

Table 1. Neoplastic findings in Fischer 344 rats given bisphenol-A in the diet for 2 years

Organ: Neoplasm	Male rats			Female rats		
	Controls	1000 ppm	2000 ppm	Controls	1000 ppm	2000 ppm
Incidence rates (animals with tumors/total animals in group)						
Leukemia	13/50*	12/50	23/50**	7/50	13/50	12/50
Adrenal glands						
Cortical adenoma or carcinoma	1/48	3/50	5/47	12/50*	5/50	4/50**
Pheochromocytoma	15/48*	7/50*	7/47**	2/50	4/50	2/50
Mammary glands: fibroadenoma	0/50*	0/50	4/50	8/50	8/50	5/50
Testes: interstitial cell	35/49*	48/50**	46/49**			
Uterus: endometrial stromal polyps				15/48*	10/50	6/50**

*Increasing trend, $P < 0.05$; **increase compared with controls, $P < 0.05$; †decreasing trend, $P < 0.05$; ** decrease compared with controls, † increasing trend, $P < 0.01$; †† increase compared with controls, $P < 0.01$

Table 2. Neoplastic findings in B6C3F1 mice given bisphenol-A in the diet for 2 years

Organ: Neoplasm	Male mice			Female mice		
	Controls	1000 ppm	5000 ppm	Controls	5000 ppm	10000 ppm
Incidence rates (animals with tumors/total animals in group)						
Lymphoma	2/49	8/50**	3/50	13/50	10/48	8/48
Pituitary gland: chromophobic adenoma or carcinoma	0/37*	0/36	3/42	2/44	0/40	1/40

*Increasing trend, $P < 0.05$; **increase compared with controls, $P < 0.05$; †another animal had leukemia (9/50)

NO. 157 文献番号： 11454725

担当者 内田 康一

著者名： Inoue H, Yokota H, Makino T, Yuasa A, Kato S.

論文題名： Bisphenol a glucuronide, a major metabolite in rat bile after liver perfusion.

出典： Drug Metab Dispos. 2001 Aug;29(8):1084-7.

チェック項目：

1. 対象生物 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、 生殖系、 その他 (代謝系) _____
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 (灌流(門脈経由))、 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 0.01, 0.05, 0.1 mM : 灌流液中濃度 _____)
7. 観察された影響の種類と濃度： (BPA およびその代謝物の濃度を測定しているのみで、臓器等への影響は観察していない) (_____)
(_____)
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 the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the U.S. National Institute of Health.、 いいえ

論文の概要

経口投与されたBPAは代謝されることから、実際に標的器官へ達しているBPA濃度を明らかにするため、BPA溶液を雄ラットの肝臓へ灌流させ、代謝バランスを調べた。その結果、門脈を通じて導入した7.5 μ molesのBPAのうち、約91%は肝臓組織へ吸収された。吸収されたBPAのうち約65%は60分以内にグルクロニド化され、その65%は胆汁へ35%は肝静脈(hepatic vein)へ排出された。

添付資料

Fig. 4

評価者のコメント

肝臓に吸収されたBPAの殆どがグルクロニド化され、胆汁へ排出される定量的データが示されている。残存するBPAの生体内での消長や、実験動物の成熟度との関係、暴露期間との関係等、一定の結論を出すには更にデータ収集が必要と思われる。

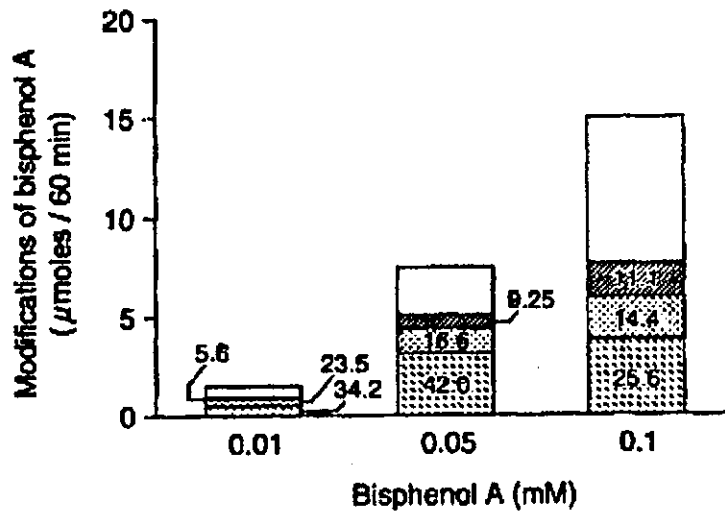


FIG. 4. Bisphenol A metabolites after liver perfusion.

Total amount of bisphenol A glucuronide excreted into the bile (□) and vein (▣), bisphenol A detected in the vein (▨), and bisphenol A of unknown fate (□) during the 60-min liver perfusion. Numerals in the columns indicate the percentage of the respective metabolites.

NO. 191 文献番号：10965916

担当者 井藤 悦朗

著者名：Klotz DM, Hewitt SC, Korach KS, Diaugustine RP.

論文題名：Activation of a uterine insulin-like growth factor I signaling pathway by clinical and environmental estrogens: requirement of estrogen receptor-alpha.

出典：Endocrinology. 141(9):3430-9, 2000.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、(x) マウス CD-1, C57/BL6、() 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 () 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 450, 4500, 45,000, 150,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
7. 観察された影響の種類と濃度：(45000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 子宮内インスリン様成長因子1 (IGF-1) の受容体を介したチロシンのリン酸化) (30000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IGF-1 A および B の mRNA 発現増加) (30000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 子宮上皮の分化細胞核抗体発現および有糸分裂陽性細胞出現)
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、() 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 NIH Guide、() いいえ

論文の概要

子宮の増殖反応にはインスリン様成長因子1情報伝達系の活性化が必要で、それはエストロゲン受容体 α (ER α) 欠損マウスを用いた実験結果によって明らかにされた。BPAの投与量は30-45mg/kgでこれらの反応に影響した。BPAの用量はE2やDESの10000-15000倍であった。

添付資料

Fig1, 2, 3

評価者のコメント

子宮上皮細胞の分化における細胞内情報伝達系を生化学的に検討した論文で、曝露量は3世代試験で示された無影響量レベルと一致する。

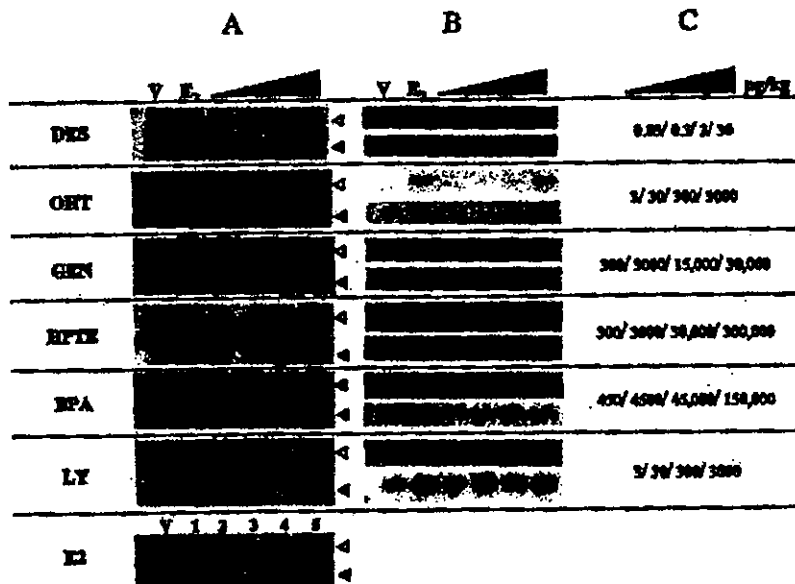


Fig. 1. Tyrosine phosphorylation of uterine IGF-IR and formation of ovarian IGF-IR signaling complexes in response to E2 and various chemicals. Mice were administered 100 μ l oestrogen oil (V), 50 μ g/kg E₂, or various doses of chemicals. Uterine IGF-IR was analyzed as described in Materials and Methods. Each lane represents an individual animal. A, Tyrosine-phosphorylated uterine IGF-IR, visualized by a diffuse band at approximately 185 kDa, is indicated by solid arrows. Tyrosine-phosphorylated IRS-1 associated with uterine IGF-IR after treatment is indicated by open arrows. A dose response for E₂-induced tyrosine phosphorylation of IGF-IR is included at the bottom for comparison; doses 1-5 of E₂ administered are as follows: 1) 0.008 μ g/kg, 2) 0.03 μ g/kg, 3) 0.3 μ g/kg, 4) 3 μ g/kg, and 5) 30 μ g/kg. OHT, 4-OH-tamoxifen; GEN, genistein; HPA, bisphenol A; LY, LY 293881. B, IRS-1 and p86 associated with uterine IGF-IR after treatment with the same doses of chemicals that induced IGF-IR tyrosine phosphorylation in A. The upper panel for each chemical represents IRS-1, and the lower panel represents p86. C, Increasing doses of each chemical administered to the mice.

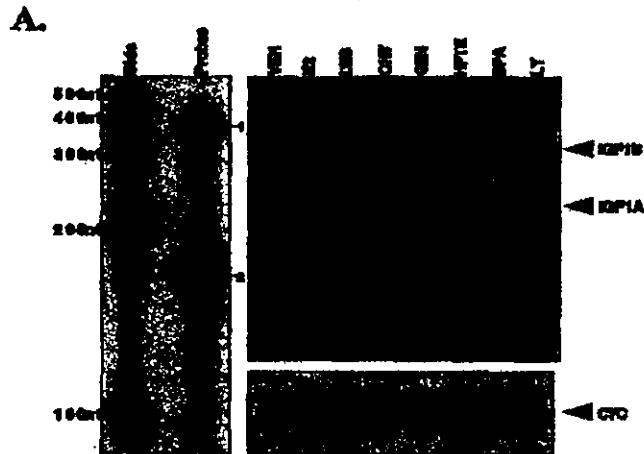


Fig. 2. Increase in uterine IGF-1 mRNA by E2 and various environmental chemicals. A, Ovariectomized adult female CD-1 mice were administered 100 μ l oestrogen oil (VEH), 50 μ g/kg E₂, 50 μ g/kg DES, 3000 μ g/kg 4-OH-tamoxifen (OHT), 15,000 μ g/kg genistein (GEN), 30,000 μ g/kg HPTX, 30,000 μ g/kg bisphenol A (HPA), or 3000 μ g/kg LY 293881 (LY). Total uterine RNA was analyzed for the presence of IGF-1 transcripts as described in Materials and Methods. The protected fragments representing IGF-1A mRNA (IGF-1A), IGF-1B mRNA (IGF-1B), and cyclophilin mRNA (CYC) species are indicated with arrows as 1 and 2, respectively. Each lane represents an individual animal. B, IGF-1A and IGF-1B mRNA levels represented graphically as the fold induction above the vehicle-treated control value in A. Levels of cyclophilin transcripts were used for normalization among samples. *, P < 0.005 compared with vehicle treatment.

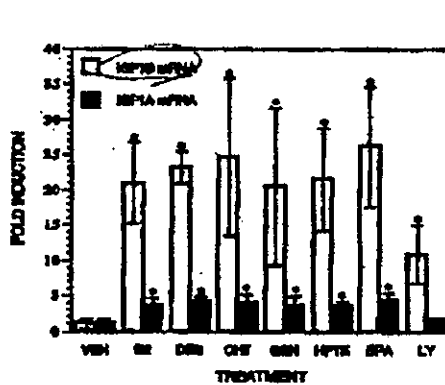
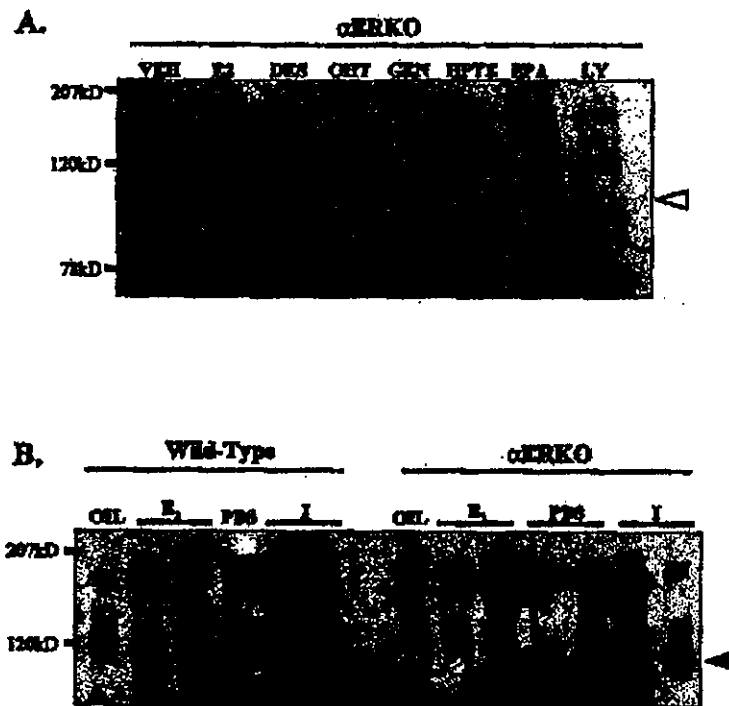


FIG. 3. Requirement of ER α in estrogen- and environmental chemical-induced IGF-1R signaling. aERKO mice were administered A) 100 μ l sesame oil (VEH), 30 μ g/kg E₂, 30 μ g/kg DES, 3000 μ g/kg 4OH-tamoxifen (OHT), 15,000 μ g/kg genistein (GEN), 20,800 μ g/kg IGF1R, 20,000 μ g/kg bisphenol A (BPA), or 2000 μ g/kg LY 293784 (LY) or B) 100 μ l sesame oil (OIL), 30 μ g/kg E₂, PBS, and long E₂-IGF-1 (I) as described in *Materials and Methods*. Uterine IGF-1R was analyzed as described in *Materials and Methods*. The open arrow indicates the expected site of tyrosine-phosphorylated IGF-1R. Each lane represents an individual animal.



No. 049 文献番号：12700409

担当者 根岸 隆之

著者名：Kurebayashi H, Betsui H, Ohno Y.

論文題名：Disposition of a low dose of 14C-bisphenol A in male rats and its main biliary excretion as BPA glucuronide.

出典：Toxicol Sci. 73(1):17-25.(2003) Epub 2003 Apr 15.

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、()生殖系、(x)その他 ADME
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 静脈内投与
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 0.1, 100mg/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

F344 ラット (オス) に BPA を 0.1mg/kg の濃度で経口または静脈内投与した後、BPA の各種血中動態パラメータを検討した。その結果、排出経路は尿よりも糞であり、経口投与の場合は 45-50%、静脈内投与の場合 58-66%が胆汁から排出されることが判った。また BPA の血中半減期は経口の場合 44.5 hr、静脈内投与の場合 39.5 hr であった。経口投与の場合、Tmax は 0.38 hr、Cmax は 5.5ng-eq/mL であった。経口投与の場合の AUC は AUC(0-6h)=18、AUC(0-48hr)=102、AUC(理論値)=185、静脈内投与の場合 AUC(0-6h)=34、AUC(0-48hr)=118、AUC(理論値)=192 であったことから経口の bioavailability は 0-6hr、0-48hr、理論値でそれぞれ 0.54、0.86、0.97 であった。血中 BPA/血漿 BPA は 0.67 であった。100mg/kg で経口投与した場合の胆汁、尿中の BPA はほとんどがグルクロン酸抱合体であった。未変化 BPA はほとんどが糞中に存在した。

添付資料

特になし。

評価者のコメント：血中動態に関する報告である。サルは糞より尿に排泄するのに対し、ラットは主に糞に排泄するという種差がある。さらにラットでは BPA は主に肝臓でグルクロン酸抱合を受け胆汁に排泄された後、腸内最近により再び脱グルクロン酸抱合され、腸肝循環が生じている可能性が示唆された。

著者名: Kurebayashi H, Harada R, Stewart RK, Numata H, Ohno Y.

論文題名: Disposition of a low dose of bisphenol a in male and female cynomolgus monkeys.

Toxicol Sci. 2002 Jul;68(1):32-42.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 カニクイザル
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x) その他 ADME
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 静脈内投与
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 0.1mg/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 (x)はい、()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、()いいえ

論文の概要

カニクイザルにアイソトープラベルされた BPA (^{14}C -BPA) を経口、または静脈内投与を行い、血中動態およびその代謝について評価した。投与された内 79-86% の放射活性は投与後 7 日間の尿で検出された。尿中の放射活性のうち、投与後 12 時間で大部分が回収され、24 時間でほぼ全てが回収された。投与後 7 日間の糞中放射活性は全体の 1.8-3.1% であった。投与後 48 時間までの血中動態としては、経口投与では $C_{\max}=104-107 \text{ ng-eq/mL}$ 、 $AUC=244-265 \text{ ng-eq} \cdot \text{h/mL}$ であった。一方静脈内投与では $AUC=377-382 \text{ ng-eq} \cdot \text{h/mL}$ であった。つまり経口投与による bioavailability は 0.66-0.7 であった。血中半減期は経口投与に比較し、静脈内投与の方が長かった。静脈内投与後第 1 相半減期は 0.61-0.67h であり、未変化 BPA の半減期はオスよりメスの方が短かった。血中における主な代謝産物は mono または di-glucuronide 抱合体であり未変化 BPA は 1.5% 以下であった。

添付資料: 特になし評価者のコメント

ADME (吸収、分布、代謝、排泄) に関する論文なので低用量作用の議論とは直接関係しない。しかし、投与された BPA は吸収された後ラットでは主に糞、カニクイザルでは主に尿から排泄されるという種差がみられ、その差は胆汁合成時の分子ふるい (ラットは最小 325 程度、ヒトは最小 500 程度で主たる代謝産物である BPA モノグルクロン酸抱合体は 404) の違いによる、つまりサルは胆汁から排泄することができないという考察は面白い。また筆者らのグループの別の論文 (No. 49) と比較すると BPA の消化管からの吸収効率はラットよりサルの方が高いことも推察される。

NO.171 文献番号：11219092

担当者 大西 純一

著者名：Manabe A, Kaneko S, Numazawa S, Itoh K, Inoue M, Hisamitsu H, Sasa R, Yoshida T.

論文題名：Detection of bisphenol-A in dental materials by gas chromatography-mass spectrometry.

出典：Dent Mater J. 2000 Mar;19(1):75-86.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、(x)人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x)その他 口腔、歯
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 唾液
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_____)
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

ポリマー樹脂から BPA の唾液中への溶出が歯科治療による外因性エストロゲンばく露に関する重大な懸念を引き起している。本試験の目的は、歯科材料中の痕跡量の PBA を検出する信頼性のある方法を明示することである。BPA は選択抽出法により BPA ジグリシジルメタアクリレートと分離した。この抽出法と GC-MS との組合せにより、試験に用いたポリマー化していない全ての材料は BPA で汚染されていた。市販の歯科材料の BPA 含量は<1 µg/g から 20 µg/g であった。ポリマー化した歯科材料は、最高で 91.4 ng/g の BPA を 24 時間のインキュベーションで唾液中へ遊離した。この結果は、歯科材料から BPA の遊離する可能性はあるが、遊離量は in vivo でエストロゲン活性を示すのに必要と報告された量 (20µg/kg bw) の 1/1000 未満であろう。

添付資料

該当する適切な添付資料はない。

評価者のコメント

歯科材料から BPA が唾液中に遊離したという報告としなかったという報告があり、より正確で信頼性のある分析法を開発し、それに基づき唾液中に遊離する BPA の量を測定した。その結果、既報文献*の 931 µg/50mg (18620 µg/g)より 200,000 倍低い非常にわずかな量 (91.4 ng/g) が検出された。分析法の信頼性を示す具体的なデータは示されていないが、以前示された方法よりも信頼性があると思われる。通し番号 121 と共に既報文献を否定。

*Olea et al, Environ Health Perspect 104: 298-305, 1996

No. 70 文献番号： 12492412

担当者 花田秀一

著者名： Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C, Soto AM.

論文題名： Mammalian development in a changing environment: exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs.

出典： Evolution & Development 5(1):67-75. (2003 Jan-Feb)

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、(X)個体、()その他_____
4. 曝露方法 ()経口、(X)埋め込み(母親動物に Alzet osmotic pump)、その他_____
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 25, 250 μ g/kg b.w. 妊娠9日目から出産まで)
7. 観察された影響の種類と濃度 (膣開口日の早期化傾向、発情期サイクルの延長、血液が充満した卵巣嚢の出現、乳腺の胞芽状突起の増加、共に 25 μ g/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 (X)はい：ガイドラインの名称 Tufts university-New England Medical Center Animal Research Committee、()いいえ

論文の概要

CD-1 マウスを用いて、雌性生殖組織や乳腺の発達に対する BPA の子宮内低用量暴露の影響を検討した。その結果、BPA の胎児期暴露は、卵巣や乳腺などの組織的発達に影響を与え、成熟期(3-6 カ月齢)に発情サイクルの乱れ、血液が充満した卵巣嚢の出現、乳腺の胞芽状突起の増加などが認められた。エストロゲン受容体は、これらのエストロゲンターゲット器官に発達とともに発現してくるので、BPA は、これらの器官の形態形成(発生)における遺伝子発現に直接的に影響しているのかも知れない。

添付資料

Fig.1, Fig.2, Fig.3, Fig.5

評価者のコメント

埋め込み型の osmotic pump からの BPA の放出については、血中濃度での測定は実施されておらず、意図した暴露の保証はないが、データの解釈は統計処理に基づいて実施されており、BPA の低用量(25 μ g/kg)での子宮内暴露の影響が当該胎児の成熟期に認められたという報告は信用できる。

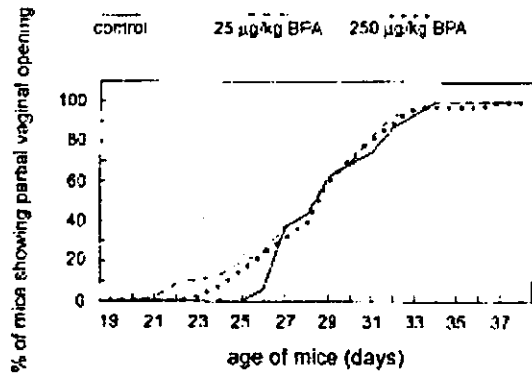


Fig. 1. Age at vaginal opening of animals exposed prenatally to DMSO (control), 25 µg BPA/kg/day and 250 µg BPA/kg/day. The ordinate represents the cumulative percent of animals that had undergone partial vaginal opening; the abscissa represents the age at which partial vaginal opening was observed.

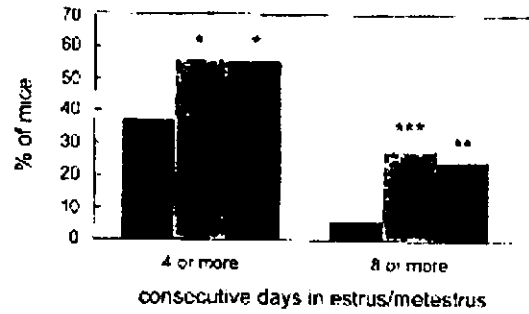


Fig. 2. Alterations of the estrous cycle in animals exposed prenatally to DMSO (control) (black bars), 25 µg BPA/kg/day (light gray bars) and 250 µg BPA/kg/day (dark gray bars). Vaginal smears were taken daily for a period of 14 consecutive days in 3-month-old mice. The bars depict the percent of mice displaying 4 or more and 8 or more consecutive days in estrus or metestrus. The asterisks denote a statistically significant difference of the BPA treated groups relative to the vehicle treated control (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$).

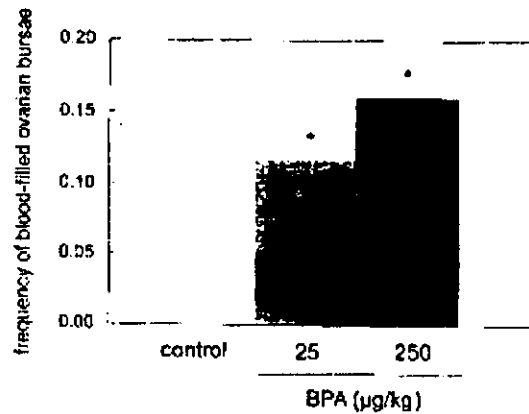


Fig. 3. Frequency of blood-filled ovarian bursae detected in 6-month-old mice exposed prenatally to DMSO (control), 25 µg BPA/kg/day (light gray bars), and 250 µg BPA/kg/day (dark gray bars). The asterisks denote a statistically significant difference of the BPA-treated groups relative to the vehicle treated control ($P < 0.05$).

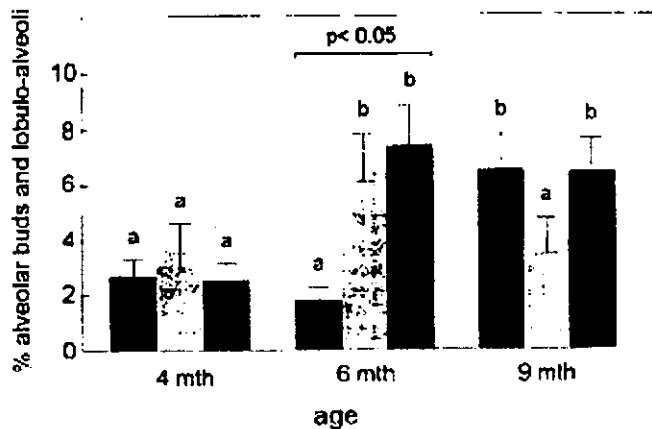


Fig. 4. Histomorphology of the mammary glands from 4-, 6-, and 9-month-old mice exposed prenatally to DMSO (control) (black bars), 75 µg BPA/kg/day (light gray bars), and 250 µg BPA/kg/day (dark gray bars). The bars represent the percent of the mammary gland occupied by alveolar buds and lobulo-alveolar structures. For each age, $P < 0.05$ denotes a significant difference between the treatments. For each of the individual treatments across the three age points, letters that are not in common denote statistically significant differences.

NO. 120 文献番号：11940462

担当者 関澤 純

著者名：Melnick R, Lucier G, Wolfe M, Hall R, Stancel G, Prins G, Gallo M, Reuhl K, Ho S.M, Brown T, Moore J, Leakey J, Haseman J, Kohn M.

論文題名：Summary of the National Toxicology Program' s Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review

出典：Environmental Health Perspectives, VOLUME110/ NUMBER4/ 427-431/ April2002

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 (x) 細胞、() 組織、(x) 個体、() その他_____
4. 曝露方法 (x) 経口、(x) 埋め込み、その他_x_____
5. 曝露時期 (x) 胚・胎児、(x) 周産期、(x) 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
レビューであり、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、()なし
GLP に準拠 (x)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

US EPA の要望で NTP が 2000 年 10 月に開いた Low Dose Workshop の概要を紹介した。Workshop は個々の動物試験のデータの詳細を試験を行った著者が提供し、そのデータを別の専門パネルが検討し、また必要に応じて統計的に再吟味することを公開で行ったところにある。結論としていくつかの試験で低用量影響が観察されたことは疑いないが、試験の再現性が必ずしも保証されておらず、結果を左右する要因を確認する必要、現在の生殖・発生毒性試験にこの目的に対応した追加また改善を加える必要を指摘した。

添付資料

レビューであり、図表はない。

評価者のコメント

NTP が 2000 年 10 月に開いた Low Dose Workshop の概要を主催者グループが報告したものである。

著者名：Nunez AA, Kannan K, Giesy JP, Fang J, Clemens LG.

論文題名：Effects of bisphenol A on energy balance and accumulation in brown adipose tissue in rats.

出典：Chemosphere. 2001 Mar;42(8):917-22.

Erratum in: Chemosphere 2001 Nov;45(4-5):701. Chemosphere. 2003 Sep 13;362(9387):922.

チェック項目：

1. 対象生物 ラット (SD系, 卵巣摘出)、 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 脂肪組織
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 (浸透圧ポンプ)、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 (1, 5mg/day, 15days : 約 18~22mg/kg/day×15days)
7. 観察された影響の種類と濃度：(4~5mg/d×15d, 食餌効率 (体重増加量/食餌量) は有意に減少) (1mg/d×15d 群では減少なし)
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

BPA の弱いエストロゲン作用に関わる研究。卵巣ホルモンは哺乳動物のエネルギーバランスと摂食行動に主要な影響を与える。本研究では、**卵巣摘出ラット**を用いた体重および食物摂取におよぼす BPA の効果を検討。BPA を 5mg/day の投与量で 15 日間投与すると、**食餌量は減少しないにも関わらず体重増加は有意に低下**。しかし、1 mg/day の投与量では、**その影響は観察されなかった**。BPA は、BPA 投与動物の血液、脳、脂肪組織中に検出されたが、溶媒のみを投与した対照群動物では検出されなかった。さらに、1 mg/day 投与群で、他の臓器に比べ**褐色脂肪組織に BPA の優先的な蓄積が観察された**。以上、BPA はエネルギーバランスに影響を及ぼすこと、および褐色脂肪組織は BPA 蓄積の一次的な組織である可能性があることが示唆された。

添付資料

Fig2

評価者のコメント

他研究者の Octylphenol, 20mg/kg, 2 ヶ月投与で食餌効率減少の報告と比べ 5mg/day は低用量であることを記載。用いたラットの体重から 22.7 mg/kg/day となる。影響がなかった 1mg/day でも 4.5mg/kg/day となり比較的高用量。

また、本論文は卵巣摘出ラットにおける解析。ヒトの場合、成長とともに褐色脂肪組織は消退し白色脂肪組織のみになる。論文中に脳と白色脂肪組織にも残留していることを記述しているが他の臓器のデータがないのでそれが残留になるかどうか判断できない。したがって種間差を考慮すべきであり、本論文の結論をそのままヒトに外挿できるとは考えられない。

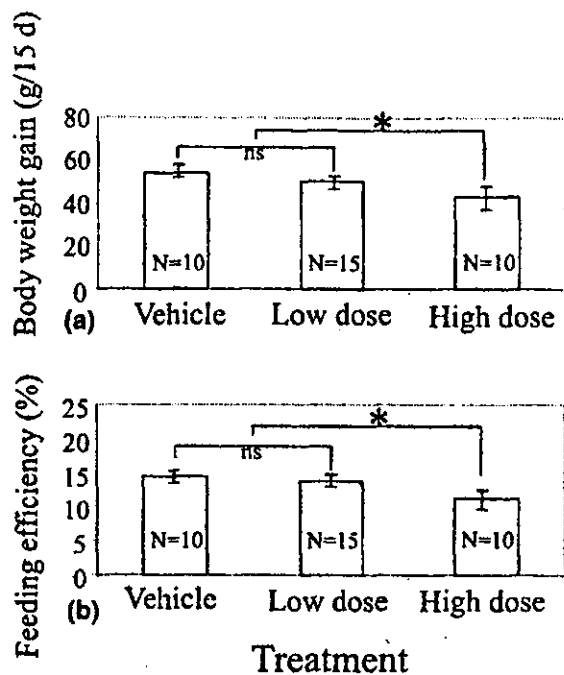


Fig. 2. Effects of a low (1 mg/day) and a high (5 mg/day) dose of BPA on body-weight gain (a) and feeding efficiency (b). The ANOVAs detected a significant effect of treatment on body weight gain ($F = 6.46$, $df = 2, 32$, $P = 0.0044$) and on feeding efficiency ($F = 9.48$, $df = 2, 32$, $P = 0.0006$). For both measures the high-dose group was significantly different from the other two groups ($P < 0.05$). The data are given as mean (\pm SEM).

NO. 182 文献番号：11099829

担当者 井藤 悦朗

著者名：Obata T, Kubota S.

論文題名：Formation of hydroxy radicals by environmental estrogen-like chemicals in rat striatum.

出典：Neurosci Lett. 296(1):41-4, 2000.

チェック項目：

1. 対象生物 ラット Wistar、 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 脳組織へ直接注入
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 1, 5, 10 μ M)
7. 観察された影響の種類と濃度：(10 μ M 脳内神経核線条体における水酸化ラジカルの生成に影響)
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

麻酔で不動化したラットの脳内にプローブを挿入し、BPA (10 μ M) を含む人工髄液を灌流した。組織内で発生する OH ラジカルをサリチル酸と反応させ、2, 3-dihydroxybenzoic acid に変換して測定した。BPA は線条体内で発生する OH ラジカルをわずかに増加したが、統計的に有意ではなかった。

添付資料

Fig1

評価者のコメント

線条体は黒質を起始核として、ドパミン神経終末の最も大きな神経核である。BPA の脳内濃度が 10 μ M に達するまでの経口、あるいは静脈内投与量を想定すると現実の曝露状況から考えられない。いずれにせよ、BPA は脳内 OH ラジカル発生反応において高濃度においても影響しないことが示された。

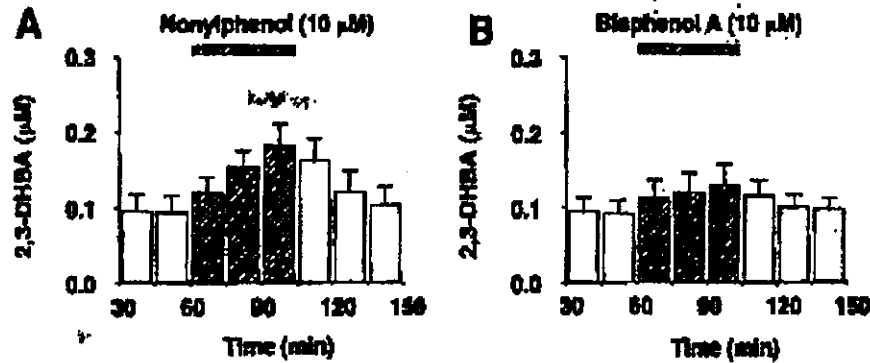


Fig. 1. Effects of para-nonylphenol and bisphenol A on $\cdot\text{OH}$ formation. After a 30 min washout with Ringer's solution (pH 7.4), sodium ascorbate (0.5 nmol/ml per min) was infused for 120 min to trap $\cdot\text{OH}$. Thereafter, para-nonylphenol (A, 10 μM) and bisphenol A (B, 10 μM) added (shaded bar) in ascorbic acid solution 60 min after probe implantation into the rat was infused directly through a microdialysis probe for 45 min, as indicated by a horizontal bar (dialysate) of 60–105 min ($n = 5$). Dialysate samples were collected every 15 min into 0.1 N HClO₄ and immediately assayed for 2,3-DHBA using HPLC-EC. Values are mean \pm SEM for five rats. * $P < 0.05$ vs. levels at 45–60 min after probe implantation (ANOVA and Fisher's test). Abcissa indicates the time after implantation of the dialysis probe.

NO.72 文献番号：12482479

担当者 大西 純一

著者名：Sajiki J.

論文題名：Simple and accurate determination of bisphenol A in red blood cells prepared with basic glycine buffer using liquid chromatography-electrochemical detection.

出典：J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2003 Jan 15;783(2):367-75.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、(x)人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x)その他 血液
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_____
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：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

赤血球中の BPA の正確な定量のために pH の BPA 濃度への影響を調べた。又、BPA が鉄へムに結合するかどうかを確認するために鉄へム、メトへモグロビン (metHb) そしてへマチンを用いて BPA の回収率を調べた。溶血血液中 BPA の回収率は、アルカリ性で高く、酸性では非常に低くて oxyHb は metHb に変化した。BPA 回収率は濃度依存的に metHb とへマチンで減少したが、無機の鉄は回収率に影響しなかった。これらの結果は、BPA は赤血球中の鉄へムに結合していることを示唆した。血漿とグリシン-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH11) の使用は最高回収率 (97%) であった。BPA は健康な成人ボランティアの赤血球中では検出されなかった。血漿では 0-1.6 ng/ml であった。BPA で汚染したヒツジ血液中で、BPA は血漿と赤血球 (血漿の 1/10 の濃度) で検出され、BPA は血漿から赤血球へ移動していることを示している。

添付資料

評価者のコメント

BPA の分析法上の問題点を明確にし、その点を解決した正確な分析法を開発し、健康なボランティアの赤血球中には BPA が検出されず血漿中に 0-1.6 ng/ml のわずかな量を検出した。ただ残念なことに、確立した分析法の、特に低濃度での、信頼性をより高める定量限界値や回収率のデータが示されていない。

No. 179 文献番号：11137380

担当者 根岸 隆之

著者名：Takai Y, Tsutsumi O, Ikezaki Y, Kamei Y, Osuga Y, Yano T, Taketan Y.

論文題名：Preimplantation exposure to bisphenol A advances postnatal development.

出典：Reprod Toxicol. 2001 Jan-Feb;15(1):71-4.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、(x) マウス (B6C3F1, ICR(embryo recipient))、()人、()その他
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x) その他 初期発生
3. 影響の種類 (x)細胞、()組織、(x) 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 (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 1nM, 100μM)
7. 観察された影響の種類と濃度：(1nM 48hr 2細胞胚の胚盤胞への成熟率増加)
(100μM 48hr 2細胞胚の胚盤胞への成熟率減少、死滅率上昇) (1nM 暴露胚盤胞を偽妊娠マウスを用いて出生させた時の離乳時体重増加)
8. 観察時期 (x) 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 (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 (x)はい：ガイドラインの名称 東京大学内動物実験指針、()いいえ

論文の概要

着床前の胚に対する BPA 曝露の生後発達への影響を検討した。BPA は 1nM もしくは 100μM で培養下 2細胞胚に 48時間暴露した。この暴露により 1nM 群は胚盤胞への成熟率が上昇した。一方 100μM 群は死滅率が上昇し胚盤胞への成熟率は低下した。次にこの胚盤法を偽妊娠マウス (BPA には暴露していない) に移植した後、出生後の体重を測定したところ変化は無かったが、離乳時 (生後 21日目) の体重は 1nM、100μM 群ともに対照群に比較し体重が上昇していた。また出生数には着床前 BPA 曝露の影響は無かった。

添付資料：Fig. 1. Table 1.

評価者のコメント

非常に低濃度でしかも着床前の曝露が生後発達に影響を与える可能性を示唆した論文である。1nM と 100μM の 2段階しか検討していないため、この間の濃度依存性の検討が必要と思われる。2細胞胚の成熟に関してこの 2濃度は明らかに逆 (低濃度は促進、高濃度は阻害) であるのに対し、その胚盤胞を移植した後のマウスは離乳時にはどちらの濃度群も対照群より体重が重くなるメカニズムを説明するためには濃度依存性の検討がさらに必要と思われる。これが ER 依存性なのか否かも興味深い。

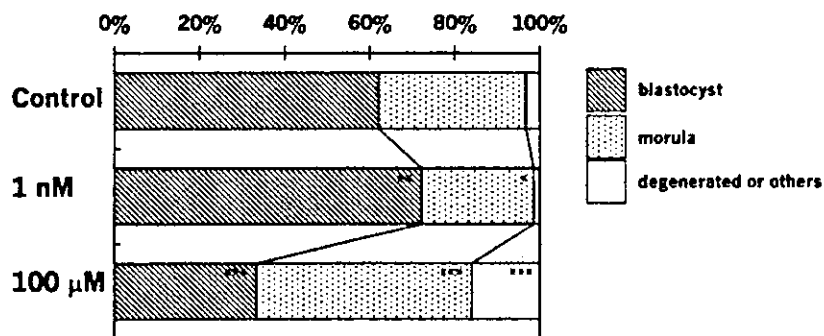


Fig. 1. Effects of bisphenol A (BPA) on development of two-cell mouse embryos at 48 h in culture. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 1 \times 10^{-5}$, compared with development of control embryos incubated with vehicle (0.1% ethanol) alone.

Table 1
Effects of bisphenol A exposure during preimplantation development on postnatal development

Embryo treatment	Number of pups/litter	Birth weight (pup basis) (g)	Birth weight (litter basis) (g)	Weight at weaning (pup basis) (g)	Weight at weaning (litter basis) (g)	Pups/litters (n)
Control	4.3 ± 1.4	1.71 ± 0.23	1.71 ± 0.15	9.7 ± 2.8	9.9 ± 2.9	(34/8)
1 nM BPA	4.1 ± 1.2	1.74 ± 0.26	1.76 ± 0.13	13.5 ± 1.6*	13.6 ± 0.7**	(29/7)
100 μM BPA	5.3 ± 2.2	1.77 ± 0.30	1.80 ± 0.12	13.0 ± 1.6*	13.3 ± 1.3**	(32/6)

Mean ± SD.

* $P < 0.01$.

** $P < 1 \times 10^{-8}$, respectively, compared to control offspring.

著者名：Upmeier A, Degen GH, Diel P, Michna H, Bolt HM.

論文題名：Toxicokinetics of bisphenol A in female DA/Han rats after a single i.v. and oral administration.

出典：Arch Toxicol. 2000 Oct;74(8):431-6.

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 分布、代謝
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 i.v.(静脈内投与)
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 10 または 100 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、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

i.v.投与は 10 mg/kg、強制経口投与は 10 または 100 mg/kg。i.v.投与直後の血漿中 BPA 濃度は約 15 µg/ml で、1hr 以内で 0.7 µg/ml までに急速に減少した。さらに、2hr で 0.1µg/ml、そして 24hr 後には検出限界 (0.01µg/ml) 以下となった。最速 10 分で BPA を検出しており、胃腸管からの初期の急速な取込みを示している。経口投与では、BPA の吸収は変動し、10 mg/kg 投与で、BPA の最高血漿濃度は 1.5hr で 0.031µg/ml、6hr で 0.040 µg/ml となった。100 mg/kg 投与で、BPA の血漿濃度は約 30 分で 0.15µg/ml、3hr で 0.134µg/ml となった。2 日後には、両群共に検出限界以下となった。BPA の血漿中濃度の全体的な変動 (バラツキ) は、腸肝循環と胃腸管からの遅延性吸収の可能性を示している。10 と 100 mg/kg で、それぞれ 16.4% と 5.6% の低吸収であった。ラットでの BPA のトキシコキネティクの特徴は、肝臓による急速な初期排泄と低用量の経口投与の効率的代謝排泄という仮説と一致している。もし解毒経路が飽和していると、連続投与は生物蓄積という結果になるかもしれない。

添付資料 Fig. 1, 2評価者のコメント

BPA の経口経由での低エストロゲン活性は、経口での低吸収と一致している。しかし、高用量よりも低用量で吸収率が高い。吸収された BPA は腸肝循環をうけている。これは、天然や合成のエストロゲンに対してラットで良く知られており、またヒトでは合成エストロゲンで知られている。BPA は腸肝循環から効率的なグルクロン酸抱合化により急速に排出される。