

PFAS 評価書（案）【遺伝毒性】

●. 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。

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並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、1~20 μM [10 $\mu\text{g}/\text{mL}$]を *gpt delta* トランスジェニックマウス肺線維芽細胞に 24 時間処理したところ、Spi-アッセイにより濃度依存的な突然変異体頻度の増加が観察された。さらに 20 μM 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 カタラーゼ又は 20 μM butylated hydroxytoluene (BHT) を加えて 24 時間処理したところ、カタラーゼとの共処理では、突然変異体頻度及び $\gamma\text{-H2AX}$ 陽性細胞の割合は PFOS 単独処理よりも有意に減少し、また、BHT との共処理では、 $\gamma\text{-H2AX}$ 陽性細胞の割合及び細胞内 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) (参照 1)。

PFOA を雄 C57BL/6J マウスに 0.1、1、5 mg/kg 体重/日で 5 週間飲水投与した。肝細胞及び精巣細胞を用いたコメット試験並びに網状赤血球と脾臓リンパ球を用いた小核試験において、陰性であった。最高用量群 (5 mg/kg 体重/日) では肝重量、血清中 ALT 及び AST 濃度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酸化ストレス (総抗酸化能の減少) は認められず、PFOA の肝毒性は酸化ストレスによる影響ではないことが示唆された (Crebelli et al. 2019) (参照 2)。

Butenhoff ら (2014) により、PFOA の各種塩を用いた一連の遺伝毒性試験 (試験 1~12) の結果が報告されている (表●-1)。CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において一部陽性の結果が示されたが (試験 6 及び 8)、

1 細胞毒性に起因した影響と考えられた。その他、*in vitro*、*in vivo*の全ての試
 2 験で PFOA の遺伝毒性の証拠は認められなかった。

3

4

表●-1 遺伝毒性試験結果

試験番号	PFOA 塩(純度)	試験系、用量・処理方法等	結果
細菌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%)	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
2	NH ₄ ⁺ (95%)	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537、 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>) 30-500 µg/plate (-/+S9)	陰性
3	Na ⁺ (98.5%)	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537、 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>) 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			
4	NH ₄ ⁺ (98.7%)	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO)、HGPRT 遺伝子 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			
5	NH ₄ ⁺ (98.7%)	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
6	NH ₄ ⁺ (95%)	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*
7	Na ⁺ (98.5%)	ヒトリンパ球 25-300 µg/mL (-S9); 50-402 µg/mL (+S9)	陰性
8	Na ⁺ (98.5%)	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) 50-498µg/mL (-S9)、75-600 µg/mL (+S9)	陰性*
<i>in vivo</i> 骨髄小核試験			
9	NH ₄ ⁺ (95%)	雌雄 CD-1 (ICR) マウス 200, 400, 800 mg/kg (単回経口投与)	陰性

10	NH ₄ ⁺ (95%)	雌雄 CD-1 (ICR)マウス 150, 300, 600 mg/kg (単回経口投与)	陰性
11	Na ⁺ (98.5%)	雌雄 CD-1 (ICR)マウス 250, 500, 1000 mg/kg (単回経口投与)	陰性
<i>in vitro</i> 細胞形質転換試験			
12	NH ₄ ⁺ (95%)	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) (参照 3)

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 コメット試験及び小核試験では 125、250、500、1000 µg/mL、TK 遺伝子突然
7 変異試験では 125、250、375 µg/mL を処理した結果、小核試験及び TK 遺伝
8 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。PFOA
9 と PPAR α アンタゴニストとの併用処理では、PFOA 誘発コメットを減少さ
10 せ、活性酸素種の産生も抑制された。したがって、PFOA によるコメットの誘
11 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 al.
12 2016) (参照 4)。

13
14 HepG2 細胞を用い、 2×10^{-7} M ~ 2×10^{-5} M の PFOS (純度 98%)、PFOA
15 (純度 95%) 又は PFHxS (純度 98%) の 24 時間処理による DNA 損傷性をコ
16 メット試験により検討した。試験最高濃度は PFOS 100 µg/mL、PFOA 83
17 µg/mL 又は PFHxS 80 µg/mL であった。いずれの物質も濃度依存的な DNA
18 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ではな
19 かった (Wielsøe et al. 2015) (参照 5)。

20
21 PFOS (0.6、1.25、2.50 mg/kg 体重/日) を 48 時間間隔で Wistar ラットに
22 4 週間強制経口投与し、骨髓細胞における小核誘発性及び DNA 損傷性 (コメ
23 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
24 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)
25 (参照 6)。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

1 DNA 損傷性（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
2 を示した（Eke and Çelik 2016）（参照 7）。

3
4 PFOA（100、500 µM）の細菌復帰変異試験を *S. typhimurium* TA98、
5 TA100、TA102 及び TA104 を用い、代謝活性化系存在下及び非存在下で実施
6 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
7 は、500 µM [200 µg/mL] で有意な増加を示し、酸化ストレスを生じた
8 （Fernández Friere et al. 2008）（参照 8）。

9 10 （2）海外・国際機関の評価概要

11 IARC は、PFOS については評価をしておらず、PFOA については 2016 年
12 の評価（Volume 110）において、直接的な遺伝毒性機序を有さないとする強い
13 証拠があるが、酸化ストレスを介した非直接的な DNA 損傷を示す知見がいく
14 つかあるため、PFOA による発がん性は遺伝毒性によるものではないとするあ
15 る程度の証拠がある、としている（IARC 2016）（参照 9）。

16
17 EPA は 2023 年の評価（Draft）において、PFOS については遺伝毒性を示
18 す強固な証拠はないものの、潜在的な作用機序のひとつとして否定はしきれな
19 いとしている。PFOA について、変異原性はないことが示唆されるが、PFOA
20 のばく露は 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
21 を示す機序は現在までに知られておらず、可能性は低いものの、遺伝毒性を
22 否定しきれないとしている（EPA 2023a、2023b, Draft）（参照 10, 11）。

23
24 EFSA は、2018 年の評価において、PFOS 及び PFOA はともに直接的な遺
25 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
26 あることから、遺伝毒性について結論は出せないとしていたが（EFSA 2018）
27 （参照 12）、2020 年の評価では、PFOS 及び PFOA に関しては直接的な遺伝毒
28 性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
29 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
30 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
31 2020）（参照 13）。

1 ATSDR は、2021 年の評価において、PFOA については DNA 損傷を引き起
2 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
3 る。PFOS については *in vitro* で細胞形質転換を引き起こした知見、*in vivo* で
4 小核形成が増加した知見がそれぞれ一報あったものの、遺伝毒性を示す証拠は
5 ないとしている。PFHxS については、他の PFAS 分子種と同様、知見が限ら
6 れているとし、DNA 損傷性を有さないことを報告する一報 (Eriksen ら
7 (2010)) の紹介のみにとどめている (ATSDR 2021) (参照 14)。

8
9 Health Canada は 2018 年の評価において、遺伝子、染色体、又は DNA 修
10 復に関する多くの *in vitro* 及び *in vivo* 試験の陰性知見に基づき、PFOS 及び
11 その塩は遺伝毒性ではないとした EFSA (2008) 及び Health Canada
12 (2006) の結論を追認し、それ以降の最新の知見はこの結論を支持している、
13 としている。PFOA については、遺伝毒性データベース (U.S. EPA, 2005; UK
14 HPA, 2009; Environment Canada and Health Canada, 2012) に基づき、変
15 異原性はなく、一般に遺伝毒性もない、としている (Health Canada 2018a、
16 2018b) (参照 15, 16)。

17
18 FSANZ は 2017 年の評価において、PFOA については、EFSA (2008) 及
19 び IARC (2016) の見解、すなわち、酸化的 DNA 損傷による間接的な遺伝毒
20 性を有すること及び発がん性は遺伝毒性によるものではないとするいくつかの
21 証拠があることを引用の上、証拠の重み付けにより遺伝毒性はないとしてい
22 る。PFOS については、EFSA (2008) 及び EPA (2016) を引用の上、遺伝
23 毒性はないとしている (FSANZ 2017) (参照 17)。

24
25 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
26 毒性に関する評価を行っていない (ANSES 2017) (参照 18)。

27 28 (3) 遺伝毒性のまとめ

29 選定された 8 件の研究報告及び海外・国際機関の評価をふまえると、相反知
30 見はあるものの、PFAS の遺伝毒性試験結果は以下のようにまとめられる。な
31 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びコメ
32 ット試験陽性知見 (Çelik et al. 2013、Eke and Çelik 2016) (参照 6, 7)、並び
33 に細菌復帰突然変異試験陰性知見 (Fernández Friere et al. 2008) (参照 8)

1 は、試験デザイン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
2 では、証拠の重みは低いと考えた。

3 PFOS 及び PFOA とともに *in vitro* では、遺伝子突然変異試験で陰性、染色体
4 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
5 した。一方、*in vitro* の DNA 損傷試験（ γ -H2AX 又はコメット）では陽性を示
6 すケースが認められ、これは、活性酸素種の産生と関連していた。データは少
7 ないものの、PFOS 及び PFOA 以外の一部の PFAS についても同様の傾向が
8 みられた。以上より、PFAS は *in vitro* において酸化ストレスによる二次的な
9 DNA 損傷性を示すものの、直接的な遺伝毒性を有しないと判断した。

10
11
12
13
14

1 <参照>

- 2 1. Wang Y, Zhang X, Wang M, Cao Y, Wang X, Liu Y et al.: Mutagenic Effects of
3 Perfluorooctanesulfonic Acid in gpt Delta Transgenic System Are Mediated by Hydrogen
4 Peroxide. Environ Sci Technol 2015; 49: 6294-303
- 5 2. Crebelli R, Caiola S, Conti L, Cordelli E, De Luca G, Dellatte E et al.: Can sustained
6 exposure to PFAS trigger a genotoxic response? A comprehensive genotoxicity
7 assessment in mice after subacute oral administration of PFOA and PFBA. Regul
8 Toxicol Pharmacol 2019; 106: 169-77
- 9 3. Butenhoff J L, Kennedy G L, Jung R, and Chang S C: Evaluation of perfluorooctanoate
10 for potential genotoxicity. Toxicol Rep 2014; 1: 252-70
- 11 4. Nakamura M, Takahashi T, Izumi T, Miura M, Kawaguchi S, Yamamoto A et al.:
12 Peroxisome proliferator activated receptor-mediated genotoxicity of perfluoroalkyl acids
13 using human lymphoblastoid cells. Fundamental Toxicological Sciences 2016; 3: 143-50
- 14 5. Wielsøe M, Long M, Ghisari M, and Bonefeld-Jørgensen E C: Perfluoroalkylated
15 substances (PFAS) affect oxidative stress biomarkers in vitro. Chemosphere 2015; 129:
16 239-45
- 17 6. Çelik A, Eke D, Ekinci S Y, and Yıldırım S: The protective role of curcumin on
18 perfluorooctane sulfonate-induced genotoxicity: single cell gel electrophoresis and
19 micronucleus test. Food Chem Toxicol 2013; 53: 249-55
- 20 7. Eke D and Çelik A: Curcumin prevents perfluorooctane sulfonate-induced genotoxicity
21 and oxidative DNA damage in rat peripheral blood. Drug Chem Toxicol 2016; 39: 97-103
- 22 8. Fernández Freire P, Pérez Martin J M, Herrero O, Peropadre A, de la Peña E, and
23 Hazen M J: In vitro assessment of the cytotoxic and mutagenic potential of
24 perfluorooctanoic acid. Toxicol In Vitro 2008; 22: 1228-33
- 25 9. IARC: (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the
26 Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 110. Some Chemicals Used as
27 Solvents and in Polymer Manufacture. 2016
- 28 10. U.S.EPA: (United States Environmental Protection Agency). PUBLIC COMMENT
29 DRAFT Toxicity Assessment and Proposed Maximum Contaminant Level Goal for
30 Perfluorooctane Sulfonic Acid (PFOS) in Drinking Water 2023a
- 31 11. U.S.EPA: (United States Environmental Protection Agency). PUBLIC COMMENT
32 DRAFT Toxicity Assessment and Proposed Maximum Contaminant Level Goal for
33 Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in Drinking Water 2023b

- 1 12. EFSA: (European Food Safety Authority). Risk to human health related to the presence
2 of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid in food 2018;
3 (2018)16(12):5194
- 4 13. EFSA: (European Food Safety Authority). Risk to human health related to the presence
5 of perfluoroalkyl substances in food 2020; (2020)18(9):6223
- 6 14. ATSDR: (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for
7 Perfluoroalkyls. Released May 2021. Last Updated March 2020. 2021
- 8 15. Health Canada: Guidelines for Canadian Drinking Water Quality Guideline Technical
9 Document Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) 2018a
- 10 16. Health Canada: Guidelines for Canadian Drinking Water Quality Guideline Technical
11 Document Perfluorooctanoic Acid (PFOA) 2018b
- 12 17. FSANZ: (Food Standards Australia New Zealand). Hazard assessment report –
13 Perfluorooctane Sulfonate (PFOS), Perfluorooctanoic Acid (PFOA), Perfluorohexane
14 Sulfonate (PFHxS) 2017
- 15 18. ANSES: (Agence nationale de sécurité sanitaire de l' alimentation, de l'
16 environnement et du travail). OPINION of the French Agency for Food, Environmental
17 and Occupational Health & Safety on the "development of chronic reference values by
18 the oral route for four perfluorinated compounds: perfluorohexanoic acid (PFHxA),
19 perfluorohexane sulfonic acid (PFHxS), perfluorobutanoic acid (PFBA), and
20 perfluorobutane sulfonic acid (PFBS)" 2017

21