別添３

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

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

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効率的に評価し、PFAS に特異的な発がん性評価スキームを構築することを目的として、短期肝発がん物質検出法、DNA 付加体解析及び *in silico* 予測ツールを組み合わせ、PFAS の発がん性及び関連する作用機序を多角的に検討した。本年度は、*in silico* 解析、既存毒性情報及びばく露情報の整理に基づき、10 種類の PFAS を選定し、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得られていない 9 物質については、OECD TG423 に準拠した急性毒性試験及び GHS 急性経口毒性区分評価を行い、いずれも GHS 区分 4 又は 5 に該当することを確認した。病理組織学的解析では、10 物質中 6 物質で肝障害が、4 物質で腎障害が認められ、PFAS の急性毒性における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示すことが明らかとなった。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適用した結果、10 物質中 4 物質が陽性と判定された。令和 6 年度に検討した 19 物質と合わせると、これまでに計 29 物質を評価し、そのうち 7 物質が陽性を示したことから、PFAS の一部に遺伝毒性肝発がん性を有する可能性のある物質が存在することが示された。また、GenX（HFPO-DA）関連構造を有する HFPO-TA、HFPO-DAF 及び 2,5-BDF が陽性を示したことから、遺伝毒性肝発がん性を示す PFAS には一定の構造的特徴が存在する可能性が示唆された。一方、7 種類の PFAS について OECD TG407 に準拠した 28 日間反復経口投与試験を実施し、非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いて評価した結果、4 物質が陽性と判定された。令和 6 年度までの結果と合わせると、これまでに計 13 物質を評価し、そのうち 6 物質が陽性を示した。陽性物質はいずれも PPARα 誘導モデルで陽性を示しており、PFAS による非遺伝毒性肝発がん機序として、PPARα 活性化が重要である可能性が示された。さらに、19 種類の PFAS を投与したラット肝臓 DNA を用いて DNA アダクトーム解析を行った結果、DNA アダクトーム解析は PFAS の発がん性評価に有用な補助的情報を提供し得ることが示唆された。*in silico* 評価系の検討では、480 物質の PFAS を対象として、Derek Nexus 及び CASE Ultra を用いた Ames 変異原性及び発がん性 QSAR 解析を行い、Ames 変異原性及び発がん性に関わる複数の構造アラートを整理した。一方で、Ames QSAR 解析では未知 PFAS に対するフォールスネガティブが認められ、PFAS 化合物に関する Ames 実試験情報の蓄積が必要であると考えられた。また、ISS 分類と短期肝発がん物質検出法の結果は必ずしも一致しなかったが、他の QSAR プロファイリングを組み合わせることで、結果の不一致を機序的に説明できる可能性が示された。以上より、本研究により、PFAS の急性毒性、遺伝毒性及び非遺伝毒性肝発がん性、DNA 付加体形成、QSAR 予測及び既存毒性情報との関連性に関する有用な知見が得られた。一方で、短期肝発がん物質検出法、Ames 試験、QSAR 解析及び DNA アダクトーム解析の結果には一致しない点も認められ、PFAS の発がん性評価には、単一の評価法に依存しない多面的な判断が必要であると考えられた。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、複数の *in silico* 解析、短期肝発がん物質検出法、Ames 試験、DNA 付加体解析、既存の発がん性試験情報及びラット肝中期発がん性試験等を統合した、PFAS 発がん性評価スキームの確立を目指す。

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
松本真理子　国立医薬品食品衛生研究所　室長
戸塚ゆ加里　星薬科大学　教授
藤岡正喜　大阪公立大学大学院医学研究科　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。したがって、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%）(Kanki M et al., J Toxicol Sci, 2016; Gi M et al., Arch Toxicol, 2024) を短期かつ高精度に検出できる検出法（それぞれ遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法と非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法）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。

本研究では、松本研究分担者による *in silico* 評価系の確立と検証に関する分担研究で得られたQSAR解析、既存毒性情報及びばく露情報を踏まえて候補物質を選定し、PFAS の遺伝毒性肝発がん性について本検出法を用いて検討した。前年度は、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適用し、さらにそのうち6種類の PFAS について非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた発がん性評価を実施した。本年度は、新規10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適用するとともに、7 種類の PFAS について非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた肝発がん性評価を行った。さらに、DNA 付加体解析及びQSAR予測ツールを組み合わせた包括的な検討を実施した。

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）

被験物質の選定にあたっては、松本研究分担者による *in silico* 評価系の確立と検証に関する分担研究（課題 3）で得られた情報を活用した。すなわち、約480物質からなるPFAS候補母集団について、OECD QSAR Toolbox による Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS の分類、Derek Nexus 及び CASE Ultra を用いた Ames 変異原性・発がん性 QSAR 解析、既存の遺伝毒性・発がん性情報、化審法分類、ならびに国内外のばく露情報を総合的に整理し、本研究班で検討すべき候補物質を抽出した。これらの詳細については、松本研究分担者の分担研究報告書に記載している。

動物実験は、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 PFDA 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 9 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。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 匹以上の場合は、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、本検出法を用いた初回評価では、2,5-BDF（300 mg/kg）、PFNA（500 mg/kg）、HFPO-DAF（300 mg/kg）、PFPOE（2000 mg/kg）は遺伝毒性肝発がん物質である可能性が示唆されたため、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 1 mL の RNAlater 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 アダクト解析用）。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 VILO Master 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学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。

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 TG407「げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験」に準じて動物実験を行った。6 週齢の雄性 SD ラットに被験物質を 28 日間反復強制胃内投与し、最終投与 1 日後に剖検を行い、肝臓を採取した。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、各被験物質による遺伝子発現変化データを取得した。

得られた遺伝子発現データについて、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）を用いて、非遺伝毒性肝発がん性を評価した。この基盤モデルは、感度 77%、特異度 100%、正答率 95%を示す検出法である。具体的には、GeneChip® Rat Genome 230 2.0 Array を用いて、細胞傷害性肝発がん物質（TAA、MP）、酵素誘導型肝発がん物質（PB、HCB）及び PPARα アゴニスト（CFB、WY）に属する各 2 種の化学物質について、統計学的に有意な発現変動を示し、かつ各機序内で共通する遺伝子を選出した。これらを組み合わせた 106 遺伝子セットを用い、サポートベクターマシンに基づく数理学的アルゴリズムにより、非遺伝毒性肝発がん物質を判定するモデルとして構築した。

また、非遺伝毒性肝発がん物質の発がん機序をより詳細に評価するため、細胞傷害、酵素誘導及び PPARα アゴニストに対応する機序別予測モデルを用いた。各機序に属する 2 種の化学物質について、高用量及び中用量投与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抽出し、各 2 種の化学物質に共通する遺伝子を選出した。さらに、それぞれの高用量投与群において、対照群との平均発現差が 4 倍以上であり、かつ 42 種類の非発がん物質における平均発現変動が 1.5 倍以下である遺伝子を選出した。その結果、細胞傷害に関連する 4 遺伝子、酵素誘導に関連する 2 遺伝子、PPARα アゴニストに関連する 18 遺伝子が選出された。これらの遺伝子セットを用いて各発がん機序に対応する予測モデルを作成し、いずれかの機序別モデルで陽性と判定された物質を陽性と判定する機序別統合モデルとして評価した。

令和 7 年度は、Perfluoro(2-methylpentane、100 mg/kg）（PFMP）、4-Chlorobenzotrifluoride（4-CBTF、100 mg/kg ）、 2,2,3,3,3-Pentafluoropropyl trifluoromethanesulfonate（PFPMS、100 mg/kg）、Nonafluorobutanesulphonic acid（PFBS、20 mg/kg）、Perfluoroheptanoic acid（PFHpA、15 mg/kg）、Heptafluorobutyryl chloride（HFBC、15 mg/kg））及び 2,2,3,3,3-Pentafluoropropan-1-ol（PFPo、15 mg/kg）を対象として、強制胃内投与により検討した。

剖検時には、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、精嚢、精巣、精巣上体、下垂体、副腎及び甲状腺を採取した。また、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検査及び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し、切り出し及びパラフィン包埋を行った後、病理組織切片を作製した。切片にはヘマトキシリン・エオジン染色を施し、鏡検を行った。

統計学的解析として、臓器重量の有意差検定では、まず F 検定により等分散性を確認した。等分散の場合は Student’s t-test を用い、不等分散の場合は Welch’s t-test による両側検定を行った。病理組織学的所見の発生頻度の差については、Fisher の直接確率検定を用いた。

【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した。

得られたデータは SCIEX 社が提供するバイオインフォマティクス解析ソフトウェアを用い、デオキシリボヌクレオチドに特徴的なニュートラルロス（-116.04736）及び各種核酸に特異的なニュートラルロス（-152.0572; dG, -136.0623; dA, -112.0511; dC, -127.0508; dT）を生じたピークを選択的に抽出することで、ノイズなどを抽出しないように系をデザインした。得られたデータを A: 肝発がん物質短期検出スキームもしくは、Ames 試験で陽性と判定されたもの（赤で表示）、B: 肝発がん物質短期検出スキーム陰性かつ QSAR で遺伝毒性アラートが立たなかったもの（青で表示）、C: 肝発がん物質短期検出スキーム陰性だが、遺伝毒性発がん物質のアラートが立っているもの（黄色で表示）の 3 つに分類し、主成分判別分析(PCA-DA)により解析した。

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 DFEMS 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 µL/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 母集団の設定と化審法分類の追加

今年度の調査対象物質は、令和 6 年度報告書「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【課題 3】*in silico* 評価系の確立と検証」において設定された母集団に加え、化審法規制物質等を追加し、本研究の対象物質は計 480 物質とした。化審法分類の確認は、母集団リスト収載物質について、CAS 番号を用いて化審法データベース（J-Check; https://www.nite.go.jp/chem/jcheck/top.action?request_locale=ja）で行った。また、同データベースに収載の新規公示化学物質から PFAS 物質に相当する物

質を検索し、13 物質を母集団リストに追加した。

② Ames 及び発がん性の QSAR 解析

母集団 480 物質を対象に、2 種類の QSAR ソフトウェア（Lhasa 社の Derek Nexus 6.4.2 及び MultiCASE 社の CASE Ultra 1.9.2.1）を用いて Ames 変異原性と発がん性予測を実施した。Derek Nexus は構造アラートの知識ベースを使用して、複数の毒性エンドポイントを予測する。一方、CASE Ultra は、統計的手法をベースとし、機械学習技術によってトレーニングデータから自動的にアラートが抽出されることによって予測を行うものである。Derek では、「PLAUSIBLE・PROBABLE・EQUIVOCAL」を陽性判定、「INACTIVE」を陰性判定とした。CASE Ultra では、「Known Positive・Positive・Inconclusive」を陽性判定、「Known Negative・Negative」を陰性判定、「Out of Domain」を判定不能とした。

③ 反復投与毒性試験（発がん性）の既知見の整理

課題 1 で実施している肝発がん物質短期検出スキームの結果について、実際の発がん性試験の結果との整合性を確認することは重要な観点である。前年度は、発がん性試験結果及び遺伝毒性試験の結果についてスクリーニング的に情報収集を行ったが、今年度は発がん性試験の有無について情報収集を行うとともに、リスク評価に資するデータとして反復経口投与毒性試験の情報収集を実施した。

調査対象としたPFASは、以下のEPA及びWHOのPFASの取り組みの対象物質とした。

・米国EPAが毒性研究の文献レビューを実施し*in vivo*データがあるとして公開している23種類のPFAS（EPA, 2020）

・WHOのPFASリスク評価の取り組みのPhase 1において、主要な健康影響とばく露状況等を特定し優先順位付けを行って選ばれた32種類のPFAS（WHO, 2025）

・WHOのPhase 2での評価対象である18種類のPFAS（WHO, 2026）

上記から重複を除いた計 37 種類のPFASとした。各PFASについて既存の評価書、総説の有無を調査し、発がん性試験、反復投与毒性試験（28 日間以上の経口投与）の毒性情報の収集を行った。

④ PFAS ばく露情報の収集

令和 6 年度はPFAS化学構造の網羅性を考慮し、様々な構造について*in silico*解析を行い、その発がん性の分類（遺伝毒性発がん性・非遺伝毒性発がん性・アラートなしの 3 分類）による予測結果を基に課題１での試験実施の提案を行った。その結果、物質毎のおおよその特徴（ハザード）等が見えてきたので、令和７年度はばく露を考慮したリスク評価の観点での物質候補提案を行うこととした。国内のばく露状況としては、環境省のHPから水道水における検出状況等を調査した（https://www.env.go.jp/content/000276954.pdf）。また、国際的なばく露評価の知見として、WHOの水道の評価状況を調査した（https://www.who.int/news-room/articles-detail/request-for-data-on-pfas）。

⑤ 課題１の結果と*in silico 解析*の比較

課題１の物質選定については、OECD QSAR Toolboxによる Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISSの分類（遺伝毒性発がん性物質、非遺伝毒性発がん性物質、アラートなしの 3 分類）を参考にして行った。ISSの分類と本研究班の結果を比較するために、ISS分類ごとに表形式にまとめ、「遺伝毒性肝発がん物質検出法」「非遺伝毒性肝発がん物質検出法」の結果との比較を行った。また、ISSの分類と課題１の結果について一致していない物質を中心に、ISS分類以外のToolboxのその他のプロファイリングについての確認も行った。

類似物質であるにも関わらず、「遺伝毒性肝発がん物質検出法」で異なる結果が得られた構造が 2 種類あったため、それらについては、WebMO（Version: 25.2.005e（https://www.webmo.net/demoserver/cgi-bin/webmo/login.cgi）を用いて、エンジンとして Mopac、TheoryとしてPM7 を選択し、LUMOエネルギー(eV)及び極性(D)の簡易的計算を行った。

（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した。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、苦痛軽減に努めた。

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 3 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、ならびに *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。特に、Ames 陽性の PFAS を最優先の検討対象とした（表1）。なお、選定された10物質のうち、9 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 の最大耐量及び GHS 区分を表 2 に示した。LD50 が不明であった 9 物質について急性経口毒性試験を実施した結果、2 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 7 物質は LD50 が 300 mg/kg～2000 mg/kg の範囲にあり、GHS 区分 4 に分類された。なお、いずれの物質も経口毒性において毒劇物には該当しなかった。

3）遺伝毒性肝発がん性の判定

qPCR で取得した 10 マーカー遺伝子の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、陽性又は陰性の判定を行った。令和 7 年度に検討した各物質の ISS 分類、投与量及び本検出法による判定結果を表 3

に示す。10 物質のうち、PFNA、HFPO-DAF、PFPOE 及び HFPO-TA の 4 物質が陽性を示した。その他の 6 物質は陰性であった（表 3)。令和 6 年度に検討した 19 物質の結果と合わせると、合計 29 物質中 7 物質、すなわち PFOA、DFEMS、2,5-BDF、PFNA、HFPO-DAF、PFPOE 及び HFPO-TA が陽性を示し、遺伝毒性肝発がん物質である可能性が示唆された。

4) 確認試験

2,5-BDF、PFNA、HFPO-DAF 及び PFPOE 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 4 に示す。2,5-BDF、HFPO-DAF 及び PFPOE は中用量及び低用量では陰性であったが、高用量では陽性が確認された。一方、PFNA は高用量及び中用量において陽性を示した。確認試験によりいずれの PFAS も陽性が確認され、明確な用量依存性を示した。

5) 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

令和 6 年度と令和 7 年度で検討した物質について、ISS 分類別にみた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の結果を表 5 に示す。ISS 分類で遺伝毒性発がん性アラートを有する 12 物質のうち、DFEMS、2,5-BDF 及び HFPO-DAF の 3 物質が本検出法で陽性を示した。一方、残り 9 物質は陰性であった。ISS 分類で非遺伝毒性発がん性に分類された 6 物質のうち、PFOA、PFNA 及び PFPOE の 3 物質が本検出法で陽性を示した。また、ISS 分類でアラートなしとされた物質のうち、HFPO-TA が陽性を示した。以上より、本検出法の陽性結果は ISS 分類と一部一致したものの、完全には一致しなかった。特に、ISS 分類でアラートなしとされた HFPO-TA が陽性を示したことは、Carcinogenicity alerts by ISS 単独では捉えきれない PFAS の肝発がん性関連応答が存在する可能性を示している。

6) 病理組織学的解析

10 物質のうち 6 物質（TFOLTf、PFNA、PFDA、PFPOE、HFPO-DAF 及び HFPO-TA）で肝臓に肝細胞単細胞壊死が認められた。さらに、そのうちの 3 物質（TFOLTf、PFPOE 及び HFPO-DAF）投与群では肝臓の肝細胞単細胞壊死だけでなく、腎臓において尿細管壊死を認めた。加えて、肝毒性影響がみられなかった物質の一つである HFB-epoxide では腎臓において尿細管壊死が認められた。

② 非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討（鈴木、藤岡）

一部の有機フッ素化合物投与群において、対照群に比べ体重増加の軽度抑制が見られたが、最終屠殺時において有意な体重減少を示す群は見られなかった（表 6）。また、HFBC投与群において肝臓の相対重量が対照群に比べ有意な増加を認めた（表 6）。

肝臓の組織学的検討の結果、HFBC投与群において小葉中心性の肝細胞腫大と好酸性化が存在した（図 1）。PFPMS投与群においても、やや小葉中心性に肝細胞腫大を伴うもののHFBC投与群に比べ明瞭ではなかった（図 1）。また、PFPo投与群では微小炎症細胞集簇像が存在した。一方、他の有機フッ素化合物投与群では、対照群との差が明瞭ではなかった（図 1）。

各肝組織からRNAを抽出した結果、平均 2.2 ± 0.7 μgのtotal RNAを回収し、質もA260/A280が平均2.14 ± 0.02 と良い状態だった。

各投与群における遺伝子発現データについて、構築済の非遺伝毒性肝発がん物質検出モデルに入力し、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、PFHpA、HFBC、PFPMS、PFPoは、PPARα誘導モデルにおいて陽性と判定され、HFBCは酵素誘導モデルにおいても陽性と判定された。一方、基盤モデルにおいては、いずれも陰性と判定された（表 7）。

令和 6 年度に検討したPFOAについては、PPARα誘導による発がん性が報告されており、今回の陽性と判定された有機フッ素化合物も同じ機序による発がん機序が推察される。そこで、PPARαの下流に位置すると報告がある遺伝子Cyp4a1（ヒトCYP4A11; マウスCyp4a10）及びAcox1 の遺伝子発現変化を検討した結果、HFBCではいずれも高発現を示し、PFHpAやPFPMS、PFPoについてはCyp4a1 の高発現を確認した（図 2）。

さらに、令和 6 年度及び令和 7 年度に非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法で検討した 13 物質について、QSARによるISS分類との比較を行った。その結果、本検出法では 13 物質中 6 物質が陽性を示した。QSARで非遺伝毒性発がん性に分類された 3 物質のうち、本検出法では 2 物質（PFOA及びPFHpA）が陽性、1 物質が陰性であった。一方、QSARで遺伝毒性発がん性と予測された 5 物質では、2 物質（HFBC及びPFPMS）が陽性、3 物質が陰性であった。さらに、アラート構造を有しない 5 物質では、2 物質（GenX（HFPO-DA）及びPFPoが陽性、3 物質が陰性であった。以上の結果から、本検出法による評価結果はQSARのISS分類とは必ずしも一致せず、PFASの非遺伝毒性肝発がん性評価においては、QSAR分類のみではなく、遺伝子発現応答に基づく短期検出法を組み合わせて評価することが重要であると考えられた。

【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

各 PFAS を投与したラット肝臓 DNA のアダクトーム解析を行った結果を図 3 に示す。PCA-DA 解析を行ったところ、A: 肝発がん物質短期検出スキームもしくは、Ames 試験で陽性と判定されたもの（赤で表示)、B: 肝発がん物質短期検出スキーム陰性かつ QSAR で遺伝毒性アラートが立たなかったもの（青で表示)、C: 肝発がん物質短期検出スキーム陰性だが、遺伝毒性発がん物質のアラートが立っているもの（黄色で表示）の 3 つのグループに明瞭に分離されることがわかった。

Loading Plot から、A と B のクラスタリングへの寄与が大きい付加体をスクリーニングしたところ、Adduct-5569 及び Adduct-11161 の 2 つを見出した。これら付加体の MS/MS フラグメント解析結果及び各グループにおける存在量を図 4 に示す。MS/MS フラグメン

トパターンから Adduct-11161 はデオキシリボース(dR)に相当するm/z116.047の喪失が２分子分観測されていることから、DNA―DNA の架橋であることが推測された。また、Adduct-5569 はフラグメントイオンピークに１分子のdR喪失に加え、グアニン塩基に相当する m/z152.058 が観測され、dG 付加体であることが推測された。

②アルキル化DNA修復酵素欠損株を用いたAmes試験

DFEMS の変異原性試験を実施した結果、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5)。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1 mg あたりの復帰変異コロニー数は 81,184 であるのに対して、DFEMSの1 mgあたりの復帰変異コロニー数では 29.1 であった。このことから、DFEMS 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。

【課題3】*in silico*評価系の確立と検証（松本）

①　母集団の設定と化審法分類の追加

今年度追加した 13 物質の新規公示化学物質を含めて、現在の母集団リストには110物質の化審法上の分類が存在する物質があった。その内訳は、第 1 種特定化学物質 25 物質、監視化学物質 7 物質、一般化学物質10物質、既存化学物質35物質、新規公示化学物質33物質であった。

②　Ames及び発がん性のQSAR解析

母集団480物質を対象にAmes変異原性QSAR解析を行った結果、Derekでは45物質が陽性、435物質が陰性と判定された。CASE Ultraでは43物質が陽性、424物質が陰性、13物質が判定不能であった（表8-1)。

また、Derek 発がん性解析では 55 物質が陽性、425物質が陰性と判定された（表8-2)。CASE Ultra発がん性解析では、マウス雌で36物質、マウス雄で46物質、ラット雌で12物質、ラット雄で283物質が陽性と判定された（表8-3)。

発がん性の実試験情報はほとんど得られなかったため、QSARの精度について解析を行うことはできなかったが、前年度収集した情報と今年度新たに加えた化審法公示化学物質のうち、Ames 試験情報があった 83 物質について、QSAR 解析結果との比較を行った（表 9-1・表9-2)。

Derekでは、Ames試験陽性18物質中3物質しか正しく陽性の予測ができておらず、15物質がフォールスネガティブであった（表9-1)。CASE Ultraでは18物質中12物質を陽性としているが、その多くは学習セットの中に当該物質の試験結果が入っており、既知（Known Positive）と結果を出力したためであり、未知の結果を正しく予測できているものではなかった（表9-2)。したがって、PFAS化合物のAmes QSAR解析には改善の余地があると考えられた。

両ソフトでAmes変異原性陽性となった物質は20物質であり、アラート構造は Acid halide、Alkyl halide、Epoxide、Glycidyl (2,3-epoxy propyl) ether, amine, ester or amide、Halogenated alkene、Polyhalogenated methane に分類された（表 10)。また、両ソフトで発がん性陽性とされた物質は、マウスで29物質、ラットで7物質確認された（表11)。両ソフトでAmes変異原性及び発がん性が陽性判定となった物質は 1,4-Dibromo-1,1,2,2-tetrafluorobutane（CAS：18599-20-7）の 1 物質のみであった。

③　反復投与毒性試験（発がん性）の既知見の整理

調査対象とした37種類のPFASについて、発がん性試験及び反復経口投与毒性試験の情報を整理した。発がん性試験は 5 物質でデータが得られ、4 物質（N-EtFOSE、PFOA、PFOS、GenX（HFPO-DA））で発がん性が認められ、1物質（PFHxA）で発がん性が認められなかった。反復投与毒性試験については、21物質でデータが得られ、データの得られた21物質の全てにおいて何らかの肝臓への影響が認められた。

④　PFASばく露情報の収集

全国の水道原水及び浄水に含まれるPFASの検出実態調査では、PFSAs及びPFCAsを中心とする複数のPFASが検出されていた。PFOS 及び PFOA に加え、PFBS、PFHxS、PFBA、PFPeA、PFHxA、PFHpA、PFNA、GenX（HFPO-DA）が水道水質基準の要検討項目に設定された。また、WHOのPFASリスク評価では、Phase 2での詳細なリスク評価に向けて18種類のPFASと6つの健康影響カテゴリーが抽出され、そのうち9物質は課題1において試験が実施されている。これらの詳細については、松本研究分担者の分担研究報告書に記載している。

⑤　課題1の結果と*in silico*解析の比較

課題1の物質選定については、OECD QSAR Toolboxによる Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISSの分類を参考にして行ったが、ISS分類は「遺伝毒性肝発がん物質検出法」の結果及び「非遺伝毒性肝発がん物質検出法」の結果と必ずしも一致しないことが確認された。ISS 分類では発がん性のアラートがない物質でも、他のプロファイリング（DNA binding by OECD、Oncologic Primary Classification、in vivo mutagenicity (Micronucleus) alerts by ISS 等）でアラートを有する物質があることが確認された。これらの詳細については、松本研究分担者の分担研究報告書に記載している。

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

本年度は、新たに10種類のPFASを対象として、遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法を用いた検討を行った。その結果、PFNA、HFPO-DAF、PFPOE 及び HFPO-TA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、PFNA、HFPO-DAF及びPFPOEについては、

確認試験により陽性判定の再現性が確認された。今後は、HFPO-TA についても用量反応性を含めた追加検討を実施し、判定結果を検証する必要がある。

前年度に検討した19物質に本年度の検討物質を加えると、これまでに合計29物質について本検出法による評価を実施し、そのうち 7 物質が陽性を示した（表12)。これにより、PFAS の一部に遺伝毒性肝発がん性を有する物質が存在する可能性が示された。なお、確認試験を追加で実施した 6 物質については陽性判定の再現性が確認され、その一部では用量反応性も認められた。

また、GenX（HFPO-DA）の関連構造を有する HFPO-TA、HFPO-DAF 及び 2,5-BDF は本検出法で陽性を示したことから、遺伝毒性肝発がん性を有するPFASには一定の構造的特徴が存在する可能性が示唆された。一方で、本検出法で陽性であった PFAS の中には、QSAR 予測又は Ames 試験の結果と一致する物質が認められたものの、三つの評価結果がすべて一致する物質は認められなかった。松本研究分担者による Ames QSAR 解析では、Derek 及び CASE Ultra のいずれにおいてもフォールスネガティブが認められ、特に学習データに含まれない未知 PFAS については、Ames 変異原性を十分に予測できない可能性が示された。このことから、PFAS の遺伝毒性評価においては、Ames QSAR の結果のみで判断するのではなく、Ames 実試験情報の蓄積と、本検出法や DNA 付加体解析等を組み合わせた総合的評価が必要であると考えられた。

ISS 分類との比較では、遺伝毒性発がん性アラートを有する 12 物質のうち、DFEMS、2,5-BDF 及び HFPO-DAF の 3 物質が本検出法で陽性を示した。この結果は、QSAR に基づく候補物質選定の一部が、本検出法による評価結果と整合する可能性を示している。一方で、ISS 分類で遺伝毒性発がん性アラートを有していたにもかかわらず陰性を示した物質も多く、ISS 分類単独で *in vivo* 肝発がん性を十分に予測するには限界があると考えられた。さらに、PFOA、PFNA 及び PFPOE は ISS 分類では非遺伝毒性発がん性に分類されていたにもかかわらず本検出法で陽性を示し、HFPO-TA は ISS 分類でアラートなしとされたにもかかわらず陽性を示した。HFPO-TA については、松本研究分担者の解析により、OECD QSAR Toolbox の他のプロファイリングで発がん性又は DNA 結合性を示唆するアラートが認められており、PFAS の毒性予測には Carcinogenicity alerts by ISS のみでなく、複数の QSAR ツール解析を組み合わせた評価が重要であると考えられた。

鈴木研究分担者による遺伝子セットを用いた非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法では、本検出法で検討した 29 物質のうち 13 物質が評価されている（表 12)。両検出法の結果を比較すると、PFOA は両検出法で陽性を示した。一方、DFEMS は本検出法で陽性、非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法で陰性であり、遺伝毒性関連応答が主体である可能性が示唆された。これに対し、GenX、HFBC、PFHpA、PFPMS 及び PFPo は、本検出法では陰性であったが、非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法では陽性と判定されており、PPARα 活性化を中心とする非遺伝毒性機序の関与が示唆された。このように、二つの短期検出法の結果は完全に一致するものではなかったが、この不一致は、各検出法が異なる発がん機序を捉えていることを反映していると考えられる。すなわち、本検出法は単回投与後24時間の肝臓における遺伝毒性肝発がん物質に特徴的な遺伝子発現応答を検出する方法であるのに対し、非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法は、28 日間反復投与後の肝臓における PPARα 誘導、酵素誘導、細胞傷害等に関連する遺伝子発現応答を評価する方法である。したがって、PFAS の発がん性評価においては、いずれか一方の検出法の結果のみで判断するのではなく、両検出法の結果を相補的に解釈することが重要である。

病理組織解析の結果、本年度検討した10物質のうち 6 物質で肝細胞単細胞壊死が認められ、単回投与による主な標的臓器は肝臓であることが示された。一方、4 物質では腎臓に尿細管壊死が認められ、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。なお、前年度に検討した 19 物質を含む 29 物質の解析結果では、22 物質で肝障害が、7 物質で腎障害が認められた。以上より、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ることが明らかになった。

以上の結果から、本検出法はPFASの遺伝毒性肝発がん性を短期間で評価する上で有用な情報を提供する手法となり得ると考えられた。一方で、QSAR、Ames 試験及び本検出法の結果は必ずしも一致せず、PFAS の作用機序が多様であることが示唆された。したがって、、今後は本検出法単独で発がん性を判断するのではなく、非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法、DNA アダクトーム解析、Ames 試験、複数 QSAR ツール解析及びラット肝中期発がん性試験の結果を統合し、重み付けを行った上で、PFAS の発がん性評価スキームとして整理していく必要がある。

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、機序別統合モデルにおいて陽性と判定された物質が 4 つ存在した一方で、基盤モデルにおいてはいずれも陰性と判定されており、以前に検証した発がん物質での検討でも見られたとおり、基盤モデルは特異度が 100%と高いものの、感度が低い問題点が提示された可能性がある。

今回、PPARα誘導モデル及び酵素誘導モデルいずれにも陽性と判定されたHFBCは、病理組織像においても小葉中心性肝細胞腫大と好酸性化が存在し、その組織像変化は令和 6 年度に検討したPFOA及びGenXに類似し、PFOAと同様にPPARα活性化を介した肝臓への発がん性を示す可能性が高いと推察される。一方、PPARα誘導モデルでのみ陽性と判定されたPFHpA、PFPMS、PFPoについては、病理組織像でPFOAに類似した変化も乏しく、PPARα関連の遺伝子発現変化もHFBCに比べ弱いことから、その発がんへの影響力は、HFBCよりも低い可能性が示された。

令和 6 年度に行った有機フッ素化合物も含めて、非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法により陽性判定とされた物質は、いずれもPPARα誘導モデルにより陽性判

定を確認しており、有機フッ素化合物による発がん機序としてPPARα活性化が重要である可能性が高い。より精度の高いPPARα関連肝発がん物質検出法の確立が、有機フッ素化合物の発がん性検出に役立つ可能性が示された。

さらに、令和 6 年度及び令和 7 年度に本検出法で検討した 13 物質について、QSARによるISS分類との比較を行った。その結果、本検出法では13物質中6物質が陽性を示した。QSARで非遺伝毒性発がん性に分類された3物質のうち、本検出法では2物質（PFOA及びPFHpA）が陽性、1 物質が陰性であった。一方、QSARで遺伝毒性発がん性と予測された 5 物質では、2 物質（HFBC及びPFPMS）が陽性、3 物質が陰性であった。さらに、アラート構造を有しない 5 物質では、2 物質（GenX (HFPO-DA) 及びPFPo)が陽性、3 物質が陰性であった。以上の結果から、本検出法による評価結果はQSARのISS分類とは必ずしも一致せず、PFASの非遺伝毒性肝発がん性評価においては、QSAR分類のみではなく、遺伝子発現応答に基づく短期検出法を組み合わせて評価することが重要であると考えられた。

【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

① DNA 付加体の網羅的解析

各 PFAS を投与したラット肝臓 DNA のアダクトーム解析を行ったところ、A、B、C の 3 つのグループに明瞭に分離されることがわかった。このうち、C に分類した PFAS のうち、A と近いところにプロットされるものが観察され、これらの PFAS は肝発がん物質短期検出スキーム陰性と判定されたものの、遺伝毒性や肝臓に対する毒性影響を示す可能性が示唆された。この結果より、DNA アダクトーム解析は PFAS の発がん性評価に有用な手法である可能性が示唆された。現在、肝発がん物質短期検出スキームで追加解析された検体についても同様にアダクトーム解析を実施している。

② アルキル化 DNA 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 が複数存在することが示唆されたため、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、DFEMS の変異誘発能の確認を実施した。その結果、DFEMS 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、O6-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ことから、これら PFAS は DNA のアルキル化様の付加体を介して遺伝毒性を示すことが示唆された。令和6年度に検討したPFPMSとともに、MNU と同様の反応機構であるのであれば、赤丸で囲った部分が DNA に付加する可能性が考えられた（図 6)。

【課題 3】*in silico* 評価系の確立と検証

① 母集団の設定と化審法分類の追加

化審法上の分類の整理を行った結果、既に第 1 種特定化学物質として管理されている PFAS 化合物が多く存在する一方、類似物質ではあるものの、既存化学物質、新規公示化学物質に分類されている物質も一定数あることが確認された。これらの物質はヒトのばく露の懸念があると考えられるため、発がん性の懸念のある PFAS 物質がないかという点について、課題 1 及び課題 2 における検討物質候補として提案したいと考える。

② Ames 及び発がん性の QSAR 解析

QSAR 解析では、フォールスネガティブの解析結果があることが大きな問題となるが、Derek では Ames 試験陽性物質 18 物質中 3 物質（17%）しか正しく陽性の予測ができていなかった。また、CASE Ultra では 18 物質中 12 物質を陽性としているが、それは学習セットの中に当該物質の試験結果が入っており、既知（Known Positive）と結果を出力したためであり、未知の結果を正しく予測できているものではなかった。Ames QSAR で陽性が予測された物質についても実試験情報が十分得られていないことが確認され、両ソフトウェアとも PFAS 化合物に対する試験情報の集積が十分ではないと考えられた。

Ames 変異原性に関しては、陽性と判定された物質を 7 種類の構造（Acid halide、Alkyl halide、α,β-unsaturated compound 、 Halogenated alkene 、 Glycidyl (2,3-epoxy propyl) ether, amine, ester or amide、Polyhalogenated methane、Epoxide）に分類することができ、特に Epoxide 及び Alkyl halide を中心に陽性判定が確認された。さらに、Derek レポートによると、Epoxide 及び Alkyl halide では鎖長が短いほど陽性となりやすい傾向が示唆されている。今回の解析結果では、炭素数 C1～C9 の範囲に該当する物質が多く含まれていた。Derek レポートには、構造別に Ames 陽性となりやすい菌株や代謝活性化酵素の有無が記載されており、毒性評価における参考情報となるが、実試験情報が不足しており、予測結果が当たっているかの判断が難しい。発がん性の閾値の有無を、Ames QSAR を用いて予測するためには、PFAS 化合物の Ames 実試験結果の集積が望まれる。そのため、令和 8 年度は、これらの結果を踏まえて、Ames 試験の実施を計画する予定である。

一方、発がん性予測に関しては両ソフト間で結果にばらつきが確認され、特に CASE Ultra では雄ラットにおいて陽性判定となる物質が多く見られた。マウスでは alpha,beta-Unsaturated ester or thioester 及び Alkylating agent、ラットでは Epoxide を中心に陽性判定が確認され、両種間でアラート構造に特徴的な差異が示唆された。これらの特徴は、毒性傾向の理解に資する有用な知見となることが期待される。

③ 反復投与毒性試験（発がん性）の既知見の整理

既知見の情報収集整理を行った結果、発がん性試験は 5 物質でデータが得られ、4 物質（N-EtFOSE、PFOA、PFOS、GenX（HFPO-DA））で発がん性が認められ、1 物質（PFHxA）で発がん性が認められなかった。動物実験による結果と課題 1 の結果を比較すると、両者に結

果があったのは 3 物質のみであったが、課題 1 による発がん性の検出は実試験と合致していることが確認できた。また、28 日以上の反復投与試験の情報が得られた21物質について、肝臓が標的臓器であることが確認され、長期投与による肝発がん性の可能性は否定できないと考えられた。

④ PFAS ばく露情報の収集

国内外のPFASばく露情報を収集した結果、ばく露の可能性が高い物質を同定した。これにより、水道原水や浄水で検出され、懸念が高いとされる PFAS を課題 1 の候補物質として提案することができた。ヒトの健康リスクを考慮した物質選定により、本研究班の意義を高める情報を提供することができたと考える。

⑤ 課題 1 の結果と *in silico* 解析の比較

課題 1 の物質選定については、OECD QSAR Toolbox による Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS の分類を参考にして行ったが、「遺伝毒性肝発がん物質検出法」の結果及び「非遺伝毒性肝発がん物質検出法」の結果と必ずしも一致するものではなかった。例えば、Toolbox では PFOA 類似物質（C6-C10 カルボン酸）について、一貫して非遺伝毒性発がん性物質と分類していたが、本研究班の結果では、PFHxA（C6）が発がん性「陰性」、C7 及び C8 では非遺伝毒性発がん性「陽性」（C9 及び C10 は未実施）という結果になっている。前述の通りPFHxAではラット104週間試験で発がん性が認められていないことから、本研究班における肝発がん物質検出法の検出力が、ISS の分類よりも正確であったと考察できる。また、GenX（HFPO-DA）はISSの分類では発がん性のアラートは無かったが、「非遺伝毒性肝発がん物質検出法」では陽性であり、ラット 2 年間発がん性試験で発がんが認められている事から、GenX（HFPO-DA）についても動物実験の実試験結果と「非遺伝毒性肝発がん物質検出法」による結果が合致している。これらの結果から、「非遺伝毒性肝発がん物質検出法」によるPFAS物質の非遺伝毒性発がん性の予測については、一定の精度があるように思われる。しかし、実試験情報が少ないため本考察は限定的ではある。

一方、ISS 分類で遺伝毒性発がん性と分類された 12 物質については、そのうち 3 物質のみが「遺伝毒性肝発がん物質検出法」で陽性となった。また、ISS 分類で発がん性のアラートがなかったにも関わらず「遺伝毒性肝発がん物質検出法」で陽性となった HFPO-TA については、Toolbox 上の異なるプロファイリングで発がん性又は DNA 結合性を示唆するアラートが認められた。したがって、ISS 分類との一致は見られなかったものの、異なるプロファイリングの結果を複合的に考察することによって、メカニズム的な根拠説明は可能となる。このことは、*in silico* ツールによる毒性予測は、どれか一つの結果のみで判断すべきではなく、複数のツールを複合的に用いて予測することが重要であることを示している。

また、GenX（HFPO-DA）、HFPO-DAF、HFPO-TA、2,5-BDF は構造が類似しているが、GenX（HFPO-DA）は「遺伝毒性肝発がん物質検出法」で陰性であり、他の 3 物質と結果が異なっていた。LUMO エネルギー及び極性の簡易計算の結果、GenX（HFPO-DA）の LUMO エネルギーが他の 3 物質より高いことが確認され、LUMO エネルギーの低い、すなわち電子を受け入れやすい 3 物質のみが陽性となった可能性が示唆された。

これらの結果から、PFAS の発がん性予測においては、QSAR 上の単一アラートや ISS 分類のみでは十分ではなく、構造アラート、LUMO エネルギーなどの電子的性質、DNA 反応性及び短期検出法の結果を総合的に評価することが重要であると考えられた。特に、同じ構造類似体であっても、電子的性質や反応性の違いにより、肝発がん性に関わる応答が異なる可能性が示唆された。

E．結論

本年度は、10 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検討を行い、4 物質が遺伝毒性肝発がん物質である可能性が示唆された。令和 6 年度までの結果と合わせると、これまでに検討した29物質中7物質が陽性を示し、PFASの一部に遺伝毒性肝発がん性を有する可能性が示された。

また、7 種類の PFAS を対象に非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を用いた検討を行い、4 物質が非遺伝毒性肝発がん物質である可能性が示唆された。令和 6 年度までの結果と合わせると、これまでに検討した13物質中 6 物質が陽性を示し、これらの陽性物質ではPPARα 活性化を中心とする非遺伝毒性肝発がん機序の関与が示唆された。

さらに、19 種類の PFAS を投与したラット肝臓 DNA のアダクトーム解析を行った結果から、DNA アダクトーム解析はPFASの発がん性評価に有用である可能性が示唆された。

in silico 評価系の検討では、480 物質の PFAS を対象として Derek Nexus 及び CASE Ultra を用いた Ames 変異原性及び発がん性 QSAR 解析を行い、Ames 変異原性及び発がん性に関わる複数の構造アラートを整理した。また、化審法分類、既存の発がん性試験及び反復投与毒性試験、国内外のばく露情報を整理し、課題 1 及び課題 2 で優先的に検討すべき候補物質の選定に資する情報を得た。

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には相違が認められる物質が確認された。特に、Ames QSAR 解析では未知PFASに対するフォールスネガティブが認められ、PFAS 化合物の Ames 実試験情報の蓄積が必要であると考えられた。また、ISS 分類と短期肝発がん物質検出法の結果は必ずしも一致しなかったが、他の QSAR プロファイリングを組み合わせることで、結果の不一致を機序的に説明できる可能性が示された。

今後は、単一のQSAR分類に依存するのではなく、複数の *in silico* 解析、短期肝発がん物質検出法、Ames 試験、DNA 付加体解析、既存の発がん性試験情報及びラット肝中期発がん性試験等の結果を統合し、重み付けを行った上で、PFAS の発がん性評価スキームとして整理していく必要がある。

なお、本研究で用いた遺伝毒性肝発がん物質超短期

検出法及び非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法は、現時点では国際的に標準化された試験法ではないものの、OECD テストガイドライン化を目指して開発・検討を進めている。

以上より、本研究により、PFAS の急性毒性、遺伝毒性・非遺伝毒性肝発がん性、DNA 付加体形成及び QSAR 予測との関連性に関する有用な知見が得られた。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資するものと考えられる。

F．研究発表

1．論文発表

1. 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. 2026; 415: 111803.
2. Saleh DM, Ahmed OHM, Alexander DB, Alexander WT, Ogawa K, Gi M, Naiki-Ito A, Abdallah S, Tsuda H. Use of the TIPS Technique as a Possible Method of Acute Inhalation Toxicity Assessment. J Appl Toxicol. 2026; 46: 1232-1245.
3. Maeda-Tateishi T, Nagata Y, Imanishi Y, Hirakawa T, Tan SS, Emoto M, Gi M. Evaluation of tumor clonality with chemical carcinogenesis in a mouse model of visualized X chromosome inactivation. Journal of toxicologic pathology. 2026; 39: 31-38.
4. Murata Y, Akagi J, Doi Y, Iso T, Umano T, Masumura K, Matsumoto M, Toyoda T, Ogawa K. Evaluation of 13-week repeated-dose oral toxicity of zirconium(IV) butoxide in Crl:CD(SD) rats. Regul Toxicol Pharmacol. 2026;164:105968.
5. Ishigamori1 R, Ohno A, Fukuhara K, Hasegawa S, Totsuka Y. Genotoxicity Assessment of Mesoporous Silica and Graphene Oxide in GDL1 Cells, Genes & Environ., 2026; 48: 2.
6. Yoshida K, Umano T, Yamada T, Matsumoto M. A preliminary evaluation of the applicability of the in vitro to in vivo extrapolation approach to quantitative risk assessment. J Toxicol Sci. 2026;51(1): 7-18.
7. Hirose N, Umano T, Takano M, Iso T, Wakayama M, Masumura K, Inoue K, Matsumoto M. Determining repeated dose toxicity and reproductive/developmental toxicity of cis-3-hexenyl salicylate and comparing salicylate-induced toxicity. Fundam. Toxicol. Sci. 2026;13(2): 59-75.
8. Turner MC, Godderis L, Guenel P, Hopf N, Quintanilla-Vega B, Soares-Lima SC, Chaiklieng S, Da Silva J, Fustinoni S, Gi M, Heck JE, Huaux F, Johanson G, Kirkeleit J, Kirsanov K, Richiardi L, Teixeira JP, Terron A, Topinka J, White MC, Benbrahim-Tallaa L, Facchin C, Kunzmann A, Madia F, Pasqual E, Wedekind R, Deng X, Suonio E, Viegas S, Barry A, Dolatkhah R, Dongoran RA, Gonzalez-Gil EM, Onyije FM, Mattock H, de Conti A, Schubauer-Berigan MK. Carcinogenicity of automotive gasoline and some oxygenated gasoline additives. Lancet Oncol. 2025; 26: 548-549.
9. 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. Journal of toxicologic pathology. 2025; 38: 59-67.
10. 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: 645.
11. Praseatsook K, Vachiraarunwong A, Sato K, Dissook S, Wanibuchi H, Taya S, Wongpoomchai R, Dejkriengkraikul P, Gi M, Yodkeeree S. Chemopreventive Effects of Bioactive Peptides Derived from Black Soldier Fly Larvae Protein Hydrolysates in a Rat Model of Early-Stage Colorectal Carcinogenesis. Int J Mol Sci. 2025; 26: 5955.
12. 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. Journal of toxicologic pathology. 2025; 38: 147-154.
13. 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: uiaf005.
14. Kakehashi A, Suzuki S, Nishidoi Y, Hagihara A, Ikenaga H, Shiota M, Qiu G, Noura I, Kuwae Y, Vachiraarunwong A, Fujioka M, Gi M, Kawada N, Wanibuchi H. The Impact of Peroxiredoxin 3 on Molecular Testing, Diagnosis, and Prognosis in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Cancers (Basel). 2025; 17: 2212.
15. 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: 828.

16. 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: 1806.
17. Fujioka M, Suzuki S, Gi M, Noura I, Vachiraarunwong A, Kakehashi A, Wanibuchi H. Nicotine promotes the development of invasive bladder carcinoma in rats. Journal of toxicologic pathology. 2025; 38: 161-165.
18. Ahmed OHM, Saleh DM, Alexander WT, Takase H, Taquahashi Y, Hojo M, Maeno A, Fukamachi K, Gi M, Hirose A, Tsuruoka S, Takahashi S, Tsuda H, Naiki-Ito A. Comparative Carcinogenicity of Double-Walled Carbon Nanotubes of Different Lengths Administered by Intratracheal Installation into Rat Lungs. Nanomaterials (Basel). 2025; 15: 1402.
19. Matsumoto M, Natsume M, Iso T, Umano T, Murata Y, Masumura K, Horibata K, Sugiyama K. Increased mutagenicity in the liver of MutaMouse females following oral treatment with commercial-grade toluene diisocyanate. Genes Environ. 2025;47: 12.
20. Iso T, Umano T, Sugiyama K, Masumura K, Matsumoto M. Verification of health-based guidance values for carbendazim. Regul Toxicol Pharmacol. 2025;162: 105839.
21. Yamamoto S, Yoshida K, Matsumoto M, Yamada T. Construction and evaluation of an open-source database for inhalation-based physiologically based kinetic modeling of selected categories for industrial chemicals. J Toxicol Sci. 2025;50: 57-68.
22. Wakayama M, Umano T, Iso T, Hirose N, Murata Y, Matsumoto M. Summary information of the human health hazard assessment of existing chemicalsubstances (XI). Bull. Natl. Inst. Health Sci. 2025;143:34-40
23. 松本真理子、重田善之、広瀬望、村田康允、磯貴子、馬野高昭. 毒劇物指定のための有害性情報の収集・評価. Bull. Natl. Inst. Health Sci. 2025;143: 41-48
24. Betsuyaku Y, Motohashi M, Sassa ., Takamura-Enya T, Totsuka Y. Analysis of Novel DNA Adducts Derived from Acetaldehyde, Biomolecules. 2025;15(6): 878.

2. 学会発表

1 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、Arpamas Vachiraarunwong、梯アンナ、鰐渕英機. 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 鈴木周五. 病理医としてのアドバンテージを体感しよう ―海外における様々な病理医活動の紹介―. 仙台、第114回日本病理学会総会、2025年4月17-19日
3 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、鰐渕英機. 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
4 梯アンナ、ワチラアルンウオンアルパマス、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機、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
5 鈴木周五. 病理学研究者の視点・観点. 茅野、2025年度若手支援技術講習会、2025年9月3-5日
6 藤岡正喜、鈴木周五、魏民、梯アンナ、鰐渕英機. 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
7 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、鰐渕英機、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
8 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
9 楠由希奈、神谷知憲、越前佳奈恵、鈴木周五、野中允幾、牟田優、笠島裕明、西山毅、大島正伸、前田清、大谷直子. 空間トランスクリプトーム解析を用いた潰瘍性大腸炎関連癌マウスモデルの発癌過程における微小環境相互作用の解明. 金沢、第84回日本癌学会学術総会、2025年9月25-27日
10 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、鰐渕英機. 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
11 郭潤傑、Vachiraarunwong Arpamas、鈴木周五、藤岡正喜、Qiu Guiyu、河村百合菜、梯アンナ、鰐渕英機、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

12 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、鰐渕英機. 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

13 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、鰐渕英機、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

14 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、鰐渕英機、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

15 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. 金沢、第84回日本癌学会学術総会、2025年9月25-27日

16 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. 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

17 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

18 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、鰐渕 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

19 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

20 松本真理子. シンポジウム「リスク評価におけるベンチマークドース法の最新動向と課題」（ベイズ論的アプローチを用いたベンチマークドース法のリスク評価適用への課題： 二値データの解析結果. 沖縄、第52回日本毒性学会学術年会、2025年7月4日

21 広瀬望、馬野高昭、村田康允、磯貴子、若山美智子、松本真理子. 有機シアン化合物に対する毒劇物包括指定の見直しに向けた調査. 沖縄、第52回日本毒性学会学術年会、2025年7月4日

22 磯貴子、馬野高昭、村田康允、広瀬望、若山美智子、杉山圭一、増村健一、松本真理子. カルベンダジムの小核形成の用量反応評価からの指標値の導出. 沖縄、第52回日本毒性学会学術年会、2025年7月4日

23 水田保子、赤木純一、畝山瑞穂、赤根弘敏、六鹿元雄、磯貴子、松本真理子、小川久美子、豊田武士. ラットを用いた4-(ベンジルオキシ)フェノールの13週間反復経口投与毒性試験. 滋賀、日本食品化学学会第31回総会・学術大会、2025年6月5日

24 松本真理子、磯貴子、馬野高昭、大道友香、広瀬望、若山美智子、増村健一、堀端克良、杉山圭一. グリシジルメタクリレート経口投与による雄Muta Mouseにおけるin vivo変異原性の検討. 静岡、第54回環境変異原ゲノム学会、2025年11月23日

25 Hirose A, Fukushima A, Hayashi T, Umano T, Hayashi T, Matsumoto M. Comparison of the impact of Bayesian priors on BMDL calculations for continuous data dependent on toxicity endpoints. Greece, EUROTOX 2025, 2025年9月16日

26 小池遥己、小高和大、渋谷優空、関根航、茅野朋子、松本真理子、藤岡正喜、鈴木周五、魏民、戸塚ゆ加里. 有機フッ素化合物（PFAS）の遺伝毒性評価. 愛知、第32回日本がん予防学会総会、2025年9月13日

27 戸塚ゆ加里. 正常組織由来オルガノイドを用いた遺伝毒性評価法の開発. 沖縄、第52回日本毒性学会学術年会、2025年7月2-4日

28 小畑悠樹、上原正太郎、樋口裕一郎、戸塚ゆ加里、末水洋志. *In vitro*薬剤誘発性リン脂質症評価におけるHepaSH細胞の有用性. 沖縄第52回日本毒性学会学術年会、2025年7月2-4日

29 宮崎飛翔、石ケ守里加子、長谷川晋也、藤岡正喜、加藤孝一、美谷島克宏、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* 毒性試験法の開発. 千葉、第38回発癌病理研究会、2025年8月20-22日

30 Yukari Totsuka, Momoko Nagai, Asmaa Elzawahari, Rikako Ishigamori, Shinya Hasegawa, Mamoru Kato. Elucidating the Relationship between Environmental Factors and Human Cancer Development Using Next Generation Sequencers. ニューヨーク、EMGS2025、2025年9月6-10日

31 戸塚ゆ加里. 環境発がん因子の解明に向けた変異シグネチャーとDNA付加体の解析. 名古屋、第32回日本がん予防学会総会、2025年9月12,13日

32 小池遥己、小高和大、渋谷優空、関根航、茅野朋子、松本真理子、藤岡正喜、鈴木周五、魏民、戸塚ゆ加里. 有機フッ素化合物(PFAS)の遺伝毒性評価. 名古屋、第32回日本がん予防学会総会、2025

年9月12,13日

33 Yukari Totsuka. Comprehensive Insights into Environmental Carcinogenesis via DNA Adducts and Genome-wide Mutation Profiling. 金沢、第84回日本癌学会総会、2025年9月25-27日

34 石ケ守里加子、大野彰子、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いたアドバンストマテリアルの遺伝毒性評価. 金沢、第84回日本癌学会総会、2025年9月25-27日

35 長谷川晋也、吉田健一、垣内伸之、渡部光一、川口駿、小川誠司、戸塚ゆ加里. 加熱タバコ製品の吸入曝露による遺伝毒性と変異スペクトラム. 金沢、第84回日本癌学会総会、2025年9月25-27日

36 Yukari Totsuka. Decoding Environmental Carcinogenesis for Cancer Prevention: Insights from DNA Adduct and Mutation Profiling. ソウル、2025 Fall International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea, 2025年10月22-24日

37 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とメカニズムの解明. 大阪、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

38 戸塚ゆ加里. Screening for genotoxic compounds and study of carcinogenic mechanisms using next-generation sequencing (NGS) and adductome analysis. 静岡、第54回日本環境変異原ゲノム学会、2025年11月22-23日

39 宮崎飛翔、石ケ守里加子、長谷川晋也、藤岡正喜、加藤孝一、美谷島克宏、戸塚ゆ加里. マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規遺伝毒性試験法の開発. 静岡、第54回日本環境変異原ゲノム学会、2025年11月22-23日

40 石ケ守里加子、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マテリアルの包括的毒性評価. 静岡、第54回日本環境変異原ゲノム学会、2025年11月22-23日

41 長谷川晋也、石ケ守里加子、鈴木周五、大野麻理奈、吉田健一、垣内伸之、渡部光一、川口駿、小川誠司、戸塚ゆ加里. ヒト胎児腎細胞株を用いたError-corrected NGS による化学物質の変異シグネチャー解析. 静岡、第54回日本環境変異原ゲノム学会、2025年11月22-23日

42 戸塚ゆ加里. オルガノイド技術を用いた環境化学物質影響評価. 東京、日本学術会議主催学術フォーラム、2025年12月18日

43 Guiyu Qiu、魏民、鈴木周五、藤岡正喜、山口貴嗣、鰐渕英機. 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

44 野浦郁恵、鈴木周五、魏民、藤岡正喜、松江泰佑、梯アンナ、鰐渕英機. 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

45 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、鰐渕英機、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

46 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、鰐渕英機、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

47 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、鰐渕英機. 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

48 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、鰐渕英機、魏民. Oncomodulin as ab 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

49 Min Gi, Arpamas Vachiraarunwong, Masaki Fujioka, Yurina Kawamura, Anna Kakehashi, Hideki Wanibuchi, Shugo Suzuki. A novel in vitro toxicology assay for predicting inhalation toxicity in rats. Society of Toxicology 2026 Annual Meeting and ToxExpo, San Diego, U.S.A., Mar. 22-25, 2026

50 Shugo Suzuki, Masaki Fujioka, Guiyu Qiu, Arpamas Vachiraarunwong, Anna Kakehashi, and Min Gi. Evaluation of the Hepatoxic Effects of Various PFAS in a Short-Term Rat Study. Society of Toxicology 2026 Annual Meeting and ToxExpo, San Diego, U.S.A., Mar. 22-25, 2026

51 Matsumoto M, Yoshida K, Umano T, Iso T, Omichi Y, Hirose N, Wakayama M, Yamada T, Masumura K. Exploring the potential of in vitro to in vivo extrapolation for uterotrophic effects in quantitative human health risk assessment. USA, SOT2025, 2026 年 3 月 23 日

52 大道友香、若山美智子、磯貴子、馬野高昭、広瀬望、松本真理子. 安全性評価スキームを用いた水道用資機材原料であるプロピレングリコールモノメチルエーテルの毒性評価値の導出. 大阪、日本薬学会第 146 年会、2026 年 3 月 27 日

53 戸塚ゆ加里. ヒトへの外挿性を考慮した新規 *in vivo* 代替型遺伝毒性評価法の開発. 大阪、日本薬学会第146年会、2026年3月27-29日

54 小畑悠樹、上原正太郎、樋口裕一郎、戸塚ゆ加里、末水 洋志. ヒト肝キメラマウスにおけるメトトレキサートの代謝および腎毒性. 大阪、日本薬学会第146年会、2026年3月27-29日

55 宮崎飛翔、石ケ守里加子、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 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27-29日

56 長谷川晋也、石ケ守里加子、髙橋賢吾、遠藤瑞葵、戸塚ゆ加里. ヒト胎児腎細胞株を用いたDNA損傷を指標とした化学物質の変異原性の評価. 大阪、日本薬学会第146年会、2026年3月27-29日

57 今井正彦、小川心音、川西なつき、中山瑞穂、大島正伸、戸塚ゆ加里. 大腸がんモデルオルガノイドを用いた化学物質のプロモーション活性評価法の構築. 大阪、日本薬学会第146年会、2026年3月27-29日

G.知的所有権の取得状況

１．特許取得

なし

２．実用新案登録

なし

３．その他

なし

表 1. 令和 7 年度に遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法で検討した PFAS

CAS RN	略称	被験物質名
920-66-1	HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-ol
6226-25-1	TFOLTf*	2,2,2-Trifluoroethyl trifluoromethanesulfonate
19932-26-4	TFPOM	3-[(2,2,3,3-Tetrafluoropropoxy)methyl]oxirane
375-95-1	PFNA	Heptadecafluorononanoic acid (Perfluorononanoic acid)
335-76-2	PFDA	Perfluorodecanoic Acid
2062-98-8	HFPO-DAF	Perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoyl) fluoride
1623-05-8	PFPOE*	Perfluoropropoxyethylene
13252-14-7	HFPO-TA	Perfluoro-2,5-dimethyl-3,6-dioxanonanoic acid
1765-92-0	HFB-epoxide	2-(2,2,3,3,4,4,4-Heptafluorobutyl)oxirane
30334-69-1	FBSA	1,1,2,2,3,3,4,4,4-Nonafluorobutane-1-sulfonamide

* Ames試験陽性

表 2. 令和 7 年度に検討した各 PFAS の急性経口毒性（遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法）

略称	LD50 (mg/kg)	判定に用いた投与量 (mg/kg)	Oral GHS classification (本研究で得られた結果)
HFIP	Unknown	300	(4)
TFOLTf	Unknown	2000	(5)
TFPOM	Unknown	300	(4)
PFNA	Unknown	500	(4)
PFDA	57 mg/kg	20	3
HFPO-DAF	Unknown	300	(4)
PFPOE	Unknown	2000	(5)
HFPO-TA	Unknown	300	(4)
HFB-epoxide	Unknown	300	(4)
FBSA	Unknown	1000	(4)

表 3. 令和 7 年度に検討した各 PFAS の遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法による判定結果

略称	Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISS	判定に用いた投与量 (mg/kg)	遺伝毒性 肝発がん物質検出法
HFIP	No alert found	300	陰性
TFOLTf *	遺伝毒性発がん性	2000	陰性
TFPOM	遺伝毒性発がん性	300	陰性
PFNA	非遺伝毒性発がん性	500	陽性
PFDA	非遺伝毒性発がん性	20	陰性
HFPO-DAF	遺伝毒性発がん性	300	陽性
PFPOE *	非遺伝毒性発がん性	2000	陽性
HFPO-TA	No alert found	300	陽性
HFB-epoxide	遺伝毒性発がん性	300	陰性
FBSA	No alert found	1000	陰性

* Ames 試験陽性

表 4. 確認試験（用量反応性の検討）

	投与量 (mg/kg)	遺伝毒性肝発がん物質検出法 での判定結果
PFOA	330	陽性
(R6)*	110	陰性
	35	陰性
DFEMS	300	陽性
(R6)*	100	陽性
	30	陰性
2,5-BDF	300	陽性
(R7)*	100	陰性
	30	陰性
PFNA	500	陽性
(R7)*	170	陽性
	60	陰性
HFPO-DAF	300	陽性
(R7)*	100	陰性
	30	陰性
PFPOE	2000	陽性
(R7)*	670	陰性
	220	陰性
HFPO-TA	300, 100, 30	検討予定

*確認試験の実施年度

表 5. ISS分類別にみた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の結果

ISS 分類	物質数	本検出法陽性	本検出法陰性	陽性物質
遺伝毒性発がん性	12	3	9	DFEMS, 2,5-BDF, HFPO-DAF
非遺伝毒性発がん性	6	3	3	PFOA, PFNA, PFPOE
アラートなし又は PFAS ではない	11	1	10	HFPO-TA
合計	29	7	22	

表 6. 体重及び肝重量、摂餌・飲水量（非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法）

Treatment	No. of rat	Body weight (g)	Liver		Food consumption	Water consumption
			Absolute (g)	Relative (%)		
Control	4	424.7 ± 6.3	16.2 ± 0.7	3.8 ± 0.1	24.1 ± 4.4	37.9 ± 6.3
PFMP	5	417.0 ± 33.6	16.8 ± 1.9	4.0 ± 0.2	24.5 ± 1.1	40.8 ± 4.2
PFHpA	4	410.2 ± 33.4	15.4 ± 1.6	3.8 ± 0.2	23.7 ± 2.6	38.3 ± 4.5
4-CBTF	4	405.6 ± 15.7	16.0 ± 0.6	3.9 ± 0.2	23.4 ± 3.4	34.4 ± 4.3
PFBS	5	424.0 ± 23.1	16.8 ± 1.5	4.0 ± 0.2	24.3 ± 4.6	40.1 ± 8.0
HFBC	6	419.3 ± 23.5	18.5 ± 2.1	4.4 ± 0.4**	25.7 ± 2.2	38.7 ± 2.9
PFPMS	3	407.3 ± 35.7	17.5 ± 3.3	4.3 ± 0.4	24.6 ± 2.5	38.5 ± 4.2
PFPo	6	421.5 ± 22.7	15.9 ± 1.4	3.8 ± 0.2	25.6 ± 1.2	37.7 ± 2.2

**: P< 0.01vs Control

表 7. 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	PPARα
PFMP	−	−	−	−
PFHpA	−	−	−	+
4-CBTF	−	−	−	−
PFBS	−	−	−	−
HFBC	−	−	+	+
PFPMS	−	−	−	+
PFPo	−	−	−	+

表 8. Ames QSAR の解析結果(表 8-1)及び発がん性の解析結果 (表 8-2、表 8-3)

表 8-1 Ames変異原性解析結果

結果 / ツール	陽性	陰性	判定不能	計
Derek	45	435		480
CASE Ultra	43	424	13	480

表 8-2 Derek発がん性解析結果

陽性	陰性	計
55	425	480

表 8-3 CASE Ultra発がん性解析結果

動物種	雌雄	陽性	陰性	判定不可	計
マウス	♀	36	305	139	480
	♂	46	292	142	480
ラット	♀	12	308	160	480
	♂	283	136	61	480

表 9. Ames試験における予測結果

表 9-1. Ames試験におけるDerek予測結果の数

Derek / Ames試験	陽性	陰性	計
陽性	3	15	18
陰性	6	57	65

表 9-2. Ames試験におけるCASE Ultra予測結果の数

CASE Ultra / Ames試験	陽性	陰性	測定不可	計
陽性	12	5	1	18
陰性	2	61	2	65

表 10. 両ソフトで Ames 変異原性陽性と判定された物質の遺伝毒性試験結果（20 物質）

アラート構造	物質数	Ames 実試験数	Ames 陽性数
Acid halide	3	0	0
Alkyl halide	7	1	1
Epoxide	5	0	0
Glycidyl (2,3-epoxy propyl) ether, amine, ester or amide	1	0	0
Halogenated alkene	3	3	1
Polyhalogenated methane	1	1	1

表 11. 両ソフトで発がん性陽性と判定された物質遺伝毒性試験結果

マウス（29 物質）

アラート構造	物質数	Ames 試験数	陽性数
Alkylating agent	10	1	1
alpha, beta-Unsaturated ester or thioester	17	3	1
Halogenated alkene	2	2	0

ラット（7 物質）

アラート構造	物質数	Ames 試験数
Alkylating agent	1	0
Epoxide	5	0
Glycidyl ether, amine, ester or amide	1	0

表 12. 令和 6 年度及び令和 7 年度に検討した各 PFAS 29 物質における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よる判定結果

検討物質番号	CAS RN	略称（本研究）	ISS 分類	遺伝毒性肝発がん物質検出法		非遺伝毒性肝発がん物質検出法	
				判定に用いた投与量 (mg/kg)	判定結果	判定に用いた投与量 (mg/kg)	判定結果
#1*		MC (Vehicle)					
#2	335-67-1	PFOA	非遺伝毒性発がん性	330	陽性	10	陽性
#3	13252-13-6	GenX (HFPO-DA)	No alert found	580	陰性	100	陽性
#4	375-16-6	HFBC	遺伝毒性発がん性	300	陰性	15	陽性
#5	38565-52-5	PFHEP	遺伝毒性発がん性	2000	陰性	300	陰性
#6	6401-00-9	PFPMS	遺伝毒性発がん性	2000	陰性	100	陽性
#7	678-77-3	HxFGC	遺伝毒性発がん性	300	陰性	100	陰性
#8	74427-22-8	DFEMS	遺伝毒性発がん性	300	陽性	100	陰性
#9	1735-87-1	2,2-BPF	遺伝毒性発がん性	300	陰性	-	-
#10	52447-22-0	PFHC	遺伝毒性発がん性	300	陰性	-	-
#11	2641-34-1	2,5-BDF	遺伝毒性発がん性	300	陽性	-	-
#12	355-04-4	PFMP	No alert found	2000	陰性	100	陰性
#13	375-22-4	PFBA	No alert found	300	陰性	-	-
#14	2706-90-3	PFPeA	No alert found	300	陰性	-	-
#15	307-24-4	PFHxA	非遺伝毒性発がん性	300	陰性	50	陰性
#16	375-85-9	PFHpA	非遺伝毒性発がん性	300	陰性	15	陽性
#17	98-56-6	4-CBTF	No alert found PFAS ではない	2000	陰性	100	陰性
#18	375-73-5	PFBS	No alert found	140	陰性	20	陰性
#19	2795-39-3	PFOS-K	No alert found	50	陰性	-	-
#20	920-66-1	HFIP	No alert found	300	陰性	-	-
#21	422-05-9	PFPo	No alert found	300	陰性	15	陽性
#22	6226-25-1	TFOLTf	遺伝毒性発がん性	2000	陰性	-	-
#23	19932-26-4	TFPOM	遺伝毒性発がん性	300	陰性	-	-
#24	375-95-1	PFNA	非遺伝毒性発がん性	500	陽性	-	-
#25	335-76-2	PFDA	非遺伝毒性発がん性	20	陰性	-	-
#26	2062-98-8	HFPO-DAF	遺伝毒性発がん性	300	陽性	-	-
#27	1623-05-8	PFPOE	非遺伝毒性発がん性	2000	陽性	-	-
#28	13252-14-7	HFPO-TA	No alert found	300	陽性	-	-
#29	1765-92-0	HFB-epoxide	遺伝毒性発がん性	300	陰性	-	-
#30	30334-69-1	FBSA (PFBSA)	No alert found	1000	陰性	-	-

-:未実施; *MC (Vehicle) は対照群であり、29 物質には含めない

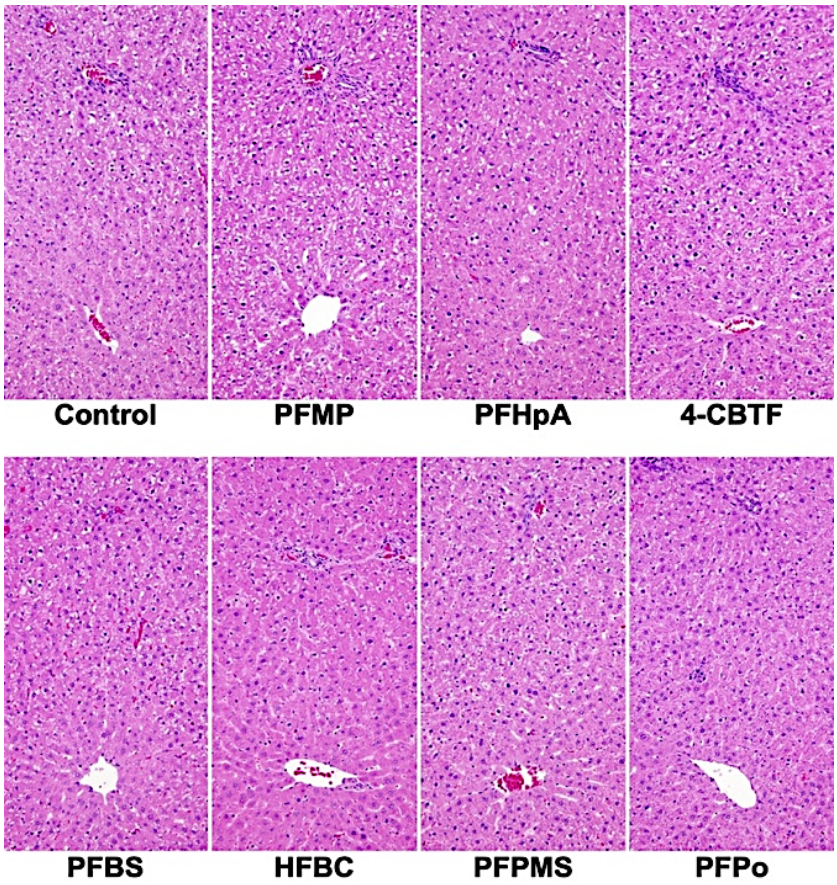

図 1. 各物質を投与したラット肝組織像（非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法）

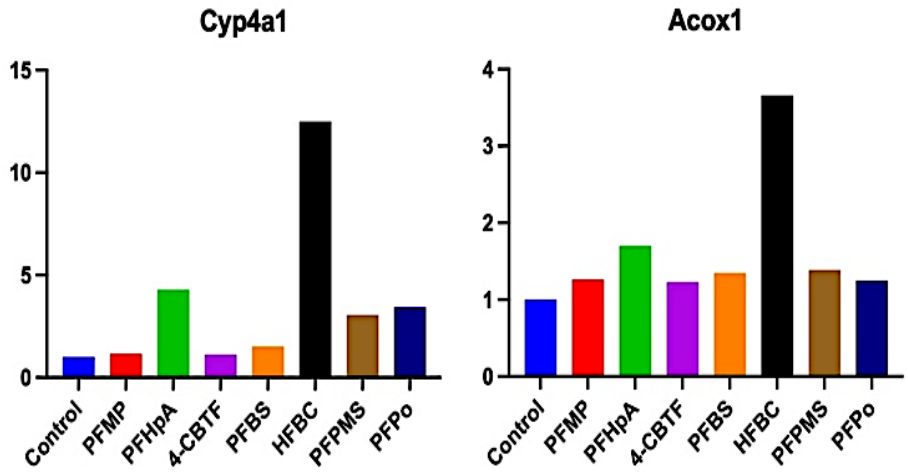

図 2. 各物質を投与した肝における遺伝子発現変化
（Microarray データより抽出）

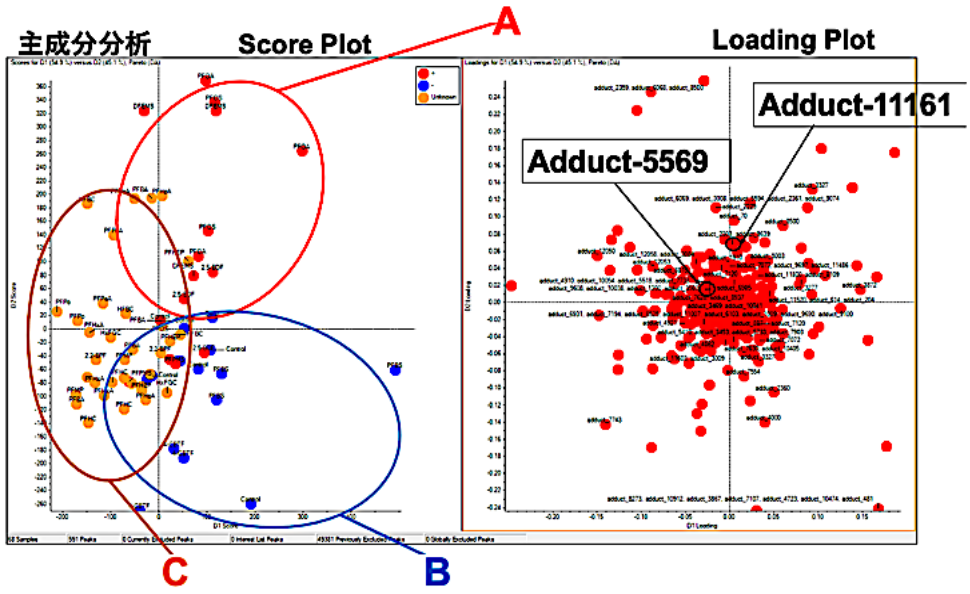

図 3. LC-HRAM アダクトームによる PCA-DA 解析

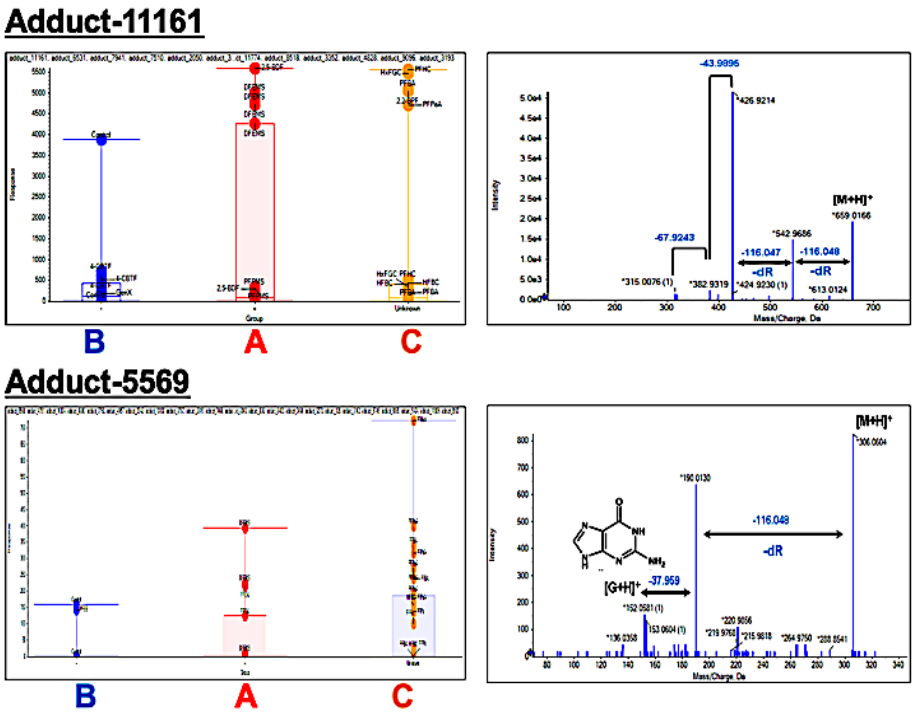

図 4. MS/MS フラグメント解析結果と各グループにおける存在量

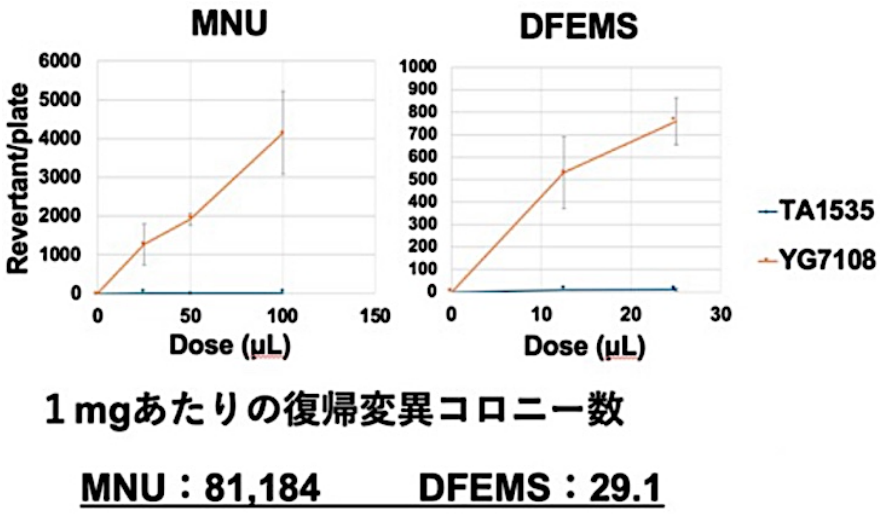

図 5. 代謝活性化系非存在下でのDFEMSの変異原性

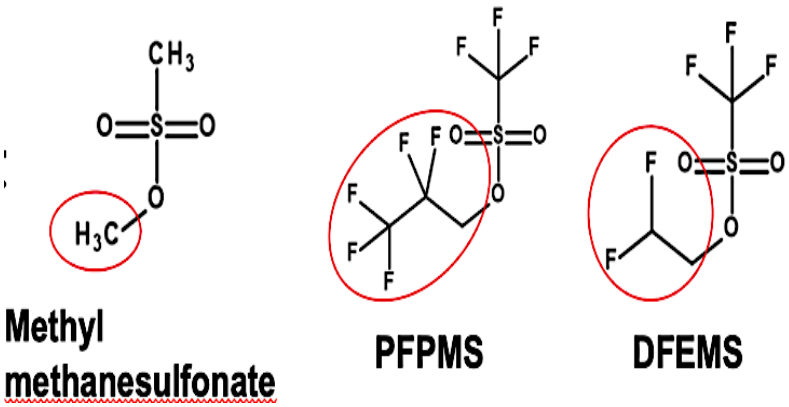

図 6. PFPMS と DFEMS の構造から予測される官能基