

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

研究代表者 魏 民 大阪公立大学大学院医学研究科環境リスク評価学 准教授

### 研究要旨

本研究は、有機フッ素化合物（PFAS）の発がん性を短期間かつ高精度に評価するスキームを構築することを目的とし、短期肝発がん物質検出法（遺伝毒性及び非遺伝毒性肝発がん物質検出法）や DNA 付加体解析、*in silico* 予測ツールを用いて、多角的な視野から PFAS の発がんリスクを総合的に評価する。本年度は、ToxCast Chemical Inventory に登録された 430 種類の PFAS を対象とし、OECD の *in silico* 予測ツールである QSAR Toolbox を用いて、構造に基づくグループ化及び発がんメカニズムに基づくアラート分類を行った。その分類に基づき、PFOA、PFOS 及び GenX を含む 19 種類の PFAS について、ラット 1 日単回経口投与試験を実施した。急性経口毒性情報がない 14 物質について、OECD TG423 に従い急性毒性試験及び GHS 急性経口毒性区分評価を実施し、いずれも GHS 区分 4 または 5 に該当することが確認された。また、病理組織学的解析では 19 物質中 PFOS、PFHpA、PFPO を除いた 16 物質で肝障害が、PFHEP、2,2-BPF、2,5-BDF の 3 物質で腎障害が認められた。さらに、採取した肝臓を用いて遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法を用いたところ、19 物質中 3 物質（PFOA、DFEMS、2,5-BDF）が陽性と示された。DFEMS 及び 2,5-BDF は、QSAR でも遺伝毒性発がん性が予測されており、構造的特徴と毒性発現の相関が示唆された。また、OECD TG407 に基づいた 28 日投与実験を 6 種類の PFAS（PFOA、GenX、HxFGC、DFEMS、PFHxA 及び PFHEP）について全臓器について検討し、PFAS による毒性の主たる標的臓器が肝臓及び腎臓であることが確認された。さらに、採取した肝臓を用いた非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討では、PFOA 及び GenX が陽性と示され、その発がん機序は PPAR $\alpha$  だけでなく酵素誘導も関与する可能性が示された。QSAR による構造活性相関情報から、DNA のアルキル化を介して変異原性を誘発する可能性がある PFOA 及び PFMS について、アルキル化 DNA の修復酵素欠損株 (YG7108) を用いた Ames 試験を実施し PFOA は陰性であったが、DFEMS は陽性と示された。以上より、QSAR による構造による発がん性予測結果と、OECD テストガイドラインに準拠した PFAS の GHS 急性経口毒性区分評価、毒性病理学的解析による毒性評価に加え、我々が開発した短期肝発がん物質検出法により肝発がん性に関する知見が得られた。それら結果の一部は QSAR による毒性や発がん性予測と一致しており、*in silico* 予測ツールの有用性を示したが、完全一致は得られず PFAS の構造に応じた予測精度の高い *in silico* ツール開発の必要性が考えられた。今後は DNA 付加体解析の結果を加え、多角的な視野から PFAS の発がんリスクを総合的に評価するスキームを確立していく。

### 研究分担者

鈴木周五 大阪公立大学大学院医学研究科 教授  
戸塚ゆ加里 星薬科大学 教授  
松本真理子 国立医薬品食品衛生研究所 室長  
藤岡正喜 大阪公立大学大学院医学研究科  
特任講師

### 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ている。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、その実施は極めて困難である。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。

我々はこれまで既知発がん物質の大半が肝臓を標的とすることに着目し、遺伝毒性（感度 83%、特異度 97%、正答率 92%）及び非遺伝毒性肝発がん物質（感度 91%、特異度 93%、正答率 92%）を短期かつ高精度に検出できる検出法（短期肝発がん物質検出法）を確立している。本研究では我々の確立したモデルを活用し、有機フッ素化合物の発がん性検証とともに、新たに有機フッ素化合物に特異的な評価の試験スキーム開発を行う。また、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り発がん機序を解明し、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。

本年度は、合計 19 種類の PFAS について、我々の確立した短期肝発がん物質検出法（遺伝毒性及び非遺伝毒性肝発がん物質検出法）を用いた発がん性の可能性を評価し、さらに DNA 付加体解析、QSAR 予測ツールを組み合わせた検討を行った。

## B. 研究方法

### 【課題 1】肝発がん物質短期検出スキームによる検討

#### 1) 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法を用いた検討 (魏、藤岡)

6 週齢の雄 SD ラットを用いて、被験物質の単回強制胃内投与試験を行った。被験物質に関する情報は(表 1)に示す。また、溶媒対照群(対照群)として 0.5% Methyl cellulose (MC) 投与群を設けた。

試験では、LD50 既知の 5 物質については、遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法に基づき LD50 の 1/3 の用量を投与した。急性経口毒性情報がない 14 物質については、OECD TG 423 に従い急性毒性試験を実施し、得られた 1 日単回経口投与試験の最大耐量を投与した(表 2)。具体的には、初回投与として TG 423 で定められた最大用量である 2000 mg/kg を 3 匹の動物に投与した。その結果、死亡例が 1 匹以下であった場合は、新たに 2000 mg/kg を 3 匹に追加投与した。2 回目の投与でも死亡例が 1 匹以下であれば、LD50 は 2000 mg/kg 以上と判断し、投与量を 2000 mg/kg と設定した。一方、いずれかの投与で死亡例が 2 匹以上の場合、LD50 は 2000 mg/kg 以下と判断され、次に 300 mg/kg の用量で同様の手順を行った。さらに、300 mg/kg の試験でも死亡例が 2 匹以上の場合、用量を 50 mg/kg に減らし、同様の試験を繰り返して最大耐量を決定した。

さらに、本検出法を用いたところ、PFOA は LD50 の 1/3 (330 mg/kg)、DFEMS は最大耐量 (300 mg/kg) の用量で遺伝毒性肝発がん物質であることが示唆されたため、確認試験ではこれらの用量を高用量として設定し、公比 3 で除した中用量及び低用量を追加して試験を実施した。

被験物質投与後 24 時間後に剖検を行った。肝臓を摘出し、RNA 抽出用としての外側左葉 (LL) を摘出後、下端辺縁部を約 2 cm×0.5 cm の大きさで 2 スライス切り出し、それぞれ 1mL の RNeasy later が入った 1.5mL チューブへ移した (合計 2 本)。1.5 mL チューブを 4℃で一晩保管後、-80℃で長期保管した。凍結保存サンプル用として、外側左葉の上半分を 1.5 ml チューブ 2 本分採取し、液体窒素により凍結後、-80℃で凍結保管した (1 本は DNA adduct 解析用)。ホルマリン固定用サンプルとして、外側左葉の下半分、内側右葉 (RM) 及び右葉尾部 (R2) から計 3 スライス切り出し、カセットに入れ 10%ホルマリンにて固定した。

得られた肝臓を用いて、既報論文 (Gi M et al., Arch Toxicol, 2024) で報告した遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法で、遺伝毒性肝発がん性について検証した。この検出法は、感度 83%、特異度 97%、正答率 92%と精度の高い検出法である。10 マーカー遺伝子発現については、リアルタイム PCR (qPCR) にてデータを取得した。肝臓からの total RNA 抽出と cDNA の合成はそれぞれ RNeasy mini kit (キアゲン) と Super Script VI VIL0 Maste Mix (Thermo Fisher Scientific) を使用した。得られた遺伝子発現データを我々が構築した遺伝毒性肝発がん物質検出のモデル (サポートベクターマシンによる数理的アルゴリズムによるモデル) に入力し、判定を行った。

また解剖時に肝臓、腎臓及び脾臓については重量を測定した。得られた組織は 10%中性緩衝ホルマリン液で固定を行い、切り出し・パラフィン包埋したのちに病理組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した上で鏡検を行った。

表 1. 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法で検討した PFAS

被験物質名	略称	IRAC	化審法
Perfluorooctanoic acid	PFOA	Group 1	第一種特定化学物質
Undecafluoro-2-methyl-3-oxahexanoic acid	GenX		
Heptafluorobutyl chloride	HFBC		
3-Perfluorohexyl-1,2-epoxypropane	PFHEP		
2,2,3,3,3-Pentafluoropropyl trifluoromethanesulfonate	PFPMs		
Hexafluoroglutaryl chloride	HxFGC		
2,2-Difluoroethyl trifluoromethanesulfonate	DFEMS		
2,2-Bis(trifluoromethyl)propanoic acid	2,2-BPF		
Perfluoroheptanoyl chloride	PFHC		
2,5-Bis(trifluoromethyl)-3,6-dioxadecafluorononanoic acid	2,5-BDF		
Perfluoro(2-methylpentane)	PFMP		
Heptafluorobutyric Acid	PFBA		
Perfluoropentanoic acid	PFPeA		
Perfluorohexanoic acid	PFHxA		
Perfluoroheptanoic acid	PFHpA		
4-Chlorobenzotrifluoride	4-CBTf	Group 2B	
Nonafluorobutanesulphonic acid	PFBS		
Potassium perfluoro-1-octanesulfonate	PFOS	Group 2B	第一種特定化学物質
2,2,3,3,3-Pentafluoropropan-1-ol	PFPO		

#### 2) 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討 (鈴木、藤岡)

OECD テストガイドラインの TG407 :げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験を基に動物実験を行った。6 週齢 SD 雄ラットに被験物質を 28 日間投与後に屠殺剖検を行い、肝臓を採取した。肝臓から RNeasy mini kit (キアゲン) を用いて total RNA を抽出・精製し、GeneChip® Clariom D Assay, Rat (Rat Transcriptome Array 2.0) を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、被験物質ごとの遺伝子発現変化データを取得した。

得られた遺伝子発現変化のうち、既報論文 (Kanki M et al., J Toxicol Sci, 2016) で報告した非遺伝毒性肝発がん物質検出モデル (基盤モデル) で、特異性及び感受性について検証した。この検出法は、感度 77%、特異度 100%、正答率 95%と精度の高い検出法である。具体的には、GeneChip® Rat Genome 230 2.0 Array を使用して、非遺伝毒性肝発がん物質うち、細胞傷害 (TAA、MP) や酵素誘導 (PB、HCB)、PPAR $\alpha$  アゴニスト (CFB、WY) に属する 2 種の化学物質から統計的に有意な発現変動を示す共通する遺伝子を選出し、組み合わせた 106 遺伝子セットを用いて、非遺伝毒性肝発がん物質の検出 (サポートベクターマシンによる数理的アルゴリズムによるモデル) により作成したモデルを用いて特異性及び感受性について検証した。

また、細胞傷害 (TAA、MP) や酵素誘導 (PB、HCB)、PPAR $\alpha$  アゴニスト (CFB、WY) に属する 2 種の化学物質において、高用量及び中間用量を投与した群と対照群との発現差が Welch T 値で 5 以上となる遺伝子を選んだ後に各 2 種の化学物質で共通する遺伝子を選出した。次にそれぞれの属する化学物質の高用量投与群において、対照群との平均した発現差が 4 倍以上異なるとともに、42 の非発がん物質で発現変動平均が 1.5 倍以下となる遺伝子を選出した。その結果、細胞傷害 4 遺伝

子や酵素誘導 2 遺伝子、PPAR $\alpha$  アゴニスト 18 遺伝子が選出された。それぞれの遺伝子を用いて各発がん機序に対し陽性となる予測モデルを作成し、いずれかで陽性と判定された物質を陽性と判定する新たな予測モデルを構築した（機序別統合モデル）。

令和 6 年度は、Perfluorooctanoic acid (PFOA) 10 mg/kg、Undecafluoro-2-methyl-3-oxahexanoic acid (GenX; HFPO-DA)、Hexafluoroglutaric chloride (HxFGC)、2,2-Difluoroethyl trifluoromethanesulfonate (DFEMS)、Perfluorohexanoic acid (PFHxA) については 100 mg/kg、3-Perfluorohexyl-1,2-epoxypropane (PFHEP)、Perfluoro(2-methylpentane) (PFMP) 300 mg/kg の用量で強制胃内投与を行った。なお、実験は 2 回に分けて行った。

屠殺剖検時に、肝臓、腎臓、脾臓、大脳、小脳、肺、心臓、舌、膵臓、胸腺、前胃、腺胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、前立腺、精囊、精巣上体、下垂体、副腎及び甲状腺を採取した。また、剖検時に得られた肝臓、腎臓及び脾臓については臓器重量を測定した。さらに、剖検時に採取した全血及び血清を用いて血液学的・血液生化学的検査を行った。得られた組織は 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定を行い、切り出し・パラフィン包埋したのちに病理組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した上で鏡検を行った。

#### [統計学的解析]

臓器重量の有意差検定について、F 検定による等分散検定を行った。等分散の場合は Student's t-test 検定を行い、不等分散の場合は Welch t-test 法による両側検定を行った。病理組織学的検査における発生頻度の差の検定について、Fisher の直接確率検定を行った。

### 【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（戸塚）

#### ① DNA 付加体の網羅的解析

課題 1 で実施した PFAS 19 物質を単回経口投与で得られた肝臓から DNA を抽出し、DNaseI、ヌクレアーゼ P1、アルカリホスファターゼ、ホスホジエステラーゼによりモノデオキシリボヌクレオシドに消化し、HPLC-高分解能精密質量分析機器による DNA アダクトーム解析を実施する準備を行った。

#### ② アルキル化 DNA の修復酵素欠損株を用いた Ames 試験

松本分担研究者からの構造活性相関による情報を基に、DNA のアルキル化を介して変異原性を誘発する可能性のある 4 つの PFAS (PFOA、PFPMs、DPMS、2,5-BDF) について、アルキル化 DNA の修復酵素欠損株 (*Salmonella typhimurium* YG7108) を用いた Ames 試験により、変異誘発能の確認を実施した。

OECD テストガイドラインでは、Ames 試験を実施する際の使用化学物質上限値 (5 mg/plate もしくは 5  $\mu$ L/plate) を参考に、生育阻害が観察されない適当な用量 (溶媒対照を含む 5 用量) で実施した。試験菌株はアルキル化 DNA の修復酵素 (MGMT) 欠損株 (YG7108) とその野生型 (TA1535) を用い、構造活性相関情報に従い、代

謝活性化系の存在下または非存在下で実施した。独立した試験を少なくとも 2 回実施し、それら結果の平均値で変異原活性の判定を行った。

### 【課題 3】*in silico* 評価系の確立と検証（松本）

#### 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<sub>3</sub>) またはメチレン (=CH<sub>2</sub>/-CH<sub>2</sub>-) 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 ページからリストを入手した (松本分担報告書を参照)。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。

#### 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 に 430 物質を入力し、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 で構造アラート検索を行った。検索項目は以下の 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 分類ガイドラ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。

(倫理面の配慮)

動物を用いた実験は大阪公立大学実験動物倫理委員会の承認を得た上で、関係法令を遵守して実施する。動物の飼育・処置に当たっては、動物愛護の精神に則るとともに倫理規定に十分配慮し、解剖時には麻酔下での安楽死を施すなど、苦痛軽減に努めることとする。

## C. 研究結果

### 【課題1】肝発がん物質短期検出スキームによる検討

1) 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法を用いた検討 (魏、藤岡)

#### ① 被験物質の選定

課題2で得られたPFASに関する情報を基に、QSARで「遺伝毒性発がん性を有する」と予測される物質や、*in silico* 評価系の構築に必要な構造的類縁物質を優先的に選定した。また、第一種特定化学物質、に分類されるPFASを最優先の検討対象とした(表1)。なお、選定された19物質のうち、14物質については急性経口毒性に関する情報が得られていない(表2)。

#### ② 急性経口毒性の検討

本実験条件下で得られた各PFASの最大耐量、生存率、及びGHS区分を表2に示した。LD50が不明であった14物質について急性経口毒性試験を実施した結果、3物質はLD50が2000 mg/kg以上であり、GHS区分5に分類された。残りの11物質はLD50が300 mg/kgから2000 mg/kgの範囲にあり、GHS区分4に分類された。

#### ③ 体重及び臓器重量

対照群と比較して、PFOA 330 mg/kg投与群、DFEMS 300 mg/kg投与群、GenX (HFPO-DA)、PFMS、PFBA投与群で有意な体重の増加抑制がみられた。また、対照群と比較して、絶対肝重量の有意な減少がPFOA 330 mg/kg投与群、DFEMS 100, 300 mg/kg投与群、GenX (HFPO-DA)、PFOS、PFMS、PFBA、HFBC、PFPeA投与群でみられた。一方、PFMP投与群においては、有意な増加が確認された。また相対肝重量の有意な減少が、DFEMS 100, 300 mg/kg投与群、PFMS、PFBA、PFHxA、4-CBTF、PFPeA投与群でみられた。絶対腎臓重量の有意な増加が、PFHEP、2,2-BPF、PFHC、2,5-BDF、PFHxA、4-CBTF投与群でみられた。また、有意な減少がPFOA 330 mg/kg投与群、PFOS、PFPeA、PFHpA投与群でみられた。相対腎臓重量の有意な増加が、PFOA 330 mg/kg投与群、DFEMS 300 mg/kg投与群、GenX (HFPO-DA)、PFHEP、2,2-BPF、2,5-BDF、PFBA、PFHxA、4-CBTF、HFBC、PFPO投与群でみられた。絶対脾臓重量の有意な減少がPFOA 110, 330 mg/kg投与群、DFEMS 300 mg/kg投与群、PFBA、4-CBTF投与群でみられた。

#### ④ 病理組織学的解析

対照群と比較して、肝臓の単細胞壊死の有意な増加がPFOA 35, 110, 330 mg/kg投与群、DFEMS 100, 300 mg/kg投与群、GenX (HFPO-DA)、PFHEP、PFMS、HxFGC、2,2-BPF、PFHC、2,5-BDF、PFMP、PFBA、PFHxA、4-CBTF、

PFBS、HFBC、PFPeA投与群の計16物質でみられた。また、肝臓の単細胞壊死の増加がDFEMS 100, 300 mg/kg投与群、HxFGC、PFBA投与群でみられた。さらに、腎臓の尿細管壊死の有意な増加がPFHEP、2,2-BPF、2,5-BDF投与群での計3物質みられた。また腎臓における蛋白円柱の形成の増加が2,2-BPF及び2,5-BDF投与群でみられた(藤岡分担報告書を参照)。

#### ⑤ 遺伝毒性肝発がん性の判定

qPCRで取得した遺伝子発現データを遺伝毒性肝発がん物質検出モデルに入力し、遺伝毒性肝発がん性の陽性または陰性の判定を行った(表3)。本モデルでは、遺伝毒性ラット肝発がん物質を「陽性」、その他の物質を「陰性」と判定する。その結果、19物質中3物質(PFOA、DFEMS、2,5-BDF)が陽性(遺伝毒性肝発がん物質)と示された。それ以外の16物質は陰性と示された。

表2. 各PFASの急性経口毒性(遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法)

被験物質名	LD50 (mg/kg)	本実験における最		Survival rate (%)	Oral GHS classification
		大耐量 (判定に用いた投与量 (mg/kg))			
PFOA	500-1000	330*	6/6 (100)		
GenX	1730	580*	6/6 (100)		
HFBC	不明	300	6/6 (100)		4
PFHEP	不明	2000	5/6 (83)		5
PFMS	不明	2000	4/6 (67)		5
HxFGC	不明	300	6/6 (100)		4
DFEMS	不明	300	6/6 (100)		4
2,2-BPF	不明	300	3/3 (100)		4
PFHC	不明	300	6/6 (100)		4
2,5-BDF	不明	300	6/6 (100)		4
PFMP	不明	2000	6/6 (100)		5
PFBA	不明	300	6/6 (100)		4
PFPeA	不明	300	6/6 (100)		4
PFHxA	不明	300	6/6 (100)		4
PFHpA	不明	300	6/6 (100)		4
4-CBTF	13,000	2000	6/6 (100)		
PFBS	430	140	6/6 (100)		
PFOS-K	154	50	6/6 (100)		
PFPO	不明	300	6/6 (100)		4

\* LD50の1/3

#### ⑥ 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の判定結果とQSARによる予測結果との相関

遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の判定結果とQSARによる予測結果を比較した結果を表4に示す。QSARで遺伝毒性発がん性が予測された8物質について、本検出法では2物質(DFEMS、2,5-BDF)が陽性と示され、残りの6物質は陰性と示された。一方、QSARで非遺伝毒性発がん性と予測された3物質については、本検出法で1物質(PFOA)が陽性、残りの2物質(PFHxA、PFHpA)が陰性と示された。さらに、その他のアラート構造に分類される6物質及びアラート構造を持たない2物質についても検討した結果、いずれも本検出法で陰性と示された。

#### ⑦ 確認試験

PFOA及びDFEMSの遺伝毒性肝発がん性について本検出法を用いて実施した確認試験の結果を表5に示す。

PFOA は中用量 (110 mg/kg) 及び低用量 (35 mg/kg) では陰性であったが、高用量 (330 mg/kg) では陽性が確認された。一方、DFEMS は高用量 (300 mg/kg) 及び中用量 (100 mg/kg) において、陽性を示した。

表 3. 各 PFAS の遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法による結果

PFAS	遺伝毒性	遺伝毒性肝発がん物質判定モデルの結果	QSARでの予測結果
PFOA	非遺伝毒性	陽性	非遺伝毒性発がん性
GenX (HFPO-DA)	非遺伝毒性	陰性	その他の構造アラート
HFBC	不明	陰性	遺伝毒性発がん性
PFHEP	不明	陰性	遺伝毒性発がん性
PFMS	不明	陰性	遺伝毒性発がん性
HxFGC	不明	陰性	遺伝毒性発がん性
DFEMS	不明	陽性	遺伝毒性発がん性
2, 2-BPF	不明	陰性	遺伝毒性発がん性
PFHC	不明	陰性	遺伝毒性発がん性
2, 5-BDF	不明	陽性	遺伝毒性発がん性
PFMP	不明	陰性	その他の構造アラート
PFBA	不明	陰性	その他の構造アラート
PFPeA	不明	陰性	その他の構造アラート
PFHxA	不明	陰性	非遺伝毒性発がん性
PFHpA	不明	陰性	非遺伝毒性発がん性
4-CBTF	非遺伝毒性	陰性	なし
PFBS	非遺伝毒性	陰性	その他の構造アラート
PFOS-K	非遺伝毒性	陰性	なし
PFPO	不明	陰性	その他の構造アラート

表 4. 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の結果と QSAR による予測結果との相関

QSAR	物質数	遺伝毒性肝発がん性検出モデルでの判定結果
予測結果		
遺伝毒性発がん性 (genotoxic carcinogenicity)	8	陽性: 2 (DFEMS; 2, 5-BDF) 陰性: 6
非遺伝毒性発がん性 (nongenotoxic carcinogenicity)	3	陽性: 1 (PFOA) 陰性: 2 (PFHxA; PFHpA)
その他のアラート構造	6	すべて陰性
アラート構造なし	2	すべて陰性

表 5. PFOA 及び DFEMS の確認試験

	投与量 (mg/kg)	遺伝毒性感発がん性予測モデルでの判定結果
PFOA	330	陽性
	110	陰性
	35	陰性
DFEMS	300	陽性
	100	陽性
	30	陰性

## 2) 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討 (鈴木、藤岡)

1回目の実験経過中にDFEMS投与群において最終屠殺時に2匹となったため、2回目にやり直して実験を行った。

PFOA投与群において、対照群に比べ体重増加抑制傾向が見られ、最終屠殺時には有意な体重減少を認めた (表6)。また、PFOA投与群においては肝臓の相対重量が、GenX投与群においては肝臓の絶対及び相対重量が対照群に比べ有意な増加を示した (表6)。

2回目の2日目までにPFHxA投与群において、3匹死亡したため、100から50 mg/kgへ投与量を半減した。また、

PFMP投与群において開始2週間後に2匹まで生存数が低下したため、試験を中止した。他の群については4週間投与後に、屠殺剖検した。

PFHEP投与群において、対照群に比べ体重増加抑制傾向が見られ、最終屠殺時には有意な体重減少を認めた (表7)。また、DFEMS投与群及びPFHEP投与群においては肝臓の絶対及び相対重量いずれも対照群に比べ有意な増加を認めた (表7)。

表6. 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法における体重及び肝重量、摂餌・飲水量 (1回目試験)

Treatment	No. of rat	Body weight (g)	Liver		Food consumption	Water consumption
			Absolute (g)	Relative (%)		
Control	6	378.8 ± 24.8	14.2 ± 2.0	3.7 ± 0.4	21.7 ± 2.5	42.9 ± 11.0
PFOA	6	307.5 ± 19.7 ***	17.7 ± 2.3*	5.7 ± 0.4***	18.7 ± 1.5	33.4 ± 4.2
GenX	4	359.8 ± 18.3	23.0 ± 0.5***	6.4 ± 0.4***	22.3 ± 3.1	41.5 ± 9.2
HxFGC	3	371.8 ± 7.0	13.8 ± 1.7	3.7 ± 0.4	21.3 ± 1.6	43.6 ± 9.1
DFEMS	2	373.0 ± 26.2	15.9 ± 1.8	4.3 ± 0.2	22.2 ± 4.0	42.0 ± 9.8

\*, \*\*\*, P < 0.05 and 0.001 vs Control, respectively

表7. 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法における体重及び肝重量、摂餌・飲水量 (2回目試験)

Treatment	No. of rat	Body weight (g)	Liver		Food consumption	Water consumption
			Absolute (g)	Relative (%)		
Control	6	422.4 ± 21.3	15.8 ± 1.6	3.7 ± 0.2	24.7 ± 1.3	44.2 ± 2.1
DFEMS	5	423.1 ± 28.0	18.7 ± 2.3*	4.4 ± 0.3*	24.6 ± 2.1	44.5 ± 9.7
PFHEP	5	362.5 ± 25.3 **	20.6 ± 1.2***	5.7 ± 0.4***	21.2 ± 2.0**	56.3 ± 7.4**
PFHxA	3	412.9 ± 4.8	15.2 ± 0.6	3.7 ± 0.1	25.0 ± 2.5	39.2 ± 4.0

\*, \*\*, \*\*\*, P < 0.05, 0.01 and 0.001 vs Control, respectively

肝臓の組織学的検討をした結果、1回目の実験において、PFOA投与群及びGenX投与群において小葉中心性肝細胞腫大と好酸性化が存在し、散在性に肝細胞の単細胞壊死を認めた (図1)。また、DFEMS投与群においては、グリソン鞘周囲の肝細胞の変性・壊死が目立っていた (図1)。一方、HxFGC投与群では、対照群との差がはっきりしなかった (図1)。

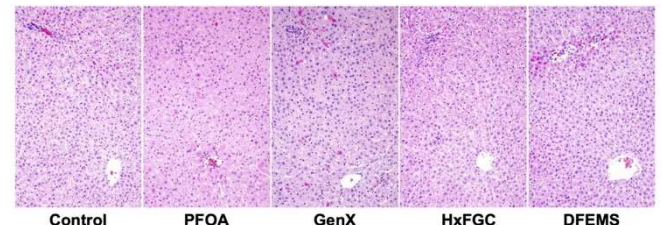


図1. 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討におけるラット肝組織像 (1回目の実験)

2回目の実験においても、DFEMS投与群においては、小葉中心性肝細胞の変性・壊死が目立っていた (図2)。また、PFHEP投与群及びPFMP投与群においてグリソン鞘周囲での肝細胞腫大が存在し、PFHEP投与群ではさらに肝細胞の好酸性顆粒状変性が認められた (図2)。一方、PFHxA投与群では、投与群との差がはっきりしなかった (図2)。

以上のように、肝細胞単細胞壊死の有意な増加がPFOA、DFEMS、PFHEP投与群でみられた。また、GenX投与群では、グリソン鞘周囲の肝細胞の変性・壊死を主体に focal necrosisを、HxFGC投与群では、極わずかながら focal necrosisがみられた。一方、PFOA、GenX (HFPO-DA)、DFEMS投与群で、小葉中心性肝細胞肥大がみられた。

腎臓については、PFHEP投与群で近位尿管の好酸性変性と拡張とともに、一部のラットでは再生尿管が

存在した。一方、糸球体領域については、いずれの群にも著変がみられなかった。肺については、一部に誤嚥性肺炎や肺炎像が散見されたが、投与群特異的な変化は乏しく、強制胃内投与後の誤嚥関連の炎症所見と推察された。その他の臓器については、一部で炎症細胞浸潤像が見られるものの散発性で、投与物質に起因すると考えられる変化はみられなかった。

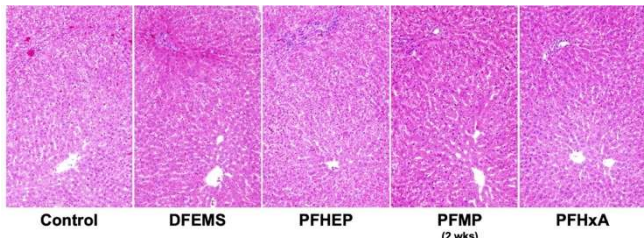


図2. 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討におけるラット肝組織像 (2回目の実験)

各投与群における遺伝子発現データについて、構築済の基盤モデルに入力し、非遺伝毒性肝発がん性の陽性または陰性の判定を行った結果、PFOA及びGenXは基盤モデルで陽性と示され、HxFGC、DFEMS、PFHEP及びPFHxAは陰性と示された(表8)。また、機序別統合モデルにおいても同様の結果が得られた。特に、PFOA及びGenXは、PPAR $\alpha$ だけでなく、酵素誘導のモデルにおいても陽性を示した(表8)。

PFOAについては、PPAR $\alpha$ 誘導による発がん性で報告されているため、その遺伝子発現変化を検討したところ、PPAR $\alpha$ の下流に位置すると報告されている遺伝子Cyp4a1(ヒトCYP4A11; マウスCyp4a10)及びAcox1の発現上昇を確認した。また、同様の発現上昇をGenXにおいても認めた。

表8. 非遺伝毒性肝発がん物質検出モデルの結果

物質	基盤モデル	機序別統合モデル		
		細胞障害	酵素誘導	PPAR $\alpha$
PFOA	+	-	+	+
GenX	+	-	+	+
HxFGC	-	-	-	-
DFEMS	-	-	-	-
PFHEP	-	-	-	-
PFHxA	-	-	-	-

## 【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(戸塚)

### ① DNA付加体の網羅的解析

現在までに、これらPFASを単回経口投与したSDラット肝臓(N=114)についてフェノール・クロロホルム法によりDNAを抽出した。いずれのサンプルからも100 $\mu$ g以上のDNAが抽出できており、以降のDNAアダクトーム解析を実施するのに十分な量である。酵素によるDNAの消化とフィルターによるLC-MS分析の前処理も終了しており、LC-HRAMの感度チェックなどが完了出来次第にこれらサンプルの分析を開始する予定である。

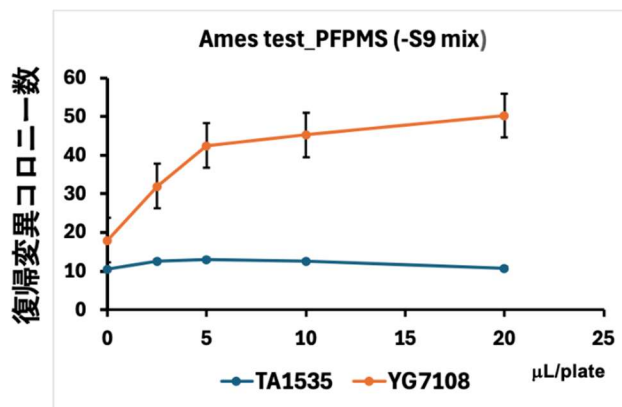
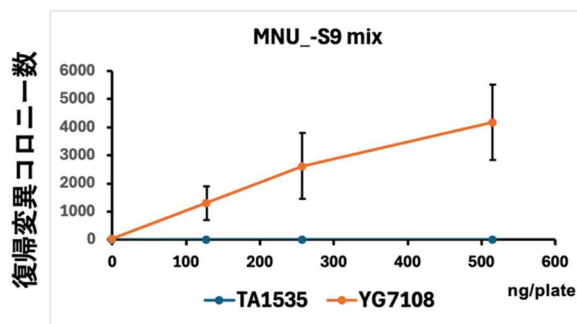


図3. 代謝活性化系非存在下でのPFPMSの変異原性

### ② アルキル化DNA修復酵素欠損株を用いたAmes試験

PFOA、PEPMSの試験を実施した結果、PFPMSでは、代謝活性化系非存在下においてTA1535では変異原性を示さなかったが、YG7108では用量依存的かつ、溶媒対照の2倍以上の復帰変異コロニー数が観察されたことから、変異原性は陽性であると判定した(図3)。さらに、その変異原活性の強度を陽性対照の*N*-Methyl-*N*-nitrosourea(MNU)と比較してみた。その結果、MNUの1mgあたりの復帰変異コロニー数は81,184であるのに対して、PFPMSの1mgあたりの復帰変異コロニー数を計算すると21.2であった(図4)。このことから、PFPMSはYG7108を用いたAmes試験では陽性となるが、その変異原活性の強度は弱いものと推測された。



MNU 1mgあたりの復帰変異コロニー数: 81,184

図4. MNUのTA1535/YG7108に対する変異原性試験結果

一方、PFOAに関しては構造活性相関情報に従い代謝活性化系存在/非存在下で、用量の上限を10 mg/plateまで上昇させて変異原性試験を実施したが、いずれの菌株及び条件下においても復帰変異コロニー数の増加は認められず、本条件下でのAmes試験における変異原性は陰性であると判定した。現在、DFEMS、2,5-BDFの変異原性試験については同様に検討中である。

## 【課題3】*in silico*評価系の確立と検証(松本)

### 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ったと考えた。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。クラス分類結果は、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。また、追加物質についても、グループ化を行った結果、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。

### 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(松本分担報告書を参照)。

### 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。

表9及び表10にPFOA及びPFOSとその類似物質のAmes試験・コメッ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10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ある事付記する。

表9. 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	コメット試験	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
Perfluorheptanoic 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

表 10. 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 11. 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

\*発がん性が認められない

表 12. 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 13. 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-Dioxahexanoic acid	919005-14-4 958445-44-8		陰性

\*膵臓がん、肝臓がん

表14. アクリレート/メタクリレートのAmes試験結果

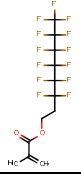
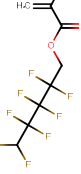

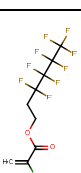
NAME	CASRN	構造	Ames試験
2-(Perfluorohexyl) ethyl methacrylate (C6)	2144-53-8		陰性
1H, 1H, 5H-Perfluoropentyl methacrylate	355-93-1		陰性
1H, 1H, 2H, 2H-perfluorooctyl acrylate	17527-29-6		陰性
2-chloroacrylic acid 3, 3, 4, 4, 5, 5, 6, 6, 6-nonafluorohexylester	701909-41-3		陽性

表15. フッ化アシルのAmes試験結果

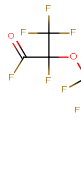

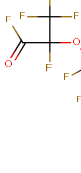
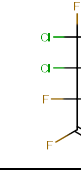
NAME	CASRN	構造	Ames試験
2-(3, 4-dichloro-1, 1, 2, 2, 3, 3, 4, 4-heptafluorobutoxy)-2, 3, 3, 3-tetrafluoropropionic acid fluoride	NO_CAS		陽性
2-(trifluoromethyl)-2, 3, 3, 3-tetrafluoropropionic acid fluoride	677-84-9		陽性
2, 3, 3, 3-tetrafluoro-2-[1, 1, 2, 2-tetrafluoro-2(fluorosulfonyl)ethoxy]propionic acid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

表16. カルボン酸エステルのAmes試験結果

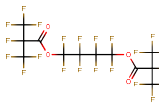
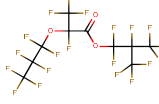
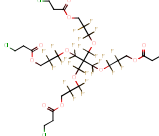
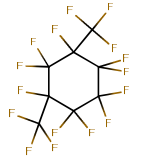
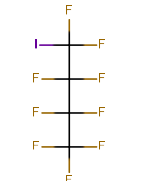
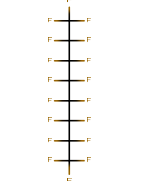
NAME	CASRN	構造	Ames試験
bis[2, 3, 3, 3-tetrafluoro-2-(trifluoromethyl)propanoic acid]octafluorobutane-1, 4-diylester	NO_CAS		陽性
2, 3, 3, 3-tetrafluoro-2-(heptafluoropropoxy)propanoic acid 2(trifluoromethyl)hexafluoropropylester	NO_CAS		陽性
bis(3-chloropropanoic acid)3, 3'-[[2, 2-bis[[3-(3-chloropropanoxy)1, 1, 2, 2-tetrafluoropropoxy]difluoroethyl]-1, 1, 3, 3-tetrafluoropropane-1, 3-diyl]dioxy]bis(2, 2, 3, 3-tetrafluoropropyl)ester	NO_CAS		陽性

表17. 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-dimethylcyclohexane	335-27-3		陰性
Nonafluoro-1-iodobutane	423-39-2		陰性
Perfluorooctane	307-34-6		陰性

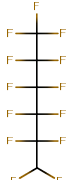
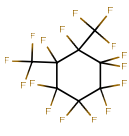
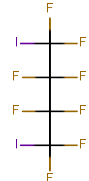
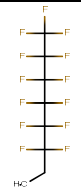
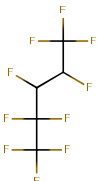
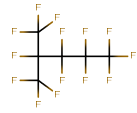
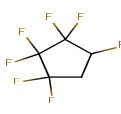
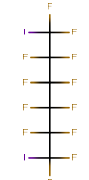
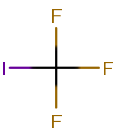
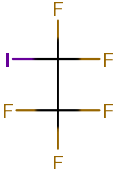
1H-Perfluorohexane	355-37-3		陰性
Perfluoro-1,2-dimethylcyclohexane	306-98-9		陰性
Perfluoro-1,4-diiodobutane	375-50-8		陰性
(Perfluoro-n-hexyl)ethane	80793-17-5		陰性
2H, 3H-Perfluoropentane	138495-42-8		陰性
Perfluoroisohexane	355-04-4		陰性
1H, 1H, 2H-Perfluorocyclopentane	15290-77-4		陰性
1,6-Diiodoperfluorohexane	375-80-4		陰性
Trifluoroiodomethane	2314-97-8		陽性
Pentafluoroiodoethane	354-64-3		陽性

表18. アルケンのAmes試験結果

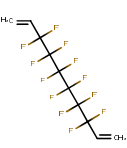
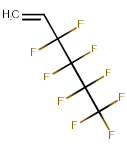
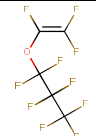
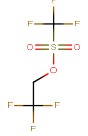
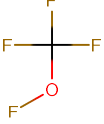
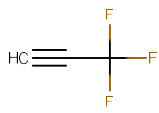
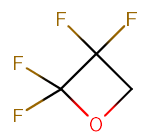
NAME	CASRN	構造	Ames 試験
1,6-Divinylperfluorohexane	1800-91-5		陰性
(Perfluorobutyl)ethene	19430-93-4		陰性

表19. 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

## D. 考察

### 【課題1】肝発がん物質短期検出スキームによる検討

① 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法を用いた検討  
 本検出法を用いたところ、PFOA、DFEMS 及び 2,5-BDF について、遺伝毒性肝発がん物質である可能性が示唆された。また、本検出法において、PFOA 及び DFEMS の遺伝毒性肝発がん性に用量相関性が認められた。しかし、PFOA は低用量では非遺伝毒性肝発がん性が示唆されたが、高用量で遺伝毒性肝発がん性と示唆されたことから、その遺伝毒性が投与量に依存する可能性が示唆された。今後は、2,5-BDF については用量反応相関性を含めた検討を実施し、判定結果について検証する必要がある。また、DFEMS 及び 2,5-BDF は QSAR でも遺伝毒性発がん性が予測されていたことから、遺伝毒性肝発がん性を有する PFAS には構造的特徴を有する可能性

が示唆された。今後さらに構造類似物質を追加して検討することにより、遺伝毒性肝発がん性物質の構造的特徴を明らかにする必要がある。

急性経口毒性に関する情報がない14物質はいずれもGHS区分4または5に該当し、区分3以下に分類される毒劇物が含まれていないことが確認された。病理組織解析の結果、今回検討した19物質のうち16物質で肝細胞単細胞壊死が存在し、単回投与による主な影響を受ける臓器として肝臓であることが示された。一方、PFHEP、2,2-BPF及び2,5-BDFでは、腎臓で尿細管壊死を認め、一部のPFASについては腎障害を引き起こすことが示された。以上の結果から、遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法を用いた検討においては、PFASによる急性毒性の主な標的臓器は肝臓であり、一部の物質では腎臓への毒性影響も認められた。

## ② 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討

今回、本検出法を用いたところ、PFOAおよびGenXが陽性と示された。PFOAについては、発がん性試験によりラットでの肝発がん性が報告されており、本モデルにおいても陽性を確認出来たことは本モデルの有効性確認に重要な結果と考える。加えて、PPAR $\alpha$ で誘導される遺伝子の発現上昇を確認し、同経路の活性化が肝発がんに寄与する事を裏付ける結果が得られた。また、GenXは、PFOAと同様の遺伝子発現変化や本検出法による結果が得られたことから、PFOAと同じ機序での肝発がん性が推察される。

28日間投与により一部のPFASでは肝臓や腎臓の重量増加を認め、組織学的にも変性や壊死など臓器への障害が確認され、遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法において病理組織学的検討で得られた結果と同様に、肝臓や腎臓が主たる毒性影響を受ける臓器である可能性が確認できた。

## 【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

現在までに、PFASを単回経口投与したSDラット肝臓についてDNAを抽出し、いずれのサンプルからもDNAアダクトーム解析を実施するのに十分な量のDNAが抽出できており、LC-HRAMの感度チェックなどが完了出来次第にこれらサンプルの分析を開始する予定である。

一方、多くのPFASはその変異原性に関する情報が不十分である。松本分担研究者からの構造活性相関による情報によると、DNAのアルキル化を介して変異原性を誘発する可能性のあるPFASがいくつか存在することだったので、アルキル化DNAの修復酵素(MGMT)欠損株(YG7108)を用いたAmes試験により、PFOA、PFPMsの変異誘発能の確認を実施した。その結果、PFOAは本条件下における変異原性は陰性であると判定した。一方、PFPMsでは、代謝活性化系非存在下においてTA1535では変異原性を示さなかったが、YG7108では変異原性は陽性であると判定した。YG7108はMGMTが欠損しているため、*O*<sup>6</sup>-methyl-dGなどのDNA付加体の修復ができず、アルキル化剤に対して高感受性となる菌株である。

しかしながら、PFOA及びPFPMsについて、遺伝毒性肝発がん物質の超短期検出法による評価では、それぞ

れ陽性及び陰性の結果が得られたのに対し、MGMT欠損株YG7108を用いたAmes試験では、逆にそれぞれ陰性及び陽性という異なる結果が得られた。このような*in vitro*及び*in vivo*試験結果の乖離については、使用菌株の特性やアルキル化DNA修復酵素の発現状況を含む複数の要因を考慮する必要がある。今後は、より多様なPFASを対象とした体系的かつ包括的な比較検討を進める必要があると考えられた。

## 【課題3】*in silico*評価系の確立と検証

### 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、DFEMS、2,5-BDF)が遺伝毒性肝発がん物質と示唆された点について、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20に示す。

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。このアラート構造はアルキル鎖が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。

表20. 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
Hexafluoroglutaric acid	Hexafluoroglutaric acid	HxFGC	678-77-3
2,2-Difluoroethyl trifluoromethane sulfonate	2,2-Difluoroethyl triflate	DFEMS	74427-22-8
2,2-Bis(trifluoromethyl)propanoic acid	2,2-Bis(trifluoromethyl)propanoic acid	2,2-BPF	1735-87-1
Perfluoroheptanoic acid	Perfluoroheptanoic acid	PFHC	52447-22-0
2,5-Bis(trifluoromethyl)-3,6-dioxadecafluorooxononanoic acid	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-Pentafluoropropan-1-ol	2:1 Fluorotelomer alcohol	PFPO	422-05-9

FEMS と PFPMs の構造の違いに関しては、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 19 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。

表 21. 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

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。これは DNA アダクトを形成できるハロゲン化アシルに対するアラートである。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 21)。表 15 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。

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がんについては、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記載されている。

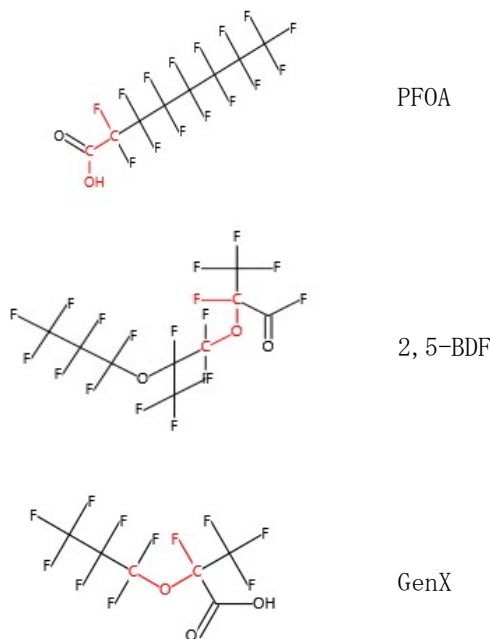


図 5. PFOA、2,5-BDF 及び GenX の構造

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、エーテルとハロゲンを含む構造である。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 18 に示した Trifluoromethylhypofluorite や、表 15 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 は図 5 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。

また、表 9・表 13 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 において遺伝毒性発がん物質超短期検出法を用いた検討でも、PFOA 以外のカルボン酸 (PFBA、PFPeA、PFHxA、PFHpA) はいずれも陰性 (遺伝毒性発がん物質ではない) であったことから、PFOA だけが異なる結果となったことについては、慎重に考察してい

く必要があると考えられる。一方、課題 2 において非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討では、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、それぞれの結果を総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9、表10)。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11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12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17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) 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* への外挿性) 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

19種類のPFASを対象に、遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法を用いた結果、3物質 (PFOA、DFEMS、2,5-BDF) が遺伝毒性肝発がん物質と示唆された。特に、DFEMS及び2,5-BDFはQSARでも遺伝毒性発がん性が予測されており、遺伝毒性肝発がん性を有するPFASには構造的特徴が存在する可能性が示唆された。また、6種類のPFASを対象に非遺伝毒性肝発がん物質検出法を用いた検討

を行った結果、2物質（PFOA及びGenX）が非遺伝毒性肝発がん物質と示唆された。さらに、1日及び28日間のPFAS投与試験により、毒性の主たる標的臓器として肝臓、及び一部において腎臓であることが確認された。加えて、急性経口毒性に関する情報が不足していた14物質について、OECD TG 423に基づき1日単回経口投与試験を実施し、最大耐量の推定及びGHS急性経口毒性区分の分類を行った。

一方で、肝発がん物質短期検出法による予測結果、Ames試験の結果、及びQSARによる予測結果の間で相違が認められる物質が確認された。今後は、より多様なPFASを対象とした体系的な比較検討を進めるとともに、さらなる情報の集積と解析が必要であると考えられる。

なお、本研究で用いた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法および非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法は、現時点では国際的な評価を受けていないものの、OECDテストガイドライン化を目指して開発・検討を進めており、今後の発展的活用が期待される。

以上、19種類のPFASにおける急性毒性、遺伝毒性・肝発がん性及びQSAR予測との相関性に関する知見が得られた。これらの成果は、有機フッ素化合物の発がん性を評価する試験スキームの構築において有用であると考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1 Suzuki S, Gi M, Yanagiba Y, Yoneda N, Uehara S, Yokota Y, Noura I, Fujioka M, Vachiraarunwong A, Kakehashi A, Koda S, Suemizu H, Wanibuchi H. Metabolism and effects of acetoacetone-toluidine in the urinary bladder of humanized-liver mice. *J Toxicol Pathol.* 2025; 38: 59-67.
- 2 Praseatsook K, Vachiraarunwong A, Taya S, Setthaya P, Sato K, Wanibuchi H, Wongpoomchai R, Dejkriengkraikul P, Gi M, Yodkeree S. Anticancer and Antioxidant Effects of Bioactive Peptides from Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*). *Nutrients.* 2025; 17.
- 3 Noura I, Suzuki S, Gi M, Fujioka M, Matsue T, Kakehashi A, Wanibuchi H. Comparative analysis of the toxic effects on the mouse lung of 4 weeks exposure to the heated tobacco product Ploom TECH+ and 3R4F reference cigarettes. *J Toxicol Pathol.* 2025; 38: 147-154.
- 4 Nakano M, Gi M, Toyooka T, Suzuki S, Wanibuchi H, Takebayashi T. Occupational health topics series on the effects of chemicals: epidemiological and toxicological risk assessments of ortho-toluidine for bladder cancer. *J Occup Health.* 2025; 67.
- 5 Fujioka M, Suzuki S, Gi M, Noura I, Vachiraarunwong A, Kakehashi A, Wanibuchi H. Nicotine promotes the development of invasive bladder carcinoma in rats. *J Toxicol Pathol.* 2025; 38: 161-165.
- 6 Zhang QY, Zhong MT, Gi M, Chen YK, Lai MQ, Liu JY, Liu YM, Wang Q, Xie XL. Inulin alleviates perfluorooctanoic acid-induced intestinal injury in mice by modulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Environ Pollut.* 2024; 342: 123090.
- 7 Zhang QY, Lai MQ, Chen YK, Zhong MT, Gi M, Wang Q, Xie XL. Inulin alleviates GenX-induced intestinal injury in mice by modulating the MAPK pathway, cell cycle, and cell adhesion proteins. *Environ Pollut.* 2024: 124974.
- 8 Watanabe K, Komiya M, Obikane A, Miyazaki T, Ishino K, Ikegami K, Hashizume H, Ishitsuka Y, Fukui T, Gi M, Suzuki S, Wanibuchi H, Totsuka Y. Development of a genotoxicity/carcinogenicity assessment method by DNA adductome analysis. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2024; 899: 503821.
- 9 Vachiraarunwong A, Gi M, Kiyono T, Suzuki S, Fujioka M, Qiu G, Guo R, Yamamoto T, Kakehashi A, Shiota M, Wanibuchi H. Characterizing the toxicological responses to inorganic arsenicals and their metabolites in immortalized human bladder epithelial cells. *Arch Toxicol.* 2024; 98: 2065-2084.
- 10 Suzuki S, Gi M, Kobayashi T, Miyoshi N, Yoneda N, Uehara S, Yokota Y, Noura I, Fujioka M, Vachiraarunwong A, Kakehashi A, Suemizu H, Wanibuchi H. Urinary bladder carcinogenic potential of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) in humanized-liver mice. *Toxicol Sci.* 2024; 202: 210-219.
- 11 Gi M, Suzuki S, Kanki M, Yokohira M, Tsukamoto T, Fujioka M, Vachiraarunwong A, Qiu G, Guo R, Wanibuchi H. A novel support vector machine-based 1-day, single-dose prediction model of genotoxic hepatocarcinogenicity in rats. *Arch Toxicol.* 2024; 98: 2711-2730.
- 12 Parsons BL, Beal MA, Dearfield KL, Douglas GR, Gi M, Gollapudi BB, Heflich RH, Horibata K, Kenyon M, Long AS, Lovell DP, Lynch AM, Myers MB, Pfuhler S, Vespa A, Zeller A, Johnson GE, White PA. Severity of effect considerations regarding the use of mutation as a toxicological endpoint for risk assessment: A report from the 8th International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT). *Environ Mol Mutagen.* 2024.
- 13 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.
- 14 Imai T, Ishigamori R, Naruse M, Ochiai M, Maru Y, Hippo Y, Totsuka Y. Bridging toxicological properties of environmental chemicals between animals and humans using healthy organoid systems. J Toxicol Sci. 2024; 49: 425-434.
  - 15 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.
  - 16 Hasegawa S, Shoji Y, Kato M, Elzawahry A, Nagai M, Gi M, Suzuki S, Wanibuchi H, Mimaki S, Tsuchihara K, Totsuka Y. Whole Genome Sequencing Analysis of Model Organisms Elucidates the Association Between Environmental Factors and Human Cancer Development. Int J Mol Sci. 2024; 25.
- ## 2. 学会発表
1. 魏民、鈴木周五、藤岡正喜、ワチラアルンウオン アルパマス、邱桂鈺、郭潤傑、鰐渕英機. 遺伝毒性肝発がん物質の超短期検出モデルの確立. 広島、第 97 回日本産業衛生学会、2024 年 5 月 22-25 日
  2. 鈴木周五、藤岡正喜、魏民、ワチラアルンウオン アルパマス、梯アンナ、鰐渕英機. ジメチルアルシン酸経胎盤ばく露肝発がんにおける脂質代謝異常の関与. 山形、第20回日本病理学会カンファレンス、2024年7月26-27日
  3. Masaki Fujioka, Min Gi, Arpamas Vachiraarunwong, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Shugo Suzuki, Hideki Wanibuchi. Development of an *in vitro* Assay for Dose Selection in Trans-Tracheal Intrapulmonary Spraying Administration in Rat. 福岡、第 51 回日本毒性学会学術年会、2024 年 7 月 3-5 日
  4. Arpamas Vachiraarunwong, Min Gi, Masaki Fujioka, Shugo Suzuki, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Ikue Noura, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi. ヒト化肝臓マウスモデルを用いたヒ素の代謝及び毒性の評価. 鳥取、第 37 回発癌病理研究会、2024 年 8 月 20-22 日
  5. 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、鰐渕英機. 有機ヒ素化合物ジフェニルアルシン酸のマウス経胎盤ばく露による F1 マウスにおける肝発がん機序には DNA メチル化異常が関与する. 愛知、2024 年度文部科学省学術変革領域研究【先端モデル動物支援プラットフォーム】若手支援技術講習会、2024 年 8 月 29-31 日
  6. 梯アンナ、西土井悠作、邱桂鈺、鈴木周五、野浦郁恵、アルパマス ワチラアルンウオン、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機. ヒト浸潤性膵管癌の新規バイオマーカーとして PRDX3 の検討. 福岡、第 83 回日本癌学会学術総会、2024 年 9 月 19-21 日
  7. 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、Vachiraarunwong Arpamas、大石裕司、邱桂鈺、Praseatsook Kwanchanok、郭潤傑、鰐渕英機. 有機ヒ素化合物ジフェニルアルシン酸の交配前期、交配期、妊娠期及び授乳期ばく露による仔ラットに対する発がん性の検討. 福岡、第 83 回日本癌学会学術総会、2024 年 9 月 19-21 日
  8. 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、Arpamas Vachiraarunwong、梯アンナ、鰐渕英機. o-Toluidine 誘発ラット膀胱増殖性病変に対する NADPH 酸化酵素阻害剤 apocynin の抑制効果. 福岡、第 83 回日本癌学会学術総会、2024 年 9 月 19-21 日
  9. Runjie Guo, Min Gi, Arpamas Vachiraarunwong, Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Guiyu Qiu, Kwanchanok Praseatsook, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi. Role of Oncomodulin in N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced Rat Bladder Carcinogenesis. 福岡、第 83 回日本癌学会学術総会、2024 年 9 月 19-21 日
  10. 野浦郁恵、鈴木周五、梯アンナ、井上健、鰐渕英機. 肺大細胞神経内分泌癌の新規バイオマーカー候補の検討. 福岡、第 83 回日本癌学会学術総会、2024 年 9 月 19-21 日
  11. 邱桂鈺、魏民、鈴木周五、藤岡正喜、Vachiraarunwong Arpamas、郭潤傑、梯アンナ、鰐渕英機. 遺伝毒性肝発がん物質の超短期検出モデルの確立. 福岡、第 83 回日本癌学会学術総会、2024 年 9 月 19-21 日
  12. 藤岡正喜、Vachiraarunwong Arpamas、邱桂鈺、郭潤傑、鈴木周五、鰐渕英機、魏民. 化学物質のラット経気管肺内噴霧投与方法の *in vitro* 投与量設定法の開発. 東京、第 51 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、2024 年 12 月 20 日 11 月 8-9 日
  13. 邱桂鈺、魏民、藤岡正喜、鈴木周五、ワチラルンウオン アルパマス、野浦郁恵、郭潤傑、梯アンナ、鰐渕英機. 有機ヒ素化合物ジフェニルアルシン酸の発達期ばく露による F1 ラット海馬神経新生に及ぼす影響. 徳島、第 29 回ヒ素シンポジウム、2024 年 12 月 7-8 日
  14. 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、ワチラルンウオン アルパマス、邱桂鈺、郭潤傑、鰐渕英機. 有機ヒ素化合物ジフェニルアルシン酸の経胎盤ばく露による F1 マウス肝発がん機序における DNA メチル化異常の関与. 徳島、第 29 回ヒ素シンポジウム、2024 年 12 月 7-8 日
  15. Guiyu Qiu, Min Gi, Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Anna Kakehashi, Arpamas Vachiraarunwong, Ikue Noura, Runjie Guo, Hideki Wanibuchi. A novel support vector machine-based one-day, single-dose prediction model of genotoxic hepatocarcinogenicity in rats. 三島、第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2025 年 1 月 30-31 日
  16. 野浦郁恵、鈴木周五、井上健、梯アンナ、鰐渕英

- 機. 肺大細胞神経内分泌癌における brain abundant membrane attached signal protein 1 (BASP1) の役割. 三島、第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2025 年 1 月 30-31 日
17. Masaki Fujioka, Min Gi, Shugo Suzuki, Arpamas achiraarunwong, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Yuji Oishi, Hideki Wanibuchi. Lack of carcinogenicity of diphenylarsinic acid in fl rats following maternal exposure from pre-mating to lactation. 三島、第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2025 年 1 月 30-31 日
  18. Arpamas achiraarunwong, Masaki Fujioka, Guiyu Qiu, Runjie Guo, Shugo Suzuki, Ikue Noura, Anna akehashi, Hideki Wanibuchi, Min Gi. Hepatotoxicity of per- and polyfluoroalkyl substances on immortalized human hepatocytes. 三島、第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2025 年 1 月 30-31 日
  19. 野浦郁恵、鈴木周五、井上健、梯アンナ、鰐淵英機. 肺大細胞神経内分泌癌における brain abundant membrane attached signal protein 1 (BASP1) の役割. 三島、第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2025 年 1 月 30-31 日
  20. 梯アンナ、鈴木周五、西土井悠作、邱桂鈺、Arpamas achiraarunwong、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機. ヒト浸潤性膵管癌における新規マーカーとしての PRDX3 の解析及び発がん機序解明. 三島、第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2025 年 1 月 30-31 日
  21. Runjie Guo, Min Gi, Arpamas achiraarunwong, Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Guiyu Qiu, Anna akehashi, Hideki Wanibuchi. Oncomodulin is a novel early marker of urinary bladder carcinogenesis in rats. 三島、第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2025 年 1 月 30-31 日
  22. 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、Vachiraarunwong Arpamas、梯アンナ、鰐淵英機. ヒト化肝臓マウスを用いた 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) のヒト肝細胞での代謝と膀胱発がん性の検証. 大津、2024 年度文部科学省学術変革領域研究学術研究支援基盤形成 先端モデル動物支援プラットフォーム 成果発表会、2025 年 2 月 12-13 日
  23. 戸塚ゆ加里. DNA 付加体研究の過去・現在・未来. 東京、令和 6 年日本環境変異原ゲノム学会公開シンポジウム、2024 年 6 月 1 日
  24. Yukari Totsuka. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. 札幌、第 42 回札幌国際がんシンポジウム、2024 年 6 月 6-8 日
  25. Yukari Totsuka. Landscape of mutational signatures observed in laboratory animal tumors induced by various carcinogens. 京都、The 8th JCA-AACR Special Joint Conference、2024 年 6 月 28-30 日
  26. 戸塚ゆ加里、小宮雅美、煙山紀子、加藤護. Genotoxicity induced in mice lungs by inhalation exposure to heated tobacco products. 福岡、第 83 回日本癌学会学術総会、2024 年 9 月 19-21 日
  27. 戸塚ゆ加里. DNA 付加体の網羅的解析を用いた発がん要因およびメカニズムの解明. 東京、アンチエイジング研究シンポジウム、2024 年 10 月 25-26 日
  28. 戸塚ゆ加里. 環境要因による DNA 付加体とゲノム変異パターンを指標とした発がん要因の探索. Web 開催、環境エピゲノミクス研究会 (EEG) 2024 秋季ネットシンポジウム、2024 年 11 月 9 日
  29. 戸塚ゆ加里. DNA 付加体解析を基軸とした発がん要因およびメカニズムの解明. 福岡、第 47 回日本分子生物学会年会、2024 年 11 月 27-29 日
  30. 戸塚ゆ加里. オルガノイドを用いた遺伝毒性評価法の開発. 岡山、第 85 回 MMS 秋の定例会、2024 年 12 月 6 日
  31. 戸塚ゆ加里、石ケ守里加子、牛山明、稲葉洋平、美谷島克宏、煙山紀子. 加熱タバコ製品の吸入暴露によりマウス肺に誘導される遺伝毒性. 岡山、第 53 回日本環境変異原ゲノム学会、2024 年 12 月 7-8 日
  32. 戸塚ゆ加里、永井桃子、加藤護. 次世代シーケンサーにより環境要因とヒト発がんの関係性を解明する. 岡山、第 53 回日本環境変異原ゲノム学会、2024 年 12 月 7-8 日
  33. 石ケ守里加子、柳澤萌、大野彰子、戸塚ゆ加里. マウス肝臓オルガノイドを用いたアドバンストナノマテリアルの毒性評価. 岡山、第 53 回日本環境変異原ゲノム学会、2024 年 12 月 7-8 日
  34. 長谷川晋也、Asmaa Elzawahry、永井桃子、加藤護、魏民、鈴木周五、鰐淵英機、松田知成、戸塚ゆ加里. N-ニトロソ胆汁酸抱合体の変異シグネチャーの解析. 岡山、第 53 回日本環境変異原ゲノム学会、2024 年 12 月 7-8 日
  35. 渡部浩平、三好規之、戸塚ゆ加里. 二環芳香族アミンにおける変異スペクトル解析. 岡山、第 53 回日本環境変異原ゲノム学会、2024 年 12 月 7-8 日
  36. 戸塚ゆ加里. マウス正常組織由来オルガノイドを用いた化学物質の遺伝毒性評価. 福岡、第 145 年会日本薬学会、2025 年 3 月 27-29 日
  37. 宮崎飛翔、藤岡正喜、鰐淵英機、美谷島克宏、石ケ守里加子、加藤孝一、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規毒性試験法の開発. 福岡、第 145 年会日本薬学会、2025 年 3 月 27-29 日
  38. 渡部浩平、下村航平、安藤彩花、佐藤玲香、鈴木千咲、武内まどか、三好規之、小林琢磨、戸塚ゆ加里、加藤孝一、中嶋順一. 二環芳香族アミンにおける遺伝毒性評価. 福岡、第 145 年会日本薬学会、2025 年 3 月 27-29 日
  39. 本橋実奈、高村岳樹、佐々彰、加藤孝一、中嶋順一、戸塚ゆ加里. アルコール発がんにおけるドライバードクターの探索と変異誘発メカニズムの解明. 福岡、第 145 年会日本薬学会、2025 年 3 月 27-29 日
  40. 白鳥 修平、小宮 雅美、魏民、鈴木周五、鰐淵英

機、Jiri ZAVADIL、渡部浩平、戸塚ゆ加里。職業性胆管がん原因物質であるハロゲン系炭化水素のドライバーアダクト探索。福岡、第145年会日本薬学会、2025年3月27-29日

41. 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。ジルコニウムブ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
42. 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
43. Matsumoto M、Yoshida K、Umano T、Murata Y、Hirose N、Iso T、Yamada T、Masumura K.

In vitro to in vivo extrapolation (IVIVE) for uterotrophic activity of 4-alpha-cumylphenol. 福岡、第51回日本毒性学会学術年会、2024年7月3-5日

44. 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