

Figure 1. Immature Sertoli cells were exposed for 24 h to several pesticides (a), oestrogens (b) or heavy metals (c). Mitochondrial dehydrogenase activity, which was used as a marker for cell viability, was determined by MTT assay. Values are mean \pm SD for duplicate determinations of eight individual wells ($n=8$). ***Indicates significant differences from the respective control values at $P<0.001$; **indicates $P<0.01$; *indicates $P<0.05$.

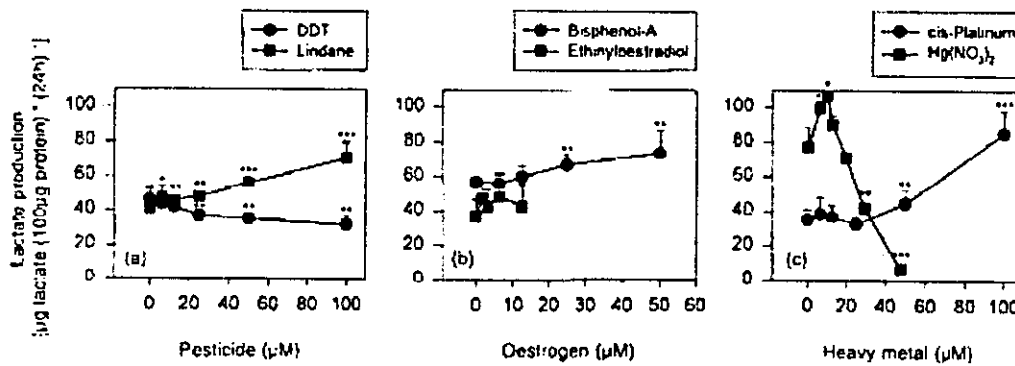


Figure 2. Lactate production by immature Sertoli cells exposed for 24 h to several pesticides (a), oestrogens (b) or heavy metals (c). Values are mean \pm SD for duplicate determinations of eight individual wells ($n=8$). ***Indicates significant differences from the respective control values at $P<0.001$; **indicates $P<0.01$; *indicates $P<0.05$.

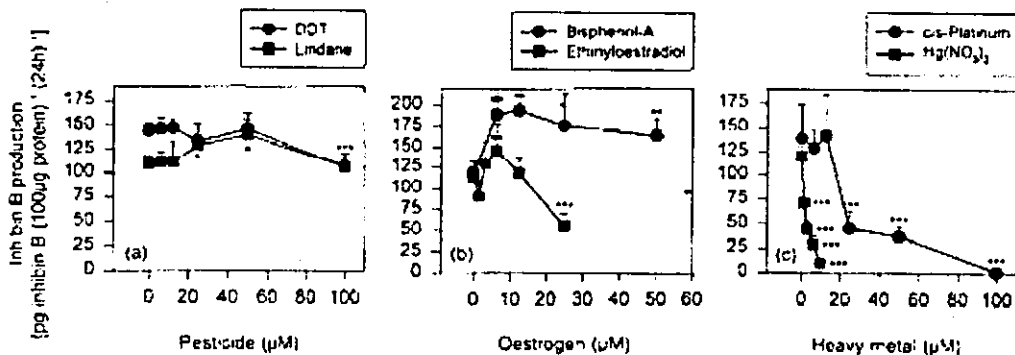


Figure 3. Inhibin B production by immature Sertoli cells exposed for 24 h to several pesticides (a), oestrogens (b) or heavy metals (c). Values are mean \pm SD for duplicate determinations of eight individual wells ($n=8$). ***Indicates significant differences from the respective control values at $P<0.001$; **indicates $P<0.01$; *indicates $P<0.05$.

NO. 126 文献番号：11890520

担当者 迫田篤信

著者名：DG Moon, DJ Sung, YS Kim, J Cheon, JJ Kim

論文題名：Bisphenol A inhibits penile erection via alteration of histology in the rabbit

出典：International Journal of Impotence Research 13, (2002) 309-316

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、()その他 ウサギ
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 腹腔内注射
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 (150 mg/kg 隔日6回)
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 ()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

New Zealand white rabbit に一日おきに 150 mg/kg の bisphenol A を腹腔内投与。(総投与量 900 mg/kg)。投与4週間及び8週間後、海綿体の組織片の緊張と緩和がコントロール群に比べて抑制された。組織的变化としては、白膜の厚化、脂肪の沈着と小柱の平滑筋量の増加を伴う洞様空間の減少が観察された。bisphenol A は組織を変質させることで、ウサギのペニスの勃起を阻害する可能性が示唆された。

添付資料：

なし

評価者のコメント

150 mg/kg の腹腔内投与であり、低用量効果とは関係がない。
女性ホルモンでも同様の影響があるのか記載するべきである。

No. 99 文献番号: 12075121

担当者 根岸 隆之

著者名: Naciff JM, Jump ML, Torontali SM, Carr GJ, Tiesman JP, Overmann GJ, Daston GP.

論文題名: Gene expression profile induced by 17alpha-ethynyl estradiol, bisphenol A, and genistein in the developing female reproductive system of the rat.

出典: Toxicol Sci. 2002 Jul;68(1):184-99.

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、()その他 _____
3. 影響の種類 ()細胞、(x)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 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 5, 50, 400 mg/kg/day GD11-20)
7. 観察された影響の種類と濃度: (_____)
(_____) (_____)
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 Procter and Gamble's animal
care-approved protocol, NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals、()いいえ

論文の概要

SD ラットにおいて妊娠 11 日目から 20 日目まで BPA を毎日皮下投与 (0, 5, 50, 400mg/kg/day) 行った後、胎仔 (GD20) の子宮卵巣における遺伝子発現変化を oligoDNA microarray を用いて検討した (ethynyl estradiol (EE) を陽性対照、さらに genistein も検討している)。その結果、microarray に搭載されている総計約 8740 遺伝子のうち何れかの濃度の BPA によって発現変動した遺伝子は 397、その中で、発現変化に有意な用量依存性をみせたのは 35 遺伝子であった。また 66 遺伝子は 3 つのエストロジェン化合物で同様の発現変化を示した。また BPA のみで発現変化する遺伝子も存在した。このように化学物質による遺伝子発現変化の finger print を得ることは様々な化学物質のエストロジェン様作用を予測するための有用な情報となる。

添付資料: 特になし

評価者のコメント: 筆者達は包括的に検討することを旨としているため、BPA5mg/kg/day 群で有意に変化した遺伝子云々と議論していないため、低用量作用の評価という点では除外される論文である。しかし、その数は少ないが EE と異なる遺伝子が BPA により発現変化することは BPA のエストロジェン様作用以外の活性の存在を示唆する。

著者名：Nativelle-Serpentini C, Richard S, Seralini GE, Sourdain P.

論文題名：Aromatase activity modulation by lindane and bisphenol-A in human placental JEG-3 and transfected kidney E293 cells.

出典：Toxicol In Vitro. 17(4):413-22.(2003)

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他(細胞(JEG-3(ヒト Placenta), E293(ヒト Kidney))) _____
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 培養液暴露
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 25, 50, 100 μ M)
7. 観察された影響の種類と濃度 (25 μ M BPA:Aromatase 活性の一過性の上昇、その後減少) () _____
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

BPA の細胞毒性、CYP19(Aromatase)の活性、およびその mRNA 発現レベルに対する影響をヒト胎盤由来細胞株 JEG-3 と遺伝子導入により CYP19 を発現させたヒト胎児腎臓由来 E293 について検討した。BPA(25, 50, 100 μ M)暴露による細胞毒性は見られなかった(MTT アッセイ)。BPA(25, 50, 100 μ M)暴露によって6時間以内に aromatase 活性が一過性に上昇し、それ以降(18時間後)は減少した。CYP19mRNA 発現レベルには影響を与えなかった(25 μ M JEG-3, 100 μ M E293)。

添付資料:特になし

評価者のコメント: 本論文の要である BPA による一過性の aromatase 活性上昇は濃度が低いほど短時間で出現し、この間は直線的濃度依存性はなく U 字を描いていると筆者らは強調している。本論文における最低濃度は 25 μ M であることを考えると、低用量効果について論じるためには、より低濃度での実験、活性上昇の機序(ER 依存?その他)の解明等さらなる実験が望まれる。

No. 147 文献番号：11568360

担当者 根岸 隆之

著者名：Papaconstantinou AD, Fisher BR, Umbreit TH, Goering PL, Lappas NT, Brown KM.

論文題名：Effects of beta-estradiol and bisphenol A on heat shock protein levels and localization in the mouse uterus are antagonized by the antiestrogen ICI 182,780.

出典：Toxicol Sci. 2001 Oct;63(2):173-80.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、(x) マウス (B6C3F1(卵巣摘出))、() 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 遺伝子発現
4. 曝露方法 () 経口、() 埋め込み、その他 皮下投与4日連続
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 E2:0.02, 0.2, 2, 20mg/kg/day BPA:1, 10, 40, 100, 400mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度：(1mg/kg/dayBPA grp94 タンパク発現を上昇)
(10mg/kg/dayBPA hsp90αタンパク発現を上昇) (40mg/kg/dayBPA hsp72 タンパク発現を上昇)
(100mg/kg/dayBPA hsc73 タンパク発現を上昇)
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 ()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 NIH、()いいえ

論文の概要

B6C3F1 卵巣摘出マウスにおける BPA(1, 10, 40, 100, 400mg/kg/day)4日連続皮下投与が子宮の hsp72, hsp90a, grp94, hsc73 のタンパク発現に与える影響について E2 を陽性コントロールとして検討した。各遺伝子発現に関しての濃度依存性は項目 7 にあるとおりでである。E2 にくらべると影響は小さかった。以降は最も感度の高かった hsp90a について用量依存性でピークを示した 100mg/kg/day BPA および 2µg/kg/day E2 についてのみ検討している。コントロール群子宮において hsp90a は主として上皮細胞の核および細胞質に存在するのに対し、BPA および E2 曝露により間質細胞および筋層に発現が見られるようになり、上皮細胞においても主として細胞質に局在を示した。これらの効果はエストロゲン受容体アンタゴニストである ICI182,720 の同時投与により消失した。

添付資料：Fig. 1.

評価者のコメント：

grp94 タンパク発現は 1mg/kg/day で上昇したが、筆者はもっとも上昇率の高かった hsp94a についてピークを示した 100mg/kg/dayBPA 曝露で検討しているので後半は低用量作用の議論に適さない。5mg/kg/day 以下で同様の効果が見られるのか否かの検討が望まれる。またこれらの発現変化が子宮重量増加の原因となりうるのか、またこの実験系で子宮重量の変化があったのか等は不明。

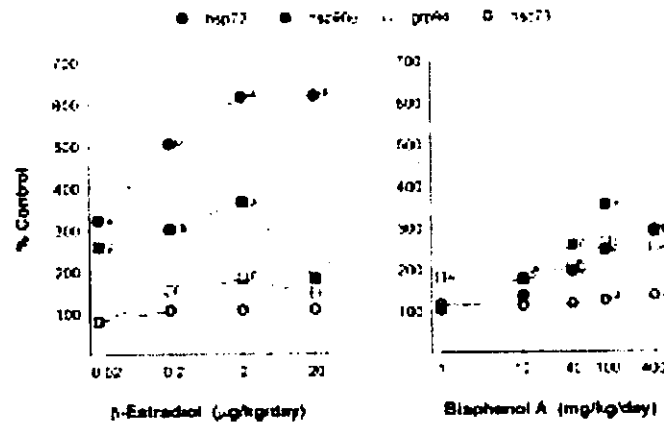


FIG. 1. Effects of β -estradiol (E_2) or bisphenol A (BPA) on the induction of the heat shock proteins hsp72, hsp90 α , grp94, and hsc73 in uteri of B6C3F1 mice. Animals were treated sc with corn oil (control), 0.02, 0.2, 2, or 20 μ g E_2 /kg/day or with 1, 10, 40, 100, or 400 mg BPA/kg/day for 4 days. Uteri were removed on the fifth day, homogenized and centrifuged at 15,000 \times g. Heat shock proteins present in the supernatant were electrophoretically separated on SDS-PAGE gels and detected by Western analysis. Graphs represent the average of 2 values obtained by densitometric analysis of blots of 2 different samples per treatment and are expressed as % of control levels. Standard deviations did not exceed 28% of the value for any protein at any treatment. *Significant differences from control for hsp72, hsp90 α , grp94, and hsc73, respectively, as determined by one-way ANOVA and the Dunnett's post-hoc test ($p < 0.05$).

NO.195 文献番号 : 10910991

担当者 大関一男

著者名 : AD.Papaconstantinou, TH.Umbreit, BR.Fisher, PL.Goering, NT.Lappas, KM.Brown

論文題名 : BisphenolA-induced increase in Uterine weight and alterations in uterine morphology in ovariectomized B6C3F1 mice; role of the estrogen receptor

出典 : Toxicological Science 56 : 332-339, 2000

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、(x)マウス、()人、()その他 卵巣摘出マウス B6C3F1
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、(x)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 0.02, 0.8, 2, 8 mg/day 4日 n=10)
7. 観察された影響の種類と濃度 (2mg/day で内腔上皮長の増加、子宮内膜厚の増加が誘発される)
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

卵巣摘出マウス B6C3F1 を使って、子宮重量及び組織形態への Bisphenol-A の影響を調査。2mg/day で内腔上皮長の増加、子宮内膜厚の増加が誘発される。一方、200 μ g/day の ICI182,780 を共投与すると、コントロールレベルに戻った。これより、Bisphenol-A による子宮重量増加、内腔上皮長の増加は女性ホルモン受容体の介在によるものと判断する

添付資料 (文献の内容を理解する上で重要な図表)。

Table 1、2

Fig 2

評価者のコメント

子宮重量増加は、0.8, 2, 8mg/day で統計学的に有意に観察されるが、内腔上皮長の増加、子宮内膜厚の増加は 2, 8mg/day となる。女性ホルモン受容体介在を示唆する貴重な情報といえる

TABLE 1
Effects of β -Estradiol (E_2) Alone or in Combination with ICI 182,780 (ICI) on Uterine Wet Weight in the Ovariectomized B6C3F1 Mouse

Study no.	Treatment	No. of animals	Mean uterus wet wt (mg) \pm SD
1	Corn oil	16	7.36 \pm 2.99
	E_2 , 0.4 ng/day	10	8.85 \pm 3.14
	E_2 , 4 ng/day	10	16.66 \pm 3.83*
	E_2 , 40 ng/day	10	52.41 \pm 5.70**
	E_2 , 400 ng/day	9	60.49 \pm 10.84*
2	Corn oil	10	9.88 \pm 1.78
	E_2 , 0.4 ng/day	9	10.82 \pm 3.09
	E_2 , 4 ng/day	7	15.89 \pm 2.13
	E_2 , 40 ng/day	8	52.44 \pm 7.24*
	E_2 , 400 ng/day	7	52.01 \pm 8.82*
3	Corn oil	8	8.75 \pm 2.50
	E_2 , 40 ng/day	8	45.84 \pm 7.29*
	E_2 , 40 ng/day + ICI, 2 μ g/day	8	43.01 \pm 3.32*
	E_2 , 40 ng/day + ICI, 20 μ g/day	8	11.32 \pm 2.30**
	ICI, 2 μ g/day	7	8.99 \pm 1.71
	ICI, 20 μ g/day	7	6.42 \pm 1.71

*Statistically significant difference from control (corn oil) as determined by one way ANOVA and the Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.01$).

**Statistically significant difference from E_2 as determined by one way ANOVA and the Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.01$).

TABLE 2
Effects of Bisphenol A (BPA) Alone or in Combination with ICI 182,780 (ICI) on Uterine Wet Weight in the Ovariectomized B6C3F1 Mouse

Study no.	Treatment	No. of animals	Mean uterus wet wt (mg) \pm SD
4	Corn oil	15	9.72 \pm 1.97
	BPA, 0.02 mg/day	14	10.27 \pm 2.11
	BPA, 0.8 mg/day	9	13.66 \pm 2.11
	BPA, 2 mg/day	10	15.39 \pm 2.11
	BPA, 8 mg/day	10	15.37 \pm 2.30
	E_2 , 64 ng/day	10	51.18 \pm 6.51
5	Corn oil	15	8.07 \pm 1.52
	BPA, 0.02 mg/day	9	7.27 \pm 0.91
	BPA, 0.2 mg/day	10	8.29 \pm 1.20
	BPA, 0.8 mg/day	10	10.88 \pm 2.02
	BPA, 2 mg/day	10	11.59 \pm 2.40
	BPA, 8 mg/day	9	15.76 \pm 2.55
6	Corn oil	14	4.54 \pm 0.83
	E_2 , 40 ng/day	10	36.07 \pm 2.80
	BPA, 2 mg/day	10	7.82 \pm 1.46
	BPA, 2 mg/day + ICI, 20 μ g/day	9	7.24 \pm 1.36
	E_2 , 40 ng/day + ICI, 200 μ g/day	10	6.58 \pm 1.06
7	Corn oil	10	6.58 \pm 1.06
	E_2 , 40 ng/day	10	47.34 \pm 10.18
	BPA, 2 mg/day	10	12.42 \pm 1.84
	BPA, 2 mg/day + ICI, 200 μ g/day	10	8.16 \pm 1.75
	ICI, 200 μ g/day	10	8.03 \pm 2.04

*Statistically significant difference from control (corn oil) as determined by one way ANOVA and the Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.05$).

**Statistically significant difference from control (corn oil) as determined by one way ANOVA and the Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.01$).

***Statistically significant difference from BPA as determined by one way ANOVA and the Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.01$).

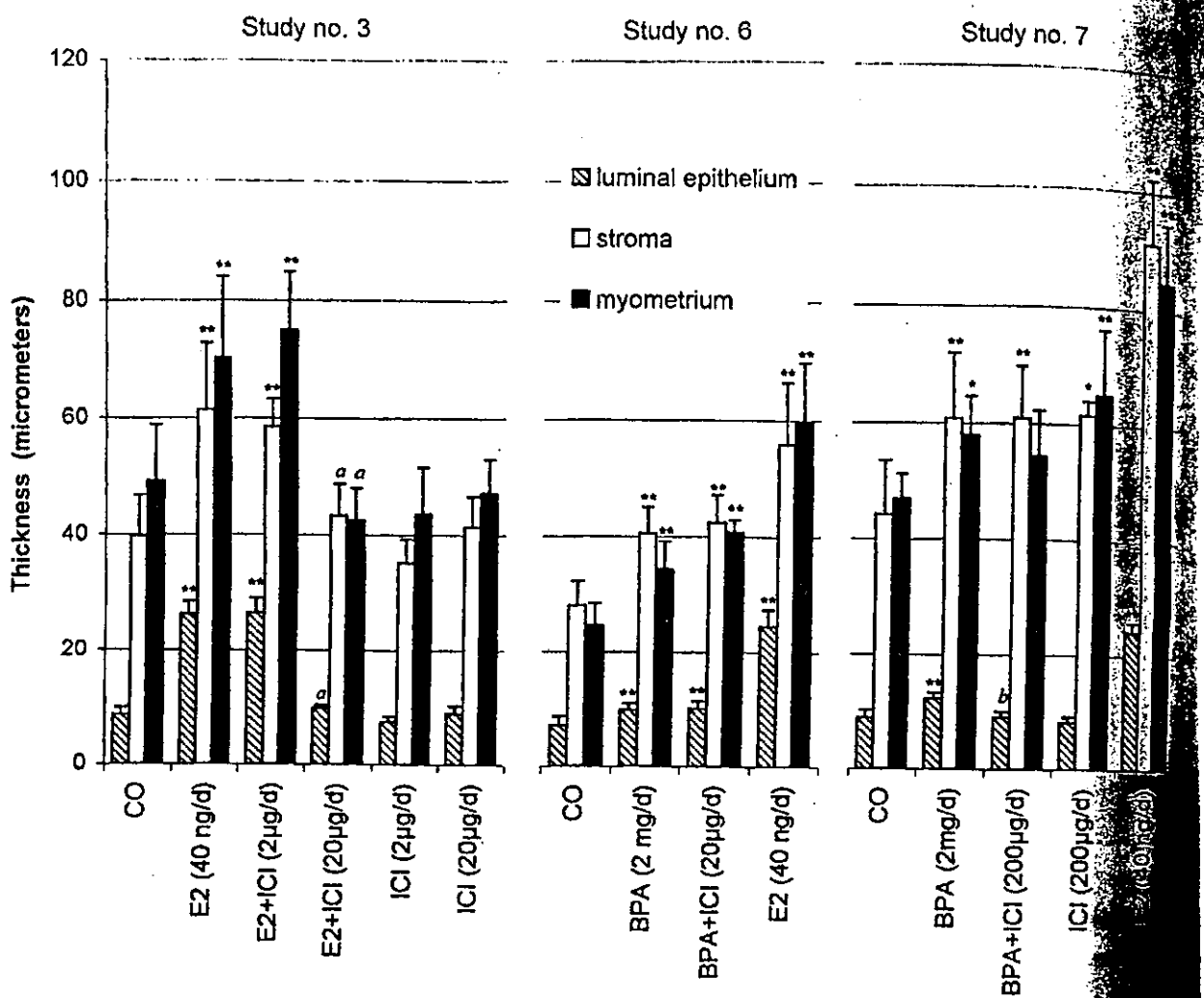


FIG. 2. Effects of ICI 182,780 (ICI) on β -estradiol (E_2)- and bisphenol A (BPA)-induced increases in luminal epithelium cell height and in the thickness of the stroma and myometrium of the uterus of ovariectomized B6C3F1 mice. Animals were treated with corn oil (CO, control), 40 ng E_2 /day, 2 mg BPA/day, or ICI (2, 20, 200 μ g/day), or were co-treated with BPA or E_2 and ICI. ***Statistically significant difference from control (CO) as determined by one way ANOVA and the Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). **Statistically significant difference from E_2 or BPA, respectively, as determined by one way ANOVA and the Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.01$).

NO. 91 文献番号 : 12190913

担当者 関澤 純

著者名 : Pulgar R, Segura-Egea JJ, Fernandez MF, Serna A, Olea N

論文題名 : The effect of AH 26 and AH Plus on MCF-7 breast cancer cell proliferation in vitro

出典 : International Endodontic Journal, 35, 551-556, 2002

チェック項目

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 細胞
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 直接
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 (1, 10, 100, 100 nM)
7. 観察された影響の種類と濃度
(MCF-7 ヒト乳がん培養細胞の増殖)
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

歯科充填材に用いられるポリマー成型に使われる BPA と Glycidyl methacrylate からなる 2 種類のモノマーのエストロゲン活性を MCF-7 ヒト乳がん培養細胞の増殖により観察。モノマーレジン粉末のうち一方は estradiol の 100 倍濃度で増殖活性を示したが、他方は 10,000 倍濃度でも活性を示さなかった。

添付資料

評価者のコメント

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。インビトロ試験であり、低用量影響評価には使えない。

NO. 125 文献番号 : 11896564

担当者 迫田篤信

著者名 : G.Schonfelder, B.Flick, E. Mayr, C.Talsness, M.Paul, I.Chahoud

論文題名 : In Utero Exposure to Low Doses of Bisphenol A Lead to Long-term Deleterious Effects in the Vagina

出典 : Neoplasia, 4, No.2, (2002), 98-102

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、()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、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (0.1 mg/kg, 50 mg/kg)
7. 観察された影響の種類と濃度
(発情期の膈厚化抑制 : 0.1 mg/kg)
(_____)
(_____)
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

0.1mg/kg 及び 50 mg/kg の bisphenol A を妊娠SDラットに強制経口投与した。ポジティブコントロールとして 0.1 mg/kg の E2 を投与した。投与期間は妊娠 6 日から 21 日。成熟後の膈の形態を観察。bisphenol A, E2 投与グループは発情期にも膈の肥厚化が起こらない。発情期の bisphenol A 投与群では膈に ER α の 64 kDa (フルレングス) の成分が発現していない。非発情期ではコントロールと ER α の発現に差はない。

添付資料

Fig 1

評価者のコメント

50 mg/kg が生殖影響の NOAEL とされているので、0.1 mg/kg と 50 mg/kg で膈形態への影響を調べた。50 mg/kg で、生殖腺に影響があるとの報告は他にない。又、0.1 mg/kg と 50 mg/kg が同じ影響であること、E2 の 0.2 mg/kg と BPA の 0.1 mg/kg とが同様の影響を示すことなど納得しがたい結果である。投与した母動物数、各 litter から何匹の子を取ったかについても記載がない。結果について統計解析もされておらず、典型的影響のみが報告されている。信頼性はあまり高くない。

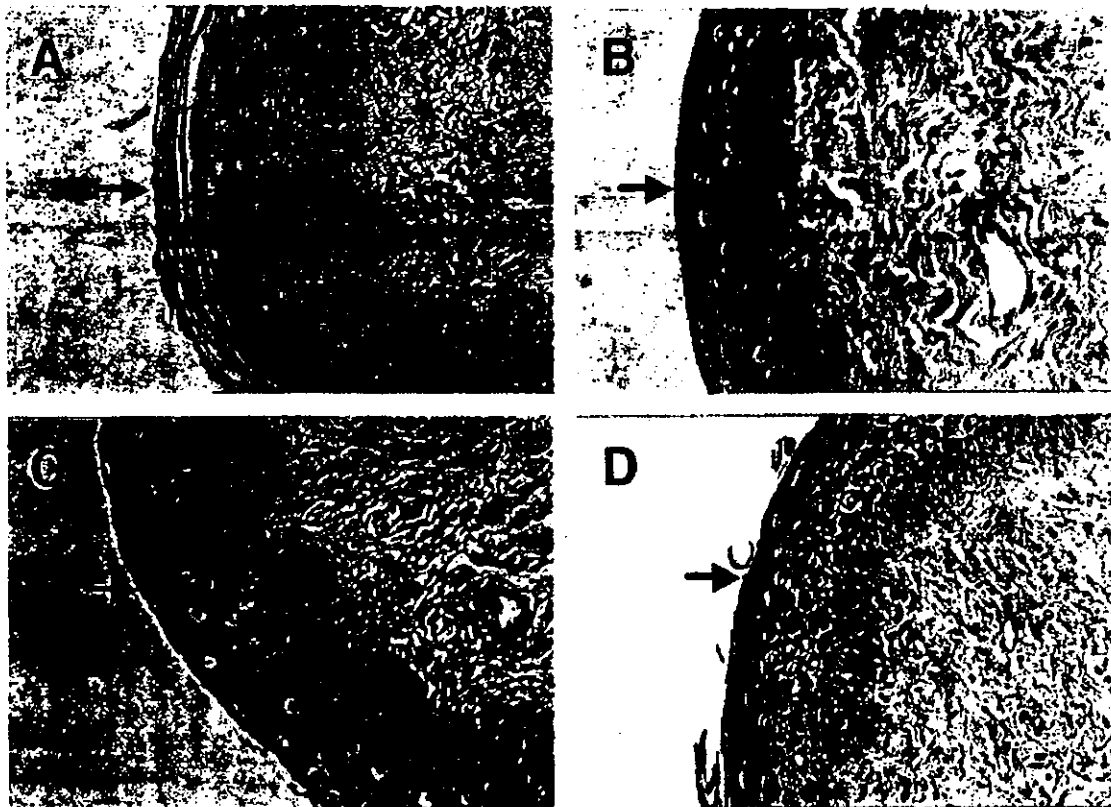


Figure 1. Representative histology of the rat offspring vagina at estrus. (A) Control (cornsarch-treated animals) group. The vaginal epithelium is formed by 6-10 layers, of which superficial layers are cornified (1). $\times 400$. (B) Rat vagina at estrus. 0.1 mg/kg BPA. No keratinization of the superficial layers (1). Vaginal epithelium is formed by less than four layers. $\times 400$. (C) Flat vagina at estrus. 0.2 mg/kg E2 (positive control). No keratinization at the surface of the epithelium (1). Slight desquamation of the superficial layers (*). Vaginal epithelium is formed by ≤ 6 layers. $\times 400$. (D) Flat vagina at estrus. 50 mg/kg BPA. Process of slight keratinization at the surface of the superficial layers (1). Mostly no keratinization can be observed. Vaginal epithelium is formed by ≤ 6 layers. $\times 400$.

著者名 : Sharpe RM, Rivas A, Walker M, McKinnell C, Fisher JS. (イギリス)

論文題名 : Effect of neonatal treatment of rats with potent or weak (environmental) oestrogens, or with a GnRH antagonist, on Leydig cell development and function through puberty into adulthood.

出典 : Int J Androl. 2003 Feb;26(1):26-36.

チェック項目:

- 1. 対象生物 ラット Wister、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 皮下注射
- 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 0.5mg/day (100ppm) in corn oil from PND 2 to 12)
- 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: 思春期と成熟ラットの Leydig cell の発育と機能への BPA の影響を調べた。PND18 日目に血清中テストステロンの濃度が高まったのみで、特記する影響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: BPA と並行して OP の影響を検討しているが、Sharpe らの投与量の設定は、2 mg/day, OP, 0.5mg/day BPA, DES 0.1 μg/day である。彼らは男性生殖器への作用の強さを DES:BPA:OP =20000:4:1 と想定しているのであろう。本研究で得られた結果からも妥当な比と考えられる。この論文は、出生後外部から投与したエストロゲン(DES など)が Leydig cell 数に与える影響と Sertoli cell 数との関係に焦点をあてたものであり、真面目に BPA の低濃度影響を検討した論文ではない (DES のついでに BPA の影響をみた?)。この研究では Leydig cell の数が生まれる前に決まっているので外部からのホルモンの影響を受けないと結論づけている。しかし、マウスではエストロゲン投与で Leydig cell が腫瘍化するという報告もある (Sharpe らは、種の差としている) ので、人の Leydig cell に何ら影響が無いとするのは早計であろう。(マウスの Leydig cell 腫瘍化についてのコメントは Cook ら (Critical Reviews in Toxicology, 29:169(1999)) のレビューに含まれている)。

NO. 127 文献番号 : 11885360

担当者 迫田篤信

著者名 : F. Spencer, L. Chi, MX. Zhu, E. Nixon, C. Lemella

論文題名 : Uterine molecular responses to bisphenol A treatment before and after decidual induction in pseudopregnant rats

出典 : Int. J. Environ. Health 204, 353-357 (2002)

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、()個体、()その他_____
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他 皮下注射_____
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 200 mg/kg)
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 ()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

妊娠、非妊娠、卵巣切除で bisphenol A のラットの子宮に対する影響に違いがあることが分かっている。この現象は、ホルモンの状況が BPA の作用を左右するためと考えられるので、偽妊娠ラットの胎盤発達中の影響を観察した。擬似妊娠状態 (PPG) にした SD ラットに 200 mg/kg の bisphenol A を PPG days 1-4 又は PPG days 5-8 日の間連続皮下投与した。脱落膜発達期における bisphenol A の応答は子宮のホルモンの状況と機能的に関係していた。脱落膜形成前 (エストロゲンが支配的な期間) には子宮増殖作用を示すが、脱落膜形成後 (プロゲステロンが支配的な期間) には脱落膜の成長とプロゲステロンの放出を阻害する。子宮脱落膜形成後の bisphenol A の女性ホルモン作用はエストロゲンレセプター結合サイトと mRNA の発現レベルの減少と関係なく、血清中のエストロゲン濃度変化とも関係しない。bisphenol A の作用はプロゲステロンによって拮抗化されているように見える。

添付資料

特になし

評価者のコメント

特になし

No. 45 文献番号: 12732195

担当者 根岸 隆之

著者名: Tabuchi Y, Kondo T.

論文題名: cDNA microarray analysis reveals chop-10 plays a key role in Sertoli cell injury induced by bisphenol A.

出典: Biochem Biophys Res Commun. 305(1):54-61. (2003)

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 細胞 (TTE3 (マウスセルトリ細胞))
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 (x)細胞、()組織、()個体、()その他 _____
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他 培養液暴露
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 25, 50, 100, 200, 400 μ M)
7. 観察された影響の種類と濃度 (200 μ M BPA 細胞死誘発)
(100 μ M BPA 細胞内 Ca²⁺上昇) (100 μ M BPA GRP78 mRNA 発現上昇, transferrin mRNA 減少)
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: マウスセルトリ細胞由来株化細胞 (TTE3) に対して培養液中に BPA を 25, 50, 100, 200, 400 μ M (0.1%DMSO vehicle) で添加した。200, 400 μ M BPA は TTE3 に細胞死を誘発した (用量依存)。また 100, 200, 400 μ M BPA は細胞内カルシウム濃度の上昇を引き起こした (用量依存)。以降、200 μ M BPA 暴露のみ検討している。BPA は GRP78 の mRNA の発現上昇、transferrin mRNA の発現減少を引き起こした。次に遺伝子発現変化を網羅的に検索し、その中でもっとも変動の大きかった遺伝子 chop-10 (DNA damage, growth arrest, ER stress で induce) について細胞にアンチセンス RNA を遺伝子導入することにより chop-10 発現抑制細胞株 (chopR14) を作成した。この細胞株は BPA 誘発細胞死および transferrin mRNA 発現減少に耐性をみせた。以上のことから BPA により生じる chop-10 の発現上昇が細胞障害を引き起こす一因と考えられた。

添付資料: 特になし

評価者のコメント: 文献 No. 88 に続く論文である。今回遺伝子発現検索に用いた濃度 200 μ M は重量換算すると 45.7mg/L という濃度である。本文献では、これ未満の濃度で同様の検討はしていない。通常ヒト体内のレンジが ng/L オーダーかそれより下であることを考えると、この文献は低用量影響評価の議論の材料としては適切ではない。ちなみに cDNA microarray において特に顕著 (2-10 倍) に発現上昇がみられた遺伝子は chop-1, c-myc, fra-2, ornithine decarboxylase であった。この実験では BPA200 μ M のみで用量依存性は検討していない。

No. 088 文献番号：12233820

担当者 根岸 隆之

著者名：Tabuchi Y, Zhao QL, Kondo T.

論文題名：DNA microarray analysis of differentially expressed genes responsive to bisphenol A, an alkylphenol derivative, in an in vitro mouse Sertoli cell model.

出典：Jpn J Pharmacol. 2002 Aug;89(4):413-6.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x)その他 細胞 (TTE3 (セルトリ細胞由来))
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 培養液暴露
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 25, 50, 100, 200, 400μM)
7. 観察された影響の種類と濃度 (100μM BPA で細胞死誘発 (25%))
(200μM BPA でERαの mRNA 発現減少、iNOS, chop-10, ODC, BipGRP78, OSIP の mRNA 発現増加)
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

マウスセルトリ細胞由来細胞株 TTE3 における BPA の遺伝子発現に対する影響を Atlas glass mouse microarray を用いて検討した。まず BPA の 24hr 細胞毒性を検討したところ、100, 200μM で細胞死誘発が発生し、400 μM ではほぼ全て(96%)の細胞が死滅した。次に 200μM BPA24 時間暴露後の遺伝子発現を調べたところ、チップにのっている 1081 遺伝子のうち 13 遺伝子 (3 遺伝子が発現減少、10 遺伝子が発現増加) の発現量が変化していた。このうち 6 遺伝子について PCR を行ったところ microarray の結果と同様であった。

添付資料：特になし

評価者のコメント：文献 No. 45 の前に発表された同一グループからの論文である。ここで発現変化が見られた遺伝子群が小胞体ストレスに関係する因子が多かったので、No. 45 で詳細に検討するに至る。しかし、200μM は濃度が高すぎて現実的ではない。参考までに、マイクロアレイの結果、発現減少した遺伝子は、ERα, tissue inhibitor of metalloproteinase 2, decorin, 発現上昇した遺伝子は CDK7, PLCγ1, G-α-13 guanine nucleotide regulatory protein, ATF3, ATF4, iNOS, OSIP, BipGRP78, chop-10, ODC である。このうち項目 7 にある 6 遺伝子については PCR 法でも同様の変化を確認できた。

No. 38 文献番号 : 12804662

担当者 佐二木 順子

著者名 : Takahashi O, Oishi S.

論文題名 : Testicular toxicity of dietarily or parenterally administered bisphenol A in rats and mice.

出典 : Food Chem Toxicol. 41(7):1035-44. (2003)

チェック項目:

1. 対象生物 (x)ラット Crj:Wister, HsdHot:Holtzman SD、(x)マウス Crj:CD-1, C57BL/6CrSlc、
()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 (x)経口、()埋め込み、その他 餌に混ぜる, 腹腔内注射, 皮下注射
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 0.25% for rats and mice for 2 months, 200 mg/kg in propylene glycol for 4 days for 1 month sub., 2, 20 mg/kg in propylene glycol for 4 days for 1 month, per.))
7. 観察された影響の種類と濃度 (ラットの生殖能(male 生殖器重量、精子産生能)低下、
200mg/kg(200ppm)BPAの4週間皮下投与) (ラットの前立腺重量減少、血清テストステロン低下
20mg/kg(20ppm)BPAの4週間腹腔内投与)
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

餌に混ぜた 0.25%BPA (2500ppm) を 8 週間与えた場合 (1 日あたりラットで 200ppm マウスで 400ppm)、どの種の動物でも影響は認められなかった。しかし、毎日 200mg/kg(200ppm) の BPA を 4 週間皮下投与すると、ラットの生殖能 (male 生殖器重量、精子産生能) は低下した。20mg/kg(20ppm) BPA の 4 週間腹腔内投与では、ラットの生殖能の一部に影響がみられた。

添付資料 Table 5, 6

評価者のコメント: 経口投与は皮下投与、腹腔内投与に比べ生殖器に及ぼす影響は著しく低い。餌の BPA 濃度を測定していないので何とも言えないが、BPA が餌の中で分解された可能性と、経口投与で生体内代謝を受けた可能性がある。餌からの経口投与の場合、かなりの高濃度投与で影響がなかったという結果をみると、思春期以降の経口曝露は、生殖能に影響を及ぼさないと考えてもよさそうである。人の BPA 評価をする上で、曝露時期や曝露方法は非常に重要なポイントになる。

Table 5
Summary for BPA toxicity in mice

Strain	C57BL/6CrSlc	Crj:CD-1(ICR)
Dose	0.25%	0.25%
Duration	68 days	68 days
Route	p.o. (in the diet)	p.o. (in the diet)
Toxicologic outcome	No effect	No effect

Table 6
Summary for BPA toxicity in rats

Strain	Crj Wistar	Hsd:Hol: Holtzman SD	F344/DuCrj (Fischer)	F344/DuCrj (Fischer)	F344/DuCrj (Fischer)	Jcl Wistar	Jcl Wistar	Jcl Wistar
Dose	0.25%	0.25%	0.25%	0.5%	1.0%	2 mg/kg/day	20 mg/kg/day	200 mg/kg/day
Duration	61 days	61 days	44 days	44 days	44 days	28 days	28 days	28 days
Route	p.o. (in the diet)	p.o. (in the diet)	p.o. (in the diet)	p.o. (in the diet)	p.o. (in the diet)	p	p	s c
Toxicologic outcome	No effect	No effect	i) Minimal degeneration of seminiferous tubules ii) Decrease in preputial weight	i) Presence of significant degree of sterile seminiferous tubules ii) Decrease in preputial weight	i) Presence of significant degree of sterile seminiferous tubules ii) Decrease in prostate and preputial weights	No effect	i) No effect on histology of testis ii) Decrease in prostate weight iii) Decrease in serum testosterone	i) Presence of significant degree of sterile seminiferous tubules ii) Decrease in weights of testis and many sex accessory organs iii) Decrease in DSP

No. 093 文献番号：12151630

担当者 根岸 隆之

著者名：Tinwell H, Haseman J, Lefevre PA, Wallis N, Ashby J.

論文題名：Normal sexual development of two strains of rat exposed in utero to low doses of bisphenol A.

出典：Toxicol Sci. 2002 Aug;68(2):339-48.

チェック項目：

1. 対象生物 ラット (Sprague-Dawley (SD)、Alderley Park (AP))、 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 20, 200 μ g/kg/day 50mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度：(50mg/kg/dayBPA で1日精子産生量の減少 (APのみ))
(50mg/kg/dayBPA で膣開口時期の遅延 (APのみ))
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

二系統のラット (SD と AP) において妊娠6日目から21日目まで20, 200 μ g/kg/day, 50mg/kg/dayの濃度でBPAを経口投与した。評価した項目は出生数、体重、出生時肛門一性器距離、膣開口時期、性周期発動時期、包皮分離時期、次世代個体 (オス生後90日、メス生後98日) の肝臓、精囊、精巣上体、精巣、腹側前立腺、子宮、膣、子宮頸、卵巣重量および1日精子産生量である。本実験でBPA曝露の有意な影響が見られたのはAPラット50mg/kg/day曝露群における1日精子産生量の減少、および膣開口時期の遅延のみであった。今回の結果はSDラットにおける過去の報告 (Chahoud et al.) を再現できず、BPAの低用量効果が確認できなかった。

添付資料

特になし

評価者のコメント：周産期低用量BPA曝露による性成熟のかく乱についての過去の報告の追試を試みたが、再現できなかった (低用量作用は存在せず) という報告である。考察でこの矛盾にはさまざまな可能性 (餌、水、世話の程度等) が関係すると述べており、研究室間での再現性の難しさを議論している。つまり、ある特定の環境でしかBPAの微小な効果は観察できないのではないかとっている。

NO.187 文献番号： 11029274

担当者 大関一男

著者名：H.Tinwell, R.Joiner, I.Pate, A.Soames, J.Foster, J.Ashby

論文題名：Uterotrophic activity of BisphenolA in the immature mouse

出典：Regulatory toxicology and Pharmacology 32：118-126, 2000

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、(x)マウス、()人、()その他 mouse uterotrophic assay
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x)その他 _____
3. 影響の種類 (x)細胞、()組織、()個体、()その他 子宮肥大、過形成
4. 曝露方法 (x)経口、()埋め込み、その他 皮下注射
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 Bisphenol-A ;0.02 μ g-300mg/kg)
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 ()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

皮下投与でコントロールの子宮重量が低いこともあって、一部の投与で子宮肥大が観察されたが、投与依存はみられない。経口では、重量増加は観察されないが、bromdeoxyuridine でラベルされた子宮で増加が観察された。以上から、Bisphenol-Aによる子宮肥大は弱いものであること、用量応答性はないことが結論される。しかしながら、今回の実験では、未成熟マウスの子宮肥大アッセイで Bisphenol-A が再現性のある active species であるとはいえない。

添付資料

Fig-1, 2

Table-2, 3, 4, 5

評価者のコメント

Bisphenol-A の低用量作用があるとした報告に対し、明確にその再現性がない根拠を示唆するデータとして貴重なものとする