

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：肝発がん物質短期検出スキームによる検討
病理学的検討

研究分担者 藤岡 正喜 大阪公立大学大学院医学研究科分子病理学 講師

研究要旨

本研究は、有機フッ素化合物ばく露による毒性影響について、毒性病理学的解析を行う。令和7年度は「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」で用いられた動物について検討した。病理組織学的解析の結果、「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」では10物質のうち6物質において肝臓における単細胞壊死の有意な増加を認め、うち2物質で巣状壊死の有意な増加も観察された。また、用量反応相関性を検討した1物質では低用量から、別の2物質では中用量から肝臓における単細胞壊死の有意な増加が確認された。腎臓における病理組織学的解析の結果、10物質のうち4物質で尿細管壊死の有意な増加が確認された。そのうち、用量反応相関性を検討した2物質では、それぞれ中および高用量群あるいは高用量群でのみ尿細管壊死の有意な増加が確認された。したがって、単回投与による毒性影響の主体は肝臓及び一部で腎臓であることが確認された。「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」では、今回検討した7物質のうち肝臓で1物質が、相対肝重量の有意な増加がみられた。一方、血液・生化学検査による解析では、上記毒性影響に関連する指標における有意な上昇が全例でみられず、低い感受性を示した。以上の結果から、PFASによる毒性は肝臓が主体ながら一部は腎臓にも存在し、その影響を検討するためには毒性病理学的解析が重要な役割を果たすことが示された。

A. 研究目的

有機フッ素化合物である PFAS (Per- and Poly-fluoroalkyl 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 Perfluorooctanoic acid (PFOA) と Perfluorooctane sulfonate (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。

我々はこれまで既知発がん物質の大半が肝臓を標的にすることに着目し、遺伝毒性及び非遺伝毒性肝発がん物質を短期かつ高精度に検出できるスキームを確立した。本研究ではそのスキームを活用し、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特異的な評価スキーム開発を行う。

令和7年度は「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」で得られた検体を用いて、一般状態および病理組織学的解析を実施し、PFASのばく露による影響について検討を行った。

B. 研究方法

[材料と方法]

令和7年度に実施した「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」で得られた検体を用いて、以降に記す検討を行った。

[臓器重量、血液学的・血液生化学的検査および病理組織学的解析]

「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」において、試験期間終了後、麻酔下にて安楽殺を行い、肝臓、腎臓および脾臓を採取し、臓器重量を測定した。また「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」において、試験期間終了後、麻酔下にて腹部大動脈より採血後に安楽殺を行い、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、精巣上体、下垂体、副腎および甲状腺を採取した。また、剖検時に得られた肝臓、腎臓およ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およ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おこなった。

[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。

(倫理面への配慮)

大阪公立大学動物実験委員会から動物実験の許可を得、動物実験指針を遵守して行い、動物愛護に十分に配慮した。

C. 研究結果

[体重・臓器重量]

「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における試験開始前と剖検直前の体重変化および肝臓絶対重量を表 1 および 2 に、肝臓・腎臓・脾臓の相対重量を表 3 および 4 に示す。対照群と比較して、2-NP 180 および 240 mg/kg 投与群、TFOLTf 2000 mg/kg 投与群、PFNA 170 および 500 mg/kg 投与群、HFPO-DAF 300 mg/kg 投与群、HFPO-TA 300 mg/kg 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 2-NP 180 および 240 mg/kg 投与群、TFOLTf 2000 mg/kg 投与群、PFNA 60, 170 および 500 mg/kg 投与群、HFPO-DAF 30 および 300 mg/kg 投与群、PFPOE 2000 mg/kg 投与群、FBSA 1000 mg/kg 投与群、HFPO-TA 300 mg/kg 投与群でみられた。相対肝重量について対照群と比較して有意な減少が、2-NP 180 および 240 mg/kg 投与群、HFIP 300 mg/kg 投与群、TFOLTf 2000 mg/kg 投与群、PFNA 170 および 500 mg/kg 投与群、HFPO-DAF 30 および 300 mg/kg 投与群、HFPO-TA 300 mg/kg 投与群でそれぞれみられた。一方、TFPOM 300 mg/kg 投与群では、絶対および相対肝重量の有意な増加を認めた。また、相対腎臓重量の有意な増加が、2-NP 180 および 240 mg/kg 投与群、TFOLTf 2000 mg/kg 投与群、HFPO-DAF 300 mg/kg 投与群、PFPOE 2000 mg/kg 投与群、HFB-epoxide 300 mg/kg 投与群でみられた。PFNA 300 mg/kg 投与群では、1 回目に有意な増加を認めたものの、2 回目には有意差はなかった。また、相対脾臓重量の有意な減少が TFOLTf 2000 mg/kg 投与群、HFPO-TA 300 mg/kg 投与群、FBSA 1000 mg/kg 投与群でみられた。PFNA 投与群において 1 回目に有意差はなかったものの、2 回目では 170 および 500 mg/kg 投与群で有意な減少を認めた。HFPO-DAF 300 mg/kg 投与群についても 1 回目は有意差なく、2 回目において有意な減少を認めた。

「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における腎臓・脾臓の絶対および相対重量を表 5 に示す。対照群と比較して、HFBC 投与群で肝相対重量の有意な増加を認めた、一方、腎臓および脾臓のいずれも有意な差はみられなかった。

[血液学的・血液生化学的検査]

「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における血液学的検査を表 6 に、血液生化学的検査を表 7 に示す。

血液学的検査の結果、対照群と比較して、白血球 (WBC) の有意な増加が HFBC、PFPO 投与群でみられた。その他の項目では有意な変化はみられなかった。

血液生化学的検査の結果、対照群と比較して、ALP の有意な減少が PFPO 投与群で、TBIL の有意な減少が PFHpA 投与群で、GGT の有意な減少が 4-CBTF、PFBS、HFBC、PFPMs および PFPO 投与群で、CRE の有意な増加が HFBC および PFPO 投与群で、BUN/CRE の有意な減少が PFBS、HFBC および PFPO 投与群でみられた。

[病理組織学的解析]

「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における病理組織学的解析の結果を表 8 に示す。今回、主な所見として肝臓における single cell necrosis (図 1)、focal necrosis (図 2)、腎臓における tubular necrosis (図 3) がみられた。それぞれの所見について対照群と比較して、肝臓の single cell necrosis の有意な増加が 2-NP 180 および 240 mg/kg 投与群、TFOLTf 2000 mg/kg 投与群、PFNA 60, 170 および 500 mg/kg 投与群、PFDA 20 mg/kg 投与群、HFPO-DAF 100 および 300 mg/kg 投与群、PFPOE 2000 mg/kg 投与群、HFPO-TA 300 mg/kg 投与群でみられた。また肝臓の focal necrosis の増加が 2-NP 180 および 240 mg/kg 投与群、PFNA 500 mg/kg 投与群、HFPO-DAF 300 mg/kg 投与群でみられた。

腎臓の tubular necrosis の有意な増加が TFOLTf 2000 mg/kg 投与群 (6 例中 2 例)、HFPO-DAF 100 (6 例中 2 例) および 300 mg/kg 投与群、PFPOE 2000 mg/kg 投与群、HFB-epoxide 300mg/kg でみられた。

「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における病理組織学的解析の結果を表 9 に示す。

肝臓において、対照群と比較して single cell necrosis の有意な増加が HFBC 投与群でみられた。また、Inflammatory cell infiltration が HFBC 投与群、PFPO 投与群で有意な増加がみられた。Hypertrophy, centrilobula が HFBC 投与群で有意な増加がみられた。その他の臓器について、一部で炎症細胞浸潤像がみられたが、いずれも散発性であり、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。

D. 考察

「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」において、昨年度と同様に、投与前後で体重増加が有意に減少した PFAS が存在し、同投与群では臓器の絶対重量も低下しており、その毒性による摂餌困難による影響が推察された。また、病理組織解析の結果、令和 7 年度に新たに検討した 10 物質のうち 6 物質で肝臓に single cell necrosis 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確認された。また、そのうちの 3 物質 (TFOLTf, PFPOE および HFPO-DAF) 投与群では肝臓の single cell necrosis だけでなく、腎臓において tubular necrosis を認めた。加えて、10 物質のうち肝毒性影響がみられなかった物質の一つである HFB-epoxide では tubular necrosis が認められたことから、一部の PFAS については腎障害を引き起こすこと

が確認された。以上の結果から、PFAS による急性毒性が出現する主な臓器として肝臓および腎臓であることが確認された。

「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」においては、28 日間投与により一部の PFAS で血液・生化学検査において、肝毒性を示唆する GOT や GPT の上昇を認める PFAS は、今年度検討した物質ではみられなかった。また腎毒性を示唆する BUN/CRE 比において有意な減少が PFBS、HFBC、PFPMs および PFPO でみられた。一方で、病理組織学的解析では有意な変化はみられなかった。

これまでに「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」にて検討した 29 物質のうち 22 物質で、肝臓における単細胞壊死の増加といった肝臓を標的とした毒性影響がみられた。また 29 物質のうち 7 物質で、腎臓における尿細管壊死の増加といった腎毒性影響がみられた。

「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」にて検討した物質のうち、双方の試験において、肝臓における病理組織学的変化がみられた物質は PFOA, HxFGC, DFEMS および HFBC であった。また、腎臓における病理組織学的変化がみられた物質は PFHEP のみであった。

E. 結論

今年度検討した 10 物質のうち 6 物質で、肝臓における単細胞壊死の誘導がみられた。また、肝臓で毒性がみられた 3 物質、毒性がみられなかった 1 物質において尿細管壊死の誘導がみられた。したがって、PFAS 投与による毒性が出現する主な臓器として肝臓および一部で腎臓であることが確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Gi M, Suzuki S, Saleh DM, Ahmed OHM, Alexander WT, Fujioka M, Vachiraarunwong A, Guo R, Qiu G, Noura I, Kakehashi A, Xie XL, Tsuruoka S, Hirose A, Naiki-Ito A, Tsuda H, Wanibuchi H. Comparative Gene Expression Analysis of Malignant Mesothelioma and Lung Adenocarcinomas Induced by Multi-Walled Carbon Nanotube-7 and Double-Walled Carbon Nanotubes in Rats: Distinct Molecular Signatures and Canonical Pathways. *Nanomaterials* (Basel). 2025; 15.
2. Vachiraarunwong A, Fujioka M, Alexander DB, Suzuki S, Guo R, Qiu G, Kawamura Y, Shibano K, Noura I, Praseatsook K, Akane H, Takasu S, Tsuda H, Ogawa K, Wanibuchi H, Gi M. Developing a novel in vitro toxicity assay for predicting inhalation toxicity in rats. *Toxicol Lett.* 2025; 415: 111803.
3. Guo R, Gi M, Kiyono T, Vachiraarunwong A, Suzuki S, Fujioka M, Qiu G, Praseatsook K, Kawamura Y, Kakehashi A, Noura I, Xie X, Wanibuchi H. Construction of a Novel 3D Urinary Bladder Mucosa Model and Its

Application in Toxicity Assessment of Arsenicals. *Toxics*. 2025; 13.

4. 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: 161-5.
5. 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 ploomTECH+ and 3R4F reference cigarettes. *J Toxicol Pathol.* 2025; 38: 147-54.
6. 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 acetoaceto-o-toluidine in the urinary bladder of humanized-liver mice. *J Toxicol Pathol.* 2025; 38: 59-67.

2. 学会発表

1. 鈴木 周五、魏 民、藤岡正喜、Arpamas Vachiraarunwong、梯アンナ、鰐淵英機. 芳香族アミンによる職業性膀胱がん. 仙台、第114回日本病理学会総会、2025年4月17-19日
2. Vachiraarunwong Arpamas、魏民、藤岡正喜、鈴木周五、邱桂ギョク、郭潤傑、野浦郁恵、梯アンナ、PRASEATSOOK Kwanchanok、鰐淵英機. ラットの急性吸入毒性を予測する新規 in vitro 毒性試験系の開発. 宜野湾市、第52回日本毒性学会学術年会、2025年7月2-4日
3. 梯アンナ、ワチラアルンウオンアルパマス、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機、鈴木周五. MAFLD/MASH 肝発がんマーカーや分子機序への最近の洞察. 九十九里、第38回発癌病理研究会、2025年8月20-22日
4. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、梯アンナ、鰐淵英機. 有機ヒ素化合物ジメチルアルシン酸のマウス経胎盤ばく露による肝発がん機序の検討. 茅野、2025年度若手支援技術講習会、2025年9月3-5日
5. 梯アンナ、西土井悠作、邱桂鈺、ワチラアルンウオンアルパマス、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機、鈴木周五. ヒト浸潤性膵管癌における新規バイオマーカーとしてPRDX3の検討及び発がん機序解明. 名古屋、がん予防学術大会2025名古屋、2025年9月12-13日
6. Arpamas Vachiraarunwong, Kwanchanok Praseatsook, Rawiwan Wongpoomcha, Shugo Suzuki, Anna Kakehashi, Masaki Fujioka, Hideki Wanibuchi, Supachai Yodkeree, Min Gi. Chemopreventive Potential of Bioactive Peptides Derived from Black Soldier Fly Larvae. 名古屋、がん予防学術大会2025名古屋、2025年9月12-13日
7. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、Vachiraarunwong Arpamas、郭潤傑、河村百合菜、大石裕司、梯アン

- ナ、鰐淵英機. ジメチルアルシン酸(DMA)の経胎盤ばく露によるF1マウスにおける発がん性の検討. 金沢、第84回日本癌学会学術総会、2025年9月25-27日
8. 郭潤傑、Vachiraarunwong Arpamas、鈴木周五、藤岡正喜、Qiu Guiyu、河村百合菜、梯アンナ、鰐淵英機、魏民. DMH投与ラットにおける大腸発がん初期の遺伝子発現変動. 金沢、第84回日本癌学会学術総会、2025年9月25-27日
 9. 邱桂ギョク、魏民、鈴木周五、藤岡正喜、Vachiraarunwong Arpamas、郭潤傑、野浦郁恵、河村百合菜、鰐淵英機. カーボンナノチューブ誘発ラット肺発がんにおける物性の違いを踏まえた遺伝子発現変化の比較. 金沢、第84回日本癌学会学術総会、2025年9月25-27日
 10. Vachiraarunwong Arpamas、鈴木周五、藤岡正喜、郭潤傑、Qiu Guiyu、野浦郁恵、Kawamura Yurina、梯アンナ、鰐淵英機、魏民. Structure-Dependent Hepatotoxicity and Carcinogenic Potential of PFASs in Immortalized Human Liver Cells. 金沢、第84回日本癌学会学術総会、2025年9月25-27日
 11. 梯アンナ、西土井悠作、野浦郁恵、邱桂ギョク、Vachiraarunwong Arpamas、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機、鈴木周五. ヒト浸潤性膵管癌における新規診断及び予後マーカーとしてPeroxiredoxin 3の解析. 金沢、第84回日本癌学会学術総会、2025年9月25-27日
 12. 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. 動物モデルを用いた職業性膀胱がんの研究について. 大阪、日本産業衛生学会第52回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、2025年10月24-25日
 13. Arpamas Vachiraarunwong, Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Ikue Noura, Kawamura Yurina, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi, Min Gi. Comparative hepatotoxicity of carboxylate and sulfonate per- and polyfluoroalkyl substances in immortalized human hepatocytes. 大阪、日本産業衛生学会第52回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、2025年10月24-25日
 14. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、Vachiraarunwong Arpamas、野浦郁恵、邱桂鈺、河村百合菜、大石裕司、山口貴嗣、鰐淵英機. 有機ヒ素化合物ジメチルアルシン酸の経胎盤ばく露による次世代雄性マウスにおける肝発がん機序の検討. 大阪、第30回ヒ素シンポジウム、2025年12月6-7日
 15. Arpamas Vachiraarunwong, Masaki Fujioka, Shugo Suzuki, Runjie Guo, Guiyu Qiu, Yurina Kawamura, Ikue Noura, Anna Kakehashi, Min Gi, Hideki Wanibuchi. Comparative evaluation of responses to inorganic arsenicals and their metabolites in immortalized human bladder epithelial cells. 大阪、第30回ヒ素シンポジウム、2025年12月6-7日
 16. Guiyu Qiu、魏民、鈴木周五、藤岡正喜、山口貴嗣、鰐淵英機. Developmental exposure to diphenylarsinic acid selectively alters gene expression in the hippocampus of SD rat offspring. 名古屋、第42回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2026年1月22-23日
 17. 野浦郁恵、鈴木周五、魏民、藤岡正喜、松江泰佑、梯アンナ、鰐淵英機. 加熱タバコ製品Ploom TECH+と3R4F標準タバコに4週間曝露したマウスの肺に対する毒性影響の比較分析. 名古屋、第42回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2026年1月22-23日
 18. 河村百合菜、ワチラアルンウオンアルパマス、藤岡正喜、鈴木周五、邱桂ギョク、郭潤傑、野浦郁恵、梯アンナ、山口貴嗣、鰐淵英機、魏民. ヒト肺腺がん由来細胞株A549を用いたニュートラルレッドアッセイによる化学物質吸入毒性のin vitro代替評価法の開発. 名古屋、第42回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2026年1月22-23日
 19. 梯アンナ、西土井悠作、野浦郁恵、邱桂ギョク、ワチラアルンウオンアルパマス、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機、鈴木周五. 膵管癌における新規診断及び予後マーカーとしてPeroxiredoxin 3の検討. 名古屋、第42回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2026年1月22-23日
 20. 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、ワシラアルンウオンアルパマス、野浦郁恵、邱桂ギョク、河村百合菜、大石裕司、山口貴嗣、梯アンナ、鰐淵英機. 有機ヒ素化合物ジメチルアルシン酸の経胎盤ばく露による雄性仔CD-1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. 名古屋、第42回日本毒性病理学会総会及び学術集会、2026年1月22-23日
 21. 郭潤傑、Arpamas Vachiraarunwong、鈴木周五、藤岡正喜、Guiyu Qiu、河村百合菜、潘軍成、梯アンナ、鰐淵英機、魏民. Oncomodulin as an early marker in rat models of urinary bladder carcinogenesis. 大津、2025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、2026年2月19-20日
 22. 宮崎飛翔、石ヶ守里加子、長谷川晋也、藤岡正喜、吉田健一、大野麻理奈、小川誠司、垣内伸之、川口駿、渡部光一、中馬新一郎、加藤孝一、美谷島克宏、樋口裕一郎、上原正太郎、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規in vitro遺伝毒性試験法の開発. 大阪、日本薬学会第146年会、2026年3月26-29日
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
特になし。
 2. 実用新案登録
特になし。
 3. その他
特になし。

表1. 「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における体重変化および肝臓絶対重量 (1回目)

Chemical		No.	Dose (mg/kg)	Initial Body Weight (g)	Final Body Weight (g)	Absolute liver weight (g)
MC	-	5	0	181.3 ± 11.8	200.4 ± 11.8	10.31 ± 0.53
2-NP	2-nitropropane	5	180	183.0 ± 3.4	186.7 ± 4.1*	7.56 ± 0.59***
2-NP	2-nitropropane	5	240	183.3 ± 8.1	184.4 ± 6.9*	6.94 ± 0.49***
HFIP	1, 1, 1, 3, 3, 3-Hexafluoro-2-ol	3	300	181.6 ± 5.3	191.1 ± 4.3	10.82 ± 0.51
TFOLTf	2, 2, 2-Trifluoroethyl trifluoromethanesulfonate	3	2000	181.1 ± 11.3	167.1 ± 13.7*	6.22 ± 0.46***
PFNA	Heptadecafluorononanoic acid (Perfluorononanoic acid)	3	500	182.1 ± 10.1	170.9 ± 7.6*	8.11 ± 0.21*
PFDA	Perfluorodecanoic Acid	3	20	183.1 ± 12.1	198.8 ± 9.7	10.26 ± 0.90
PFPOE	Perfluoropropoxyethylene	3	2000	183.7 ± 5.6	186.7 ± 21.1	9.67 ± 1.43

*: P value < 0.05,

**: P value < 0.01,

***: P value < 0.001, compare with control group using unpaired t test.

Chemical		No.	Dose (mg/kg)	Initial Body Weight (g)	Final Body Weight (g)	Absolute liver weight (g)
MC	-	3	0	201.6 ± 21.1	223.2 ± 25.5	11.50 ± 1.20
HFIP	1, 1, 1, 3, 3, 3-Hexafluoro-2-ol	3	300	199.1 ± 2.5	216.6 ± 0.8	11.98 ± 0.87
TFOLTf	2, 2, 2-Trifluoroethyl trifluoromethanesulfonate	3	2000	201.4 ± 15.4	182.3 ± 13.8	7.41 ± 0.73***
TFPOM	3-[(2, 2, 3, 3-Tetrafluoropropoxy)methyl]oxirane	3	300	201.7 ± 13.6	224.9 ± 18.0	13.24 ± 1.93*
PFNA	Heptadecafluorononanoic acid (Perfluorononanoic acid)	3	500	199.0 ± 8.2	187.5 ± 8.6	8.58 ± 0.13*
PFDA	Perfluorodecanoic Acid	3	20	200.0 ± 8.5	217.0 ± 14.3	11.86 ± 0.77
HFPO-DAF	Perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoyl) fluoride	3	300	200.0 ± 14.2	168.0 ± 19.1*	7.60 ± 0.72**
PFPOE	Perfluoropropoxyethylene	3	2000	198.5 ± 2.1	190.1 ± 19.9	9.42 ± 1.97

*: P value < 0.05,

**: P value < 0.01, compare with control group using unpaired t test.

表2. 「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における体重変化および肝臓絶対重量 (2回目)

Chemical		No.	Dose (mg/kg)	Initial Body Weight (g)	Final Body Weight (g)	Absolute liver weight (g)
MC	–	5	0	166.2 ± 10.5	184.9 ± 9.5	10.06 ± 0.67
2-NP	2-nitropropane	5	240	166.4 ± 9.8	167.6 ± 8.2*	7.168 ± 0.66***
TFPOM	3-[(2,2,3,3-Tetrafluoropropoxy)methyl]oxirane	3	300	166.0 ± 2.5	189.2 ± 7.4	10.25 ± 0.47
PFNA	Heptadecafluorononanoic acid (Perfluorononanoic acid)	6	60	164.9 ± 6.8	174.9 ± 6.6	9.192 ± 0.76**
PFNA	Heptadecafluorononanoic acid (Perfluorononanoic acid)	6	170	166.8 ± 3.0	158.7 ± 4.2***	7.43 ± 0.42***
PFNA	Heptadecafluorononanoic acid (Perfluorononanoic acid)	6	500	165.9 ± 8.0	155.8 ± 7.0***	7.24 ± 0.62***
HFPO-DAF	Perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoyl) fluoride	6	30	166.6 ± 7.2	185.2 ± 8.0	9.31 ± 0.57**
HFPO-DAF	Perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoyl) fluoride	6	100	166.7 ± 2.8	182.5 ± 3.7	9.77 ± 0.76
HFPO-DAF	Perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoyl) fluoride	5	300	167.3 ± 3.4	147.6 ± 9.9***	6.71 ± 1.18***
PFPOE	Perfluoropropoxyethylene	6	220	165.7 ± 5.8	187.2 ± 7.3	10.20 ± 0.46
PFPOE	Perfluoropropoxyethylene	6	670	166.9 ± 9.7	186.9 ± 11.0	10.18 ± 0.90
PFPOE	Perfluoropropoxyethylene	6	2000	167.1 ± 6.1	175.6 ± 10.9	9.26 ± 1.19*
FBSA	1,1,2,2,3,3,4,4,4-Nonafluorobutane-1-sulfonamide	3	1000	167.0 ± 4.6	172.7 ± 20.1	8.62 ± 1.31*

*: P value < 0.05,

**: P value < 0.01,

***: P value < 0.001, compare with control group using unpaired t test.

Chemical		No.	Dose (mg/kg)	Initial Body Weight (g)	Final Body Weight (g)	Absolute liver weight (g)
MC	–	6	0	181.9 ± 11.0	199.1 ± 12.6	10.95 ± 0.68
HFPO-TA	Perfluoro-2,5-dimethyl-3,6-dioxanonanoic acid	3	300	182.8 ± 8.2	170.3 ± 9.5*	7.75 ± 0.40*
HFB-epoxide	2-(2,2,3,3,4,4,4-Heptafluorobutyl)oxirane	6	300	181.6 ± 8.1	192.9 ± 5.4	10.49 ± 0.96
FBSA	1,1,2,2,3,3,4,4,4-Nonafluorobutane-1-sulfonamide	3	1000	189.1 ± 11.0	202.0 ± 4.4	10.97 ± 0.85

*: P value < 0.05, compare with control group using unpaired t test.

表3. 「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における相対臓器重量 (1回目)

Chemical	No.	Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Relative liver weight (%)	Relative kidney weight (%)	Relative spleen weight (%)
MC	8	0	208.9 ± 20.1	5.15 ± 0.31	0.91 ± 0.04	0.26 ± 0.03
2-NP	5	180	186.7 ± 4.1	4.05 ± 0.37***	0.98 ± 0.04**	0.28 ± 0.05
2-NP	5	240	184.4 ± 6.9	3.76 ± 0.20***	1.02 ± 0.09**	0.27 ± 0.05
HFIP	6	300	203.9 ± 14.2	5.60 ± 0.35*	0.93 ± 0.07	0.28 ± 0.04
TFOLTf	6	2000	174.7 ± 14.9	3.89 ± 0.23***	1.15 ± 0.10***	0.17 ± 0.02***
TFPOM	3	300	224.9 ± 18.0	5.87 ± 0.41*	0.91 ± 0.04	0.26 ± 0.05
PFNA	6	500	179.2 ± 11.6	4.67 ± 0.21**	1.02 ± 0.04***	0.23 ± 0.04
PFDA	6	20	207.9 ± 14.8	5.31 ± 0.26	0.96 ± 0.07	0.26 ± 0.03
HFPO-DAF	3	300	168.0 ± 19.1	4.53 ± 0.19*	1.25 ± 0.08***	0.23 ± 0.04
PFPOE	6	2000	188.4 ± 18.4	5.03 ± 0.55	1.12 ± 0.09***	0.25 ± 0.06

*: P value < 0.05,

**: P value < 0.01,

***: P value < 0.001, compare with control group using unpaired t test or Mann-Whitney test.

表4. 「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における相対臓器重量 (2回目)

Chemical	No.	Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Relative liver weight (%)	Relative kidney weight (%)	Relative spleen weight (%)
MC	11	0	192.7 ± 13.0	5.48 ± 0.31	0.96 ± 0.04	0.28 ± 0.03
2-NP	5	240	167.6 ± 8.2	4.27 ± 0.18***	1.00 ± 0.07	0.27 ± 0.03
TFPOM	3	300	189.2 ± 7.4	5.43 ± 0.41	0.96 ± 0.04	0.29 ± 0.05
PFNA	6	60	174.9 ± 6.6	5.26 ± 0.42	0.93 ± 0.03	0.26 ± 0.04
PFNA	6	170	158.7 ± 4.2	4.68 ± 0.19***	1.00 ± 0.09	0.24 ± 0.02*
PFNA	6	500	155.8 ± 7.0	4.65 ± 0.31***	0.98 ± 0.06	0.21 ± 0.02***
HFPO-DAF	6	30	185.2 ± 8.0	5.03 ± 0.20**	0.95 ± 0.05	0.29 ± 0.05
HFPO-DAF	6	100	182.5 ± 3.7	5.35 ± 0.37	0.98 ± 0.04	0.27 ± 0.05
HFPO-DAF	5	300	146.8 ± 9.1	4.52 ± 0.49***	1.24 ± 0.15***	0.21 ± 0.02***
PFPOE	6	220	187.2 ± 7.3	5.46 ± 0.36	0.96 ± 0.06	0.27 ± 0.03
PFPOE	6	670	186.9 ± 11.0	5.44 ± 0.26	0.97 ± 0.04	0.28 ± 0.03
PFPOE	6	2000	175.6 ± 10.9	5.27 ± 0.50	1.07 ± 0.07***	0.26 ± 0.02
HFPO-TA	3	300	170.3 ± 9.5	4.61 ± 0.18***	0.99 ± 0.02	0.23 ± 0.04*
HFB-epoxide	6	300	192.9 ± 5.4	5.44 ± 0.43	1.15 ± 0.08***	0.27 ± 0.03
FBSA	6	1000	187.4 ± 20.7	5.19 ± 0.42	0.96 ± 0.10	0.25 ± 0.02*

*: P value < 0.05,

**: P value < 0.01,

***: P value < 0.001, compare with control group using unpaired t test or Mann-Whitney test.

表5. 「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における絶対および相対臓器重量

Treatment		No.	Body weight (g)			Liver					
						Absolute (g)			Relative (%)		
Control	-	4	424.7	±	6.3	16.2	±	0.7	3.8	±	0.1
PFMP	Perfluoro(2-methylpentane)	5	417.0	±	33.6	16.8	±	1.9	4.0	±	0.2
PFHpA	Perfluoroheptanoic acid	4	410.2	±	33.4	15.4	±	1.6	3.8	±	0.2
4-CBTF	4-Chlorobenzotrifluoride	4	405.6	±	15.7	16.0	±	0.6	3.9	±	0.2
PFBS	Nonafluorobutanesulphonic acid	5	424.0	±	23.1	16.8	±	1.5	4.0	±	0.2
HFBC	Heptafluorobutyryl chloride	6	419.3	±	23.5	18.5	±	2.1	4.4	±	0.4**
PFPMs	2, 2, 3, 3, 3-Pentafluoropropyl trifluoromethanesulfonate	3	407.3	±	35.7	17.5	±	3.3	4.3	±	0.4
PFPO	2, 2, 3, 3, 3-Pentafluoropropan-1-ol	6	421.5	±	22.7	15.9	±	1.4	3.8	±	0.2

**: P< 0.01vs Control

表5. 「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における絶対および相対臓器重量 (continued)

Treatment		No.	Kidneys					Spleen				
			Absolute (g)		Relative (%)			Absolute (g)		Relative (%)		
Control	-	4	3.1	± 0.2	0.7	± 0.0		0.80	± 0.14	0.19	± 0.03	
PFMP	Perfluoro(2-methylpentane)	5	3.0	± 0.3	0.7	± 0.0		0.77	± 0.14	0.19	± 0.04	
PFHpA	Perfluoroheptanoic acid	4	3.3	± 0.2	0.8	± 0.1		0.77	± 0.13	0.19	± 0.04	
4-CBTF	4-Chlorobenzotrifluoride	4	3.0	± 0.2	0.7	± 0.0		0.64	± 0.14	0.16	± 0.03	
PFBS	Nonafluorobutanesulphonic acid	5	3.0	± 0.1	0.7	± 0.0		0.76	± 0.11	0.18	± 0.02	
HFBC	Heptafluorobutyryl chloride	6	3.3	± 0.3	0.8	± 0.1		0.79	± 0.06	0.19	± 0.02	
PFPMs	2, 2, 3, 3, 3-Pentafluoropropyl trifluoromethanesulfonate	3	3.2	± 0.1	0.8	± 0.0		0.79	± 0.02	0.20	± 0.02	
PFPO	2, 2, 3, 3, 3-Pentafluoropropan-1-ol	6	3.1	± 0.3	0.7	± 0.1		0.77	± 0.11	0.18	± 0.03	

**: P< 0.01vs Control

表6. 「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における血液学的検査

Treatment	Control			PFMP			PFHpA			4-CBTF		
Dose (mg/kg)	0			100			15			100		
No. of animal	4			5			4			4		
WBC (10^2 /uL)	49.5	±	9.7	57.4	±	14.2	76.8	±	19.0	88.8	±	40.0
RBC (10^4 /uL)	699.5	±	11.3	719.6	±	36.6	703.8	±	36.4	720.3	±	40.9
HGB (g/dL)	14.7	±	0.7	21.6	±	14.9	14.2	±	0.4	23.4	±	15.9
HCT (%)	42.5	±	1.2	44.3	±	5.4	41.4	±	1.5	42.5	±	2.0
MCV (fL)	60.7	±	0.8	59.1	±	2.3	58.9	±	1.2	59.0	±	1.2
MCH (pg)	21.0	±	0.9	18.3	±	3.1	20.2	±	0.6	20.0	±	0.7
MCHC (g/dL)	34.5	±	1.2	33.9	±	0.6	34.3	±	0.4	33.9	±	0.5
PLT (10^4 /uL)	115.0	±	12.1	103.6	±	11.2	104.4	±	11.0	142.3	±	43.5
RDWCV (%)	13.5	±	0.2	13.8	±	0.2	20.7	±	11.9	14.0	±	0.1
RDWSD (fL)	32.8	±	0.8	32.6	±	1.6	32.8	±	0.4	32.9	±	0.5
PCT (%)	0.7	±	0.1	0.6	±	0.1	0.6	±	0.1	0.7	±	0.1
MPV (fL)	6.1	±	0.2	6.2	±	0.4	6.0	±	0.3	6.1	±	0.1
PDW (%)	15.5	±	0.4	15.3	±	0.5	15.4	±	0.6	15.7	±	0.1

*: P < 0.05 vs Control

表6. 「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における血液学的検査 (continued)

Treatment	PFBS			HFBC			PFPMS			PFPo		
Dose (mg/kg)	20			15			100			15		
No. of animal	5			6			3			6		
WBC (10^2 /uL)	64.4	±	13.9	71.2	±	10.9*	76.3	±	18.6	78.7	±	19.7*
RBC (10^4 /uL)	713.8	±	16.7	741.5	±	40.0	723.3	±	27.9	708.3	±	61.6
HGB (g/dL)	14.5	±	0.3	21.0	±	13.5	14.7	±	0.3	18.8	±	10.2
HCT (%)	43.2	±	0.8	43.6	±	1.9	42.8	±	1.2	41.7	±	3.4
MCV (fL)	60.5	±	0.6	58.9	±	1.2	59.2	±	0.7	58.9	±	1.1
MCH (pg)	20.3	±	0.3	20.3	±	0.6	20.3	±	0.8	20.2	±	0.7
MCHC (g/dL)	33.5	±	0.5	34.5	±	0.7	34.4	±	1.0	34.3	±	0.9
PLT (10^4 /uL)	110.5	±	14.9	108.9	±	13.4	114.7	±	3.3	113.2	±	19.2
RDWCV (%)	13.7	±	0.3	14.1	±	0.2	13.5	±	0.4	13.6	±	0.3
RDWSD (fL)	33.2	±	1.0	31.6	±	3.5	31.9	±	0.8	32.1	±	1.0
PCT (%)	0.7	±	0.1	0.6	±	0.3	0.7	±	0.0	0.7	±	0.1
MPV (fL)	6.2	±	0.2	6.4	±	0.2	6.5	±	0.1	6.3	±	0.2
PDW (%)	15.6	±	0.3	16.0	±	0.4	15.9	±	0.2	15.9	±	0.2

*: P < 0.05 vs Control

表7. 「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における血液生化学的検査

Treatment	Control		PFMP		PFHpA		4-CBTF	
Dose (mg/kg)	0		100		15		100	
No. of animal	4		5		4		4	
GOT (U/L)	207.3	± 41.3	212.8	± 60.9	212.8	± 60.9	197.3	± 24.1
GPT (U/L)	47.5	± 11.3	49.2	± 10.8	66.8	± 10.8	48.8	± 6.3
GLU (mg/dL)	10.8	± 3.1	9.4	± 1.0	8.5	± 1.1	9.8	± 1.9
TP (g/dL)	7.8	± 0.4	8.3	± 0.2	7.4	± 0.3	7.6	± 0.3
ALB (g/dL)	5.7	± 0.2	5.8	± 0.2	5.2	± 29.5	5.0	± 1.3
GLOB (g/dL)	2.1	± 0.3	2.6	± 0.3	2.2	± 0.5	2.6	± 1.3
ALB/GLOB	2.7	± 0.4	2.3	± 0.3	2.5	± 0.8	2.4	± 1.1
ALP (U/L)	219.0	± 24.1	229.0	± 86.5	237.8	± 1.1	206.5	± 19.3
TBIL (mg/dL)	6.3	± 0.6	5.3	± 0.5	5.0	± 0.6*	4.7	± 1.0
GGT (U/L)	161.3	± 29.4	135.8	± 42.8	92.8	± 42.8	85.3	± 29.3*
TCHO (mg/dL)	74.8	± 7.7	87.8	± 3.7	74.8	± 6.6	84.3	± 11.4
CRE (mg/dL)	3.8	± 0.6	7.8	± 6.0	3.9	± 1.1	3.6	± 1.3
BUN (mg/dL)	25.9	± 2.4	25.0	± 2.5	24.7	± 3.0	24.7	± 1.9
BUN/CRE	7.0	± 1.2	4.6	± 1.9	6.6	± 1.5	8.8	± 5.5
Ca (mg/dL)	4.5	± 0.7	4.4	± 0.6	4.0	± 0.1	4.3	± 0.7

*: P < 0.05 vs Control

**: P < 0.01 vs Control

表7. 「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における血液生化学的検査 (continued)

Treatment	PFBS		HFBC		PFPMs		PFPO	
Dose (mg/kg)	20		15		100		15	
No. of animal	5		6		3		6	
GOT (U/L)	219.4	± 38.9	170.7	± 23.6	177.3	± 9.4	170.7	± 18.6
GPT (U/L)	54.6	± 14.2	46.5	± 6.9	43.7	± 3.7	46.5	± 8.9
GLU (mg/dL)	7.6	± 1.0	6.5	± 0.8	6.7	± 0.5	8.5	± 2.4
TP (g/dL)	7.3	± 0.4	7.4	± 0.5	7.4	± 0.3	7.6	± 0.5
ALB (g/dL)	5.9	± 0.1	6.0	± 0.0	5.4	± 0.8	5.9	± 0.1
GLOB (g/dL)	1.4	± 0.4	1.4	± 0.5	2.0	± 1.0	1.6	± 0.4
ALB/GLOB	4.5	± 1.6	4.8	± 1.9	3.8	± 1.9	3.8	± 0.8
ALP (U/L)	198.2	± 26.6	201.8	± 51.6	176.0	± 32.3	165.0	± 34.9*
TBIL (mg/dL)	5.3	± 0.4	5.6	± 1.3	5.5	± 0.3	6.3	± 1.5
GGT (U/L)	98.2	± 37.3*	71.5	± 37.7**	82.7	± 1.2*	84.5	± 39.1*
TCHO (mg/dL)	75.6	± 3.9	77.3	± 6.9	77.3	± 4.5	68.2	± 5.1
CRE (mg/dL)	5.4	± 1.2	6.9	± 3.3*	6.0	± 2.4	6.2	± 1.0**
BUN (mg/dL)	25.2	± 1.8	27.1	± 2.4	24.6	± 1.6	24.5	± 1.5
BUN/CRE	4.8	± 0.8*	4.6	± 1.6*	4.6	± 1.4	4.1	± 0.8*
Ca (mg/dL)	4.0	± 0.5	4.5	± 0.2	4.8	± 0.2	4.7	± 0.3

*: P < 0.05 vs Control

**: P < 0.01 vs Control

表8. 「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における病理組織学的解析

Chemical	Dose (mg/kgB. W.)	No. of rats	Liver		Kidney		
			Single cell necrosis	Focal necrosis	Necrosis, tubule	Cast	Cyst
MC		19	0	0	0	0	0
2-NP	low	5	5***	5***	0	0	0
	high	10	10***	10***	0	0	0
HFIP		6	0	0	0	0	0
TFOLTf		6	6***	1	2*	0	0
TFPOM		6	0	0	0	0	0
PFNA		6	6***	1	0	0	0
PFDA		6	2*	0	0	0	0
PFPOE		6	5***	1	5***	5***	0

* : p < 0.05 ** : p < 0.01 *** : p < 0.001 (vs MC respectively)

表8. 「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」における病理組織学的解析 (continued)

Chemical	Dose (mg/kgB. W.)	No. of rats	Liver		Kidney		
			Single cell necrosis	Focal necrosis	Necrosis, tubule	Cast	Cyst
MC		19	0	0	0	0	0
PFNA	low	6	4**	0	0	0	0
	middle	6	6***	1	0	0	0
	high	6	6***	2	0	0	0
HFPO-DAF	low	6	1	0	0	0	0
	middle	6	6***	1	2*	0	0
	high	5	5***	4**	5***	5***	0
PFPOE	low	6	0	0	0	0	0
	middle	6	2	1	0	0	0
	high	6	6***	1	3**	3**	0
HFPO-TA		3	3**	1	0	0	0
HFB-epoxide		6	0	0	6***	6***	0
FBSA		6	0	0	0	0	0

* : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.001 (vs MC respectively)

表 9. 「非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」における病理組織学的解析

Treatment	Dose (mg/kg)	No. of rats	Liver			Kidney		
			Single cell necrosis	Inflammatory cell infiltration	Hypertrophy, centrilobular	Tubular regeneration	Tubular dilatation	Cyst
Control	0	4	0	0	0	0	0	0
PFMP	100	5	3	2	0	0	0	0
PFHpA	15	4	0	0	0	0	0	0
4-CBTF	100	4	1	0	0	0	0	0
PFBS	20	5	2	1	3	0	0	0
HFBC	15	6	4*	5*	6*	0	0	0
PFPMS	100	3	0	0	2	0	0	0
PFPo	15	6	3	5*	0	0	0	0

*: P < 0.05 vs. Control

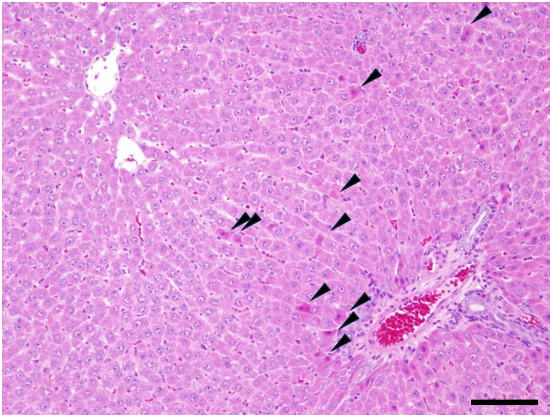


図1. 肝臓におけるSingle cell necrosis(矢頭) (bar = 100 μ m)

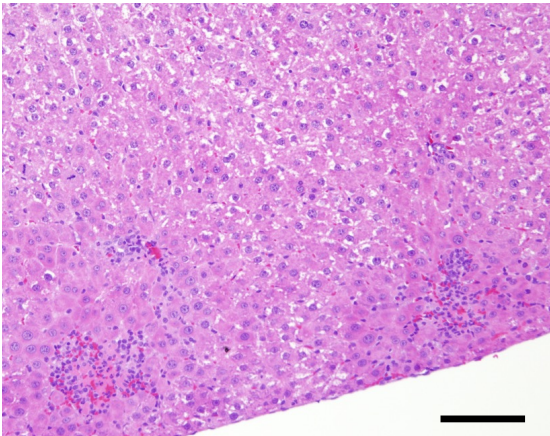


図2. 肝臓におけるFocal necrosis (bar = 100 μ m)

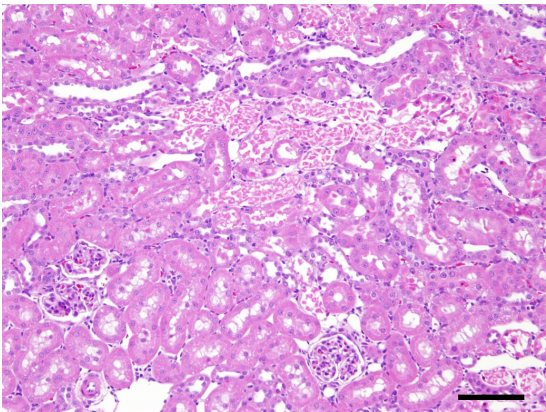


図3. 腎臓におけるTubular necrosis (bar = 100 μ m)