

令和 4-5 年度厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業)
分担研究報告書

水道水及び原水における化学物質等の実態を踏まえた水質管理の向上に資する研究
ーリスク評価管理ー

研究代表者	松井 佳彦	北海道大学大学院工学研究院
研究分担者	広瀬 明彦	一般財団法人化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所・技術顧問
研究分担者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 3 室長
研究協力者	鈴木 俊也	東京都健康安全研究センター・薬事環境科学部 医薬品研究科長
研究協力者	西村 哲治	帝京平成大学・薬学部・薬学研究科
研究協力者	小林 憲弘	国立医薬品食品衛生研究所・生活衛生化学部・第 3 室長
研究協力者	井上 薫	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室長
研究協力者	山田 隆志	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 4 室長
研究協力者	小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・客員研究員
研究協力者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・客員研究員
研究協力者	山口 治子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・協力研究員
研究協力者	馬野 高昭	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 3 室
研究協力者	磯 貴子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 3 室
研究協力者	重田 善之	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 3 室
研究協力者	村田 康允	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 3 室
研究協力者	広瀬 望	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 3 室
研究協力者	川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 4 室
研究協力者	赤堀有美	一般財団法人化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所
研究協力者	福島麻子	一般財団法人化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所
研究協力者	城島光司	一般財団法人化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所

研究要旨

本研究は、浄水中に混入し得る化学物質を適切に管理するための評価手法を検討することを目的とし、1.PFOA 及び PFOS を含む PFAS 化合物類の国際的な評価機関における評価状況を把握、2.WHO ガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理を行った。

まず、PFOA 及び PFOS を含む PFAS 化合物類の国際的な評価機関における評価状況を把握として、初年度は、先行して規制が進んでいる欧州の飲料水指令で管理されることとなっている 20 種の PFAS 化合物類のうち、国内で要検討項目として目標値が設定されている PFOS と PFOA 以外の 18 化合物についての情報収集整理を行った。健康影響評価値の設定に必要な体内動態、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、発がん性に係る情報が得られたのは 18 物質中 11 物質であった。スルホン酸化合物よりもカルボン酸化合物に関する情報の方が多く得られた。そのうち NOAEL (LOAEL) 等の毒性の用量相関性に関するデータが得られたのは 9 物質であった。どの化合物も反復投与毒性も生殖発生毒性も同様のレベルで毒性が発現しており、カルボン酸化合物については、炭素数が 8 未満の PFAS 化合物よりも 9 以上 (11 まで) の PFAS 化合物でより低用量で毒性が発現している傾向が認められた。次年度、2022 年に欧州の水枠組み指令の改定案にリストされた PFAS24 物質のうち、初年度の調査 (欧州飲料水指令) で対象とならなかった 8 化合物と国内で検出例が知られている 2 化合物 (4:2FTS、6:2FTS) について、体内動態、反復投与毒性、生殖発生毒性、発がん性 (遺伝毒性を含む) に関する毒性情報収集を行った。健康影響評価値の設定に必要な体内動態、反復投

与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、発がん性に係る NOAEL などの定量的情報が得られたのは 10 物質中 8 物質であった。ほとんどの化合物で共通して肝臓への影響が報告されており、NOAEL の根拠となっていた。HFPO-DA(GEN-X)の NOAEL は最も低く 0.1 mg/kg/day であったが、その他の物質の NOAEL は 1–45 mg/kg/day の範囲と考えられた。炭素数が 14 以上のカルボン酸類は、炭素数が多くなるに従い毒性は弱くなる方向であった。

一方、WHO ガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理としては、トリクロロエチレン (TCE) およびテトラクロロエチレン (別名: パークロロエチレン、PCE) の毒性情報の整理と評価手法の情報を整理した。TCE の複数の影響によって裏付けられた全体的な TDI は、0.0005 mg/kg bw/day (0.5 µg/kg bw/day) が適切であると考えられ、WHO は本 TDI に体重 60 kg 及び飲水量 2 L 及び寄与率 50% を適用して、水道水の基準値として 8 µg/L という値を定めた。WHO (2020) の新しい TDI (0.5 µg/kg/day) を用いて、日本の現行の基準値算出に使用した曝露量 (5 L) と寄与率 (70%) を代入すると基準値は 0.004 mg/L (4 µg/L) と試算され、現行の基準値 (0.01 mg/L = 10 µg/L) の半分以下の値と算出された。最近の水道水質データからは 99.9% 以上の地点で 0.005 µg/L を下回っており、現状の曝露がすぐに懸念のある状態であるとは考えられないが、TCE は代表的な地下汚染物質であり、過去に地下水を原水としている地域等において、特異的に高濃度で検出された事例もある。これらの曝露に関する情報と WHO の新しい TDI の情報に鑑み、日本における基準値の再検討に向けた取り組みを行うことが必要であると考えられた。PCE の発がん性毒性の TDI および非発がん性毒性の TDI の包括的な TDI は、神経毒性を根拠に設定した 0.016 mg/kg/day であった。WHO は、本 TDI に体重 60 kg 及び飲水量 2 L 及び寄与率 20% を適用して、水道水の基準値として 100 µg/L に定めた。一方、日本の基準値は 1992 年に設定された 0.01 mg/L 以下であり、より保守的な値が維持されている。WHO では、PCE の発がん性を閾値のある毒性とし、また生理学的薬物速度論 (Physiologically based pharmacokinetic: PBPK) モデルを用いた曝露量のシミュレーション等の評価手法を基準値設定に取り入れていたことから、これら新しい毒性情報および評価手法を鑑みて、水質基準等の改正の必要性の有無を検討する必要があると考えられた。

A. 研究目的

水道水の水質管理を定量的に行うために必要な水質基準や要検討項目の目標値等について、最新の知見を用い水質基準の逐次改正の検討が行われているが、基準値の改訂や候補の選定のためには、国内の曝露情報にくわえて国際的に関心の高い水質汚染物質等の安全性評価情報の収集を継続的に行っておく必要がある。昨今国内でも関心の高い PFOS や PFOA などの、ペルフルオロアルキル化合物及びポリフルオロアルキル化合物の総称である PFAS 化合物に関しては、欧米では PFOS や PFOA 以外の PFAS 類の規制も進んでいる。欧州では 2021 年から飲料水中の PFOA 及び PFOS を含む 20 種類の化合物についてモニタリングを行い水質管理と規制を開始している。我が国における PFOS や PFOA 以外の水源や飲料水中の検出実態は、未だ明らかではないが、欧米で検出の可能性

や規制を検討している PFAS 類の規制類についての毒性情報を収集しておくことは、今後の水質リスク管理の即応体制に対して必要と考えられる。一方、WHO における飲料水の水質ガイドラインも最新の安全性情報に基づいた逐次改正方式を採用しており、最新版の WHO ガイドラインではいくつかの物質についての健康影響評価値のアップデートが行われている。それに伴い、我が国で既に運用している水質基準等の設定根拠となった毒性情報とは異なった評価を WHO が採用することになる可能性があり、既にいくつかの物質について健康影響評価値や水質基準値が国内の値と異なっている物質があり、国内の水質基準等の改正の必要性の有無を検討する必要がある。

そこで、本研究では、以下の観点に関して情報収集とリスク評価に資するための毒性情報の整理を行うことを目標とする。

- PFAS 化合物類の国際的な評価機関における評価状況を把握
- WHO ガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理

B. 研究方法

1.PFOS/PFOA 以外の毒性情報について欧州で規制されている毒性の情報収集整理

1.1 欧州の飲料水中の PFAS としてモニタリングすることが指定されている物質のうち、PFOS および PFOA を除く化合物 (18PFAS)

欧州の飲料水中の PFAS としてモニタリングすることが指定されている物質のうち、PFOS および PFOA を除く以下の 18PFAS 化合物について、体内動態、反復投与による一般毒性、生殖発生毒性、発がん性(遺伝毒性を含む)に関する毒性情報を収集した。情報源としては、評価資料等がある物質は、政府向け GHS 分類ガイダンス(令和元年度改訂版(Ver2.0))の健康有害性分類ガイダンスに List1 として掲載された情報源を評価文書等の調査を行い、評価資料等が無い物質については学術論文データベースによる検索を行った。

Perfluorobutanesulfonicacid	PFBS
Perfluoropentanesulfonicacid	PFPeS
Perfluorohexanesulfonicacid	PFHxS
Perfluoroheptanesulfonicacid	PFHpS
Perfluorononanesulfonicacid	PFNS
Perfluorodecanesulfonicacid	PFDS
Perfluoroundecanesulfonicacid	PFUnDS
Perfluorododecanesulfonicacid	PFDoDS
Perfluorotridecanesulfonicacid	PFTTrDS
Perfluorobutanoicacid	PFBA
Perfluoropentanoicacid	PFPeA
Perfluorohexanoicacid	PFHxA
Perfluoroheptanoicacid	PFHpA
Perfluorononanoicacid	PFNA
Perfluorodecanoicacid	PFDA
Perfluoroundecanoicacid	PFUnDA
Perfluorododecanoicacid	PFDoDA
Perfluorotridecanoicacid	PFTTrDA

1.2 欧州の飲料水中の PFAS としてモニタリングすることが指定されている物質中(8 化合物)および国内で検出された 2 化合物

2022 年に欧州の水枠組み指令の改定案にリ

ストされた PFAS 類の 24 物質のうち、PFOS、PFOA、並びに昨年度の調査(飲料水指令)対象を除く PFAS 類の 8 化合物について、体内動態、反復投与による一般毒性、生殖発生毒性、発がん性(遺伝毒性を含む)に関する毒性情報を収集した。さらに、上記のリスト以外で Web 等で国内の水環境等で検出が報告されている 2 物質(4:2FTS、6:2FTS(表 1 参照))についての毒性情報の収集を行った。情報源としては、評価資料等がある物質は、政府向け GHS 分類ガイダンス(令和元年度改訂版(Ver2.0))の健康有害性分類ガイダンスに List1 として掲載された情報源について評価文書等の調査を行い、評価資料等が無い物質については学術論文データベースによる検索を行った。調査対象としたのは以下に示した物質である。

- ① Perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA)
- ② Perfluorohexadecanoic acid (PFHxDA)
- ③ Perfluorooctadecanoic acid (PFODA)
- ④ 4,8-Dioxa-3H-perfluorononanoic acid (ADONA)
- ⑤ Hexafluoropropylene oxide dimer acid (HFPO-DA (GenX))
- ⑥ Difluoro {[2,2,4,5-tetrafluoro-5-(trifluoromethoxy)-1,3-dioxolan-4-yl]oxy}acetic acid (C6O4)
- ⑦ 2-Perfluorohexyl ethanol (6:2-FTOH)
- ⑧ 2-Perfluorooctyl ethanol (8:2-FTOH)
- ⑨ 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorohexane sulfonic acid (4:2FTS)
- ⑩ 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorooctane sulfonic acid (6:2FTS)

2.WHO ガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理

2-1. トリクロロエチレン(TCE)の毒性情報の整理と評価手法の情報整理

近年の WHO ガイドライン改定の状況を調査した結果、トリクロロエチレン(TCE)の基準値が日本の現行の基準値より低い事が分かったため、初年度は TCE の毒性情報の整理と WHO の評価手法の整理を行った。

2-2.テトラクロロエチレン(PCE)の毒性情報の収集及び最新評価の概要

WHO ガイドライン改定(2020)により、テトラクロロエチレン(PCE)のガイドライン値(GV)が

0.04 mg/L から 100 mg/L へと変更された。今年度は、PCE について WHO の評価の概要を整理した。

C. 研究結果及び考察

1.PFOS/PFOA 以外の毒性情報について欧州で規制されている毒性の情報収集整理

1.1 欧州の飲料水中の PFAS としてモニタリングすることが指定されている物質のうち、PFOS および PFOA を除く化合物(18PFAS)

調査の結果、18PFAS 化合物のうち 7 化合物 (PFPeS、PFHpS、PFNS、PFDS、PFUnDS、PFDoDS、PFTrDS) についての健康影響評価値の設定に必要な体内動態、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、発がん性に係る情報は得られず、11 化合物についての毒性情報を整理した。

Perfluorobutanesulfonic acid (PFBS)

体内動態

カニクイザル(雌雄各 3 匹/群)に PFBS カリウム塩 10 mg/kg を単回静脈内投与した。血清中濃度には性差はなかった。投与後 2 時間の血清中濃度は 19,628~61,740 ng/mL で、投与 48 時間後は 463~8,172 ng/mL であった。試験終了時(31 日目)には血清中に PFBS は検出されなかった。投与後 24 時間以内に尿中に PFBS が約 34% から 87% 回収された。(Southern Research Institute, 2001)。

反復投与毒性

SD ラットに PFBS 47、162、459 ppm の蒸気を 6 時間/日、5 日/週、4 週間の全身吸入曝露試験(OECDTG412)で、曝露直後に取扱い時の発声及び興奮、つま先歩行及び活動亢進が観察されたが一過性であった。血液学的又は血液化学的パラメータ、気道の病理組織学的検査に投与に関連した影響は認められなかった(Primedica Redfield, 2001)。

SD ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験(OECD407)において、PFBS カリウム塩 0、100、300、900 mg/kg/day (1%CMC 溶液)を強制経口投与した。900 mg/kg/day 群で、雄の肝臓の絶対重量と相対重量と雌の腎臓絶対及び相対重量の有意な増加が観察された。病理組織学的所見は認められていない。NOAEL は雌雄ともに 300 mg/kg/day とした(Primedica Redfield(2001))。

SD ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験(OECDTG408)において PFBS カリウム塩を 0、60、200、600 mg/kg/day で強制経口投与した。死亡率、体重および神経行動学的に影響は認められていない。赤血球数、ヘモグロビン値およびヘマトクリット値は、200 および 600 mg/kg/day 投与群の雄で減少した。600 mg/kg/day 群の雌では、総タンパクおよびアルブミンが低かった。600 mg/kg/day の雌雄で前胃の境界線における扁平上皮細胞の壊死発生率の増加が認められたが、PFBS カリウム塩の経口投与に起因する直接刺激によると考えられた。また、腎臓では髄質、乳頭管、髄質の内層の管の上皮細胞の軽微から軽度の過形成が観察されたが、腎重量および腎機能に関連する血液化学的パラメータは変化しなかった。腎過形成の発現率の増加に基づき NOAEL は 200 mg/kg/day とした(Lieder et al.(2009a))。なお、IMAP の評価では同様の試験において、雄ラットでの 200 および 600 mg/kg/day で赤血球、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリットの減少から NOAEL を 60 mg/kg/day とし、雌ラットの NOAEL は総蛋白質とアルブミン値の減少に基づき 600 mg/kg/day としている(IMAP2019)。

SD ラットに PFBS のカリウム塩 0、30、100、300、1,000 mg/kg/day を強制経口投与した 2 世代生殖試験(OECDTG416)を行った。F1 の児には離乳時から同様の用量を投与、F2 の児には直接投与しなかったが、胎盤経路および授乳を介した曝露の可能性がある。親世代(P)及び F1 の NOAEL は 100 mg/kg/day であった。300 および 1,000 mg/kg/day のラットで肝重量の増加(絶対または相対)および雄の肝細胞肥大の増加および腎臓の髄質および乳頭における病理所見の増加(雌雄)が認められた(Lieder et al.(2009b))。

生殖発生毒性

OECD ガイドライン 416 に準拠したラットを用いた PFBS の 2 世代生殖試験が行われた。SD ラットに、PFBS カリウム塩を 0、30、100、300、1,000 mg/kg/day の用量で、交配前の 10 週間および交配期間中に強制経口投与した。F2 世代への直接の投与はなく、子宮内および授乳中の潜在的ばく露のみであった。生殖毒性関連エンドポイントに投与に関連した所見は認められなかった。また、投与に関連した発達上の影響はみられなかった。生殖および発生への影響の NOAEL は、試験の最高用量である 1,000

mg/kg/day であった(Lieder et al. 2009b)。

PFBS のラット 28 日間試験で、最高用量の 1,000 mg/kg まで、精子パラメータ、テストステロンレベル、発情周期に影響はみられなかった(NTP, 2019)。

妊娠雌 ICR マウス(30 匹/群)に PFBS を 0、50、200、500 mg/kg/day の用量で、GD1 から GD20 まで経口投与した試験が行われた。PFBS ばく露により、200 mg/kg/day 以上で児動物の用量依存的な体重の減少、眼瞼開裂の遅延、膈開口の遅延、初回発情期生起の遅延、発情休止期の延長が生じた。これらは血清中のエストラジオールプロゲステロンレベルの低下、及び LH レベルの上昇と一致していた。また卵巣の絶対及び相対重量、卵胞数、さらに子宮の絶対及び相対重量が減少していた。また、児動物の T3 及び T4 レベルの低下が観察されたが、TSH の増加は PND30 でのみみられた。GD20 の妊娠動物では、200 mg/kg/day 以上で T3 と T4 レベルの低下及び TSH レベルの上昇がみられたが、エストラジオールとプロゲステロンの血清レベルに変化はなかった。発生影響の NOAEL は 50 mg/kg/day であった(Feng et al.2017)。

妊娠 CD ラットに PFBS を 0、100、300、1,000、2,000 mg/kg/day の用量で、GD6~20 に強制経口投与し、GD21 に検査を行った(York,2003b)。投与期間中の死亡はなく、臨床所見は 2,000 mg/kg/day 群の 4 匹における腹部の尿汚染のみであった。2,000 mg/kg/day 群で、GD6~9 における体重減少、子宮重量の減少がみられた。胎児の死亡や後期吸収はなく、また全胚吸収の母動物もなかった。すべての胎盤の外観は正常であった。胎児の肉眼的変化は確認されなかった。対照群と比較して、2,000 mg/kg/day 群では、雌雄胎児体重が減少した。その他のパラメータに PFBS 投与に関連した影響はなかった(York,RG.2003a)

妊娠 CD(SD)ラットに PFBS を 0、100、300、1,000 mg/kg/day の用量で強制経口投与による出生前発生毒性試験(OECD414 及び OPPTS870.3700 準拠)が実施された。投与関連と考えられる死亡例、臨床所見、剖検所見はなかった。1,000 mg/kg/day 群で有意な体重の低値及び体重増加抑制がみられた。胎児の体重が 1,000 mg/kg/day 投与群で有意に減少した(8~9%)。投与関連と考えられる軟組織外観変化や骨格の奇形又は変異はなかった。母動物の NOAEL は、体重増加抑制と摂餌量低下に基づ

き、300 mg/kg/day であった。発生毒性については、1,000 mg/kg/day 群で胎児体重の低値がみられたが対照群に対して 10%未満であり、母動物毒性に関連している可能性が極めて高いため、NOAEL はまた 1,000 mg/kg/day とされた(York,2002)。

遺伝毒性

In vitro

サルモネラ菌を用いた復帰突然変異試験で、TA98 で equivocal と判断されたが、TA100 では陰性であった。また、E.coliWP2uvrA でも変異原性はみられなかった(NTP,2019)。HepG2 細胞を用いたコメットアッセイで一本鎖切断(SSB)の誘導は認められなかった(Eriksen et al.2010)

In vivo

PFBS(62.6~500 mg/kg/day)を 28 日間投与した雌雄ラットの末梢血に小核の増加は認められなかった(NTP,2019)。

Perfluorohexanesulfonic acid (PFHxS)

体内動態

ラットに PFHxS 10 mg/kg を単回静脈内投与又は単回経口投与したところ、PFHxS はほぼ完全に吸収され、雌でより急速であった(Tmax は雄で 1.37 時間、雌で 3.11 日)。PFHxS 投与後の組織中濃度は肝臓と腎臓で最も高かった(Kim et al., 2016b)。Huang らによる報告では、ラットに PFHxS を単回静脈内投与または単回経口投与した結果、PFHxS 濃度は雌雄ともに肝臓で最も高く、腎臓では肝臓の 3 分の 1 から同程度、脳では肝臓の 40 分の 1 であった(Huang et al., 2019)。

ラットに PFHxS カリウム塩を 1、10、100 mg/kg で単回経口投与し 96 時間後の血清及び肝臓中の濃度は雄より雌で著しく低く、1 mg/kg 投与群の雄では投与量の約 18%(血清)、31%(肝臓)、雌では投与量の約 7%(血清)、2%(肝臓)であった(Sundstrom et al.,2012)。この研究の追加試験としてマウスに PFHxS カリウム塩 1、20 mg/kg を単回経口投与し 23 週間観察した結果、PFHxS 濃度は性別、投与量、サンプリング時期に関係なく血清中で最も高く、次いで肝臓、腎臓の順で検出された(Sundstrom et al.,2012)

トランスポーターとの結合について、ラット及びヒト肝細胞への PFBS、PFHxS、PFOS の取り込みが、類洞に接する肝細胞膜で発現する胆汁酸塩輸送体である Na+/タウロコール酸共輸送ポリペプチド(Ntcp)を介したナトリウム依存性メ

カニズムによって媒介されることが示されている (Zhao et al., 2015)。さらに肝細胞及び腸細胞で発現する有機アニオン輸送(OAT)ポリペプチド OATP1A1、OATP1A5、OATP1B2、OATP2B1 が PFBS、PFHxS、PFOS を輸送できることが報告されている (Zhao et al., 2017)。

PFHxS をラットに 1、10、100 mg/kg で単回経口投与したところ 96 時間以内に、雌では投与量のそれぞれ 35%、28%、41%、雄では 1、10 mg/kg 投与群で投与量の約 67%、100 mg/kg 投与群で与量の 30% が尿中排泄された。糞中排泄は用量や性別に関係なく限定的 (投与量の <1%) であったと報告されている (Sundstrom et al., 2012)。

ラット、マウス、サルにおいて血中半減期が報告されている。ラットへの PFHxS カリウム塩 10 mg/kg 単回静脈内投与では雄: 29.1 日、雌: 1.64 日 (Sundstrom et al., 2012) PFHxS カリウム塩 4、16、32 mg/kg の単回経口投与では雄: 15~18 日、雌: 2 日 (Huang et al., 2019)、マウスへの PFHxS カリウム塩 1、20 mg/kg の単回経口投与では雄: 28~31 日、雌: 25~27 日 (Sundstrom et al., 2012)、サルへの PFHxS カリウム塩 10 mg/kg の単回静脈内投与では雄: 87 日、雌: 114 日 (Sundstrom et al., 2012) であった。ヒトの知見としての退職したフッ素化物製造工場の作業員 26 名の血中半減期は平均 7.3 年 (幾何平均 8.5 年) (Olsen et al., 2017)、過去に PFAS で汚染された飲料水に曝露された集団 106 名で半減期は 5.3 年 (Li et al., 2018) という報告がある。

反復投与毒性

SD ラットに PFHxS を 0.3、1、3、10 mg/kg/day で投与した反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422 準拠) が行われた。0.3 mg/kg/day 以上の雄でプロトロンビン時間の延長 (ただし 1 mg/kg/day では有意差なし)、1 mg/kg/day 以上の雄でヘモグロビンの減少、3 mg/kg/day 以上で赤血球数及びヘマトクリット値の減少がみられた。10 mg/kg/day の雄でアルブミン、A/G 比、ALP、BUN の増加がみられた。3 mg/kg/day 以上の雄で肝重量増加がみられ、病理組織学的検査では 3 mg/kg/day 以上の雄で小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺濾胞細胞の肥大及び過形成がみられた。FOB または自発運動量に影響はなく、精子パラメータにも影響はみられなかった (Butenhoff et al., 2009)。

CD-1 マウスに PFHxS を 0.3、1、3 mg/kg/day

で投与した反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422 をベースに一部改変) が行われた。PFHxS の血清半減期に性差がなく、PFOS と同等の血清半減期を示す動物種として CD-1 マウスが用いられている。0.3 mg/kg/day 以上の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞質のすり硝子様変化が、1 mg/kg/day 以上の雌雄で肝重量増加が、3 mg/kg/day の雄で肝臓における脂肪滴、単細胞壊死、血清コレステロール減少、総ビリルビン減少、ALP 増加が、雌で肝細胞の空胞化がみられた (Chang et al. 2018)。

SD ラットに PFHxS カリウム塩を雄 0.625、1.25、2.5、5、10 mg/kg/day、雌 3.12、6.25、12.5、25、50 mg/kg/day の用量で 28 日間反復強制経口投与毒性試験が行われた。雌の投与量は雄の 5 倍高いものの、血漿中濃度は雄の約半分であり、 $\mu\text{M}/\text{mmol}/\text{kg}/\text{day}$ に補正すると雄の血漿中濃度は雌より 9~10 倍高かった。雄 1.25 mg/kg/day 以上、雌 3.12 mg/kg/day 以上で肝絶対及び相対重量の増加がみられた。雄 1.25 mg/kg/day 以上の投与群で赤血球数の減少が、雄 1.25 mg/kg/day 以上でコレステロールの減少、雄 2.5 mg/kg/day 以上でトリグリセリドの減少、雄 10 mg/kg/day でグロブリンの減少及び A/G 比の増加がみられた。甲状腺ホルモンの測定では、雄は 1.25 mg/kg/day 以上で遊離 T4、T4、T3 の減少が、雌は 6.25 mg/kg/day 以上で T4、12.5 mg/kg/day 以上で遊離 T4 の減少がみられた。肝酵素の測定では、雄は 2.5 mg/kg/day 以上で Cyp4a1、Cyp2b1、Cyp2b2 発現の増加、5 mg/kg/day 以上で Acyl-CoA オキシダーゼ活性及び Acox1 発現の増加が、雌は 3.12 mg/kg/day 以上で Cyp2b1、Cyp2b2 発現の増加がみられ、雄でみられた変化は PPAR α 及び CAR 活性の増加を示している。雄 2.5 mg/kg/day 以上で肝細胞肥大、雌 50 mg/kg/day で嗅上皮の変性及び過形成、嗅上皮の化膿性炎症がみられた。なお、精子パラメータ、テストステロンレベル、発情周期への影響はみられなかった (NTP, 2019)

生殖発生毒性

CD-1 マウスに PFHxS を 0.3、1、3 mg/kg/day の用量で投与した反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422 をベースに一部改変 (生後 36 日まで観察期間を延長)) において、親動物 (F0) では生殖発生毒性パラメータに関して投与に関連した影響はみられなかった。出生児 (F1) では、雌

雄で肛門生殖突起間距離 (AGD) の変化がみられたが、体重補正值で比較すると用量依存性がみられなかった。この他に肝臓の重量増加や小葉中心性肝細胞肥大等がみられた。出生後の生存、発達、包皮分離または臍開口の時期に投与に関連した影響はみられなかった (Chang et al., 2018)。

SD ラットに PFHxS を 0.3、1、3、10 mg/kg/day の用量で投与した反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422 準拠) において、生殖発生毒性部分に関して最高用量である 10 mg/kg/day までの用量で投与に関連した影響はみられなかった (Butenhoff et al., 2009)。

Wistar ラットを用いて、PFHxS 単独曝露及び内分泌かく乱物質混合物との複合曝露による発生毒性を調べた研究結果が報告されており、この研究の中で PFHxS 単独曝露群としては、妊娠 7 日から出生 22 日の雌ラットに PFHxS 0.05、5、25 mg/kg/day を強制経口投与した。母動物では、5 mg/kg/day 以上で T4 レベルの減少がみられたが、妊娠期間中の体重増加、着床後損失、出産、同腹児数、性比への影響はみられなかった。出生児では、5 mg/kg/day 以上の雌雄で T4 レベルの減少、雌で肝重量増加が、25 mg/kg/day の雄で肝重量増加がみられたが、肛門生殖器突起間距離、乳頭保持への影響はみられなかった (Ramhøj et al., 2018)。

遺伝毒性

In vitro

コメットアッセイ (HepG2) 試験では、用量依存的な DNA 鎖切断が認められた (Wielsøe et al., 2015)。

In vivo

SD ラット末梢血の小核試験の結果は雄では陰性の結果であった (NTP, 2019)。

神経毒性

PFOS とその代替物質への曝露が認知能力に及ぼす影響を調べる目的で、ラットに脳室内注入を行い Long-term potentiation (LTP) を測定した研究では、PFHxS (100 μ M) はラットの海馬 CA1 領域の LTP を PFOS と同程度減少させたと報告されている (Zhang et al., 2016)。PFC の神経機能への影響を調べる目的でラット海馬初代神経細胞に PFHxS を曝露した *in vitro* 試験では、自発的なミニチュアシナプス後電流 (mPSC) の増加と電位依存性カルシウム流入の増加がみられたと報告されている (Liao et al.,

2009)。ドーパミン作動性神経細胞株 (PC12) 及びグルタミン酸作動性一次細胞 (小脳顆粒神経細胞) に PFHxS を曝露した結果、PFHxS が神経細胞のアポトーシスを誘発することが示された (Lee et al., 2014a; 2014b; 2016)。

発達神経毒性について、生後 10 日の NMRI マウスに PFHxS 0.61、6.1、9.2 mg/kg を単回強制経口投与した結果、9.2 mg/kg/day 投与群のマウスにおいて、成長後に自発的行動と順応性への影響がみられた (Viberg et al., 2013)。また、同じく生後 10 日の NMRI マウスに PFHxS 6.1、9.2 mg/kg を単回経口投与し、神経タンパク質レベルを測定した試験で、PFHxS が正常な脳の発達に不可欠な神経タンパク質レベルに影響を及ぼし、発達神経毒性物質として作用する可能性が示唆されている (Lee and Viberg, 2013)。

内分泌かく乱作用

4 種のペルフルオロアルキル化合物 (PFAS) について、コルチコステロイドホルモン代謝に関与する 11 β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 (11 β -HSD2) 阻害を調べた研究で、PFHxS はヒト及びラットの腎臓ミクロソームにおける 11 β -HSD2 活性を阻害し、ヒト及びラットの 11 β -HSD2 活性の IC50 はそれぞれ 18.97、62.87 μ M であった (Zhao et al., 2011)。7 種の PFC を対象にステロイドホルモン受容体機能への影響を調べた研究で、エストロゲン受容体 (ER) 及びアンドロゲン受容体 (AR) のトランス活性、アロマターゼ酵素活性を測定した結果、PFHxS は抗アンドロゲン活性と弱いエストロゲン作用を有することが示された (Kjeldsen and Bonefeld-Jørgensen, 2013)。ヒト胎盤絨毛癌細胞株 (JEG-3) を用いた試験の結果では、PFHxS は弱いアロマターゼ活性阻害作用を示した (Gorrochategui et al., 2014)。

Perfluorobutanoic acid (PFBA)

体内動態

雌雄 SD ラットに、PFBA アンモニウム塩を単回強制経口投与 (3~300 mg/kg)、又は単回静脈内投与 (30 mg/kg) して体内動態試験が行われた。消化管吸収は速やかで、平均 T_{max} は 30 mg/kg 群の雌で 0.63 時間、雄で 1.25 時間、C_{max} 値は、経口投与と静脈内投与で同等だった。雄ラットの経口投与 24 時間後の平均肝臓中濃度は、平均血清レベルの 22~27% の範囲であった。経口投与 30 mg/kg 群でのクリアランスは、雄では 444 mL/kg、雌では 1,718 mL/kg で

あり、平均血清消失半減期は雄で 9.2 時間、雌で 1.8 時間であった。PFBA は主に尿中に排泄され、24 時間後の排泄量は、雄では投与量の 51~64%、雌では投与量の 100%相当であった。24 時間後の雄の糞中排泄は 0.1~3%であった。PFBA がラット体内で代謝されたことを示す証拠はなかった(Chang et al.2008)。

CD-1 マウスに、PFBA アンモニウム塩(3~300 mg/kg)を単回強制経口投与した。30 mg/kg でのクリアランスは、雄では 254 mL/kg/day、雌では 835 mL/kg/day であり、血清消失半減期はそれぞれ 16.3 時間及び 3.1 時間であった。投与後 24 時間での尿からの回収率は、雌で 65~68%であり、これは雄の約 2 倍であった。摂取した PFBA のごく一部(4~11%)が、24 時間後に糞中に検出された。(Chang et al.2008)。

カニクイザルに PFBA を単回静脈内投与(10 mg/kg)した体内動態試験も行われた。雌雄ともに、クリアランスは約 1,700 mL/kg/day であり、24 時間での尿中排泄はそれぞれ投与量の 42%と 36%であった。血清消失半減期は、雌雄共に約 40 時間であった(Chang et al.2008)。

雌雄 SD ラットに PFBA アンモニウム塩を 28 日間及び 90 日間強制経口投与した試験(28 日間:0、6、30、150 mg/kg/day、90 日間:0、1.2、6、30 mg/kg/day)が行われ、両試験とも投与終了後 3 週間の回復群が設定された。投与終了時及び回復期間の終了時に PFBA の血清及び肝臓中濃度が測定された。30 mg/kg/day 群の雄の血清中濃度は、28 日間及び 90 日間の投与終了時にそれぞれ約 38 及び 52 µg/mL であった。これらの値は、3 週間の回復期間終了時にそれぞれ約 0.2 及び 0.5 µg/mL に低下した。同じ用量の雌では、投与期間終了時の平均血清 PFBA 濃度は 1.7 µg/mL (28 日)及び 5.2 µg/mL (90 日)であり、回復期間終了時の濃度は、投与終了時濃度の約 2~4%であった。肝臓中の PFBA 濃度は、30 mg/kg/day の雄では、それぞれ 17.4(28 日)及び 16.1 µg/g(90 日)であったが、雌ではそれぞれ 0.4 及び 0.9 µg/g であった。回復期間終了時の肝臓中濃度は LOQ (0.050 µg/g) 近傍又はそれ以下であった(Butenhoff et al.2012)

反復投与毒性

ラットに PFBA を 184 mg/kg/day までの用量で 5 日間、又は 150 mg/kg/day までの用量で 28 日間強制経口投与したが、気道、消化管、

骨格筋に病理組織学的変化は生じなかった。脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節、又は血液学的パラメータに、肉眼的にも病理組織学的にも有意な変化は観察されなかった(Butenhoff et al.2012)。

CrI:CD ラットに PFBA0、1.2、6、30 mg/kg/day を 90 日間経口投与した反復投与毒性試験で、30 mg/kg/day で、肝臓の絶対重量の増加(23%)、血清 ALP 活性の増加及び血清総蛋白質の減少が認められた。びまん性肝細胞肥大も認められた。NOAEL は 6 mg/kg/day であった(Butenhoff et al.2012)。

CD ラットに PFBA のアンモニウム塩 0、6、30、150 mg/kg/day を 28 日間、0、1.2、6、30 mg/kg/day を 90 日間強制経口投与した反復投与毒性試験において、雌のラットでは、血清サイロキシンの減少が報告されたが、血清 TSH には変化がなかった。雄では、軽微~軽度の肝細胞肥大を伴う肝肥大、甲状腺濾胞の反応を伴わない低チロキシン血症が認められた。血清総コレステロールの減少、赤血球パラメータの軽度低下、両側瞳孔対光反射の遅延が認められた(Butenhoff et al.2012)

生殖発生毒性

マウスの妊娠 1~17 日に PFBA を、0、35、175、350 mg/kg/day の用量で強制経口投与したところ母動物では、175 及び 350 mg/kg/day 群で肝臓の絶対及び相対重量のわずかな増加がみられた。最高用量では同腹児全吸収の母動物が増加した。175 及び 350 mg/kg/day の新生児で、PND1 での肝臓重量が増加したが、PND10 では増加はなかった。すべての用量群で児動物の 1~1.5 日の眼瞼開裂遅延がみられた。膈開口の 2~3 日の遅延が 175 mg/kg/day 群で有意であり、包皮分離の遅延が 350 mg/kg/day 群でみられた。LOAEL は 35 mg/kg/day であった(Das et al.2008)。

遺伝毒性

In vitro

復帰突然変異試験(OECD TG471)の結果は陰性(Buhrke et al. 2013)、V79 細胞の小核試験(OECD TG487)の結果も陰性であった(Buhrke et al., 2013)

In vivo

DNA 損傷試験(雄 F344 ラット、肝臓、腎臓 PFBA 腹腔内投与)の結果は陰性だった(Takagi et al, 1991)。

Perfluoropentanoic acid (PFPeA)

体内動態

SD ラットに PFPeA を 0.5、3、10 mg/kg 経口投与又は 10 mg/kg 静脈内投与した薬物動態試験が行われた。血漿、尿、糞及び 9 組織を分析した。その結果、クリアランス及びコンパートメント間クリアランスが雄ラットよりも雌ラットでそれぞれ 1.75 倍及び 3.12 倍高いことが判明した。この結果から、PFPeA は雌ラットの方が雄ラットよりも速やかに排泄されることが示唆された。また、組織分布試験により、分布特性に性差があることが確認された(Choi et al. 2020)。

Perfluorohexanoic acid (PFHxA)

体内動態

雌雄 SD ラットに 10 mg/kg の PFHxA を単回静脈内投与した。血清中 PFHxA の平均半減期は、雄での 1.0 時間に対し雌では 0.4 時間であった。雌雄 SD ラットに、PFHxA を 50、150、又は 300 mg/kg/day の用量で 26 日間強制経口投与した。PFHxA の平均血清濃度は、初回投与の 24 時間後と最終投与の 24 時間後とで有意差は観察されなかった。血清中 PFHxA の半減期は、用量、性別、投与回数にかかわらず、約 2~3 時間であった。雄では 1 日投与量の約 90% が投与後 24 時間の尿中に回収されたが、雌では投与量の約 80% であった。カニクイザルに 10 mg/kg の PFHxA を単回静脈内投与した試験では、雌雄間で体内動態に有意な性差はなかった。血清中の平均半減期は 2.4~5.3 時間であった(Chengelis et al. 2009a)。

14C-PFHxA ナトリウム塩(2、100 mg/kg)を、ラット及びマウスに単回強制投与、又は非標識 PFHxA (2 mg/kg)を 14 日間反復強制経口投与した。吸収は迅速であり(両種とも Tmax は投与後 15~30 分)、バイオアベイラビリティは両種とも両用量でほぼ 100%であった。ラットの血漿消失半減期は雌(0.5~0.7 時間)よりも雄(1.5~1.7 時間)でわずかに長かった。投与の 24 時間後に、両種の雌雄とも皮膚を除くすべての組織で、PFHxA は低濃度であり定量できなかった。排泄は投与量にかかわらず、雌雄のラット、マウスともに尿中(投与量の約 99%)が主経路であった。排泄の経路と程度は、14 日間の連続の投与後でも変化はなかった。血漿、尿、又は糞のサンプルに代謝物は認められな

かった。in vitro 試験(14C-PFHxA をラット及びマウスの肝細胞と培養)で生体内変換は起こっていないことが確認された(Gannon et al. (2011))。

Gannon et al. (2011)のデータから、PFHxA の血漿クリアランスは、雄ラットと雌ラットでそれぞれ 1,957、6,654 mL/kg/day と推定された(Russell et al. 2013)。

PFHxA は、げっ歯類において迅速かつ相当程度に吸収され、尿中に効率的に排泄されることが、雌雄ラット及びマウスに 14C-PFHxA アンモニウム塩(50 mg/kg)を単回又は反復経口投与した試験で確認された(Iwai (2011))。

サルにおける PFHxA の半減期は雄で 1.5 日、雌で 0.8 日である(Sundström et al. 2012)。

PFHxA を雄ラットに単回強制経口投与(100 µg/kg)、又は飲水投与(1、5 又は 25 µg/L)で 1 又は 3 か月間投与した。PFHxA は非常に迅速全に吸収、排出され、半減期は 2~4 時間であった。慢性試験では組織への蓄積は認められず、1 日以内に定常状態に達した(Iwabuchi et al. 2017)。

雌雄 SD ラットに PFHxA を、62.6、125、250、500、1,000 mg/kg/day の用量で 28 日間強制経口投与した試験で、試験終了時の雄の血漿濃度は、概ね雌と比較してより高かった(1.6~3 倍)。肝臓/血漿の濃度比(雄のみで算出)は、250 mg/kg/day 以上の群では 1 未満(0.5 以下)であった(NTP 2019)

高濃度の PFHxA に曝露されたヒトの労働者では、見かけの消失半減期は 14~49 日の範囲にあり、幾何平均は 32 日であった(Russell et al., 2013)。

C6~C14 の 8 種の PFCA を、それぞれ単独で雌雄 FVB/NJcl マウスに静脈注射、又は強制経口により単回投与した体内動態試験が行われた。強制経口投与又は静脈内注射後、いずれのサンプリング時間でも PFHxA は血清中に検出されなかった(LOD = 0.2 nmol/g)(Fujii et al, 2015)。

反復投与毒性

CD(SD)ラットに NaPFHx を 0、20、100、500 mg/kg/day の 90 日間経口投与試験(OECD TG408)において、投与に関連した一般状態変化は観察されなかった。軽度であるが有意な赤血球パラメータの減少があった(赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット)。アスパラギン酸トランスアミナーゼ(AST)、アラニントランスアミナーゼ(ALT)及びアルカリホスファターゼ(ALP)活性

の軽度で可逆的な上昇が 100 及び 500 mg/kg/day で認められた。肝臓の相対重量は、500 mg/kg/day で有意に増加した。雌ラットの甲状腺重量は 500 mg/kg/day で有意に増加した。100 及び 500 mg/kg/day 群では、嗅上皮の軽度の可逆的変性及び萎縮が認められ、軽微な可逆的肝細胞肥大もみられた。500 mg/kg/day で甲状腺濾胞上皮の軽微な肥大が認められた。500 mg/kg/day 群では、脾臓の軽微～軽度の髓外造血及び骨髓の赤芽球過形成が認められた。100 mg/kg/day 群で観察された鼻組織の組織病変に基づき、NOAEL は 20 mg/kg/day であった。(Loveless et al. 2009)。

CD (SD)ラットに PFHxA を 0、10、50、200 mg/kg/day の 90 日間強制経口投与試験において、投与に関連した臨床所見は観察されなかった。200 mg/kg/day で、平均赤血球パラメータ(赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット)のわずかな減少はあるが有意な減少が認められた。200 mg/kg/day 群では ALT 及び ALP の有意な上昇が、50 及び 200 mg/kg/day 群ではコレステロール値の低下も認められた。200 mg/kg/day 群で肝臓の相対重量の増加が、すべての投与群で腎臓重量の増加が報告された。小葉中心性肝細胞肥大は 200 mg/kg/day 群の雄の 7/10 例に認められた。200 mg/kg/day での体重、血清化学パラメータ及び相対的腎臓重量への影響に基づいて NOAEL 50 mg/kg/day とされた(Chengelis et al. 2009b)。

生殖発生毒性

CD-1 マウスを用いた PFHxA(アンモニウム塩)の発生及び周産期/出生後生殖毒性試験が行われた。試験は 2 回行われ、1 回目はマウス(一群 20 匹)に PFHxA を 0、100、350、500 mg/kg の用量で GD 6~18 に強制経口投与した。2 回目はより低用量域の 0、7、35、及び 175 mg/kg/day で行われた。児動物の観察は生後 41 日まで行った。1 回目試験では、350 mg/kg/day 以上の用量群で、母動物に死亡、流産、体重増加抑制がみられ、児動物に新生児死亡率の上昇、生存率の低下、授乳期の体重増加抑制、及び肝臓重量/体重比の上昇が認められた。2 回目試験では、母動物については、投与に関連した死亡や臨床所見、剖検所見はなかった。児動物では、175 mg/kg/day 群に、死産児数と PND 1 で死亡した新生児数が増加し、PND 1 での新生児の体重減少がみられた。発生影響は報告されていない。Iwai and

Hoberman (2014)の報告では NOAEL は、100 mg/kg/day とされた。Iwai ら(2019)は、2 試験を再評価し、両試験を組み合わせて施設の背景データを考慮した統計学的分析で、175 mg/kg/day 群の死産児数の増加と生存率の低下は有意ではなく、発生毒性の NOAEL の最低値は 175 mg/kg/day と結論した(Iwai and Hoberman 2014, Iwai, et.al. 2019)。

CD(SD)ラットに一世代生殖試験(OECD TG415 準拠)が行われ、NaPFHxA を 0、20、100、500 mg/kg/day の用量で強制経口投与した。生殖毒性の NOAEL は、F1 児の体重減少に限られた影響に基づいて 100 mg/kg/day とした(Loveless et al. 2009)。

CD(SD)ラットに発生試験(OECD TG414 準拠)が行われ、PFHxA(Na 塩)0、20、100、500 mg/kg/day を GD 6~20 に強制経口投与したが、発生に関連する影響は観察されなかった(Loveless et al. 2009)。500 mg/kg/day 群での母動物の体重抑制及び胎児の低体重に基づいて NOAEL は 100 mg/kg とされた。

雄ラットに PFHxA を 62.6 ~ 1,000 mg/kg/day の用量で経口投与した 28 日間試験で、精巣上体の精子数、血清テストステロンへの有意な影響はみられなかったが、最高用量で精巣上体重量のわずかな(5%)減少が報告されている(NTP 2019)。

遺伝毒性

In vitro

細菌を用いた復帰突然変異試験では陰性の結果(CEBS, Loveless et al. 2009, Buhrke et al., 2013)が、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験(Loveless et al. 2009)、コメットアッセイ(HepG2)(Eriksen et al., 2010)、小核試験(V79 細胞)(Buhrke et al., 2013)でも陰性の結果であった。

In vivo

SD ラット末梢血の小核試験の結果は雄で Equivocal、雌で陰性の結果であった(CEBS)。

発がん性

SD ラットに PFHxA を、雄には 0、2.5、15、100 mg/kg/day、雌には 0、5、30、200 mg/kg/day の用量で、104 週間強制経口投与した。体重、摂餌量、血液学、ホルモンパラメーター、機能観察エンドポイント、自発運動への影響はなかった。雌では、用量依存的な生存率の低下と腎臓の組織学的変化(乳頭壊死)(200 mg/kg/day)がみられた。その他に雌の 200 mg/kg/day 群に

血清 LDL/VLDL の低下、及び尿量の増加が認められた。PFHxA 投与によるの発がん兆候は認められなかった (Klaunig et al. 2015)。

Perfluoroheptanoic acid (PFHpA)

体内動態

雌雄 Wistar ラットに PFHpA を 20 mg/kg/day 腹腔内投与した試験で、PFHpA は尿中に急速に排出 (雌雄とも 120 分以内に投与量の 90% 以上) された。糞への排出は雌雄ともに 2% 未満であった。糞中排泄の一部は、PFHpA の胆汁中排泄によるものであり、雄と比較して雌の胆汁中排泄速度は著しく速かった (Kudo et al. 2001)。

PFHpA を含む数種の PFCA を雌雄 Wistar ラットに単回静脈内投与 (48.63 μ mol/kg、約 25 mg/kg 相当) した体内動態試験が行われた。半減期は、雄で 0.10 日、雌で 0.05 日と計算された。総クリアランスはそれぞれ 1,604 及び 3,070 mL/kg/day であり、分布容積は雌雄ともに約 200 mL/kg であった (Ohmori et al. 2003)。

雌雄マウスを用いた PFHpA の体内動態試験を行った。3.13 μ mol/kg、1.14mg/kg 相当を強制経口投与した場合の消化管からの吸収は、雌雄ともに投与量の 94% 以上と推定された。投与の 24 時間後の雄では、PFHpA は各組織 (血清、肝臓、腎臓、脳、脂肪組織) で定量限界未満であったが、雌では肝臓及び腎臓にそれぞれ投与量の 1.8%、0.2% が検出された。排泄の主経路は尿中であり、24 時間で投与量の約 46% が排泄されたが、糞中排泄は雌雄ともに 24 時間で投与量の 8% 未満であった。総クリアランスは雄と雌でそれぞれ 293、190 mL/kg/day であった (Fujii et al., 2015)。

反復投与毒性

生殖/発生毒性スクリーニングも併用した 90 日間反復投与毒性試験において、CD-1 マウスに NaPFHp 0、0.5、10、50 mg/kg/day を強制経口投与した。F0 世代には、雄は交配前 90 日と交配期間中 (合計 109~113 日)、雌は交配前 90 日と授乳期 20 日まで (合計 130~142 日) 投与した。50 及び 10 mg/kg/day 群では、F0 雄雌及び F1 世代で、肝臓の相対重量及び絶対重量の有意な増加が認められた。50 mg/kg/day 群の雄で ALP、ALT 及びトリグリセライドの有意な増加が、非交配雌で ALP 及びトリグリセライドの有意な増加が血液化学検査で認められた。10 mg/kg/day で、ALT の有意な増加が授乳中の雌でみられた。雄と交配雌 (哺育 21 日) でも肝細

胞壊死と肝細胞肥大が 0.5 mg/kg/day 以上で用量依存的に認められていた (Anonymous (2017) cited in CLH report 2019)。

生殖発生毒性

生殖/発生毒性スクリーニングを併用した 90 日間反復投与毒性試験において、生殖に関するパラメータに有意な変化は観察されなかった。また、着床数、妊娠期間も影響は認められなかった。F1 に口蓋裂が低用量で 6 例 (1 同腹児)、高用量で 3 例 (2 同腹児) に認められた。児動物の剖検では、高用量群の雄 1 例に、副甲状腺肥大が認められた。甲状腺及び副甲状腺重量に曝露群でわずかな減少が認められた。PND 42 までの曝露で陰茎亀頭包皮分離検査に変化はなかったが、膣開口遅延がみられた。曝露期間中の児体重については、50 mg/kg/day 雄の PND28 と PND35 に、雌の PND22 から PND43 に有意な減少が観察された。また、10 mg/kg/day で曝露した雌の児動物体重は、PND43 において対照群より有意に減少した。副腎及び脳重量は、最高用量群の雌で有意に影響を受け、肝臓重量は中用量群の雄及び最高用量群の雌雄で有意に増加した。F0 と同様に F1 全用量レベルで肝細胞の小葉中心性肥大の発生率が増加した。さらに、中用量及び高用量で肝細胞壊死が認められた。肝臓におけるこれらの影響は用量依存的であった (CLH report 2019)。

遺伝毒性

In vitro

細菌を用いた復帰突然変異試験では陰性で、小核試験 (V79 細胞) でも陰性の結果であった (Buhrke et al., 2013)。

Perfluorononanoic acid (PFNA)

体内動態

Wistar ラットに PFNA (20 mg/kg) を腹腔内注射した試験で、投与後 5 日間の尿中排泄は、雄で投与量の 2.0% であったが、雌では 52% に達した。同期間の糞中排泄は雄で投与量の 5% 未満、雌では 2% 未満であった。雌雄ラットに PFNA (25 mg/kg) を静脈内注射して胆汁排泄を調べた試験では、雄と比較して雌の方が大きく (注射後 5 時間での排泄量は雌で投与量の約 0.4%、雄では 0.1% 未満)、雌では胆汁排泄された PFNA がより多く再吸収されていることを示唆している。試験終了時の血清及び肝臓中濃度は、雄でそれぞれ約 45 μ g/mL、90 μ g/mL

であったが、雌では雄よりも低濃度でありそれぞれ雄の約 1/18、1/8 であった (Kudo et al. 2001)。

Wistar ラットに 22.3 mg/kg 相当の用量で静脈内注射した PFNA の体内動態パラメータが報告された。半減期は、雄で 29.5 日、雌で 2.44 日と算出された。総クリアランスは雄で 6.9 mL/kg/日、雌で 105.7 mL/kg/日であり性差が認められた。この性差は主に雄の腎クリアランスが著しく低いことに起因していた (Ohmori et al. 2003)。

SD ラットと CD-1 マウスを用いた PFNA の体内動態試験を行った。雌雄ラットに 1、3、10 mg/kg の PFNA を単回強制経口投与し、投与後 50 日までの血液と試験終了時の肝臓と腎臓中の PFNA 濃度を測定した。Cmax は、10 mg/kg 群の雄で 89.8 µg/mL、雌で 68.4 µg/mL であった。3 mg/kg 群の平均半減期は雄で 23.6 日、雌で 32.0 日と推定された。PFNA は肝臓に主に分布していた。雌雄 CD-1 マウスには 1、10 mg/kg の PFNA を単回経口投与した。マウスでは、PFNA の血清消失速度は雄よりも雌の方がわずかに速く、推定血清半減期は用量 1、10 mg/kg でそれぞれ雌 25.7、68.8 日、雄 34.4、228 日であった。PFNA は主に肝臓に分布していた。PFNA の肝臓での残留性は、雌よりも雄の方が著しく高かった。肝臓/血清濃度比は 5~15 であったが、腎臓/血清比は通常 0.2~0.4 であった (Tatum-Gibbs et al. 2011)。

FVB/NJcl マウスに PFNA を単回強制経口投与又は単回静脈内投与した。1.14 mg/kg 相当を強制経口投与した場合の消化管からの吸収は、雌雄ともに 100% であった。総クリアランスは、静脈内注射群では、雄で 3.9 mL/kg/day、雌で 5.1 mL/kg/day であったが、強制経口投与群の場合は、雄雌それぞれ 4.0、2.4 mL/kg/day であった。分布容積は静脈注射群の雄で 220 mL/kg、雌で 150 mL/kg であった。静脈内注射後の 24 時間での尿中排泄量は僅かであり、雄で投与量の 1.3%、雌では 2.2% であった。また糞中排泄量は雌雄ともに 1% 未満であった。投与量の大部分は、血清(雄で投与量の 27%、雌で 32%)と肝臓(雄で 69%、雌で 46%)に分布していた。強制経口投与群の雌雄では、尿中排泄と糞中排泄は投与量の 1% 程度又はそれ以下であり、分布パターンは静脈内注射の場合と同様であった (Fujii et al. 2015)。

PFNA 50 µg/kg を雄ラットに単回強制経口投与、又は 1、5、25 µg/L で 1 又は 3 か月間飲水投与した。3 か月間のばく露後、PFNA は主に肝

臓に蓄積しており、最高用量 (25 µg/L) での濃度は 2.4 mg/kg であった。血漿中半減期の推定値は 18~64 日であったが、肝臓では 160 日であった (Iwabuchi et al. 2017)。

SD ラットに、雄に 0.625~10 mg/kg/day、雌に 1.56~25 mg/kg/day の PFNA を 28 日間強制経口投与した試験で、血漿濃度は、同用量の雌雄を比較すると概ね雄のほうが 5~9 倍高かった。肝臓/血漿比(雄のみ算出)は 0.9~2.6 であった (NTP 2019)。

ラットに PFNA を静脈内投与 (3 mg/kg) して組織分布と排泄の検討を行った。PFNA は主に肝臓と腎臓に分布していた。肝臓への分布量を雌雄で比較すると、雄は雌の約 2.5 倍であった。尿又は糞への累積排泄量は、雄の場合はそれぞれ投与量の 14.33±9.30%、1.28±0.45% であったが、雌ではそれぞれ 34.56±2.21% と 3.13±2.18% であった。これらはラットにおける PFNA の主要排泄経路は尿中であり、その程度は雌のほうが雄よりも高いことを示している。静脈内投与のデータを 1 コンパートメントモデルで解析すると、雄及び雌ラットの血清消失半減期はそれぞれ 40.2 日及び 4.4 日、クリアランスはそれぞれ 7.4 mL/kg/day 及び 16.6 mL/kg/day と推定された (Kim et al. 2019)。

反復投与毒性

雄 SD ラットに PFNA を 0、0.2、1、5 mg/kg/day で 14 日間強制経口投与した試験で、5 mg/kg/day で血清グルコースレベルの上昇と HDL-コレステロール値の低下が生じ、肝細胞空胞化がみられた (Fang et al., 2012a, 2012b)。

雄 BALB/c マウスに PFNA を 0、1、3、5 mg/kg/day で 14 日間強制経口投与した免疫毒性試験で、3 mg/kg/day で胸腺及び脾臓重量の減少、1 mg/kg/day で脾臓リンパ球の表現型が変化した ((Fang et al., 2008)。

雌雄 129S1/SvImj マウスに PFNA を 0、0.83、1.1、1.5、2 mg/kg/day で妊娠 1~18 日に強制経口投与した発生毒性試験で、最低用量の 0.83 mg/kg/day で出生後 21 日に母動物及び児に肝重量の増加が認められた (Wolf et al., 2010)。

雌 CD-1 マウスに PFNA を 0、1、3、5、10 mg/kg/day で妊娠 1~17 日に強制経口投与した発生毒性試験で、1 mg/kg/day で母動物及び児動物で肝重量増加が認められ、成熟期まで持続した (Das et al., 2015)。

生殖発生毒性

雌 CD-1 マウスに PFNA を 1、3、5、又は 10

mg/kg/day の用量で GD1~17 に投与した試験が行われた。10 mg/kg/day 群の母動物は妊娠を継続することができず、その後の追跡は中止された。新生児の生存率は、0、1、及び 3 mg/kg/day では約 90%であったが、5 mg/kg/day 群では出生後の 10 日間で低下し、離乳時はわずかに 20%であった。生存児動物の出生後の体重増加量は用量依存的に抑制され、3 及び 5 mg/kg/day 群では統計学的に有意であった。生存児動物の出生後の成長遅延とともに、発達の指標(眼瞼開裂、包皮分離、膈開口)の用量依存的な遅延もみられた。BMD5/BMDL5 の最小値は、母動物では相対肝臓重量の増加に基づく 0.43/0.27 mg/kg/day、児動物では PND1 における肝臓相対重量の増加に基づく 0.24/0.19 mg/kg/day であった(Das et al.,2015)。

妊娠 SD ラットに PFNA を GD1 から 20 まで 5 mg/kg/day の PFNA を強制経口投与し心血管機能を検査した。パラメータとして、血圧、腎ネフロン数、腎グルココルチコイド受容体遺伝子発現、及び血清アルドステロンの測定が行われた。児動物については、雌で有意な出生時低体重がみられた。血圧は、雌雄の 10 週齢で上昇していたが、26、56 週齢では対照群と有意差はなかった。腎臓あたりのネフロン数は、22 日齢の雄で有意な減少がみられた (Rogers et al.,2014)。

ラット 28 日間試験で、PFNA (雄:0、0.625、1.25 及び 2.5 mg/kg/day、雌:0、1.56、3.12、6.25 mg/kg/day) は、生殖パラメータに影響を及ぼすことが示された。精巣上体重量は、最低用量から有意に減少し、最高用量で 33%減少した。精巣上体尾部の精子数は有意に減少したが、組織重量あたりでは対照群と同等であった。最高用量群では精巣上体に病理組織学的所見(精液過少、生殖細胞の剥離、上皮細胞のアポトーシス、精子肉芽腫)もみられた。精巣重量は中・高用量群で減少し、病理組織学的変化(変性、精子細胞の停滞、間細胞の萎縮)を伴っていた。この 2 用量群ではテストステロンも有意に減少していた。雌では、テストステロンが用量依存的かつ有意に増加したが、発情周期は対照群と同様であった(NTP 2019)。

Parkes マウスに GD12 から分娩まで PFNA を 0、2、5 mg/kg/day で経口投与し、各母動物につき 2 匹の雄児動物の精巣を PND3 の検査を行った。母動物には、体重への影響はなく、出生率、一腹あたりの児動物数、雄児動物の体重に

変化はなかった。最高用量群では精巣テストステロンが減少し、またテストステロン合成に関与するたんぱく質(StAR、CYP11A1、3b 及び 17 β -HSD)、性腺発達に関与するたんぱく質(WT1 及び SF1)及び細胞増殖に関与するたんぱく質(PCNA)のレベルが低下していた。しかし、精巣重量には影響はなく、精巣の組織学的変化もなかった(Singh and Singh 2019a)。

Parkes マウスに、PFNA を 0、0.2、及び 0.5 mg/kg/day で PND25 から PND114 までの 90 日間強制経口投与した。また、最終投与 24 時間後の雄マウスに対して交配による生殖能が測定された。最終投与の 1 時間後、用量依存的な精巣上体尾部の精子数減少(高用量群で有意、対照群の 74%)、精子運動性及び生存率低下が認められた。生殖試験では、雄マウスへのばく露により同腹児数が用量依存的に減少した(高用量群で有意、対照群の 50%)。また、用量依存的な総血清コレステロールの減少(対照群の 67%)及びテストステロンの減少(対照の 69%)もみられ、これらも高用量群では有意であった(Singh and Singh(2019b)EFSA2020)。

Parkes マウスに、PFNA を 0、2、及び 5 mg/kg/day で PND25~38 の 14 日間、経口投与し、雄の生殖及びステロイド産生への影響を調べた。最終投与 24 時間後の血清中及び精巣中テストステロンレベルは両用量群とも減少し、逆行性変化を示す精細管の割合の上昇がみられた。精巣における脂質過酸化が増加する一方で、精巣の SOD、カタラーゼ、グルタチオン S-トランスフェラーゼは減少しており、酸化ストレスが引き起こされていることが示された(SinghandSingh,2019c)。

遺伝毒性

In vitro

細菌を用いた復帰突然変異試験と(CEBS、Buhrke et al., 2013)、小核試験(V79 細胞)(Buhrke et al., 2013)では陰性の結果であった。コメットアッセイ(HepG2)では陽性(Eriksen et al., 2010、Wielsoe et al., 2015)、DNA 鎖切断試験(TK6 細胞)でも陽性(Yahia et al, 2014)の結果であった。

In vivo

SD ラット末梢血の小核試験の結果は雌雄共に陰性の結果であった(CEBS)。

Perfluorodecanoicacid (PFDA)

体内動態

雌雄 Wistar ラットに PFDA (20 mg/kg) を腹腔内注射した試験で、投与5日後の雌雄の血清及び肝臓の PFDA 濃度は、それぞれ約 37 µg/mL 及び 130 µg/g であった (Kudo et al. 2001)。

Wistar ラットに 22.3 mg/kg 相当の用量で静脈内注射された PFDA の半減期は、雄で 40 日、雌で 59 日であった。分布容積は雄で 348 mL/kg、雌で 441 mL/kg であり、総クリアランスは雌雄とも約 5 mL/kg/day であった (Ohmori et al. 2003)。

雌雄 FVB/NJcl マウスに PFDA を静脈注射 (0.1 mg/kg 相当)、又は強制経口 (1 mg/kg 相当) により単回投与したところ、消化管吸収は雌雄ともにほぼ 100% であった。静脈内注射後の総クリアランスは、雄で 2.2 mL/kg/day、雌で 2.8 mL/kg/day であったが、強制経口投与後の値は、それぞれ 3.9 及び 2.2 mL/kg/day であった。静脈内投与した場合の分布容積は、雄で 250 mL/kg、雌で 200 mL/kg であった。投与経路及び性別にかかわらず、投与後 24 時間の尿中及び糞中排泄は投与量の 1% 程度又はそれ以下であり、投与した PFDA の大部分は肝臓に分布していた (Fujii et al. 2015EFSA 2020)。

雌雄 SD ラットに、0.156~2.5 mg/kg/day の PFDA を 28 日間強制経口投与した反復投与試験で、PFDA の血漿中濃度は、雌のほうが雄よりもわずかに高かった (30% 以下)。雄の肝臓/血漿比は、用量増加に伴い、5.3 から 1.6 に減少した (NTP 2019EFSA 2020)。

ラットに PFDA を静脈内投与 (1 mg/kg) して、組織分布と排泄の検討が行われた。PFDA は主に肝臓、次いで腎臓に分布し、雄のほうが雌よりもわずかに高かった。尿又は糞への累積排泄量は、雄の場合はそれぞれ用量の 11.22±2.96% 及び 18.25±2.72% であり、雌ではそれぞれ 22.17±5.28% 及び 16.44±0.70% であった。静脈内投与のデータを 1 コンパートメントモデルで解析すると、雄及び雌ラットの血清消失半減期はそれぞれ 109 日及び 50 日、クリアランスはそれぞれ 0.76 mL/kg/day 及び 0.81 mL/kg/day と推定された (Kim et al. 2019)。

反復投与毒性

雌 HarlanSD ラットに PFDA を 0、0.125、0.25、0.5、1、2 mg/kg/day で 28 日間強制経口投与した試験で、0.5 mg/kg/day で投与に関連した肝細胞壊死と肝腫大が認められた (Frawley et al. 2018)。

雌 B6C3F1/N マウスに PFDA を 0、0.3125、

0.625、1.25、2.5、5 mg/kg で週 1 回で 4 回強制経口投与した試験で、0.625 mg/kg/week 以上で肝腫大 (26~89%) が、5.0 mg/kg/week で脾臓萎縮 (20%) が認められた (Frawley et al. 2018)。

CD (SD) ラットに PFDA を 0、0.156、0.312、0.625、1.25、or 2.5 mg/kg/day で 28 日間強制経口投与した試験で、最低用量から絶対及び相対肝重量が増加した。甲状腺の相対及び絶対重量は、0.312 mg/kg/day 以上の群の雌のみで増加したが、雄では全用量群で副腎絶対重量の減少が認められた。アルブミン/グロブリン比は両性で 0.156 mg/kg/day 以上で有意に増加した。血中コレステロール値の低下は高用量群の雌のみに認められた。ALT、AST、ALP は雌雄とも低用量で有意に上昇した。遊離 T4 及び総 T4 濃度は、高用量群の雄で低下したが、最高用量群の雌では、遊離 T4 濃度の低下のみが認められた。病理組織学的評価では、肝細胞の細胞質の変化及び肥大が最も感度の高いエンドポイントであり、雌雄とも最低用量から発現していた (NTP 2019)。

C57BL/6N マウスに PFDA を 0、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、32.0 mg/kg/day で妊娠 10~13 日、PFDA を 0、0.03、0.3、1.0、3.0、6.4、12.8 mg/kg/day で妊娠 6~15 日にそれぞれ強制経口投与した発生毒性試験において、1.0 mg/kg/day で母動物に肝重量増加が認められた (Harris and Birnbaum 1989)。

生殖発生毒性

C57BL/6N マウスに PFDA を、GD 10~13 に 0、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、32.0 mg/kg/day、又は GD 5~15 に 0、0.03、0.1、0.3、1.0、3.0、6.4、12.8 mg/kg/day を投与した試験で母動物の体重増加抑制と胎児の生存率の低下が、両試験とも最高用量と次に高い用量の 2 用量群で認められた。生存胎児体重の用量依存的な減少がみとめられ、0.1 mg/kg/day でも統計学的に有意となっていた。 (Harris and Birnbaum 1989)。

CD (SD) ラットに PFDA を 0、0.156、0.312、0.625、1.25 or 2.5 mg/kg/day で 28 日間強制経口投与した試験で生殖器官に関するパラメータが、3 つの高用量群と対照群について報告されているが、最高用量側の 2 つの高用量群で精巢上体尾部の精子数の減少がみられた (最高用量群で有意、30% 減少)。また、これらの用量群では体重も有意に減少しており、精巢上体重量も有意に減少していた (10% 及び 23%) が、

精巣上体 1g あたりの精子数に変化はなかった。血清テストステロンは用量とともに減少し、最高用量では統計学的に有意になり(75%減少)、また精巣重量も減少していた(11%)が、精細胞数に変化はなかった。さらにこの用量群では精巣に複数の病理組織学的所見もあった。雌では、最高用量で発情周期が乱れ、発情間期が延長した。雌の血清テストステロンは用量とともに増加し(41~141%)、0.312 mg/kg/day 以上の群で有意であった(NTP 2019)

遺伝毒性

In vitro

細菌を用いた復帰突然変異試験では陰性の結果(CEBS、Buhrke et al., 2013)が、小核試験(V79 細胞)(Buhrke et al., 2013)でも陰性の結果であった。

In vivo

SD ラット末梢血の小核試験の結果は雌雄共に陰性の結果であった(CEBS)。

神経毒性

NMRI マウスに PFDA、PFOS 又は PFOA を 0.72 又は 10.8 mg/kg の用量で、PND10 に強制経口投与した。行動への影響を評価するために、2 及び 4 か月齢時にオープンフィールドでの自発運動を観察し、また不安様行動を評価するために高架式十字迷路での活動を記録した。2 か月齢の低用量群で試験開始後の 20 分間に自発運動の低下がみられたが、これ以外に PFDA ばく露群と対照群との間に有意な差はみられなかった(Johansson et al 2008)。

免疫毒性

雌 SD ラットに PFDA を 0、0.125、0.25、0.5、1、2 mg/kg/day で 28 日間強制経口投与した。脾臓及び胸腺重量、白血球亜集団に変化はみられなかった。肝臓の固定組織マクロファージによる貪食作用は、ラットの 0.25 mg/kg/day 以上で低下した(比活性、24~39%)。体液性及び細胞性免疫、宿主抵抗性、及び骨髄前駆細胞に対する PFDA の影響は限定的であった(Frawley et al. 2018)

雌 B6C3F1/N マウスに PFDA を 0、0.3125、0.625、1.25、2.5、5 mg/kg を週 1 回で 4 回強制経口投与した試験で、5.0 mg/kg/week 群では、総脾臓細胞数、Ig+及び NK+細胞が減少した(17.6~27%)。1.25 mg/kg/week 以上では、脾臓 CD3+、CD4+、CD8+、及び Mac3+細胞数が減少した(10.5~39%)。マウスのリンパ組織の免疫細胞集団のバランスを変化させる可能性が

あることを示唆した(Frawley et al. 2018)

Perfluoroundecanoicacid (PFUnDA)

体内動態

PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA 又は PFTeDA を、雌雄 FVB/NJcl マウスに静脈内注射(0.1 mg/kg 相当)、又は強制経口(1 mg/kg 相当)により単回投与した体内動態試験を行った。これら C11~C14 ペルフルオロカルボン酸(PFCA)は、雌雄とも消化管から 100%(又はほぼ 100%)吸収された。静脈内投与の 24 時間後の組織及び臓器の分析では、雌雄ともに C11~C14PFCA の大部分は肝臓に分布(雄で投与量の 64~78%、雌で 47~53%)し、少量が血清に分布(雄で 6~14%、雌で 4~15%)した。投与後 24 時間の尿中排泄は、C11~C14PFCA のいずれも、投与経路や性別にかかわらず、投与量の 0.1%以下であった。投与後 24 時間の糞中排泄は、いずれの PFCA も静脈内注射の場合は投与量の約 1%であったが、強制経口投与の場合、PFTrDA(性別により投与量の 1.7~3.1%)及び PFTeDA(性別により投与量の 3.0~6.1%)については静脈内投与よりわずかに高かった。総クリアランスは、静脈内投与後注射では、PFUnDA の 2.8 mL/kg/day から PFTeDA の 10.4 mL/kg/day の範囲であったが、強制経口投与の場合は、PFUnDA の 3.1 mL/kg/day から PFTeDA の 106.3 mL/kg/day まで変化した。C13 及び C14PFCA の総クリアランスは、強制経口投与と静脈内投与とで大きな差異があり、これらの化合物では胆汁排泄が重要な排泄経路であることを示唆している。顕著な性差はなかった。C11~C14PFCA の静脈注射後の分布容積は、雄で 280~430 mL/kg、雌で 330~580 mL/kg であった(Fujii et al, 2015)。

反復投与毒性

SD ラットに PFUnDA を 0、0.1、0.3 及び 1 mg/kg/day で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験(OECD TG422 準拠)を行ったところ、いずれの群においても死亡動物は認められず、一般状態、詳細な一般状態の観察、機能検査、自発運動量の測定、握力測定、尿検査及び剖検所見においても、被験物質投与による影響は観察されなかった。投与期間中 1 mg/kg/day 投与群の雌雄で体重増加抑制、雌で授乳 4 日の摂餌量に低値、回復期間中においても体重減少及び増加抑制が認められた。1 mg/kg/day 投与群

の雌雄でフィブリノーゲン量の低値、雄では活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が認められた。1 mg/kg/day 投与群の雌雄で尿素窒素の高値及び総たん白質の低値、雄で ALP の高値及びアルブミンの低値が認められた。0.3 mg/kg/day 投与群の雄及び 1 mg/kg/day 投与群の雌雄で肝臓重量の高値が認められ、0.3 mg/kg/day 以上の投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大がみられ、1 mg/kg/day 投与群の雌雄では肝細胞の限局性壊死がみられた。1 mg/kg/day 投与群の雄では腺胃の暗赤色巣が 3 例にみられ、組織学的には腺胃の糜爛であった。また、1 mg/kg/day 投与群の雄では脾臓重量の低値が認められた。2 週間の休薬により上述の病理学検査でみられた変化は消失するか、頻度及び程度が軽減した。また、回復群特有の影響として雌雄に小葉中心性肝細胞変性が、雌では微小肉芽腫の程度の増強、グリソン鞘周囲の細胞浸潤がみられた。反復投与毒性に対する無影響量は雌雄ともに 0.1 mg/kg/day とされた (Takahashi et. al., 2014, JECDB)。

生殖発生毒性

SD ラットに PFUnDA を 0、0.1、0.3 及び 1 mg/kg/day で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECDTG422 準拠)を行ったところ、性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には被験物質投与の影響は観察されなかった。出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数、出生率及び性比並びに授乳期間中の授乳状態に被験物質投与の影響は観察されなかった。出生児では、1 mg/kg/day 投与群の雌雄で出生時及び生後 4 日の体重に増加抑制がみられた。外表観察、生後 4 日剖検所見及び生存率に被験物質投与による変化は観察されなかった。雌雄親動物に対する無影響量は 1 mg/kg/day、児動物に対する無影響量は 0.3 mg/kg/day とされた (Takahashi et. al., 2014, JECDB)。

遺伝毒性

In vitro

細菌を用いた復帰突然変異試験では陰性、CHL 細胞を用いた染色体異常試験の結果は陽性の結果であった (JECDB)。コメットアッセイ (HepG2) の結果は陰性 (Wielsoe et al., 2015) であった。

Perfluorododecanoic acid (PFDoDA)

体内動態

PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA 又は PFTeDA を、雌雄 FVB/NJcl マウスに静脈内注射 (0.1 mg/kg 相当)、又は強制経口 (1 mg/kg 相当) により単回投与した体内動態試験の結果がある (Fujii et al, 2015)。 (⑨ PFUnDA の記載参照)

反復投与毒性

雄 SD ラットに PFDoDA を 0、1、5、10 mg/kg/day を 14 日間強制経口投与した試験で、5 mg/kg/day で体重の減少、10 mg/kg/day で血清総コレステロールの増加 (35%) がみられた (Shi et al.2007)。

雄 SD ラットに PFDoDA を 0、0.02、0.05、0.2、0.5 mg/kg/day で 110 日間強制経口投与した試験で、0.02 mg/kg/day で脂肪肝が認められ、高用量でより顕著になった (Ding et al. 2009)。

雄 SD ラットに PFDoDA を 0、0.02、0.05、0.2、0.5 mg/kg/day で 110 日間強制経口投与した試験で、0.2 mg/kg/day 又は 0.5 mg/kg/day 投与群の血清テストステロン値は、対照レベルのそれぞれ 56% 及び 40% に減少した。0.5 mg/kg/day で体重の有意な低下が認められた (Shi et al. 2009a)。

SD ラットに PFDoDA を 0、0.1、0.5 及び 2.5 mg/kg/day で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECDTG422 準拠)を行ったところ、2.5 mg/kg/day 群で以下の所見が認められた。雄で軟便又は肛門周囲被毛の汚れがみられ、雌では妊娠期間後期に膣口出血、体温低下、呼吸緩徐等が観察され、4 例は死亡し、3 例は瀕死のため安楽死させた。雄で投与 21 日以降剖検日まで体重ならびに投与 28 日以降の摂餌量に低値がみられた。雌では、交配前の体重増加量、妊娠期間の体重、体重増加量及び体重増加率、ならびに妊娠 3 日以降 20 日までの摂餌量に低値がみられた。雌雄で MCV 及び網赤血球数の低値、MCHC の高値、加えて雌の生存例ではヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値がみられた。雌雄で、総蛋白、アルブミン量、グルコース、クレアチニン、カルシウムの低値あるいは尿素窒素、ALP の高値がみられた。雌雄とも肝臓の絶対及び相対重量に高値がみられ、びまん性肝細胞肥大、ビリルビン沈着、限局性壊死、肝細胞の単細胞壊死がみられた。脾臓のチモゲン顆粒の減少、雄で胆管周囲の炎症性細胞浸潤、肝臓の脂肪化、大腿骨骨髓造血低下、雌で胆管増殖、肝細胞の単細胞壊死、肝細胞

の核分裂像増加、膵臓の間質の水腫、子宮着床部の出血がみられた。雌の死亡/安楽死例では、膵臓のチモーゲン顆粒の減少、間質の水腫、びまん性肝細胞肥大、胆管増殖、肝細胞の単細胞壊死、限局性壊死、小葉中心性肝細胞壊死、子宮着床部の出血、内膜のうっ血、大腿骨骨髓造血低下がみられた。回復期間終了時には、体重、血液学的検査の項目に回復傾向が認められたが、血液化学的検査の項目には回復性は観察されず、肝臓の変化も残存しており、肝胆系に対する影響は回復していないと考えられた。0.5 mg/kg/day 群では以下の所見が認められた。雌で哺育 0~4 日の体重増加量及び体重増加率に低値がみられた。雄で α 2-グロブリン分画比の低値、ALP の高値、雌で総コレステロールの低値傾向がみられた。雌雄とも肝臓の絶対及び相対重量に高値がみられ、雌で肝臓の限局性壊死がみられた。以上の結果から、無影響量(NOEL)は 0.1 mg/kg/day と考えられた(Kato et al., 2015, JECDB)。

生殖発生毒性

雌 SD ラットに PFDoDA を 0、0.5、1.5、3 mg/kg/day の用量で PND24 から PND52 まで経口投与したところ、3 mg/kg/day 群で体重減少がみられたが、子宮及び卵巣の絶対重量と相対重量、膣開口の日齢と体重、及び発情周期に対する影響は観察されなかった。3 mg/kg/day 群でコレステロールレベルは上昇し、エストラジオールレベルは低下したが、LH 及び FSH レベルに変化はなかった。さらに、ステロイド代謝及びステロイド代謝の調節に関与する分子の網羅的な遺伝子発現解析において最も感度の高い応答は 17b-HSDmRNA 発現であり、最低用量でアップレギュレーションされることが判明した(Shi et al. 2009b)

雄 SD ラットに PFDoDA を 0、0.02、0.05、0.2、0.5 mg/kg/day の用量で 110 日間経口投与し他ところ、体重減少が 0.5 mg/kg/day 群でみられたが、精巣、前立腺、精囊、精管の絶対重量と相対重量には影響はみられなかった。0.5 mg/kg/day 群で、テストステロンレベルは低下したが、LH と FSH 及び総コレステロールレベルへの影響はなかった。さらに、ステロイド代謝及びステロイド代謝の調節に関与する分子の網羅的な遺伝子発現解析が行われ、最も感度の高い応答は StAR であり、mRNA レベルでは 0.02 mg/kg/day、たんぱく質レベルでは 0.05 mg/kg/day でダウンレギュレーションされた(Shi

et al. 2009a)。

雄 SD ラットに PFDoDA を 0、5、10 mg/kg/day の用量で 14 日間経口投与したところ、10 mg/kg/day 群で体重と精巣絶対重量が減少したがライディッヒ細胞数とセルトリ細胞数に影響はみられなかった。血清テストステロン、LH 及び FSH レベルが 5 mg/kg/day 以上の群で低下した。これらのホルモンレベルの変化に、ライディッヒ細胞関連たんぱく質レベルがダウンレギュレーションされていた(Chen et al. 2019)。

SD ラットに PFDoDA を 0、0.1、0.5 及び 2.5 mg/kg で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験(OECD TG422 準拠)を行ったところ、2.5 mg/kg/day 群において、体重及び摂餌量の減少や一般状態の悪化のため妊娠後期の死亡が増加し、出産率、分娩率、出産児数が著しく低下した。回復群の雌では、投与期間後半に発情休止期が連続し、ほぼ全例が性周期の異常を示した。新生児の一般状態では、2.5 mg/kg/day 群において死亡児数の増加がみられた。以上の結果から、本試験条件下における生殖発生毒性の無影響量は 0.5 mg/kg/day と考えられた(Katao et al., 2015, JECDB)。

遺伝毒性

In vitro

細菌を用いた復帰突然変異試験では陰性(Buhrke et al. 2013, CEBS, JECDB)、小核試験(V79 細胞)は陰性(Buhrke et al. 2013)、コメットアッセイ(HepG2)の結果は陰性(Wielsøe et al., 2015)であった。CHL 細胞を用いた染色体異常試験の結果は陽性の結果であった(JECDB)

神経毒性

単回経口投与(50 mg/kg)の 9 日後のラットにおける PFDoDA のレベルを、PFOA 及び PFDA のレベルと比較した。脳内の PFDoDA レベルは $44.4 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$ であり、血清中の PFDoDA レベル($24.4 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$)よりも高かった。逆に、PFOA と PFDA の脳内濃度は低く(<0.8 及び $4.7 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$)、血清中濃度の 10 分の 1 であった。PFOA、PFDA 及び PFDoDA により誘発された認知機能の変化を評価するために、行動試験が行われた。投与後 5~6 日で実施された新奇物体認識テストでは、PFDoDA 投与ラットでは識別指数の有意な低下がみられたが、PFDA 及び PFOA 投与ラットでは有意な変化はなかった。PFDoDA 投与の影響について、さらに、高架式十字迷路テスト、

Y字型迷路テスト、オープンフィールドテスト、及び強制水泳テストによる評価も行った。PFDoDAにより、高架式十字迷路試験で変化が誘発されたが、Y字型迷路テスト、オープンフィールドテスト、強制水泳テストでは変化は誘発されなかった。これらの結果は、PFDoDAは脳内に容易に分布し、認知機能や行動の変化を引き起こすことを示している(Kawabata et al. 2017)。

Perfluorotridecanoic acid (PFTrDA)

体内動態

PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA 又は PFTeDA を、雌雄 FVB/NJcl マウスに静脈内注射 (0.1 mg/kg 相当)、又は強制経口 (1 mg/kg 相当)により単回投与した体内動態試験の結果がある (Fujii et al, 2015)。(PFUnDA の記載参照)

表 2. PFAS 類物質の NOAEL (LOAEL) の一覧表

化合物名(略称)	反復投与毒性	生殖発生毒性
PFBS	Lieder et al. (2009a) ラット90日試験 NOAEL:60 mg/kg/day	Feng et al. (2017) マウス発生毒性試験 NOAEL:50 mg/kg/day
PFPeS	-	-
PFHxS	Butenhoff et al. (2009) 反復生殖併合試験 NOAEL:1 mg/kg/day	Ramhøj et al., 2018 発生毒性試験 NOAEL: 0.05mg/kg/day (LOAEL:5 mg/kg/day)
PFHpS	-	-
PFNS	-	-
PFDS	-	-
PFUnDS	-	-
PFDoDS	-	-
PFTrDS	-	-
PFBA	Butenhoff et al. (2012) ラット90日間試験 NOAEL: 6 mg/kg/day	Das et al. (2008) マウス発達毒性試験 LOAEL: 35 mg/kg/day
PFPeA	-	-
PFHxA	Chengelis et al. (2009b) ラット90日間試験	Loveless et al. (2009) ラット一世代試験

	NOAEL: 50 mg/kg/day	NOAEL: 100 mg/kg/day
PFHpA	CLH report (2019) 生殖/発生毒性スクリーニング併用90日間試験 LOAEL: 0.5mg/kg/day	CLH report (2019) 生殖/発生毒性スクリーニング併用90日間試験 LOAEL: 0.5mg/kg/day
PFNA	-	Singh and Singh (2019b) マウス発生毒性試験 NOAEL=0.2 mg/kg/day
PFDA	NTP (2019) ラット28日間試験 LOAEL: 0.156 mg/kg/day	NTP (2019) ラット28日間試験 NOAEL: 0.156 mg/kg/day
PFUnDA	Takahashi et. al., (2014) ラット反復毒性生殖毒性併合試験 NOEL: 0.1 mg/kg/day	Takahashi et. al., (2014) ラット反復毒性生殖毒性併合試験 NOEL=0.3 mg/kg/day
PFDoDA	Kato et.al., (2015) ラット反復毒性生殖毒性併合試験 NOEL: 0.1 mg/kg/day	Kato et.al., (2015) ラット反復毒性生殖毒性併合試験 NOEL: 0.5 mg/kg/day
PFTrDA	-	-

1.2 欧州の飲料水中の PFAS としてモニタリングすることが指定されている物質中 (8 化合物) および国内で検出された 2 化合物

調査の結果、今年度の対象とした 10PFAS 化合物のうち 2 化合物(⑥ C6O4 と ⑨ 4:2FTS) についての毒性関連情報は得られず、8 化合物についての毒性情報を整理した。

① Perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA) CAS:376-06-7

体内動態

PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA 又は PFTeDA を、マウスに静脈内注射 (0.31 μmol/kg、0.1 mg/kg 相当)、又は強制経口 (3.13 μmol/kg、1 mg/kg 相当)により単回投与した。これらC11～C14 ペルフルオロカルボン酸(PFCA)は、雌雄とも消化管から100% (又はほぼ100%)吸収された。静脈内投与の24 時間後の組織及び臓器

の分析では、雌雄ともにC11～C14 PFCA の大部分は肝臓に分布(雄で投与量の64～78%、雌で47～53%)し、少量が血清に分布(雄で6～14%、雌で4～15%)していた。投与後24時間の尿中排泄は、C11～C14 PFCAのいずれも、投与経路や性別にかかわらず、投与量の0.1%以下であった。投与後24時間の糞中排泄は、いずれのPFCAも静脈内注射の場合は投与量の約1%であったが、強制経口投与の場合、PFTeDA及びPFUnDAについては静脈内投与よりわずかに高かった。総クリアランスは、静脈内投与では、PFUnDAの2.8 mL/kg/dayからPFTeDAの10.4 mL/kg/dayの範囲であったが、強制経口投与の場合は、PFUnDAの3.1 mL/kg/dayからPFTeDAの106.3 mL/kg/dayにまで変化した。C13及びC14 PFCAの総クリアランスは、強制経口投与と静脈内投与の場合とで大きく異なり、これらの化合物では胆汁排泄が重要な排泄経路であることを示唆している。顕著な性差はなかった。C11～C14 PFCAの静脈内投与の分布容積は、雄で280～430 mL/kg、雌で330～580 mL/kgであった。(Fujii et al, 2015 cited in EFSA 2020)

反復毒性、生殖毒性

PFTeDA(純度96.5%)をSDラットに、0、1、3および10 mg/kg/dayの用量で、反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験(OECD TG422)が行われた。10 mg/kg/day群では、機能検査で、投与6週に雄の後肢の握力に低値がみられた。体重および摂餌量については、雄では回復期間中の体重に低値がみられた。雌では、哺育期間の体重、体重増加量および体重増加率ならびに妊娠5日、10日および哺育4日の摂餌量に低値がみられた。血液学的検査では、雌の回復群の回復期間終了時にヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値に低値がみられた。血液化学的検査では、投与期間終了時に雄で総蛋白およびβ-グロブリン分画比に低値、アルカリホスファターゼおよび尿素窒素に高値、雌でβ-グロブリン分画比に低値、クロールに高値がみられた。回復期間終了時には、雄のアルカリホスファターゼには回復性は認められなかった。投与期間終了時の剖検では雄で肝臓の淡褐色化がみられ、器官重量では雌雄で肝臓の絶対または相対重量に高値がみられた。肝臓の病理組織学的検査では、小葉中心性肝細胞肥大が雌雄でみられた。その他に、雄で甲状腺の濾胞細胞の肥大ならびに雌で脾臓に髓

外造血の低下および胸腺に皮質の萎縮がみられた。回復期間終了時には、雄で肝臓の淡褐色化がみられ、雌雄で肝臓の絶対または相対重量に高値がみられた。肝臓の病理組織学的検査では、小葉中心性肝細胞肥大が雌雄でみられ、雄ではびまん性脂肪化、雌ではびまん性肝細胞肥大もみられ、肝臓の障害についての回復性は認められなかった。3 mg/kg/day群では、雌の哺育4日の体重に低値がみられた。機能検査で投与6週に雄の後肢の握力に低値がみられた。器官重量では雄で肝臓の絶対および相対重量に高値がみられた。病理組織学的検査では、雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大および甲状腺の濾胞細胞の肥大がみられた。1 mg/kg群では、被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。以上の結果から、本試験の反復投与毒性の無影響量(NOEL)は1 mg/kg/dayと考えられた。

生殖毒性のパラメータでは、いずれの項目にも変化はみられなかった。10 mg/kg/day群において生後1および4日の雌雄で新生児体重の低値が認められた。児動物の一般状態および剖検では変化はみられなかった。以上の結果から、本試験の発生に対する無影響量(NOEL)は3 mg/kg/dayと考えられた。(Hirata-Koizumi M, et.al., (2015); JECDB: 376-06-7)。

遺伝毒性

In vitro 試験としては、細菌を用いる復帰突然変異試験(TA100、TA1535、TA98、TA1537、大腸菌 WP2 uvrA)、およびチャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU)を用いる染色体異常試験において陰性の結果が報告されている。(JECDB: 376-06-7)

② Perfluorohexadecanoic acid (PFHxDA) CAS:67905-19-5

反復毒性

PFHxDA(純度95.3%)をSDラットに0、4、20および100 mg/kg/dayの用量で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験(OECD TG422)が行われた。一般状態観察、詳細な一般状態観察、尿検査および血液学的検査では、雌雄とも被験物質投与に関連する変化はみられなかった。機能検査では、回復2週に100 mg/kg/day群の雌雄とも後肢の握力に低値がみられた。体重については、100 mg/kg/day群の雄で、投与35および42日の体重、投与1-42日の体重増加量および体重増加

率に低値がみられた。ホルモン測定では、投与期間終了時に雌のすべての用量群で T3 に低値がみられた。血液化学的検査では、投与期間終了時に雌雄の 100 mg/kg/day 群および雌の 20 mg/kg/day 群でクロールに高値がみられ、雌の 100 mg/kg/day 群でナトリウムおよび尿素窒素が高値であった。臓器重量では 100 mg/kg/day 群で雄の肝臓の絶対および相対重量に高値がみられ、病理組織学的検査では、小葉中心性肝細胞肥大および小葉中心性脂肪化が 20 mg/kg/day 以上の投与群で認められた。雌では、小葉中心性肝細胞肥大が 100 mg/kg/day 群でみられた。以上の結果から、本試験の反復投与毒性の無影響量(NOEL)は 4 mg/kg/day 未満と考えられた。一方、生殖能力及び性周期検査では、100 mg/kg/day 群まで被験物質投与に関連する変化は認められなかった。新生児の生後 4 日の体重に 100 mg/kg/day 群で低値傾向がみられた。以上の結果から生殖毒性に関する NOAEL は 20 mg/kg/day とした (Hirata-Koizumi M, et.al., (2015); JECDB: 67905-19-5)

遺伝毒性

In vitro 試験としては、細菌を用いる復帰突然変異試験(TA100、TA1535、TA98、TA1537、大腸菌 WP2 uvrA)、およびチャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU)を用いる染色体異常試験において陰性の結果が報告されている。(JECDB: 67905-19-5)

③Perfluorooctadecanoic acid (PFODA) CAS: 16517-11-6

反復毒性・生殖毒性

PFODA(純度 98.9%)雌雄ラットに 0、40、200 および 1,000 mg/kg/day の用量で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422) が行われた。1,000 mg/kg/day を投与された雌 1 例は、妊娠 18 日目に瀕死の状態に安楽死された。しかし、他の投与に関連した毒性の臨床徴候は認められなかった。雄の 1,000 mg/kg/day 群で、体重が投与 28 日目から投与期間まで、雌では妊娠中から授乳中まで減少した。赤血球数、ヘモグロビンレベルおよびヘマトクリットは雄で 200 および 1,000 mg/kg/day で減少し、活性化部分トロンボプラスチン時間は雌で 1,000 mg/kg/day で延長した。病理組織学的検査では、200 および 1,000 mg/kg/day 群の雄および 1,000 mg/kg/day 群の

雌で小葉中心性肥大および壊死など肝臓の変化が認められた。膵臓チモゲン顆粒の減少が 1,000 mg/kg/day 群の雌雄で認められた。生殖および発生毒性に関しては、1,000 mg/kg/day 群で、生後 0 および 4 日目の黄体数、着床数、出生児総数および生存児数の減少が認められた。この用量で、児の出生時体重は減少し、出生後体重増加も抑制された。以上より、PFODA の無毒性量は反復投与毒性で 40 mg/kg/day、生殖/発生毒性で 200 mg/kg/day とした。(Hirata-Koizumi, et.al., (2012); JECDB: 16517-11-6)。

遺伝毒性

In vitro 試験としては、細菌を用いる復帰突然変異試験(TA100、TA1535、TA98、TA1537、大腸菌 WP2 uvrA)において、陰性の結果が報告されている。チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU)を用いる染色体異常試験では、軽度ながら数的異常誘発性を有すると報告されている(JECDB: 16517-11-6)

④4,8-Dioxa-3H-perfluorononanoic acid (ADONA) CAS: 919005-14-4, Ammonium salt CAS: 958445-44-8

反復毒性

ADONA(98.5%超)を SD ラットに 0、10、30、100 mg/kg/day の用量で 28 日間強制経口投与試験(OECD TG407)を行った。ADONA 投与群において投与に関連した死亡および異常な臨床所見は認められなかった。体重、摂餌量、機能観察パラメータに有意な影響は認められなかった。絶対肝重量は 30 および 100 mg/kg/day 群の雄で有意に増加し、相対肝重量は全群の雄で有意に増加した。唯一の有意な病理組織学的変化は、すべての ADONA 投与群のすべての雄の肝臓において、軽度から中等度の用量依存的びまん性中間帯/小葉中心性肝細胞肥大であった。高用量群の雌では、肝細胞肥大やその他の肝変化の所見は認められなかった。著者は、雄ラットの 10 mg/kg/day 群の軽微な肝臓の変化は毒性学的に有意ではないとして NOAEL を 100 mg/kg/day としている。(Gordon (2011))

ADONA(98.5%超)を SD ラットに 0、10、30、100 mg/kg/day の用量で 90 日間強制経口投与試験(OECD TG408)が行われた。肝臓の絶対および相対重量は、高用量群の雌雄でわずかに増加したが、統計学的に有意ではなかった。10 mg/kg/day 群の雄 10 匹中 9 匹に小葉中心

性肝細胞肥大が認められた。いずれの群においても、投与に関連した他の病理組織学的変化は認められなかった。10 mg/kg/day 群の雄及び 100 mg/kg/day 群の雌における軽微な所見は毒性学的に有意ではないと判断され、本試験における NOAEL は 10 mg/kg/day としている (Gordon (2011))

以上ラットにおける 28 日及び 90 日間経口試験で著者は NOAEL を 10 mg/kg/day としているが、他の PFAS 化合物の評価と比較すると、LOAEL:10 mg/kg/day とした方が適切であると考えられた。

生殖発生毒性

ADONA を妊娠 SD ラットに、10、30、90、270、500 mg/kg/day の用量で発生毒性スクリーニング試験が行われた。500 mg/kg/day 群は GD 2 で全例が死亡又は瀕死状態にあり、この時点で試験を中止した。270 mg/kg/day 群では、死亡、有意な体重減少、摂餌量減少、及び活動性の低下、脱水症等の一般状態の変化がみられた。90 mg/kg/day 群で、体重増加抑制がみられたが、統計学的に有意ではなかった。10、30 mg/kg/day では、投与に関連した一般状態、体重、剖検に異常所見はなかった。各用量群の生存母動物はいずれも正常に出産し、妊娠期間と分娩時間も対照群と有意差はなかった。同腹児あたりの平均産児数、同腹児当たりの出生児の割合、及び同腹児当たりの死産児の割合は、いずれの用量群も対照群と有意差はなかった。生後 1、4、及び 6 日目の新生児の生存率および同腹出生児の平均体重は、270 mg/kg/day 群で有意に減少した。いずれの用量群の児動物にも、剖検時に肉眼的奇形は認められなかった。本試験における ADONA の母動物毒性及び発生毒性の NOAEL は 30 mg/kg/day であった。(Gordon (2011))

遺伝毒性

In vitro 試験としては、OECD TG471 (Gordon, 2011)、OECD TG 476 (V79 細胞) (Cordon, 2011) で陰性、OECD TG 473 (ヒトリンパ球細胞) で陽性の結果 (Gordon, 2011) が報告されている。

In vivo 試験としては、マウス骨髄細胞の小核試験 (OECD TG 474) と染色体異常試験 (OECD TG475) (Gordon, 2011) で陰性の結果が報告されている。

⑤ Hexafluoropropylene oxide dimer acid (HFPO-DA) CAS:13252-13-6、HFPO-

DA ammonium salt (GenX) (CAS:62037-80-3)

体内動態

i) 吸収(経口)

30 mg/kg の HFPO-DA アンモニウム塩(純度 84%)水溶液を SD ラットに単回強制経口投与した (EPA TG OPPTS 870.7485)。HFPO-DA は、投与後 12 時間までの尿に、雄では投与量の 95%、雌では 97% が排泄された (DuPont18405-1017 RV1, 2011 cited in US EPA 2021)。

3 mg/kg の HFPO-DA アンモニウム塩(純度 84%)水溶液を ICR マウス(雌雄各 5 匹/群)に単回強制経口投与した (EPA TG OPPTS 870.7485)。HFPO-DA は、投与後 12 時間までの尿に、雄では投与量の 31%、雌では 39% が排泄され、168 時間後までに、雄及び雌でそれぞれ投与量の 90% と 92% が尿中に回収された (DuPont-18647-1017 RV1, 2011 cited in US EPA 2021)。

HFPO-DA を C57BL/6 マウスに、1、10、100 mg/kg/day の用量で 28 日間投与した。血清中ピーク濃度到達時点は、高用量群の雄では 14 日、その他はすべて 5 日目であった。1 及び 10 mg/kg/day 群の血清濃度は、5 日目よりも 14 及び 28 日目のほうが低かった。10 及び 100 mg/kg/day 群の雄は、雌よりも血清及び尿中濃度が高かった。血清及び尿濃度は雄のほうが高いことから、雄のほうが雌よりも吸収率が高いように思われた (Rushing et al (2017) cited in US EPA 2021)。

HFPO-DA アンモニウム塩(純度 84%)を ICR マウスに 0、0.1、0.5、5 mg/kg/day の用量で、雄には 95 日間、雌には 96 日間連続して強制経口投与した (OECD TG 408 準拠)。全体として、血漿濃度は用量の増加とともに上昇し、吸収は飽和していないことが示され、また濃度の標準偏差が大きいことから個体間で吸収がかなり変動していることが示された。Rushing et al. (2017) にみられた雌雄差は、この試験の投与後 2 時間ではそれほど明白ではなかった (DuPont-18405-1307, 2010 cited in US EPA 2021)。

ii) 分布

HFPO-DA アンモニウム塩(純度 84.5%)または HFPO-DA (純度 98%)それぞれ 10 または 30 mg/kg を、水溶液として SD ラットに単回強制経口投与した。投与後 168 時間の血漿中平均濃度は、HFPO-DA アンモニウム塩投与の雄ラットでは、低用量群で 36±11 ng/mL、高用量群で

57±36 ng/mL であり、HFPO-DA 投与の雄では、低用量群、高用量群それぞれ 41±10 ng/mL、128±23 ng/mL であった。一方、雌ラットでは、いずれの投与群も定量限界 (LOQ; 20 ng/mL) 以下であった。投与 168 時間後の肝臓中平均濃度は、HFPO-DA アンモニウム塩投与の雄ラットでは、低用量群で 73±25 ng/g、高用量群で 38±15 ng/g であり、HFPO-DA 投与の雄では、低用量群、高用量群それぞれ 24±6 ng/g、89±4 ng/g であった。肝臓組織と血漿の平均濃度比は、低用量では遊離酸よりもアンモニウム塩の方が大きかったが、高用量では、アンモニウム塩と酸でほぼ同一であった。しかし、雌では、高低両用量とも雄に比べ肝臓での HFPO-DA とそのアンモニウム塩の蓄積は少なく 12 匹中 10 匹で、肝臓中 HFPO-DA 濃度は定量限界 (20 ng/g) 未満であった。脂肪組織中の HFPO-DA アニオン濃度はすべての雌雄ラットで LOQ (20 ng/g) 未満であった (DuPont-24281, 2008 and DuPont-24286, 2008 cited in US EPA 2021)。

HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 86%) を 10 または 30 mg/kg 群の用量で水溶液として ICR マウスに単回強制経口投与した。経時的に 168 時間後迄の血漿のサンプリングを行い、その後、肝臓と脂肪でサンプリングした。HFPO-DA アニオンの肝臓中平均濃度は、雄マウスでは、10 mg/kg 群で 384±472 ng/g、で 457±337 ng/g であった。脂肪組織中では、30 mg/kg 群の雄で 31.6 ng/g であり、10 mg/kg 群の雄および両用量群の雌では定量限界 (20 ng/g) 未満であった。投与後 168 時間の血漿中平均濃度は、雄マウスでは、10 または 30 mg/kg 群それぞれ 759±946 ng/mL、830±618 ng/mL であった。雌マウスでは、各用量群の 3 匹中 1 匹のみが LOQ を超える血漿濃度であった。(DuPont-25300, 2008 cited in US EPA 2021)。

OECD TG 421 に準拠した生殖/発生毒性試験の一環として、HFPO-DA アンモニウム塩を 0、0.1、0.5、5 mg/kg/day の用量で妊娠 ICR マウスに、交配 14 日前から授乳 (LD) 20/21 日まで強制経口投与したトキシコキネティクス試験が行われた。PND 4 および PND 21 の児動物の血漿中に、HFPO-DA が LD 21 の母動物の濃度のそれぞれ約 1/2~1/4、1/40~1/60 の濃度で検出された。これは母体血清から児動物に HFPO-DA アニオンが移行していること、また児動物への移行は大部分が妊娠中に起こったことを示している。児動物の PND 40 の HFPO-DA 血漿濃度は、

0.1 mg/kg/day 群では雄および雌それぞれ 1,352、946 ng/mL、0.5 mg/kg/day 群では、6,282、4,074 ng/mL、5 mg/kg/day 群では、51,340、43,340 ng/mL であり、雄のほうが雌よりもわずかに高い傾向があったが、本試験では概して全用量群ともに標準偏差が大きかった (DuPont18405-1037, 2010 cited in US EPA 2021)。

妊娠中の CD-1 マウスに、胎生 (E) 1.5 日から E 11.5 または E 17.5 に 2、10 mg/kg/day の HFPO-DA を投与した。母動物の血清および肝臓を E 11.5 または E 17.5 の最終投与に採取し。また E 11.5 に羊水、E 11.5 および E 17.5 に全胚を採取した。HFPO-DA は高低両投与群とも採取したすべての時点の羊水および全胚に検出され、妊娠母動物から胎児への HFPO-DA の移行が示された。HFPO-DA 濃度は用量の増加とともに上昇した。全胚の HFPO-DA 濃度は両用量群とも E 11.5 よりも E 17.5 でより高く、妊娠期間中の胚における生体内蓄積を示している。一方、母動物血清中の HFPO-DA 濃度は、両用量群とも E 11.5 よりも E 17.5 で低下した。(Blake et al. (2020) cited in US EPA 2021)。

HFPO-DA アニオンの胎児への移行は、妊娠日 (GD) 6 から GD 20 に、5~1,000 mg/kg/day の HFPO-DA をばく露した SD ラットの実験も実証された。GD 20 の投与 2 時間後の母動物の血漿中濃度は、その胎児の血漿中濃度よりも 3 倍高かった。(Dupont-18405-849 RV1, 2011 cited in US EPA 2021)。HFPO-DA アンモニウム塩を SD ラットに 1~500 mg/kg/day の用量で GD14 から GD18 までばく露した実験でも HFPO-DA アニオンの胎児への移行が示された (Conley et al. (2019) cited in US EPA 2021)。

SD ラットに、HFPO-DA アンモニウム塩を 0、1、3、10、30、62.5、125 mg/kg/day の用量で GD 16~GD 20 まで、または 0、10、30、62.5、125、250 mg/kg/day の用量で GD 8~PND 2 までばく露し、血清濃度を測定した。母動物の血清中および肝臓中 HFPO-DA アニオン濃度は、二つの試験とも用量の関数として上昇した。著者らは、二つの試験の同用量群間で血清または肝臓濃度に統計学的に有意な差はなく、長期曝露でも生体内蓄積は生起していないことを示していると述べている。HFPO-DA アニオンは、全用量群の胎児血清で検出され、回帰分析の結果、母動物血清濃度は胎児の血清濃度の約 2~3 倍であることが示された。GD 20 の胎児および母動物の肝臓中濃度は、30~125 mg/kg/day 群間で

ほぼ同一であった。PND における雄新生児の肝臓濃度は雌よりも有意に高かった。雌雄の PND 2 の肝臓濃度は、GD 20 の胎児の肝臓濃度の約 10 分の 1 であった (Conley et al. (2019) cited in US EPA 2021)。

iii)代謝

SD ラットから調製した肝細胞を HFPO-DA アンモニウム塩の 2 μ M (クリアランス検討) または 200 μ M (生体内変換検討) 溶液とともに合計 120 分間培養した。クリアランス検討培養では、生存肝細胞と熱不活化肝細胞のクリアランスには差がなかった。さらに、生体内変換検討培養では、代謝物は検出されなかった。(Gannon et al, 2016 cited in US EPA 2021)。

ラットの単回経口試験で、投与の 168 時間までに収集した尿中の HFPO-DA アンモニウム塩の回収総量は雄で投与量の 103 \pm 2.73%、雌で 99.8 \pm 6.41% であり、代謝物は検出されなかった。また、マウスの単回経口試験では、尿中の HFPO-DA アンモニウム塩の回収総量は雄で投与量の 89.5 \pm 6.91%、雌で 91.5 \pm 6.04% であり、代謝物は検出されなかった (DuPont-18647-1017 RV1, 2011 cited in US EPA 2021)。

iv)排泄

雌雄 SD ラットに HFPO-DA アンモニウム塩 30 mg/kg を単回経口投与したところ、12 時間以内に 95% (雌) から 97% (雄) が尿中に排泄された。尿には、HFPO-DA が代謝を受けたことを示す証拠はみられなかった。尿中排泄の T1/2 は、雄ラットで 3 時間、雌で 8 時間と算出された。ICR マウスに HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 84%) 3 mg/kg を単回経口投与した試験では、12 時間での尿中への排泄は、雄マウスで 31%、雌で 39% のみであり、マウスの尿中排泄はラットよりも効率的でないように思われた。投与後 168 時間の尿中の回収率は、雄および雌でそれぞれ 90% および 92% であった。尿中排泄の T1/2 は雄マウスで 21 時間、雌で 18 時間と算出された。(DuPont-18647-1017 RV1, 2011 and DuPont-18405-1017 RV1, 2011 cited in US EPA 2021)。

マウスに HFPO-DA (1~100 mg/kg/day) を 28 日間反復経口投与した試験で、尿中濃度のモニタリングが行われた。1-および 10-mg/kg/day 群では、尿中濃度は 3 日目にピークに達し、その後は単調に減少した。雄では、各時点で雌よりも尿中濃度が高く、血清中濃度が高いことと一致していた。100 mg/kg/day 群の尿中濃度は、

雄では 2 日目にピークを示し、14 日目にもピークを示したが、雌では 5 日目にピークを示し、10 日目および 14 日目には減少した (Rushing et al. (2017) cited in US EPA 2021)。

v)クリアランス

HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 84.5%) を SD ラットに 10、30 mg/kg の用量で単回経口投与した。雄では、血漿中濃度のピーク到達は低用量群では投与後 1~2 時間以内、高用量では投与後 30 分~1 時間以内であった。血漿中濃度は、4~5 日目までにピーク時の 1% 未満に低下していたが、まだ LOQ (20 ng/mL) 以上であった。雌では、血漿中濃度は低用量群では 1 時間後にピークに達し、通常 24 時間までに LOQ レベルに低下した。高用量群では、雌ラットの血漿中濃度は投与後 30 分~1 時間でピークに達し、24 時間または 48 時間までに LOQ レベルまで低下していた。クリアランス時間は、雄ラットでは低用量で 12 時間、高用量で 22 時間、雌では低用量で 4 時間、高用量で 8 時間であった (Dupont-24281, 2008 cited in US EPA 2021)。

遊離 HFPO-DA (純度 98%) を用いた同様のプロトコルのラットでの試験では、低用量では、血漿中濃度は雌雄ともに 1 時間以内にピークに到達したが、高用量では、雄で 1 時間または 2 時間、雌で 15 分に血漿中濃度のピークに到達した。また、クリアランス時間は、雄では、低用量で 28 時間、高用量で 22 時間、雌では低用量で 8 時間、高用量で 4 時間であった (Dupont-24286, 2008 cited in US EPA 2021)。

ラットとサルの間薬物動態試験において、雌雄 SD ラットに HFPO-DA アンモニウム塩 (10、50 mg/kg) を、雌雄 Cynomolgus サルに HFPO-DA アンモニウム塩 (10 mg/kg) を単回静脈内ボラス投与した。ラットでは、血漿中濃度は、雌よりも雄のほうが常に約 1~2 桁高く、雌の排泄は雄よりも速いという知見と一貫性があった。雄ラットのクリアランス時間は、10 mg/kg 投与群で 22 時間、50 mg/kg 群で 17 時間であった。雌ラットのクリアランス時間は、10-、50-mg/kg 投与群でそれぞれ 3 時間、4 時間であった。なお、雄ラットのクリアランス時間は、Dupont-24281 (2008) で算出された同用量群のクリアランス時間が 12 時間であったのに対し、この試験では 22 時間と長い値が算出されている。雌ラットについては同程度であった。また、50 mg/kg 投与群のラットでは、血清濃度値の標準偏差が大きかった。サルでは、血清濃度値の標準偏差が大きく、評価した

雄雌の間に大きな差があることが示唆された。雌雄の血漿中濃度を比較すると、最初の2時間は雌で概ね高く、4時間ではほぼ同じであり、4時間から336時間までは雄でわずかに高かった。168時間後のHFPO-DAアンモニウム塩由来のアニオンレベルは雌雄ともに非常に低く、雄で4 ng/mL、雌で1 ng/mLであった。408時間以降の濃度は、LOQ(1 ng/mL)以下であった。サルクリアランス時間は雄、雌それぞれ11時間、10時間と算出された(DuPont-17751-1579 RV1, 2009 cited in US EPA 2021)。

反復毒性

HFPO-DA アンモニウム塩(純度 88%)を Crl:CD(SD)ラットに 0、0.3、3、30 mg/kg/day(雄)、3、30、300 mg/kg/day(雌)に 28 日間強制経口投与(OECD TG407 準拠)したところ、3 mg/kg/day 以上の雄で、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの減少が認められた。雌では血液学的影響は認められなかった。血清検査では 3 および 30 mg/kg/day の雄および 300 mg/kg/day の雌で、総グロブリンの減少および A/G 比の増加が認められた。さらに、雄ではすべての用量でコレステロールおよびトリグリセリドの減少が認められた。30 mg/kg/day 投与の雄では、腎臓の相対重量が 15%増加し、1/10 例の雄で腎臓のわずかな石灰化が報告された。雌では腎臓重量の変化は確認されなかった。雄の3および30 mg/kg/day、雌の300 mg/kg/day で相対肝重量増加が報告された。多巣性小葉中心性肥大が、3 および 30 mg/kg/day の雄および 300 mg/kg/day の雌の肝臓で認められた。3 mg/kg/day の雄ラットで確認された血液パラメータの変化ならびに肝肥大の発生に基づいて、この試験の NOAEL を 0.3 mg/kg/day とした(Haas (2008a) cited in SVHC 2019)。

HFPO-DA アンモニウム塩(純度 88%)を Crl:CD-1(ICR)マウスに 0、0.1、3、30 mg/kg/day で 28 日間強制経口投与(OECD TG407 準拠)した。雄マウスでは 3 および 30 mg/kg/day でヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少が認められ、30 mg/kg/day では赤血球数の減少を伴った。血清検査では雌雄ともに A/G 比が 3 mg/kg/day 以上で増加した。さらに、AST、ALT、ALP、SDH は、雄で 3 および 30 mg/kg/day、雌で 30 mg/kg/day で増加した。雌雄とも 3 および 30 mg/kg/day で相対肝重量の増加がみられた。多巣性小葉中心性肥大が、3 および 30 mg/kg/day の雄および 300 mg/kg/day の雌の肝

臓で認められた。3 および 30 mg/kg/day の雄で副腎重量の増加が認められた。雌の 0.1 および 30 mg/kg/day 投与群で腎臓の絶対重量および相対重量が増加していた。雄の 30 mg/kg/day で副腎皮質肥大がみられた。30 mg/kg/day 群の雌で子宮重量の減少を認めたが子宮の病理組織学的変化はみられなかった。雄マウスはすべての用量で、雌マウスは中・高用量で β 酸化活性が認められた。雄マウスの 3 mg/kg/day 投与時の A/G 比増加、ヘモグロビン減少、ヘマトクリット減少、肝障害マーカーの増加、肝細胞壊死から、本試験の NOAEL は 0.1 mg/kg/day とした(Haas (2008b) cited in SVHC 2019)。

HFPO-DA 0、1、10、100 mg/kg/day を C57BL/6 マウスに 28 日間強制経口投与して、免疫効果を検討した。この試験は、8 週間間隔で 2 回繰り返して行われた。100 mg/kg/day で確認された影響には、雌における TDAR の抑制(7.3%) および相対脾臓重量の減少(11%)が含まれるが、雄ではこれらの影響は確認されなかった。さらに、T リンパ球数の増加が雄で認められた(平均 74%)。B リンパ球数は雌雄で不変であった。肝臓の相対重量が 10 mg/kg/day 以上で増加し、肝臓のペルオキシソーム増殖(肝臓アシル CoA オキシダーゼの測定)が 10 および 100 mg/kg/day (雄) または 100 mg/kg/day (雌) でのみ認められた。Rushing et al. (2017)

HFPO-DA アンモニウム塩(純度 84%)を Crl:CD(SD)ラットに 0、0.1、10、100 mg/kg/day (雄)、0、10、100、1,000 mg/kg/day(雌)の用量で 90 日間強制経口投与(OECD TG408 準拠)した。ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数の減少が雄の 10 mg/kg/day と 100 mg/kg/day で、雌の 1,000 mg/kg/day で認められた。また、100 mg/kg/day の雄で網状赤血球数および血小板数の増加が認められた。1,000 mg/kg/day の雌で、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン(MCH)、血小板数、網状赤血球の増加、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC) および好塩基球の減少が認められた。血清検査では雄の 10 および 100 mg/kg/day で、アルブミンおよび A/G 比の増加、グロブリンの減少が認められた。雌の 1,000 mg/kg/day で A/G 比の増加とグロブリンの減少が認められた。さらに、血清コレステロールは 100 mg/kg/day の雄および 100 mg/kg/day の雌および 1,000 mg/kg/day の雌で減少した。腎臓の相対重量の増加が、10 および

100 mg/kg/day の雄雌で認められた。肝臓の絶対重量と相対肝重量の増加が、10 および 100 mg/kg/day の雄および 1,000 mg/kg/day の雌で認められた。10 および 100 mg/kg/day の雄ならびに 1,000 mg/kg/day の雌に肝細胞肥大が認められた。10 mg/kg/day の雌雄における相対腎重量の増加、血液パラメータの変化、アルブミンおよび A/G 比の増加、グロブリンおよびコレステロールの減少、10 mg/kg/day の雄ラットにおける肝臓重量の増加に基づいて、この試験の NOAEL は 0.1 mg/kg/day とした (Haas (2009) cited in SVHC 2019)。

HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 84%) CrI:CD-1(ICR)マウスに 0、0.1、0.5、5 mg/kg/day を 90 日間強制経口投与 (OECD TG408 準拠) した。雄の 0.5 および 5 mg/kg/day 群で血小板数の増加が認められ、雄の 5 mg/kg/day 群で赤血球ヘモグロビン濃度のわずかな減少が認められた。また、血清臨床化学的变化は雌に比べ雄でより顕著であった。雄の 5 mg/kg/day でコレステロールは減少した。血清肝酵素は雄 (AST、ALT、ALP) および雌 (ALT、ALP) の 5 mg/kg/day 増加した。雄の 0.5 mg/kg/day 及び雌の 5 mg/kg/day (雌) で肝重量パラメータの増加が確認され肝臓の肥大および顕微鏡的な肝変化と関連していた。肝臓の病理組織学的所見は、雄の 5 mg/kg/day で単細胞壊死の増加、肥大 (軽微)、クッパー細胞色素、分裂像、雌では肥大 (軽度)、局所壊死 (軽微) および単細胞壊死が認められた。雄では 0.5 mg/kg/day でも肥大が確認された。さらに、雄の 5 mg/kg/day でわずかな胆管過形成が認められた。5 mg/kg/day の雄における肝血清酵素の変化を伴う肝重量の増加および肝肥大、単細胞壊死により本試験の NOAEL は 0.5 mg/kg/day とした (MacKenzie, 2010 cited in SVHC 2019)。

HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 84%) を CrI:CD(SD)ラット 0、0.1、1、50 mg/kg/day (雄)、0、1、50、500 mg/kg/day (雌) の用量で 2 年間強制経口投与 (OECD TG453 準拠) した。500 mg/kg/day の雌 7 例に試験物質に関連した死亡があり、原因として腎臓の炎症/壊死 (乳頭壊死 5 例) を特徴とした。雌ではすべての雌の投与群で生存率が低かったため 101 週目に終了させたが、群間で統計的に有意差は無かった。中用量群および高用量群の雌雄におけるアルブミンおよびグロブリンの変化は、6 ヶ月時点での 1 mg/kg/day 投与群を除いて、すべての投与間隔

で A/G 比の統計的に有意な増加をもたらした。ビリルビン値は、ほぼすべての間隔で中用量群および高用量群の雌で統計的に有意に低下した。さらに、血清肝酵素 (ALP、ALT、SDH) が 50 mg/kg/day の雄で増加した。雌 500 mg/kg/day では、腎重量の増加、尿細管拡張、腎乳頭水腫、移行細胞過形成などの腎臓への影響が認められた。高用量群の雌雄で、中間屠殺時に相対肝重量の増加が認められた。雌雄の 50 および 500 mg/kg/day に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。さらに、中間屠殺時に雌の 500 mg/kg/day で脾臓の絶対および相対重量の減少が認められたが肉眼的変化は確認されなかった。本試験における NOAEL は、雄の 1 mg/kg/day での A/G 比の増加から 0.1 mg/kg/day とした (Caverly Rae et al. (2015) cited in SVHC 2019)。

HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 84%) を CrI:CD1(ICR)マウスに 0、0.1、0.5、5 mg/kg/day の用量で強制経口投与した生殖/発生毒性スクリーニング試験 (OECD TG421) が行われた。5 mg/kg/day の雌では、腎重量の増加が認められた。0.5 および 5 mg/kg/day の雄で、腎尿細管細胞肥大の増加が認められた。また、肝重量の増加と肝肥大が雌雄に認められた。さらに、単細胞壊死の発生率が全用量群の雌雄で確認され、最高用量 (雌雄) では軽微から中程度、中間用量 (雄) では軽微にグレード分けされた。0.5 mg/kg/day の雌雄で、肥大および壊死が認められた。雄では、腎臓重量が 5 mg/kg/day で増加し、これは 0.5 mg/kg/day から認められる腎尿細管細胞肥大の増加と関連していた。雌でも、腎臓の絶対および相対重量の増加が認められた。0.5 mg/kg/day で雄の肝臓に認められた単細胞壊死を基に親動物の NOAEL は 0.1 mg/kg/day とした (Edwards (2010a) cited in SVHC 2019)。

HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 84%) を CrI:CD(SD) rats ラットに 0、10、100、1,000 mg/kg/day の用量で妊娠 6~20 日に強制経口投与する発生毒性試験 (OECD TG414) が行われた。最高用量群の雌 1 例が、妊娠 20 日に肝臓および腎臓の障害で死亡した。1,000 mg/kg/day では、試験物質に関連した臨床所見、平均腎重量の高値、および母動物の体重増加抑制が認められた。100 mg/kg/day 以上では妊娠子宮重量の減少が認められた。また 100 mg/kg/day 以上で肝重量増加が認められた。母体毒性の NOAEL は 100 および 1,000

mg/kg/day での早期分娩、肝臓の病理所見に基づいて、10 mg/kg/day とした (Edwards (2010b) cited in SVHC 2019)。

生殖発生毒性

HFPO-DA アンモニウム塩(純度 84%)を妊娠 CrI:CD(SD)ラットに 0、10、100、1,000 mg/kg/day の用量で妊娠 6~20 日に経口投与(発生毒性試験(OECD TG414))した。100 mg/kg/day 群では 4 匹、1,000 mg/kg/day 群では 9 匹が妊娠 21 日目に早産した。100 mg/kg/day および 1000 mg/kg/day で妊娠期子宮重量の減少が認められた。100 mg/kg/day および 1,000 mg/kg/day での妊娠期子宮重量の減少は、被験物質投与による平均胎児体重の減少に起因するものであった。1,000 mg/kg/day で第 14 痕跡状過剰肋骨の発生頻度が高く、性比が対照群に比べ大きく変化していたが、胎児の生存率、奇形、変異に対する影響は認められなかった。妊娠 21 日目の早産検証のため、第 2 の試験が行われた。試験プロトコルは同一で 100 と 1,000 mg/kg/day の 2 用量で行われた。投与群で早産の増加が確認され、胎児の体重も減少していた。100 および 1,000 mg/kg/day での早産、妊娠期子宮重量の減少および平均胎児体重の減少に基づいて発生毒性に関する NOAEL は 10 mg/kg/day とした (Edwards (2010b) cited in SVHC 2019)。

HFPO-DA アンモニウム塩(純度 84%)を ICR マウスに 0、0.1、0.5、5 mg/kg/day の用量で経口投与した生殖/発生毒性スクリーニング試験(OECD TG 421 の修正版)が行われた。生殖パラメータ(交配・繁殖・交尾指数;つがい形成から性交までの平均日数)には投与に関連した影響は認められなかったが、最終体重に対する雄の親動物の精巣上体重量が 5 mg/kg/day 群の精巣で統計学的に減少した。平均妊娠期間、平均着床部位数、平均出生児数、生存同腹児数、出生時の雄の割合、出生後の生存率、児動物の全身状態には投与に関連した影響は認められなかったが、児動物の 5 mg/kg/day 群の雌雄では、生後 4 日、7 日、14 日、21 日および 28 日に平均体重低下を示した。雄の児動物は、生後 35 日および 40 日にも引き続き平均体重の低下を示した。児動物の 5 mg/kg/day 群では、亀頭包皮分離および膣開口の達成(思春期発症の指標)の値が対照群の背景値の範囲内であったが、統計学的に有意な遅延が認められた。膣開口日は用量反応性を示さなかった。以上の結

果から発生毒性に関する NOAEL は 0.5 mg/kg/day とした。(DuPont-18405-1037 cited in EPA(2021))

エストロゲン、アンドロゲンおよびグルココルチコイド受容体活性を、一連の *in vitro* トランス活性化活性アッセイ(transactivation assay)により調べた。さらに、妊娠 CrI:CD(SD)ラット(3~9 匹/群)に、HFPO-DA を 0、1、3、10、30、62.5、125、250、500 mg/kg/day の用量で GD14~18 に経口投与し、母動物について生殖成績、肝臓における PPAR (α 、 β/δ 、 γ) 遺伝子の発現、肝臓重量、血清中脂質と甲状腺ホルモンについて検討された。胎児につて精巣のテストステロン産生量、精巣の遺伝子発現、肝臓における PPAR 遺伝子発現を調べた。さらに、生後発達の予備的評価として、妊娠ラットに 0 または 125 mg/kg/day の HFPO-DA アンモニウム塩を妊娠 14~18 日に投与し、F1 の生後 128 日(雌)および生後 146 日(雄)の体重、生殖管の奇形の検査を行った。母動物の血清甲状腺ホルモン濃度の低下が、30 mg/kg/day(総 T3)または 125 mg/kg/day(総 T4)以上の群で認められた。125 mg/kg/day 以上では血清脂質濃度の低下、62.5 mg/kg/day 以上で肝臓重量の増加が認められた。生存出生児数、胚吸収、胎児体重に有意な影響は見られなかった。*In vitro* で HFPO-DA は、エストロゲン受容体活性を示さず、細胞毒性に近い高濃度でわずかなグルココルチコイド受容体アンタゴニスト作用、および中程度のアンドロゲン受容体アゴニスト作用を示すのみであった。胎児の精巣でのテストステロン産生には影響を与えず、雄の発生に重要な遺伝子の発現にも影響はなかった。母動物および胎児の肝臓で、ともに 1 mg/kg/day 以上から PPAR シグナル経路に関連する多くの遺伝子の発現が増加した。特筆すべきは、胎児の肝臓は、影響を受ける遺伝子の数とアップレギュレーションの程度に関してより感受性が高いことが示唆された。出生後発生の予備試験では、F1 動物において雌の体重減少および雄の生殖器組織の重量減少が観察された。また、F1 の雌は発育中のいくつかの時点で体重の減少を示し、F1 雌成体は個体単位で肛門性器間距離の減少、肝臓重量の減少を示した。(Conley et al, 2019 cited in SVHC 2019)。

遺伝毒性

In vitro 試験としては、OECD TG471(Donner, 2008 ; Myhre, 2008)、OECD TG 476 (L5178Y/TK+) (Myhre, 2008) で陰性、OECD

TG 473 (CHO 細胞) の + S9 で陽性の結果 (Clarke, 2008) が報告されている。In vivo 試験としては、マウス骨髄細胞の小核試験 (OECD TG 474) と染色体異常試験 (OECD TG475) (Gudi and Krsmanovic, 2007) および、ラットの不定期 DNA 合成試験 (Pant and Sly, 2007) で陰性の結果が報告されている。

発がん性

HFPO-DA アンモニウム塩 (純度 84%) をラットに 0、0.1、1、50 mg/kg/day (雄)、0、1、50、500 mg/kg/day (雌) の用量で経口投与した慢性毒性/発がん性複合試験 (OECD TG453 準拠) が行われた。50 mg/kg/day 群の雄に膵臓の腺腫とがんの合計発生頻度、及び 500 mg/kg/day 群の雌に肝細胞腺腫およびがんの発生頻度が統計学的に有意に上昇した。また 50 mg/kg/day 群の雄で精巢のライディッヒ細胞腫瘍の発生頻度が上昇したが、統計学的に有意ではなかった。しかし、50 mg/kg/day 群で上昇した間細胞の過形成および腺腫の発生頻度が背景データを越えておりライディッヒ細胞腫瘍の発生頻度上昇が投与に関連していることが示唆された。一方、子宮間質性ポリープの発生頻度も統計学的に有意な増加であったが、背景データの範囲内であり投与との関連は不明である。膵臓の腺腫とがんの合計の発生頻度の増加をもとに発がん性としての NOAEL は 1 mg/kg/day である (Caverly Rae et al. (2015) cited in SVHC 2019)。

⑦2-Perfluorohexyl ethanol (6:2-FTOH) CAS: 647-42-7

体内動態

ラットに経口投与した場合の消失半減期は、肝臓で 17 時間、脂肪組織で 16 時間であった。血液及び組織 (肝臓及び脂肪組織) で検出された代謝物は、PFBA、PFPeA、PFHxA、PFHpA 及び 5:3 FTCA であった。血漿中では検出されなかった (ECHA Dossier cited in IMAP2019)。

反復毒性

6:2-FTOH を SD ラットに 25、75、225 mg/kg/day の用量で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422) が行われた。体重及び体重増加に対する影響が 75 mg/kg/day で確認された一方で、高用量 (225 mg/kg/day) での死亡、血清化学的変化 (アルブミン、総蛋白、グロブリン、尿素窒素、クレアチニン、ビリルビン、ALT、及び AST の高値)、肝臓及び腎臓重量の増加並

びに顕微鏡的变化 (腎臓、膵臓、胸骨骨髄、リンパ組織、肝臓、副腎皮質) が確認された。本試験の NOAEL を 25 mg/kg/day とした。 (ECHA Dossier cited in IMAP 2019)

6:2-FTOH (純度 99.7%) を SD ラットに 0、5、25、125、250 mg/kg/day の用量で 90 日間強制経口投与試験 (US EPA OPPTS 870.3100 準拠) が行われた。125 および 250 mg/kg/day では、死亡が認められ、その大部分は腎臓の変性と壊死に起因していた。25 mg/kg/day 以上の雌の群で血液学、臨床化学および尿検査のパラメータに変化が認められた。肝臓、腎臓および精巣上体の絶対重量および相対重量は有意に増加した。肝臓では 25 mg/kg/day で卵形細胞過形成などの病理組織学的影響が認められた。摂餌量と体重は有意に低く、歯牙障害、唾液過多、尿で汚れた腹部被毛、立毛、少量の糞便および自発運動量の低下がこれらの群で観察された。影響は雌ラットでより重度であった。また、単細胞肝細胞空胞化、肝細胞肥大、単細胞壊死、胆道過形成、大動脈周囲炎症および肝細胞空胞化が確認された。肝臓の影響、血液学的および臨床化学的パラメータに基づき、NOAEL を 5 mg/kg/day とした (Serex et al. (2014) cited in IMAP 2019)。

6:2-FTOH を CD-1 マウスに 1、5、25、100 mg/kg/day の用量で強制経口投与した 1 世代試験 (OECD TG 415 準拠) が行われた。体重の減少、肝細胞障害の指標となる赤血球および白血球のパラメータと臨床化学パラメータの変化が認められた。肝細胞肥大は、雌雄とも 5 mg/kg/day 以上の用量で認められたが、組織学的な影響は認められなかった。死亡率、臨床観察、体重、血液学、臨床化学 (肝臓関連)、肝臓重量に対する高用量での影響から、反復投与毒性の NOAEL は 5 mg/kg/day とした。 (Mukerji, et al. (2015) cited in IMAP 2019)

生殖発生毒性

上記の SD ラットへの反復投与毒性試験と生殖発生毒性併合試験において、親世代では、生殖能力、性交前間隔および妊娠期間は、すべての用量で被験物質投与による影響を受けなかった。児動物では、225 mg/kg/day で生存同腹児の死亡率の増加と雌雄児動物の平均体重の低下により、NOAEL は 75 mg/kg/day とした。 (ECHA Dossier)

上記の CD-1 マウスを用いた 1 世代試験試験において、100 mg/kg/day まで生殖毒性に関する

パラメータに影響は認められなかった。100 mg/kg/day 群で認められた児動物の成熟遅延の臨床徴候および授乳期における児動物の生存率および体重の減少に基づいて、発生毒性のNOAELは25 mg/kg/dayとした。(Mukerji, et al. (2015))

遺伝毒性

In vitro 試験としては、3つの細菌を用いる遺伝子復帰突然変異試験として TA100、TA1535、TA98、TA1537、WP2 uvrAを使った試験(2つはOECD TG471 準拠の明記あり)で陰性の結果が報告されている(ECHA REACH Dossier)。2つの染色体異常試験(CHO細胞とヒト末梢血リンパ球を使ったもの)で陰性の結果が報告されているが、CHL/IU細胞を使った染色体異常試験では+S9の条件で陽性の結果が報告されている(ECHA REACH Dossier)。マウスリンフォーマ試験(L5178Y細胞)(OECD TG 476)で陰性の結果が報告されている(ECHA REACH Dossier)。

In vivo 試験としては、不定期DNA合成試験(ラット、750、1,500 mg/kg 単回強制経口投与)で陰性の結果が報告されている ECHA REACH Dossier)。

⑧2-Perfluorooctyl ethanol (8:2-FTOH) CAS: 678-39-7

体内動態

i) 吸収

8:2-FTOH はラットで急速に吸収され(27~57%)、親化合物と代謝物は血液と組織に速やかに分布する(Hagen et al., 1981; Martin et al., 2005; Fasano et al., 2006 cited in EFSA 2020)。

ii) 分布

放射標識した 8:2 FTOH を経口投与 7 日後で、投与量の 4~7%が親化合物及び関連代謝物として組織に存在した。特に脂肪組織、肝臓、甲状腺、副腎での濃度が高かった。多くの組織濃度は全血中濃度よりも高かった(Fasano et al., 2006 cited in EFSA 2020)。

iii) 排泄

排泄は主に糞中(70%超)であり、胆汁中排泄は 20~45%で、尿中排泄は 4%未満であった。雌のほうが雄よりも多かった(Fasano et al., 2006 cited in EFSA 2020)。

iv) 代謝

血漿、尿、糞で同定された代謝物は、主に親化合物のグルクロン酸抱合体とグルタチオン抱合体、酸化及び還元体、PFOA、PFNA、

PFHpA、PFHxA であった。親化合物及び大部分の代謝物は、PFOA を除いて、速やかに組織から除去された(8:2 FTOH の消失半減期は約 5 時間)。総放射能で算出した消失半減期は、雄で約 9 日、雌で 7 日であった(Fasano et al., 2006 cited in EFSA 2020)。

単回投与試験では代謝プロファイルに雌雄差はみられなかったが、反復投与試験では PFCA (PFNA、PFOA、PFHpA) の肝臓中濃度は、雄のほうが雌よりも高かった(Fasano et al., 2006 cited in EFSA 2020)。

8:2-FTOH を SD ラットに 5 又は 50 mg/kg で単回強制経口投与して血液、尿、糞を分析した。50 mg/kg 群では、血清中の代謝物の最高濃度は PFOA の 1,995 ng/mL であったが、PFNA (25.66 ng/mL)も検出された。尿中代謝物は主に PFOA (303.6 ng/mL)であり、PFNA も低濃度 (0.84 ng/mL)で検出された。PFOA 及び PFNA 以外の PFCA の測定は行われていない(Dagnino et al., 2016 cited in EFSA 2020)。

8:2-FTOH を SD ラットに単回強制経口投与又は単回静脈内投与して血漿、肝臓、腎臓、及び脳中の親物質及び 2 つの代謝物(PFOA、7:3-フルオロテロマー酸[7:3-FTA])を測定した。強制経口投与後、8:2-FTOH は速やかに吸収、分布され、血漿消失半減期は 1.1~1.7 時間であった。8:2-FTOH のバイオアベイラビリティは雌雄ともに 22~41%であり、用量依存性はなかった。PFOA の血漿消失半減期は、雄のほうが雌よりも長かった(それぞれ 198~353 時間及び 4.47~6.9 時間)。7:3 FTA の血漿中半減期は、雌雄ともに約 2~3 日であった。8:2-FTOH 及び 7:3 FTA はすべての組織で検出された。PFOA は肝臓と腎臓で検出されたが、脳では検出されなかった。組織分布と PFOA の消失には雌雄差がみられたが、8:2-FTOH と 7:3-FTA ではみられなかった(Huang et al, 2019 cited in EFSA 2020)。

8:2-FTOH (30 mg/kg)を妊娠マウスに単回強制経口投与した。妊娠中(GD 9~GD 18)に、母体血清及び肝臓中の PFOA 濃度は、血清中では 789±41 ng/mL から 668±23 ng/mL に、肝臓中では 673±23 ng/mL から 587±55 ng/g に減少した。PFOA は投与後 24 時間で胎児に移行し、濃度は 45±9 ng/g (GD10)から 140±32 ng/g (GD18)に増加したが、PFNA は GD 18(31±4 ng/g)でのみ定量可能であった。出産後、母体血清 PFOA 濃度は、出生後(PND)1 日の

451±21 ng/mL から PND15 の 52±19 ng/mL に減少し、PFNA 濃度も、PFOA の 5 分の 1 ではあったが、同様の傾向を示した。投与した母動物とその出産児を交差(乳母)哺育させ、授乳によるばく露を調査した。PND 3 と PND 15 の両日とも、PFOA と PNDA が出生前及び又は出生後にばく露された新生児の血清と肝臓で検出され、母動物の 8:2 FTOH へのばく露により、児動物は子宮内及び乳汁経路で PFOA と PNDA にばく露されることが示された(Henderson and Smith, 2007 cited in EFSA 2020)。

ラット、マウス、及びヒトの肝細胞を用いた *in vitro* 試験で、8:2 FTOH はいくつかの PFCA に生体内変換されることが示唆された。ヒト肝細胞の PFOA 生成量は、マウス及びラット肝細胞よりも少なく、それぞれの約 1/20 及び 1/12 であった(Nabb et al, 2007 cited in EFSA 2020)。

反復毒性

8:2-FTOH を SD ラットに 0、5、25、125 mg/kg/day の用量で 84 日間強制経口投与し、75 日間回復期間を設けた試験が行われた。試験関連死亡は報告されなかった。125 mg/kg/day 群の雌雄で、斑状歯に被験物質に関連した統計学的に有意な増加が認められた。125 mg/kg/day 群の雄で、81 日目に体重および体重増加量の減少が認められた。125 mg/kg/day 群の雄で相対肝重量の統計学的に有意な増加が認められた。75 日間の回復後に雄の肝臓重量は回復したが、相対腎臓重量は用量依存的に有ではないが増加した。125 mg/kg/day 投与群の雌の 75 日間の回復後であっても肝臓および腎臓重量の統計学的に有意な増加が認められた。病理組織学的検査は行われていない(Ladics, 2001 cited in CLH report 2012)。

8:2-FTOH を SD ラットに 0、1、5、25、125 mg/kg/day の用量で 90 日間強制経口投与し、3 ヶ月間の回復期間を設けた試験が行われた。試験物質に関連した死亡例はない。125 mg/kg/day 群の雌雄で、斑状歯に被験物質に関連した統計学的に有意な増加が認められた。雌雄ともに、いずれの用量群においても、被験物質に関連した体重または体重増加量、摂餌量および摂餌効率の変化は報告されていない。高用量群でβ酸化の増加が雌雄で認められた。また、25 mg/kg/day の雌では、90 日時点において統計的に有意な肝 β 酸化の増加が認められた。125 mg/kg/day では、雄のみ肝重量の増加

が顕微鏡的な肝細胞肥大と関連していた。90 日間の曝露後、雄の 25 および 125 mg/kg/day 群で局所肝壊死の発生率の増加が報告された。3 ヶ月の回復後でも雄ラットにおける肝細胞壊死の発生率は対照群よりも高かった。腎臓重量の統計的に有意な増加が、25 mg/kg/day 群の雌雄で認められた。雄の 25 mg/kg/day では腎臓の尿細管肥大が観察された。慢性進行性腎症の発症率及び重症度の有害な上昇が、125 mg/kg/day 群の雌で認められ、3 ヶ月の回復期では発症率及び重症度が増加した。すべての投与群の雄で甲状腺病変(変質コロイド)の発生率および/または程度が増加した。血漿中フッ素濃度は最高用量群で投与期間中に増加したが、投与 3 ヶ月後の血漿中フッ素濃度は対照群と同様であった。尿中フッ素は用量依存的に増加し、3 ヶ月の回復後でも、尿中総フッ素は高用量群の雄で対照群の約 3 倍、雌でわずかに増加し、被験物質の代謝が継続していることが示唆された。高用量群のラットでは、エナメル器官のアメロブラスト細胞が変性し、無秩序な状態になっていた。これらの病変は回復群の一部の動物に残存しており、フッ化物中毒による有害作用と考えられた。本試験では、肝壊死の発生率増加に基づいて NOAEL は 5 mg/kg/day とした。(Ladics et al., 2008 cited in CLH report 2012)。

生殖発生毒性

8:2 FTOH を妊娠SDラットにGD 6 からGD 20 まで、0、50、200、500 mg/kg/day の用量で強制経口投与発生毒性試験が行われた。母動物では、500 mg/kg/day 群で死亡、低体重及び体重増加抑制がみられた。児動物では、奇形はみられなかったが、頭蓋骨骨化遅延の発生頻度の上昇が200 mg/kg/day以上の群でみられ、500 mg/kg/day 群では骨盤の骨化遅延と波状肋骨の発生頻度の上昇もみられた。500 mg/kg/day では骨化遅延による骨格変異の発生頻度が明らかに上昇していた。なお、CLH report 2012 ではこの骨化遅延は胎児体重の減少を伴っていないことに着目し、胎児への影響を伴わずまた母動物毒性がみられない用量で発生した骨格変異は、注意を要する知見である指摘している。発生毒性の NOAEL は、EFSA では 200 mg/kg/day としているが CLH report は 50 mg/kg/day とした。(Mylchreest et al., 2005 cited in CLH report 2012)

遺伝毒性

*In vitro*試験として、細菌を用いる復帰突然変異試験で TA100、TA1535、TA98、TA1537、WP2 uvrAを使った試験(C LH report 2012)とTA 98、TA 100、WP2 uvrAを使った試験(CEBES)で陰性の結果が報告されている。

*In vivo*試験としては、小核試験(ラット、骨髄)(CLH report 2012)で陰性の結果が報告されている。

⑩ 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorooctane sulfonic acid (6:2FTS) CAS: 27619-97-2

体内動態

*In vitro*での代謝スクリーニング試験、雄ラットの肝臓を用いて、被験物質を2時間インキュベーションした後に残留する親化合物の量を測定したが、代謝は予想されなかった。(ECHA REACH Dossier)

In vivo トキシコキネティクス-排泄試験が行われ、単回強制経口投与 96 時間後に、被験物質の 65~68%が尿中に回収された。尿中排泄の消失半減期は NMR 及び LC/MS による測定で 20.9 及び 23.75 時間であった。(ECHA REACH Dossier)

反復毒性・生殖毒性

6:2-FTSカリウム塩をWistar Han IGS ラットに 5、15、45 mg/kg/dayの用量で反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験(OECD TG422)が行われた。雄動物の曝露期間は90日間であった。死亡例はなく、一般状態、神経行動学的所見、成長、摂餌量、赤血球変数、凝固能及び剖検結果に変化はなかった。高用量群の雄でBUN濃度が高く投与に関連していると考えられた。雄では、ホルモン濃度(T 4)に対する影響は認められなかった。病理組織学的検査で高用量群の雄と雌において軽度から中等度(多発性)の限局性尿管拡張が認められた。雄における腎臓の病理組織学的変化に基づいて、反復投与毒性のNOAEL は15 mg/kg/day とした。雌雄の受胎能及び生殖能に対する影響は認められなかった。児の数、児の生存率、成長、性比、及び発生パラメータについて、同腹児のデータに影響はなかった。生殖能及び発生毒性のNOAEL は45 mg/kg/dayとした。(ECHA REACH Dossier)

遺伝毒性

*In vivo*試験として、コメント試験(ラット肝臓および胃)(OECD TG 489)の陰性の結果が報告されている。(ECHA REACH Dossier)

表3. PFAS 類物質の NOAEL (LOAEL)の一覧表

化合物名(略称)	反復投与毒性	生殖発生毒性
PFTeDA	Hirata-Koizumi M, et.al., (2015) 反復生殖併合試験 NOEL:1 mg/kg/day	Hirata-Koizumi M, et.al., (2015) 反復生殖併合試験 NOEL:3 mg/kg/day
PFHxD A	Hirata-Koizumi M, et.al., (2015) 反復生殖併合試験 LOEL:4 mg/kg/day	Hirata-Koizumi M, et.al., (2015) 反復生殖併合試験 NOEL:20 mg/kg/day
PFODA	Hirata-Koizumi M, et.al., (2012) 反復生殖併合試験 NOEL:40 mg/kg/day	Hirata-Koizumi M, et.al., (2015) 反復生殖併合試験 NOEL:200 mg/kg/day
ADONA	Gordon (2011) ラット90日間試験 LOAEL:10 mg/kg/day	Gordon (2011) 発生毒性試験 NOAEL:30 mg/kg/day
HFPO-DA (GenX)	Caverly Rae et al. (2015) ラット2年間慢性毒性/発がん性複合試験 NOAEL:0.1 mg/kg/day	DuPont-18405-1037 マウス生殖/発生毒性スクリーニング試験 NOAEL:0.5 mg/kg/day
C6O4	-	-
6:2-FTOH	Serex et al. (2014) ラット90日間試験 NOAEL:5 mg/kg/day	Mukerji, et al. (2015) マウス1世代試験試験 NOAEL: 25 mg/kg/day
8:2-FTOH	Ladics et al., (2008) ラット90日間試験 NOAEL:5 mg/kg/day	Mylchreest et al., 2005 発生毒性試験 NOAEL: 50 mg/kg/day
4:2FTS	-	-
6:2FTS	ECHA REACH Dossier 反復生殖併合試験 NOAEL:15 mg/kg/day	ECHA REACH Dossier 反復生殖併合試験 NOAEL:45 mg/kg/day

2.WHO ガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理

2-1. TCE の毒性情報の整理と評価手法の情報を整理

TCE は代表的な地下汚染物質であり、地下水を原水としている地域等において、特異的に高濃度で水道水中に含まれる場合があり、高濃度で水道水から摂取する集団があると考えられている。

TCE の WHO (2020) の評価では、用量反応関係の評価に適していると考えられるヒト及び動物のデータについて、LOAEL/NOAEL アプローチ、ベンチマークドーズ (BMD) 解析及び PBPK モデリングを用い、単一の主要研究ではなく、様々な研究から得られた TDI 候補の POD を考慮することがより適切であると考え、複数候補の POD が TDI の導出に含まれた。エンドポイントには、ヒトおよび動物における神経作用；動物の腎臓、肝臓、体重への影響；動物における免疫学的効果；ヒトと動物の生殖への影響；動物における発生への影響が報告されている。前回の評価(WHO, 2005 年)以降、新たな発がん性データは確認されておらず、主要な研究は、非がん効果を特定するものの中から選択されており、POD は前回の評価で使用されたものよりも低くなっている。

PBPK モデリングは、異なる代謝物が果たす役割に関する現在の理解に基づいて、内部用量を計算するために使用された。種間および種内の薬物動態変動を推定し、重要な影響の候補として、ヒト等価用量の 99 パーセンタイル (HED 99) 値を得た。PBPK モデルでは 100 週間のヒト曝露をシミュレーションしたが、それ以上の長時間のシミュレーションにおける HED の変化は少なく連続的な生涯曝露の代表と考えられた。

利用可能な研究のうち、以下の 3 試験が TDI を導出する上で重要であると考えられた。

Keil et al., (2009)

TCE を 30 週間飲水曝露した結果、雌マウスの胸腺重量が減少し、LOAEL が 0.35 mg/kg bw/day であることを確認した。PBPK モデルを使用して、生涯連続曝露の HED 0.048 mg/kg bw/day を算出し、これを POD として使用した。

Peden-Adams et al. (2006)

マウスの妊娠期間(妊娠 0 日)から 3 または 8 週齢まで飲料水(胎盤および授乳期の移行、および児の摂取)を介して曝露された児のプラーク形成細胞反応の減少 (3 および 8 週齢) および遅延型過敏症の増加 (8 週齢) が認められた免疫毒性作用に基づいて、0.37 mg/kg bw/day の LOAEL が特定され、POD とされた。モデルの適合性が不十分であるために BMD を計算できず、また、胎児および児の曝露パターンを説明する適切なモデルおよびパラメータがないため、PBPK モデリングは適用されなかった。

Johnson et al., (2003)

Sprague-Dawley ラットに 0.0025 ppm を超える濃度の TCE を妊娠 1~22 日に飲料投与し、0.25 ppm を超える母体曝露レベル (推定母体用量 >0.048 mg/kg bw/day) での胎児心奇形発生率の増加が重大な影響と特定された。ラット BMDL 01 の外部投与量 0.0207 mg/kg bw/day に PBPK モデルを適用し、ラットの内部投与量を算出した。これは HED 99 の 0.0051 mg/kg bw/day に換算された。

WHO は、個々の研究については評価上の限界があるが、POD として単一の最も低い NOAEL または BMDL を選択するのではなく、複数の重要な効果を選択することによって、その限界が克服されるとし、TDI の導出を次の通り 3 試験を総合的に評価に用いている。

Keil et al., (2009)

HED 99=0.048 mg/kg bw/day

•LOAEL の使用を考慮

UF=10

•PBPK モデルは、種間のトキシコキネティクスの違いを特徴づけるために使用されたため、種間のトキシコダイナミクスの違いに関連する残りの不確実性を考慮

UF=2.5

•PBPK モデルがヒトのトキシコキネティクスの変動性を特徴づけるために使用されたため、トキシコダイナミクスにおけるヒトの変動性に関連する残りの不確実性を考慮

UF=3.2

TDI=0.048/80 (10*2.5*3.2) =0.0006 mg/kg bw/day

Peden-Adams et al., (2006)

LOAEL=0.37 mg/kg bw/day

・LOAEL の使用を考慮

UF=10

・種差 (PBPK モデルを開発するための十分なトキシコキネティクスデータがないため、デフォルト値が使用された)

UF=10

・個人差(PBPK モデルを適用するための十分なトキシコキネティクスデータがないため、デフォルト値が使用された)

UF=10

$TDI=0.37/1000 (10 \times 10 \times 10) = 0.00037 \text{ mg/kg bw/day}$

Johnson et al., (2003)

HED 99=0.0051 mg/kg bw/day (BMDL 01 に由来)

・PBPK モデルは、種間のトキシコキネティクスの違いを特徴づけるために使用されたため、種間のトキシコダイナミクスの違いに関連する残りの不確実性を考慮

UF=2.5

・PBPK モデルがヒトのトキシコキネティクスの変動性を特徴づけるために使用されたため、トキシコダイナミクスにおけるヒトの変動性に関連する残りの不確実性を考慮

UF=3.2

$TDI=0.0051/8 (2.5 \times 3.2) = 0.00064 \text{ mg/kg bw/day}$

算出された TDI 値は 0.0003~0.0006 mg/kg bw/day の狭い範囲に収まった。PBPK モデルに基づく TDI 値は、ラットの心臓奇形(Johnson et al., 2003)とマウスの胸腺重量の減少(Keil et al., 2009)の両方に対して 0.0006 mg/kg bw/day である。最も低い TDI は Peden-Adams et al. (2006) によるものであり、発生免疫毒性の適用用量 LOAEL に基づいて 0.00037 mg/kg bw/day の TDI 値を導き出した。データベースのさらなる裏付けデータとして、ラットの中毒性腎症 (0.0003 mg/kg bw/day) とラットの腎臓重量の増加 (0.0008 mg/kg bw/day)もある。全体的な TDI は 0.0005 mg/kg bw/day が適切であると考えられ、個別の値ではなく複数の影響によって裏付けられた。WHO は本 TDI に体重 60 kg 及び飲水量 2L 及び寄与率 50%を適用して、次式の通り水道水の基準値として 8 µg/L という値を定めた。

$TDI \times \text{体重} = \text{曝露量} \times \text{寄与率}$

$$= 0.5 \text{ } \mu\text{g/kg/day} \times 60 \text{ kg} \div 2 \text{ L} \times 0.5$$

$$= 7.5 \text{ } \mu\text{g/L} (8 \text{ } \mu\text{g/L} = 0.008 \text{ mg/L})$$

日本の TCE の水道水基準値は、平成 23 年に 0.03 mg/L (発がん影響で導出)から 0.01 mg/L に強化された。強化された背景には WHO のガイドライン(第3版第1次追補)が、非発がん影響について発がん性影響よりも低い評価値を導出し基準値の見直しを行った事がある。日本の現行の水道水基準値のキースタディは Dawson ら (1993) のラット交配前から妊娠期間の飲水投与試験であり、これは当時の WHO のキースタディと同一である。なお、Dawson ら(1993)の試験は、統計処理を腹毎に行っておらず心臓奇形数の全胎児数の割合としてのみ表現しており、発生毒性の評価として限定的である。今回の評価では同じく心臓に対する影響を認めた Johnson ら (2003)の試験を評価に用いている。

日本の水道水の現行の基準値の導出では、胎児の心臓異常の BMDL10(0.146 mg/kg/day)に不確実係数 100 を適用し TDI を 1.46 µg/kg/day と設定し、経口飲水分と入浴時の吸入・経皮曝露分の合計として70%の寄与率、曝露量5L、体重 50 kg を適用し次式の通り日本の水道水の基準値を 0.01 mg/L と定めている。

$TDI \times \text{体重} = \text{曝露量} \times \text{寄与率}$

$$= 1.46 \text{ } \mu\text{g/kg/day} \times 50 \text{ kg} \div 5 \text{ L} \times 0.7$$

$$= 10.22 \text{ } \mu\text{g/L} (0.01 \text{ mg/L})$$

WHO(2020)の新しい TDI(0.5 µg/kg/day)を用いて、日本の現行の基準値算出に使用した曝露量(5L)と寄与率(70%)を代入すると基準値は次式の通り 0.004 mg/L と試算された。

$TDI \times \text{体重} = \text{曝露量} \times \text{寄与率}$

$$= 0.5 \text{ } \mu\text{g/kg/day} \times 50 \text{ kg} \div 5 \text{ L} \times 0.7$$

$$= 3.5 \text{ } \mu\text{g/L} (4 \text{ } \mu\text{g/L} = 0.004 \text{ mg/L})$$

試算結果は現行の基準値(0.01 mg/L=10µg/L)の半分以下の値であった。化学物質の水道水質基準値の多くは、水道水からの直接飲水による経口曝露を想定しているが、入浴時などに揮発性物質の吸入や経皮経由の間接曝露が発生することがある。令和元年及び2年度の研究班において、経口経路以外の間接曝露を考慮したベンゼン、ジクロロメタン、四塩化炭素の水道水質基準値の評価をおこなっているが、入浴

時などの揮発性物質の吸入や経皮経由の間接曝露を考慮すると寄与率は 50%程度が見込まれ、TCE などの揮発性の高い物質については寄与率の精査の必要性が示唆されている。令和 4 年の水質基準逐次改正検討会の資料における過去 5 年間の水道水質データから 95-97%の地点(全 5000~8000 地点)で現基準の 10% (0.0001 µg/L)未満であるとなっているが、現行基準の 50%を越える地点が毎年、数地点報告されている。一方で平成 23 年の基準値見直しの際に報告された情報ではあるが、TCE の浄水における実測最大濃度は、24 µg/L (H16)、15 µg/L (H17)、12 µg/L(H18)、12 µg/L(H19)との報告もある。このような高い濃度が検出される地点のほとんどは地下水を水源としていることであり、地域的な対策が可能であることや、最近の検出状況では 99.9%以上の地点で 0.005 µg/L を下回っていることから現状に懸念があるという状況ではないと考えられる。しかし、これらの曝露に関する情報と WHO の新しい TDI の情報に鑑み、我が国における基準値の再検討を見据えた寄与率の精緻化に関する曝露評価研究や、我が国の水質基準の根拠となっている TDI 値の再評価に向けた取り組みを行うことも必要であると考えられた。

2-2. PCE の毒性情報の収集及び最新評価の概要

PCE (CASRN:127-18-4) は、エーテル臭のある、無色、揮発性の液体で、常温では気体として存在する。主に代替フロンの原料として用いられ、それ以外ではドライクリーニングの溶剤、金属機械部品等の脱脂洗浄剤、香料、溶剤(医薬品、香料、ゴム等)として用いられている(ATSDR,2019) (NITE,2006) (FSC,2008)。

経済産業省および環境省の2022 年度PRTR データ (https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/law/prtr/6.html)によると、PCEの年間排出量は、全国合計で届出事業者から大気へ484 トン、公共用水域へ1 トン、廃棄物として360 トン、下水道に1 kg移動している。土壌への排出はない。PCEの地下水の汚染の原因は、使用や処理の過程での不適切取り扱いや不法な廃棄による土壌への汚染と考えられている(NITE,2006)。

1996および2004年のWHOによる水道水中の旧

GV 0.04 mg/Lの基になったTDIは、雄マウスを用いた6週間経口投与試験 (Buben and O'Flaherty,1985) および雌雄ラットを用いた90日間飲水投与試験(Hayes et.al,1986) における肝臓への毒性影響のNOAEL; 14 mg/kg/dayを不確実係数1000(種差10、個体差10、肝臓における発がんポテンシャル10)で除して導出した14 µg/kg bw/dayであった。WHOの水道水の旧GV値は、TDI: 14 µg/kg/dayに成人体重60 kg、一日飲水量2 Lおよび飲料水への寄与率10%を適用して設定された(WHO,2003)。

$$\begin{aligned}\text{旧 GV} &= \text{TDI} \times \text{体重} \div \text{曝露量} \times \text{寄与率} \\ &= 14 \mu\text{g/kg/day} \times 60 \text{ kg} \div 2 \text{ L} \times 0.1 \\ &= 42 \mu\text{g/L} \quad (40 \mu\text{g/L} = 0.04 \text{ mg/L})\end{aligned}$$

(WHO,2003)

WHO による最新の評価では、水道水中の PCE の GV は、旧 GV の 0.04 mg/L から 100 mg/L へと変更された(WHO,2020)。最新の評価で新たに追加されたデータはなかった。PCE の毒性情報は、吸入曝露によるヒトの疫学研究や実験動物の試験結果が中心であり、経口曝露による毒性情報は少ない。高用量曝露のげっ歯類の試験結果から低用量曝露のヒトへの影響へ線形外挿は、代謝の種差、酸化的代謝の飽和による代謝物の非線形的生成等の理由から適切でないが、PBPK モデリングによって、投与経路による初回通過効果の差、吸入から経口への外挿、内部曝露量の算出に適用しうると考えられた。2000 年以前に開発された PCE の PBPK モデルは、代謝シミュレーションが十分ではなかったが、近年開発された PBPK モデルは肝臓での酸化的代謝、グルタチオン S-トランスフェラーゼ(GST)を介する代謝を考慮し、げっ歯類からヒト、吸入から経口への外挿に有用と考えられた。以下に、WHO が発がん性の評価および発がん性以外の毒性評価に用いた試験の概要を整理した。

発がん性の評価および POD 算出

発がん性毒性のキースタディは、JISA (1993) およびNTP (1986) によるマウスおよびラットを用いたPCE吸入投与による2年間発がん性試験であった。以下に概要を述べる。

F344/DuCrj ラット(一群雌雄各 50 匹)およびBDF1 マウス(一群雌雄各 50 匹)を用いた PCE

(純度:99.9%) 吸入(ラット:0、50、200 および 600 ppm、マウス:0、10、50 および 250 ppm) 曝露(6時間/日、5日/週)による104週間発がん性試験が実施された。腫瘍性病変は、ラットでは脾臓において単核球性白血病が600 ppm 投与群の雄で有意に増加し、雌では増加傾向が認められた。また、ラットの雌雄で、腎尿細管の巨大核が最高用量で認められた。マウスでは250 ppm 投与群の雌雄で肝細胞癌、肝細胞腺腫、肝細胞癌及び肝細胞腺腫(合計)の有意な増加が認められた。また、最高用量の雄で脾臓の血管内皮腫が増加傾向を示した(JISA,1993)。

F344/N ラット(一群雌雄各 50 匹)および B6C3F1 マウス(一群雌雄各 49/50 匹)を用いた PCE(純度:99.9%)吸入(ラット:0、200 および 400 ppm、マウス:0、100 および 200 ppm)曝露(6時間/日、5日/週)による103週間発がん性試験が実施された。腫瘍性病変は、ラットでは、雌雄で統計学的有意差はなかったが、背景データを超えた単核球性白血病の発生率の増加、雄で統計学的有意差はなかったが、背景データを超えた腎尿細管腺腫および癌(合計)の増加が認められた。また、ラットの雌雄で、腎尿細管細胞の核肥大が認められた。マウスでは、雌雄で肝細胞癌、肝細胞癌および腺腫の増加(合計)、雄で肝細胞腺腫の有意な増加が認められた。(NTP,1986)。

PCEのマウスにおける肝臓毒性および発がん性には、代謝物であるトリクロロ酢酸(TCA)およびジクロロ酢酸(DCA)に由来し、マウス>ラット>ヒトの順番で生成量が高く、代謝には種差が認められている。肝発がんのメカニズムには、遺伝毒性機序によるものではなく、DNA 低メチル化、細胞毒性、アポトーシス、酸化ストレス、ギャップ結合を介した細胞間コミュニケーションの機能不全、のようなエピジェネティックな影響を含む、いくつかの同時メカニズムからの重要なイベントが作用する可能性がある。これらのメカニズムには、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α (PPAR α)の活性化が関与する可能性がある。PCEの発がん性は、証拠の重み付け(weight of evidence)により、閾値のある毒性として、ベンチマークドース(BMD)法を用いTDIが導出された。なお、BMD解析には米国EPAが開発したBenchmark Dose Software (BMDS Version 2.2 R67)が使用された(WHO,2020)。

発がん性毒性の用量反応評価においては、雌雄のマウスで統計学的に有意に増加した肝

細胞腺腫および肝細胞癌が最も適切なエンドポイントとされた。また上記2試験のキースタディの両方で観察されていることから、肝でにおける発がん性の再現性も確認された。マウスの雄で認められた脾臓の血管内皮腫(JISA,1993)、ラットの雄で認められた腎臓の尿細管腺腫および腺癌(NTP,1986)は、1試験の片性のみで観察された腫瘍であり、背景データをわずかに上回る程度で発生率は低く、統計学的有意差もなかったため、用量反応評価のエンドポイントとしては選択されなかった。上記2試験の両方で、ラットの雌雄において、単核球性白血病の増加が認められた。F344 ラットは単核球性白血病の自然発生率が高い系統であるが、PCE投与群では、単核球性白血病発生率は対照群および背景データを明らかに上回っていた。曝露から腫瘍形成が短期間であったこと、発生率および悪性度には用量相関性があったことから、単核球性白血病とPCE曝露の関連性が強く示唆された。一方、ヒトにおけるPCE曝露と単核球性白血病の関連は不明であったことから、発がん性のエンドポイントとしては肝細胞腺腫および肝細胞癌がより適切であると考えられた(Health Canada,2015)。発がん性のpoint of departure (POD)は、benchmark response (BMR) 10%の95%信頼限界の用量下限値BMDL₁₀とし、1.7 mg/kg/dayが算出された。発がん性の許容一日摂取量(TDI)は、BMDL₁₀:1.7 mg/kg/dayを不確実係数(UF):75で除した0.023 mg/kg/dayが設定された。

TDI (発がん性毒性)

$$= \frac{1.7 \text{ mg/kg/day}}{75} = 0.023 \text{ mg/kg/day}$$

なお、UFは、以下を考慮したものである。

- ・マウス/ヒトのトキシコダイナミクス違いを2.5とした。マウス/ヒトのトキシコキネティクスの違いはPBPKモデルにより考慮される。
- ・個体差を10とした。ヒトにおけるPCE代謝を考えると、V_{max} およびK_m値の個体差が大きく、遺伝的多型が起因すると考えられた。
- ・発がんポテンシャルを考慮した3。これは保守的な考え方に基づくものである。

非発がん性の評価およびPOD算出

非発がん性毒性のTDIは、全ての試験を精査し、最も低い用量で表れる毒性影響をエンドポイント、すなわちPODとした。PCE曝露による

非発がん性毒性の評価は、神経毒性症状に基づき実施された。神経毒性症状は、職業曝露を対象とした疫学研究、さらに管理された条件下での急性レベルの曝露条件下のヒトでの試験において認められ、肝臓、腎臓、生殖への影響に比べて、より保守的にリスクが評価された。PCEによる神経毒性症状は、実験動物においても認められたが、ヒトを対象とした疫学研究では、より低用量で毒性症状が認められたことから、疫学研究からキースタディが選択された。しかしながら、多くの疫学研究は、対照群の設定が適切でない、対照群が欠落している、曝露群が1群のみで用量反応が不明、曝露濃度が不明、曝露濃度が急性毒性レベルで他の調査よりも高い、毒性症状が認められない/限定的/用量相関性に欠ける等の理由で除外された。その結果、Cavalleri A et al. (1994)の疫学研究をキースタディ、キースタディの質的にサポートする位置づけで、曝露評価の堅牢性は低いが、Echeverria D et al. (1995)の疫学研究が用いられた(WHO,2020) (Health Canada,2015)。以下に概要を述べる。

Cavalleri A et al. (1994)によるPCEの職業曝露と色覚障害についての疫学研究である。調査対象は、ドライクリーニングの12の事業所から集めた35名の労働者(男性2名、女性33名)で、高濃度曝露群;7.27 ppm (8-hour time-weighted average exposure:TWA)、低濃度曝露群;4.8 ppmに分け、調査時点における労働者の平均曝露期間は8.8年、性別、年齢、飲酒/喫煙習慣を曝露群と合わせ、眼に健康影響がある溶剤等の職業的な曝露のない労働者を集めて対照群とした。高濃度曝露群(7.27 ppm)の労働者のcolour confusion index (CCI)値は、対照群と比較して有意に高く、色覚異常(主に青から黄色の領域)が認められたが、低濃度曝露群(4.8 ppm)は認められなかったことから、本調査の労働者の色覚への影響についてのNOAELは、4.8 ppmと考えられた。Echeverria D et al. (1995)による疫学研究では、標準化された神経毒性バッテリー試験で診断を実施し、認識能力および空間視覚能の変化を認めた。Cavalleri A et al. (1994)による疫学研究をTDIの設定根拠とし、CCI値のBMDアプローチにより、 BMD_{10} :7.2 ppmの95%信頼限界の下限值 $BMDL_{10}$:6.6 ppmが算出された。次にHealth Canadaで確立されたPBPKモデル(Nong A,2013)によって、吸入曝露量から経口曝露量へのシミュレーション

が行われ、経口投与量:4.7 mg/kg/dayへ変換された。非発がん性毒性のTDIは、非発がん性のPOD:4.7 mg/kg/dayをUF:300で除した0.016 mg/kg/dayが設定された。

TDI (非発がん性毒性)

$$= \frac{4.7 \text{ mg/kg/day}}{300} = 0.016 \text{ mg/kg/day}$$

なお、UFは、以下を考慮したものである。

- データ不足による10。利用可能な試験が比較的早く、得られるデータに限界があること、また発がん性のMOAが解明されていないことを考慮。
- 個人差10
- 職業曝露の平均曝露年数8.8年から外挿した生涯曝露であることによる3

GVの設定

PCEのGVを設定するにあたり、発がん性毒性および非発がん性毒性のエンドポイントが精査された。遺伝毒性メカニズムでない閾値のある毒性として導出した発がん性毒性のTDI:0.023 mg/kg/dayは、非発がん性のTDI:0.016 mg/kg/dayよりも高値であったことから、GV値は非発がん性毒性のTDIから設定された。非発がん性のTDI:0.016 mg/kg/dayに成人体重60 kg、一日飲水量2 Lおよび飲料水への寄与率20%を適用した(WHO,2020)。

GV = TDI × 体重 ÷ 曝露量 × 寄与率

$$= 0.016 \text{ mg/kg/day} \times 60 \text{ kg} \div 2 \text{ L} \times 0.2$$

$$= 96 \text{ } \mu\text{g/L} \quad (96 \text{ } \mu\text{g/L} \doteq 100 \text{ } \mu\text{g/L})$$

WHOで採用されたPBPKモデルは、Health Canadaで確立されたモデルであるが、Health Canadaにおける水道水中のPCEの評価では、発がん性毒性および非発がん性毒性のキースタディの選定、BMDアプローチによるPODの設定、PBPKモデリングによる吸入曝露量からの経口曝露量のシミュレーションは、WHOと同様であるが、UFの考え方がWHOと異なっており、TDIがより保守的に設定された(Health Canada,2015)。以下に概要を整理する。

発がん毒性のTDIは、 $BMDL_{10}$:1.7 mg/kg/dayをUF:250で除した0.0068 mg/kg/dayとした。UFは、以下を考慮したものである。

- 種差10
- 動物種間のトキシコダイナミクス違いによる

2.5

- ・発がんポテンシャルを考慮した10

$$\begin{aligned} \text{TDI (発がん性毒性、Health Canada)} \\ &= \frac{1.7 \text{ mg/kg/day}}{250} \\ &= 0.0068 \text{ mg/kg/day} \end{aligned}$$

非発がん毒性のTDIは、BMDL₁₀ : 4.7 mg/kg/dayを不確実係数;1000で除した0.0047 mg/kg/dayとした。UFは、以下を考慮したものである。

- ・個人差10
- ・データ不足による10
- ・職業曝露の平均曝露年数8.8年から生涯曝露の外挿であることによる10

$$\begin{aligned} \text{TDI (非発がん性毒性、Health Canada)} \\ &= \frac{4.7 \text{ mg/kg/day}}{1000} \\ &= 0.0047 \text{ mg/kg/day} \end{aligned}$$

非発がん毒性のTDIに成人体重70 kgおよび複数経路の曝露を考慮した一日あたりの水消費量6.2Lおよび寄与率20%を適用して、次式の通り水道水のHBVを導いた。

$$\begin{aligned} \text{HBV (Health Canada)} \\ &= \text{TDI} \times \text{体重} \div \text{曝露量} \times \text{寄与率} \\ &= 0.0047 \text{ mg/kg/day} \times 70 \text{ kg} \div 6.2 \text{ L} \times 0.2 \\ &= 0.0106 \text{ mg/L (10.6 } \mu\text{g/L} \div 10 \mu\text{g/L)} \end{aligned}$$

D. 結論

水道水の水質管理に必要な水質基準値や要検討項目の目標値等の逐次改訂にあたり、対象となる化学物質の最新の毒性知見を収集し、健康影響評価値の設定、改正等に資する毒性情報の収集を目的としており、本研究では、近年国際的に関心の高いPFAS化合物についての毒性情報の収集と、WHOガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理を行った。初年度は、先行して規制進んでいる欧州の飲料水指令で管理されることとなっている20種のPFAS化合物類のうち、国内で要検討項目として目標値が設定されているPFOSとPFOA以外の18化合物についての情報収集整理を行った。健康影響評価値の設定に必要な体内動態、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、発がん性に係る情報が得られたのは18物質中

11物質であった。スルホン酸化合物よりもカルボン酸化合物に関する情報の方が多く得られた。そのうちNOAEL (LOAEL)等の毒性の用量相関性に関するデータが得られたのは9物質であった。どの化合物も反復投与毒性も生殖発生毒性も同様のレベルで毒性が発現しており、カルボン酸化合物については、炭素数が8未満のPFAS化合物よりも9以上(11までの)PFAS化合物でより低用量で毒性が発現している傾向が認められた。今年度は、2022年に欧州の水枠組み指令の改定案にリストされたPFAS24物質のうち、昨年度の調査(欧州飲料水指令)で対象とならなかった8化合物と国内で検出例が知られている2化合物(4:2FTS、6:2FTS)について、体内動態、反復投与毒性、生殖発生毒性、発がん性(遺伝毒性を含む)に関する毒性情報収集を行った。健康影響評価値の設定に必要な体内動態、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、発がん性に係るNOAELなどの定量的情報が得られたのは10物質中8物質であった。ほとんどの化合物で共通して肝臓への影響が報告されており、NOAELの根拠となっていた。HFPO-DA (GEN-X)のNOAELは最も低く0.1 mg/kg/dayであったが、その他の物質のNOAELは1-45 mg/kg/dayの範囲と考えられた。炭素数が14以上のカルボン酸類は、炭素数が多くなるに従い毒性は弱くなる方向であった。

一方、WHOガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理としては、TCEおよびPCEの毒性情報の整理と評価手法の情報を整理した。TCEの複数の影響によって裏付けられた全体的なTDIは0.0005 mg/kg bw/day (0.5 μg/kg bw/day)が適切であると考えられ、WHOは本TDIに体重60 kg及び飲水量2 L及び寄与率50%を適用して、水道水の基準値として8 μg/Lという値を定めた。WHO(2020)の新しいTDI(0.5 μg/kg/day)を用いて、日本の現行の基準値算出に使用した曝露量(5 L)と寄与率(70%)を代入すると基準値は0.004 mg/L(4 μg/L)と試算され、現行の基準値(0.01 mg/L=10 μg/L)の半分以上の値と算出された。最近の水道水質データからは99.9%以上の地点で0.005 μg/Lを下回っており、現状の曝露がすぐに懸念のある状態であるとは考えられないが、TCEは代表的な地下汚染物質であり、過去に地下水を原水としている地域等において、特異的に高濃度で検出

された事例もある。これらの曝露に関する情報と WHO の新しい TDI の情報に鑑み、日本における基準値の再検討に向けた取り組みを行うことが必要であると考えられた。WHO の改訂において、PCE の GV が 40 µg/L から 100 µg/L に改訂された。本改訂で新たに追加されたデータはなかったが、疫学研究の吸入曝露量を PBPK モデルへあてはめて経口曝露量へ変換する手法が適用された。WHO で採用された PBPK モデルは、Health Canada で確立されたモデルである。Health Canada における水道水中の PCE の評価では、発がん性毒性および非発がん性毒性のキースタディの選定、BMD アプローチによる POD の設定、PBPK モデリングによる吸入曝露量からの経口曝露量のシミュレーションは、WHO と同様であるが、UF の考え方が WHO と異なっており、TDI がより保守的に設定された (Health Canada, 2015)。一方、日本では 1992 年、水道法第 4 条に基づき、PCE の水質基準値は 0.01 mg/L 以下と設定され、現在もこの基準値が維持されている。基準値の根拠の概要は、『WHO 飲料水水質ガイドライン (1984) および USEPA-HA の根拠データ (NCI, 1977) をもとに、リスク外挿法線形多段階モデルによるライフタイム 70 年に対する発がんリスク 10^{-5} の評価より、水質評価値 0.01 mg/L (水道水質基準での採用算定方法)』とされている (国立環境研究所 <https://www.nies.go.jp/eqsbasis/water.html>)。この値は Health Canada (2015) の GV と同値である。

PCE の発がん性毒性の MOA、PBPK 等の評価手法等の新たな情報を鑑み、基準値の再検討に役立てることが必要であると考えられた。

E. 引用文献

1. PFOS/PFOA 以外の毒性情報について欧州で規制されている毒性の情報収集整理

1.1 欧州の飲料水中の PFAS としてモニタリングすることが指定されている物質のうち、PFOS および PFOA を除く化合物 (18PFAS)

ATSDR (2021). Toxicological Profile for Perfluoroalkyls

Buhrke et al. (2013) In vitro toxicological characterization of perfluorinated carboxylic acids with different carbon chain lengths. *Toxicology Letters*, 218, 97–104.

Butenhoff et al., (2009). Evaluation of potential reproductive and developmental toxicity of

potassium perfluorohexanesulfonate in Sprague Dawley rats. *Reproductive Toxicology* 27, 331–341.

Butenhoff et al., (2012) Toxicological evaluation of ammonium perfluorobutyrate in rats: twenty-eight-day and ninety-day oral gavage studies. *Reprod Toxicol.* 33: 513–30.

CLH report (2019) CLH report Proposal for Harmonised Classification and Labelling International Chemical Identification: Perfluoroheptanoic acid; tridecafluoroheptanoic acid (PFHpA)

Chang et al., (2018). Reproductive and developmental toxicity of potassium perfluorohexanesulfonate in CD-1 mice. *Reproductive Toxicology* 78, 150–168.

Chang et al, (2008) Comparative pharmacokinetics of perfluorobutyrate (PFBA) in rats, mice, monkeys, and humans and relevance to human exposure via drinking water. *Toxicol Sci* 104(1):40–53.

Chemical Effects in Biological Systems (CEBS): Perfluorodecanoic acid (335-76-2)

Chemical Effects in Biological Systems (CEBS): Perfluorohexanoic acid (307-24-4)

Chemical Effects in Biological Systems (CEBS): Perfluorononanoic acid (375-95-1)

Chen et al., (2019) Perfluorododecanoic acid blocks rat leydig cell development during prepuberty. *Chemical Research in Toxicology*, 32, 146–155.

Chengelis et al, (2009a) Comparison of the toxicokinetic behavior of perfluorohexanoic acid (PFHxA) and nonafluorobutane-1-sulfonic acid (PFBS) in cynomolgus monkeys and rats.

Chengelis et al., (2009b) A 90-day repeated dose oral (gavage) toxicity study of perfluorohexanoic acid (PFHxA) in rats (with functional observational battery and motor activity determinations). *Reprod Toxicol*, 27:400–406.

Choi et al. (2020) Gender differences in pharmacokinetics of perfluoropentanoic acid using non-linear mixed-effect modeling in rats. *Archives of Toxicology* (2020) 94:1601–1612

Das et al., (2008) Effects of Perfluorobutyrate Exposure during Pregnancy in the Mouse. *Toxicol. Sci* 105: 173–181.

Das et al., (2015) Developmental toxicity of perfluorononanoic acid in mice. *Reprod Toxicol* 51, 133–144. DOI: 10.1016/j.reprotox.2014.12.012

- Ding et al., (2009) Systems biological responses to chronic perfluorododecanoic acid exposure by integrated metabolomic and transcriptomic studies. *J Proteome Res* 8 (6), 2882-2891.
- EFSA (2020) SCIENTIFIC OPINION Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. *EFSA Journal* 2020;18(9):6223.
- Erickson, et al, (2010) Genotoxic potential of the perfluorinated chemicals PFOA, PFOS, PFBS, PFNA and PFHxA in human HepG2 cells. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 700, 39–43.
- Fang et al. (2012a) Exposure of perfluorononanoic acid suppresses the hepatic insulin signal pathway and increases serum glucose in rats. *Toxicology* 294 (2-3), 109-115. DOI: 10.1016/j.tox.2012.02.008
- Fang et al. (2012b) In vitro and in vivo studies of the toxic effects of perfluorononanoic acid on rat hepatocytes and Kupffer cells. *Environ Toxicol Pharmacol* 34 (2), 484-494. DOI: 10.1016/j.etap.2012.06.01
- Fang et al., (2008) Immunotoxic effects of perfluorononanoic acid on BALB/c mice. *Toxicol Sci* 105 (2), 312-321. DOI: 10.1093/toxsci/kfn127
- Feng et al. (2017) Exposure of pregnant mice to perfluorobutanesulfonate causes hypothyroxinemia and developmental abnormalities in female offspring. *Toxicological Sciences*, 155, 409–419.
- Frawley et al. (2018) Immunotoxic and hepatotoxic effects of perfluoro-n-decanoic acid (PFDA) on female Harlan Sprague-Dawley rats and B6C3F1/N mice when administered by oral gavage for 28 days. *Journal of Immunotoxicology*, 15, 41–52.
- Fujii et al, (2015) Toxicokinetics of perfluoroalkyl carboxylic acids with different carbon chain lengths in mice and humans. *Journal of Occupational Health*, 57, 1–12.
- Gannon et al, (2011) Absorption, distribution, metabolism, and excretion of [1-¹⁴C]-perfluorohexanoate ([¹⁴C]-PFHx) in rats and mice. *Toxicology*, 283, 55–62.
- Gorrochategui E. (2014). Perfluorinated chemicals: differential toxicity, inhibition of aromatase activity and alteration of cellular lipids in human placental cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 277(2), 124-130.
- Harris MW and Birnbaum LS (1989) Developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in C57BL/6N mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 12, 442–448.
- Huang MC. et al. (2019). Toxicokinetics of perfluorobutane sulfonate (PFBS), perfluorohexane-1-sulphonic acid (PFHxS), and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) in male and female Hsd: Sprague Dawley SD rats after intravenous and gavage administration. *Toxicol Rep.* 6:645-655.
- Iwabuchi et al, (2017) Tissue toxicokinetics of perfluoro compounds with single and chronic low doses in male rats. *Journal of Toxicological Sciences*, 42, 301–317.
- Iwai and Hoberman (2014) Oral (Gavage) combined developmental and perinatal/postnatal reproduction toxicity study of ammonium salt of perfluorinated hexanoic acid in mice. *International Journal of Toxicology*, 33, 219–237.
- Iwai et. al., (2019) Addendum to Iwai and Hoberman (2014)—reassessment of developmental toxicity of PFHxA in mice. *International Journal of Toxicology*, 38, 183–191.
- Iwai, (2011) Toxicokinetics of ammonium perfluorohexanoate. *Drug and Chemical Toxicology*, 34, 341–346.
- JECDB Japan Existing Chemical Database (Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan) https://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/SearchPageENG.jsp
- Johansson et al, (2008) Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioural defects in adult mice. *Neurotoxicology*, 29, 160–169.
- Kato H, Fujii S, Takahashi M, Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Ono A and Hirose A, 2015b. Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in rats. *Environmental Toxicology*, 30, 1244–1263.
- Kawabata et al, (2017) Perfluorododecanoic acid induces cognitive deficit in adult rats. *Toxicological Sciences*, 157, 421–428.
- Kim et al., (2016b). Gender differences in pharmacokinetics and tissue distribution of 3 perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in rats. *Food and Chemical*

- Toxicology, 97, 243-255.
- Kim et al, (2019) Exploring sex differences in human health risk assessment for PFNA and PFDA using a PBPK model. *Archives of Toxicology*, 93, 311–330.
- Kjeldsen L.S. et al., (2013). Perfluorinated compounds affect the function of sex hormone receptors. *Environ Sci Pollut Res Int* 20(11), 8031-8044.
- Klaunig et al. (2015) Evaluation of the chronic toxicity and carcinogenicity of perfluorohexanoic acid (PFHxA) in Sprague-Dawley rats. *Toxicologic Pathology*, 43, 209–220.
- Kudo et al, (2001) Comparison of the elimination between perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 134, 203–216
- Lee E., et al., (2016). Preventive effects of imperatorin on perfluorohexanesulfonate-induced neuronal apoptosis via inhibition of intracellular calcium-mediated ERK pathway. *Korean J Physiol Pharmacol* 20(4), 399-406.
- Lee Y.J., et al., (2014a). PFHxS induces apoptosis of neuronal cells via ERK1/2-mediated pathway. *Chemosphere* 94, 121-127.
- Lee Y.J., et al., (2014b). NMDA receptor-mediated ERK 1/2 pathway is involved in PFHxS-induced apoptosis of PC12 cells. *Sci. Tot Environ* 491-492, 227-234.
- Li Y, et al., (2018). Half-lives of PFOS, PFHxS and PFOA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occup Environ Med.* 75(1):46-51.
- Liao C., et al.,(2009). Changes in synaptic transmission, calcium current, and neurite growth by perfluorinated compounds are dependent on the chain length and functional group. *Environ Sci Technol* 43(6), 2099-2104.
- Lieder et al. (2009a) Toxicological evaluation of potassium perfluorobutanesulfonate in a 90-day oral gavage study with Sprague-Dawley rats. *Toxicology*, 255, 45–52.
- Lieder et al. (2009b) A two-generation oral gavage reproduction study with potassium perfluorobutanesulfonate (K+PFBS) in Sprague Dawley rats. *Toxicology*, 259, 33–45.
- Loveless et al. (2009) Toxicological evaluation of sodium perfluorohexanoate. *Toxicology*, 264:32- 44.2009
- NICNAS (2005) National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS): Existing chemical hazard assessment report_Potassium Perfluorobutane Sulfonate. November 2005
- NTP (2019) NTP (National Toxicology Program), 2019 NTP technical report on the toxicity studies of perfluoroalkyl sulfonates (perfluorobutane sulfonic acid, perfluorohexane sulfonate potassium salt, and perfluorooctane sulfonic acid) administered by gavage to sprague dawley (Hsd:Sprague Dawley SD) rats. NTP TOX 96. Research Triangle Park, North Carolina, USA.
- NTP (2019) NTP technical report on the toxicity studies of perfluoroalkyl carboxylates (perfluorohexanoic acid, perfluorooctanoic acid, perfluorononanoic acid, and perfluorodecanoic acid) administered by gavage to sprague dawley (Hsd:Sprague Dawley SD) rats. NTP TOX 97. Research Triangle Park, North Carolina, USA. Available online: <http://ntp.niehs.nih.gov>
- Ohmori et al, (2003) Comparison of the toxicokinetics between perfluorocarboxylic acids with different carbon chain length. *Toxicology*, 184, 135–140.
- Olsen GW, et al., (2017). Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect.* 115(9):1298-1305.
- Primedica Redfield (2001) A 28-day oral (gavage) toxicity study of potassium perfluorobutane sulfonate in Sprague-Dawley rats (Study number: 132
- Ramhøj L., et al., (2018). Perfluorohexane sulfonate (PFHxS) and a mixture of endocrine disruptors reduce thyroxine levels and cause antiandrogenic effects in rats. *Toxicological Sciences* 163, 579-591.
- Rogers JM, Ellis-Hutchings RG, Grey BE, Zucker RM, Norwood J Jr, Grace CE, Gordon CJ and Lau C, 2014. Elevated blood pressure in offspring of rats exposed to diverse chemicals during pregnancy. *Toxicological Sciences*, 137, 436–446.
- Russell et al, (2013) Elimination kinetics of perfluorohexanoic acid in humans and comparison with mouse, rat and monkey. *Chemosphere*, 93, 2419–2425.

- Shi et al., (2007) Alterations in gene expression and testosterone synthesis in the testes of male rats exposed to perfluorododecanoic acid. *Toxicol Sci* 98 (1), 206-215.
- Shi et al., (2009a) Chronic exposure to perfluorododecanoic acid disrupts testicular steroidogenesis and the expression of related genes in male rats. *Toxicol Lett* 188 (3), 192-200.
- Shi et al., (2009b) The effect of perfluorododecanoic acid on endocrine status, sex hormones and expression of steroidogenic genes in pubertal female rats. *Reproductive Toxicology*, 27, 352–359
- Singh S and Singh SK, (2019a). Effect of gestational exposure to perfluorononanoic acid on neonatal mice testes. *Journal of Applied Toxicology*, 39, 1663–1671. <https://doi.org/10.1002/jat.3883>
- Singh S and Singh SK, (2019b). Chronic exposure to perfluorononanoic acid impairs spermatogenesis, steroidogenesis and fertility in male mice. *Journal of Applied Toxicology*, 39, 420–431.
- Singh S and Singh SK, (2019c). Acute exposure to perfluorononanoic acid in prepubertal mice: effect on germ cell dynamics and an insight into the possible mechanisms of its inhibitory action on testicular functions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 183, 109499.
- Southern Research Institute (2001) A pharmacokinetic study of perfluorobutanesulfonate in the cynomolgus monkey. United States of America (unpublished report submitted by the 3M Corporation).
- Sundstrom M, et al., Comparative pharmacokinetics of perfluorohexanesulfonate (PFHxS) in rats, mice, and monkeys. *Reprod Toxicol*. 33(4):441-451.
- Takagi et al, (1991) Short-term exposure to the peroxisome proliferators, perfluorooctanoic acid and perfluorodecanoic acid, causes significant
- Takahashi M, et al., 2014. Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluoroundecanoic acid in rats. *Journal of Toxicological Sciences* Kato, 39, 97–108.
- UNEP (2018). Risk profile on perfluorohexane sulfonic acid (PFHxS), its salts and PFHxS-related compounds (UNEP/POPS/POPRC.14/6/Add.1).
- Wielsoe M, et al., (2015) Perfluoroalkylated substances (PFAS) affect oxidative stress biomarkers in vitro. *Chemosphere*, 129, 239-45.
- Wolf C.J., et al., (2010): Developmental effects of perfluorononanoic Acid in the mouse are dependent on peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. *PPAR Res* 2010.
- York (2002) Oral (gavage) developmental toxicity study of potassium perfluorobutanesulfonate (PFBS) in rats [sanitized]. 10) OECD 414 OOPPTS. 870.3700 Prenatal development toxicity (teratology), 418-023A. Sponsor's Study Number: T-7485.12. Laboratory Project ID: Argus Research, Protocol Number: 418-023.
- York (2003) Oral (gavage) dosage-range developmental toxicity study of potassium perfluorobutane sulfonate (PFBS) in rats. Sponsor's Study Number: T-7485.11. Argus Research, Horsham, Pennsylvania.
- Zhang Q., et al., (2016). Effects of perfluorooctane sulfonate and its alternatives on long-term potential in the hippocampus CA1 region of adult rats in vitro. *Toxicol. Res* 5, 539-546.
- Zhao B., et al., (2011). The inhibition of human and rat 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2 by perfluoroalkylated substances. *J Steroid Biochem Mol Biol* 125(1-2), 143-147.
- Zhao W, et al., (2015). Na⁺/Taurocholate Cotransporting Polypeptide and Apical Sodium-Dependent Bile Acid Transporter Are Involved in the Disposition of Perfluoroalkyl Sulfonates in Humans and Rats. *Toxicological Sciences*, 146, 363-373.
- Zhao W, et al., (2017). Organic Anion Transporting Polypeptides Contribute to the Disposition of Perfluoroalkyl Acids in Humans and Rats. *Toxicological Sciences*, 156, 84-95.

1.2 欧州の飲料水中の PFAS としてモニタリング することが指定されている物質中 (8 化合物) および国内で検出された 2 化合物

- Blake et al, (2020) Evaluation of maternal, embryo, and placental effects in CD-1 mice following gestational exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) or hexafluoropropylene oxide dimer acid (HFPO-DA or GenX). *Environmental*

- Health Perspectives 128 (2):027006.
- CEBS, Chemical Effects in Biological Systems (CEBS): Fluorotelomer alcohol 8+2 (678-39-7)
- CLH report (2012), Proposal for harmonised classification and labelling; based on regulation (EC) no 1272/2008 (CLP regulation), annex VI, part 2; substance name: 8:2 fluorotelomer alcohol (8:2 FTOH); EC number: 211-648-0; CAS number: 678-39-7.
- Caverly Rae et al., (2015) Evaluation of chronic toxicity and carcinogenicity of ammonium 2,3,3,3-tetrafluoro-2-(heptafluoropropoxy)-propanoate in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Rep*, 2, 939-949.
- Clarke, (2008) H-28548: *In vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay)
- Conley et al, (2019) Adverse maternal, fetal, and postnatal effects of hexafluoropropylene oxide dimer acid (GenX) from oral gestational exposure in Sprague-Dawley rats. *Environmental Health Perspectives* 127(3):037008. <https://doi.org/10.1289/EHP4372>
- Dagnino S, et al, 2016. Identification of biomarkers of exposure to FTOHs and PAPs in humans using a targeted and nontargeted analysis approach. *Environmental Science and Technology*, 50, 10216–10225. cited in EFSA (2020).
- Donner, (2008) H-28072: Bacterial Reverse Mutation Test.
- DuPont-17751-1579 RV1: E.I. du Pont de Nemours and Company. 2009. Cross-species Comparison of FRD-902 Plasma Pharmacokinetics in the Rat and Primate Following Intravenous Dosing. Test guideline not identified. Study conducted by E.I. du Pont de Nemours and Company (Original Report Completed: December 8, 2008; Report Revision 1 Completed: February 2, 2009), Newark, DE. cited in EPA (2021).
- DuPont-18405-1037: E.I. du Pont de Nemours and Company. 2010. An Oral (Gavage) Reproduction/Developmental Toxicity Screening Study of H-28548 in Mice. U.S. EPA OPPTS 870.3550; OECD Test Guideline 421. Study conducted by WIL Research Laboratories, LLC (Study Completion Date: December 29, 2010), Ashland, OH. cited in EPA (2021).
- DuPont-18405-1307: E.I. du Pont de Nemours and Company. 2010. H-28548: Subchronic Toxicity 90-Day Gavage Study in Mice. OECD Test Guideline 408. Study conducted by E.I. du Pont de Nemours and Company (Study Completion Date: February 19, 2010), Newark, DE. cited in EPA (2021).
- DuPont-18405-849 RV1: E.I. du Pont de Nemours and Company. 2011. H-28548: Toxicokinetic Study in Pregnant Rats. Test guideline not identified. Study conducted by E.I. du Pont de Nemours and Company (Original Report Completed: March 29, 2011; Report Revision 1 Completed: April 11, 2011), Newark, DE. cited in EPA (2021).
- DuPont-18647-1017 RV1, (2011) H-28548: Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination in the Mouse. U.S. EPA OPPTS 870.7485. Study conducted by E.I. du Pont de Nemours and Company (Original Report Completed: November 3, 2010; Report Revision 1 Completed: April 21, 2011), Newark, DE, and Wilmington, DE. cited in EPA (2021).
- DuPont-24281: Dupont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences. 2008. Biopersistence and Pharmacokinetic Screen in the Rat. Test guideline not identified. (Report Issue Date: February 13, 2008). Testing laboratory location not identified. cited in EPA (2021). cited in EPA (2021).
- DuPont-24286: Dupont Haskell Global Centers for Health and Environmental. 2008. Biopersistence and Pharmacokinetic Screen in the Rat. Test guideline not identified. Study conducted by Critical Path Services Sciences (Study Completion Date: October 10, 2007). Testing laboratory location not identified. cited in EPA (2021).
- DuPont-25300: Dupont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences. 2008. Biopersistence and Pharmacokinetic Screen in the Mouse. Test guideline not identified. (Report Issue Date: July 31, 2008). Testing laboratory location not

- identified cited in EPA (2021).
- DuPont18405-1017 RV1, (2011) H-28548: Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination in the Rat. U.S. EPA OPPTS 870.7485. Study conducted by E.I. du Pont de Nemours and Company (Original Report Completed: November 3, 2010; Report Revision 1 Completed: April 21, 2011), Newark, DE, and Wilmington, DE. cited in EPA (2021).
- ECHA, REACH Dossier Publication: Dossier registration of 3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctanesulphonic acid (CAS: 27619-97-2), (accessed at <https://chem.echa.europa.eu/100.044.149/overview> on Mar. 2024)
- ECHA, REACH Dossier Publication: Dossier registration of 3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctan-1-ol (CAS No. 647-42-7). (accessed at <https://chem.echa.europa.eu/100.010.435/overview> on Mar. 2024)
- EFSA (2020) SCIENTIFIC OPINION Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. EFSA Journal 2020;18(9):6223.
- EFSA (2020) SCIENTIFIC OPINION Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. EFSA Journal 2020;18(9):6223.
- Edwards, (2010a) An Oral (Gavage) Reproduction/Developmental Toxicity Screening Study of H-28548 in Mice.
- Edwards, (2010b) An oral gavage prenatal developmental toxicity study of H-28548 in rats.
- Fasano WJ, et al, 2006. Absorption, distribution, metabolism, and elimination of 8-2 fluorotelomer alcohol in the rat. Toxicological Sciences, 91, 341–355. cited in EFSA (2020).
- Fujii et al, (2015) Toxicokinetics of perfluoroalkyl carboxylic acids with different carbon chain lengths in mice and humans. Journal of Occupational Health, 57, 1–12.
- Gannon et al, (2016) Absorption, distribution, metabolism, excretion, and kinetics of 2,3,3,3-tetrafluoro-2-(heptafluoropropoxy) propanoic acid ammonium salt following a single dose in rat, mouse, and cynomolgus monkey. Toxicology 340(18):1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2015.12.006>
- Glatt, (2009) H-28072: *In vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Chinese Hamster Ovary Cells.
- Glover, (2008) H-27529: *In vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test in Chinese Hamster Ovary Cells.
- Gordon, (2011) Toxicological evaluation of ammonium 4,8-dioxa-3H-perfluorononanoate, a new emulsifier to replace ammonium perfluorooctanoate in fluoropolymer manufacturing. Regulatory Toxicology and Pharmacology 59, 64–80.
- Gudi and Krsmanovic, (2007) *In vivo* Micronucleus and Chromosome Abberation Assay in Mouse Bone Marrow Cells.
- Haas, (2008a) A 28-day Oral (Gavage) Toxicity Study of H-28397 in Rats with a 28-day Recovery.
- Haas, (2008b) A 28-day Oral (Gavage) Toxicity Study of H-28397 in Mice with a 28-day Recovery
- Haas, (2009) A 90-day Oral (Gavage) Toxicity Study of H-28548 in Rats with a 28-day Recovery.
- Hagen DF, et al, 1981. Characterization of fluorinated metabolites by a gas chromatographic-helium microwave plasma detector. The biotransformation of 1H,1H,2H,2H-perfluorodecanol to perfluorooctanoate. Analytical Biochemistry, 118, 336–343. cited in EFSA (2020).
- Henderson WM and Smith MA, 2007. Perfluorooctanoic acid and perfluorononanoic acid in fetal and neonatal mice following in utero exposure to 8-2 fluorotelomer alcohol. Toxicological Science, 95, 452–461. cited in EFSA (2020).
- Hirata-Koizumi M, et.al., (2012) Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorooctadecanoic acid in rats. J Toxicol Sci. 2012 Feb;37(1):63-79. doi: 10.2131/jts.37.63. PMID: 22293412.
- Hirata-Koizumi M, et.al., (2015) Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid

- No.4, p.177-190
- Huang MC, et al, 2019. Toxicokinetics of 8:2 fluorotelomer alcohol (8:2-FTOH) in male and female Hsd: Sprague Dawley SD rats after intravenous and gavage administration. *Toxicology Reports*, 6, 924–932. cited in EFSA (2020).
- IMAP (2019) Australian Industrial Chemicals (AICI) : IMAP Group Assessment Report Perfluorobutanesulfonate (PFBS) and its direct precursors: Human health tier II assessment 12 December 2019
- JECDB (Japan Existing Chemical Database) Test report: Perfluorooctadecanoic acid (16517-11-6). (accessed at https://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF16517-11-6d.pdf on Mar. 2024)
- JECDB (Japan Existing Chemical Database) Test report: Perfluorooctadecanoic acid (67905-19-5). (accessed at https://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF67905-19-5d.pdf on Mar. 2024)
- JECDB (Japan Existing Chemical Database) Test report: Perfluorooctadecanoic acid (376-06-7). (accessed at https://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF376-06-7d.pdf on Mar. 2024)
- Ladies et al., (2008) 90-day oral gavage toxicity study of 8-2 fluorotelomer alcohol in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 31, 189–216. cited in CLH report 2012.
- Ladies, (2001) 8-2 telomer B Alcohol: Oral Gavage Range-Finding Study in Rats. 2001.Telomer Research Program. cited in CLH report 2012.
- MacKenzie, (2010) H-28548: Subchronic Toxicity 90-Day Gavage Study in Mice.
- Martin JW, et al, 2005. Metabolic products and pathways of fluorotelomer alcohols in isolated rat hepatocytes. *Chemical-Biological Interactions*, 155, 165–180. cited in EFSA (2020).
- Mukerji, et al. (2015). Oral Repeated-Dose Systemic and Reproductive Toxicity of 6:2 fluorotelomer alcohol in Mice. *Toxicology Reports* 2:130-143.
- Myhre, (2008) H-27529: Bacterial Reverse Mutation Test.
- Mylchreest et al., (2005) Evaluation of the developmental toxicity of 8-2 telomer B alcohol. *Drug and Chemical Toxicology*, 28, 315–328. cited in CLH report 2012.
- Nabb DL, et al, 2007. In vitro metabolism of 8-2 fluorotelomer alcohol: interspecies comparisons and metabolic pathway refinement. *Toxicological Sciences*, 100, 333–344. cited in EFSA (2020).
- Pant and Sly, (2007) H-28072: Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Cells *In vivo*.
- Rushing et al. (2017) Evaluation of the immunomodulatory effects of 2,3,3,3-tetrafluoro-2-(heptafluoropropoxy)-propanoate in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci*, 156, 179-189.2017
- SVHC (2019) SVHC SUPPORT DOCUMENT - HFPO-DA AND ITS SALTS/ACYL HALIDES Adopted on 26 June 2019
- Serex T, Anand S, Munley S, Donner EM, Frame SR, Bucl RC and Loveless SE (2014) Toxicological evaluation of 6:2 fluorotelomer alcohol. *Toxicology* 319: 1-9.
- US EPA (2021), Human Health Toxicity Values for Hexafluoropropylene Oxide (HFPO) Dimer Acid and Its Ammonium Salt (CASRN 13252-13-6 and CASRN 62037-80-3) Also Known as “GenX Chemicals”, EPA Human Health Toxicity Assessments for GenX Chemicals, (accessed at <https://www.epa.gov/chemical-research/human-health-toxicity-assessments-genx-chemicals> on Mar. 2024)

2.WHO ガイドラインの改定で国内の規準値や目標値と異なる評価がなされた物質の毒性情報の収集整理

2-1. TCE の毒性情報の整理と評価手法の情報整理

- Johnson PD, Goldberg SJ, Mays MZ, Dawson BV (2003). Threshold of trichloroethylene contamination in maternal drinking waters affecting fetal heart development in the rat. *Environ Health Perspect*. 111(3):289–92.
- Keil DE, Peden-Adams MM, Wallace S, Ruiz P, Gilkeson GS (2009). Assessment of trichloroethylene (trichloroethylene) exposure in murine strains genetically-prone and non-prone to develop autoimmune disease. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 44:443–53.
- Peden-Adams MM, Eudaly JG, Heesemann LM,

- Smythe J, Miller J, Gilkeson GS, et al. (2006). Developmental immunotoxicity of trichloroethylene (trichloroethylene): studies in B6C3F1 mice. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 41:249–71.
- WHO (2020) Trichloroethene in drinking water, Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality
- 2-2. PCE の毒性情報の収集及び最新評価の概要**
- ATSDR (2019) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) :Toxicological Profile for Tetrachloroethylene. June 2019
- Buben and O'Flaherty (1985) Delineation of the role of metabolism in the hepatotoxicity of trichloroethylene and perchloroethylene: a dose-effect study. *Toxicology and applied pharmacology*,78:105-122.
- Cavalleri A et al. (1994) , Perchloroethylene exposure can induce colour vision loss. *Neurosci Lett.* 179 (1–2) :162–6.
- Echeverria D et al. (1995) , A behavioral evaluation of PCE exposure in patients and dry cleaners: a possible relationship between clinical and preclinical effects. *J Occup Environ Med.* 37 (6) :667–80
- Hayes et.al (1986) The subchronic toxicity of tetrachloroethylene (perchloroethylene) administered in the drinking water of rats. *Fundamental and applied toxicology*, 1986, 7:119-125.
- Health Canada (2015) :Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document, Tetrachloroethylene. January, 2015
- JISA (1993) Japan Industrial Safety Association (JISA) :Carcinogenicity study of tetrachloroethylene by inhalation in rats and mice. Kanagawa: JISA (Data No. 3-1)
- NCI (1977) : Bioassay of tetrachloroethylene for possible carcinogenicity. National Cancer Institute. U.S.Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health, DHEW Publ (NIH) 1977; 77-813
- Nong A (2013) . Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling of tetrachloroethylene (PERC) exposure in drinking-water. Ottawa, Ontario: Health Canada, unpublished
- NTP (1986) National Toxicology Program (NTP) : Toxicology and carcinogenesis studies of tetrachloroethylene (perchloroethylene) (CAS No. 127-18-4) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies) . Research Triangle Park, North Carolina: United States Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (NTP TR 311) .
- WHO (2003) Tetrachloroethene in drinking water, Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality
- WHO (2020) Tetrachloroethene in drinking water, Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality
- 国立環境研究所、環境基準等の設定に関する資料集 2.水質(2)人の健康の保護に関する環境基準及び要監視項目(公共用水域)③項目ごとの基準値及び設定根拠、テトラクロロエチレン
<https://www.nies.go.jp/eqsbasis/water.html>
 新エネルギー・産業技術総合開発機構
 (2006) : 化学物質の初期リスク評価書 Ver. 1.0 No. 65 テトラクロロエチレン Tetrachloroethylene 化学物質排出把握管理促進法政令号番号 : 1-200 CAS 登録番号 : 127-18-4
- 食品安全委員会 (2008) 清涼飲料水評価書 テトラクロロエチレン
- 経済産業省, 環境省 (2024) 令和4年度 PRTR データの概要—化学物質の排出量・移動量の集計結果—、
https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/law/prtr/6.html

F. 研究発表

1. 論文発表

Matsumoto, M., Murata, Y., Hirose, N., Shigeta, Y., Iso, T., Umamo, T., & Hirose, A. (2023). Derivation of subacute guidance values for chemical contaminants of drinking water quality standard in Japan. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 141, 105401.

2. 学会発表

松本真理子, 広瀬望, 磯貴子, 村田康允, 重田善之, 馬野高昭, 広瀬明彦: Derivation of a target value of perfluorooctanoic acid in drinking water 第49回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2)

松本真理子, 環境化学物質系3学会合同大会「新興化学物質の人健康影響に関する講演」(招待講演) (2022. 6. 15)

Matsumoto M, Murata Y, Hirose N, Iso T, Shigeta Y, Umamo T, Hirose A : Derivation of a target value of 1,3-butadiene, a possible contaminant, in drinking water (ICT/EUROTOX2022) (2022.9.18-21)

広瀬明彦、PFAS の環境曝露によるリスク評価

の現状と課題、第50回日本毒性学会学術年会、横浜、(2023.06.21)

広瀬明彦、PFAS の健康影響評価における現状と課題、廃棄物資源循環学会セミナー、東京、(2023.10.23)

松本真理子, 広瀬望, 磯貴子, 村田康允, 重田善之, 長谷川彩由香, 馬野高昭, 広瀬明彦. Derivation of a target value of perfluorooctanesulfonic acid in drinking water (第50回日本毒性学会学術年会、6月)

M. Matsumoto, Y. Murata, N. Hirose, T. Iso, Y. Shigeta, S. Hasegawa, T. Umamo, A. Hirose. Derivation of a target value of acrylic acid in drinking water. (EUROTOX2023、9月、スロベニア)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得: 該当なし
2. 実用新案登録: 該当なし
3. その他: 該当

