

NO.115 文献番号：11979588

担当者 大西 純一

著者名：Dizer H, Fischer B, Sepulveda I, Loffredo E, Senesi N, Santana F, Hansen PD.

論文題名：Estrogenic effect of leachates and soil extracts from lysimeters spiked with sewage sludge and reference endocrine disrupters.

出典：Environ Toxicol. 2002;17(2):105-12.

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(記入\_\_\_\_\_)
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、(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 ( )はい：ガイドラインの名称\_\_\_\_\_、(x)いいえ

論文の概要

土壌を充填したライシメーター\*の表面に内分泌かく乱物質 (EDC) を含む下水汚泥 (SS)、その SS に含まれる EDC (17 $\alpha$ -エストラジオール、17 $\beta$ -エストラジオール、ノニルフェノール、オクチルフェノール、BPA) の 100 倍量をさらに添加した SS またはその両方をそれぞれ添加し、雨または人工的に灌水し、土壌と浸出水の EDC 活性を E-スクリーンテストと ELRA 法を用いて調べた。その結果、添加した EDC は土壌中を速く移動し、最初からあった EDC は遅れて移動した。また、浸出水中にも ED 活性が認められた。

従って、下水汚泥を農業用あるいは森林用に使用した場合、EDC は土壌に移行することあるいは表層水または地下水に移行する可能性が明らかになった。

\*コンクリート製容器(例えば、1m x 1m x 1m の大きさ)に土壌を充填して、表面に化合物を添加後に上から水を流して化合物の土壌中の挙動及び浸出水の分析による地下水汚染を調べる装置。

添付資料

Fig.1 と Fig.2

評価者のコメント

下水汚泥から土壌および水に EDC が移行する可能性が示されたが、化合物を測定していないので、どの化合物が移行するのか不明。また、100 倍添加しても浸出水中濃度はエストラジオール相当で、E-スクリーンテストの場合最高で 256 pmol/L、ELRA の場合は最高で 11.8 nmol/L であった。

内容は、下水汚泥からの環境汚染の可能性を調べた物で、PBA 低用量影響と直接関係ない。

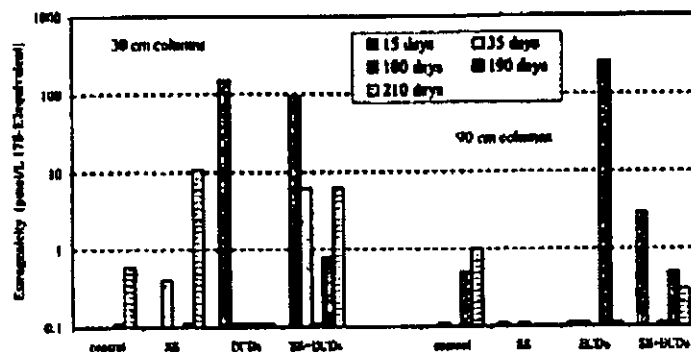


Fig. 1. Induction of MCF7-cell proliferation (pmol/L of 17β-E2 equivalent; detection limit: <0.1 pmol/L) by leachates collected from control lysimeter and lysimeters spiked with sewage sludge (SS), reference endocrine disruptors (ECDs), or a mixture of SS+ECDs.

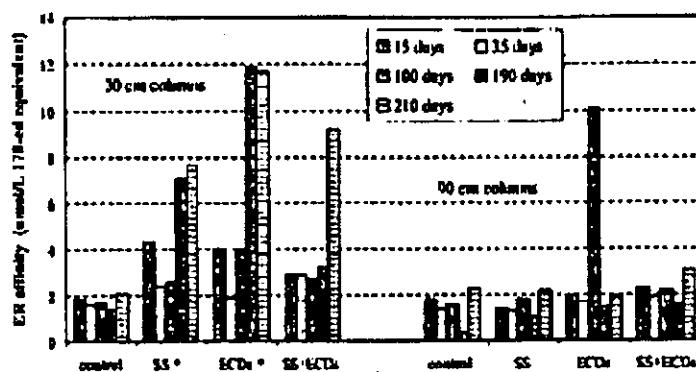


Fig. 2. Estrogenic receptor affinity tested by ELRA (nmol/L of 17β-E2 equivalent; detection limit: <0.1 nmol/L) of leachates collected from the control lysimeter and lysimeters spiked with sewage sludge (SS), reference endocrine disruptors (ECDs), or a mixture of SS + ECDs (\**p* < 0.05, referring to control or corresponding columns 90 cm in length).

No.2 文献番号：14732453

担当者 佐二木 順子

著者名：Evans NP, North T, Dye S, Sweeney T. (UK, Ireland)

論文題名：Differential effects of the endocrine-disrupting compounds bisphenol-A and octylphenol on gonadotropin secretion, in prepubertal ewe lambs.

出典：Domest Anim Endocrinol. 26(1):61-73. (2004)

チェック項目：

1. 対象生物 ( )ラット、( )マウス、( )人、(x) その他 雌子羊 (Poll Dorset lambs)
2. 影響の標的臓器 (x) 神経系、( ) 免疫系、( ) 生殖系、( ) その他 \_\_\_\_\_
3. 影響の種類 ( ) 細胞、(x) 組織、( ) 個体、( ) その他 \_\_\_\_\_
4. 曝露方法 ( ) 経口、( ) 埋め込み、その他 筋注 (i. m.)
5. 曝露時期 ( ) 胚・胎児、( ) 周産期、(x) 出生後、( ) 成熟動物、( ) 細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 3.5 mg/kg 7 weeks biweekly 6 animals per group )
7. 観察された影響の種類と濃度 (pulsatile LH secretion の低下, 3.5 mg/kg 7 weeks biweekly )
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 (x)はい：ガイドラインの名称 動物管理 Home Office licence (PPL80/1037)、( )いいえ

#### 論文の概要

4週令の雌羊6頭に3.5 mg/kg BPA (溶媒は10% alcohol in corn oil) を週2回連続7週間筋注した。5週後に卵巣切除術を施行し、卵巣重量を測定した。切除した卵巣重量に影響はなかった。手術2週間後、BPA 曝露羊の LH、FSH(卵巣刺激ホルモン)ともに正常に増加した。しかし、15分毎6時間採血し、LH pulse analysis を行った結果、LH 濃度、amplitude, frequency ともに BPA 曝露羊で、有意な値の低下が認められた。思春期以前の雌羊への BPA 曝露は gonadotrophin 分泌能や生殖機能に何らかの影響を与える可能性がある。

添付資料 Table 1, Fig. 3

評価者のコメント：BPA の他 DES (0.175 mg/kg), OP (3.5 mg/kg) についても並行実験を行っており、DES でも BPA と類似作用を観察しているが、OP については対照群とに有意の差を認めていない。本実験は、人に外挿する場合、大型哺乳動物を用いた低用量投与実験例であり無視できない結果と考えられる。筋注投与という点で、普遍妥当性は低い。彼らは、Domest Anim Endocrinol. 25:329(2003) (PMID:14652134) で、羊子宮内のエストロゲンレセプターの分布が BPA により密になり、病理組織学的所見から子宮内膜症様の浮腫が生じたという関連報告をしている。

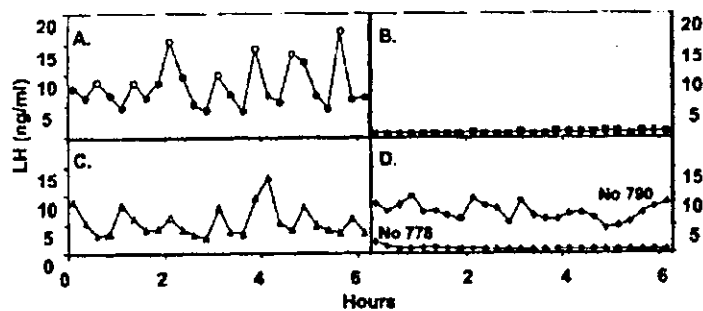


Fig. 3. LH profiles (15-min intervals, 6 h) obtained in representative animals from the 4 groups. (A) Control, (B) DES, (C) OP, (D) BPA. Open symbols indicate statistically identified pulses.

Table 1  
Mean parameters of pulsatile LH secretion

	Concentration (ng/ml)	Amplitude (ng/ml)	Frequency (pulses/6 h)
Controls	7.7 ± 1.0 a	7.1 ± 1.0 a	6.7 ± 0.3 a
DES	1.5 ± 0.5 c	1.9 ± 0.6 d	1.5 ± 0.6 c
OP	6.5 ± 0.7	8.0 ± 2.0	5.8 ± 0.5
BPA	4.0 ± 1.1 b	1.6 ± 0.4 e	2.3 ± 0.8 e

Within columns, relative to controls, a vs. b ( $P < 0.05$ ), a vs. c ( $P < 0.001$ ), a vs. d ( $P < 0.01$ ), a vs. e ( $P < 0.005$ ).

NO. 190 文献番号 : 11011959

担当者 大関一男

著者名 : C.Gupta

論文題名 : The role of estrogen receptor, androgen receptor, and growth factors in diethylstilbestrol-induced programming of prostate differentiation

出典 : Urol Res 28 : 223-229, 2000

チェック項目 :

1. 対象生物 ( )ラット、( )マウス、( )人、(x)その他 17日齢胎児前立腺 培地
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 (x)細胞、( )組織、( )個体、( )その他\_\_
4. 曝露方法 ( )経口、( )埋め込み、その他 培地への直接投与
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 BPA 50pg/mlのみ、おもに DES に関するもの)
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 (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

Diethylstilbestrol は 0.1、0.5pg/ml で、前立腺の成長、分岐をおこす、ICI164,387 の共存下ではブロックされたことにより、これらの影響は女性ホルモン依存性がある。抗アンドロゲン作用のある flutamide は成長、分岐を阻害するものの、cyproterone acetate は分岐のみを阻害するので、Diethylstilbestrol に誘発される影響には男性ホルモンの関与がある。Bisphenol-A や Diethylstilbestrol は前立腺培地の表皮成長因子 mRNA のレベルを増加させる。こうしたことから、Diethylstilbestrol による前立腺肥大は 前立腺肥大、男性ホルモン作用を介在して女性ホルモン依存性のある EGF, IGF-I 合成を伴うものであると思われる

添付資料

Fig-5,6

評価者のコメント

Diethylstilbestrol による低用量領域での前立腺への影響を調べたもので、Bisphenol-A そのものを用量依存で調べていないので、F. vom. Saal らの結果をサポートするものとしての位置づけはできないと考える。

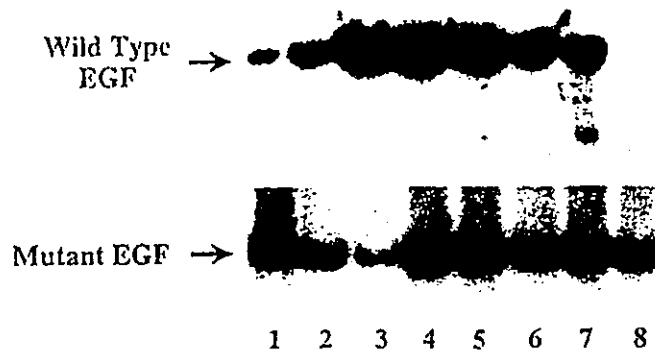


Fig. 5 RT-PCR amplification of EGF RNA in DES and bisphenol A treated 17 day old fetal prostates in culture. Polyacrylamide analysis of the PCR products: Lane 1, 2: control; Lanes 3, 4, 5: DES (0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ); Lanes 6, 7: Bisphenol A (50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), Lane 8: mutant EGF product alone. The upper band represents the amplicon from the wild type EGF RNA and the lower band represents that from the mutant EGF RNA. The average results of the densitometric analysis of these products from different specimens are as follows: Control: 4.9; DES: 15.7; and Bisphenol A: 10.2

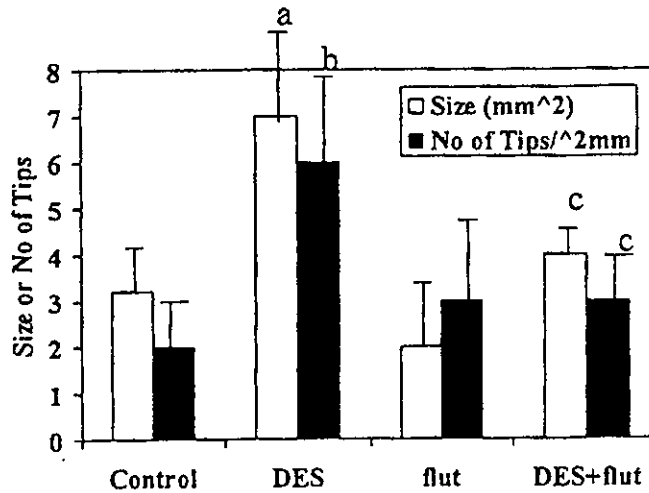


Fig. 6 Effect of flutamide on DES-induced prostate development. Flut represents flutamide (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; 4 specimens); DES represents 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  DES (4 specimens). The experiment was repeated twice. The data represent mean  $\pm$  SD; a, b  $P < 0.05$  compared to the control; c  $P < 0.05$  compared to the DES control. The symbol  $\text{mm}^2$  represents  $\text{mm}^2$

No. 33 文献番号 : 12849858

担当者 佐二木 順子

著者名 : Iida H, Maehara K, Doiguchi M, Mori T, Yamada F.

論文題名 : Bisphenol A-induced apoptosis of cultured rat Sertoli cells.

出典 : *Reprod Toxicol.* 17(4):457-64. (2003)

チェック項目:

1. 対象生物 ( )ラット、( )マウス、( )人、(x) その他 18-day-old Wister sertoli cell
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 (x) 細胞、( )組織、( )個体、( )その他 \_\_\_\_\_
4. 曝露方法 ( )経口、( )埋め込み、その他 培地添加
5. 曝露時期 ( )胚・胎児、( )周産期、( )出生後、( )成熟動物、(x) sertoli 細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 50, 100, 150, 200, 300  $\mu$ M (100  $\mu$ M は 23mg/kg))
7. 観察された影響の種類と濃度 (アポトーシス 細胞死 BPA 150-200  $\mu$ M)  
( \_\_\_\_\_ ) ( \_\_\_\_\_ )
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 ( )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 National Research Council publication, Guide for Care and Use of Laboratory Animals、( )いいえ

論文の概要

出生後 18 日の Wister ラットから得られた Sertoli cells に及ぼす BPA の影響を調べた。用量、時間依存的に細胞生存率が減少し、細胞膜の空胞化、rounding, 細胞質の崩壊、クロマチンの色度増強と分裂などが観察された。これらの所見はすべてアポトーシスの範疇に入る。変形した Sertoli cells 内の caspase 3 の活性化等が観察された。これらの結果は、BPA がアポトーシスによる Sertoli cells の細胞死を引き起こすことを示唆した。アポトーシス 細胞死が認められたのは、BPA 150-200  $\mu$ M であり、<100  $\mu$ M ではわずかに細胞毒性が認められた。

添付資料 Fig. 2, 3

評価者のコメント : *in vitro* ではあるが、低濃度 (?) の BPA が Sertoli cells (精子形成過程で栄養源を供給するとされている) にアポトーシス細胞死を引き起こすという結果は、*in vivo* で BPA の引き起こす精子生成能の低下と関連がありそうだ。

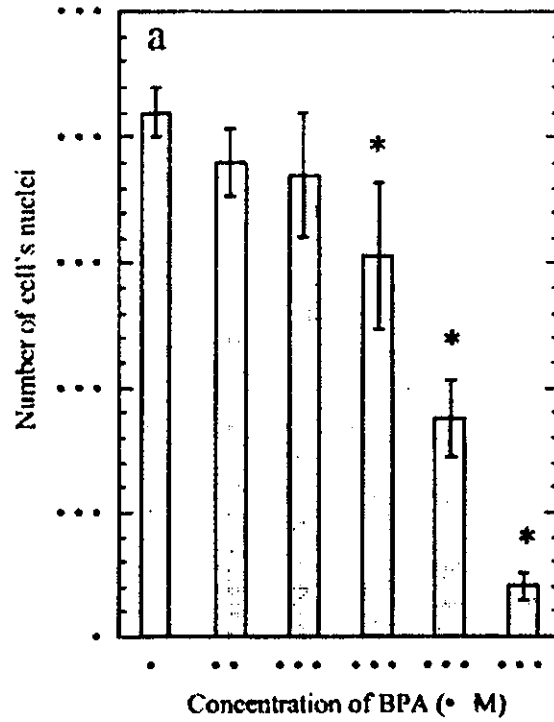


Fig. 2. Viability of cultured Sertoli cells after exposure for 48 h to various concentration of BPA. After incubation, Sertoli cells were fixed, stained with Hoechst 33342, and the numbers of cell nuclei counted. Mean  $\pm$  S.E.M. \*  $P < 0.05$  compared to 0  $\mu$ M (a).

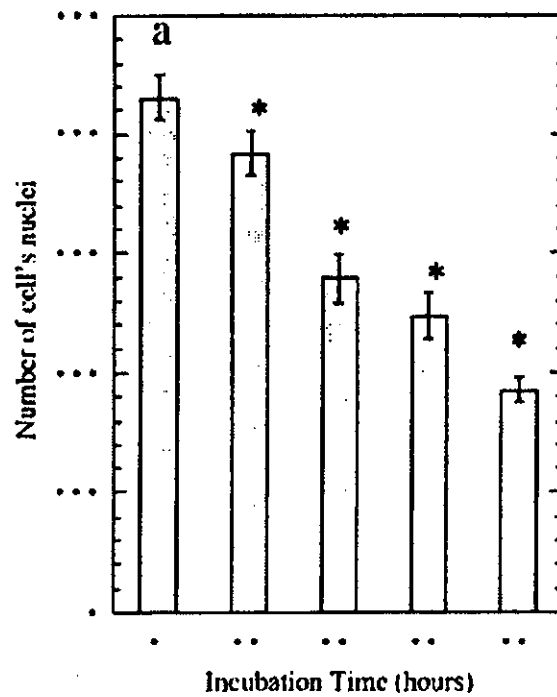


Fig. 3. Viability of cultured Sertoli cells after exposure to 200  $\mu$ M BPA for various times. After incubation, Sertoli cells were fixed, stained with Hoechst 33342, and the numbers of cell nuclei counted. Mean  $\pm$  S.F.M. \*  $P < 0.05$  compared to 0 time (a).



NO. 193 文献番号 : 10944450

担当者 井藤 悦朗

著者名 : Inadera H, Hashimoto S, Dong HY, Suzuki T, Nagai S, Yamashita T, Toyoda N, Matsushima K.

論文題名 : WISP-2 as a novel estrogen-responsive gene in human breast cancer cells.

出典 : Biochem Biophys Res Commun. 275(1):108-14, 2000.

チェック項目:

1. 対象生物 ( )ラット、( )マウス、(x)人、(x)その他 乳がん細胞 MCF-7
2. 影響の標的臓器 ( )神経系、( )免疫系、(x)生殖系、(x)その他 WISP-2
3. 影響の種類 (x)細胞、( )組織、( )個体、(x)その他 遺伝子発現
4. 曝露方法 ( )経口、( )埋め込み、その他 培養液
5. 曝露時期 ( )胚・胎児、( )周産期、( )出生後、( )成熟動物、(x)細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 1 μM)
7. 観察された影響の種類と濃度: (1 μM) ( )
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 (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 SAGE protocol、( )いいえ

論文の概要

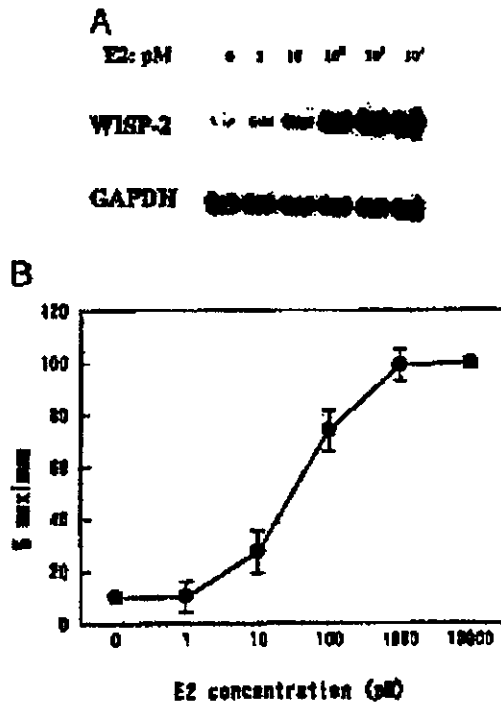
乳がん細胞 MCF-7 を用いて、ER を介した E2 反応性の遺伝子を探索し、新しく Wnt-1 誘導性の情報伝達タンパク質 2 (WISP-2) とその遺伝子を見出した。WISP-2 は E2 の濃度依存的に、また曝露時間依存的に発現が増強された。E2 の EC50 は 10-100pM の間にあると評価された。BPA (1 μM) は E2 の 1/100 程度の発現増強作用を示し、抗エストロゲン剤である ICI182,780 (1 μM) で消去された。

添付資料

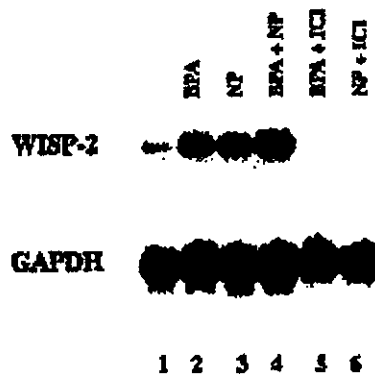
Fig 3, 5

評価者のコメント

BPA の濃度依存的影響を示していないが、BPA による ER を介した新しい伝達系への影響が示唆される。



**FIG. 3.** Dose dependence of WISP-2 induction by E2. (A) MCF-7 cells were treated for 48 h with the indicated concentrations of E2. Total RNAs were analyzed on a Northern blot using <sup>32</sup>P-labeled WISP-2 or GAPDH cDNA probe. (B) The levels of RNA were determined by densitometric analysis. Values were corrected for variations with GAPDH levels. Results are expressed as percentages of the maximum. Results are expressed as the mean  $\pm$  SD of three independent experiments.



**FIG. 5.** Northern blot analysis of WISP-2 mRNA levels after treatment with xenoestrogens. Cells were grown in medium containing 1  $\mu$ M bisphenol-A (BPA), 1  $\mu$ M nonylphenol (NP) or both for 48 h. The antiestrogen ICI 162,780 was added contemporaneously. Total RNA was then extracted, and 20  $\mu$ g total RNA were loaded into each lane. The blotted membrane was hybridized with <sup>32</sup>P-labeled WISP-2 or GAPDH cDNA probe. The WISP-2 signal was determined by densitometric analysis and was normalized to the GAPDH signal from each lane. The data expressed as percent of the lane 1 were as follows: lane 1, 100; lane 2, 612; lane 3, 628; lane 4, 888; lane 5, 0; lane 6, 0.

NO. 149 文献番号 : 11552294

担当者 川島 浩

著者名 : Kim HS, Han SY, Yoo SD, Lee BM, Park KL.

論文題名 : Potential estrogenic effects of bisphenol-A estimated by in vitro and in vivo combination assays.

出典 : J Toxicol Sci. 2001 Aug;26(3):111-8.

チェック項目:

1. 対象生物 (x)ラット(SD, ♀)、( )マウス、( )人、(x)その他ヒト乳癌 MCF-7 培養細胞
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、( )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 ( )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 (記入 1, 5, 10, 50, 100 mg/kg/day 3日連続投与)
7. 観察された影響の種類と濃度 : ( 100 mg/kg/day 3日連続投与で子宮重量増加 )  
(0.1 μM で MCF-7 細胞増殖活性 (E-screen 試験)) ( \_\_\_\_\_ )
8. 観察時期 ( )出生前、( )出生後、( )思春期、(x)成熟期(6週齢)
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 OECD 子宮重量 protocol、( )いいえ

論文の概要

BPA のエストロゲン作用について卵巣摘出ラットによる in vivo 子宮重量法にて測定したところ、100 mg/kg/day の 3 日連続投与で子宮重量の増加がみられた。一方、E2 及び DES では 0.3 μg/kg/day の 3 日連続投与で子宮重量が増加。

また、ヒト MCF-7 細胞を用いた in vitro E-screen 試験で、BPA 0.1 μM で細胞増殖による estrogen 作用を示した。作用を示した濃度は、17 β-ER や DES の 10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup> 倍の濃度に相当する。

さらにラット子宮 ER に対するレセプター結合試験で、BPA の ER に対する親和性 IC<sub>50</sub> は 5 μM で、17 β-ER や DES の IC<sub>50</sub> と比べて 5000~10000 倍高い。

添付資料

Fig. 2、Table 1

評価者のコメント: (200 字程度以下で記述) 報告の信頼性について前記項目でチェックした以外に、評価者のコメントについての注意をよく読み、気付いた点を記す。

BPA は、E2 や DES と比べ弱いながらも estrogen 作用を示したが、環境中でエポキシや PC から溶出される濃度レベルでは影響がないことを考察している。低用量問題については、vom Saal や Ashby らの文献を引用し、現在論争中であり、実験系や動物種により結果が異なることを解説している。統計処理は行われており、子宮重量法の測定も過去のデータと比較して、しっかりと考察しているなど、信頼性が高くまじめな論文と思われる。

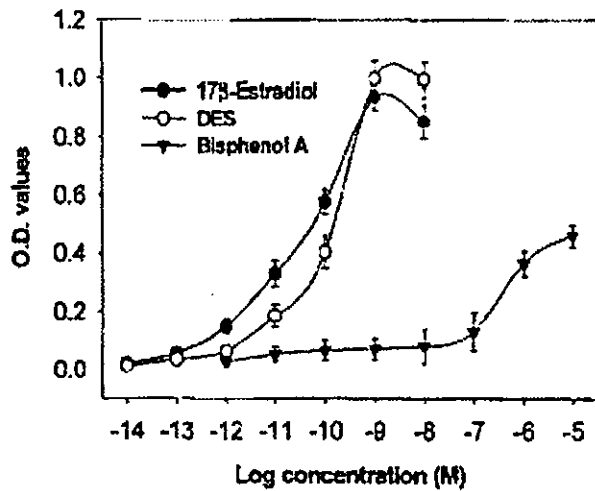


Fig. 2. Proliferation of MCF-7 cells treated with various doses of  $17\beta$ -estradiol, diethylstilbestrol, and bisphenol-A for 6 days. Proliferation yield experiment conducted in quadruplicate wells at least three times. Data represent the normalized optical density (O.D.) values measured by U.V. Spectrophotometer.

Table 1. Effects of  $17\beta$ -estradiol, DES and bisphenol-A on uterus weight in ovariectomized Sprague-Dawley females

Treatment Groups	Dosage	Uterus wet Weight (mg)	Uterus blotted weight (mg)	Vaginal weight (mg)	Body Weight (g)
Control <sup>1)</sup>	0	146.74 ± 24.21 <sup>2)</sup>	135.15 ± 18.51	99.48 ± 19.91	234.17 ± 18.51
E2	0.3 µg/kg	429.50 ± 64.78	232.28 ± 41.16	148.98 ± 15.16	228.50 ± 15.16
DES	0.3 µg/kg	235.30 ± 34.85	201.53 ± 22.49	121.65 ± 12.06	228.43 ± 12.06
BPA	1.0 mg/kg	140.42 ± 18.59	101.32 ± 14.35	97.80 ± 6.35	231.83 ± 6.35
	5.0 mg/kg	152.45 ± 18.30	124.52 ± 10.04	99.00 ± 11.78	232.67 ± 11.78
	10 mg/kg	163.38 ± 23.28	143.02 ± 19.51	104.97 ± 11.84	236.50 ± 11.84
	50 mg/kg	229.52 ± 21.73	206.33 ± 22.58*	123.48 ± 11.63*	231.67 ± 11.63*
	100 mg/kg	290.98 ± 60.59*	247.85 ± 35.73*	133.03 ± 11.04*	229.50 ± 11.04*

<sup>1)</sup> Control received corn oil containing 2.5% ethanol.

<sup>2)</sup> Data represent mean ± S.D.

\*Significant difference from control ( $p < 0.05$  by Dunnett's test).

Six animals were used per treatment groups. All animals were ovariectomized on day 6 weeks. After one week, the test substance was administered subcutaneously once a day for three consecutive days. The animals were weighed and sacrificed by dislocation 24 hr after the last treatment. The uteri and vagina were quickly removed, excised of connective tissue, and weighed.

No. 62 文献番号：12547330

担当者 佐二木 順子

著者名：Kim KB, Seo KW, Kim YJ, Park M, Park CW, Kim PY, Kim JI, Lee SH.

論文題名：Estrogenic effects of phenolic compounds on glucose-6-phosphate dehydrogenase in MCF-7 cells and uterine glutathione peroxidase in rats.

出典：Chemosphere. 50(9):1167-73.(2003)

チェック項目：

1. 対象生物 (x)ラット SD、( )マウス、( )人、(x)その他 人乳がん細胞 (MCF-7)
2. 影響の標的臓器 ( )神経系、( )免疫系、( )生殖系、(x)その他 酵素活性
3. 影響の種類 (x)細胞、(x)組織、( )個体、( )その他 \_\_\_\_\_
4. 曝露方法 ( )経口、( )埋め込み、(x)その他 皮下注射
5. 曝露時期 ( )胚・胎児、( )周産期、(x)出生後、( )成熟動物、(x)細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 BPA:20, 100, 500 mg/kg/day in corn oil, E2: 0.1, 0.3, 1  $\mu$ g/kg/day in corn oil for in vivo,  $10^{-10}$ ~ $10^{-6}$  M for cells))

7. 観察された影響の種類と濃度 (子宮重量増加：E2, 1  $\mu$ g/kg/day, BPA, 500 mg/kg/day)

(G6PD 活性増加：BPA,  $1 \times 10^{-8}$  M) (子宮内 GPx 活性増加、E2, 0.1  $\mu$ g/kg/day, BPA, 20mg/kg/day)

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 ( )はい：ガイドラインの名称 \_\_\_\_\_、(x)いいえ

論文の概要

乳がん細胞 (MCF-7) 中の glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) とラットの子宮内 glutathione peroxidase (GPx) に及ぼすフェノール化合物のエストロゲン性を調べた。  $1 \times 10^{-8}$  M 以上の BPA は濃度依存的に G6P 活性の増加を引き起こした。 In vivo での試験では、BPA, E2 (3 日間投与) とともに未成熟ラットの子宮重量を増加させ、子宮内 GPx 活性を驚異的に増加させた。子宮内 GPx 活性の変化は未成熟ラットの重量変化より高感度なパラメーターになりうる。

添付資料 Fig. 2, 3 Table 1

評価者のコメント：

nonylphenol (NP), octylphenol (OP), propylphenol (PP) についても実験を行っている。 NP では BPA と同程度のエストロゲン作用が確認されているが、OP, PP の作用は低い。本実験によると、BPA の子宮に対するエストロゲン作用は E2 の 1/200,000 である。 E2 と比べると、エストロゲン性は低い、他のフェノール物質とくらべると高い。 BPA が子宮や細胞にエストロゲン性を示す結果は、これまで発表されている結果と矛盾するものではない。

Table 1  
The effect of E2, BPA, NP, OP, and PP on uterine wet weights and body weights in immature female rats

Compound	Dose (mg/kg)	No. of animal	Body weights (g)		Uterus wet weight	
			Initial	Terminal	Absolute (mg)	Relative
Corn oil	Control	12	49.8 ± 5.33*	55.2 ± 7.60	56 ± 1.2	105 ± 3.4
17β-Estradiol	0.0001	12	51.5 ± 6.22	56.3 ± 6.70	56 ± 2.3	98 ± 2.7
	0.0003	12	48.7 ± 5.10	51.9 ± 6.83	65 ± 1.6	123 ± 3.1
	0.001	12	48.8 ± 7.51	51.0 ± 7.19	108 ± 2.1**	217 ± 4.0**
Bisphenol A	20	12	48.2 ± 5.66	52.6 ± 4.10	56 ± 0.9	105 ± 1.9
	100	12	50.1 ± 4.52	54.4 ± 6.82	67 ± 2.2	131 ± 3.0
	500	12	51.3 ± 4.88	55.0 ± 5.12	95 ± 1.8**	170 ± 3.2**
Corn oil	Control	12	44.8 ± 4.04	48.9 ± 3.76	37 ± 1.7	78 ± 3.9
4-Nonylphenol	20	8	42.3 ± 3.89	46.9 ± 4.18	58 ± 2.2	102 ± 2.4
	100	8	45.1 ± 4.01	47.3 ± 3.91	59 ± 1.2	126 ± 4.5
	500	8	42.1 ± 3.98	42.0 ± 4.05	81 ± 1.9**	194 ± 5.0**
4-Octylphenol	20	8	44.8 ± 3.51	46.6 ± 3.76	37 ± 0.9	80 ± 1.6
	100	8	42.4 ± 3.99	45.7 ± 4.78	46 ± 0.7	102 ± 2.1
	500	8	40.2 ± 3.81	45.8 ± 3.53	53 ± 1.0	115 ± 2.2
4-Propylphenol	20	8	42.3 ± 4.05	44.9 ± 4.29	45 ± 1.4	99 ± 3.1
	100	8	43.9 ± 4.21	46.7 ± 4.61	44 ± 0.9	94 ± 1.4
	500	8	41.6 ± 5.23	44.1 ± 5.89	44 ± 0.9	99 ± 2.0

\*\* Significantly different from the control value,  $P < 0.01$ .

\* Mean ± S.D.

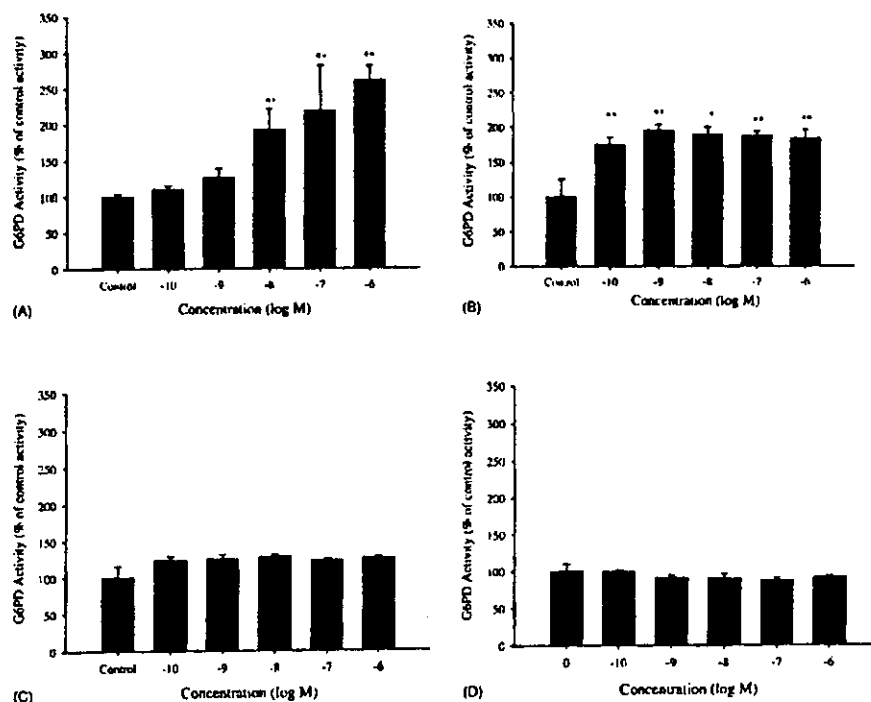


Fig. 2. Effects of phenolic compounds on G6PD activity in MCF-7 cells. G6PD activity was measured in MCF-7 cells in the presence of BPA (A), NP (B), OP (C), and PP (D). Results are presented as % of control activity, and are expressed as the mean ± S.D. of four wells. \*\*  $P < 0.01$  (versus control value).

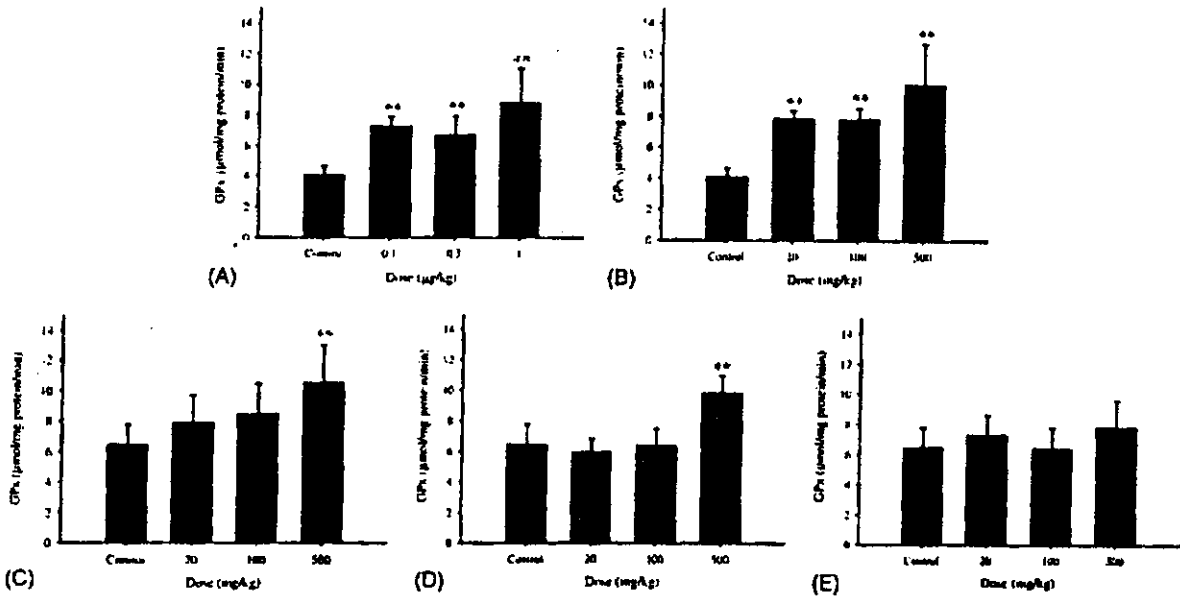


Fig. 3. Uterine GPx activity in immature rats. Uterine GPx activity was determined from uterus of immature rats subcutaneously treated with E2 (A), BPA (B), NP (C), OP (D), and PP (E) for 3 consecutive days. Results are expressed as the mean  $\pm$  S.D. \*\* $P < 0.01$  (versus control value).

NO. 211 文献番号: 10706531

担当者 内田 康一

著者名: Long X, Steinmetz R, Ben-Jonathan N, Caperell-Grant A, Young PC, Nephew KP, Bigsby RM.

論文題名: Strain differences in vaginal responses to the xenoestrogen bisphenol A.

出典: Environ Health Perspect. 2000 Mar;108(3):243-7.

チェック項目:

1. 対象生物  雌ラット、 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 腹膜腔内注射(ip)
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 0.2, 20, 40, 75, 150 mg/kg/bw … (詳細未記載のためFigからの読み取值))
7. 観察された影響の種類と濃度  
(膈表皮細胞におけるDNA合成レベル促進: 0.2 mg/kg bw)
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 Indiana Univ. Animal Care and Use Committee、 いいえ

論文の概要

Fishcer344 ラット (F344) では、BPA 投与後の血中 prolactin レベルが直ちに上昇するが、Sprague-Dawley (S-D) ラットではそのような現象は生じないことが報告されている。本報では、この両系統ラットにおける BPA へのレスポンス差異を比較検討した。BPA を腹膜腔内注入し、膈表皮細胞における DNA 合成促進作用を調べたところ、F344 ラットでは促進 (50% effective dose (EC50) が 37.5 mg/kg bw) されたが、S-D ラットでは影響は無かった。E2 (17 $\beta$ -estradiol) に対する DNA 合成への影響 (EC50 値) は両ラット間で差は無く、BPA の約 3 倍の促進作用があった。その他、血中 BPA 濃度の経時変化、膈 ER と E2 との親和性、エストロゲンにより敏感に発現誘導される *c-fos* 遺伝子の誘導レベルについて比較検討したが、いずれも両系統ラット間での差異は無かった。

添付資料

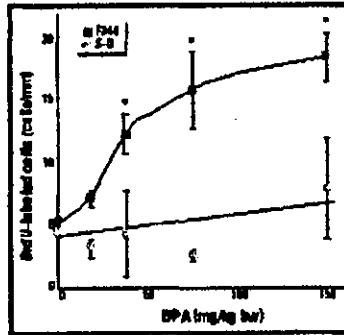
Fig. 1, Fig. 2

評価者のコメント

本報では、低用量問題に直接関係するデータが提示されているわけではないが、ラットへ投与した物質による生体内の様々なレスポンスは、ラット系統により感受性が大きく異なり、また物質によりそのレスポンスパターンが異なる結果が具体的に示されており、重要な報告である。

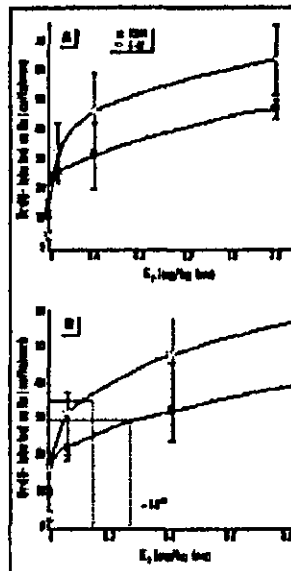


was no strain difference in the vaginal DNA synthetic response. Although there was a slight difference in the magnitude of the effect (the S-D rats had a higher number of labeled cells), the response was approximately the same in each strain (Figure 2). It was found that the maximal effect of BPA in F344 rats was approximately the maximal effect of  $E_2$  (compare Figures 1 and 2).



**Figure 1.** DNA synthetic response to BPA in vaginal epithelia of F344 and S-D rats. Ovariectomized adult rats were treated with BPA at the indicated doses and with BrdU 20 hr later. Values shown are mean  $\pm$  SE;  $n = 3-5$ . F344 data from Steinmetz et al. (2).

\* $p < 0.05$  vs. control.



**Figure 2.** DNA synthetic response to  $E_2$  in vaginal epithelia of F344 and S-D rats. (A) DNA synthetic dose response. (B) Expanded view of the low end of the dose-response curve to allow estimation of the  $ED_{50}$  values. Values shown are mean  $\pm$  SE;  $n = 3-5$ . Ovariectomized rats were treated with the indicated dose of  $E_2$  and with BrdU 20 hr later.

NO. 203 文献番号: 10828501

担当者 中西 義則

著者名: Mehmood Z, Smith A G, Tucker M J, Chuzel F, Carmichael N G

論文題名: The development of methods for assessing the in vivo oestrogen-like effects of xenobiotics in CD-1 mice.

出典: Food and Chemical Toxicology 38, 493-501(2000)

チェック項目:

1. 対象生物 ( )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、(x) 組織、( ) 個体、( ) その他\_\_\_\_\_
4. 曝露方法 ( ) 経口、(x) 埋め込み、その他\_\_\_\_\_
5. 曝露時期 ( ) 胚・胎児、( ) 周産期、(x) 出生後、( ) 成熟動物、( ) 細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (0.01, 0.1, 1, 10, 100 mg/kg/day, 3day )
7. 観察された影響の種類と濃度: (BPA では影響なし) (DES では0.1  $\mu$ g/kg/day ; 子宮重量、子宮内腔上皮 BrdUラベル係数、peroxidase 活性、及び lactoferrin 発現)
8. 観察時期 ( ) 出生前、(x) 出生後、( ) 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

21日齢のメス CD-1 マウスに BPA (0.01~100mg/kg/day)、DES (0.1  $\mu$ g/kg/day~25mg/kg/day)、 $\alpha$ -zearanol (0.5~25mg/kg/day)、及び methoxychlor (0.5~500mg/kg/day) を3日間経皮投与し、子宮重量、子宮内腔上皮 bromodeoxyuridine (BrdU)ラベル係数、peroxidase 活性、及び lactoferrin 発現について用量相関の作用を調べた。DES では全試験用量で子宮重量及び他の指標に用量相関のある影響が見られ、 $\alpha$ -zearanol、methoxychlor でも同様であった。一方、BPAでは全ての項目について用量相関のある影響は見られなかった。

添付資料

評価者のコメント

論文中に低用量の表現はないが、試験用量からは低用量での作用有無を調べる意図が推測される。子宮重量及び組織病理学検査だけでなく、uterotrophic 作用に関する3つの要素についても影響を調べ、DES等ではそれらへの影響と子宮重量への影響に相関があることを見出している。いずれの項目についてもBPAでは用量相関のある影響が見られず、本報告ではBPAの低用量作用は確認されなかった。対照DESや他物質では明確な用量相関のある結果を得ており、試験の信頼性は高いと思われる。

NO. 136 文献番号 : 11748570

担当者 川島 浩

著者名 : Miyagawa S, Buchanan DL, Sato T, Ohta Y, Nishina Y, Iguchi T.

論文題名 : Characterization of diethylstilbestrol-induced hypospadias in female mice.

出典 : Anat Rec. 2002 Jan 1;266(1):43-50.

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、(x)組織、( )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 ( )胚・胎児、( )周産期、(x)出生後、( )成熟動物、( )細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 300  $\mu$ g/day 5日間連続投与)
7. 観察された影響の種類と濃度 (300  $\mu$ g/dayで尿道下裂、膈上皮の多層化は見られず)  
( ) ( )
8. 観察時期 ( )出生前、(x)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 : NIH 実験動物取扱いガイドライン、( )いいえ

論文の概要

出生直後の雌マウスへのDES投与による尿道下裂を誘起するメカニズムと形態変化を調べることを目的とし、比較としてBPA投与による影響を調べたが、BPA300  $\mu$ g/day、5日間連続の皮下投与では尿道下裂や膈上皮の多層化は見られなかった。一方、DES投与では0.03  $\mu$ g/day、5日間連続投与で尿道下裂が起きた。

添付資料

特になし

評価者のコメント

DESによる尿道下裂のメカニズムと臨界期及びDESの臨界濃度を調べることを目的にした論文であり、BPAは比較物質として1用量、5匹だけの試験結果で、評価するには用量数、動物数とも不足していると思う。

NO. 188 文献番号 : 11021515

担当者 大関一男

著者名 : TK.Monsees, M.Franz, S.Gebhardt, U.Winterstein, WB.Schill, J.Hayatpour

論文題名 : Sertoli cells as a target for reproductive hazards

出典 : Andrologia 32 : 239-246, 2000

チェック項目 :

1. 対象生物 ( )ラット、( )マウス、( )人、(x) その他 18-21日齢雄 Sprague Dawley  
ラットからのセルトリ細胞を使用
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 (x)細胞、( )組織、( )個体、( )その他 \_\_\_\_\_
4. 曝露方法 ( )経口、( )埋め込み、その他 培地への直接投与
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 8、12、25、50  $\mu$ M)
7. 観察された影響の種類と濃度 : ( セルトリ細胞による lactate の生成で、50  $\mu$ M で30%増  
加、インヒビンBの分泌は8  $\mu$ M でも増加を示す)
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、(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 ( )はい : ガイドラインの名称 \_\_\_\_\_、(x)いいえ

論文の概要

Bisphenol-A は50  $\mu$ M でもセルトリ細胞の生存度には影響しないが、セルトリ細胞による lactate の生成で、50  $\mu$ M で30%増加、インヒビンBの分泌は8  $\mu$ M でも増加を示した。Bisphenol-A 以外に DDT、リンデン、エチニルエストラジオールを使用し、同様な試験を実施。未成熟ラットのセルトリ細胞による lactate、インヒビンBの分泌はセルトリ細胞への毒性を調べる際のマーカーになることを報告。

添付資料

Fig1、2、4

評価者のコメント

この研究では、DDT、リンデン、重金属(プラチナ; II、IV)、(水銀; II)を検討しており、これらは、有害性が見られない濃度でインヒビンの分泌を阻害することが明らかにされている。