

NO. 41a 文献番号：

担当者 関澤 純

著者名：Heinze JH

論文題名：Adverse health effects of bisphenol A in early life.

出典：Environ Health Perspect. 111(7): A382(2003)

チェック項目：

1. 対象生物 (x)ラット、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、(x)生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、(x)個体、()その他_____
4. 曝露方法 (x)経口、()埋め込み、その他_____
5. 曝露時期 ()胚・胎児、(x)周産期、()出生後、(x)成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (他の論文を引用)
7. 観察された影響の種類と濃度 (50 mg/kg 体重減少および体重増加減少)
(他の論文を引用)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、(x)思春期、(x)成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 (x)あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、()なし
GLP に準拠 ()はい、()いいえ
ガイドラインへの準拠 ()はい：ガイドラインの名称_____、()いいえ

論文の概要

Schoenfelder et al (2002) Environ Health Perspect. 110, A703-707 が early life. exposure について長期の追加試験が必要と述べたことに対して、二つの重要な多世代試験(Enma et al. (2001) Reproduct. Toxicol. 15, 505-523; Tyl et al (2002) Toxicol. Sci. 68: 121-146)で多種の観察項目についても低用量影響は見られなかったとしている。

添付資料

通信文であり、図表はない。

評価者のコメント

通信文である。

NO. 174 文献番号：11187732

担当者 関澤 純

著者名：広瀬 明彦、小泉 睦子、長谷川 隆一

論文題名：ビスフェノール・アルキルフェノール類

出典：日本臨床 58 巻 12 号(12、2000)

チェック項目：

1. 対象生物 ラット、 マウス、 人、 その他 _____
2. 影響の標的臓器 神経系、 免疫系、 生殖系、 その他 _____
3. 影響の種類 細胞、 組織、 個体、 その他 _____
4. 曝露方法 経口、 埋め込み、その他 _____
5. 曝露時期 胚・胎児、 周産期、 出生後、 成熟動物、 細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (他の論文を引用)
7. 観察された影響の種類と濃度
(他の論文を引用)
8. 観察時期 出生前、 出生後、 思春期、 成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 あり、 なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 あり、 なし
GLP に準拠 はい、 いいえ
ガイドラインへの準拠 はい：ガイドラインの名称 _____、 いいえ

論文の概要

2000年までの発表データをレビューした。代謝についてはラットで経口の場合バイオアベイラビリティおよび未変化体血中濃度は低いこと、またエストロゲン様作用に系統差があり、低用量で子宮重量の変化などでE2と相加性は見られずむしろ抑制作用が見られる。ラット、マウスの雄について低用量で影響があったとする報告とそのような影響が再現できないとする報告が共存している。

添付資料

レビュー論文であり、主要な影響を要約した表がある。

評価者のコメント

2000年までの発表データをわかりやすく要約してある。

No. 118 文献番号：11955942

担当者 根岸 隆之

著者名：Honma S, Suzuki A, Buchanan DL, Katsu Y, Watanabe H, Iguchi T.

論文題名：Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction.

出典：Reprod Toxicol. 2002 Mar-Apr;16(2):117-22.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、(x) マウス (ICR/Jcl)、() 人、() その他_____
2. 影響の標的臓器 () 神経系、() 免疫系、(x) 生殖系、() その他_____
3. 影響の種類 () 細胞、() 組織、(x) 個体、() その他_____
4. 曝露方法 () 経口、() 埋め込み、その他 皮下投与
5. 曝露時期 (x) 胚・胎児、() 周産期、() 出生後、() 成熟動物、() 細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 2, 20 µg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度 (メス：2µg/kg/day 体重低下(PND22)、生殖器肛門距離増加(PND22)
(オス：20µg/kg/day 体重低下(PND0, 60)、2µg/kg/day 生殖器肛門距離増加(PND60)) (メス：20µg/kg/day 膣開口時期の短縮、2µg/kg/day 膣開口時体重の減少、20µg/kg/day 性周期開始時期の短縮、2µg/kg/day 性周期延長、2µg/kg/day 膣開口日から30日間のうち膣垢中に角化細胞が存在する日の増加およびリンパ球が存在する日の減少)
8. 観察時期 () 出生前、() 出生後、(x) 思春期、() 成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 (x)あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(x)なし
GLP に準拠 ()はい、(x)いいえ
ガイドラインへの準拠 ()はい：ガイドラインの名称_____、(x)いいえ

論文の概要：ICR/Jcl マウスにおいて妊娠 11-17 日にかけて毎日 BPA を 2, 20µg/kg/day の濃度で皮下投与した。産仔数、性比には影響を与えなかった。次世代個体についてオスでは体重 (0, 11, 22, 60 日)、生殖器肛門距離 (22, 60 日) を測定した。メスでは体重 (0, 11, 22, 60 日)、生殖器肛門距離 (22, 60 日)、膣開口時期、膣開口時体重、性周期開始時期、性周期の周期性 (膣開口日から 30 日間)、さらに正常オスとの繁殖能力について検討した。繁殖能力についての結果以外の結果は項目 7 にあるとおり。繁殖能力 (産仔数、性比) には影響を与えなかった。本実験の結果から妊娠後期低濃度 BPA 曝露は膣開口を早める等、生殖器の成熟に影響を与えるが、次世代の繁殖能力には影響を与えないことが示された。

添付資料：Fig. 1.

評価者のコメント：DES を陽性コントロールにしている。統計学的には ANOVA の後に多重比較でなく student' s t-test か Welch' s t-test を繰り返しているため BPA の影響を過大評価している可能性がある。正しい手法の利用が望まれる。曝露濃度は 2, 20µg/kg/day と確かに低用量作用の議論に含まれるが他の報告が経口投与であるのに対し、皮下投与を行っている点で異なる。筆者らの考察において他の報告と比較するときこの投与経路の違いを無視している。投与経路の違いは相当な体内濃度の違いになるはずである。以上の点から実験およびデータの信頼性は高いがその評価法に問題がある可能性がある。

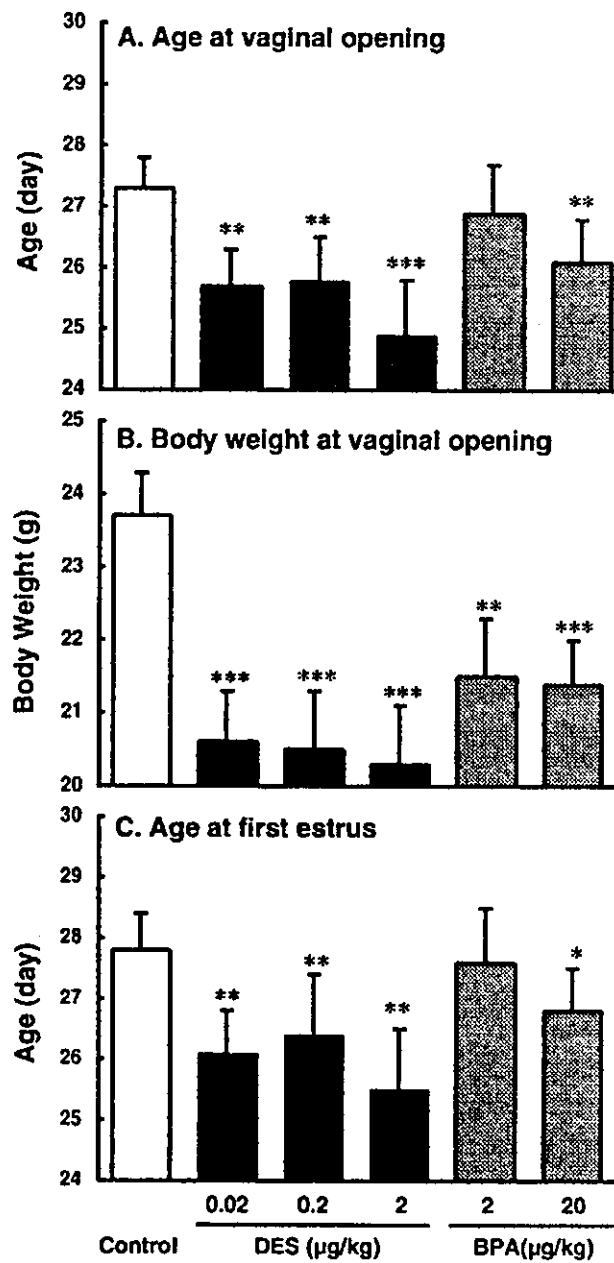


Fig. 1. Days of age at vaginal opening (A), body weight at vaginal opening (B) and age at first estrus (C). Values are mean \pm sem. *, **, and *** indicate significantly different from the control at $P \leq 0.05$, 0.01, and 0.001 (Student's *t*-test), $n = 10$ for each dose group.

No. 18 文献番号 : 12974608

担当者 佐二木 順子

著者名 : Ichihara T, et al

文題名 : Lack of carcinogenic risk in the prostate with transplacental and lactational exposure to bisphenol A in rats

出典 : J.Toxicol. Sci. 28:165-171(2003)

チェック項目:

1. 対象生物 (x)ラット F344、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、(x)生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、(x)組織、(x)個体、()その他_____
4. 曝露方法 (x)経口、()埋め込み、その他 gastric tube
5. 曝露時期 (x)胚・胎児、(x)周産期、()出生後、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 0.05、7.5、30、120mg/kg/day in 0.5% carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC-Na))
7. 観察された影響の種類と濃度 (_____)
(_____) (_____)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、()思春期、(x)成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 (x)あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(x)なし
GLP に準拠 ()はい、(x)いいえ
ガイドラインへの準拠 ()はい : ガイドラインの名称 _____、(x)いいえ

論文の概要

交配直後から授乳期間中、11 週令の 8-15 匹の 雌ラットに BPA を経口強制投与した。F1 の雄が 5 週令に達した時点で各濃度群 21 匹に前立腺がん惹起物質 3,2-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) を 20 週にわたり皮下注射した (コーンオイルに溶解した 50mg/kg を 2 週間おきに 10 回投与)。対照群は出生後 60 週令に麻酔下で開腹し、臓器重量、前立腺、貯精囊ならびに他臓器における前がん部位、がん部位を病理組織学的に調べた。その結果、BPA 処置は F1 ラットに DMAB 誘発がんを引き起こさなかった。また、DMAB 処置無しのラットにもがん状態 (組織の増殖) は認められなかった。血清中テストステロンレベルにも群間差は認められなかった。

添付資料

特になし

評価者のコメント

病理組織を観察し、癌の発現のみに的を絞った論文である。ラットの癌の発現については、雄性生殖器のみならず、他の組織の癌発現にも BPA 単独では次世代に影響を与えない。

No. 86 文献番号：12242676

担当者 稲葉 克彦

著者名：Ike M, Chen MY, Jin CS, Fujita M.

論文題名：Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of biodegradation products of bisphenol-A.

出典：Environ Toxicol. 2002 Oct;17(5):457-61

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(×)その他 ミジンコ (Daphnia magna)、サルモネラ菌、酵母
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(×)その他__
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、(×)個体、(×)その他 サルモネラ菌変異コロニー数の増加、ER-mediated エストロゲン活性
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他 培地への添加
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、()出生後、()成熟動物、(×)細胞(細菌)
6. 曝露濃度 用量段階 (ミジンコ：記載なし、サルモネラ菌：0.1-100mg/L、酵母：0.01 から 100mg/l および 100mg/l 以上の濃度 1 点)
7. 観察された影響の種類と濃度 (ミジンコ遊泳阻害：EC50=10mg/L) (酵母エストロゲン性アッセイ：10mg/L)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、()思春期、()成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 ()あり、(×)なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(×)なし
GLP に準拠 ()はい、(×)いいえ
ガイドラインへの準拠 (×)はい (ミジンコ遊泳阻害のみ)：ガイドラインの名称 OECD202、(×)いいえ

論文の概要

BPA の微生物的代謝物の環境影響評価の一環として、BPA および主要な BPA 代謝物のミジンコ遊泳阻害、サルモネラ菌における変異原性ならびに酵母におけるエストロゲン性を評価した。BPA は 48 時間 EC₅₀ 値が 10mg/L であったが、代謝物では、最も毒性が強いもので 64mg/L だった。変異原性試験では、評価したあらゆる濃度 0.1-100mg/L で BPA ならびにその代謝物あるいはその混合物に活性は認められなかった。酵母 Two-hybrid システムによってエストロゲン活性を評価した。BPA は 10mg/l 以上で活性が認められたが、その強さは、陽性対照として実施された E2 よりおよそ 5 桁低い強度であった。試験したすべての濃度で、代謝物にエストロゲン活性は認められなかった。

添付資料 Table. 1、Fig. 3

評価者のコメント：

ミジンコ試験のガイドライン適応 (OECD202) の程度は、文献に詳細な記載がないため明確でないが、得られた結果は、その他の試験と合わせて、試験結果そのものはおおむね信頼できる記載内容であると思われた。本研究から、BPA の主要代謝物が親化合物に比べ低い毒性を有することが示唆された。

TABLE I. Acute toxicity (EC₅₀) of BPA biodegradation products to *D. magna*

	24-h EC ₅₀ (mg/L)	48-h EC ₅₀ (mg/L)
BPA	24	10
BPA biodegradation products		
p-HAP	88	64
p-HBAL	> 100	> 100
p-HBA	> 100	> 100

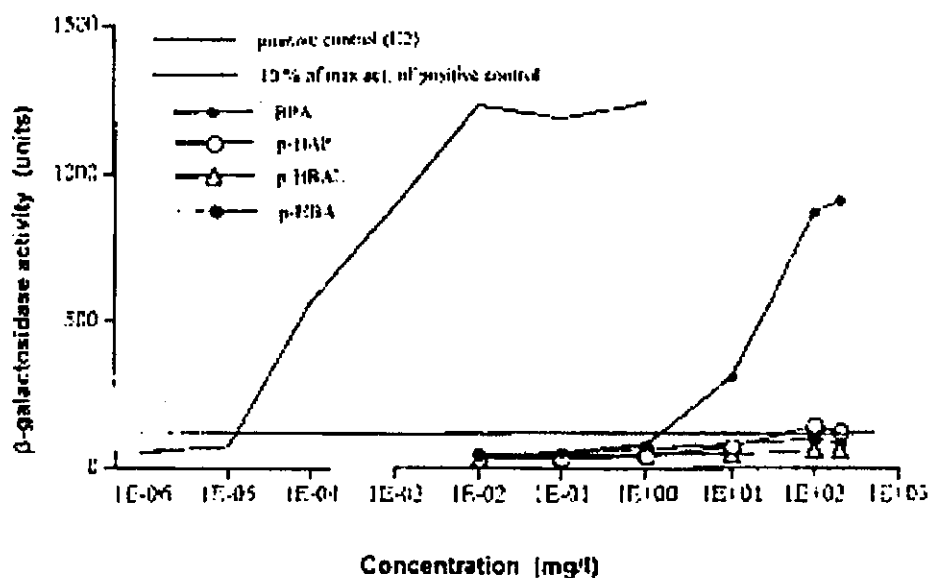


Fig. 3. Estrogenicity assays of BPA biodegradation products.

NO. 175 文献番号 : 11184192

担当者 関澤 純

著者名 : Kaiser J

論文題名 : Endocrine disrupters. Panel cautiously confirms low-dose effects

出典 : Science.2000 Oct 27;290(5492):695-7.No abstract available

チェック項目:

1. 対象生物 (x)ラット、(x)マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、(x)生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、(x)個体、()その他_____
4. 曝露方法 (x)経口、()埋め込み、その他_____
5. 曝露時期 (x)胚・胎児、()周産期、()出生後、(x)成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (他の論文を引用)
7. 観察された影響の種類と濃度
ニュース記事であり、他の論文を引用。
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、(x)思春期、(x)成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 (x)あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(x)なし
GLP に準拠 ()はい、(x)いいえ
ガイドラインへの準拠 (x)はい : ガイドラインの名称_____、()いいえ

論文の概要

内分泌かく乱化学物質の低用量影響について検討した NTP Workshop (2000 年 10 月)の結論を報じたニュースである。すなわち低用量影響の存在は認めたが、人の健康への有害性の有無については明確ではないとした。

添付資料

ニュース記事であり、図表はない。

評価者のコメント

ニュース記事である。

No. 23 文献番号： 12948896

担当者 花田秀一

著者名： Kanno J, Onyon L, Peddada S, Ashby J, Jacob E, Owens W.

論文題名： The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2:dose-response studies.

出典： Environmental Health Perspectives 111(12):1530-1549. (2003)

チェック項目：

1. 対象生物 (X)ラット、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、(X)生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、(X)組織、(X)個体、()その他_____
4. 曝露方法 (X)経口、()埋め込み、その他 +皮下投与
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、(X)出生後、(X)成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (経口投与；60, 200, 375, 600, 1000 mg/kg/day、皮下投与；10, 100, 300, 600, 800 mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度 (子宮重量の増加；375mg/kg(経口)、10mg/kg(皮下))
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、(X)思春期、(X)成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 (X)あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(X)なし
GLP に準拠 (X)はい、()いいえ

* 必ずしも全参加施設が OECD GLP に準拠している訳ではない。

ガイドラインへの準拠 (X)はい：ガイドラインの名称 OECD GLP、()いいえ

論文の概要

ラット・ウテロトロピックバイオアッセイ法の4つの標準的なプロトコールにおいて、未成熟ラットを使用する場合（経口投与と皮下投与の比較）と卵巣摘出成熟ラットを使用する場合（皮下投与で投与期間の比較）の性能を検討し、本報告では、特に用量依存性について述べている。弱エストロゲン作用物質として、BPAを含む5物質を用いている。その結果、全プロトコールとも弱エストロゲン作用物質の子宮重量増加作用の検出が可能で、参加施設間の一致性や用量依存性の再現性も良好であった。最初の有意な増加は、子宮重量に現れ、最大の増加も子宮重量に見られた。全プロトコール共に再現性があり、研究施設間で伝達可能であり、弱エストロゲン作用物質の検出が可能であった。

添付資料

Table 2, 3, 4, 5 および Fig. 1

評価者のコメント

OECD が実施しているラット・ウテロトロピックバイオアッセイ法のバリデーション試験のまとめの一部で用量依存性についての報告である。BPA は、未成熟ラットの経口投与では 375mg/kg で、皮下投与では 10mg/kg で、卵巣摘出成熟ラット（皮下投与のみ）では、100mg/kg で子宮重量の増加が認められた。

Table 2. Uterine weights, body weights, and ratio of the relative increase in uterine weights for bisphenol A in protocol A.

Animals	Measure	Vehicle	Dose (mg/kg/day)				
			0 (0)	100	200	400	800
4	Wt weight (mg, mean ± SD)	20.5 ± 4.20	16.8 ± 3.63	20.1 ± 1.56	33.4 ± 5.05	37.8 ± 5.14	44.7 ± 4.96*
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	25.4 ± 4.19	25.7 ± 2.54	25.0 ± 1.58	29.4 ± 4.0	45.0 ± 5.48*	47.9 ± 4.32*
	bw (g, mean ± SD)	46.8 ± 7.14	48.0 ± 5.66	47.2 ± 3.48	47.5 ± 4.59	44.9 ± 4.00	45.3 ± 3.26
	Absolute ratio	1.00	1.14	1.16	1.16	1.41	1.39*
	bw adjusted ratio	0.99	1.13	1.26*	1.26*	1.49*	1.37*
	Lower CI, upper CI†	16.03, 11.71	40.8, 1.44	4.06, 1.66	4.29, 1.15	11.05, 1.15	11.05, 1.15
7	Wt weight (mg, mean ± SD)	50.9 ± 7.85	37.1 ± 4.24	16.0 ± 3.46	27.5 ± 4.31	50.8 ± 15.04	52.0 ± 3.19
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	74 ± 7.85	47 ± 3.13	14.8 ± 4.46	30.1 ± 3.46	49.1 ± 11.77	50.4 ± 2.54
	bw (g, mean ± SD)	56.7 ± 7.14	56.2 ± 5.61	56.0 ± 4.15	54.8 ± 3.75	53.5 ± 3.52	53.5 ± 2.78
	Absolute ratio	1.00	0.86	0.90	1.00	1.36	1.40
	bw adjusted ratio	0.95	0.81	1.00	1.31*	1.31*	1.40*
	Lower CI, upper CI†	10.76, 1.15	10.76, 1.15	10.76, 1.15	10.76, 1.15	11.03, 1.64	11.03, 1.64
12	Wt weight (mg, mean ± SD)	24.7 ± 7.48	Not done	23.6 ± 5.75	31.0 ± 4.43	39.1 ± 4.61*	Not done
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	25.6 ± 1.81	Not done	23.8 ± 1.19	26.8 ± 2.44	33.6 ± 0.74	Not done
	bw (g, mean ± SD)	39.7 ± 3.16	Not done	35.5 ± 2.17	33.7 ± 3.17	39.6 ± 0.30	Not done
	Absolute ratio	1.00	Not done	1.16	1.31	1.64	Not done
	bw adjusted ratio	1.00	Not done	1.15	1.35*	1.63*	Not done
	Lower CI, upper CI†	10.939, 1.55	Not done	11.03, 1.16	11.03, 1.16	11.29, 2.05	Not done
13	Wt weight (mg, mean ± SD)	29.0 ± 8.51	29.7 ± 4.93	29.7 ± 20.4	43.1 ± 5.76	63.0 ± 4.30	53.0 ± 2.02
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	31.6 ± 3.66	32.0 ± 3.35	32.5 ± 14.60	37.3 ± 3.96	44.4 ± 2.01	49.2 ± 1.77
	bw (g, mean ± SD)	41.5 ± 2.70	42.2 ± 3.66	43.3 ± 19.70	39.5 ± 2.76	41.4 ± 0.36	38.0 ± 1.50
	Absolute ratio	1.00	1.02	1.02	1.02	1.05	1.04
	bw adjusted ratio	1.00	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02
	Lower CI, upper CI†	10.72, 1.51	10.86, 1.57	10.86, 1.57	10.86, 1.57	10.75, 1.12	11.10, 1.04

*The animal died in 100 mg DfA/kg/day group before necropsy. †Ratio of absolute means of the treated highest uterine weights relative to the vehicle control blotted uterine weights. *Ratio of geometric means of treated blotted uterine weights relative to the vehicle control blotted uterine weights after adjusting for body weights as a covariable. †Lower and upper 95% confidence limits (CL) for ratio of blotted uterine weights based on body weights as a covariable. *The animal died in 200 mg SPAN/kg/day group before necropsy. †With the lower 95% confidence limit (CL) > 1.0, the result was statistically significant. †Level of significance, p < 0.05.

Table 3. Uterine weights, body weights, and ratio of the relative increase in uterine weights for bisphenol A in protocol B.

Animals	Measure	Vehicle	Dose (mg/kg/day)				
			0 (0)	100	200	400	800
2	Wt weight (mg, mean ± SD)	27.1 ± 1.95	31.0 ± 2.42	45.7 ± 6.35	67.1 ± 5.13	59.2 ± 27.55	144.5 ± 57.05
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	26.5 ± 1.85	29.4 ± 2.44	44.5 ± 6.40	53.8 ± 5.12	60.5 ± 17.01	105.1 ± 15.13
	bw (g, mean ± SD)	51.5 ± 2.45	45.9 ± 2.88	51.5 ± 3.36	48.8 ± 3.53	51.9 ± 2.73	49.5 ± 1.85
	Absolute ratio	1.00	1.11	1.68	1.25	1.32	3.96*
	bw adjusted ratio	1.00	1.12	1.63*	1.26*	1.32*	4.03*
	Lower CI, upper CI†	41.92, 1.96	Not done	11.07, 2.02	41.96, 2.91	47.22, 4.01	11.78, 4.87
6	Wt weight (mg, mean ± SD)	61.1 ± 15.24	Not done	72.2 ± 17.13	89.6 ± 16.86	131.7 ± 39.18*	Not done
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	56.0 ± 14.69	Not done	69.1 ± 12.38	76.8 ± 16.95	110.5 ± 39.04	Not done
	bw (g, mean ± SD)	48.9 ± 8.75	Not done	49.0 ± 8.52	44.9 ± 7.87	52.6 ± 6.28	Not done
	Absolute ratio	1.00	Not done	1.18	1.33	1.50	Not done
	bw adjusted ratio	1.00	Not done	1.18	1.31*	1.35*	Not done
	Lower CI, upper CI†	Not done	Not done	10.90, 1.54	11.05, 1.29	11.31, 2.20	Not done
7	Wt weight (mg, mean ± SD)	34.5 ± 4.30	44.0 ± 2.67	44.2 ± 4.02	65.9 ± 18.59	161.5 ± 36.51	205.7 ± 35.88
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	33.8 ± 4.16	33.9 ± 2.50	42.8 ± 4.22	64.2 ± 9.65	112.0 ± 10.29	150.0 ± 8.64
	bw (g, mean ± SD)	57.5 ± 4.26	56.6 ± 3.76	57.2 ± 3.73	51.2 ± 3.57	54.8 ± 2.61	54.7 ± 2.49
	Absolute ratio	1.00	1.10	1.10	1.56	3.44	3.63
	bw adjusted ratio	1.00	1.11*	1.11*	1.56*	3.47*	3.68*
	Lower CI, upper CI†	10.85, 1.20	11.12, 1.58	11.64, 1.32	11.64, 1.32	12.90, 4.15	13.06, 4.32
8	Wt weight (mg, mean ± SD)	25.2 ± 2.78	29.5 ± 4.42	36.5 ± 5.25	45.1 ± 7.34	51.4 ± 11.56	71.4 ± 16.25
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	23.5 ± 2.33	27.8 ± 4.24	34.5 ± 5.82	45.5 ± 7.26	49.7 ± 11.21	70.1 ± 9.13
	bw (g, mean ± SD)	51.9 ± 6.26	42.1 ± 7.14	41.9 ± 7.96	57.6 ± 7.59	51.4 ± 7.00	55.6 ± 5.42
	Absolute ratio	1.00	1.18	1.47	1.23	1.15	1.36
	bw adjusted ratio	1.00	1.17	1.47*	1.51*	1.13*	1.31*
	Lower CI, upper CI†	10.42, 1.50	11.15, 1.01	11.50, 2.45	11.50, 2.45	11.67, 2.11	11.36, 3.84
12	Wt weight (mg, mean ± SD)	26.8 ± 5.97	Not done	34.7 ± 3.59	31.1 ± 6.64	55.2 ± 21.09	Not done
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	22.4 ± 5.47	Not done	31.4 ± 4.42	28.2 ± 6.64	36.3 ± 13.81	Not done
	bw (g, mean ± SD)	40.4 ± 5.38	Not done	40.1 ± 5.62	36.8 ± 5.79	39.1 ± 4.88	Not done
	Absolute ratio	1.00	Not done	1.42	1.26	2.53	Not done
	bw adjusted ratio	1.00	Not done	1.42	1.20	2.53*	Not done
	Lower CI, upper CI†	10.9255, 1.16	Not done	10.88, 1.88	10.88, 1.88	11.70, 3.70	Not done
13	Wt weight (mg, mean ± SD)	35.4 ± 3.82	31.0 ± 9.21	46 ± 6.56	61.5 ± 12.82	112.7 ± 25.02	142.0 ± 25.24
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	29.0 ± 2.45	31.2 ± 7.25	38.5 ± 12.05	51.3 ± 15.61	62.2 ± 11.41	104.6 ± 6.86
	bw (g, mean ± SD)	43.2 ± 7.32	44.2 ± 3.82	41.5 ± 4.54	45.8 ± 3.66	43.1 ± 3.58	42.3 ± 2.73
	Absolute ratio	1.00	1.11	1.16	1.38	1.41	3.24
	bw adjusted ratio	1.00	1.14	1.10	1.32*	1.32*	4.15*
	Lower CI, upper CI†	10.71, 1.87	10.71, 1.87	10.71, 2.42	11.08, 2.76	11.78, 4.64	12.75, 6.72
15	Wt weight (mg, mean ± SD)	31.2 ± 5.56	35.3 ± 8.15	36.2 ± 4.26	54.2 ± 6.18	82.8 ± 23.64	132.7 ± 43.32
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	26.7 ± 4.42	28.3 ± 4.58	27.0 ± 4.80	36.5 ± 5.91	67.8 ± 13.20	81.5 ± 10.21
	bw (g, mean ± SD)	48.3 ± 3.05	46.3 ± 3.70	45.4 ± 2.38	44.8 ± 3.84	44.3 ± 4.72	46.9 ± 1.15
	Absolute ratio	1.00	1.02	0.96	1.29	2.52	3.05
	bw adjusted ratio	0.95	0.98	1.00	1.32*	2.54*	3.11*
	Lower CI, upper CI†	10.72, 1.25	10.75, 1.29	10.75, 1.29	11.03, 1.81	11.51, 3.21	12.02, 4.88
18	Wt weight (mg, mean ± SD)	21.0 ± 1.50	30.9 ± 3.00	32.7 ± 3.27	33.1 ± 5.50	59.6 ± 16.36	144.9 ± 44.28
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	21.3 ± 1.50	26.5 ± 3.42	31.8 ± 3.85	46.6 ± 5.28	72.1 ± 5.41*	95.0 ± 10.63
	bw (g, mean ± SD)	57.1 ± 3.70	57.1 ± 4.91	53.0 ± 4.55	55.1 ± 1.86	55.8 ± 3.11	56.6 ± 3.02
	Absolute ratio	1.00	1.34	1.08	1.29	3.38	4.46
	bw adjusted ratio	1.00	1.29*	1.17*	1.29*	3.32*	4.42*
	Lower CI, upper CI†	10.88, 1.51	11.04, 1.63	11.04, 1.63	11.21, 2.53	12.85, 3.41	14.78, 5.11
20	Wt weight (mg, mean ± SD)	14.7 ± 13.05	36.2 ± 7.20	36.8 ± 4.29	53.2 ± 9.83	30.2 ± 18.57	107.3 ± 30.47
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	9.4 ± 11.27	27.4 ± 7.56	31.5 ± 4.80	50.8 ± 9.86	31.7 ± 15.65	91.9 ± 15.15
	bw (g, mean ± SD)	50.3 ± 4.04	51.6 ± 1.78	52.0 ± 1.74	51.4 ± 1.82	50.4 ± 3.32	51.8 ± 7.24
	Absolute ratio	1.00	1.15	1.10	1.29	1.05	3.51
	bw adjusted ratio	1.00	1.15*	1.10*	1.29*	1.05	3.50*
	Lower CI, upper CI†	11.25, 2.43	11.12, 2.15	11.12, 2.15	11.09, 1.35	10.42, 2.81	10.36, 0.65
21	Wt weight (mg, mean ± SD)	55.0 ± 7.80	81.4 ± 9.96	59.0 ± 6.72	107.7 ± 12.03	129.8 ± 15.32	137.3 ± 21.15
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	41.3 ± 6.82	67.2 ± 7.78	41.1 ± 5.76	81.0 ± 11.32	101.4 ± 14.34	113.7 ± 10.15
	bw (g, mean ± SD)	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done
	Absolute ratio	1.00	1.42**	1.00	1.93**	1.93**	2.12**
	bw adjusted ratio	1.00	1.42**	1.00	1.93**	1.93**	2.12**
	Lower CI, upper CI†	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done

*Lower and upper 95% confidence limits for ratio of blotted uterine weights based on body weights as a covariable. †The animal died at 100 mg BPA/kg/day group before necropsy. *With the lower 95% confidence limit (CL) > 1.0, the result was statistically significant. †Femoral body weights were not recorded by the laboratory. †The blotted uterine weight were analyzed without body weight adjustments and were found to be statistically significant. †Level of significance, p < 0.05.

Table 4. Uterine weights, body weights, and ratio of the relative increase in uterine weights for bisphenol A in protocol C.

Laboratory	Measure	Vehicle	Dose 1 (10 mg/kg/day)	Dose 2 (100 mg/kg/day)	Dose 3 (500 mg/kg/day)	Dose 4 (1000 mg/kg/day)	Dose 5 (1000 mg/kg/day)
2	Wet weight (mg, mean ± SD)	125.9 ± 13.2 ^a	115.9 ± 12.0 ^a	210.2 ± 62.7 ^b	439.1 ± 129.1 ^b	542.7 ± 103.9 ^b	729.7 ± 201.5 ^b
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	93.8 ± 10.7 ^a	112.5 ± 11.6 ^a	185.3 ± 29.5 ^b	275.6 ± 35.8 ^b	306.7 ± 23.9 ^b	311.9 ± 41.2 ^b
	bw (g, mean ± SD)	253.9 ± 13.4	251.4 ± 9.9 ^a	240.2 ± 12.3 ^a	235.0 ± 13.9 ^a	230.4 ± 11.8 ^a	229.9 ± 12.5 ^a
	Absolute ratio	1.13	1.13	1.86 [*]	2.29 [*]	3.07 [*]	3.02 [*]
	bw adjusted ratio	1.13	1.13	1.38 [*]	2.45 [*]	3.08 [*]	3.02 [*]
	Lower CI, upper CI ^a		(0.93, 1.17)	(1.55, 2.33)	(2.26, 3.41)	(2.57, 3.78)	(2.45, 3.75)
6	Wet weight (mg, mean ± SD)	115.5 ± 19.64	Not done	236.7 ± 43.6 ^b	274.1 ± 65.9 ^b	238.8 ± 26.7 ^b	Not done
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	110.7 ± 19.6 ^b	Not done	215.5 ± 45.5 ^b	236.1 ± 53.7 ^b	223.7 ± 20.4 ^b	Not done
	bw (g, mean ± SD)	232.6 ± 29.2 ^b	Not done	237.5 ± 12.5 ^b	236.6 ± 24.5 ^b	237.0 ± 6.9 ^b	Not done
	Absolute ratio			1.99	2.13	3.56	
	bw adjusted ratio			2.05 [*]	2.41 [*]	3.92 [*]	
	Lower CI, upper CI ^a			(1.58, 2.66)	(1.78, 3.24)	(2.92, 5.71)	
7	Wet weight (mg, mean ± SD)	91.4 ± 13.17	83.5 ± 10.84	150.3 ± 24.5 ^b	615.1 ± 157.4 ^b	264.5 ± 73.7 ^b	825.8 ± 240.5 ^b
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	68.4 ± 12.5 ^b	91.5 ± 10.4 ^b	146.7 ± 23.5 ^b	294.2 ± 25.4 ^b	233.3 ± 32.9 ^b	315.5 ± 32.1 ^b
	bw (g, mean ± SD)	250.2 ± 12.3 ^b	256.6 ± 13.77	243.5 ± 17.5 ^b	229.5 ± 11.7 ^b	236.5 ± 5.3 ^b	237.9 ± 2.74
	Absolute ratio	1.33	1.03	1.65	2.31	3.75	3.59
	bw adjusted ratio	1.03	1.03	1.67 [*]	2.44 [*]	3.86 [*]	3.67 [*]
	Lower CI, upper CI ^a		(0.66, 1.24)	(1.33, 2.37)	(2.76, 4.91)	(3.16, 4.70)	(3.02, 4.47)
8	Wet weight (mg, mean ± SD)	90.5 ± 15.51	90.4 ± 7.82	130.1 ± 26.7 ^b	363.9 ± 86.4 ^b	395.3 ± 97.0 ^b	308.1 ± 113.9 ^b
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	88.6 ± 9.7 ^b	86.0 ± 7.29	148.2 ± 21.84	229.2 ± 25.1 ^b	243.4 ± 33.1 ^b	229.6 ± 35.5 ^b
	bw (g, mean ± SD)	291.0 ± 17.8 ^b	297.5 ± 17.04	282.2 ± 11.6 ^b	281.7 ± 14.29	276.3 ± 21.5 ^b	276.5 ± 19.5 ^b
	Absolute ratio	0.98	0.98	1.58	2.10	2.72	2.72
	bw adjusted ratio	0.98	0.98	1.63 [*]	2.05 [*]	2.85 [*]	2.75 [*]
	Lower CI, upper CI ^a		(0.80, 1.20)	(1.37, 1.96)	(2.16, 3.24)	(2.57, 3.51)	(2.27, 3.43)
17	Wet weight (mg, mean ± SD)	106.0 ± 18.84	Not done	225.4 ± 45.8 ^b	444.5 ± 65.5 ^b	633.0 ± 202.1 ^b	Not done
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	98.6 ± 22.04	Not done	197.4 ± 33.8 ^b	386.3 ± 44.9 ^b	314.1 ± 50.0 ^b	Not done
	bw (g, mean ± SD)	257.2 ± 14.54	Not done	201.8 ± 12.7 ^b	229.9 ± 10.3 ^b	289.3 ± 25.0 ^b	Not done
	Absolute ratio			2.05	2.72	3.19	
	bw adjusted ratio			2.05 [*]	2.72 [*]	3.24 [*]	
	Lower CI, upper CI ^a			(1.53, 2.78)	(2.05, 3.61)	(2.43, 4.32)	

^aLower and upper 95% confidence limits for ratio of blotted uterine weights based on body weights as a covariable. ^bOne animal died at 300 mg BPA/kg/day group before necropsy. ^{*}Level of significance, p < 0.05.

Table 5. Uterine weights, body weights, and ratio of the relative increase in uterine weights for bisphenol A in protocol D.

Laboratory	Measure	Vehicle	Dose 1 (10 mg/kg/day)	Dose 2 (100 mg/kg/day)	Dose 3 (500 mg/kg/day)	Dose 4 (1000 mg/kg/day)	Dose 5 (2000 mg/kg/day)
2	Wet weight (mg, mean ± SD)	89.0 ± 13.97	100.8 ± 16.54	214.5 ± 14.44	342.8 ± 42.5 ^b	673.0 ± 141.3 ^b	984.8 ± 133.0 ^b
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	86.7 ± 13.5 ^b	97.6 ± 16.3 ^b	209.7 ± 13.14	326.8 ± 18.4 ^b	355.9 ± 57.6 ^b	353.9 ± 48.0 ^b
	bw (g, mean ± SD)	274.6 ± 15.9 ^b	269.2 ± 20.7 ^b	246.8 ± 9.8 ^b	236.7 ± 16.7 ^b	242.5 ± 16.54	237.5 ± 25.7 ^b
	Absolute ratio	1.13	1.13	2.63	3.56	4.52	4.11
	bw adjusted ratio	1.14	1.14	2.53 [*]	2.74 [*]	4.69 [*]	4.31 [*]
	Lower CI, upper CI ^a		(0.91, 1.41)	(1.99, 3.21)	(2.89, 4.84)	(3.67, 5.95)	(3.28, 5.67)
7	Wet weight (mg, mean ± SD)	82.2 ± 2.94	91.1 ± 7.4 ^b	132.7 ± 6.3 ^b	368.8 ± 109.4 ^b	421.4 ± 72.6 ^b	525.8 ± 41.0 ^b
	Blotted weight (mg, mean ± SD)	81.4 ± 2.7 ^b	85.8 ± 7.0 ^b	148.8 ± 4.9 ^b	374.1 ± 40.2 ^b	346.7 ± 41.84	376.9 ± 27.7 ^b
	bw (g, mean ± SD)	283.7 ± 14.5 ^b	235.8 ± 14.6 ^b	256.1 ± 11.5 ^b	245.2 ± 5.24	249.5 ± 7.2 ^b	244.5 ± 6.29
	Absolute ratio	1.11	1.11	2.35	3.31	4.32	4.39
	bw adjusted ratio	1.11	1.11	2.35 [*]	3.43 [*]	4.33 [*]	4.33 [*]
	Lower CI, upper CI ^a		(0.97, 1.26)	(1.80, 2.74)	(3.18, 4.78)	(3.56, 5.19)	(3.24, 5.75)

^aLower and upper 95% confidence limits for ratio of blotted uterine weights based on body weights as a covariable. ^bLevel of significance, p < 0.05.

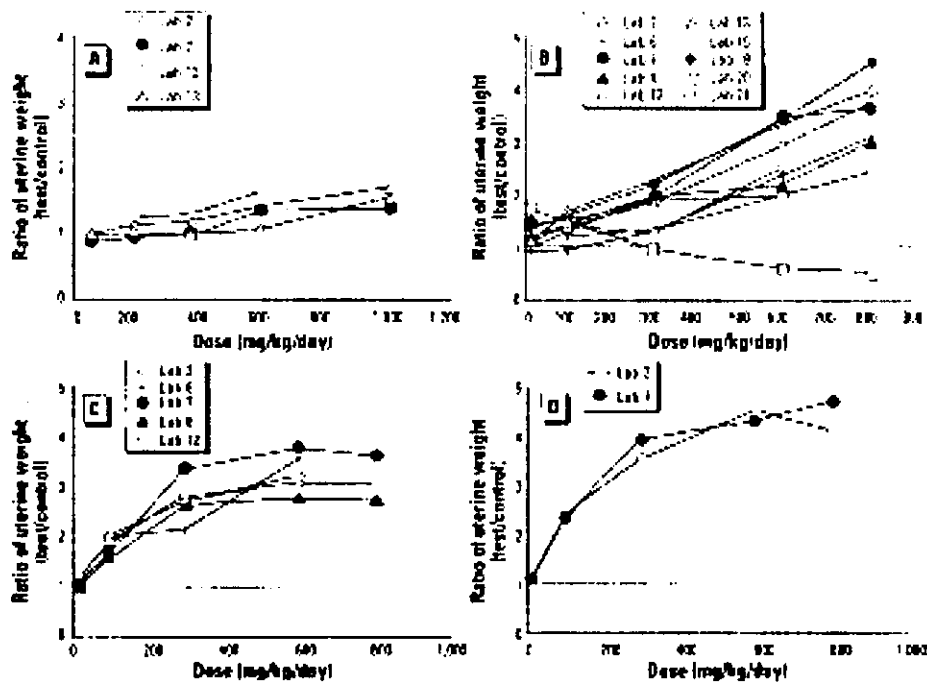


Figure 1. Ratio of the mean blotted uterine weight in response to doses of BPA relative to the vehicle control group. (A) Participating laboratory results for protocol A using immature female rats dosing by oral gavage for 3 consecutive days. (B) Participating laboratory results for protocol B using immature female rats dosing by sc injection for 3 consecutive days. (C) Participating laboratory results for protocol C using adult OVX rats dosing by sc injection for 3 consecutive days. (D) Participating laboratory results for protocol C using adult OVX rats and extending sc injection dosing to 7 days. In all cases, animals were humanely sacrificed 24 hr after the last dose administration, the uteri were removed and trimmed, and wet and blotted weights were recorded.

No.22 文献番号：12948897

担当者 花田秀一

著者名：Jun Kanno, Lesley Onyon, Shyamal Peddada, John Ashby, Elard Jacob, and William Owens
論文題名：The OECD Program to Validate the Rat Uterotrophic Bioassay. Phase 2: Coded Single-Dose Studies.

出典：Environmental Health Perspectives 111(12), 1550-1558. (2003)

チェック項目：

1. 対象生物 (X)ラット、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、(X)生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、(X)組織、(X)個体、()その他_____
4. 曝露方法 (X)経口、()埋め込み、その他 +皮下投与
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、(X)出生後、(X)成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (経口投与；60, 200, 375, 600, 1000 mg/kg/day、皮下投与；10, 100, 300, 600, 800 mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度 (子宮重量の増加；375mg/kg(経口)、10mg/kg(皮下))
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、(X)思春期、(X)成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 (X)あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(X)なし
GLP に準拠 (X)はい、()いいえ
* 必ずしも全参加施設が OECD GLP に準拠している訳ではない。
ガイドラインへの準拠 (X)はい：ガイドラインの名称 OECD GLP、()いいえ

論文の概要

文献(No. 23) 12948896 の 16 参加施設からの試験結果を用いて、陽性対照物質と陰性対照物質の組み合わせを基にラット・ウテロトロピックバイオアッセイ法の再現性について検討した。強陽性対照物質として EE を、弱陽性対照物質として BPA を含む 5 物質を、陰性対照物質として n-dibutylphthalate を用いている。再現性は、EE の用量、弱陽性対照物質 5 用量の内の 1 用量、陰性対照物質 1 用量の結果を用いて検討した。結果は、個々の研究施設内や同一物質を同一プロトコールで評価した施設間での一貫性や再現性があった。結論として、全プロトコール共に再現性があり、研究施設間で伝達可能であり、弱エストロゲン作用物質の検出が可能であった。

添付資料

Table 3、8

評価者のコメント

OECD が実施しているラット・ウテロトロピックバイオアッセイ法のバリデーション試験のまとめの一部で再現性についての報告である。文献(No. 23) 12948896 では、BPA は、未成熟ラットの経口投与では 375mg/kg で、皮下投与では 10mg/kg で、卵巣摘出成熟ラット(皮下投与のみ)では、100mg/kg で子宮重量の増加が認められている。

Lab	Protocol							
	A 600 mg/kg/day		B 300 mg/kg/day		C 300 mg/kg/day		D 300 mg/kg/day	
	Coded studies	Dose response	Coded studies	Dose response	Coded studies	Dose response	Coded studies	Dose response
1	1.11 (0.90, 1.37) ^{a,b}	—	1.58 (1.21, 2.00) ^a	—	2.61 (2.23, 3.06) ^a	—	3.65 (2.84, 4.68) ^a	—
2	1.45 (1.14, 1.84) ^a	1.49 (1.25, 1.77) ^{a,c}	1.77 (1.40, 2.24) ^a	2.30 (1.88, 2.81) ^a	2.61 (1.99, 3.42) ^a	2.79 (2.28, 3.41) ^a	3.91 (3.21, 4.76) ^a	3.74 (2.89, 4.84) ^a
3	1.40 (1.14, 1.73) ^a	—	2.00 (1.62, 2.48) ^a	—	2.69 (2.24, 3.72) ^a	—	3.26 (2.51, 4.24) ^a	—
4	1.36 (1.05, 1.74) ^a	—	1.45 (1.06, 1.94) ^a	—	—	—	—	—
5	1.23 (0.99, 1.57) ^a	—	2.02 (1.64, 2.49) ^a	—	—	—	—	—
6	—	—	—	1.37 (1.05, 1.79) ^a	—	2.41 (1.79, 3.23) ^a	—	—
7	—	1.31 (1.03, 1.66) ^{a,c}	—	1.95 (1.64, 2.32) ^a	—	3.44 (2.78, 4.30) ^a	—	3.90 (3.18, 4.78) ^a
8	1.91 (1.58, 2.31) ^a	—	1.91 (1.53, 2.39) ^a	1.91 (1.50, 2.43) ^a	2.89 (2.16, 3.88) ^a	2.65 (2.16, 3.24) ^a	—	—
11	1.41 (1.11, 1.80) ^a	—	1.82 (1.36, 2.44) ^a	—	3.39 (2.85, 4.05) ^a	—	4.05 (3.08, 5.33) ^a	—
12	1.08 (0.83, 1.41) ^{a,b}	1.63 (1.29, 2.06) ^{a,c}	1.68 (1.12, 2.31) ^a	1.33 (0.99, 1.99) ^a	2.30 (1.67, 3.18) ^a	2.72 (2.05, 3.61) ^a	—	—
13	1.25 (1.01, 1.56) ^{a,d}	1.17 (0.79, 1.72) ^{a,c}	1.52 (1.11, 2.00) ^a	1.72 (1.06, 2.76) ^a	—	—	—	—
14	1.50 (0.99, 2.37) ^{a,b}	—	2.82 (2.05, 3.87) ^a	—	—	—	—	—
15	—	—	—	1.37 (1.03, 1.81) ^a	—	—	—	—
16	—	—	2.11 (1.37, 3.22) ^a	—	—	—	—	—
17	—	—	2.35 (1.64, 3.37) ^a	—	—	—	—	—
18	—	—	2.32 (1.88, 2.80) ^a	2.12 (1.81, 2.50) ^a	—	—	—	—
19	—	—	—	—	2.42 (1.99, 2.95) ^a	—	—	—
20	—	—	1.11 (0.86, 1.44) ^a	0.95 (0.69, 1.32) ^a	—	—	—	—
	6/10	3/4	13/14	7/9	7/7	5/5	4/4	2/2

—, laboratory did not perform this particular study. ^aRatio of geometric means of treated blotted uterine weights to the vehicle control blotted uterine weights after adjusting for the body weights at necropsy as a covariable (lower 95% confidence limit, upper 95% confidence limit). ^bThis study did not achieve statistical significance. ^cIn the dose-response studies at this dose, one animal died in laboratory 2, one in laboratory 7, one in laboratory 12, and one in laboratory 13. ^dIn the coded single-dose studies at this dose, three animals died in laboratory 12, one in laboratory 13, and two in laboratory 14. *Level of significance, $p < 0.05$.

Lab	Protocol			
	A 1000 mg/kg/day	B 500 mg/kg/day	C 500 mg/kg/day	D 500 mg/kg/day
1	0.91 (0.74, 1.13) ^a	0.97 (0.74, 1.28)	1.37 (1.17, 1.61) ^{a,b}	0.91 (0.73, 1.15)
2	0.99 (0.78, 1.26)	1.04 (0.83, 1.31)	0.89 (0.76, 1.28)	1.03 (0.86, 1.24)
3	1.00 (0.81, 1.23)	1.01 (0.81, 1.25)	0.90 (0.70, 1.15)	1.01 (0.81, 1.28)
4	0.99 (0.77, 1.28)	0.85 (0.64, 1.14)	—	—
5	1.03 (0.81, 1.32)	1.06 (0.86, 1.31)	—	—
8	0.98 (0.81, 1.18)	1.00 (0.80, 1.24)	1.24 (0.82, 1.65)	—
11	0.95 (0.75, 1.22)	1.39 (1.06, 1.82) ^{a,b}	0.99 (0.83, 1.16)	1.00 (0.78, 1.28)
12	0.91 (0.38, 2.20)	—	0.97 (0.67, 1.40)	0.93 (0.68, 1.26)
13	0.86 (0.69, 1.07)	0.98 (0.72, 1.34)	—	—
14	0.91 (0.60, 1.38)	1.38 (1.01, 1.89) ^{a,b}	—	—
16	—	0.90 (0.59, 1.38)	—	—
17	—	0.88 (0.62, 1.26)	—	—
18	—	0.74 (0.6, 0.91) ^{a,b}	—	—
19	—	0.75 (0.47, 1.20)	0.84 (0.69, 1.02)	—
20	—	0.73 (0.56, 0.96) ^{a,b}	—	—
	0/10	4/14	1/7	0/5

—, laboratory did not perform this particular study. ^aRatio of geometric means of treated blotted uterine weights to the vehicle control blotted uterine weights after adjusting for the body weights at necropsy as a covariable (lower 95% confidence limit, upper 95% confidence limit). ^bThis study did not achieve statistical significance. *Level of significance $p < 0.05$.

No. 85 文献番号：12243870

担当者 根岸 隆之

著者名：Kim HS, Han SY, Kim TS, Kwack SJ, Lee RD, Kim IY, Seok JH, Lee BM, Yoo SD, Park KL.

論文題名：No androgenic/anti-androgenic effects of bisphenol-A in Hershberger assay using immature castrated rats.

出典：Toxicol Lett. 2002 Sep 5;135(1-2):111-23.

チェック項目：

1. 対象生物 ラット (CrI:CD SD)、 マウス、 人、 その他 _____
2. 影響の標的臓器 神経系、 免疫系、 生殖系、 その他 _____
3. 影響の種類 細胞、 組織、 個体、 その他 _____
4. 曝露方法 経口、 埋め込み、その他 _____
5. 曝露時期 胚・胎児、 周産期、 出生後、 成熟動物、 細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 10, 50, 100, 250, 500, 1000 mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度 (_____)
(_____) (_____)
8. 観察時期 出生前、 出生後、 思春期、 成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 あり、 なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 あり、 なし
GLP に準拠 はい、 いいえ
ガイドラインへの準拠 はい：ガイドラインの名称 _____、 いいえ

論文の概要

去勢した幼若 (5-6 週齢) オスラットによる Hershberger assay を用いて BPA のアンドロジェン・抗アンドロジェン効果を検討した。陽性コントロールである testosterone (0.4mg/kg/day 皮下投与) は有意に陰茎龟头、精囊、腹側前立腺、肛門挙筋+球海綿体筋 (LABC) 重量を増加させたが、BPA (経口) はいずれの濃度でもこれらの重量に影響を与えなかった。また抗アンドロジェン作用を有する陽性コントロール flutamide (1.0mg/kg 以上) は有意に testosterone 誘発精囊、腹側前立腺、LABC 重量増加を抑制したのに対し、BPA はいずれの濃度においても testosterone 誘発の各臓器重量増加に影響を示さなかった。以上の結果から、Hershberger assay においては BPA のアンドロジェンまたは抗アンドロジェン作用は否定された。

添付資料：特になし。

評価者のコメント

全ての実験において 1 群 n=10。統計学的手法にも問題なし。BPA はアンドロジェン受容体結合能を有し、酵母を使った two-hybrid assay 系では抗アンドロジェン作用が報告されていたが、本論文で用いた Hershberger assay という in vivo 試験ではアンドロジェン・抗アンドロジェン作用ともに否定された。作られた細胞系で実験と個体を使った実験では答が異なるという例である。おそらく BPA の迅速な代謝、排泄がこの矛盾の原因であろう。

No. 139 文献番号：11712665

担当者 根岸 隆之

著者名：Kim JC, Shin HC, Cha SW, Koh WS, Chung MK, Han SS.

論文題名：Evaluation of developmental toxicity in rats exposed to the environmental estrogen bisphenol A during pregnancy.

出典：Life Sci. 2001 Oct 19;69(22):2611-25.

チェック項目：

1. 対象生物 (x)ラット (SD)、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、(x)生殖系、(x)その他 発生
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、(x)個体、()その他_____
4. 曝露方法 (x)経口、()埋め込み、その他_____
5. 曝露時期 (x)胚・胎児、()周産期、()出生後、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 100, 300, 1000 mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度：(300mg/kg 母体：毛並み劣化、活動量低下、やつれ、鎮静、赤涙、軟便、下痢、会陰部の汚れ、体重減少、摂餌量減少) (1000mg/kg 母体：妊娠不成立、胎仔死亡増加、着床後胎仔吸収増加、胎仔数減少) (300 mg/kg 胎仔(GD21)オス生殖器肛門距離の短縮) (300 mg/kg 胎仔(GD21)オス体重減少) (1000 mg/kg 胎仔(GD21)オスメス体重減少) (1000mg/kg 胎仔(GD21)性不明 胸骨分節, 左右前後肢中手根骨, 左右前後肢第1第2趾節骨の骨化中心数減少)
8. 観察時期 (x)出生前、()出生後、()思春期、()成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 ()あり、(x)なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(x)なし
GLP に準拠 ()はい、(x)いいえ
ガイドラインへの準拠 (x)はい：ガイドラインの名称 AAALAC、()いいえ

論文の概要

妊娠期 BPA 曝露(0, 100, 300, 1000mg/kg)が妊娠成立・維持および退治の発達に与える影響を検討した。曝露は経口で妊娠1日目から20日目まで行った。妊娠21日目に剖検を行い胎仔の外観、内臓および骨格異常を評価した。1000mg/kg 群では母体の外観異常、体重減少、体重増加率低下、摂餌量低下、妊娠不成立、胎仔死亡、着床後胎仔吸収、胎仔数減少、胎仔体重減少、いくつかの部位(項目7参照)での骨化中心数の減少が観察された。しかし、黄体の数、着床位置、および胎仔の形態には影響が見られなかった。300mg/kg では母体体重低下、摂餌量低下、オス胎仔体重減少が観察された。100mg/kg 群ではいずれの項目にも影響は見られなかった。結論として妊娠期 1000mg/kg BPA 曝露は顕著な妊娠不成立、主たる生殖毒性は胎仔死亡、着床前後の胚胎仔喪失、成長遅延および母体への毒性を示すが胚胎仔に催奇形性は見られなかった。

添付資料：特になし

評価者のコメント：

ラットにおける胎仔毒性を非常に高濃度で行った実験であり、低用量作用を議論する題材としては適切でない。

No. 204 文献番号：10828273

担当者 根岸 隆之

著者名：Kwon S, Stedman DB, Elswick BA, Cattley RC, Welsch F.

論文題名：Pubertal development and reproductive functions of Crl:CD BR Sprague-Dawley rats exposed to bisphenol A during prenatal and postnatal development.

出典：Toxicol Sci. 2000 Jun;55(2):399-406.

チェック項目：

1. 対象生物 (x)ラット (Crl:CD BR SD)、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 (x)神経系、()免疫系、(x)生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、(x)個体、(x)その他 行動
4. 曝露方法 (x)経口、()埋め込み、その他_____
5. 曝露時期 ()胚・胎児、(x)周産期、()出生後、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 3.2, 32, 320 mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度：(全ての検索項目(概要参照)に暴露影響なし。)
() ()
8. 観察時期 ()出生前、(x)出生後、(x)思春期、(x)成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 ()あり、(x)なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 (x)あり、()なし
GLP に準拠 ()はい、(x)いいえ
ガイドラインへの準拠 ()はい：ガイドラインの名称_____、(x)いいえ

論文の概要：Crl:CD BR SD ラットに対し、妊娠11日目から生後20日目まで毎日母ラットにBPA(0, 3.2, 32, 320mg/kg)を経口投与した。いずれの濃度においてもBPA 暴露中の母体体重、離乳時(生後21日目)の母体臓器重量、出生数に影響は見られなかった。雌雄F1の体重(PND1, 7)にBPA 暴露影響は見られなかった。F1メスの性的二型核(SDN-POA)の体積(PND10)、膈開口日、その日の体重、性周期開始日、約4ヶ月齢時の性周期(頻度、期間)、約6ヶ月齢時の性行動(卵巣摘出後ホルモンにより誘発したロードーシス)についていずれの濃度でもBPA 暴露影響は見られなかった。6ヶ月齢時F1オスの生殖器重量にいずれの濃度でも統計的有意なBPA 暴露影響は見られなかった。

添付資料 特になし

評価者のコメント：・統計学的手法には問題なし。各群の規模は n=8、筆者は large scale と言っているが大規模というには少ない。・この文献における最低濃度は 3.2mg/kg/day で、さらにこの濃度の 10 倍、100 倍でも本文献におけるいかなる検索項目にも暴露影響は見られなかった。・陽性コントロールとしておいた DES(15µg/kg/day (注：BPA のエストロゲン活性から割り出して BPA320mg/kg/day に相当すると文献内で主張))暴露は暴露後母体肝臓重量の上昇、F1 メスの SDN-POA 体積の増加、性周期の異常(周期の延長)を引き起こした。・本文結果でのみ述べているが 320mg/kg/day 暴露群 F1 オスの前立腺重量は 23%増加していた(統計学的有意性はない)。

No. 210 文献番号：10746942

担当者 根岸 隆之

著者名：Laws SC, Carey SA, Ferrell JM, Bodman GJ, Cooper RL.

論文題名：Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats.

出典：Toxicol Sci. 2000 Mar;54(1):154-67.

チェック項目：

1. 対象生物 (x)ラット (Long-Evans)、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、(x)生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、(x)組織、(x)個体、()その他_____
4. 曝露方法 (x)経口、()埋め込み、その他_____
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、(x)出生後、(x)成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 未熟ラット 3day uterotrophic assay (100, 200, 400mg/kg/day)、成熟卵巣摘出ラット 3day uterotrophic assay (100mg/kg/day)、幼弱ラットの性成熟 (50, 100, 200, 400 mg/kg/day, PND21 から)、成熟卵巣摘出ラットにおける膣スメア細胞診 (100mg/kg/day, 11days)、成熟ラットにおける性周期 (100mg/kg/day, 25days))
7. 観察された影響の種類と濃度：(100mg/kg/day 成熟ラットにおける性周期攪乱)
(200mg/kg/day 幼弱ラットにおける子宮重量増加)
8. 観察時期 ()出生前、(x)出生後、(x)思春期、(x)成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 ()あり、(x)なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。

EU リスク評価 (x)あり、()なし：添付の EU リスク評価文献リスト中の掲載の有無

GLP に準拠 ()はい、(x)いいえ 論文中に「GLP に準拠」の記述の有無

ガイドラインへの準拠 ()はい：ガイドラインの名称 _____、(x)いいえ

論文の概要:エストロゲン様作用を有する化学物質を検出するために利用される方法、3-day Uterotrophic assay (子宮重量増加測定)の信頼性を確認するために性成熟前の雌ラット (Long-Evans) および卵巣摘出成熟メスラットを用いた試験を既知のエストロゲン様化学物質 (E2, ethynyl estradiol, methoxychlor, 4-tert-octylphenol, 4-nonylphenol, bisphenol A) について行った。またこの結果を別のアッセイ法である膣開口日、卵巣摘出ラットにおける膣スメア角化細胞出現、成熟ラットにおける性周期での結果と比較した。他の陽性物質を用いた結果等を含めた結論としては濃度依存性の面から見ると性成熟前のラットを用いた uterotrophic assay が最も感度が高かった。ただし、BPA 100mg/kg/day で成熟ラットにおける性周期の攪乱を引き起こした。

添付資料：特になし

評価者のコメント：従来よりエストロゲン様作用を検出するために用いられた *in vivo* の実験方法の感度を直接比較したという非常に有益な報告であるが、用いた濃度、目的から考えるに低用量作用の議論とは関係ない。いくつかの手法を比較しようとする試みは評価できるが、そこで選ぶ濃度に規則性がなく濃度依存性も見ないため、今ひとつ筆者達の意図があきらかでない。他の物質も考慮に入れた上での感度の点では uterotrophic assay は卵巣摘出ラットよりは性成熟前の雌ラットを用いるべきと考えられる。ただこの論文の結論のみで言うなら BPA に限って言えば性周期攪乱がもっとも感度がいい方法ということになる。もう少しだけ包括的にやっていたら良かった。

No. 39 文献番号 : 12798904

担当者 稲葉 克彦

著者名 : Lee MS, Hyun SH, Lee CK, Im KS, Hwang IT, Lee HJ.

論文題名 : Impact of xenoestrogens on the growth of human endometrial epithelial cells in a primary culture system

出典 : Fertil Steril. 79(6):1464-5. No abstract available. (2003)

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(×)その他 ヒト初代培養子宮内膜上皮細胞
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(×)その他 初代培養細胞
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、(×)個体、(×)その他
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他 培地への添加
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、()出生後、()成熟動物、(×)細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (0, 10^{-8} , 10^{-6} および 10^{-4} M)
7. 観察された影響の種類と濃度 (10^{-6} M、細胞増殖阻害)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、()思春期、()成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 ()あり、(×)なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、(×)なし
GLP に準拠 ()はい、(×)いいえ
ガイドラインへの準拠 ()はい : ガイドラインの名称 、(×)いいえ

論文の概要

正常な性周期のヒト患者より proliferative phase と secretory phase に子宮内膜組織を取得し、初代培養して BPA を所定濃度で 24 から 72 時間処理した。secretory phase より得られた初代培養細胞では細胞増殖や細胞活性 (cell viability) に影響はなかったが、proliferative phase 由来の初代培養細胞では、濃度や処理時間依存的に細胞増殖が阻害された。一方、エストロゲンレセプター mRNA は、BPA 濃度や性周期について非依存的に示された。

添付資料 Table. 1

評価者のコメント : ある性周期に由来するヒト初代培養子宮内膜上皮細胞では、BPA によって増殖が阻害されたが、この阻害は、どのようなメカニズムで生じるか、論文中では証明されていない。すなわち、エストロゲンレセプター mRNA は BPA 濃度非依存的であった。In vitro 試験であるため、低用量について言及することはあまり意味のないことと思われた。

TABLE 1

Growth of proliferative or secretory phase human endometrial epithelial cells cultured in increasing bisphenol A or aroclor 1254 concentrations.

Phase (xenoestrogen)	Concentration	Culture time (hours)		
		24	48	72
Proliferative, bisphenol A	0 M	5.03 (0.39)	8 (0.61)	12.15 (2.13)
	10 ⁻⁸ M	4.53 (0.31)	7.73 (0.54)	11.53 (1.96)
	10 ⁻⁶ M	4.15 (0.48)	5.75 (0.7) ^a	7.73 (0.91) ^a
	10 ⁻⁴ M	2.88 (0.64) ^a	3.13 (0.7) ^a	3.1 (0.53) ^a
Proliferative, aroclor 1254	0 µg/mL	4.5 (1.15)	6.9 (1.59)	10.15 (2.75)
	0.02 µg/mL	4.33 (1.1)	6.28 (1.18)	9.75 (1.61)
	0.2 µg/mL	3.83 (0.9)	4.68 (0.51) ^a	6.55 (1.23) ^a
	1 µg/mL	3.48 (0.94) ^a	3.45 (0.86) ^a	3.5 (0.65) ^a
Secretory, bisphenol A	0 M	3.16 (0.4)	3.42 (0.29)	3.68 (0.16)
	10 ⁻⁸ M	3.1 (0.33)	3.34 (0.32)	3.6 (0.35)
	10 ⁻⁶ M	3.1 (0.35)	3.32 (0.37)	3.58 (0.41)
	10 ⁻⁴ M	3.02 (0.36)	3.34 (0.42)	3.58 (0.38)
Secretory, aroclor 1254	0 µg/mL	3.34 (0.26)	3.52 (0.29)	3.7 (0.25)
	0.02 µg/mL	3.34 (0.23)	3.52 (0.19)	3.76 (0.15)
	0.2 µg/mL	3.28 (0.24)	3.48 (0.2)	3.7 (0.12)
	1 µg/mL	3.26 (0.3)	3.38 (0.28)	3.58 (0.19)

Note: Values are mean (± SD × 10⁷ cells/mL).

^a The value was significantly different from 0 M or 0 µg/mL within the same phase, xenoestrogen and culture time (*P* < .05).

See *Impact of xenoestrogens in primary culture. Fertil Steril 2003.*