

は、63種の抗がん剤について、実験動物とがん患者における確実中毒量(最大耐量: MTD)を比較した資料(Schneider et al., 2004)である。この資料から、MTDの違いが caloric demand で補正できることが示された。Caloric demand とは、ヒトの体重(g)の1/4乗を実験動物の体重(g)の1/4乗で除した値で、例えば、マウスの場合 $60000^{1/4}/30^{1/4}$ で6.69、ラットの場合 $60000^{1/4}/350^{1/4}$ で3.76となる。ヒトでのばらつきに関しては、その意味するところは標準的集団と高感受性集団におけるNOAELの違いである。最近、Hasegawaら(2007)が、新生児ラットと若齢ラット(通常の毒性試験に使用される週齢)に18種の化学物質を反復投与し、NOAELを比較したデータを発表した。この実験データを用いることとした。短期試験から長期試験への外挿に関しては、101物質について3ヶ月試験と2年間試験から得たNOAELを比較したデータ(Weil & McCollister, 1963; Hasegawa, 1991)を用いた。また、NOAELが求まっていない場合、すなわち最小毒性発現量(Lowest Observed Adverse Effect Level: LOAEL)からNOAELへの外挿に関しては、Adbel-Rahman & Kadry (1965)による24物質についてのデータ解析値を用いた。

各UFの要素に関わる個々の値は正規分布ではなく、対数正規分布を示すと考えられる。確率論的アプローチでは対数正規分布の幾何平均と幾何標準偏差を用いるのが通常であるが、各実験データは例えばNOAELの比などであるため、必ずしも正確な幾何平均を求める必要はない。そこで、中央値と幾何標準偏差を用いることとする。確率論的には全体の95%をカバーすることで計算を進めることが適切であると判断する。この95%点に相当する値が95%タイル値である。タイル値の計算法は以下の式である。さらに、2つUF(2つの対数正規分布)の積も対数正規分布を示すと考えられることから、Kodell & Gaylor (1999)の方法に従って95%タイル値を以下の計算式で求めた。

1つの95%タイル値の計算

95%タイル値 = $\text{Exp} [\text{LN} (\text{中央値: } M) + 1.645 (95\% \text{点}) \times \text{LN} (\text{幾何標準偏差: } \text{GSD})]$

2つの95%タイル値の積の計算

95%タイル値 (A x B) = $\text{Exp} [\text{LN} (M_A) + \text{LN} (M_B) + 1.645 \times ((\text{LN}(\text{GSD}_A))^2 + (\text{LN}(\text{GSD}_B))^2)^{0.5}]$

(倫理面への配慮)

本研究は、公表されたデータに基づき、調査及び評価作業を行ったものであり、倫理面での問題はない。

C. 研究結果

1. PFAC 及び PFAS 類の毒性情報収集・整理

1.1 体内動態

ラットにおけるPFAC類の血清/血漿半減期を表2にまとめた。PFHpAのみ例外的に短い半減期が報告されたものの、一般に、炭素鎖が長いほど、半減期が長い傾向が見られた。

Sprague-DawleyラットにPFBA(アンモニウム塩、3~100 mg/kg)を強制経口投与したところ、血清中濃度は0.63~1.25時間後に最高値に達し、24時間以内に、雄では51~90%、雌では101~112%が尿中に排泄された(Chang et al., 2008)。糞中への排出率は3%未満であった。雄ラットでは、投与24時間後の肝臓中濃度は血清中濃度の22~27%であった(雌ラットでは血清中濃度が低いため未測定)。同様にしてCD-1マウスにPFBA(アンモニウム塩、10~100 mg/kg)を強制経口投与した試験では、24時間以内に、雄では35%、雌では65~68%が尿中に排泄され、投与24時間後の肝臓中濃度は雄では血清中濃度の18~43%、雌では12~16%であった。血清半減期は雄マウスでは5.22~16.3時間、雌マウスでは2.79~3.08時間と算出された。一方、カニクイザルに10 mg/kgのPFBA(カリウム塩)を単回静脈内投与した際の24時間尿中排泄率は35~37%と性差は見られなかった。血清半減期(最終相)は雄では40.3時間、雌では41.0時間と算出され、血清中からのPFBAの消失速度には、明確な種

差があることが明らかになった。

表-2: ラットにおける PFAC 類の血清/血漿排泄半減期

投与経路	投与量	半減期	参考文献
PFBA (C4)			
経口	30 mg/kg ^{a)}	雄: 9.22 時間 雌: 1.76 時間	(Chang et al., 2008)
静脈内	30 mg/kg ^{a)}	雄: 6.38 時間 雌: 1.03 時間	(Chang et al., 2008)
PFHxA (C6)			
経口	500 mg/kg/day ^{b)} (90 日間投与後)	雄: 14.9 日 雌: 7.9 日	(Himmelstein et al., 2008)
PFHpA (C7)			
静脈内	48.64 μmol/kg (18 mg/kg)	雄: 0.10 日 雌: 0.05 日	(Ohmori et al., 2003)
PFOA (C8)			
経口	0.1 ~ 25 mg/kg	雄: 138 ~ 202 時間 雌: 3.2 ~ 16.2 時間	(Kemper, 2003)
	0.1 mg/kg	雄: 277 時間 雌: 3.4 時間	(Kemper, 2003)
	11.0 mg/kg	雄: 115 時間	(Gibson et al., 1979)
静脈内	48.64 μmol/kg (20 mg/kg)	雄: 5.63 日 雌: 0.08 日	(Ohmori et al., 2003)
腹腔内	9.4 μmol/kg (4 mg/kg)	雄: 9 日 雌: 4 時間	(Vanden Heuvel et al., 1991b)
PFNA (C9)			
静脈内	48.64 μmol/kg (23 mg/kg)	雄: 29.6 日 雌: 2.44 日	(Ohmori et al., 2003)
PFDeA (C10)			
静脈内	48.64 μmol/kg (25 mg/kg)	雄: 39.9 日 雌: 58.6 日	(Ohmori et al., 2003)
腹腔内	9.4 μmol/kg (5 mg/kg)	雄: 22 日 雌: 27 日	(Vanden Heuvel et al., 1991a)

a): アンモニウム塩, b): ナトリウム塩

Wistar ラットに 20 mg/kg の PFHpA, PFOA, PFNA 及び PFDeA を腹腔内投与した結果、雄ラットでは、投与後 120 時間以内にそれぞれ 92%、55%、2.0%及び 0.2%が尿中に排泄された (Kudo et al., 2001)。糞中排泄量は、4 物質とも投与量の 5%未満であった。雌ラットでは、PFHpA 及び PFDeA の尿中排泄率は雄ラットと同様であったが、PFOA 及び PFNA については、120 時間以内にそれぞれ 80%及び 51%が尿中に排泄され、尿中排泄速度に明確な性差があることが明らかになった。投与後の血清中及び肝臓中濃度を測定した結果、炭素鎖が長いほど高い傾向が見られ、PFOA 及び

PFNA に関しては、性差が認められた。Ohmori ら (2003)は、Wistar ラットに 48.64 μmol/kg の用量で静脈内投与した試験において、PFHpA, PFOA, PFNA 及び PFDeA の総クリアランスと腎クリアランスの間に強い相関性が見られたことを報告しており、このことから、血清/血漿半減期の性差や側鎖の長さによる違いは、尿中排泄速度の違いによると考えられる。

表-1 に示したように、PFDeA の血清/血漿半減期はその他のパーフルオロアルキルカルボン酸とは異なり、雌の方がやや長い傾向が見られた。Sprague Dawley ラットに 9.4 μmol/kg (5 mg/kg)の[1-¹⁴C]PFDeA を単回腹腔

内投与した試験では、28日後までに雄では投与量の51%、雌では24%が糞中に排泄され、全身排出半減期はそれぞれ23日及び45日と算出された (Vanden Heuvel et al., 1991a)。尿中排泄量は、雌雄共に投与量の5%未満であった。同様に投与を行ったラットから胆汁を採取したところ、6時間後までに雄では0.76%、雌では1.29%が排出されたことから、糞中排泄量に見られた性差は胆汁中排泄速度の違いによるものではないと考えられる。投与4日後の組織抽出物を分析した結果、検出された放射活性はPFDeA親化合物に由来するものであることが明らかになった。さらに、採取した尿及び胆汁抽出物をHPLCで分析したところ、PFDeA親化合物のピークのみが検出された。投与28日後の組織中濃度を測定したところ、肝臓中の濃度が最も高く、投与量の31~33%が残存していた。次いで、血清及び腎臓中の濃度が高く、雄の心臓、脂肪、精巣及び腓腹筋、雌の卵巣中の濃度は著しく低かった。肝臓からの排出半減期は雄で35日、雌で45日、心臓の排出半減期は43日(雄)と他の臓器と比較して長かった。

ラットの血清を用いてPFHpA, PFOA, PFNA, PFDeAのタンパク結合率を調べた結果、いずれの物質についても98%以上が血清タンパクと結合することが明らかとなった (Ylinen et al., 1990)。実際に、Wistarラットに20 mg/kgのPFDeAを単回腹腔内投与した *in vivo* 試験では、血清中から検出されたPFDeAの99%以上が血清蛋白と結合していたことが報告されている (Vanden Heuvel et al., 1991a)。

妊娠動物における体内動態に関しては以下のような報告がある。PFBA(アンモニウム塩; 35, 175, 350 mg/kg/day)をCD-1マウスの妊娠1~17日に強制経口投与したところ、最終投与の24時間後の血清からは低濃度のPFBA

(2.5~4.4 µg/ml)しか検出されず、肝臓中濃度は血清中濃度の35-54%であった (Das et al., 2008)。妊娠1-18日まで同様な投与を行い、自然分娩させたところ、出生後1日の児の血清中PFBA濃度は、母動物と比較して著しく低く(0.37~0.61 µg/ml)、生後10日の児の血清及び肝臓中濃度は検出限界値に近い値か、それ未満であった。炭素数6から18のパーフルオロアルキルカルボン酸アンモニウム塩の混合物であるS-111-S-WB(主要な成分はPFNA)の2世代生殖毒性試験では、F0雌動物の血清中S-111-S-WB濃度(PFOA, PFNA, PFUA及びPFDoAの濃度の総計として)の測定が行われている (Stump et al., 2008)。CrI:CD(SD)ラットに0.025~0.6 mg/kg/dayの用量で強制経口投与した結果、投与64日後(交配1週間目)と妊娠19日目の投与1~16時間後の血清中S-111-S-WB濃度に変化はみられず、また、投与64日後と妊娠19日目の値はほぼ同じであったことから、定常状態に達していると考えられた。哺育13日目の母動物の血清中濃度は妊娠19日目より低く、雌雄児の血清中濃度は母動物の1.2-1.4倍高かった。

PFAS類の体内動態に関する情報は少ない。Sprague-Dawleyラットに30 mg/kgのPFBS(カリウム塩)を単回静脈内投与した結果、24時間以内に雄では投与量の66.3%、雌では74.4%が尿中に排泄され、24時間糞中排泄量はそれぞれ0.36%及び0.13%であった (Olsen et al., 2009)。96時間後の肝臓中濃度は定量限界未満であった。血清中のPFBS濃度は2-コンパートメントモデルにフィットし、 α 相及び β 相の排出半減期は、雄ではそれぞれ0.99時間及び4.51時間、雌では0.36時間及び3.96時間と算出された。30 mg/kgのPFBS(カリウム塩)を単回強制経口投与した試験においても類似した結果が得られており、PFBSは消化

管内から急速に吸収されると考えられる。なお、¹⁴CでラベルしたPFOS(カリウム塩, 4.2 mg/kg)を雄ラットに単回強制経口投与した試験では、血漿中からの排出半減期は179時間と算出されている (Johnson et al., 1979)。

カニクイザルに10 mg/kgのPFBS(カリウム塩)を単回静脈内投与した結果、投与後24時間以内に投与量の33.8~86.8%が尿中に排泄された (Olsen et al., 2009)。血清中PFBS濃度は3-コンパートメントモデルにフィットし、 α 相、 β 相、 γ 相の血清排出半減期は、雄では0.8, 13.2及び95.2時間、雌では1.28, 11.28及び83.2時間と算出された。Noker & Gorman (2003a, 2003b)は、カニクイザルにPFHxS及びPFOSを静脈内投与した結果、終末相の排出半減期はそれぞれ49~200日(雄:141日、雌:87日)及び88~146日(雄:132日、雌:110日)と算出されたことを報告しており、パーフルオロアルキルスルホン酸類に関しても、炭素数に依存した排出速度の低下が認められると考えられる。

1-2. 急性毒性

雄のCrI:CD BR ラットに67~4600 mg/m³のPFNA(アンモニウム塩, dust)を4時間吸入暴露させた結果、590 mg/m³以上の暴露群で死亡が見られ、LC₅₀は820 mg/m³となった (Kinney et al., 1989)。雄のCrI:CDラットにおけるPFOA(アンモニウム塩)の吸入LC₅₀は980 mg/m³と報告されており (Kennedy GL et al., 1986)、PFNAとPFOAの急性毒性は同程度と考えられた。一方、Olson & Andersen (Olson et al., 1983)は、雄のFischer344ラットにPFDeA及びPFOAを単回腹腔内投与した結果、PFOAのLD₅₀が189 mg/kgであったのに対し、PFDeAのLD₅₀は41 mg/kgと低い値を示したことを報告している。PFOA投与群ではすべての死亡が5日以内に見られたのに対し、

PFDeA投与群では投与後2~3週間後まで死亡が観察された。PFDeAに関しては、その他に、雄のFischer344ラットにおける経口LD₅₀は57 mg/kg、雄のSprague Dawleyラットにおける腹腔内LD₅₀は75 mg/kg、雌のC57BL/6Nマウスにおける経口LD₅₀は120 mg/kgとの報告があり (George et al., 1986)、いずれの値もPFDeAの急性毒性がPFOAよりも高いことを示している (Olson et al., 1983; Griffith et al., 1980; National Technical Information)。PFAS類に関しては、PFOS(カリウム塩)について、ラットにおける経口LD₅₀が233~271 mg/kg (Dean et al., 1978)、吸入LC₅₀は5.2 mg/L(1時間暴露) (Rusch et al., 1979)と報告されているものの、その他のPFAS類の急性毒性に関する報告はなかった。

1-3. 反復投与毒性

6, 30, 150 mg/kg/dayのPFBA(アンモニウム塩)を雌雄のSDラットに28日間反復強制経口投与した結果、30 mg/kg以上の投与群の雄で血清コレステロールの低下が認められ、150 mg/kg投与群の雄ではさらに瞳孔反射の遅れが見られた (NOTOX, 2007b)。病理組織学検査の結果、30 mg/kg以上の投与群の雄で甲状腺濾胞上皮肥大/過形成、150 mg/kg投与群の雄で肝細胞肥大が見られた。SDラットを用いた90日間反復経口投与試験では、1.2, 6, 30 mg/kg/dayのPFBA(アンモニウム塩)を強制経口投与した結果、30 mg/kg投与群の雄で赤血球数及びヘモグロビンレベルの低下、血中ALPの増加、総タンパク及びカルシウムの低下がみられ、肝臓では汎小葉性肝細胞肥大、さらに甲状腺ではびまん性濾胞肥大/過形成の頻度/重篤度が増加した (NOTOX, 2007a)。瞳孔反射試験の結果、30 mg/kg投与群では、暗条件下で瞳孔が完全に拡大するまでの時間が長いことが明らかとなったが、瞳孔反射への

影響は多くが片側性の変化で、投与期間中に一貫して観察されるものではなかった。瞳孔サイズの検査や検眼鏡検査、眼や神経組織の病理組織学検査では変化は見られていない。

Crl:CD(SD)ラットに20, 100, 500 mg/kg/dayのPFHxA(ナトリウム塩)を90日間強制経口投与した結果、100 mg/kg以上の投与群で鼻部の損傷/病変が認められた(Slezak et al., 2008)。この鼻部の変化をそのままヒトに外挿することができるのかは不明である。同用量のPFHxA(ナトリウム塩)をラットに投与した一代生殖毒性試験や発生毒性試験では、100 mg/kg以上の投与群で親動物の体重低値もしくは体重増加抑制が認められたことが報告されている。PFHxAのナトリウム塩に関するこれらの試験に関しては、現時点では学会報告としての報告のみであり、試験法や結果の詳細を入手することは出来なかった。

PFNAの反復投与毒性に関する一般毒性試験の報告はないが、Crl:CD-1マウスにPFNA及びPFOA(アンモニウム塩)を14~21日間混餌投与し、肝重量への影響を調べた試験の結果から、PFNAの影響はPFOAよりも強いと考えられる(Kennedy, 1987)。この試験では、すべてのPFNA投与群(3 ppm~)で相対肝重量の増加が認められた。Sprague-Dawleyラットを用いた発生毒性試験では、10 mg/kg以上の投与群で体重増加抑制を含む、明確な母毒性が、さらに、5 mg/kg投与群で母動物の肝重量増加が認められた(Grey et al., 2008)。BALB/cマウスの雄に1, 3及び5 mg/kg/dayのPFNAを14日間強制経口投与し、免疫系への影響を調べた試験では、3 mg/kg以上の投与群で体重、胸腺及び脾臓重量の低下が認められている(Fang et al., 2008)。この試験では、胸腺及び脾臓において細胞サイクルの停止やアポトーシスの増加が見られ、さらに、胸腺では、

CD4⁺CD8⁺胸腺細胞の低下、脾臓ではF4/80⁺、CD11c⁺及びCD49b⁺細胞の低下やリンパ球によるインターロイキン-4及びインターフェロン- γ 産生阻害が認められた。

Wistarラットの雄に0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01%のPFDeAを含む餌を1週間与えた結果、0.01%投与群では、摂餌量及び体重が低値を示し、すべての投与群で相対肝重量の増加が認められた(Kawashima et al., 1995)。肝臓の微細構造を観察した結果、0.005%投与群では、ペルオキシソーム増殖に加え、無定形物質を含む脂肪滴の増加が認められ、肝細胞サイズの増加も観察された。0.01%投与群では明確な脂肪滴の増加が見られ、さらに、肝細胞には空胞化した核がたびたび認められた。その他にも、ペルオキシソーム増殖に関連した肝酵素活性の変化や肝臓のtriacylglycerolやコレステロールレベルの増加などが用量依存的にみられた。同様にPFOAを投与した試験の結果から、著者らはPFDeAによるペルオキシソーム増殖剤反応性指標への影響はPFOAよりも1.5倍程度高いと結論している。マウスを用いたPFDeAの発生毒性試験では、0.5 mg/kgという低用量で母動物の肝臓重量への影響が認められた(Harris et al., 1989a)。これらの試験では肝臓以外の組織/器官への影響は調べていないが、げっ歯類に比較的高用量(20~400 mg/kg)のPFDeAを単回投与した試験において、肝臓への影響に加え、胸腺、腎臓、甲状腺、心臓や雄性生殖器系、免疫系などへの影響が報告されており(Langley et al., 1985; Olson et al., 1983; George et al., 1986; Van Rafelghem et al., 1987a, 1987b; Bookstaff et al., 1990; Pilcher et al., 1986, 1987; Nelson et al., 1992; Harris et al., 1989b)、より低用量で長期投与を行い、広範囲な組織への影響を調べる必要がある。

PFD_oA については、Sprague Dawley ラットの雄に 1、5、10 mg/kg/day の用量で 14 日間強制経口投与し、肝臓及び精巣への影響を調べた試験の結果が報告されている (Zhang et al., 2008; Shi et al., 2007)。これらの試験では、5 mg/kg 以上の投与群で、体重低値及び相対肝重量の増加がみられ、1 及び 5 mg/kg 投与群では血清トリグリセリドの低下が認められた。肝臓の微細構造を観察した結果、すべての投与群で肝細胞の細胞質に脂質蓄積が観察され、5 mg/kg 以上の投与群では粗面小胞体の崩壊や脱顆粒化が観察された。精巣においても、5 mg/kg 以上の投与群のセルトリ細胞で密集した脂肪滴やミトコンドリアの拡張が観察されるなど、微細構造の変化が観察された。PFD_oA 投与によるその他の組織への影響についての報告はない。

CrI:CD(SD)IGS BR ラットに 0.025、0.125 及び 0.6 mg/kg/day の S-111-S-WB を 90 日間強制経口投与した結果、軽度のペルオキシソーム増殖を示唆する肝臓の β 酸化及び肝重量の増加が 0.125 mg/kg 投与群の雄及び 0.6 mg/kg 投与群の雌雄で観察された (Mertens et al., 2007)。0.125 mg/kg 投与群の雄では肝細胞肥大及び好酸性病巣、0.6 mg/kg 投与群の雄では肝細胞変性及び壊死が観察され、さらに、十二指腸で潰瘍、上皮過形成や急性炎症、胃では潰瘍、びらん、扁平上皮過形成、活動性の慢性炎症なども観察された。0.6 mg/kg 投与群の雄では血清タンパクの低下、ビリルビン、尿素窒素、塩素の増加が認められ、さらに ALP の増加が 0.125 mg/kg 投与群の雄及び 0.6 mg/kg 投与群の雌雄で見られた。一方で、Sprague Dawley ラットを用いた S-111-S-WB の 2 世代生殖毒性試験では、同様な肝臓の変化 (F0 世代: 0.025 mg/kg 以上の投与群の雄、0.6 mg/kg 投与群の雌; F1 世代: 0.025 mg/kg 以上の投与群の雄) に

加え、F0 世代では 0.125 mg/kg 以上の投与群の雄及び 0.6 mg/kg 投与群の雌、F1 世代では、0.6 mg/kg 投与群の雄に尿細管細胞肥大も認められた (Stump et al., 2008)。

CrI:CD(SD)IGS BR ラットに 60、200、600 mg/kg/day の PFBS (カリウム塩) を強制経口投与した結果、200 mg/kg 以上の投与群の雄では口周囲の色素性鼻汁/鼻漏や尿による腹部の汚れが観察され、さらに、赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット値が低値を示した (Lieder et al., 2009)。最高用量群では、胃に境界縁扁平上皮細胞の壊死や過形成/過角化症が見られ、腎臓には髄質内層から乳頭部の尿細管上皮細胞の過形成、乳頭水腫や壊死が観察された。ラットを用いて行われた PFBS (カリウム塩) の 2 世代生殖毒性試験では、親動物への影響として、腎臓の髄質及び乳頭部の病理変化が 300 及び 1000 mg/kg 投与群で観察されたのに加え、同投与群の雄では絶対及び相対肝重量が増加し、適応性肝細胞肥大の発現率が増加した (Butenhoff et al., 2006)。

げっ歯類における PFOA 及び PFOS の主要な標的器官は肝臓であり、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (peroxisome proliferator activated receptor: PPAR) α を介したメカニズムの関与が示唆されている。PFAC 類の肝重量や肝ペルオキシソーム β 酸化への影響に関しては、げっ歯類を用いた比較研究が行われており、その結果、炭素鎖数が 8 もしくは 9 までの PFAC 類については、炭素鎖の長さ依存して作用が増強し、PFDeA については、PFOA とほぼ同等かやや弱いことが明らかになった (Kudo et al., 2000, 2003, 2006; Permadi et al., 1993; Ikeda et al., 1985; Kozuka et al., 1991a, 1991b)。炭素鎖の長さに関わらず、ペルオキシソーム β 酸化誘導能と肝臓中モル濃度の間には有意な相関性が認められたこと

から、PFAC 類の肝毒性の違いは、主として肝臓中濃度の違いによるものと考えられる。一方で、最近、ラットの初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 試験の結果、PFAC/PFAS 類によるアシル CoA オキシダーゼや Cyp4A1 転写誘導が炭素鎖数に依存して増強されることが報告されている (Bjork et al., 2008)。さらに、COS-1 細胞を用いたレポーターアッセイにおいても、炭素鎖が長い PFAC 類 (炭素鎖数 9 まで) 及び PFAS 類 (炭素鎖数 6 まで) の方が、PPAR α (マウス及びヒト) 活性化能が強いことが明らかになっており (Wolf et al., 2008)、肝臓への直接的な作用の違いも肝臓への影響の強さが炭素鎖の長さにより異なる要因の一つとなっていると考えられる。

1-4. 生殖発生毒性

PFBA (アンモニウム塩: 35、175、350 mg/kg/day) を CD-1 マウスの妊娠 1-17 日に強制経口投与し、18 日に帝王切開を行った結果、350 mg/kg 投与群で全胚吸収率が増加した。母体重、着床数、生存同腹胎児数、胎児重量及び奇形発症率に影響は見られなかった (Das et al., 2008)。一部の動物については妊娠 18 日も投与を行い、自然分娩させた。その結果、新生児生存率や体重に影響は見られなかった。175 mg/kg 以上の投与群では生後 1 日目の児に肝重量の増加が見られたが、この変化は生後 10 日には見られなかった。すべての投与群で眼瞼開裂の軽度な遅れがみられ、175 mg/kg 以上の投与群では膈開口の遅れ、350 mg/kg 投与群では龟头包皮分離の遅れもみられた。

PFHxA に関しては、20、100、500 mg/kg/day のナトリウム塩を CrI:CD(SD)ラットに強制経口投与した一世代生殖毒性試験が報告されている (Slezak et al., 2008)。その結果、100 mg/kg 投与群の雄で体重低値及び体重増加抑制が見られたものの、生殖パラメータに変化は見ら

れなかった。500 mg/kg 投与群では哺乳期間中に児の体重減少が見られ、成熟後にも体重低値及び体重増加抑制が認められた。同用量のナトリウム塩をラットの妊娠 6-20 日に強制経口投与した発生毒性試験では、500 mg/kg 投与群で母体重の低下及び胎児重量の低下が認められた。

Sprague-Dawley ラットの妊娠 2-21 日に 1, 3 もしくは 5 mg/kg/day の PFNA を強制経口投与し、妊娠 21 日に半数の母動物の帝王切開を行った結果、母体重、母動物毎の胎児生存率、同腹児数及び同腹児重量に変化は見られず、胎児に外表奇形や異常は認められなかった (Grey et al., 2008)。残りの母動物について、自然分娩させ、児の生存率、体重増加及び出生後発達への影響を調べた結果、5 mg/kg 投与群では児の出生時から出生後初期の体重が低値を示した。

PFDeA に関しては、その生殖機能への影響について調べた報告はないが、Fischer344 ラットに 50 mg/kg を単回腹腔内投与した試験で、精細管萎縮や変性が観察されたことが報告されている (George et al., 1986)。さらに、Sprague Dawley ラットに 20, 40, 80 mg/kg の PFDeA を腹腔内投与した試験では、40 mg/kg 以上の投与群で血漿中テストステロン及び 5 α -ジヒドロテストステロンレベルが顕著に減少したことが報告されており (Bookstaff et al., 1990)、雄性生殖機能への影響が示唆される。発生への影響については、C57BL/6N マウスの妊娠 6-15 日に 0.03-12.8 mg/kg/day の PFDeA を強制経口投与した試験の報告がある (Harris et al., 1989a)。この試験では、12.8 mg/kg 投与群において 3/10 例の母動物が顕著な体重低下の後に死亡した。この投与群では、吸収胚率の増加 (生存した 7 例中 3 例で全胚吸収)、生存同腹児数の低下が認められ、検査した児

全例で骨格異常 (第 5 胸骨欠損、脳頭蓋骨化遅延、指節骨骨化遅延)が観察された。6.4 mg/kg 以上の投与群では母動物の体重増加抑制、1.0 mg/kg 以上の投与群で相対肝重量の増加が見られ、0.1 mg/kg 以上の投与群で生存胎児数の低下が認められた。C57BL/6N マウスの妊娠 10-13 日に 0.25-32.0 mg/kg/day を強制経口投与した試験では、32 mg/kg 投与群の 4/12 例で全胚吸収がみられ、16 mg/kg 以上の投与群で母体重増加抑制、0.5 mg/kg 以上の投与群で母動物の相対肝重量の増加及び生存胎児重量の低下が認められた (Harris et al., 1989a)。

PFD_oA については、Sprague-Dawley ラットの雄に 14 日間強制経口投与した試験において、精巣の微細構造の変化が観察されている (Shi et al., 2007)。この試験では、5 mg/kg 以上の投与群ではテストステロンが顕著に減少し、ライディッヒ細胞、セルトリ細胞及び精原細胞にアポトーシス像が観察されており、雄性生殖機能への影響が懸念されるが、現時点では、PFD_oA の生殖機能及び発生への影響について調べた研究は報告されていない。

CrI:CD(SD)ラットに 0.025, 0.125 及び 0.6 mg/kg/day の S-111-S-WB を交配 10 週間前から 2 世代にわたって強制経口投与した結果、すべての投与群の F0 及び F1 親動物で肝臓及び腎臓への影響がみられ、0.125 mg/kg 以上の投与群の F1 児及び 0.6 mg/kg 投与群の F2 児で相対肝重量の増加が見られたものの、生殖パフォーマンス、平均同腹児数、生存児数及び児の体重に影響は見られなかった (Stump et al., 2008)。

ラットに 30, 100, 300 及び 1000 mg/kg/day の PFBS (カリウム塩)を交配 10 週前から 2 世代にわたって強制経口投与した結果、妊娠及び生殖指標への影響は見られなかった。F1 世代では、1000 mg/kg 投与群で亀頭包皮分離の

軽度な遅れ (2 日)が認められたが、これはこの投与群でみられた体重低値による二次的な変化である可能性が考えられる (Butenhoff et al., 2006)。

1-5. 遺伝毒性

PFOA 及び PFOS は、直接的な遺伝毒性を示さないと考えられている。その他の PFAC/PFAS 類に関しては、PFHxA (ナトリウム塩)について、細菌を用いた復帰突然変異試験で陰性結果が得られており、さらに、ヒトのリンパ球において染色体異常を引き起こさなかったことが報告されている (Slezak et al., 2008)。PFD_eA については、マウスリンパ性白血病由来の L5178Y 細胞において変異原性を示さなかったことが報告された (Rogers et al., 1982)。PFBS についても、変異原性や染色体異常を引き起こさないと報告があるが、未公表データであり、詳細情報を得ることが出来なかった (Lieder, personal communication)。

1-6. 発がん性

PFOA や PFOS についてはラットにおいて肝臓、膵臓、甲状腺、精巣などに腫瘍性病変を引き起こすことが報告されている (Biegel et al., 2001; Frame et al., 2003; Sibinski, 1987; Thomford, 2002)が、その他の PFAC/PFAS 類に関しては、PFD_eA の 2 段階発がん試験の報告があるのみである (Borges et al., 1993)。この試験では、雌の Sprague-Dawley rats に部分肝切除術を実施した後、10 mg/kg の diethylnitrosamine を強制経口投与し、その後、0.05, 0.50 もしくは 5.0 mg/kg の PFD_eA を月に一回、9 もしくは 18 ヶ月間腹腔内投与した。5.0 mg/kg 投与群ではペルオキシソーム酵素の脂肪酸アシル CoA 酸化酵素活性の増加を引き起こしたが、腫瘍発現率や肝変異病巣 (altered hepatic foci)の増加は見られなかった。

1-7. ヒトの健康への影響

PFBAに代謝されると考えられる化合物(n-perfluorobutyl fluoride, methyl perfluorobutyrate など)に職業的に暴露された可能性のある労働者12名(うち女性2名)を対象とした調査の結果が報告されている(Chang et al., 2008)。任意にもしくは休暇のため仕事を離れた後の血清中PFBAを測定し、半減期を求めた結果、男性では平均72.16時間、女性では平均87.00時間と算出された。

PFNAはある種の高性能ポリマーを生成する際に用いられる表面活性剤もしくはスリップ剤混合物の主要な成分であり、このPFNA混合物には、他に、炭素数11及び13のフッ化炭化水素が含まれる。PFNA混合物を用いた工場の労働者(1989年1月から2003年7月の間に一度でも働いたことのある者)592名(うち、男性518名)を対象とした調査では、対象とした労働者を職歴から高暴露群、低暴露群及び非暴露群に分類し、血中コレステロール、グルコースや甲状腺ホルモンレベルなどを含む32の臨床検査値の比較が行われた(Mundt et al., 2007)。その結果、いずれの値についても、臨床的に有意な差はみられなかった。

PFBS(カリウム塩)の製造に従事している6名の労働者(男性:5名、女性:1名)について、6ヶ月にわたって採血及び採尿を行い、血清中のPFBS濃度を測定した(Olsen et al., 2009)。試験期間中は職業的なPFBS(カリウム塩)暴露は回避した。その結果、血清中PFBS濃度は1-コンパートメントモデルにフィットし、血清排出半減期の平均値は27.7日であった。試験開始60日後までは尿中にPFBSの排出が認められたが、時間の経過と共に減少し、試験期間終了時の尿中PFBS濃度は定量限界(5 ng/mL)以下であった。

フッ素化学工場の退職者26人(女性2人)を対象として、およそ5年間にわたって定期的に採血を行い、血清中PFHxS濃度を測定したところ、PFHxSの排出半減期は8.5年(95%CI: 6.4~10.6年)と実験動物に比べて長く、年齢、勤続年数、退職から初回採血までの時間との間に関連はみられなかった(Olsen et al., 2007)。PFHxSの半減期は、同様にして算出したPFOA及びPFOSの半減期(それぞれ3.8年及び5.4年)よりも長かった。

2. 確率論的アプローチによる新規不確実係数(UF)の提案

実験動物からヒトへの外挿(種差)に関する情報として、Schneiderら(2004)はマウス、ハムスター、ラット、サル及びイヌとがん患者に63種の抗がん剤を5日間連続経口投与したときのMTDの比較を行っている。表-3に示したように、実験動物MTD/ヒトMTDの値の中央値は、実験動物とヒトとのcaloric demandの違いと比較的良く一致していた。この結果から、caloric demandによる補正で種差が概ね解消されると考えられた。なお、これらのデータはそれぞれが対数正規分布を示すことから、caloric demandで補正した後の全データに関する幾何標準偏差は3.23であった。

ヒトでのばらつきに関しては、Hasegawaら(2007)の解析では、対象とした18種の化学物質のうち、若齢ラットNOAEL/新生児ラットNOAELが2倍未満の物質が5種、2から5倍までの物質が12種あり、5倍以内に94.4%が含まれていた。このデータから、中央値は3、幾何標準偏差は1.38であった。

以上の種差とヒトでのばらつきの情報を確率論的アプローチによってそれぞれの95%タイル値並びに2つの要素を掛け合わせた95%タイル値を計算すると表-4(2主要素の95%タイル値)のようになった。

短期試験から長期試験への外挿に関しては、101物質について3ヶ月及び2年間試験の結果から得たNOAELの比の中央値が1.7、幾何標準偏差が3.3であり、95%タイル値は12.1であった。また、LOAELからNOAELへの外挿の中央値は3.5、幾何標準偏差が1.82であり、95%タイル値は9.39であった。2主

要素に短期から長期試験NOAELへの外挿を確率論的アプローチで掛け合わせた値(3つのUFの積)は、2主要素の95%タイル値の3.8倍となり、また、LOAELからNOAELへの外挿に関しては4.4倍で、同時に両要素を考慮した場合(2主要素に短期から長期と、LOAELからNOAEL)は15.7倍となった。

表-3: ヒトと実験動物の抗がん剤 MTD 比較

(/ヒト)	マウス	ハムスター	ラット	サル	イヌ
試験数	55	18	16	35	63
中央値	8.0	7.6	2.6	2.4	1.2
補正法					
体重	1	1	1	1	1
Caloric demand	7.4	5.9	4.9	2.2	1.7

表-4: 6種の実験動物からヒトへの外挿及びヒトでのばらつきに関する中央値、幾何標準偏差、95%タイル値及び2主要素を掛け合わせた95%タイル値

	マウス	ハムスター	ラット	ウサギ	サル	イヌ
<u>ヒトへの外挿</u>						
中央値	7	5	4	2	1.7	1.4
幾何標準偏差	3.23	3.23	3.23	3.23	3.23	3.23
95%タイル値	48.2	34.4	27.5	13.8	11.7	9.63
<u>ヒトでのばらつき</u>						
中央値	3	3	3	3	3	3
幾何標準偏差	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
95%タイル値	5.09	5.09	5.09	5.09	5.09	5.09
<u>2主要素の95%タイル値</u>	155	111	88.7	44.3	37.7	31.0

体重: 60kg(ヒト), 0.03kg(マウス), 0.125kg(ハムスター), 0.35kg(ラット), 4kg(ウサギ), 7kg(サル), 16kg(イヌ)

D. 考察

PFOA及びPFOS以外のPFAC/PFAS類の毒性情報を整理した結果、体内動態や肝臓への影響に関しては比較的多くのデータが得られたが、その他の毒性影響については十分な情報

が得られなかった。げっ歯類を用いたPFOA及びPFOSの反復投与毒性試験では、それぞれ0.64mg/kg/day及び0.015mg/kg/dayという低用量から肝臓への影響が報告されている(Perkins et al., 2004; Seacat et al., 2003;

Thomford, 2002)。その他の PFAC/PFAS 類の反復投与毒性試験としては、PFBA、PFHxA 及び PFBS についての 90 日間試験の報告のみであったが、生殖発生毒性試験において、S-111-S-WB や PFDeA による親毒性が比較的 low 用量から見られていること、肝臓への影響に焦点を当てた調査研究で PFNA や PFDeA が PFOA よりも強い影響を示すことが報告されていることなどから、一般的には、炭素が長くなることにより、毒性が強まる傾向があると考えられる。しかし、特に強い影響が懸念される、炭素数が 9 を超える PFAC/PFAS 類については、広範囲な器官や組織への影響を調べた反復投与試験の報告がなかった。さらに、PFOA 及び PFOS については肝臓、甲状腺、膵臓や精巣に腫瘍性病変を引き起こすことが報告されている (Biegel et al., 2001; Frame et al., 2003; Sibinski, 1987; Thomford, 2002) が、その他の PFAC/PFAS 類については発がん性試験の報告はないことから、特に炭素鎖数の長い PFAC や PFAS 類について長期毒性試験の実施が望まれる。

PFAC/PFAS 類の肝臓への影響については、PPAR α を介したメカニズムの関与が疑われており、このメカニズムによる肝毒性は一般にヒトには外挿できないと考えられている。しかし、PPAR α 欠損型 Sv/129 マウスに PFOA を 7 日間混餌投与した結果、野生型マウスと同程度の肝臓重量の増加が認められたことが報告されており (Yang et al., 2002)、さらに、カニクイザルを用いた PFOA および PFOS の 6 ヶ月投与試験では、肝臓の病理組織変化や肝毒性を示唆する変化が観察されている (Butenhoff et al., 2002; Seacat et al., 2002)。これらのことから、PFAC/PFAS 類の肝毒性には PPAR α を介さないメカニズムも関与している可能性が考えられる。

生殖発生毒性に関しては、PFOA 及び PFOS 以外に、PFBA、PFHxA、PFNA、SW-111-S-WB、PFDeA 及び PFBS について一世代/二世代試験もしくは妊娠期投与試験の報告があり、PFBA、PFNA 及び PFDeA については母毒性の認められない用量で、生存胎児数の低下、児重量の低値、生後発達や性成熟の遅れなどが認められた。試験条件や使用動物種が異なるため、単純な比較はできないものの、マウスの妊娠期投与試験のみを見ると、PFBA については、最低用量である 35 mg/kg 投与群で眼瞼開裂の軽度な遅れが認められたのに対し、PFOA については 0.6 mg/kg から胚致死や出生後生存率の低下 (Abbott et al., 2007) が、PFDeA については 0.1 mg/kg から生存胎児数の低下が見られており、PFAC/PFAS 類の生殖発生毒性についても反復投与毒性と同様に炭素数に依存して毒性が増強すると考えられる。特に強い影響が懸念される、炭素数が 9 を超える PFAC/PFAS 類については生殖機能や生後発達への影響を調べた報告がないため、さらなる試験の実施が望まれる。

ラットでは、PFOA 及び PFOS の血漿/血清排出半減期は数日レベルであるのに対し、炭素数が 4 の PFBA や PFBS では数時間と非常に短く、一方、炭素数 10 の PFDeA の血漿/血清排出半減期は 40-60 日と算出されており、全体として炭素鎖の長さに依存して血漿/血清半減期が長くなる傾向が見られた。これは尿中排泄速度の違いによるものと考えられており、このことが PFAC/PFAS 類の毒性が炭素数に依存して増強する主要因と考えられる。PFOA や PFOS の体内動態には、顕著な種差があることが知られているが (Johnson et al., 1979; Kudo et al., 2002; Hundley et al., 2006; Butenhoff et al., 2004; Seacat et al., 2002)、PFBA

及びPFBSについても同様な報告があり、霊長類における血漿/血清排出半減期はげっ歯類と比較して長いことが明らかとなっている。PFAC/PFAS類に職業的に暴露されたヒトを対象とした研究では、PFOA、PFHxS及びPFOSの血清半減期はそれぞれ3.8年、8.5年及び5.4年と顕著に長いことが報告されており、これらの情報を十分に考慮した上で、ヒト健康へのリスクを適切に評価する必要があると考えられた。

実験動物からヒトへの外挿に関するUF 10の根拠は18種の抗がん剤の実験動物とヒトのMTDを比較したとき、MTDの単位を体表面積補正することにより種差が解消されたとの解析に基づいていた (Freireich et al., 1966)。ラット又はマウスとヒトとの体表面積補正は、ラットの体重を350g、マウスを30g、ヒトを60kgとした場合、それぞれ5.6及び12.6となる。そこで、UF 10で概ねカバーできると判断されたものと考えられる。しかしながら、同様の解析方法で、さらに抗がん剤の数を増やして合計63種とした段階で、体表面積補正よりcaloric demand補正の方がより実測値に対応していることが明らかとなった (Schneider et al., 2004)。また、実験動物はマウスからサルやイヌまでとそのサイズは大きく異なり、一つのUFだけで全ての実験動物からヒトへの外挿をカバーすることは不自然であるとの考え方が最近多く聞かれるようになった。一方、いずれの補正に関しても、この計算値はあくまでも実験動物とヒトとの違いの中央値を意味するもので、個々の医薬品または化学物質の値がどのくらいばらつくか、すなわち値がどの程度の分布を示すかという要素が含まれていない。実験動物とヒトとの毒性感受性の違いは正規分布ではなく、対数正規分布を示すと考えられている。近年、こ

の分布を考慮した評価法として確率論的アプローチが適用され、通常95%タイル値が採用されている。そこで、ここではcaloric demand補正による中央値と幾何標準偏差を求め、95%タイル値をUFとして採用したところ、ラットからヒトへでは約28、マウスからヒトでは約48、イヌからヒトでは約9.7となった。すなわち、ラットやマウスでは種差のUFが10より遙かに大きい値となった。

ヒトのばらつき(個体差)に関するUF 10の根拠は、490化学物質のラットでのLD₅₀をProbitグラフ上で解析して求めた試験結果(Weil, 1972)をDourson & Stara (1983)がとりまとめたものに基づいている。すなわち、それぞれの化学物質のProbit値5(50%の動物が死亡)の投与量に対して、Probit値が3.0減少(動物が全く死なない)する投与量の減少が1/10以内(対数としての横軸は1)に92%の化学物質が入ることを示した。そこで、個体差のUF 10は適切であるとされていた。しかし、リスクアセスメントにおけるヒトのばらつき(個体差)とは、正しくは反復投与におけるNOAELに関するばらつきで、実質的にはヒトの標準的集団のNOAELに対する高感受性集団のNOAELである。これに関しては、最近、Hasegawaら(2007)が、新生児ラットと若齢ラットの反復投与NOAEL比の5倍が94%に相当することを明らかとしており、この解析結果から、95%タイル値は5.1、中央値が約3、幾何標準偏差が1.38となった。

以上のように、UFの2主要素に関して従来の根拠となっていた情報だけではなく、新規のより適切な実データ情報があり、またこれらについては確率論的アプローチに必要な中央値と幾何標準偏差が求められていた。さらに、暴露期間が不十分な場合や、NOAELが求められていなかった場合に関しても、同

様に中央値と幾何標準偏差を求めることができた。

E. 結論

PFAC 及び PFAS 類の毒性情報の収集・整理を行った結果、ラットを用いた反復投与毒性試験において、貧血、肝臓、甲状腺及び腎臓等への影響が、さらに、ラットやマウスを用いた生殖発生毒性試験では、生存胎児数や児重量の低下、生後発達や性成熟の遅れなどが報告されており、これらの影響は炭素数の長い PFAC/PFAS 類で強い傾向が見られた。PFOA や PFOS 以外の PFAC/PFAS 類についての慢性毒性/発がん性試験の報告はなく、さらに、特に強い影響が懸念される炭素鎖の長い PFAC/PFAS 類については生殖機能や生後発達への影響を調べた報告もないため、さらなる研究や試験の実施が望まれる。

最新の安全性評価手法に関する研究では、新規 UF を提案するために、最も適切な実験的実データを用いて確率論的アプローチによる計算を実施した。その結果から、2 主要素(種差とヒトのばらつき)に対応する UF としては、各々の要素の中央値と幾何標準偏差値を用いた計算により、掛け合わせ後の分布の 95% タイル値を用いるのが適切であると考えられた。

F. 参考文献

Abdel-Rahman MS, Kadry AM (1995) Studies on the use of uncertainty factors in deriving RfDs. *Human Ecol Risk Assess*, **1**, 614-624.

Abbott BD, Wolf CJ, Schmid JE, Das KP, Zehr RD, Helfant L, Nakayama S, Lindstrom AB, Strynar MJ, Lau C. (2007) Perfluorooctanoic acid induced developmental toxicity in the mouse is dependent on expression of

peroxisome proliferator activated receptor-alpha. *Toxicol Sci*, **98**, 571-581.

Biegel LB, Hurtt ME, Frame SR, O'Connor JC, Cook JC. (2001) Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicol Sci*, **60**, 44-55.

Bjork JA, Butenhoff JL, Chang S, Wallace KB. (2008) Structure - Activity Relationships for Pefluorocarbon - mediated Transcriptional Response in Rat and Human Hepatocytes, 2008 SOT Annual Meeting Abstract, Abstract Number 789.

Bookstaff RC, Moore RW, Ingall GB, Peterson RE. (1990) Androgenic deficiency in male rats treated with perfluorodecanoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol*, **104**, 322-333.

Borges T, Peterson RE, Pitot HC, Robertson LW, Glauert HP. (1993) Effect of the peroxisome proliferator perfluorodecanoic acid on the promotion of two-stage hepatocarcinogenesis in rats. *Cancer Lett*, **72**, 111-120.

Butenhoff J, Lieder P. (2006) A Two-Generation Reproduction Study With Perfluorobutanesulfonate In Rats. 2006 SOT Annual Meeting Abstract, Abstract Number 1234.

Butenhoff J, Costa G, Elcombe C, Farrar D, Hansen K, Iwai H, Jung R, Kennedy G Jr, Lieder P, Olsen G, Thomford P. (2002) Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months. *Toxicol Sci*, **69**, 244-257.

Butenhoff JL, Kennedy GL Jr, Hinderliter PM, Lieder PH, Jung R, Hansen KJ, Gorman GS, Noker PE, Thomford PJ. (2004) Pharmacokinetics of perfluorooctanoate in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci*, **82**,

- 394-406.
- Chang SC, Das K, Ehresman DJ, Ellefson ME, Gorman GS, Hart JA, Noker PE, Tan YM, Lieder PH, Lau C, Olsen GW, Butenhoff JL. (2008) Comparative pharmacokinetics of perfluorobutyrate in rats, mice, monkeys, and humans and relevance to human exposure via drinking water. *Toxicol Sci*, **104**, 40-53.
- Das KP, Grey BE, Zehr RD, Wood CR, Butenhoff JL, Chang SC, Ehresman DJ, Tan YM, Lau C. (2008) Effects of perfluorobutyrate exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicol Sci*, **105**, 173-181.
- Dean WP, Jessup DC, Thompson G, Romig G, Powell D. (1978) Fluorad fluorochemical surfactant FC-95 acute oral toxicity (LD50) study in rats. Study No. 137-083. International Research and Development Corporation.
- Dourson ML, Stara JF (1983) Regulatory history and experimental support of uncertainty (safety) factors. *Regul Toxicol Pharmacol*, **3**, 224-238.
- Fang X, Zhang L, Feng Y, Zhao Y, Dai J. (2008) Immunotoxic effects of perfluorononanoic acid on BALB/c mice. *Toxicol Sci*, **105**, 312-321.
- Frame SR, McConnell EE. (2003) Review of proliferative lesions of the exocrine pancreas in two chronic feeding studies in rats with ammonium perfluorooctanoate. US EPA AR226-226-2811.
- Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE (1966) Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother Rep*, **50**, 219-244.
- George ME, Andersen ME. (1986) Toxic effects of nonadecafluoro-n-decanoic acid in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, **85**, 169-180.
- Gibson SJ, Johnson JD. (1979) Absorption of FC-143-14C in rats after a single oral dose. Riker Laboratories, Inc., Subsidiary of 3M, St. Paul, Minnesota.
- Grey BE, Ellis-Hutchings R, Das K, Rogers, JM, Lau C. (2008) Prenatal and Postnatal Effects in Rats of Perfluorononanoic Acid Exposure in Utero. *2008 SOT Annual Meeting Abstract*, Abstract Number 1534.
- Griffith FD, Long JE. (1980) Animal toxicity studies with ammonium perfluorooctanoate. *Am Ind Hyg Assoc J*, **41**, 576-583.
- Harris MW, Birnbaum LS. (1989a) Developmental toxicity of perfluorodecanoic acid in C57BL/6N mice. *Fundam Appl Toxicol*, **12**, 442-448.
- Harris MW, Uraih LC, Birnbaum LS. (1989b) Acute toxicity of perfluorodecanoic acid in C57BL/6 mice differs from 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol*, **13**, 723-736.
- Hasegawa R (1991) 68 ratio data of subchronic/chronic NOAELs, unpublished.
- Hasegawa R, Hirata-Koizumi M, Dourson M, Parker A, Hirose A, Nakai S, Kamata E, Ema M (2007) Pediatric Susceptibility to 18 Industrial Chemicals, A Comparative Analysis of Newborn with Young Animals. *Regul Toxicol Pharmacol*, **47**, 296-307.
- Himmelstein MW, Slezak BP, Buck RC, Korzeniowski SH, Decker E. (2008) Sodium Perfluorohexanoate Pharmacokinetics in Rats During and After 90 - Day Oral Gavage Administration. *2008 SOT Annual Meeting Abstract*, Abstract Number 956.
- Hundley SG, Sarrif AM, Kennedy GL. (2006)

- Absorption, distribution, and excretion of ammonium perfluorooctanoate (APFO) after oral administration to various species. *Drug Chem Toxicol*, **29**, 137-145.
- Ikeda T, Aiba K, Fukuda K, Tanaka M. (1985) The induction of peroxisome proliferation in rat liver by perfluorinated fatty acids, metabolically inert derivatives of fatty acids. *J Biochem*, **98**, 475-482.
- Jahnke, A. (2007) Polyfluorinated Alkyl Substances (PFAS) in the Marine Atmosphere - Investigations on their occurrence and distribution in coastal regions *GKSS-Forschungszentrum, Helmholtz-Gemeinschaft*, Available at http://dvsun3.gkss.de/BERICHTE/GKSS_Berichte_2007/GKSS_2007_8.pdf
- Johnson JD, Gibson SJ, Ober RE. (1979) Absorption of FC-95-14C in Rats after a Single Oral Dose. Riker Laboratories, Inc., US EPA AR226-0007.
- Kawashima Y, Kobayashi H, Miura H, Kozuka H. (1995) Characterization of hepatic responses of rat to administration of perfluorooctanoic and perfluorodecanoic acids at low levels. *Toxicology*, **99**, 169-178.
- Kemper RA. (2003) Perfluorooctanoic acid: Toxicokinetics in the rat. Submitted to US EPA Administrative Record 116. US EPA AR226-1499.
- Kennedy GL Jr, Hall GT, Brittelli MR, Barnes JR, Chen HC. (1986) Inhalation toxicity of ammonium perfluorooctanoate. *Food Chem Toxicol*, **24**, 1325-1329.
- Kennedy GL Jr. (1987) Increase in mouse liver weight following feeding of ammonium perfluorooctanoate and related fluorochemicals. *Toxicol Lett*, **39**, 295-300.
- Kinney LA, Chromey NC, Kennedy GL Jr. (1989) Acute inhalation toxicity of ammonium perfluorononanoate. *Food Chem Toxicol*, **27**, 465-468.
- Kodell RL, Gaylor DW (1999) Combining uncertainty factors in deriving human exposure levels of noncarcinogenic toxicants. *Ann N Y Acad Sci*, **895**, 188-195.
- Kozuka H, Watanabe T, Horie S, Yamada J, Suga T, Ikeda T. (1991a) Characteristics of peroxisome proliferation: co-induction of peroxisomal fatty acid oxidation-related enzymes with microsomal laurate hydroxylase. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **39**, 1267-1271.
- Kozuka H, Yamada J, Horie S, Watanabe T, Suga T, Ikeda T. (1991b) Characteristics of induction of peroxisomal fatty acid oxidation-related enzymes in rat liver by drugs. Relationships between structure and inducing activity. *Biochem Pharmacol*, **41**, 617-623.
- Kudo N, Bandai N, Suzuki E, Katakura M, Kawashima Y. (2000) Induction by perfluorinated fatty acids with different carbon chain length of peroxisomal beta-oxidation in the liver of rats. *Chem Biol Interact*, **124**, 119-132.
- Kudo N, Suzuki E, Katakura M, Ohmori K, Noshiro R, Kawashima Y. (2001) Comparison of the elimination between perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in rats. *Chem Biol Interact*, **134**, 203-216.
- Kudo N, Katakura M, Sato Y, Kawashima Y. (2002) Sex hormone-regulated renal transport of perfluorooctanoic acid. *Chem Biol Interact*, **139**, 301-316.
- Kudo N, Kawashima Y. (2003) Induction of

- triglyceride accumulation in the liver of rats by perfluorinated fatty acids with different carbon chain lengths: comparison with induction of peroxisomal beta-oxidation. *Biol Pharm Bull*, **26**, 47-51.
- Kudo N, Suzuki Nakajima E, Mitsumoto A, Kawashima Y. (2006) Responses of the liver to perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in male and female mice: in relation to induction of hepatomegaly, peroxisomal beta-oxidation and microsomal 1-acylglycerophosphocholine acyltransferase. *Biol Pharm Bull*, **29**, 1952-1957.
- Langley AE, Pilcher GD. (1985) Thyroid, bradycardic and hypothermic effects of perfluoro-n-decanoic acid in rats. *J Toxicol Environ Health*, **15**, 485-491.
- Lau C, Anitole K, Hodes C, Lai D, Pfahles Hutchens A, Seed J. (2007) Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol Sci*, **99**, 366-394.
- Lieder P. personal communication, cited in Olsen et al. (2009).
- Lieder PH, Chang SC, York RG, Butenhoff JL. (2009) Toxicological evaluation of potassium perfluorobutanesulfonate in a 90-day oral gavage study with Sprague-Dawley rats. *Toxicology*, **255**, 45-52.
- Mertens JJ, Sved DW, Marit GM, Myers NR, Stetson PL, Murphy SR, Schmit B, Shinohara M, Farr CH. (2007) Toxicity Study of S - 111 - S - WB with a 60 - Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats. *SOT 46th Annual Meeting Selected Abstracts*, Abstract Number 1511.
- Mundt DJ, Mundt KA, Luippold RS, Schmidt MD, Farr CH. (2007) Clinical epidemiological study of employees exposed to surfactant blend containing perfluorononanoic acid. *Occup Environ Med*, **64**, 589-594.
- National Technical Information Service OTS0555324, cited in RTECS.
- Nelson DL, Frazier DE Jr, Ericson JE, Tarr MJ, Mathes LE. (1992) The effects of perfluorodecanoic acid (PFDA) on humoral, cellular, and innate immunity in Fischer 344 rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, **14**, 925-938.
- Noker PE, Gorman GS. (2003a) A pharmacokinetic study of potassium perfluorooctanesulfonate in the cynomolgus monkey, U.S. EPA docket AR-226-1356. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, cited in Olsen et al. (2007).
- Noker PE, Gorman GS. (2003b) A pharmacokinetic study of potassium perfluorohexanesulfonate in the cynomolgus monkey. U.S. EPA docket AR-226-1361. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, cited in Olsen et al. (2007).
- NOTOX. (2007a) Final Report. Repeated dose 90-day oral toxicity study with MTDID 8391 by daily gavage in the rat, followed by a 3-week recovery, NOTOX Project 484492, Available at <http://www.health.state.mn.us/divs/eh/hazardous/90daypfbareport.pdf>
- NOTOX. (2007b) Final Report. Repeated dose 28-day oral toxicity study with MTDID-8391 by daily gavage in the rat, followed by a 21-day recovery. NOTOX Project 471443, Available at <http://www.health.state.mn.us/divs/eh/hazardous/28daymaintext.pdf>
- Ohmori K, Kudo N, Katayama K, Kawashima Y.

- (2003) Comparison of the toxicokinetics between perfluorocarboxylic acids with different carbon chain length. *Toxicology*, **184**, 135-140.
- Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, Zobel LR. (2007) Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect*, **115**, 1298-1305.
- Olsen GW, Chang SC, Noker PE, Gorman GS, Ehresman DJ, Lieder PH, Butenhoff JL. (2009) A comparison of the pharmacokinetics of perfluorobutanesulfonate (PFBS) in rats, monkeys, and humans. *Toxicology*, **256**, 65-74.
- Olson CT, Andersen ME. (1983) The acute toxicity of perfluorooctanoic and perfluorodecanoic acids in male rats and effects on tissue fatty acids. *Toxicol Appl Pharmacol*, **70**, 362-372.
- Perkins RG, Butenhoff JL, Kennedy GL Jr, Palazzolo MJ. (2004) 13-week dietary toxicity study of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in male rats. *Drug Chem Toxicol*, **27**, 361-378.
- Permadi H, Lundgren B, Andersson K, Sundberg C, DePierre JW. (1993) Effects of perfluoro fatty acids on peroxisome proliferation and mitochondrial size in mouse liver: dose and time factors and effect of chain length. *Xenobiotica*, **23**, 761-770.
- Pilcher GD, Langley AE. (1986) The effects of perfluoro-n-decanoic acid in the rat heart. *Toxicol Appl Pharmacol*, **85**, 389-397.
- Pilcher GD, Gutshall DM, Langley AE. (1987) The effects of perfluoro-n-decanoic acid (PFDA) on rat heart beta-receptors, adenylate cyclase, and fatty acid composition. *Toxicol Appl Pharmacol*, **90**, 198-205.
- Rogers AM, Andersen ME, Back KC. (1982) Mutagenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and perfluoro-n-decanoic acid in L5178Y mouse-lymphoma cells. *Mutat Res*, **105**, 445-449.
- Rusch GM, Rinehart WE, Bozak CA. (1979) An acute inhalation toxicity study of T-2306 CoC in the rat. Project No. 78-7185. Bio/dynamics Inc.
- Seacat AM, Thomford PJ, Hansen KJ, Olsen GW, Case MT, Butenhoff JL. (2002) Subchronic toxicity studies on perfluorooctanesulfonate potassium salt in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci*, **68**, 249-264.
- Seacat AM, Thomford PJ, Hansen KJ, Clemens LA, Eldridge SR, Elcombe CR, Butenhoff JL. (2003) Sub-chronic dietary toxicity of potassium perfluorooctanesulfonate in rats. *Toxicology*, **183**, 117-131.
- Shi Z, Zhang H, Liu Y, Xu M, Dai J. (2007) Alterations in gene expression and testosterone synthesis in the testes of male rats exposed to perfluorododecanoic acid. *Toxicol Sci*, **98**, 206-215.
- Sibinski LJ. (1987) Final report of a two year oral (diet) toxicity and carcinogenicity study of fluorochemical FC-143 (perfluorooctane ammonium carboxylate) in rats. Vol.1-4, 3M Company/RIKER Exp. No.0281CR0012; 8EHQ-1087-0394. US EPA AR226-0437, AR226-0438, AR226-0439, AR226-0440.
- Slezak BP, Serex TL, Loveless SE, Buck RC, Korzeniowski SH. (2008) Sodium

- perfluorohexanoate: oral repeated dose subchronic, one - generation reproduction, genotoxicity, and developmental toxicology 2008 SOT Annual Meeting Abstract, Abstract Number 1163.
- Schneider K, Oltmanns J, Hassauer M (2004) Allometric principles for interspecies extrapolation in toxicological risk assessment--empirical investigations. *Regul Toxicol Pharmacol*, **39**, 334-347.
- Stump DG, Holson JF, Murphy SR, Farr CH, Schmit B, Shinohara M. (2008) An oral two-generation reproductive toxicity study of S-111-S-WB in rats. *Reprod Toxicol*, **25**, 7-20.
- Thomford PJ. (2002) 104-week dietary chronic toxicity and carcinogenicity study with perfluorooctane sulfonic acid potassium salt (PFOS; T-6295) in rats. Covance study No. 6329-183. Covance Laboratories Inc. US EPA AR226-1070a, AR226-0956.
- Van Rafelghem MJ, Inhorn SL, Peterson RE. (1987a) Effects of perfluorodecanoic acid on thyroid status in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, **87**, 430-439.
- Van Rafelghem MJ, Mattie DR, Bruner RH, Andersen ME. (1987b) Pathological and hepatic ultrastructural effects of a single dose of perfluoro-n-decanoic acid in the rat, hamster, mouse, and guinea pig. *Fundam Appl Toxicol*, **9**, 522-540.
- Vanden Heuvel JP, Kuslikis BI, Van Rafelghem MJ, Peterson RE. (1991a) Disposition of perfluorodecanoic acid in male and female rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, **107**, 450-459.
- Vanden Heuvel JP, Kuslikis BI, Van Rafelghem MJ, Peterson RE. (1991b) Tissue distribution, metabolism, and elimination of perfluorooctanoic acid in male and female rats. *J Biochem Toxicol*, **6**, 83-92.
- Weil CS (1972) Statistics vs safety factors and scientific judgment in the evaluation of safety for man. *Toxicol Appl Pharmacol*, **21**, 454-463.
- Weil CS, McCollister DD (1963) Safety evaluation of chemicals: Relationship between short- and long-term feeding studies in resigning an effective toxicity test. *Agr Food Chem*, **11**, 486-491.
- Wolf CJ, Takacs ML, Schmid JE, Lau C, Abbott BD. (2008) Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptor alpha by perfluoroalkyl acids of different functional groups and chain lengths. *Toxicol Sci*, **106**, 162-171.
- Yang Q, Xie Y, Alexson SE, Nelson BD, DePierre JW. (2002) Involvement of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha in the immunomodulation caused by peroxisome proliferators in mice. *Biochem Pharmacol*, **63**, 1893-1900.
- Ylinen M, Auriola S. (1990) Tissue distribution and elimination of perfluorodecanoic acid in the rat after single intraperitoneal administration. *Pharmacol Toxicol*, **66**, 45-48.
- Zhang H, Shi Z, Liu Y, Wei Y, Dai J. (2008) Lipid homeostasis and oxidative stress in the liver of male rats exposed to perfluorododecanoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol*, **227**, 16-25.

G. 研究発表

1. 論文発表

- Ema, M., Fujii, S., Hirata-Koizumi, M., and Matsumoto, M. (2008). Two-generation reproductive toxicity study of the flame

- retardant hexabromocyclododecane in rats. *Reprod Toxicol* **25**, 335-351.
- Ema, M., Fukunishi, K., Hirose, A., Hirata-Koizumi, M., Matsumoto, M., and Kamata, E. (2008). Repeated-dose and reproductive toxicity of the ultraviolet absorber 2-(3',5'-di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in rats. *Drug Chem Toxicol* **31**, 399-412.
- Ema, M., Fukunishi, K., jii, S., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., and Ihara, T. Developmental toxicity of dibutyltin dichloride given on three consecutive days during organogenesis in cynomolgus monkeys. *Drug Chem Toxicol* in press.
- Harada, T., Kimura, E., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., Kamata, E., and Ema, M. (2008). Reproductive and developmental toxicity screening study of 4-aminophenol in rats. *Drug Chem Toxicol* **31**, 473-486.
- Hirata-Koizumi, M., Matsuyama, T., Imai, T., Hirose, A., Kamata, E., and Ema, M. (2008). Gender-related difference in the toxicity of ultraviolet absorber 2-(3',5'-di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in rats. *Drug Chem Toxicol* **31**, 383-398.
- Hirata-Koizumi, M., Matsuyama, T., Imai, T., Hirose, A., Kamata, E., and Ema, M. (2008). Lack of gender-related difference in the toxicity of 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole in preweaning rats. *Drug Chem Toxicol* **31**, 275-287.
- Hirata-Koizumi, M., Matsuno, K., Kawabata, M., Yajima, K., Matsuyama, T., Hirose, A., Kamata, E., and Ema, M. Gender-related difference in the toxicity of 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole in rats: relationship to the plasma Concentration, in vitro hepatic metabolism and effects on hepatic metabolizing enzyme activity. *Drug Chem Toxicol* in press.
- Matsumoto, M., Hirose, A., and Ema, M. (2008) Review of testicular toxicity of dinitrophenolic compounds, 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol, 4,6-dinitro-o-cresol and 2,4-dinitrophenol. *Reprod Toxicol* **26**, 185-190.
- Takahashi, M., Sunaga, M., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., Kamata, E., and Ema, M. Reproductive and developmental toxicity screening study of 2,4-dinitrophenol in rats. *Environ Toxicol* in press.
- 高橋美加、松本真理子、宮地繁樹、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬眞 (2008) OECD化学物質対策の動向 (第14報) - 第23回、第24回OECD高生産量化学物質初期評価会議 (2006年济州、2007年パリ)、化学生物総合管理, 4, 225-236.
- 松本真理子、宮地繁樹、菅谷芳雄、江馬眞、広瀬明彦 (2009) OECD高生産量化学物質点検プログラム : 第26回初期評価会議概要、化学生物総合管理, 4, 237-245.

2. 学会発表

- Hasegawa, R., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A. Proposal of new uncertainty factor application to derive tolerable daily intake. The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (October 2008, Rhodes, Greece).
- Hirose, A., Ishiwa, S., Ciloy, J. M., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Kamata, E., Ono, A., Ema, M., and Hayashi, M. Development of in silico hepatotoxicity predicting system on sub-acute

repeated dose toxicity test for industrial chemicals. The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (October 2008, Rhodes, Greece).

Hirose, A., Schlueter, T., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Kamata, E., Kremoser, C., and Ema, M. Modulation of Nuclear Receptor Cofactor Recruitment by Tributyltin and Dibutyltin in Gal4 Assays. Dioxin2008 (August 2008, Birmingham, UK).

Hirata-Koizumi, M., Noda, A., Hirose, A., Kamata, E., and Ema, M. Screening study for reproductive and developmental toxicity of tetrahydrofurfuryl alcohol in rats. The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (October 2008, Rhodes, Greece).

Nishimura, T., Shimizu, K., Kubota, R., Tahara, M., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A. Biological effects of fullerene (C60) exposed using liposome in HepG2 cells. The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (October 2008, Rhodes, Greece).

平田睦子, 離乳前ラットにおける紫外線吸収剤2-(2'-hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazolの毒性影響. 第48回日本先天異常学会学術集会 (2008年6月, 東京).

平田睦子, 松野喜代美, 川端光彦, 矢島加奈子, 松山隆史, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬眞, 2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole (HDBB)の毒性 —血中濃度及び肝薬物代謝酵素活性に対する影響. 第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008年6月, 東京).

平田睦子, 野田篤, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬眞, Tetrahydrofurfuryl alcoholの簡易生殖毒性試験. 第48回日本先天異常学会学術集会 (2008年6月, 東京).

緒方英博, 平田睦子, 今井俊夫, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬眞, 2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole (HDBB)の52週間反復投与毒性試験. 第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008年6月, 東京).

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし