

PFAS 評価書案 (遺伝毒性)

Ⅲ. 安全性に係る知見の概要

7. 遺伝毒性

(1) 文献情報

選定された 8 報の文献情報を以下にまとめた。

【 コメント】

【事務局より】

Ⅲ. 安全性に係る知見の概要の全体的に言えることですので、冒頭に以下の内容の記載を追記する予定です。

「①調査事業で収集した知見から、②海外の評価機関で評価にかかわる知見、③先生方が評価に重要と判断した知見、をもとにまとめた。」

PFOS (純度 98%) を、*in vivo* では雄の *gpt delta* トランスジェニックマウスに 1.5、4、10 mg/kg 体重/日で 28 日間強制経口投与し、肝臓の遺伝子突然変異ならびに骨髄の小核形成を評価した。Spi-アッセイによる肝臓における突然変異体頻度の増加傾向が見られたものの、分散が大きく有意差は認められず、陰性と判断された。また、骨髄小核試験も陰性であった。一方、*in vitro* では、~~0.1~30-20~~ $0.1 \sim 20 \mu\text{M}$ [$10 \mu\text{g/mL}$]) を *gpt delta* トランスジェニックマウス胎児肺線維芽細胞に投与・24 時間処理したところ、Spi-アッセイにより濃度依存的に遺伝子変異な突然変異体頻度の増加が観察された。さらに $20 \mu\text{M}$ では DNA 損傷の指標である $\gamma\text{-H2AX}$ の発現がみられた。~~20 μM PFOS と 800 U/mL~~カタラーゼ-PEG あるいは $20 \mu\text{M}$ butylated hydroxytoluene (BHT) ~~(BHT)~~を加えて 24 時間培養処理したところ、カタラーゼとの共処理では、遺伝子変異突然変異体頻度および $\gamma\text{-H2AX}$ 陽性細胞の割合は PFOS 単独処理よりも有意に減少し、また、カタラーゼあるいは BHT との共処理によりでは、 $\gamma\text{-H2AX}$ 陽性細胞の割合および細胞内 H_2O_2 のレベルは有意に減少した。PFOS による *in vitro* 遺伝毒性試験の陽性知見は脂肪酸の β 酸化を通じた H_2O_2 生成によるものと考えられた (Wang et al. 2015)。

1 PFOA 及び PFBA (いずれも純度不明) を ~~6~8 週齢の雄~~ C57BL/6J マウス
 2 に 5 週間飲水投与した (PFOA : ~~0、0.55、5.5、28 mg/L~~ (0、0.1、1、5
 3 mg/kg ~~体重相当体重/日~~)、PFBA : ~~28 mg/L~~ (5 mg/kg ~~体重/日~~ ~~体重相当~~)。)
 4 肝細胞及び精巣細胞を用いたコメット ~~アッセイ~~ 試験では、いずれの投与群でも
 5 ~~テールの有意な、または用量依存的なテール・ゴーストセルの増加は見られな~~
 6 ~~かった陰性であった。~~ 網状赤血球と脾臓リンパ球を用いた小核試験において
 7 ~~も、小核の増加は見られなかった陰性であった。~~ PFOA の ~~最高投与用量群~~ (5
 8 mg/kg ~~bw/day~~ ~~体重相当~~) では肝重量増加、血清中 ALT 濃度及び AST 濃度の
 9 ~~増加、及び肝細胞壊死の増加が見られたものの、肝臓における脂質過酸化及び~~
 10 ~~酸化ストレスは認められず、中チオバルビツール酸反応性物質 (TBARS) 濃~~
 11 ~~度及び血清中総非酵素抗酸化能 (TAC) 濃度に変化はみられず、肝臓及び全身~~
 12 ~~における酸化ストレスは観察されなかったことから、PFOA の肝毒性は酸化ス~~
 13 ~~トレスによる影響ではないことが示唆された (Crebelli et al. 2019)。~~

14
 15 Butenhoff ら (2014) により、PFOA の ~~各種塩を用いた一連の遺伝毒性突然~~
 16 ~~変異試験 (Study 試験 1~12) の結果がをまとめた以下の報告がなされている~~
 17 ~~(下表参照)。~~ CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において ~~(study~~
 18 ~~11)、一部陽性の結果が示されたが (試験 7 及び 11)、細胞毒性を生じる高濃度~~
 19 ~~(748 µg/mL (3 時間ばく露後 44 時間培養) でみられた影響であり、解析に必~~
 20 ~~要とされる細胞数 (200 個以上) を満たしていない (38 個) ことも踏まえ、~~
 21 ~~PFOA 特異的ではなく非特異的に起因した影響と考えられた。その他、in~~
 22 ~~vitro、in vivo の全ての試験では PFOA の変異原性、遺伝毒性の証拠は検出さ~~
 23 ~~認められなかった。~~

#試験 番号	塩形態-PFOA 塩(純度)及び 使用形態	試験系、処理方法試験条件等 (用量、投与方法対象、投 与量)	結果
細菌、酵母を用いたを用いた復帰変異試験/酵母を用いた遺伝子変換試験			
1	NH ₄ ⁺ (95%) 固体	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538)、酵母 (<i>S. cerevisiae</i> D4) 0.1-500 µg/plate (-/+S9)	陰性
8	NH ₄ ⁺ (95%) 30%水溶液	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537、 <i>E. Coli coli</i> Wp2uvrA WP2uvrA) 30-500 µg/plate (-/+S9)	陰性

12	Na ⁺ (98.5%) <u>20%水溶液</u>	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100 , TA1535, TA1537、 <i>E. Coli coli</i> Wp2uvrA <u>WP2uvrA</u>) 20-1,000 µg/plate (-/+S9)	陰性
ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験			
5	NH ₄ ⁺ (98.7%) <u>固体</u>	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO)、HGPRT <u>locus 変異遺伝子</u> 9.75-39 µg/plate (-/+S9)	陰性
ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験			
4	NH ₄ ⁺ (98.7%) <u>固体</u>	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) 75-200 µg/mL (-S9); 125-750 µg/mL (+S9)	陰性
7	NH ₄ ⁺ (95%) <u>30%水溶液</u>	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) 30-300 µg/mL (-S9); 75-825 µg/mL (+S9)	陰性*
10	Na ⁺ (98.5%) <u>20%水溶液</u>	ヒトリンパ球 25-300 µg/mL (-S9); 50-402 µg/mL (+S9)	陰性
11	Na ⁺ (98.5%) <u>20%水溶液</u>	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) 50-498 µg µg/mL (-S9)、75-600 µg/mL (+S9)	陽陰性 *
<i>in vivo</i> <u>マウス骨髄</u> 小核試験			
3	NH ₄ ⁺ (95%) <u>固体</u>	雌雄 Crl CD-1 [®] (ICR) BR <u>マウス</u> 200, 400, 800 mg/kg (経口単回経口投与)	陰性
6	NH ₄ ⁺ (95%) <u>30%水溶液</u>	雌雄 Crl CD-1 [®] (ICR) BR <u>マウス</u> 150, 300, 600 mg/kg (経口単回経口投与)	陰性
9	Na ⁺ (98.5%) <u>20%水溶液</u>	雌雄 Crl CD-1 [®] (ICR) BR <u>マウス</u> 250, 500, 1000 mg/kg (経口単回経口投与)	陰性
<i>in vitro</i> <u>細胞形質転換</u> 試験			
2	NH ₄ ⁺ (95%) <u>固体</u>	C3H 10T1/2 細胞 1-200 µg/mL	陰性

1 -/+S9 : 代謝活性化系 (S9) の非存在下及び非存在下

2 * : 一部の試験において、細胞毒性濃度で陽性反応がみられた。

3 (Butenhoff et al. 2014)

4

5 TK 細胞を用いて PFOA の 4 時間処理による *in vitro* 遺伝毒性を評価した。

6 コメント試験および小核試験では 125、250、500、1000 µg/mL、TK 遺伝子突

7 然変異試験では 125、250、375 µg/mL を処理した結果、小核試験および TK

1 遺伝子突然変異試験では陰性であったが、コメット試験では陽性であった。
2 PFOA と PPAR α アンタゴニストとの併用処理では、PFOA 誘発コメットを減
3 少させ、活性酸素種の産生も抑制された。したがって、PFOA によるコメット
4 の誘発は、PPAR α を介した酸化ストレスの関与が考えられた (Nakamura et
5 al. 2016)。

6
7 HepG2 細胞を用い、 2×10^{-7} M $\sim 2 \times 10^{-5}$ M の PFOS (純度 98%)、PFOA
8 (純度 95%) あるいは PFHxS (純度 98%) の 24 時間処理による DNA 損傷性
9 をコメット試験により検討した。試験最高濃度は PFOS 100 μ g/mL、PFOA 83
10 μ g/mL あるいは PFHxS 80 μ g/mL であった。いずれの物質も濃度依存的な
11 DNA 損傷性を示し、活性酸素種の産生増加も認めたがその濃度依存性は明確
12 ではなかった (Wielsøe et al. 2015)。

13
14 PFOS (0.6、1.25、2.50 mg/kg 体重/日) を 48 時間間隔で Wistar ラットに
15 4 週間強制経口投与し、骨髄細胞における小核誘発性及び DNA 損傷性 (コメ
16 ット試験による) を検討した。その結果、用量依存性のある小核を有する多染
17 性赤血球の軽度増加及びコメットスコアの増加がみられた (Çelik ら、2013)。

18 上記と同じ試験デザインによって末梢血における小核誘発性及び DNA 損傷
19 性 (コメット試験による) を検討した試験においても、ともに陽性を示した
20 (Eke and Çelik 2016)。

21
22 PFOA (100、500 μ M) の細菌復帰変異試験を *S. typhimurium* TA98、
23 TA100、TA102 及び TA104 を用い、代謝活性化系存在下および非存在下で実
24 施した結果、陰性であった。また、Vero 細胞を用いた活性酸素種の産生検討で
25 は、500 μ M [200 μ g/mL] で有意な増加を示し、酸化ストレスを生じた
26 (Fernández Friere et al. 2008)。

27 28 (2) 海外・国際機関の評価概要

29 IARC は、PFOS については評価をしておらず、PFOA については 2016 年
30 の評価 (Volume 110) において、直接的な遺伝毒性メカニズム機序を有さな
31 いとする強いエビデンス証拠があるが、酸化ストレスを介した非直接的な
32 DNA 損傷を示す知見がいくつかあるため、PFOA による発がん性は遺伝毒性

1 によるものではないとする中ある程度の証拠がある、としている (IARC
2 2016)。

3 EPA は 2023 年の評価において、PFOS については遺伝毒性を示す強固な証
4 拠はないものの、潜在的な作用機序のひとつとして否定はしきれないとしてい
5 る。PFOA については、変異原性はないことが示唆されるが、PFOA のばく露
6 は DNA 損傷を引き起こす可能性がある。 遺伝物質と PFOA の相互作用を示す
7 メカニズム機序は現在までに知られておらず、可能性は低いものの、
8 PFOA のばく露は DNA 損傷を引き起こすことから、遺伝毒性は否定はしきれ
9 ないとしている (EPA 2023)。

10 EFSA は、2018 年の評価において、PFOS 及び PFOA はともに直接的な遺
11 伝毒性を示す証拠はないものの、酸化ストレスを引き起こすいくつかの証拠が
12 あることから、遺伝毒性について結論は出せは除外できないとしている。~~ま~~
13 ~~た、酸化ストレスを引き起こすいくつかの証拠が示されているとしている~~
14 (EFSA 2018)。

15 2020 年の評価では、~~いくつかの実験で PFOS による変異原性試験が陽性で~~
16 ~~あったことが示されたものの、~~PFOS 及び PFOA に関しては直接的な遺伝毒性
17 を示す証拠はないと結論付けている。また、PFOS 及び PFOA 以外の PFAS
18 についてはデータが限られているものの、PFOS と構造が類似している
19 PFHxS に関しては、直接的な遺伝毒性の可能性は低いとしている (EFSA
20 2020)。

21 ATSDR は、2021 年の評価において、PFOA については DNA 損傷を引き起
22 こすものの、細胞毒性を引き起こさない濃度では変異原性を有さないとしてい
23 る。PFOS については *in vitro* 試験で細胞形質転換を引き起こした知見、*in*
24 *vivo* でのばく露後に小核形成を増加報告した知見がそれぞれ一報あったもの
25 の、遺伝毒性を示す証拠はないとしている。PFHxS については、他の PFAS
26 分子種と同様、知見が限られているとし、DNA 損傷性を有さないことを報告
27 する一報 (Eriksen et al. 2010) の紹介のみにとどめている (ATSDR 2021)。

28 Health Canada は 2018 年の評価において、多くの *in vitro* 及び *in vivo* の
29 遺伝子、染色体、または DNA 修復に関する多くの *in vitro* 及び *in vivo* 試験の
30 陰性知見に基づき、PFOS 及びその塩は遺伝毒性では特性を有さないとした
31 EFSA(2008)及び Health Canada (2006)の結果結論を追認し、それ以降の最新
32 の知見はこの結果結論と矛盾しないを支持している、としている。PFOA につ
33 いては、遺伝毒性データベース(U.S. EPA, 2005; UK HPA, 2009;

1 Environment Canada and Health Canada, 2012)に基づき遺伝毒性、変異原
2 性はなく、概ね遺伝毒性もを有さない、としている (Health Canada
3 (2018a、2018b))。

4 FSANZ は 2017 年の評価において、PFOA については、EFSA (2008)及び
5 IARC(2016)の見解、すなわちを引用の上、DNAの酸化的DNA 損傷による間
6 接的な遺伝毒性を有するものこと、及び発がん性は遺伝毒性によるものでは
7 ないとする中程度の証拠があること、を引用の上、証拠の重み付けによりとし
8 て遺伝毒性を有さはないとしている。PFOS については、EFSA (2008)及び
9 EPA(2016)を引用の上、遺伝毒性を有さはないとしている (FSANZ 2017)。

10 ANSES は、2017 年の評価において、いずれの PFAS 分子種に関しても遺伝
11 毒性に関する評価を行っていない (ANSES 2017)。

12 13 (3) ワーキンググループの見解

14 選定された 8 件の研究報告ならびに海外・国際機関の評価をふまえると、相
15 反知見はあるものの、PFAS 類の遺伝毒性試験結果は以下のようにまとめられ
16 る。なお、上記「文献情報」に記載したラット骨髄及び末梢血における小核及
17 びコメット試験陽性知見 (Çelik et al. 2013、Eke and Çelik 2016)、及び細菌
18 復帰突然変異試験陰性知見 (Fernández Friere et al. 2008) は、試験デザイン
19 及びデータ解析等に制約があるため、当ワーキンググループでは、限定的な証
20 拠と考えた。

21 PFOS 及び PFOA ともに in vitro では、遺伝子突然変異試験で陰性、染色体
22 損傷 (染色体異常/小核) 試験で陰性を示し、in vivo では小核試験で陰性を示
23 した。一方、DNA 損傷試験では in vitro 及び in vivo ともに陽性を示すケース
24 が認められ、これは、活性酸素種の産生と関連していた。データは少ないもの
25 の、PFOS 及び PFOA 以外の PFAS 類についても同様の傾向がみられた。以
26 上より、PFOS 及び PFOA を代表とする PFAS 類は直接的な遺伝毒性を有し
27 ないものの、酸化ストレスによる二次的な DNA 損傷性を示すことが示唆され
28 た。この酸化的 DNA 損傷性には閾値があると考えられ、したがって、PFAS
29 類について NOAEL 等に基づき TDI を設定することは可能と判断した。