炭水化物代謝の減速に関連した健康への有害影響を防ぐために、より深い調査が必要である。			

文献番号	A11	分類	腸内細菌叢への影響	
著者	Gerasimidis, K., Bryden, K., Chen, X., Papachristou, E., Verney, A., Roig, M., Hansen, R., Nichols, B., Papadopoulou, R., Parrett, A.			
ジャーナル	European journal of nutrition	59(7)	pp.3213-3230	2020
タイトル	The impact of food additives, artificial sweeteners and domestic hygiene products on the human gut microbiome and its fibre fermentation capacity.			
要約	本研究では、食品添加物、人工甘味料、家庭用衛生用品が腸内細菌叢と繊維発酵能に及ぼす影響について検討した。健康なボランティア 13 名の糞便サンプルに、食品添加物（マルトデキストリン、カルボキシメチルセルロース、ポリソルベート-80、カラギーナンカップ、シナナムアルデヒド、安息香酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、二酸化チタン）、甘味料（アスパルテーム系甘味料、スクラロース、ステビア）、家庭用衛生用品（歯磨き粉、食器洗い洗剤）などを添加してバッチ培養で発酵させた。短鎖脂肪酸の生成量は、ガスクロマトグラフィーで測定した。マイクロバイオームの組成は、16S rRNA 配列決定と定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）により特性評価を行った。酢酸は、マルトデキストリンおよびアスパルテーム系甘味料存在下で増加し、食器洗い洗剤または亜硫酸ナトリウム存在下で減少した。プロピオン酸はマルトデキストリン、アスパルテーム系甘味料、亜硫酸ナトリウム、ポリソルベート-80 で増加し、酪酸はシナナムアルデヒドと食器用洗剤で大幅に減少した。スクラロース、シナナムアルデヒド、二酸化チタン、ポリソルベーター-80、食器用洗剤は、マイクロバイオームの群集構造を変化させた。その効果は食器用洗剤で最も大きく（$R^2 = 43.9\%$, $p = 0.008$）、次いでシナナムアルデヒド（$R^2 = 12.8\%$, $p = 0.016$）であった。食器用洗剤とシナナムアルデヒドの添加により、<i>Escherichia/Shigella</i> と <i>Klebsiella</i> に属する操作分類単位（OTU）が増加し、<i>Faecalibacterium</i> と <i>Subdoligranulum</i> の OTU を含む Firmicutes が減少した。スクラロースとカラギーナン・カップの添加は <i>Escherichia/Shigella</i> の量を増加させ、スクラロース、亜硫酸ナトリウム、ポリソルベート-80 は <i>Bilophila</i> を同様に増加させた。ポリソルベート-80 は <i>Faecalibacterium</i> と <i>Subdoligranulum</i> の OTU の存在比を減少させた。qPCR を用いた主要な細菌群の濃度でも同様の影響が認められた。また、マルトデキストリン、アスパルテーム系甘味料、安息香酸ナトリウムは <i>Bifidobacterium</i> の増殖を促進し、亜硫酸ナトリウム、カラギーナンカップ、ポリソルベート-80、食器洗い洗剤は抑制影響を示した。			

文献番号	A12	分類	腸内細菌叢への影響	
著者	Hofseth, L.J., Hebert, J.R., Chanda, A., Chen, H., Love, B.L., Pena, M.M., Murphy, E.A., Sajish, M., Sheth, A., Buckhaults, P.J., Berger, F.G.			
ジャーナル	Gastroenterology & hepatology	17(6)	pp. 352-364	2020
タイトル	Early-onset colorectal cancer: initial clues and current views. Nature reviews.			
要約	過去数十年の間に、早期発症大腸がん（EOCRC：50 歳未満の患者）の発生率が驚異的な速さで増加している。科学的に厳密な疫学研究により、EOCRC に関連する環境因子が選別されてきたが、この疾患の原因およびメカニズムに関する我々の知識は完全ではない。本研究では、EOCRC を引き起こす潜在的な危険因子と推定されるメカニズムに焦点を当て、有益な研究である可能性の高い領域を提案する。さらに、脂肪率増加の強い影響を示唆する証拠の矛盾を明らかにし、特定の行動（食事やストレスなど）が非肥満者やその他の健康な人々をこの疾患の危険にさらす可能性があることを示唆する。主な危険因子として、世界的な食の欧米化（通常、不健康な調理方法を伴う赤肉や加工肉、高果糖コーンシロップ大量摂取）、ストレス、抗生物質、合成食用色素、グルタミン酸ナトリウム、二酸化チタン、運動不足や座りがちな生活習慣などが検討されている。腸内細菌叢は、これらの危険因子と EOCRC の岐路にあるとみられる。本疾患の時間経過と、関連する曝露がおそらく小児期に起こるという事実は、重要な方法論的問題を提起しており、それについても議論している。			

文献番号	A13	分類	反復経口投与、グルコース代謝	
著者	Hu, H., Zhang, B., Li, L., Guo, Q., Yang, D., Wei, X., Fan, X., Liu, J., Wu, Q., Oh, Y., Feng, Y., Chen, K., Wang, C., Hou, L., Gu, N.			
ジャーナル	Environmental toxicology	35(4)	pp.443-456	2020
タイトル	The toxic effects of titanium dioxide nanoparticles on plasma glucose metabolism are more severe in developing mice than in adult mice.			
要約	二酸化チタンナノ粒子 (TiO₂ NPs) は認可された食品添加物であり、子供が最も多く曝露される。したがって、小児は成人よりも TiO₂ NPs の有害影響を受けやすい可能性がある。以前の研究により、50 mg/kg 体重 (bw) の TiO₂ NPs をマウスに経口投与すると、血漿グルコースが増加することが示された。しかし、異なる年齢層の血漿グルコース代謝に対する TiO₂ NPs への曝露の有害影響を直接比較した研究はほとんどない。本研究では、発育期 (3 週齢) および成体 (10 週齢) のマウスに、1 日あたり 50 mg/kg bw の TiO₂ NPs を経口投与した。その結果、発育期のマウスでは、成体マウスよりも早く高血糖が誘発された。次に、マウスに TiO₂ NPs をそれぞれ 8 週間および 26 週間経口投与した後、そのメカニズムを解析した結果、発育期および成体マウスの肝臓において、TiO₂ NPs の投与は、初期段階において有害物質の生分解を活性化することが示された。しかし、発育期のマウスにおいてのみ、TiO₂ NPs は肝臓に小胞体ストレスを引き起こし、肝臓および血清中の活性酸素種を初期段階で増加させた。この小胞体ストレスと活性酸素は、炎症反応と分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ経路を活性化し、その結果、発育期のマウスの肝臓に初期段階でインスリン抵抗性を誘導した。成体マウスの反応は遅れ、後期にはこれらの変化が観察された。本研究の結果はいずれも、小児は成人よりも経口投与された TiO₂ NPs の毒性に対して感受性が高いことを示唆するものであった。			

文献番号	A14	分類	単回経口、免疫毒性	
著者	Kurtz, C.C., Mitchell, S., Nielsen, K., Crawford, K.D., Mueller-Spitz, S.R.			
ジャーナル	Journal of applied toxicology	40(10)	pp.1384-1395	2020
タイトル	Acute high-dose titanium dioxide nanoparticle exposure alters gastrointestinal homeostasis in mice.			
要約	多種多様な人工ナノ粒子（NPs）へのヒトの曝露は増加傾向にあり、一般的な食品添加物への使用は胃腸（GI）への曝露を増加させる。宿主の健康は、消化管マイクロバイオーームおよび免疫反応と密接に関連している。微生物叢の乱れは、エネルギー生産に影響を与え、炎症を誘発し、粘膜バリアを変化させ、肥満や炎症性腸疾患などの様々な病状を引き起こす可能性がある。著者らは、二酸化チタン（TiO ₂ ）NP のマウスへの単回高用量曝露が、ディスバイオシスを引き起こし、粘液産生と局所免疫集団を刺激すると推測した。幼若マウス（9-10 週）に 1 g/kg の二酸化チタン NPs を経口投与し、粘膜関連細菌の存在量、炎症性サイトカイン、ムチン発現、体格の変化を調査した。本研究のデータは、TiO ₂ NP の摂取が GI 微生物叢と宿主防御を変化させ、マウスの代謝障害とそれに続く体重増加の促進を裏付けている。			

文献番号	A15	分類	腸内細菌叢への影響	
著者	Lamas, B., Martins Breyner, N., Houdeau, E.			
ジャーナル	Particle and fibre toxicology	17(1)	pp.19	2020
タイトル	Impacts of foodborne inorganic nanoparticles on the gut microbiota-immune axis: potential consequences for host health.			
要約	食品毒性学では、宿主の健康における微生物群集の重要かつ複雑な生理学的役割のために、食品添加物、食品サプリメント、食品包装に由来する食品由来ナノ粒子（NPs）が腸内細菌群に与える影響を研究することに関心が高まっている。近年、ほとんどの無機および金属 NPs について報告されているように、殺生物活性は、常在菌の組成および/または代謝活性の慢性的な変化（すなわち、腸内ディスバイオシス）を助長し、免疫機能に影響を与える可能性がある。逆に、無機物質と免疫系との直接的な相互作用（例えば、炎症反応、アジュバントまたは免疫抑制特性）は、今度は腸内細菌叢に影響を及ぼす可能性がある。ヒトの多くの慢性疾患は、炎症性腸疾患（IBD）（クローン病や潰瘍性大腸炎）、代謝異常（肥満など）、大腸がん（CRC）など、微生物-免疫系軸に沿った変化と関連している。このことは、無機 NPs への慢性的な食事曝露が、疾患の発症や進行を促進する危険因子と見なせるかどうかという問題を提起している。微生物-免疫軸に沿った様々な影響を解読することは、様々な食品を通して無機 NPs に日常的に曝露することが、腸内常在菌と免疫の間の複雑な対話を乱し、それゆえ宿主の脆弱性を増大し得るということを理解するために役立つ可能性がある。動物試験では、経口投与の用量レベルと期間は、ヒトが日常的に食事を通して曝露している、あるいは曝露する可能性のある曝露条件を模倣するための重要な要素であり、食品由来 NPs のハザード特定とリスク評価に必要とされるものである。このレビューは、腸内細菌-免疫軸を考慮した予測的毒性学的モデルの開発を支援するために、関連研究を要約したものである。文献によると、腸内の免疫機能傷害を誘発することに加えて、無機 NPs が腸内微生物叢の組成と活動に中程度から広範囲の影響を示すことを示しており、有益な細菌を犠牲にして病原体による腸の定着を促進する再発性特徴を強調している。食品を介した長期的な曝露を考慮すると、ヒトの健康リスク評価において、特にナノ材料が抗菌性を示す場合、腸内細菌叢に対するナノ材料の影響を考慮する必要がある。			

文献番号	A16	分類	分析、細胞毒性	
著者	Luo, K., Park, H., Adra, H.J., Ryu, J., Lee, J.H., Yu, J., Choi, S.J., Kim, Y.R			
ジャーナル	Journal of hazardous materials	393	pp.122483	2020
タイトル	Charge-switchable magnetic separation and characterization of food additive titanium dioxide nanoparticles from commercial food.			
要約	ナノスケールの二酸化チタン (TiO₂) の潜在的な健康影響に関する懸念の高まりにより、市販食品中に存在する食品添加物 TiO₂ のサイズ分布と物理化学的特性をモニタリングする必要性が生じている。酸分解法は、干渉する食品マトリックスを除去するために最も広く用いられている方法であるが、腐食性の強い反応のため、TiO₂ の物理化学的特性が変化し、材料に関する偏った情報を与えてしまう可能性がある。本研究では、TiO₂ 粒子と電荷交換性デンプン磁気ビーズ (PL@SMB) の間の電荷相互作用により、加工食品から食品添加物である TiO₂ ナノ粒子をそのままの形で抽出する有効な方法を報告する。PL@SMB の表面電荷を中性に切り替えることにより、捕獲した酸化チタンを容易に採取することができる。抽出された TiO₂ のサイズと表面特性は、穏やかな反応特性により十分に維持されることが示された。10 種類の市販加工食品から抽出した TiO₂ 粒子は、40～250 nm のサイズ分布を示し、平均直径は 115 nm、そのうち 22%が 100 nm 以下であった。抽出された TiO₂ は短期的な細胞毒性は示さなかったが、高濃度では細胞の酸化ストレスを誘発した。			

文献番号	A17	分類	分析、細胞毒性	
著者	Luo, K., Yoon, Y.L., Park, H., Choi, S.J., Kim, Y.R			
ジャーナル	Journal of hazardous materialsy	432	pp.128666	2022
タイトル	Effect of organic acids on the morphology and particle size of titanium dioxide (E171) in processed food.			
要約	TiO ₂ (E171) は着色料として加工食品に広く使用されている。しかし、TiO ₂ ナノ粒子（100 nm 未満）の潜在的な健康影響に関する懸念の高まりから、市販食品に存在する食品添加物 TiO ₂ のサイズ分布と細胞毒性特性をモニタリングする必要性が生じている。本研究では、磁気分離法を用いて、100 種類の市販食品から食品添加物である TiO ₂ を抽出した。抽出された TiO ₂ は平均粒径 121-143 nm で、ナノスケール（100 nm 以下）の割合は 7.5% から 35.7% であり、キャンディーやゼリーのような特定の種類の食品には、より小さい TiO ₂ やナノスケール粒子の割合が高いことが示された。有機酸を多く含む製品の pH が低いことが TiO ₂ の微細化に関与していると仮定し、酢酸、アスコルビン酸、クエン酸の 3 種類の有機酸が TiO ₂ の物理化学的性質に及ぼす影響を調査した。クエン酸は、20 nm 程度の断片化されたナノ粒子の生成とともに TiO ₂ のサイズを縮小することが示されたが、酢酸とアスコルビン酸の効果はごくわずかであった。クエン酸で処理した TiO ₂ は短期的な細胞毒性を示さなかったが、この研究は、加工食品中で物理化学的性質が変化した食品添加物 TiO ₂ の潜在的な長期的健康影響を十分に評価することの重要性を示唆している。			

文献番号	A18	分類	腸内細菌叢への影響	
著者	Malik, M., Subedi, S., Marques, C.N.H., Mahler, G.J.			
ジャーナル	Frontiers in nutrition	7	pp.131	2020
タイトル	Bacteria Remediate the Effects of Food Additives on Intestinal Function in an in vitro Model of the Gastrointestinal Tract.			
要約	栄養吸収の場である小腸は、摂取した食品に含まれる保存料や添加物に常にさらされている。下部消化管に対する食事の影響は広く研究されているが、小腸上皮および微生物叢に対する食品添加物の影響は、あまり明確に理解されていない。本研究の目的は、食品添加物、個々の細菌種、および腸管機能の間の複雑な相互作用を研究するために、生理的に適切な上部消化管モデルを開発し確立することであった。そのために、消化のシミュレーション、ヒト腸管上皮細胞、常在菌のグラム陽性 <i>Lactobacillus rhamnosus</i>、または日和見菌のグラム陰性 <i>Escherichia coli</i> を組み込んだ in vitro モデルを開発した。このモデルを用いて、高グルコース (HG)、食塩、乳化剤 (TWEEN 20)、食品 (ミルクチョコレート菓子) または化学グレードの二酸化チタンナノ粒子 (TiO₂-NP)、食品 (全粒粉パン) または化学グレードのグルテンを曝露した後の腸の透過性とアルカリホスファターゼ活性を評価した。その結果、HG は腸管透過性を上昇させ、細菌の存在は HG の腸管透過性への有害影響を改善し、細菌の存在下および非存在下の両方で TWEEN 20 の濃度の上昇とともに透過性および IAP 活性の減少が観察された。<i>L. rhamnosus</i> は腸管アルカリホスファターゼ活性とタイトジャンクションタンパク質の分布に影響を与えたが、大腸菌はインドールを産生して腸管透過性を回復させた。酸化チタンとグルテンの供給源は、透過性と IAP 活性への影響を変化させた。大腸菌と <i>L. rhamnosus</i> の増殖は、使用した食品添加物の種類に依存することが示された。全体として、in vitro モデル内の細菌の存在は、腸の機能に対する食品添加物の効果に影響を与え、食事と上部消化管細菌叢の間の複雑な関連を示唆している。このモデルは、健康な状態と病気の状態の両方において、小腸の機能と宿主-微生物相互作用を in vitro で研究する方法を提供する。			

文献番号	A19		分類		反復経口投与毒性	
著者	Medina-Reyes, E.I., Delgado-Buenrostro, N.L., Díaz-Urbina, D., Rodríguez-Ibarra, C., Déciga-Alcaraz, A., González, M.I., Reyes, J.L., Villamar-Duque, T.E., Flores-Sánchez, M.L., Hernández-Pando, R., Mancilla-Díaz, J.M., Chirino, Y.I., Pedraza-Chaverri, J					
ジャーナル	Food and chemical toxicology		146	pp.111786		2020
タイトル	Food-grade titanium dioxide (E171) induces anxiety, adenomas in colon and goblet cells hyperplasia in a regular diet model and microvesicular steatosis in a high fat diet model.					
要約	食品用二酸化チタン（E171）は、固形および液体食品に広く使用されている白色添加物である。この添加物は、大腸、肝臓、脾臓、精巣および脳に沈着するため、経口摂取後の E171 の毒性についてはまだ議論がある。E171 の摂取は、高脂肪を特徴とする欧米型の食生活において一般的に生じている。したがって、E171 は、不安、大腸疾患、精巣傷害などの高脂肪食（HFD）に関連する有害影響を悪化させる可能性がある。本研究は、不安様行動、大腸、肝臓および精巣に対する E171 の影響を評価し、HFD の摂取が有害影響を悪化させるかどうかを分析することを目的とした。E171 を約 5 mg/kg bw で 16 週間飲水投与し、マウスには普通食または HFD を与えた。E171 は、普通食マウスにおいて、不安の促進、大腸腺腫の誘発、杯細胞の肥大および過形成、ムチンの過剰発現を示したが、精巣組織および精子に対する毒性は示さなかった。さらに、E171 は、HFD 給餌マウスにおいて肝臓の小胞性脂肪症を促進し、HFD のみの投与では精子濃度および運動性を低下させた。以上の結果から、E171 の投与は、大腸の腺腫数を増加させ、杯細胞の肥大と過形成および小胞性脂肪症を誘発することが示唆された。					

文献番号	A20	分類	神経行動毒性（レビュー）	
著者	Medina-Reyes, E.I., Rodríguez-Ibarra, C., Déciga-Alcaraz, A., Díaz-Urbina, D., Chirino, Y.I., Pedraza-Chaverri, J			
ジャーナル	Food and chemical toxicology	146	pp.111814	2020
タイトル	Food additives containing nanoparticles induce gastrototoxicity, hepatotoxicity and alterations in animal behavior: The unknown role of oxidative stress.			
要約	二酸化チタン（E171）、酸化鉄および水酸化鉄（E172）、銀（E174）、金（E175）などの食品添加物は着色料として使用されるが、二酸化ケイ素（E551）は西洋の食生活で多く使われている超加工食品において一般的に固結防止剤として使用されている。これらの添加物にはナノサイズ（1-100 nm）の粒子が含まれており、代謝されずに複数の臓器に蓄積されるため、大きな有害影響を及ぼす可能性が懸念されている。本研究では、E171、E172、E174、E175、E551 およびこれらの非食品グレードのナノ粒子を経口摂取した場合に生じる胃毒性、肝毒性、腸-脳および腸-肝臓軸に対する微生物叢の影響について評価した。これらの食品添加物を用いた神経毒性や動物行動の変化を評価する研究は行われていないが、非食品グレードのナノサイズ対応品は、動物の行動変化の兆候として、ストレス、うつ病、認知障害、摂食障害と関連している。これらの食品添加物が胃毒性、肝毒性および腸内細菌叢の変化を誘発することを特定し、ほとんどの証拠が毒性の主なメカニズムとして酸化ストレスを指摘しているが、主なメカニズムとしての酸化ストレスの役割についてさらに調査する必要がある。			

文献番号	A21	分類	反復経口投与、血液パラメータへの影響	
著者	Medina-Reyes, E.I., Rodríguez-Ibarra, C., Díaz-Urbina, D., Déciga-Alcaraz, A., Delgado-Buenrostro, N.L., Chirino, Y.I., Pedraza-Chaverri, J			
ジャーナル	Journal of applied toxicology	42(8)	pp.1411-1419	2022
タイトル	Food-grade titanium dioxide decreases hematocrit and hemoglobin and increases compulsive-like behavior in male mice.			
要約	食品用二酸化チタン（E171）は、食品添加物として広く使用されており、経口摂取後、E171 は血流に移行し、6 時間後に最高濃度に達すると報告されている。E171 は、いくつかの器官に蓄積し毒性を誘発するが、経口摂取後の血液パラメータへの影響については、あまり研究されていない。近年、E171 の経口摂取により、不安や抑うつといった行動学的な症状が誘発されるという証拠が得られている。血液の変化と精神疾患との関係については、これまでも明らかにされているが、E171 の経口曝露による血液パラメータの変化や、動物の行動変化と関連する影響については調査されていない。本短報では、雄および雌のマウスに E171 を 5 mg/kg、4 週間経口投与し、特定の血液パラメータ（ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球）および不安や強迫様行動にどのような影響を及ぼすか調査することを目的としている。その結果、E171 により雄マウスではヘマトクリットおよびヘモグロビンが減少したが、雌マウスでは減少せず、白血球数および赤血球数は変化しないことが示された。E171 の経口摂取により、不安様行動のレベルは雌マウスで低下したが、雄マウスでは低下せず、強迫様行動は雄雌両方のマウスで増加した。			

文献番号	A22	分類	曝露
著者	Putra, C., Bello, D., Tucker, K.L., Kelleher, S.L., Mangano, K.M.		
ジャーナル	The Journal of nutrition	152(6)	pp.1525-1537 2022
タイトル	Estimation of Titanium Dioxide Intake by Diet and Stool Assessment among US Healthy Adults.		
要約	二酸化チタン (TiO₂/ E171) は、主に白色着色料として食品に使用されているが、米国における TiO₂ への曝露についてはほとんど知られていない。本研究では、米国成人の便中 TiO₂ 含有量を定量化し、推定摂取量との関連性を評価した。成人を対象としたフェーズ 1 試験 (3 回の 24 時間食事リコール (DR) とマッチした 3 サンプルの便中 TiO₂ 測定 (n = 52)) および/またはフェーズ 2 試験 (テラード FFQ と 3 ヶ月間の 3 サンプルの便中 TiO₂ 測定 (n = 61)) を実施した。食品中の TiO₂ はデータベースから推定し、さらに 49 の食品および 339 の便サンプル中の濃度を誘導結合プラズマ質量分析法により定量した。食事と便の TiO₂ との関連は、対数線形多変量回帰により評価した。USDA 食品群 (n = 49、1 食分/日) と便中 TiO₂ との関連は、ステップワイズ回帰により評価した。TiO₂ 食品の含有量は、ブランドによる違いがみられた。3 回の 24 時間 DR による平均 TiO₂ 摂取量 [0.19 ± 0.31 mg/ (kg 体重/日)] は、FFQ [0.30 ± 0.21 mg/ (kg 体重/日)] より少なかった。食事時の TiO₂ は、第 1 相または第 2 相において、便中の TiO₂ を予測するものではなかった。食事性 TiO₂ の 10 倍あたり 10[^] (β) はそれぞれ 1.138 [10[^] (95% CI) : 0.635, 2.037, P = 0.66] 、 0.628 [10[^] (95% CI) : 0.206, 1.910, P = 0.41] を示した。便中の TiO₂ に関連する食品群は、第 1 相で①ミルクデザート、ソース、グレービー [1 人前/日の 10[^] (β) : 3.361; 10[^] (95% CI) : 0.312, 36.163; P = 0.002] および②イーストパン [10[^] (β) : 1.430; 10[^] (95% CI) : 0.709, 2.884; [P=0.002]]、第 2 相で①クリームおよびクリーム代替品[10[^] (β) = 10.925; 10[^] (95% CI) : 1.952, 61.137; P = 0.01] および②牛乳および乳飲料 [10[^] (β) = 0.306; 10[^] (95% CI) : 0.086, 1.092, P = 0.07] であった。特定の食品の摂取は、より高い便中 TiO₂ 含有量と関連していた。食事評価法と TiO₂ 食品組成データベースの改善により、TiO₂ 摂取量の妥当な推定が必要である。今後の研究では、高い便中 TiO₂ 含量が健康上の有害な転帰と関連するかどうかを評価する必要がある。		

文献番号	A23	分類	腸内細菌叢への影響	
著者	Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Gasbarrini, A., Mele, M.C.			
ジャーナル	International journal of environmental research and public health	17(23)	pp.8816	2022
タイトル	Food Additives, Gut Microbiota, and Irritable Bowel Syndrome: A Hidden Track.			
要約	食事、腸内細菌叢、過敏性腸症候群（IBS）の相互作用には、多くの複雑なメカニズムがあり、十分に解明されていない。食品添加物は、科学と政府の政策から注目に値する現代人の食生活の構成要素の一つである。本レビューでは、食品添加物が腸内細菌叢に与える影響と、IBS の発症におけるその潜在的役割に関する現在の知見を明らかにすることを目的としている。現在まで、IBS 患者における食品添加物の腸内細菌叢への影響に関するデータはほとんど得られていない。しかし、食品添加物への曝露は、腸管バリアの変化および免疫反応の活性化を伴う腸管ホメオスタシスのディスバイオシスおよび調節不全を誘発する可能性がある。これらの微生物の変化は、内臓痛、低悪性度炎症、腸内環境の変化など、IBS に関連する腸の症状を悪化させる可能性がある。IBS 患者のための低発酵性オリゴ糖、2 糖類、単糖類、ポリオール（FODMAP）食事療法では、一部の添加物（ポリオール）が除外されている。ほとんどの試験は動物で行われており、ヒトでの試験が必要であるとしても、多くの人工甘味料、乳化剤、食品着色料は、腸内細菌叢の変化を通じて、IBS の隠れた要因になる可能性がある。したがって、IBS 患者の食事および栄養補助食品において、食品添加物は予防的に回避されるべきである。			

文献番号	A24	分類	分析	
著者	Salou, S., Larivière, D., Cirtiu, C.M., Fleury, N.			
ジャーナル	Analytical and bioanalytical chemistry	413(1)	pp.171-181	2021
タイトル	Quantification of titanium dioxide nanoparticles in human urine by single-particle ICP-MS.			
要約	化粧品、パーソナルケア製品、食品添加物、さらには医薬品など、日常的に使用される消費者製品において、二酸化チタンナノ粒子の使用が増加していることから、ヒトの安全性に関する懸念が高まってきている。この新たなナノ汚染物質への曝露を、例えばバイオアッセイによって追跡することが理想的であるが、尿などの生体マトリックスにおけるナノ粒子の評価は困難なままである。データの不足は、主に現在における測定法の限界によるものであるが、ヒトのサンプルで予想される濃度が低いことも原因である。本研究では、尿中の二酸化チタンナノ粒子の定量法を開発し、ISO/CEI 17025:2017 ガイドラインに従ってバリデーションを実施した。単粒子誘導結合プラズマ質量分析法（SP-ICP-MS）による二酸化チタンナノ粒子質量濃度の検出限界は、0.05 ng mL^{-1}であった。粒子径の限界値は、3つの異なるアプローチで決定され、最も高い計算限界値は 50 nm に近づいた。反復性と再現性は、粒子質量濃度でそれぞれ 14%と 18%、粒子径測定の両パラメータで 6%が達成された。メソッドの真度および回収率は、それぞれ 98%および 84%であった。			

文献番号	A25	分類	毒性（レビュー）	
著者	Shabbir, S., Kulyar, M.F., Bhutta, Z.A., Boruah, P., Asif, M.			
ジャーナル	BioNanoScience	11(2)	pp.621-632	2021
タイトル	Toxicological Consequences of Titanium Dioxide Nanoparticles (TiO ₂ NPs) and Their Jeopardy to Human Population.			
要約	二酸化チタンナノ粒子（TiO₂ NPs）は、食品添加物、顔料、光触媒、およびパーソナルケア製品のために最も生産されているナノ材料である。これらのナノ材料は、急速に発展する必要不可欠なナノテクノロジーの最前線にある。これらのナノ材料の中で、二酸化チタン（TiO₂）は最も一般的なナノ材料であり、長年にわたって合成が行われている。これらの TiO₂ のナノ粒子は、商業レベル、特に化粧品産業で広く使用されており、高い使用率は、ヒトにおける毒性学的な結果を増加させている。いくつかの研究により、TiO₂ NPs は経口曝露または吸入後、消化管、肺、心臓、肝臓、脾臓、心筋、および腎臓に蓄積することが示されている。さらに、マウスやラットでは、グルコースや脂質のホメオスタシスを阻害する。TiO₂ NPs は主に、細胞損傷、炎症、遺伝毒性、および有害な免疫応答につながる酸化ストレスを誘発することにより、有害反応を引き起こす。破壊の形態とレベルは、反応性とバイオアベイラビリティを管理する TiO₂ NPs の物理的および化学的特性に強く依存している。研究により、TiO₂ NPs は DNA 鎖の切断と染色体損傷の両方を引き起こすことが示唆されている。遺伝毒性は、粒子表面の変化、大きさ、曝露経路に依存するだけでなく、曝露時間にも依存する。			

文献番号	A26	分類	遺伝毒性（レビュー）	
著者	Shi, J., Han, S., Zhang, J., Liu, Y., Chen, Z., Jia, G.			
ジャーナル	NanoImpact	25	pp.100377	2022
タイトル	Advances in genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro.			
要約	二酸化チタンナノ粒子（TiO₂ NPs）は、現在最も広く使われているナノ材料の 1 つである。応用範囲の拡大により、食品添加物や薬剤として口から体内に入り、化粧品として傷ついた皮膚から侵入し、製造や取り扱いの過程で呼吸器から体内に入るなど、ヒトの TiO₂ NPs への曝露は不可避である。TiO₂ NPs は TiO₂ 粗粒子と比較して、導電性、反応活性、光触媒性、浸透性などが強く、生物に対する毒性が強くなる可能性がある。TiO₂ が発がん性カテゴリー 2B（ヒトに対して発がん性がある可能性がある）に分類されたことから、TiO₂ NPs の遺伝毒性が注目されている。これまでも、TiO₂ NPs の潜在的な遺伝毒性を調査する一連の先行研究がみられたが、既存の研究結果にはまだ議論の余地があり、結論づけるのは困難である。半数以上の研究が TiO₂ NPs が遺伝毒性を引き起こす可能性を示しており、TiO₂ NPs がヒトに対して遺伝毒性を持つ可能性が高いことが示唆されている。そして、TiO₂ NPs の遺伝毒性は、その物理化学的特性（結晶の種類、サイズ、形状）だけでなく、曝露濃度、モード、時間、実験細胞/動物と密接に関連している。本レビューでは、in vivo 試験および in vitro 細胞試験を通じて、関連する遺伝毒性作用の最新の研究進捗をまとめ、TiO₂ NPs 遺伝毒性評価のためのアイデアを提供することを目的としている。			

文献番号	A27	分類	曝露	
著者	Sungur, Ş., Kaya, P., Koroglu, M.			
ジャーナル	Food additives & contaminants	13(4)	pp.260-267	2022
タイトル	Determination of titanium dioxide nanoparticles used in various foods.			
要約	二酸化チタン (TiO ₂) は、コード E171 の食品で一般的に使用されている。食品のパッケージには、原材料の欄に E171 を含むという情報が記載されているが、原材料として使用されている E171 の量に関する情報はない。したがって、食品中の TiO ₂ 含有量を測定することは、ヒトの健康にとって非常に重要である。本研究では、菓子類、チューインガム、チョコレートおよび白色食品について調査を実施した。調査した食品の TiO ₂ 濃度は、誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-OES) により測定した。平均的な二酸化チタン濃度は 3~2400 mg kg ⁻¹ の範囲であることが確認された。食品サンプル中の二酸化チタンの粒子径は透過型電子顕微鏡 (TEM)により測定した。調査した食品中の二酸化チタンナノ粒子は、30 から 410 nm の大きさであることが明らかになった。			

文献番号	A28	分類	タンパク質の吸着、細胞への浸透性	
著者	Vian, R., Salehi, H., Lapierre, M., Cuisinier, F., Cavaillès, V., Balme, S.			
ジャーナル	Food chemistry	360	pp.130003	2021
タイトル	Adsorption of proteins on TiO ₂ particles influences their aggregation and cell penetration.			
要約	E171 として知られる二酸化チタン (TiO ₂) ナノ粒子は、その潜在的な毒性により物議を醸している食品添加物の 1 つである。本研究では、TiO ₂ ナノ粒子に吸着したタンパク質が凝集を防ぎ、細胞への浸透を促進するという仮説を立て、TiO ₂ ナノ粒子をゼラチンおよび β-ラクトグロブリンで界面濃度がそれぞれ約 0.25 mg/mg および 0.32 mg/mg になるようにコーティングした。ナノ粒子径の測定により、タンパク質コーティングが酸化チタンナノ粒子のコロイド安定性を向上させることが認められた。FTIR 分析により、β-ラクトグロブリンの構造が吸着後に変化していることが示唆された。また、ヒト腸管上皮細胞内への酸化チタンの浸透が示され、共焦点ラマン顕微鏡を用いて定量化した。ゼラチンおよび β-ラクトグロブリンの両方において、細胞侵入に対するタンパク質コーティングの促進的な役割が示された。最終的に、この結果から、タンパク質が NP の凝集を防ぐ能力と細胞侵入の間に相関関係を確立することができた。			

文献番号	A29	分類	体内動態（レビュー）	
著者	Vitulo, M., Gnode, E., Meneveri, R., Barisani, D.			
ジャーナル	International journal of molecular sciences	23(8)	pp.4339	2022
タイトル	Interactions between Nanoparticles and Intestine.			
要約	ナノ粒子（NPs）は、その汎用性から近年確実に利用が拡大しており、その応用範囲はナノ医療から食品産業まで多岐に渡っている。最近の研究では、NPs と腸の相互作用に注目し、静脈内投与から経口投与への開発が進められている。これにより、pH の違い、腸管粘液層の違い、腸管吸収能の違いなど、消化管のさまざまな特性を利用した NPs の機能化が可能になる。一方、これらの同じ特性は、食物マトリックスや微生物叢との潜在的な相互作用を考慮すると、その複雑さゆえに問題となりうる。このレビューでは、経口経路を介した NPs デリバリーの 3 つの主要な分野、すなわち、インスリン担体を例とした全身標的の NPs 薬物担体の機能化、炎症性腸疾患や大腸癌の治療のための腸内で局所的に活性な薬物デリバリーのための NPs、最後に、食品添加物として用いられる NPs への偶然かつ無秩序な曝露による懸念と副作用について、E171（二酸化チタン）と E174（銀 NPs）を中心に総合的に考察する。			

文献番号	A30	分類	腸管吸収	
著者	Wang, Y., Chen, Z., Chen, S., Zhuo, L., Zhao, L., Jia, G			
ジャーナル	Journal of nanoscience and nanotechnology	21(9)	pp.4586-4595	2021
タイトル	Effect of Short-Term Exposure to Titanium Dioxide Nanoparticles on Intestinal Absorption of Glucose by Ex Vivo Everted Rat Gut Sac Model.			
要約	食品添加物としての二酸化チタンナノ粒子 (TiO ₂ NPs) は、様々な食品関連製品、特に高糖度食品に広くみられる。そのため、食事で TiO ₂ NPs を毎日摂取すると、小腸が TiO ₂ NPs に曝露され、栄養素の吸収など生理機能に影響を与える可能性がある。TiO ₂ は糖の取り込みを増加させることで深刻な健康被害を引き起こす可能性が推測される。この可能性を探るため、健康な若い雄の SD ラットの小腸から調製した反転腸管モデルを用いて、小腸からのブドウ糖の輸送について調べた。また、腸管内腔を TiO ₂ NPs に 2 時間曝露した後、TiO ₂ NPs の移行と小腸の形態変化を観察した結果、TiO ₂ NPs は腸細胞に入ることができるが、腸上皮をほとんど通らないことが明らかになった。また、腸管上皮の微細構造とグルコーストランスポーターの発現に変化は見られず、グルコースの腸管吸収と代謝に明らかな影響はなかった。これらの結果は、TiO ₂ NPs への短期間の曝露は、グルコースの腸管吸収にほとんど影響を与えないことを示唆している。TiO ₂ NPs の食事摂取による栄養吸収への慢性的な影響に、より注目する必要がある。			

文献番号	A31	分類	反復経口投与、腸管バリア機能への影響	
著者	Zhang, Y., Duan, S., Liu, Y., Wang, Y.			
ジャーナル	Particle and fibre toxicology	18(1)	pp.8	2021
タイトル	The combined effect of food additive titanium dioxide and lipopolysaccharide on mouse intestinal barrier function after chronic exposure of titanium dioxide-contained feedstuffs.			
要約	食品用二酸化チタン（TiO₂）の微粒子の 44%までがナノスケールであるが、腸管バリアへの影響や他の物質との複合影響についてはまだ十分に理解されていない。本研究では、2 種類の酸化チタンナノ粒子（TiO₂ NPs と TiO₂ MPs）が腸管バリア機能に及ぼす影響を調べ、TiO₂ NPs と Lipopolysaccharide（LPS）の腸管バリアへの複合影響を明らかにすることを目的とした。雄性 ICR マウスを無作為に 18 群（3 飼料種類、3 曝露期間、2LPS 投与量）に分け、通常飼料または TiO₂ 混合飼料（1%（質量分率、w/w）TiO₂ NPs または TiO₂ MPs 含有）を 1、3、6 ヶ月間与えた後に、LPS の 0 または 10 mg/（kg 体重）の単回経口投与を実施した。その 4 時間後に、TiO₂ の輸送量、腸管バリア機能、炎症反応を評価した。TiO₂ は、1 ヶ月および 3 ヶ月の曝露で、腸絨毛の高さ/陰窩の深さの比率を顕著に増加させ、1 ヶ月の曝露で回腸タイトジャンクションタンパク質（ZO-1 およびオクルディン）の発現量を増加させた。6 ヶ月の曝露後、TiO₂ NPs は摂餌量の減少をもたらし、TiO₂ MPs は小腸に余分の微絨毛をもたらし、血球中の Ti 含有量を上昇させた。腸管透過性は、両方の TiO₂ 曝露群においても変化がみられなかった。LPS 投与後、両方の曝露群（TiO₂ + LPS）で腸絨毛の高さ/陰窩の深さの比率の変化、腸管透過性（DAO）の低下、回腸 ZO-1 の発現上昇が観察された。LPS 処理群では血清 TNF-α 値が高くなった以外は、回腸および血清サイトカインに有意な変化は見られなかった。TiO₂ NPs と LPS の間には拮抗作用が認められたが、TiO₂ MPs と LPS の間には複雑な相互作用が存在することが明らかとなった。食品添加物 TiO₂ の長期摂取は、腸管バリア機能に影響を与えることなく、腸管上皮の構造を変化させる可能性がある。また、TiO₂ と LPS の共添加は、顕著な炎症反応を引き起こすことなく、腸管バリア機能を向上させ、TiO₂ NPs と LPS の間には拮抗作用が存在することが示された。また、二酸化チタンと LPS の拮抗作用も確認された。観察されたすべてのマイナーな影響は、TiO₂ が飼料とともに摂取される穏やかな曝露方法に関連している可能性がある。			

文献番号	A32	分類	反復経口投与、腸内細菌叢への影響	
著者	Zhao, Y., Liu, S., Tang, Y., You, T., Xu, H.			
ジャーナル	Journal of agricultural and food chemistry	69(34)	pp.9788-9799	2021
タイトル	Lactobacillus rhamnosus GG Ameliorated Long-Term Exposure to TiO ₂ Nanoparticles Induced Microbiota-Mediated Liver and Colon Inflammation and Fructose-Caused Metabolic Abnormality in Metabolism Syndrome Mice.			
要約	菓子類には大量の二酸化チタンナノ粒子（TiO ₂ NPs）が存在し、ダイエットによるメタボリックシンドローム（MetS）発症の高リスク因子とされている。本研究では、高果糖摂取－MetS 誘発マウスモデルを構築し、20 mg/kg TiO ₂ NPs を 8 週間経口摂取させた。肝臓と大腸に顕著な病理学的変化と過剰産生された炎症因子が検出された。16S rDNA 配列解析の結果、TiO ₂ NPs は MetS マウスの腸内細菌叢の多様性、組成、KEGG パスウェイを明らかに、さらに擾乱することが示された。糞便微生物叢移植試験では、TiO ₂ NPs によって変化した腸内細菌叢が肝臓と結腸の炎症障害を促進することが確認された。さらに重要なことに、 <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> （LGG）の経口補給が、TiO ₂ NPs 誘発炎症だけでなく、フルクトースによる代謝異常も改善したことである。LGG は腸内細菌叢を回復させ、炎症関連細菌（ <i>Desulfovibrionaceae</i> , <i>Clostridia</i> , <i>Proteobacteria</i> ）の量を減少させ、その結果、TiO ₂ NPs による重度の炎症障害から保護した。本研究は、慢性疾患患者に対する食品由来ナノ粒子の毒性評価の必要性和、プロバイオティクスの予防および治療としての有用性の可能性を示唆するものである。			

文献番号	A33	分類	反復経口投与、腸内細菌叢遺伝子発現	
著者	Zhu, X., Zhao, L., Wang, Y., Hu, X., Zhu, Y., Yang, X.			
ジャーナル	Journal of hazardous materials	436	pp.129179	2022
タイトル	Dietary titanium dioxide particles (E171) promote diet-induced atherosclerosis through reprogramming gut microbiota-mediated choline metabolism in APOE-/- mice.			
要約	食品用二酸化チタン（E171）は、動脈硬化（AS）の発症に関連するいくつかの腸内代謝産物の変化を誘発することが報告されている。しかし、E171 の慢性的な食事摂取が動脈硬化の発症に及ぼす影響、特に高コリン西洋食（HCD）の AS 傾向のある集団における影響については、ほとんど知られていない。本研究では、E171 が APOE-/-マウスの腸内細菌叢の構造を変化させ、トリメチルアミン（TMA）および動脈硬化促進物質であるトリメチルアミン-N-オキシド（TMAO）の生成を増加させることにより HCD 誘発性 AS を明らかに悪化させることを明らかにした。E171 を毎日 40 mg/kg、4 ヶ月間経口投与したところ、特に HCD 群で動脈硬化性病変面積が有意に増加した。メカニズムの研究から、E171 は、食事性コリンをグリシルラジカル反応により TMA に変換するコリン TMA リアーゼ（CutC/D）の腸内細菌発現を増加させることにより、TMAO 産生を大幅に増加させることが明らかとなった。16S rDNA 配列解析の結果、HCD を与えたマウスでは CutC/D を発現する細菌株が E171 によって濃縮されていることが確認された。対照的に、腸内微生物叢の枯渇は、コリン/TMA/TMAO 経路と AS 進行に対する E171 の影響を排除し、腸内細菌叢の変化が HCD 誘発性 AS に対する E171 摂取の悪化効果の原因であることが示された。これらの結果は、AS の進行に対する E171 の驚くべき役割を強調し、食品添加物が慢性疾患の発症に与える影響を再評価することの重要性を示している。			

文献番号	A34	分類	消化酵素とのコロナ形成	
著者	Zhang, T., Zhu, G., Lu, B., Qian, Z. and Peng, Q.			
ジャーナル	Medicinal Research Reviews	41(3)	pp.1835-1850	2021
タイトル	Protein corona formed in the gastrointestinal tract and its impacts on oral delivery of nanoparticles.			
要約	ナノ粒子（NPs）とタンパク質の相互作用および生体液中でのタンパク質コロナの形成は、薬物デリバリーにとって大きな関心と重要性を持っている。過去 10 年間、血液中のコロナ形成と、NPs の in vitro および in vivo 動態に及ぼす影響について、十分な調査およびレビューが行われてきた。近年、経口投与された NPs と消化酵素が消化管内で起こすナノ-タンパク質相互作用が注目されている。GIT で形成される酵素コロナは、NPs の特性、消化管通過性、および経口吸収性に大きな影響を与える可能性がある。経口投与は最も好ましい投与経路であるため、GIT におけるコロナ形成とその経口投与 NPs への影響を包括的に理解することは非常に重要である。本稿では、NPs と消化酵素の相互作用に関する最新の情報をまとめ、消化酵素コロナを結腸へのデリバリーに使用する可能性について興味深い議論を開始することを目的とする。			