

3月23日 14:45-16:15

Symposium Session:

SETAC-SOT Session: Environmental Risk Assessment of PFAS

Abstract No.1267

Assessing the Ecological Risks of PFAS: Challenges and Opportunities (PFASの環境毒性評価について：課題と可能性)

Dr. Gerald Ankley, USEPA/ORD (アメリカ環境保護庁 Office of Research and Development = 研究開発オフィス)

Slide 1, 2

PFASの環境毒性評価について我々が直面している課題と、可能性について話す。

人の健康と生態系影響についての懸念

- 初期（そして現在も続く）の人の健康影響についての懸念（免疫機能抑制、癌、甲状腺疾患、コレステロール値上昇など）
 - 飲料水、最近では食品経由の暴露
- 生態系への影響の可能性に注目が集まっている
 - 様々な生態系において、水、土壌、堆積物などの **media** や **biota**（生物相）から検出されており、明確な排出源がわかるものもあるが、わからないものもある。
 - 非常に残留性が高いものもあり、生体内に蓄積する可能性のあるものもある（あるいは、生物濃縮する）
 - 暴露についての懸念には、**PFAS** の数の多さについての懸念も含まれる（数百なのか、数千なのか？）劣化したり代謝したりしたものがどうなるのか、という懸念もある。
- 最近の世界的な活動は **PFAS** 暴露と **PFAS** による生態系への影響に焦点が当たっている
 - 排出源がわかっているものについての組織的モニタリング
 - 影響を基準にした評価基準（例えばアメリカでは、EPAの水局が **PFOS** と **PFOA** についての水中の基準を示している）

Slide 3

環境中のリスク評価についての科学界のこれまでの取り組み

北米 SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) が開催したワークショップ (2019年8月12-15日) (ノースキャロライナ州ダーラムにて) 400人以上が参加し、PFASのリスクについて複数の見方からのプレゼンテーション、専門家による分科会、ディスカッションが行われ、複数の査読付きジャーナルへの論文作成がこのミーティングから始まった。そのひとつが今年 (2021年3月) SETACのジャーナル、Environmental Toxicology and Chemistry に発表された。この号では、PFASの暴露経路の評価、人や野生生物への影響についてわかっていること、いないこと、生態系への影響などについて、すでに分かっていることと、知見のギャップについて特集されている。

Slide 4

PFASの生態系への影響：現在わかっていることと今後の必要性

- PFOS または PFOA などわずかな PFAS によるいくつかの生物群 (ミジンコや魚など) についてのデータは存在する。
- 様々な視点からの情報は限られているか、まったく存在しない
 - PFAS 類のほとんど、劣化物、代謝物
 - 重要な生物群 (鳥、両生類、爬虫類、海生哺乳類、陸の無脊椎動物、植物など)
 - 短期間の急性毒性や致死量などについての情報はあがるが、慢性的な暴露については情報が少なく、生殖毒性や発達への悪影響などは不明である
 - たとえば、消火剤が環境中に流出した際の化学反応による影響など、複合暴露の影響
- 今後考えていかなければならないこと
 - この物質群の種類、構造、状況、あまりにも未知のことが多く、知見のギャップを埋められる研究成果はまだない。
 - 今後、コストの面で効率的で、知見のギャップを埋められるできるだけ迅速なアプローチを探ることが必要である。

Slide 5

PFAS は最近目立ってきた、データが少ない化学物質群である。2010年10月の *Scientific American* 誌で特集されたが、環境中の化学物質の宇宙の中で、完全にテストされているのはごくわずかである。商業用に環境に流出している化学物質の人の健康や環境毒性影響についてのデータはごく限られている。

このようなデータの不足が、規制毒性学の分野で考え方の変化を起し、過去15年ほどの間に「我々はどの方向に向かっていけばよいのか」、様々な提案がなされている。中でも秀逸なのは、2007年に *National Academy of Sciences* から出された “Toxicity testing in the 21st century – A vision and a strategy” であろう。

[nihms245994.pdf](#)

(2007年の報告書をもとに改定し発表された論文)

Slide 6

限られたデータをもとにリスク評価をする必要がある際の新しいアプローチが、**New Approach Methodologies (NAMs=「ナムズ」)** である。

これは基本的に **Pathway-based tool** であり、**in vivo** 試験によるデータが限られている化学物質群のリスクを予測するために使われる。

これらは特に新しいものではなく、広く現在の評価に使われているものであるが、たとえば生物学的影響の知見をベースにしたもの、コンピューターやバイオインフォマティック法によるもの、ハイスループットなども含めた **in vitro** の試験法、短期間の **in vivo** テスト（オミックス解析）などである。

これらの方法は、10年ほど前は、人健康影響評価に使われることが多かったが、次第に生態系影響評価についても使われるようになってきた。

NAM によって得られたデータは、量的評価に使われることが多いが、他の様々なシナリオ、特に化学物質のリスク評価に使われる。

化学物質の生物活性による試験対象の優先順位付け、物質の構造や生物学的類似性によるカテゴリー分け、感受性の高い生物種、影響などの試験法に関する情報、最近では影響予測にも使われる。

Slide 7

NAM から得られたデータを生化学的、分子学的影響評価に採用する場合の課題の一つは、化学物質の反応の変化を個人または生態系や人の集団への影響に関

連付けて評価することができるのか、ということである。AOP=Adverse Outcome Pathway（悪影響へ至る経路）の枠組みの役割：

- 異なる生物の反応における因果関係を明らかにする
- NAM から得られたデータをリスク評価予測に使用することを支援する
- 知見を集め、リスク評価をする科学者間のコミュニケーションの枠組みを供給する
- 現在進行中の AOP に関する活動には、AOP の照合、AOP 開発方法の統合、AOP 開発方法のレビュー、AOP を基盤とした知見による規制の現実化（OECD）などがある。

Slide 8

PFAS の生態系への影響、リスク評価のための Pathway-based アプローチについて、いくつか現在進行中の EPA/ORD の研究と応用の例を紹介する
生物学的影響についての知見をベースにしたもの
コンピューターとバイオインフォマティクスのアプローチ
In vitro ハイスループットアッセイ
短期間の in vivo アッセイ

Slide 9

PFAS の環境中のリスク評価のための NAM：生物学的影響についての知見をベースに

- ECOTOX に関する知見をベースにしたもの ([ECOTOX | Home \(epa.gov\)](https://www.epa.gov/ecotox))
 - EPA で過去 30 年間に収集されてきたオープンアクセストータルである。5 万以上の参照資料のデータをベースにしている。
 - 最近データをアップグレードし、データ抽出、ディスプレイ、比較を大幅に強化した
 - ここ数年、ECOTOX のキュレーターが、PFAS を新しい課題として四半期ごとにアップデートしている。現在のところ様々な生物種に対する 650 以上の毒性についての情報に関する参照資料がある。

- この種のデータベースの使用用途はさまざまである：試験法に関する情報（何を試験したか、どの生物種が感受性が高いか、基準の予測（例えば水質基準、SSD = Species Sensitivity Distributions、"read-across（読み取り法）" 分析など）
- [Species Sensitivity Distribution \(SSD\) Toolbox | Safer Chemicals Research | US EPA](#)
- AOP Wiki ([AOP-Wiki \(aopwiki.org\)](#))
 - PFAS の生態系へのリスク評価について収集されてきたデータベースの双方向性のオープンアクセスシステムである。300 以上の AOP があり、いくつかは、PFAS の魚、両生類、鳥、野生の哺乳類、特に脊椎動物への毒性（フッ素化合物による影響として報告される甲状腺機能障害についての影響など）について応用できる。
 - 使用用途：化学物質の生物学的な類似点（たとば、影響の経路など）による分類、試験方法に関する情報（たとえば、ほとんど試験されていない化学物質のどのような影響が実際に関連しているのか、など）

Slide 10

PFAS の環境中のリスク評価のための NAM：コンピューターとバイオインフォマティクス

- 化学物質の構造による生物活性を予測する
 - Cheng と Ng (2019)は、in vitro のハイスループットデータ（例えば ToxCast）をマシンラーニングのアルゴリズムを使って QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship = 定量的構造活性相関、化学物質の構造と毒性学的活性との間になりたつ量的関係)を構築した。これにより、3,400 以上の PFAS の生物活性を予測した。このようなコンピューターを使ったアプローチによるたくさんのことが可能になる。化学物質の評価に対象となる種についての影響の大きさにより優先順位をつける、化学物質の対象となる分子への影響を予測して分類する、などである。

- ここで集められたデータは、初めは哺乳類のアッセイシステムで、異なるたんぱく質のターゲットによりハイスループットで得られたものである。
- 使用用途：優先順位付け、分類
- 哺乳類のシステムからの予測は非哺乳類にも関連しているか？生態系への影響を考える上で非常に重要なポイントである。
 - ハイスループット分析から得られた対象たんぱく質の構造／機能の保全は、種に共通する潜在的な **PFAS** への感受性についての予測の基礎を提供できる。
 - 上記の目的のために作られたツールが、**LaLone** らによる (2018) **SeqAPASS** である。ハイスループットアッセイの結果を、**NCBI** たんぱく質シーケンスデータを使って異なる種に外挿するベースを開発するものである。これは特に脊椎動物に使える。

Slide 11

PFAS の環境中のリスク評価のための NAM : In vitro 生物活性アッセイ

- **Attagene** (アタジーン) アッセイシステムを使うもの
 - **Attagene** は多重化プラットフォームであり、**70** 以上の生物学的経路について見ることができる。多くの異なる哺乳類の核受容体を転写因子として使っている。
 - このアッセイは **120** 以上の **PFAS** (異なる構造のグループを代表する) について行っている。多くの **PFAS** は *in vivo* のデータが無いので、この構造についての大きなデータセットは **PFAS** の生物活性情報を予測する上でとても便利である。
 - **PFS** の影響を受ける顕著な経路：甲状腺、エストロゲン、レチノイド、**PPAR (Peroxisome Proliferator-activated receptor)**シグナリング
 - 使用用途：**PFAS** 試験の生物活性に着目した優先順位付け、どの **pathway** がヒットするか分類、どの生物種、どの影響が最も懸念されるかなど、試験方法についての情報 (**AOP** データと共に) がわかる
- ここでも哺乳類のデータが他の生物種に使えるか、という問題があるが、**Ecotox FACTORIAL Assay** という方法が **2020** 年に発表された。

- これは **Attagene** に似た多重化プラットフォームで、複数の生物群（哺乳類、魚類、カエル、鳥類、爬虫類）のエストロゲン受容体、アンドロゲン受容体、甲状腺ホルモン受容体、**PPAR γ** などの評価を同時に行うことができる。

Slide 12

PFAS の環境中のリスク評価のための **NAM** : リスク評価のためのデータがほとんどない場合の、短期の **In vivo** 試験

- **ハイスループット multi-endpoint アッセイ**
 - 胚性ゼブラフィッシュ (<6 hpf) の、約 120 種の PFAS (構造の異なるグループを代表する) への **96-well format** での 120 時間暴露影響評価
 - 複数の顕著な結果 (生存率、異形学、奇形など)
 - 使用用途 : これまで魚類では調べられてこなかった例による優先順位付け、形態学的変化による分類、他に **in vivo** のデータが無い場合の基準値の予測
- **ハイスループット トランスクリプトミックス アッセイ**
 - 胚性ファットヘッド・ミノウ (<12 hpf) の、20 種類の最優先 PFAS 物質 (多くは毒性データが全く、あるいはほとんどない) への **96-well format** での 24 時間暴露による影響
 - ここでは、顕著な結果よりも、用量依存的な **point-of-departure** を明らかにするトランスクリプトーム反応分析
 - 使用用途 : 他に **in vivo** のデータが無い場合の基準値予測 ; どの生物種のどの経路で影響を受け、どのような影響が出るかに焦点を当てるためのガイド試験 (**AOP** を用いて)

Slide 13

最後に、現在進行中の PFAS に対する **AOP** について紹介する。

- 魚類における **PPAR** 活性の発達への影響 (**early life stage**) と生殖影響 (**adult**)
- 両生類における甲状腺のシグナリング抑制とそれによる変態への悪影響
- 魚類における **weak ligands** によるエストロゲン受容体の発達や生殖への悪影響 (PFAS の中には女性ホルモン受容体に対して弱いホルモン作用を示すものがある)

- 鳥類における甲状腺シグナリング抑制とそれによる **early life-stage** の生存率の悪化

Slide 14, 15

サマリー

PFAS は生態系システムと働きにリスクとなる可能性がある。生化学的に残留性があり、実質的に有害であるという証拠が示されている。

従来の暴露／影響についてのアプローチも環境影響評価に使える。

しかし、もっとも大きな課題は、**PFAS** の多くについて、環境影響評価について信頼に足るデータの不足である。

NAMs は、**PFAS** の影響評価や試験について優先順位をつけ、分類するための予想可能なアプローチを提供することができる。

従来の影響評価に **NAMs** を統合することで、**PFAS** の環境影響評価を実質的に可能にすることができる。

さらなる情報は、**EPA** のウェブサイトを参照してほしい。