

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

有機フッ素化合物の発がん性評価と評価スキームの確立に関する研究

分担研究項目：in silico 評価系の確立と検証

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 第二室長  
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 第二室  
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 第二室  
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 第二室  
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 第二室  
研究協力者 若山美智子 国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部 第二室

研究要旨

環境中での難分解性、生体内蓄積性及び発がん性等の健康被害が問題となっている有機フッ素化合物の PFAS (Per- and Polyfluoroalkyl substances : パー及びポリフルオロアルキル物質) は 1 万種類以上存在するが、これら全ての発がん性の有害性評価を発がん性試験の結果を用いて実施することは極めて困難である。そこで本研究では、課題 1 (肝発がん物質短期検出スキームによる検討) 及び課題 2 (DNA 付加体の網羅解析及び変異シグネチャー解析による有機フッ素化合物の発がん機序解明) と連携を図りながら、PFAS の構造類似性や各特性の検証を行い、発がん性予測の in silico 評価システムの確立を目指す。令和 6 年度は、約 470 物質の PFAS を対象として、QSAR Toolbox を用いて構造に基づくグループ化と、PFAS 類の発がん性・遺伝毒性に関するメカニズムとして以下の 7 項目について分類を行った。①Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS、②DNA alerts for AMES, CA and MNT by OASIS、③DNA binding by OASIS、④DNA binding by OECD、⑤Oncologic Primary Classification、⑥in vitro mutagenicity (Ames test) alerts by ISS、⑦in vivo mutagenicity (Micronucleus) alerts by ISS。フッ素を含むハロゲンに関する発がん性のアラート (Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS) としては、以下の 6 アラートがヒットした。①Trichloro (or fluoro) ethylene and Tetrachloro (or fluoro) ethylene (非遺伝毒性)、②(Poly) Halogenated Cycloalkanes (非遺伝毒性)、③Perfluorooctanoic acid (PFOA) (非遺伝毒性)、④Acyl halides (遺伝毒性)、⑤Monohaloalkene (遺伝毒性) ⑥Aliphatic halogens (遺伝毒性)。また、PFAS 類の遺伝毒性や発がん性について先行研究の試験結果を収集し、約 70 物質の遺伝毒性情報を得ることが出来た。発がん性の観点で最も注目されている PFOA 及び PFOS (国際がん研究機関 (IARC) : グループ 1 及び 2B) とそれらの鎖長違いの類似物質について、標準的な菌株を用いた Ames 試験はいずれの物質でも陰性の結果であった。一方、コメットアッセイの結果では、PFOA 及び PFOS で陽性の結果が得られており、何らかの DNA の損傷が限定的な鎖長の物質で起こる可能性が示唆された。フッ化アシルやカルボン酸エステルを含む PFAS で Ames 試験の陽性結果が得られており、今後 Ames 試験陽性物質について哺乳類の発がん性への外挿の観点で考察するためには、更なる情報の集積が必要であると判断された。また、類似構造を比較した時に、鎖長が短い PFAS の方が、鎖長が長い PFAS よりも DNA と反応しやすい可能性のある化学構造がある事が明らかになり、今後、鎖長の短い PFAS についても毒性情報の集積が望まれる。今年度の調査により、いくつかの PFAS 化合物については、構造毎の毒性傾向をつかむことが出来たが、次年度以降も引き続き、課題 1 及び課題 2 の結果と、遺伝毒性試験や発がん性試験の既知見とを比較しながら、関連する発がん性メカニズムの整理を行う予定である。

## A. 研究目的

有機フッ素化合物である PFAS (Per-and Polyfluoroalkyl substances: パー及びポリフルオロアルキル物質) は幅広い用途で使用され、環境中での難分解性及び生体内蓄積性が問題となっている。近年、国内複数地域の浄水施設の水道水から基準値を超える濃度のパーフルオロオクタン酸 (PFOA) とパーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) が検出され、ばく露による有害性、特に発がんの健康影響が懸念される。特に PFOA や PFOS は国際がん研究機関 (IARC) によりグループ 1 と 2B に分類され、実験的にラットの肝臓を主体に発がん性報告があり、有機フッ素化合物の発がん性検証は喫緊の課題である。一方、有機フッ素化合物は 1 万種類以上存在し、これら全てを発がん性試験で検討することは莫大な費用や時間等を必要とし極めて困難である。従って有機フッ素化合物の発がん性を短期間、高精度かつ効率的に評価できる試験スキームの確立が求められる。

本研究では、遺伝子発現や DNA 付加体の網羅的解析、変異シグネチャー解析による発がん機序の解明を行っている課題 1 (肝発がん物質短期検出スキームによる検討) 及び課題 2 (DNA 付加体の網羅的解析及び変異シグネチャー解析による有機フッ素化合物の発がん機序解明) と連携を図りながら、有機フッ素化合物の構造類似性や各特性の検証から、発がん性が予測可能な *in silico* 評価システムの確立を目指す。

## B. 研究方法

### ① 調査対象物質の定義と母集団の設定

有機フッ素化合物は、前述の通り 1 万種類以上存在するため、まず初めに、今年度の本研究で調査対象とする物質と母集団の定義を行うことにした。

有機フッ素化合物とは、炭素とフッ素の結合を持つ有機化合物の事であり、例えばフッ化ビニル:  $C=C-F$  のような化合物も含まれる。一方 PFAS (ペル・ポリフルオロアルキル化合物) は完全にフッ素化されたメチル ( $CH_3$ ) またはメチレン ( $=CH_2/-CH_2-$ ) 炭素原子を含むフッ素化合物であり、OECD の定義では炭素数が一つ以上、US-EPA の定義では炭素数が二つ以上フッ素化された物質を示す。有機フッ素化合物の中でも、PFAS の代表例であるパーフルオロオクタン酸 (PFOA) やパーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) は、それぞれ国際がん研究機関 (IARC) により Group 1 と 2B に分類され、ラットにおいて主に肝臓の発がん性が報告されている。そこで、人健康影響の懸念で注目されている PFAS を本研究のターゲットに設定することにした。

次に調査対象母集団を選定するため、USEPA の web ページから PFAS のリストを入手した (表 1) (<https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical-lists/pfasmaster>)。

母集団の設定根拠については結果のセクションで述べるが、430 物質の PFAS を本研究の母集団として定義した。

表 1. PFAS リスト

リスト名	最終更新日	物質数	説明
PFAS: Master List of PFAS Substances	2021-08-11	12039	USEPA がとりまとめた統合版リスト
PFAS: Listed in OECD Global Database	2018-05-16	4729	少なくとも 1 つのパーフルオロアルキル部分を含む物質
PFAS EPA: ToxCast Chemical Inventory	2021-11-21	430	試験可能 (検体入手可/DMSO 可溶等)
PFAS EPA: List of 75 Test Samples (Set 2)	2021-11-21	76	EPA スクリーニング実施物質
PFAS EPA: List of 75 Test Samples (Set 1)	2018-06-29	74	EPA スクリーニング実施物質
PFAS EPA: In Vivo Studies Available	2019-11-16	23	何らかの動物実験の結果がある

### ② 母集団の構造類似性の基づくグループ化

母集団とした 430 物質について、構造類似性に基づくグループ化を行うため、OECD QSAR Toolbox (V. 4. 5) に①でダウンロードした 430 物質のリストを入力し、Organic Functional Group (OFG) によりクラスタリングを行った。

### ③ メカニズムに応じたアラート検索

母集団とした 430 物質について、OECD QSAR Toolbox (V. 4. 5) で構造アラート検索を行った。検索項目は発がん性や遺伝毒性に関連する以下の 7 項目とした。

- Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS
- DNA alerts for AMES, CA and MNT by OASIS
- DNA binding by OASIS
- DNA binding by OECD
- Oncologic Primary Classification
- in vitro mutagenicity (Ames test) alerts by ISS
- in vivo mutagenicity (Micronucleus) alerts by ISS

### ④ 遺伝毒性試験及び発がん性試験の既知見の整理

発がん性の既知見及び、発がん性の閾値の有無を確認するために遺伝毒性試験の既知見の収集整理を行った。収集した情報源は主として、政府向け GHS 分類ガイドダンスの情報源リスト、令和 6 年 (2024 年) 6 月に公表された食品安全委員会の「有機フッ素化合物 (PFAS)」の評価書、国立医薬品食品衛生研究所・ゲノム安全化学部ホームページ (<https://www.nihs.go.jp/dgm/amesqsar.html>) の Ames の「陽性」物質リスト、OECD QSAR Toolbox (v. 4. 5)

の毒性情報収集機能とした。

### C. 研究結果

#### ① 調査対象物質の定義と母集団の設定

全世界でPFASとしてリスト化されている物質のリスト (Master List of PFAS Substances) には、12039 物質の PFAS が掲載されている。また、OECD の定義による PFAS (少なくとも 1 つのパーフルオロアルキル部分を含む物質) は 4729 物質ある。本研究では課題 1 及び課題 2 と連携しながら調査を進めるために、入手の可能性や、溶媒に可溶など実験の実行可能性を考慮する必要があると考えた。したがって、ToxCast Chemical Inventory の 430 物質を本研究の調査対象として選定した。

#### ② 母集団の構造類似性の基づくグループ化

OECD の QSAR Toolbox を用いて OFG によりクラスタリングを行った結果、148 通りのクラス分類が出来た。後述するが、「④ 遺伝毒性試験及び発がん性試験の既知見の整理」を行った結果、母集団とした 430 物質以外の有機フッ素化合物に遺伝毒性試験の結果が得られた。物質構造による毒性予測のために有益な情報であると考えられたため、母集団に追加する形でリストにまとめた。追加した物質については、また、追加物質についても、グループ化を行った。主なグループとその数を表 2 に示す。PFOA グループ (24 物質)、PFOS グループ (16 物質)、GenX グループ (12 物質) など、近年注目されている PFAS 物質が十分含まれている事が確認できた。

表 2. PFAS のグループ名称と物質数

グループ名称	物質数
Alcohol;Alkyl halide;Perfluorocarbon derivatives	29
(PFOA)Alkyl halide;Carboxylic acid;Perfluorocarbon derivatives	24
Alkyl halide;Perfluorocarbon derivatives;Perhalogenated carbon derivatives	22
Alkyl halide;Perfluorocarbon derivatives	19
Alkyl halide;Carboxylic acid ester;Perfluorocarbon derivatives	17
(PFOS)Alkyl halide;Perfluorocarbon derivatives;Sulfonic acid;Surfactants - Anionic	16
Alkyl halide;Ether moiety;Perfluorocarbon derivatives	14
Acyl halide;Alkyl halide;Perfluorocarbon derivatives	12
(GenX)Alkyl halide;Carboxylic acid;Ether moiety;Perfluorocarbon derivatives	12
Acrylate;Alkene moiety;Alkyl halide;Carboxylic acid ester;Perfluorocarbon derivatives	11
Alkene moiety;Alkyl halide;Allyl;Carboxylic acid ester;Methacrylate;Perfluorocarbon derivatives	10

Alkyl halide;Carboxylic acid;Perfluorocarbon derivatives;Surfactants - Anionic	10
--	----

#### ③ メカニズムに応じたアラート検索

Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS による分類では、108 物質に発がん性のアラート構造が認められた。

いくつかの発がん性アラートは、有機フッ素化合物特有の構造ではなく、例えばエポキシなどの部分的構造によるものであったのでそれらを除外し、フッ素を含むハロゲンに関する発がん性アラートとしては、以下の 6 アラートがヒットした。

- Trichloro (or fluoro) ethylene and Tetrachloro (or fluoro) ethylene (非遺伝毒性)
- (Poly) Halogenated Cycloalkanes (非遺伝毒性)
- Perfluorooctanoic acid (PFOA) (非遺伝毒性)
- Acyl halides (遺伝毒性)
- Monohaloalkene (遺伝毒性)
- Aliphatic halogens (遺伝毒性)

一方、Oncologic Primary Classification では、331 物質が発がん性に関連するクラスに分類され、フッ素を含むハロゲンに関する発がん性アラートとしては、以下の 2 アラートがヒットした。

- Halogenated Linear Aliphatic Hydrocarbone Type Compounds
- Alpha- and beta-Haloether Reactive Functional Groups

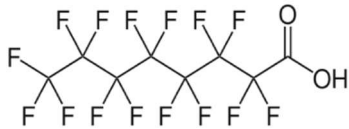
これらのアラート検索の結果は課題 1 及び課題 2 の被験物質の選定に活用された。また、本課題における考察にも活用した。

#### ④ 遺伝毒性試験及び発がん性試験の既知見の整理

有機フッ素化合物について遺伝毒性の既知見を収集したところ、約70物質についてAmes試験を含む遺伝毒性試験の結果が得られた。38物質については、最初に定義した母集団の430物質に含まれていなかったが、調査対象物として追加した。特に、国立医薬品食品衛生研究所のゲノム安全化学部のホームページ (<https://www.nihs.go.jp/dgm/amesqsar.html>) から公表されているAmesの「陽性」物質のリストの中に、17物質の有機フッ素化合物が含まれており、そのうち15物質は最初の母集団には含まれていなかった。

本報告書では、主な物質の遺伝毒性情報のみを下記に示す。なお、記載に当たっては、②のクラスタリングの結果を参考にしたが、同じグループに分類されていない物質であっても、考察に役立つと思われる物質については、同じ官能基を持つ物質としてまとめて報告する。

カルボン酸 (PFOA 類似物質)

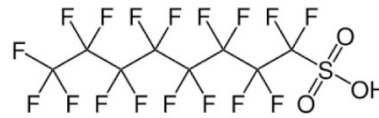


PFOA (C8)

表 3. カルボン酸 (PFOA 類似物質) の遺伝毒性・発がん性試験結果

NAME	CASRN	Ames 試験	コメント試験	発がん性情報
Trifluoroacetic acid (C1)	76-05-1	陰性	no data	no data
Perfluorobutanoic acid (C4)	375-22-4	陰性	no data	no data
Perfluorohexanoic acid (C6 : PFHxA)	307-24-4	陰性	陰性	発がん兆候なし
3,5,6-Trichloroperfluorohexanoic acid (C6) 参考	2106-54-9	陰性	no data	no data
Perfluoroheptanoic acid (C7)	375-85-9	陰性	no data	no data
Perfluorooctanoic acid (C8)	335-67-1	陰性	陽性	IARC Group 1
3,5,7,8-Tetrachloroperfluorooctanoic acid (C8) 参考	2923-68-4	陰性	no data	no data
Perfluorononanoic acid (C9)	375-95-1	陰性	陽性	no data
Perfluorodecanoic acid (C10)	335-76-2	陰性	no data	no data
Perfluoroundecanoic acid (C11)	2058-94-8	陰性	陰性	no data
Perfluorododecanoic acid (C12)	307-55-1	陰性	陰性	no data
Perfluorotetradecanoic acid (C14)	376-06-7	陰性	no data	no data
Perfluorohexadecanoic acid (C16)	67905-19-5	陰性	陰性	no data
Perfluorooctadecanoic acid (C18)	16517-11-6	陰性	陰性	no data

スルホン酸 (PFOS 類似物質)



PFOS (C8)

表 4. スルホン酸 (PFOS 類似物質) の遺伝毒性・発がん性試験結果

NAME	CASRN	Ames 試験	コメント試験	発がん性情報
Trifluoromethanesulfonic acid (C1)	1493-13-6	陰性	no data	no data
Perfluorobutanesulfonic acid (C4)	375-73-5/29420-49-3(K塩)	陰性	陰性	認められず
Perfluorohexanesulfonic acid (C6 : PFHxS)	355-46-4	no data	陽性 (濃度依存性不明瞭)	発がんの知見あり (証拠不十分)
Potassium perfluorooctanesulfonate (C8)	2795-39-3	陰性	no data	IARC Group 2B
Perfluorooctanesulfonic acid (C8)	1763-23-1	陰性	陽性	IARC Group 2B

表 5. アルコールの Ames 試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
2H-Perfluoro-2-propanol	920-66-1		陰性
Fluorotelomer alcohol 6:2	647-42-7		陰性
Fluorotelomer alcohol 8:2*	678-39-7		陰性
Fluorotelomer alcohol 10:2	865-86-1		陰性

\*発がん性認められない

表6. フッ化スルフォニルのAmes試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
Methanesulfonyl fluoride, trifluoro-(C1)	335-05-7		陽性
1,1,2,2,2-pentafluoroethanesulfonyl fluoride(C2)	354-87-0		陽性
Perfluorobutanesulfonyl fluoride(C4)	375-72-4		陰性
Perfluorooctanesulfonyl fluoride(C8)	307-35-7		陰性

表7. エーテル・カルボン酸 (GenX) のAmes試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
Perfluoro-2-methyl-3-oxahexanoic acid (GenX)	13252-13-6 62037-80-3*		陰性
4,8-Dioxo-3H-perfluorononanoic acid	919005-14-4 958445-44-8		陰性

\*膵臓がん、肝臓がん

表8. アクリレート/メタクリレートのAmes試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
2-(Perfluorohexyl)ethyl methacrylate (C6)	2144-53-8		陰性
1H,1H,5H-Perfluoropentyl methacrylate	355-93-1		陰性

1H, 1H, 2H, 2H-perfluorooctyl acrylate	17527-29-6		陰性
2-chloroacrylic acid 3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexylester	701909-41-3		陽性

表9. フッ化アシルのAmes試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
2-(3,4-dichloro-1,1,2,2,3,4,4-heptafluorobutoxy)-2,3,3,3-tetrafluoropropionic acid fluoride	NO_CAS		陽性
2-(trifluoromethyl)-2,3,3,3-tetrafluoropropionic acid fluoride	677-84-9		陽性
2,3,3,3-tetrafluoro-2-[1,1,2,2-tetrafluoro-2(fluorosulfonyl)ethoxy]propionic acid fluoride	4089-57-0		陽性
3,4-dichloro-2,2,3,4,4-pentafluorobutyric acid fluoride	678-06-8		陽性

表10. カルボン酸エステルのAmes試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
bis[2,3,3,3-tetrafluoro-2-(trifluoromethyl)propanoic acid] octafluorobutane-1,4-diylolester	NO_CAS		陽性
2,3,3,3-tetrafluoro-2-(heptafluoropropoxy)propanoic acid 2(trifluoromethyl)hexafluoropropyl ester	NO_CAS		陽性
bis(3-chloropropanoic acid) 3,3'-[[2,2-bis[[3-(3-chloropropanoyloxy)1,1,2,2-tetrafluoropropoxy]	NO_CAS		陽性

y]difluoromethyl] - 1,1,3,3tetrafluoro propane-1,3- diyl]dioxy]bis(2,2 ,3,3- tetrafluoropropyl) ester			
--	--	--	--

表11. アルキルハライド（環状含む）のAmes試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
Perfluoro- 1,3- dimethylcycl ohexane	335-27-3		陰性
Nonafluoro- 1-iodobutane	423-39-2		陰性
Perfluorooct ane	307-34-6		陰性
1H- Perfluorohex ane	355-37-3		陰性
Perfluoro- 1,2- dimethylcycl ohexane	306-98-9		陰性
Perfluoro- 1,4- diiodobutane	375-50-8		陰性
(Perfluoro-n- hexyl)ethane	80793-17-5		陰性

2H,3H- Perfluoropen tane	138495-42-8		陰性
Perfluoroiso hexane	355-04-4		陰性
1H,1H,2H- Perfluorocyc lopentane	15290-77-4		陰性
1,6- Diiodoperflu orohexane	375-80-4		陰性
Trifluoroiod omethane	2314-97-8		陽性
Pentafluoroi odoethane	354-64-3		陽性

表12. アルケンのAmes試験結果

NAME	CASRN	構造	Ames 試験
1,6- Divinylperfl uorohexane	1800-91-5		陰性
(Perfluorobu tyl)ethene	19430-93-4		陰性

表13. 上記以外でAmes試験の陽性物質

NAME	CASRN	構造	Ames試験
Perfluoropropyl trifluorovinyl ether	1623-05-8		陽性
2,2,2-Trifluoroethyl triflate	6226-25-1		陽性
trifluoromethylhypofluorite	373-91-1		陽性
3,3,3-trifluoropropyne	661-54-1		陽性
2,2,3,3-tetrafluorooxetane	765-63-9		陽性

表3及び表4にPFOA及びPFOSとその類似物質のAmes試験・コメントアッセイ及び発がん性の情報を炭素鎖(昇順)に示した。表5以降の物質については発がん性についての情報があつた場合のみ脚注に示した。なお、これらの遺伝毒性や発がん性の調査結果は構造毎の全体的な特性をつかむために簡易的に実施したものであり、各種試験結果を一つ一つ精査して入力したものではない事を付記する。

#### D. 考察

##### ① 調査対象物質の定義と母集団の設定

本調査の母集団として定義した ToxCast Chemical Inventory の 430 物質から課題1及び課題2の候補物質を選定した結果、様々な構造の有機フッ素化合物の試験結果を得る事が出来たので、母集団の設定は良好であったと考えられた。一方、④の作業を行った結果、430物質以外の遺伝毒性情報が得られたため、母集団を拡大させ、それらの情報も活用していく必要があると考えられた。

##### ② 母集団の構造類似性の基づくグループ化

構造類似性に基づくグループ化を行った結果、遺伝毒性等の情報を構造毎に整理しやすくなった。本グループは③の考察で課題1及び課題2の結果を比較する際に役立った。今後更に情報が集積されていった際にもグループ毎に毒性を整理する際に役立つものと考えられる。

##### ③ メカニズムに応じたアラート検索

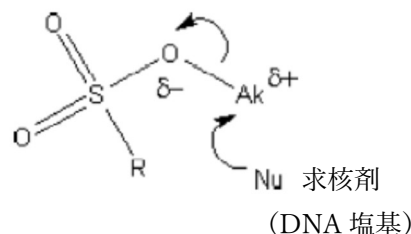
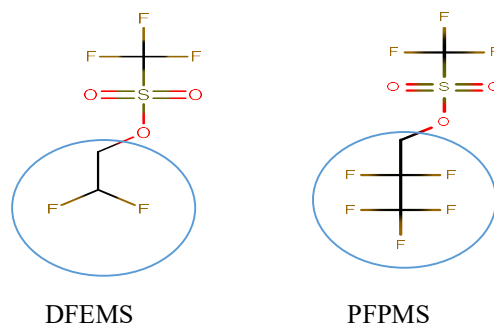
課題1(遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法)により、3物質(PFOA、2,2-Difluoroethyl triflate (DFEMS)、2,2-Bis(trifluoromethyl)propionyl fluoride (2,5-BDF))が遺伝毒性肝発がん物質と判定された点について、QSAR Toolboxに収載の既知のメカニズムと照らし合わせて考察を行った。これ以降のメカニズムを示す図はQSAR Toolboxからの引用である。なお、課題1の被験物質と本報告書の物質名称の対応及び物質の略称は表14に示す。

表14. 課題1の被験物質リスト

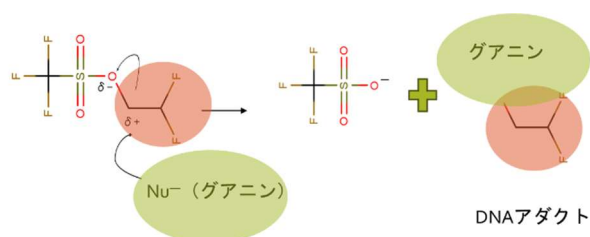
課題1の物質名称	本報告書の物質名称	略称	CAS, NO
Perfluorooctanoic acid	Perfluorooctanoic acid	PFOA	335-67-1
Undecafluoro-2-methyl-3-oxahexanoic acid	Perfluoro-2-methyl-3-oxahexanoic acid	GenX (HFPO-DA)	13252-13-6
Heptafluorobutyl chloride	Heptafluorobutyl Chloride	HFBC	375-16-6
3-Perfluorohexyl-1,2-epoxypropane	3-(Perfluorohexyl)-1,2-epoxypropane	PFHEP	38565-52-5
2,2,3,3,3-Pentafluoropropyl trifluoromethane sulfonate	3H,3H-Perfluoropropyl triflate	PFPMs	6401-00-9
Hexafluoroglutaryl chloride	Hexafluoroglutaryl chloride	HxFGC	678-77-3
2,2-Difluoroethyl trifluoromethane sulfonate	2,2-Difluoroethyl triflate	DFEMS	74427-22-8
2,2-Bis(trifluoromethyl)propionyl fluoride	2,2-Bis(trifluoromethyl)propionyl fluoride	2,2-BPF	1735-87-1
Perfluoroheptanoyl chloride	Perfluoroheptanoyl chloride	PFHC	52447-22-0
2,5-Bis(trifluoromethyl)-3,6-dioxundecafluorooxononoyl fluoride	Hexafluoropropene oxide trimer	2,5-BDF	2641-34-1
Perfluoro(2-methylpentane)	Perfluoroisohexane	PFMP	355-04-4
Heptafluorobutyric Acid	Perfluorobutyric acid	PFBA	375-22-4
Perfluoropentanoic acid	Perfluoropentanoic acid	PFPeA	2706-90-3
Perfluorohexanoic acid	Perfluorohexanoic acid	PFHxA	307-24-4
Perfluoroheptanoic acid	Perfluoroheptanoic acid	PFHpA	375-85-9
4-Chlorobenzotrifluoride	-	4-CBTF	98-56-6
Nonafluorobutane sulphonic acid	Perfluorobutanesulfonic acid	PFBS	375-73-5
Potassium perfluoro-1-octanesulfonate	Potassium perfluorooctanesulfonate	PFOS-K	2795-39-3
1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-ol	2H-Perfluoro-2-propanol	HFIP	920-66-1
2,2,3,3,3-Pentafluoropropyl	2:1 Fluorotelomer	PFPO	422-05-9

n-1-ol	alcohol		
課題1の物質名称	本報告書の物質名称	略称	CAS, NO
Perfluorooctanoic acid	Perfluorooctanoic acid	PFOA	335-67-1
Undecafluoro-2-methyl-3-oxahexanoic acid	Perfluoro-2-methyl-3-oxahexanoic acid	GenX (HFPO-DA)	13252-13-6
Heptafluorobutyryl chloride	Heptafluorobutyryl Chloride	HFBC	375-16-6
3-Perfluorohexyl-1,2-epoxypropane	3-(Perfluorohexyl)-1,2-epoxypropane	PFHEP	38565-52-5
2,2,3,3,3-Pentafluoropropyl trifluoromethanesulfonate	3H,3H-Perfluoropropyl triflate	PFPMs	6401-00-9
Hexafluoroglutaric acid	Hexafluoroglutaric acid	HxFGC	678-77-3
2,2-Difluoroethyl trifluoromethanesulfonate	2,2-Difluoroethyl triflate	DFEMS	74427-22-8
2,2-Bis(trifluoromethyl)propanoic acid	2,2-Bis(trifluoromethyl)propionic acid	2,2-BPF	1735-87-1
Perfluoroheptanoic acid	Perfluoroheptanoic acid	PFHC	52447-22-0
2,5-Bis(trifluoromethyl)-3,6-dioxundecafluorooxane	Hexafluoropropane oxide trimer	2,5-BDF	2641-34-1
Perfluoro(2-methylpentane)	Perfluoroisohexane	PFMP	355-04-4
Heptafluorobutyric acid	Perfluorobutyric acid	PFBA	375-22-4
Perfluoropentanoic acid	Perfluoropentanoic acid	PFPeA	2706-90-3
Perfluorohexanoic acid	Perfluorohexanoic acid	PFHxA	307-24-4
Perfluoroheptanoic acid	Perfluoroheptanoic acid	PFHpA	375-85-9
4-Chlorobenzotrifluoride	-	4-CBTF	98-56-6
Nonafluorobutanesulfonic acid	Perfluorobutanesulfonic acid	PFBS	375-73-5
Potassium perfluoro-1-octanesulfonate	Potassium perfluorooctanesulfonate	PFOS-K	2795-39-3
1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-ol	2H-Perfluoro-2-propanol	HFIP	920-66-1
2,2,3,3,3-Pentafluoropropan-1-ol	2:1 Fluorotelomer alcohol	PFPO	422-05-9

まず DFEMS は、QSAR Toolbox の Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS によると、「Alkyl (C<5) or benzyl ester of sulphonic or phosphonic acid (Genotox)」という遺伝毒性発がん物質としてのアラート構造を有する。しかし、課題1では、DFEMS の類似構造物質で同じアラート構造を有する 3H,3H-Perfluoropropyl triflate (PFPMs) では陰性（遺伝毒性発がん物質に該当しない）の結果が得られている。（下図の青丸部分のみが異なる。）

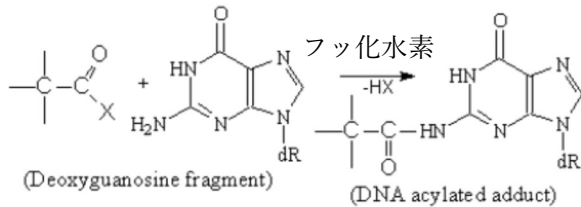
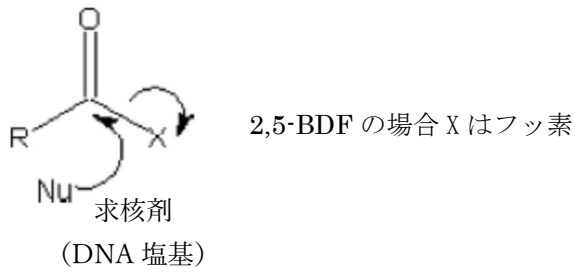


上図に示す本アラートは、アルキル鎖が5未満のスルフォネートによる遺伝毒性発がんに対するもので、methyl methanesulfonate (IARC: 2A) などに代表される SN2 リアクションによる 7-メチルグアニン形成や、isopropyl methanesulfonate 及び 2-butyl methanesulfonate などに代表される SN1 リアクションによる O6-アルキルグアニンの形成が知られている。このメカニズムによるアダクト形成を DFEMS で図示すると以下ようになる。



DFEMS と PFPMs の構造の違いは青丸で示した部分であるが、PFPMs の方が、構造が大きく、そのため求核剤がアタック出来ずに DNA アダクトが形成されなかった可能性が示唆された。メカニズムの定義にもアルキル鎖が5未満の時に限定されていることから、スルフォネートに結合している部分の分子の大きさが関連するという考察をサポートしている。これら二つの物質の類似物質である 2,2,2-Trifluoroethyl triflate (CAS: 6226-25-1) については、表13に示した通り Ames の陽性結果も得られていることから、少なくとも炭素数 (C = 1; メチル) のフッ素化において、スルフォネート構造は *in vivo* においても遺伝毒性を示す可能性がある。一方、PFPMs の結果から炭素数 (C >= 2: エチル) のフッ素化においては、アダクトが形成されにくい可能性がある。したがって、本アラート構造はいわゆる長鎖 PFAS には適用されないメカニズムである可能性が示唆された。

次に、2,5-BDF については、「Acyl halides (Genotox)」という遺伝毒性発がん物質としてのアラート構造を有する。



ハロゲン化アシルに対するアラートで、上図の通り DNA アダクトを形成することが知られている。

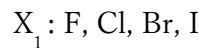
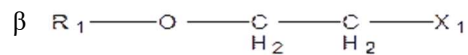
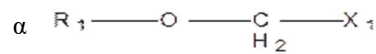
しかし、課題 1 ではアシル基を有する物質を 5 物質試験しているが、遺伝毒性発がん物質と判断された物質は 2,5-BDF のみであった (表 15)。表 9 に示した通り、フッ化アシル化合物の Ames 試験では陽性の結果が得られており、*in vivo* において一貫性のない結果が得られた観点において、アシル基を有する有機フッ素化合物の分類については、更なる調査が必要であると考えられた。

表 15. 課題 1 のフッ化アシル化合物の結果

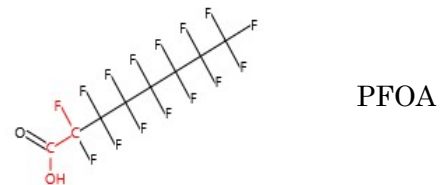
物質名称	構造	結果
HFBC		遺伝毒性発がん物質に該当しない
HxFGC		遺伝毒性発がん物質に該当しない
2,2-BPF		遺伝毒性発がん物質に該当しない
PFHC		遺伝毒性発がん物質に該当しない
2,5-BDF		遺伝毒性発がん物質

最後に PFOA については、一般的には非遺伝毒性物質と考えられており、メカニズムは完全に解明されていないものの、げっ歯類の肝臓におけるペルオキシソーム増殖作用の大部分はペルオキシソーム増殖因子活性化受容体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) によって媒介されていると考えられている。Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS の分類でも PFOA は非遺伝毒性発がん性物質に分類され、QSAR Toolbox によると、げっ歯類におけるペルオキシソーム増殖誘発性肝発癌については、酸化ストレス誘導による DNA 損傷の増加や細胞増殖の促進またはアポトーシスの減少による肝細胞増殖制御の変化などがメカニズムとして収載されている。

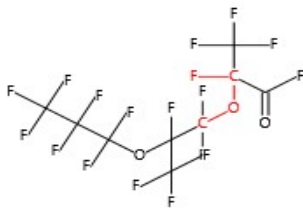
一方、Oncologic Primary Classification によると、PFOA は「Alpha- and beta-Haloether Reactive Functional Groups」に属する。この分類は、以下のようなエーテルとハロゲンを有する構造である。



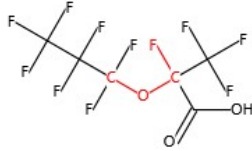
代表的な例として、bis-(chloromethyl)-ether (IARC: 1) があるが、 $\alpha$ -ハロエーテルのようにハロゲン (フッ素) と酸素に挟まれている炭素が  $\delta^+$  に帯電することにより、アルキル化剤として働くというメカニズムである。例えば、表 12 に示した Trifluoromethylhypofluorite や、表 9 カルボン酸エステルの Ames 試験で陽性の結果が得られたのは、このメカニズムが関与している可能性がある。 $\beta$ -ハロエーテルは  $\alpha$ -ハロエーテルより弱いアルキル化剤であるが、PFOA は下記の図で示す赤い部分が  $\beta$ -ハロエーテルに相当する。



この観点で、課題 1 で遺伝毒性発がん物質と判断された 2,5-BDF は、赤字で示す部分が  $\alpha$ -ハロエーテルに相当し、HFBC、HxFGC、2,2-BPF 及び PFHC と異なる点ではあるが、その一方で、課題 1 で遺伝毒性発がん物質とは判断されなかった GenX (Ames 試験も陰性) のような  $\alpha$ -ハロエーテル化合物も存在することから、構造による分類のためには更なる情報集積が必要である。



2,5-BDF



GenX

また、表3・表7に示した通り、PFOAと鎖長違いのカルボン酸化合物やGenXなどのカルボン酸を含む有機フッ素化合物のAmes試験の結果は全て陰性であり、また、課題1では、PFOA以外のカルボン酸(PFBA、PFPeA、PFHxA、PFHpA)では陰性(遺伝毒性発がん性物質ではない)の結果が得られていることから、PFOAだけが異なる結果となった事については、慎重に考察していく必要があると考えられる。また、課題1(非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法)では、PFOA及びGenXについては非遺伝毒性の発がん性物質と判断されており、それぞれの結果を複合的に考察していく必要もあると考えられた。

#### ④ 遺伝毒性試験及び発がん性試験の既知見の整理

PFAS物質に関し遺伝毒性及び発がん性の既知見を整理した結果、発がん性の観点で注目されているPFOA及びPFOSとそれらの類似物質について、標準的な菌株を用いたAmesはいずれの物質でも陰性の結果であった(表3、表4)。したがって、遺伝毒性発がん性を示唆するAmes試験結果は得られていない。一方、*in vitro* コメットアッセイの結果で、C8及びC9のカルボン酸、C8のスルホン酸のPFASで陽性の結果が得られていたことから、何らかのDNAの損傷が限定的な鎖長の物質で起こる可能性も示唆された。なお、食品安全委員会(2024)のPFAS評価書では、*in vitro* コメットアッセイ陽性結果の考察において、酸化ストレスによる二次的なDNA損傷性を示すものの、直接的な遺伝毒性は有しないとしている。表5に示したアルコール(水酸基を含むPFAS)では、Ames試験の陰性が確認されており、C8のPFAS物質ではあるが、Fluorotelomer alcohol 8:2においては、発がん性も認められていない。従って、エチルアルコールのPFAS物質は遺伝毒性発がん性物質としての懸念は低い可能性がある。しかしメチルアルコールのPFAS物質は、 $\alpha$ -ハロエーテルのアラート構造を有するため、更なる知見が必要と考えられる。表6に示したフッ化スルフォニルの結果では、分子量が小さい化合物については、Ames試験陽性の結果が得られているものの、長鎖PFASではAmes試験は陰性の結果が得られている。また表11に示したアルキ

ルハライド(環状含む)のAmes試験結果でも分子量が小さい化合物でAmes試験陽性の結果が得られており、これらの物質の遺伝毒性(発がん性の閾値の有無)への影響は鎖長が関連し得ることが示唆される。来年度はこれらのAmes陽性物質のアラート情報の整理を行う予定である。また、POPs条約では、PFOA、PFOSに加え、長鎖PFASやPFHxSの毒性について懸念されているが、本研究の結果を踏まえると、鎖長の短いPFASについても毒性情報の集積が望まれる。更に、Ames試験の結果と哺乳類における発がん性の関連性(*in vitro*から*in vivo*への外挿)について考察するためには、Ames試験陽性物質において、課題1で遺伝毒性発がん性物質と判断されるか否かの確認を行う事や、逆に課題1で陽性だった物質のAmes試験の結果を得ることが望まれるため、本調査結果が、課題1及び課題2における被験物質の選定に役立つことを期待する。

## E. 結論

環境中での難分解性、生体内蓄積性及び発がん性等の健康被害が問題となっている有機フッ素化合物のPFAS(Per-and Polyfluoroalkyl substances: パー及びポリフルオロアルキル物質)は1万種類以上存在するが、これら全ての発がん性の有害性評価を発がん性試験の結果を用いて実施することは極めて困難である。そこで本研究では、課題1及び課題2と連携を図りながら、PFASの構造類似性及び各特性の検証を行い、発がん性予測の*in silico*評価システムの確立を目指す。令和6年度は、約470物質のPFASを対象として、QSAR Toolboxを用いて構造に基づくグループ化と、PFAS類の発がん性・遺伝毒性に関するメカニズムとして以下の7項目について分類を行った。①Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS、②DNA alerts for AMES, CA and MNT by OASIS、③DNA binding by OASIS、④DNA binding by OECD、⑤Oncologic Primary Classification、⑥*in vitro* mutagenicity (Ames test) alerts by ISS、⑦*in vivo* mutagenicity (Micronucleus) alerts by ISS。フッ素を含むハロゲンに関する発がん性のアラート(Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS)としては、以下の6アラートがヒットした。①Trichloro (or fluoro) ethylene and Tetrachloro (or fluoro) ethylene (非遺伝毒性)、②(Poly) Halogenated Cycloalkanes (非遺伝毒性)、③Perfluorooctanoic acid (PFOA) (非遺伝毒性)、④Acyl halides (遺伝毒性)、⑤Monohaloalkene (遺伝毒性) ⑥Aliphatic halogens (遺伝毒性)。また、PFAS類の遺伝毒性や発がん性について先行研究の試験結果を収集し、約70物質の遺伝毒性情報を得ることが出来た。発がん性の観点で最も注目されているPFOA及びPFOS(国際がん研究機関(IARC): グループ1及び2B)とそれらの鎖長違いの類似物質について、標準的な菌株を用いたAmes試験はいずれの物質でも陰性の結果であった。一方、コメットアッセイの結果では、PFOA及びPFOSで陽性の結果が得

られており、何らかの DNA の損傷が限定的な鎖長の物質で起こる可能性が示唆された。フッ化アシルやカルボン酸エステルを含む PFAS で Ames 試験の陽性結果が得られており、今後 Ames 試験陽性物質について哺乳類の発がん性への外挿の観点で考察するためには、更なる情報の集積が必要であると判断された。また、類似構造を比較した時に、鎖長が短い PFAS の方が、鎖長が長い PFAS よりも DNA と反応しやすい可能性のある化学構造がある事が明らかになり、今後、鎖長の短い PFAS についても毒性情報の集積が望まれる。今年度の調査により、いくつかの PFAS 化合物については、構造毎の毒性傾向をつかむことが出来たが、次年度以降も引き続き、課題 1 及び課題 2 の結果と、遺伝毒性試験や発がん性試験の既知見とを比較しながら、関連する発がん性メカニズムの整理を行う予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hirose N, Hasegawa S, Umamo T, Murata Y, Iso T, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (X). Bull Natl Inst Health Sci. 2024; 142: 63-70.
2. Iso T, Suzuki K, Murata Y, Hirose N, Umamo T, Horibata K, Sugiyama KI, Hirose A, Masumura K, Matsumoto M. Lack of in vivo mutagenicity of carbendazim in the liver and glandular stomach of MutaMice. Genes Environ. 2024; 46: 7.

## 2. 学会発表

1. 村田康允、赤木純一、土井悠子、磯貴子、馬野高昭、小川久美子、増村健一、松本真理子. ジルコニウムプトキシドのラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験. 福岡、第51回日本毒性学会学術年会、2024年7月3-5日
2. 磯貴子、村田康允、広瀬望、馬野高昭、津田雅貴、堀端克良、杉山圭一、増村健一、松本真理子. 酢酸コバルト(II)四水和物のin vivo変異原性評価. 福岡、第51回日本毒性学会学術年会、2024年7月3-5日
3. Matsumoto M, Yoshida K, Umamo T, Murata Y, Hirose N, Iso T, Yamada T, Masumura K. In vitro to in vivo extrapolation (IVIVE) for uterotrophic activity of 4-alpha-cumylpheno. 1. 福岡、第51回日本毒性学会学術年会、2024年7月3-5日
4. 松本真理子、磯貴子、馬野高昭、村田康允、広瀬望、増村健一、堀端克良、杉山圭一. トルエンジイソシアネート経口投与による MutaMouse 肝臓における変異原性. 岡山、第 53 回日本環境変異ゲノム学会、2024 年 12 月 7-8 日

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし