

NO. 148 文献番号：11566573

担当者 川島 浩

著者名：Hashimoto Y, Moriguchi Y, Oshima H, Kawaguchi M, Miyazaki K, Nakamura M.

論文題名：Measurement of estrogenic activity of chemicals for the development of new dental polymers.

出典：Toxicol In Vitro. 2001 Aug-Oct;15(4-5):421-5.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()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、()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 in vitro
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^{-9} ~ 10^{-3} M)
7. 観察された影響の種類と濃度：(MCF-7細胞を使ったE-screen試験で 10^{-9} Mで細胞増殖に影響がみられた) (_____)
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

新規な歯科用樹脂材料を開発する目的で、BPA及びBPA類似構造の12物質につき、in vitro estrogen 活性を調べた。in vitro estrogen活性は、酵母two-hybrid法(転写活性試験)、蛍光ポーラリゼーション法(受容体結合試験)、ヒト乳がん細胞MCF-7増殖試験(E-screen 試験)の3試験を行った。酵母two-hybrid法(S9mixの有無に関わらず)と蛍光ポーラリゼーション法では、BPAは 10^{-4} M程度で estrogen活性を示したのに対し、E-screen 試験では、 10^{-9} Mという低いレベルで活性を示した。

添付資料

Fig. 2、Fig. 3、Fig. 4、Fig. 5

評価者のコメント

BPAのin vitro estrogen活性は既知であり、過去の報告でも受容体結合試験、転写活性試験、E-screen 試験のいずれも陽性の結果が出ており、この結果自体、新規性のある報告とは言えない。BPA類似構造物質のestrogen活性についてBPAとの比較が本論文の目的であり、BPA自体の考察はない。またE-screen試験が他の試験よりかなり低い濃度で活性を示すのは、他の文献(通し番号137、文献番号11732758)と同じである。

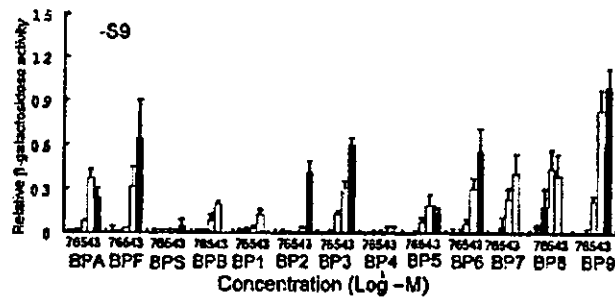


Fig. 2. Estrogenic activity of BPA-related chemicals by yeast two-hybrid system without S9 mix. Chemicals were added to yeast cultures in μ l ranging from 10^{-7} to 10^{-3} M. Following 4 h incubation, the cultures were assayed for β -galactosidase activity without S9 mix. The value represented as the rate of β -galactosidase activity divided by the β -galactosidase activity at 10^{-7} β -estradiol.

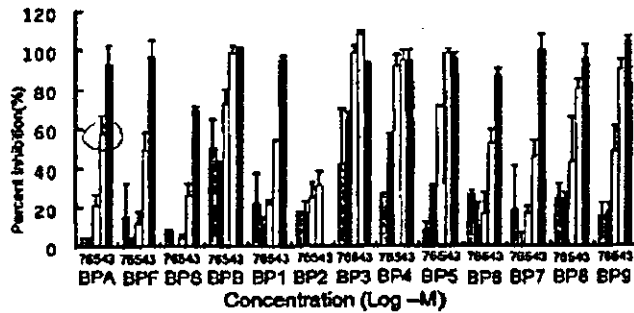
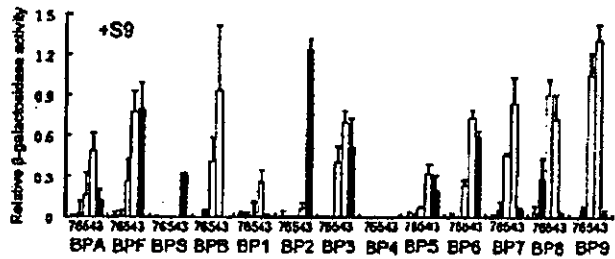


Fig. 4. Estrogenic activity of BPA-related chemicals using the fluorescence polarization system. Chemicals were added to the screening buffer doses ranging from 10^{-7} to 10^{-3} M with ER-ES1 complex for 60 min at room temperature (25°C). Measurement of fluorescence polarization was converted to percent inhibition.

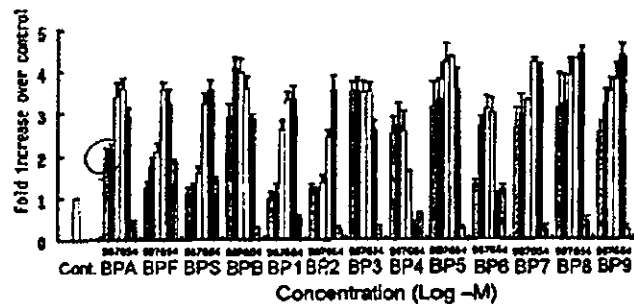


Fig. 5. Estrogenic activity of BPA-related chemicals E-screen. Chemicals were added to MCF-7 cells in doses ranging from 10^{-7} to 10^{-3} M. Following 144 h incubation, the cultures were assayed for SRB. DMSO served as the control. The absorbance was measured with a microplate reader equipped with a 540 nm filter, averaged and expressed as the fold increase over the control value.

NO. 172 文献番号： 11218845

担当者 内田 康一

著者名： Hashimoto Y, Nakamura M.

論文題名： Estrogenic activity of dental materials and bisphenol-A related chemicals in vitro.

出典： Dent Mater J. 2000 Sep;19(3):245-62.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x)その他 遺伝子組換え酵母
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x)その他 ER 遺伝子
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 in vitro
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 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M)
7. 観察された影響の種類と濃度 (MCF-7 細胞の増殖促進： 10^{-7} M)
(_____) (_____)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、()思春期、()成熟期、(x)その他
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 の構造類似 27 物質について、3 種類の *in vitro* assay 系によりエストロゲン作用を調べた。 β -galactosidase 誘導を利用した yeast two-hybrid system (Nishikawa, et. al., 1999) では、BPA 10^{-4} M で影響が確認された。ER を用いた Fluorescence polarization system (Bolger et. al., 1998) では、BPA 10^{-4} M で影響が見られた。MCF-7 細胞を用いた E-screen test では、 10^{-7} M で影響が確認された。

添付資料

Fig. 4d

評価者のコメント

化学構造とエストロゲン活性の関係の解明を *in vitro* assay 系で試みているが、*in vivo* assay 系との関係を検討する等、更なる知見が必要と著者も指摘している。

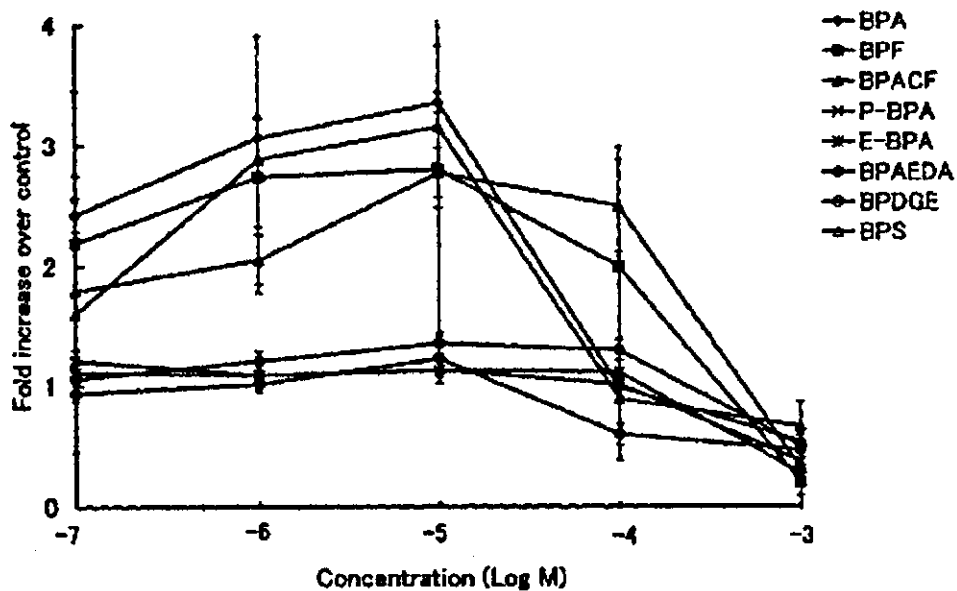


Fig. 4 d

Fig. 4 Dose-response curves of chemicals.

Chemicals were added to MCF-7 cells stock in doses ranging from 10^{-7} to 10^{-3} M. Following 144 hr incubation, the cultures were assayed for neutral red. DMSO as served the control. The absorbance was measured with a microplate reader equipped with a 540 nm filter. The readings were averaged and the results expressed as fold increase over control.

NO.166 文献番号: 11323170

担当者 関澤 純

著者名: Heinrich-Hirsch B, Madle S, Oberemm A, Gundert-Remy U

論文題名: The use of toxicodynamics in risk assessment

出典: Toxicology Letters 120 (2001)131-141

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、(x) 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 in vitro
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 (他の論文を引用)
7. 観察された影響の種類と濃度
(in vitro かつ、他の論文を引用)
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

bisphenol A および 17 β -estradiol のレセプター結合試験、レポーターアッセイなど in vitro 試験において、ヒト由来細胞またはレセプターと、ラット由来のそれらを用いたデータを比較して、リスク評価における種差を推定する上での有用性について検討した。

添付資料

評価者のコメント

生体レベルでの低用量影響の有無について検討したものではない。

NO. 44 文献番号 : 12752938

担当者 中西 義則

著者名 : Hikage S, Nakayama K, Saito T, Takahashi Y, Kamataki T, Suzuki S, Hongo T, Sato A

論文題名 : Cytotoxicity of bisphenol A Glycidyl methacrylate on cytochrome P450-producing cells.

出典 : Journal of Oral Rehabilitation 30 544-549(2003)

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 (x)細胞、()組織、()個体、()その他_____
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他 incubation
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 03, 1, 3, 10, 30, 100 μ g/mL)
7. 観察された影響の種類と濃度 (03, 1, 3, 10, 30, 100 μ g/mL)
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 (及びBPAグリシジルエーテル マタクリレート)が発ガン性活性化アイソチームCYP 3 A 4及びCYP 3 A 7による代謝で活性化され細胞毒性を示すかどうかコロニー生成試験及びNRバイオアッセイを行った。コロニー生成試験ではIC50値よりCYP 3 A 4及びCYP 3 A 7による活性化が無いことが確認された。又、BPAはCYP 3 A 4及びCYP 3 A 7の活性化も阻害もしないことが確認された。

添付資料

Fig. 1

評価者のコメント:

著者らは堤らによるBPAの遺伝毒性及び発ガン性可能性に関する報告に関心を持ち、その作用機構としてBPAがチトクロームによる活性化を起こすとの仮説で本研究を行ったものであるが結果としてその確証を得ることが出来なかった。今後BPAの発ガン性に関して他のアイソチームで同様の研究の必要性を主張している。

Figure 1 shows the cytotoxicity of AFB₁, Bis-GMA and BPA on cells expressing CYP3A4 or CYP3A7. CYP3A4 and CYP3A7 metabolically activated AFB₁, and the

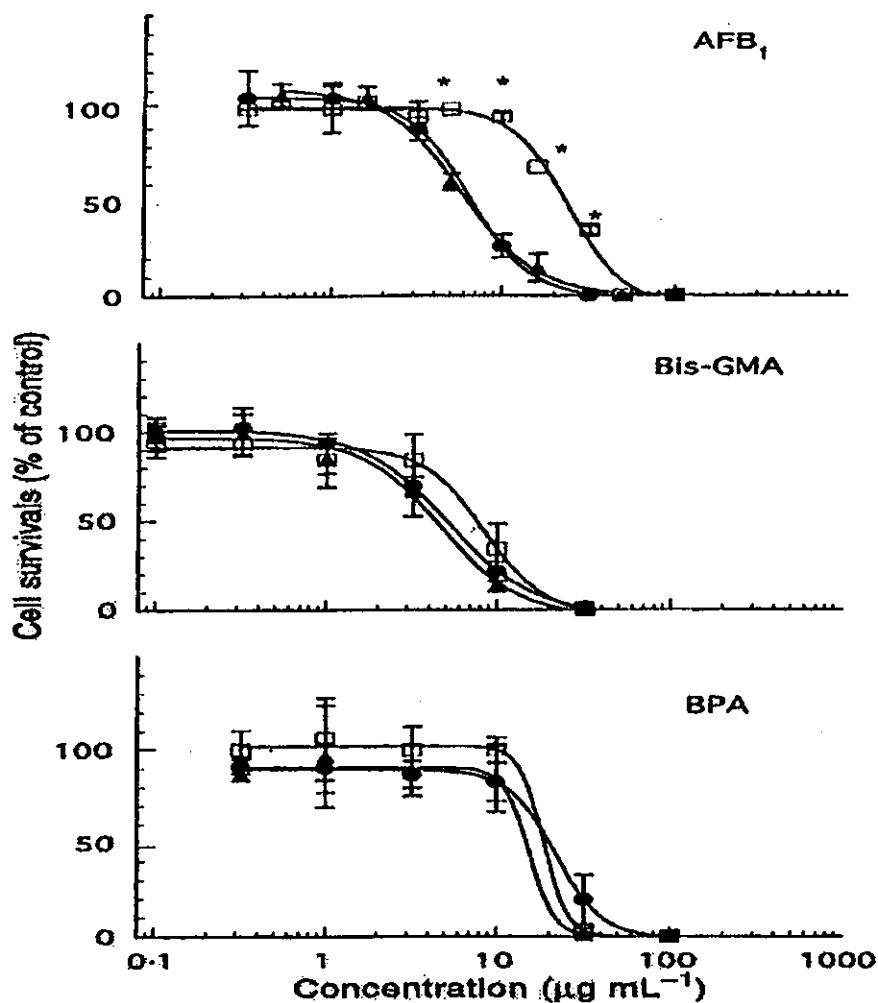


Fig. 1. Cytotoxicity of AFB₁, Bis-GMA and BPA on cells expressing CYP3A4 or CYP3A7 after 7 days. □: CR-119 cells, ●: 3A4-10 cells, ▲: 3A7-40 cells. The CYP3A4 and CYP3A7 metabolically activated AFB₁, and the cytotoxicity of AFB₁ increased. It has been shown that when AFB₁ is activated by CYP3A4 and CYP3A7, an epoxide is formed that damages DNA. However, there were no significant differences between the IC₅₀ values of Bis-GMA and BPA on CR-119 cells and those on 3A4-10 or 3A7-40 cells. The different concentrations of the chemicals are indicated on the logarithmic concentration axis. Each point is the mean ± SD of three wells. *Significantly different from the control (CR-119 cells) ($P < 0.05$).

No.8 文献番号 : 14654251

担当者 佐二木 順子

著者名 : Hong EJ, Choi KC, Jeung EB.

論文題名 : Maternal-fetal transfer of endocrine disruptors in the induction of Calbindin-D9k mRNA and protein during pregnancy in rat model.

出典 : Mol Cell Endocrinol. 30;212(1-2):63-72. (2003)

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、()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 (x)胚・胎児、(x)周産期妊娠 17-19日 ()出生後 ()成熟動物 ()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 BPA, 200, 400, 600 mg/kg/day in corn oil for 3 days, E2 40 μg/kg/day for positive control)
7. 観察された影響の種類と濃度 (母ラットの子宮や胎盤の CaBP-9k 蛋白質量を増加 400, 600 mg/kg/day) (母ラットの胎盤の CaBP-9k-mRNA の発現亢進 200 mg/kg/day) (胎仔の子宮内 CaBP-9k 蛋白質量を増加 600 mg/kg/day)
8. 観察時期 (x)出生前、()出生後、()思春期、(x)成熟期 (妊娠後期)
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

ラットの妊娠後期に BPA, E2 を皮下投与し、母体の組織中、仔の子宮中の CaBP-9k m-RNA の発現レベルを測定した。BPA は、母体の子宮や胎盤、胎仔の子宮内の CaBP-9k 蛋白質量を増加させた。

添付資料 Fig. 4

評価者のコメント :

OP, NP (BPA と同濃度)、DES (500 μg/kg) についても検討している。CaBP-9k m-RNA、CaBP-9k 蛋白質の両因子については、BPA より OP, NP で影響が大きい。DES 投与による仔の子宮内 CaBP-9k 蛋白質増加は他の物質に比べ異常に高い。投与量が異なるので何とも言えないが、E2 の効果は思ったほど大きなものではない (BPA と同程度)。本実験で使用した物質の濃度が高いので、Low Dose 評価の参考にはならないが、著者らは、胎盤が内分泌化学物質から仔の安全を守る barrier ではないことを強調したいようだ。

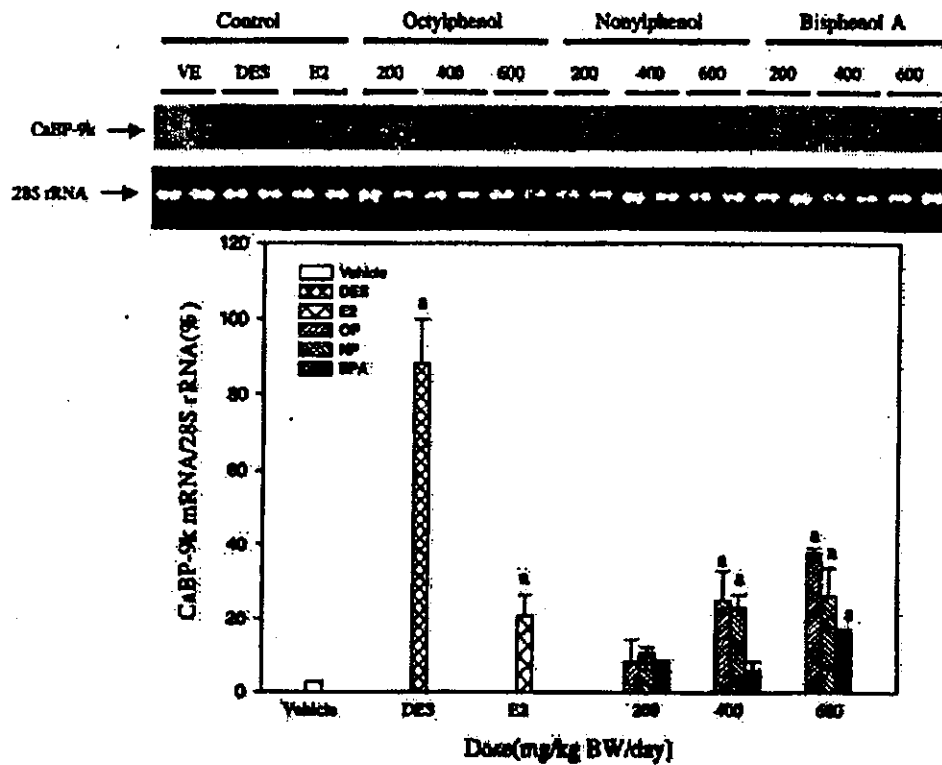


Fig. 4. Induction of CaBP-9k mRNA expression in fetal uterus by estrogenic compounds. Total RNAs from the fetal uterus were used for Northern blot analysis as indicated in Section 2. Briefly, 5 mg of total RNA were electrophoresed on denaturing agarose and transferred to nylon membrane. The membranes were hybridized to CaBP-9k cDNA probe and exposed to X-ray film. The values represent means \pm S.D. a, $P < 0.05$ vs. vehicle.

No. 51 文献番号 : 12676084

担当者 稲葉 克彦

著者名 : Hunt PA, Koehler KE, Susiarjo M, Hodges CA, Ilagan A, Voigt RC, Thomas S, Thomas BF, Hassold TJ.

論文題名 : Bisphenol a exposure causes meiotic aneuploidy in the female mouse.

出典 : Curr Biol. 1;13(7):546-53.(2003)

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 (X) 細胞、() 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、() 周産期、(X) 出生後、() 成熟動物、() 細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (0, 20, 40, 100ng/g/day)
7. 観察された影響の種類と濃度 (20ng/g/day、誤った congression 出現率)
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

未成熟メスマウス (20 から 22 日齢) に 6 から 8 日間所定用量を経口投与後、卵母細胞を摘出し、減数分裂における誤った congression 等の染色体異常が調べられた。その結果、20 ng/g/day 以上で、優位に誤った congression 出現率が増加した。

添付資料 Table 3

評価者のコメント:

20ng/g/day においても影響が認められており、低用量作用について評価を検討すべき文献である。BPA を用いたその他の染色体異常試験結果との整合性や、場合によっては、それらの結果とのギャップを説明する必要がある。その上で、本研究が採用した方法の信頼性について議論すべきである。その他、示された異常に関する BPA の作用機序や、生殖への影響について更なる議論が必要である。

Table 3. Meiotic Effects of Oral BPA Administration

BPA Dose	Congression Failure
Control: 0 ng/g	2/115 (1.7%)
20 ng/g	10/172 (5.8%)
40 ng/g	19/255 (7.5%)
100 ng/g	5/46 (10.9%)

NO.71 文献番号：12485963

担当者 大西 純一

著者名：Inoue H, Yuki G, Yokota H, Kato S.

論文題名：Bisphenol A glucuronidation and absorption in rat intestine.

出典：Drug Metab Dispos. 2003 Jan;31(1):140-4.

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 摘出した腸粘膜
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、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 の処理濃度は、10、50、100 μM 。
- ・腸で吸収された大部分は、腸壁でグルクロン酸抱合される。
- ・生じたグルクロン酸抱合体は、小腸の粘膜部分と大腸の漿膜へ優先的に排出される。
- ・BPA の高用量ばく露では、未抱合体 BPA が劇的に増加する。

添付資料

Fig 5

評価者のコメント

低用量では、ほとんど抱合化されるが、高用量では抱合化されない BPA が著しく増加する。抱合体は、排出され、そして毒性も示さない。

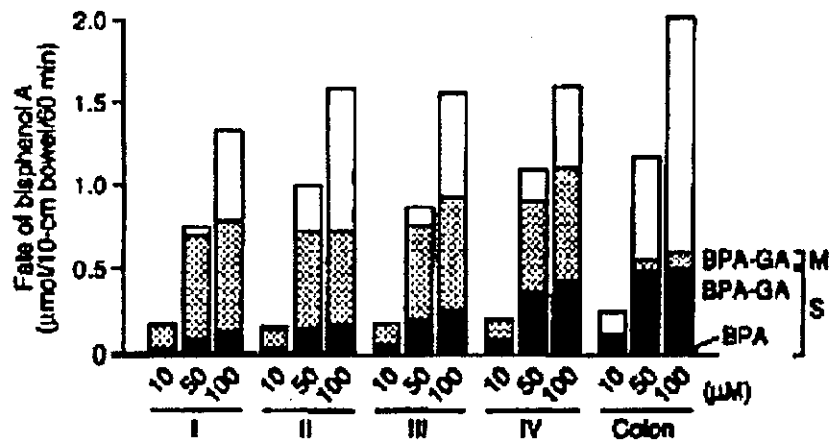


FIG. 5. Absorption and glucuronidation of bisphenol A at 60-min incubation in rat everted intestine in relation to the dose applied.

NO. 185 文献番号 : 11061999

担当者 大関一男

著者名 : Hye Gwang Jeong, Ji Young Kim, Chul Yung Choi

論文題名 : Down-regulation of Murine Cyp 1a-1 in mouse hepatoma hepa-1c1c7 cells by bisphenol-A

出典 : Biochemical and Biophysical Research Communication 277 : 594-598, 2000

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x)その他 培養マウス肝臓Hepa-1c1c7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 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 1、10、50 μM)
7. 観察された影響の種類と濃度 : (Cyp1a-1 遺伝子発現に関し TCDD(0.5nM)、BPA 10 μM 添加系で EROD 活性が TCDD 単独と比べ、6.0%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

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine 添加系で、Bisphenol-A は投与依存的に EROD 活性を減少させ、Cyp1a-1 mRNA のレベルを抑制した。Transient transfection アッセイ系で、Bisphenol-A は Ah レセプターの transformation を Cyp1a-1 遺伝子プロモーターにある DRE シーケンスに特異に結合させる系に変えた。このことにより、Hepa-1c1c 細胞で Bisphenol-A による Cyp1a-1 遺伝子発現の down-regulation は、女性ホルモン介在でなく、核内 Ah レセプターの DRE 結合のアンタゴニストによるものであろう

添付資料

Fig1、2、4

評価者のコメント

TCDD と Bisphenol-A の複合効果が示唆されるデータで、興味ある報告と言える。女性ホルモン受容体介在でなく、Ah レセプターが関与するものとしているが、そのメカニズムを示唆する追加データが必要と思われる。

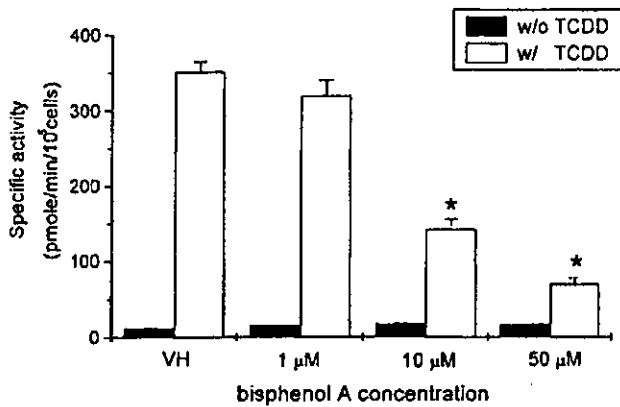


FIG. 1. Effects of bisphenol A on EROD activity in Hepa-1c1c7 cells. EROD activities were measured in Hepa-1c1c7 cells that had been treated with 0.5 nM TCDD and/or various concentrations bisphenol A (1–50 μ M) for 18 h as described under Materials and Methods. Values are the mean \pm SD of triplicate cultures. *Significantly different from vehicle and TCDD, respectively ($P < 0.01$).

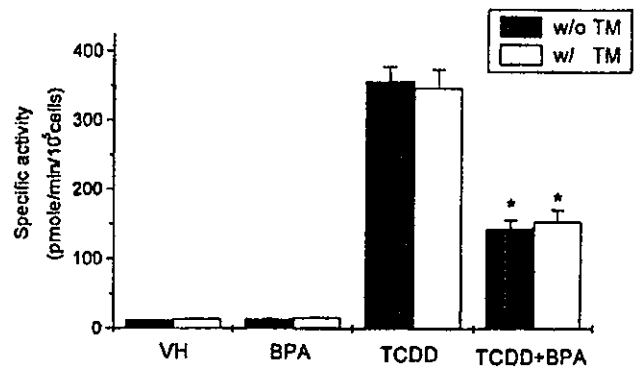


FIG. 2. Effects of tamoxifen on EROD activity in Hepa-1c1c7 cells. EROD activities were measured in Hepa-1c1c7 cells that had been treated with 0.5 nM TCDD, 10 μ M bisphenol A (BPA), 50 nM tamoxifen (TM), or in combination for 18 h. Values are the mean \pm SD of triplicate cultures. *Significantly different from vehicle and TCDD, respectively ($P < 0.01$).

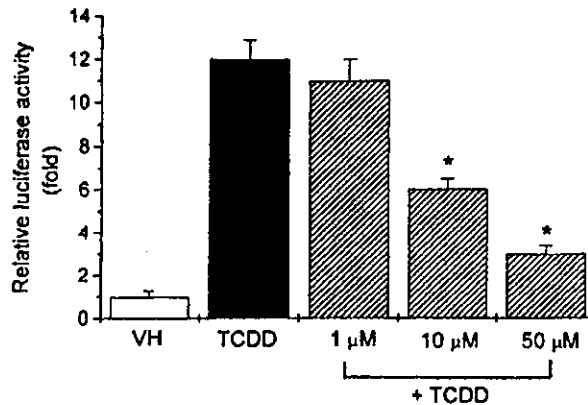


FIG. 4. Effects of bisphenol A on luciferase activity in Hepa-1c1c7 cells transiently transfected with pCyp1a1-Luc. Hepa-1c1c7 cells were transiently transfected with pCyp1a1-Luc, which contains the 5'-regulating region of the *Cyp1a-1* gene, and then treated with 0.5 nM TCDD and/or 10 μ M bisphenol A (1–50 μ M) for 18 h. Cells were harvested, and luciferase activities were determined as described under Materials and Methods. Values \pm SD, each performed in triplicate. The enzyme activities were expressed as relative to that seen with the vehicle (VH) alone. *Significantly different from vehicle and TCDD, respectively ($P < 0.01$).

No. 31 文献番号：12860292

担当者 佐二木 順子

著者名：Kim JY, Jeong HG.

論文題名：Down-regulation of inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor-alpha expression by bisphenol A via nuclear factor-kappaB inactivation in macrophages.

出典：Cancer Lett. 30;196(1):69-76.(2003)

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、(x)マウス BALB/C系、マクロファージ、()人、()その他
2. 影響の標的臓器 ()神経系、(x)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 培地添加
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 BPA 1-50 μ M (11.5 mg/kg), E2 1, 10 nM)
7. 観察された影響の種類と濃度 (LPSが誘導するNOとTNF- α の産生を抑制 BPA:10, 50 μ M
E2:1, 10nM)
(遺伝子発現の抑制 BPA:10, 50 μ M)
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

マウスの macrophages (primary と cell line RAW 264.7) の nitric oxide (NO), tumor necrosis factor- α (TNF- α) 産生能に及ぼす BPA の影響について調べた。50 μ M (11.5 mg/kg) の BPA のみでは何ら影響はなかったが、lipopolysaccharide (LPS) が誘導する NO と TNF- α の産生を抑制した。これらに関する遺伝子発現も濃度依存的に抑制した。エストロゲンレセプターの拮抗剤である ICI 182,780 は BPA の抑制作用を阻害した。NF- κ B 結合部位を用いた測定では、LPS が誘導する NF- κ B の転写を抑制した。BPA は estradiol receptor を介した TNF- κ B の転写を抑制することにより、NO と TNF- α の産生を抑制し、免疫系を調節することが示唆された。

添付資料 Table1, Fig. 1, 2,

評価者のコメント：

In vitro で BPA が免疫系の機能を制御するという報告である。用いた濃度も高くなく、明白な結果が得られている。BPA が直接免疫系に作用するのではないが、BPA のもつエストロゲン作用が間接的に免疫機能に影響を与えるという結論である。化学物質の示すこの種の作用は生体反応多岐にわたると思われる。

Table 1
Effects of BPA on NO and TNF- α production

Treatment ^a	Macrophages		RAW 264.7	
	Nitrite (μ M) ^b	TNF- α (ng/ml) ^c	Nitrite (μ M) ^b	TNF- α (ng/ml) ^c
Control	2.12 \pm 0.22*	0.83 \pm 0.10*	2.33 \pm 0.27*	0.65 \pm 0.11*
BPA 50 μ M	2.34 \pm 0.25*	0.79 \pm 0.08*	2.28 \pm 0.28*	0.71 \pm 0.09*
LPS 0.5 μ g/ml	15.27 \pm 1.53	12.28 \pm 1.42	42.28 \pm 4.37	17.21 \pm 1.85
LPS + BPA 1 μ M	12.39 \pm 1.43	9.86 \pm 1.13	37.14 \pm 3.87	14.35 \pm 1.62
LPS + BPA 10 μ M	8.23 \pm 0.91*	6.75 \pm 0.74*	20.16 \pm 2.16*	8.59 \pm 0.94*
LPS + BPA 50 μ M	4.81 \pm 0.52*	2.13 \pm 0.31*	7.91 \pm 0.87*	2.75 \pm 0.39*
LPS + E2 1 nM	9.87 \pm 1.13*	8.22 \pm 1.02*	29.22 \pm 3.22*	11.29 \pm 1.24*
LPS + E2 10 nM	6.61 \pm 0.83*	5.72 \pm 0.74*	18.45 \pm 2.06*	7.22 \pm 0.83*

Values are expressed as mean \pm S.D. of three individual experiments, performed in triplicate. * P < 0.01, significantly different from the LPS.

^a Murine peritoneal macrophages or RAW 264.7 cells were treated with LPS and/or BPA.

^b Supernatants were harvested 24 h later and assayed for NO.

^c Supernatants were harvested 6 h later and assayed for TNF- α .

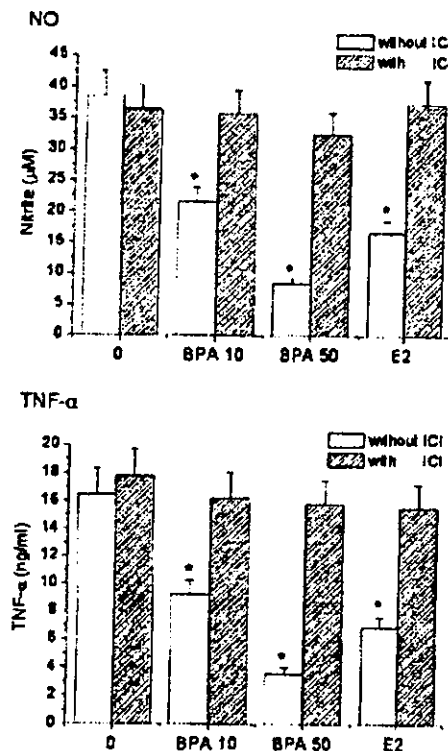


Fig. 1. The effects of ICI 182,780 on NO and TNF- α production. RAW 264.7 cells were treated with BPA (10, 50 μ M), E2 (10 nM), or ICI 182,780 (ICI: 100 nM) in the presence of LPS (0.5 μ g/ml). Supernatants were harvested 6 or 24 h later and assayed for NO or TNF- α production, respectively. Values are expressed as mean \pm S.D. of three individual experiments, performed in triplicate. * P < 0.01, significantly different from the LPS.

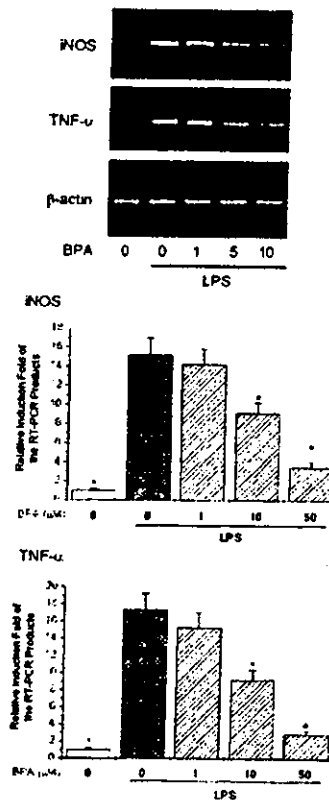


Fig. 2. The effects of BPA on iNOS and TNF- α mRNA expression. RAW 264.7 cells were treated with LPS (0.5 μ g/ml) and/or BPA (1, 10, 50 μ M) for 6 h. Cells were lysed and total RNA was prepared for the RT-PCR analysis of gene expression. PCR amplification of the housekeeping gene, β -actin, was performed for each sample. One of three representative experiments is shown. The ratio of the RT-PCR products of iNOS or TNF- α to β -actin was calculated. Induction-fold is represented as mean \pm S.D. of three separate experiments. * P < 0.01, significantly different from the LPS.

No. 32 文献番号 : 12851153

担当者 根岸 隆之

著者名 : Lee MR, Kim YJ, Hwang DY, Kang TS, Hwang JH, Lim CH, Kang HK, Goo JS, Lim HJ, Ahn KS, Cho JS, Chae KR, Kim YK.

論文題名 : An in vitro bioassay for xenobiotics using the SXR-driven human CYP3A4/lacZ reporter gene.

出典 : Int J Toxicol. 22(3):207-13. (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 (NIH3T3 (マウス)、HepG2 (ヒト))
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x) その他 細胞
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 BPA 10 μ M)
7. 観察された影響の種類と濃度 (10 μ M BPA で hCYP プロモーター依存性 LacZ 発現の上昇、および SXR 依存性 LacZ 発現の阻害 (HepG2))
(10 μ M BPA で hCYP プロモーターおよび SXR 依存性 LacZ 発現の上昇 (NIH3T3))
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

2種類の株化細胞 (ヒト由来 HepG2、マウス由来 NIH3T3) に hCYP3A4 プロモーター (SXR 結合ドメインを含む) の下流に LacZ という遺伝子に加え、SAP プロモーターの下流に SXR をつなげた2種類の遺伝子をコトランスフェクションした後、10 μ M の E2 または BPA に暴露して LacZ の発現変化を mRNA レベルで検討した論文である。hCYP3A4/LacZ 導入 HepG2 において SXR を導入しない場合は BPA により LacZ 発現上昇、SXR 導入時は発現抑制が生じた。これは BPA が SXR ではない因子の発現を変化させ、CYP3A4 発現を上昇させる可能性を示唆する。また SXR 導入時の発現抑制は SXR 依存の CYP3A4 発現を抑制する可能性を示唆する。この細胞株では E2 により発現変化は見られなかった。マウス由来 NIH3T3 を用いた実験では E2、BPA とともに、SXR 非導入、導入株いずれの細胞株においても LacZ 発現を上昇させた。

添付資料 : 特になし

評価者のコメント : 一番重要な Fig. 4. の説明が誤植というか意味不明。統計的処理の結果がグラフに反映されていない為、有意なのか否か不明。ヒト由来とマウス由来の細胞株では反応性が異なることを筆者らは強調しているが、由来に肝臓と繊維芽細胞では疑問が残る。ヒト由来細胞株の場合、BPA と E2 で全く発現変化様式が異なることは BPA は ER 以外の経路で遺伝子発現を変化しうる可能性を示唆する。ただし、濃度が高い (10 μ M)。その他この論文には誤植 (説明が食い違っていたり) が多い。トキシカントの代謝で最も広汎に働く CYP3A4 の発現変化に着目しているのは興味深い。

NO.194 文献番号：10937835

担当者 大西 純一

著者名：Lewis JB, Lapp CA, Schafer TE, Wataha JC, Randol TM, Schuster GS.

論文題名：4-Hydroxytamoxifen-induced cytotoxicity and bisphenol A: competition for estrogen receptors in human breast cancer cell lines.

出典：In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2000 May;36(5):320-6.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 ヒト乳がん細胞
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 _____
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

潜在的なエストロゲン性作用を評価するために MFC-7 細胞の増殖試験が開発された。しかしながら、MFC-7 細胞、特に BUS 細胞株は、エストロゲン性に分類されない多数の刺激剤に反応して増殖する。本試験では、良く知られたエストロゲン受容体介在型の抗ホルモン性試薬の 4-OH-タモキシフェンと種々のエストロゲン性化合物の競合によって能力を測定する方法を調べた。実際には、4-OH-タモキシフェンを処理した MFC-7 細胞は、ミトコンドリアの脱水素酵素の活性が非常に減少して細胞毒性を示すので、その酵素活性を MTT 法で測定することによりエストロゲン活性の測定が可能である。17 α -と 17 β -エストラジオールは、用量依存的に良く競合した。本アッセイは、弱い外因性エストロゲン性化合物である BPA を検出するに十分な感度を持っている。

一方、MCF-7 の増殖には相対的に高濃度の BPA が要求されるが、エストロゲン受容体介在型の 4-OH-タモキシフェンの細胞毒性を完全に防ぐことが出来なかったため、BPA による細胞増殖は非エストロゲン性の経路による影響を受けた可能性がある。

添付資料

Fig 3, 4, 5

評価者のコメント

BPA による MFC-7 細胞の増殖は非エストロゲン性であると述べているが、さらに細胞増殖の引き金に関係している細胞情報伝達メカニズムを特定すべきであるとも述べている。

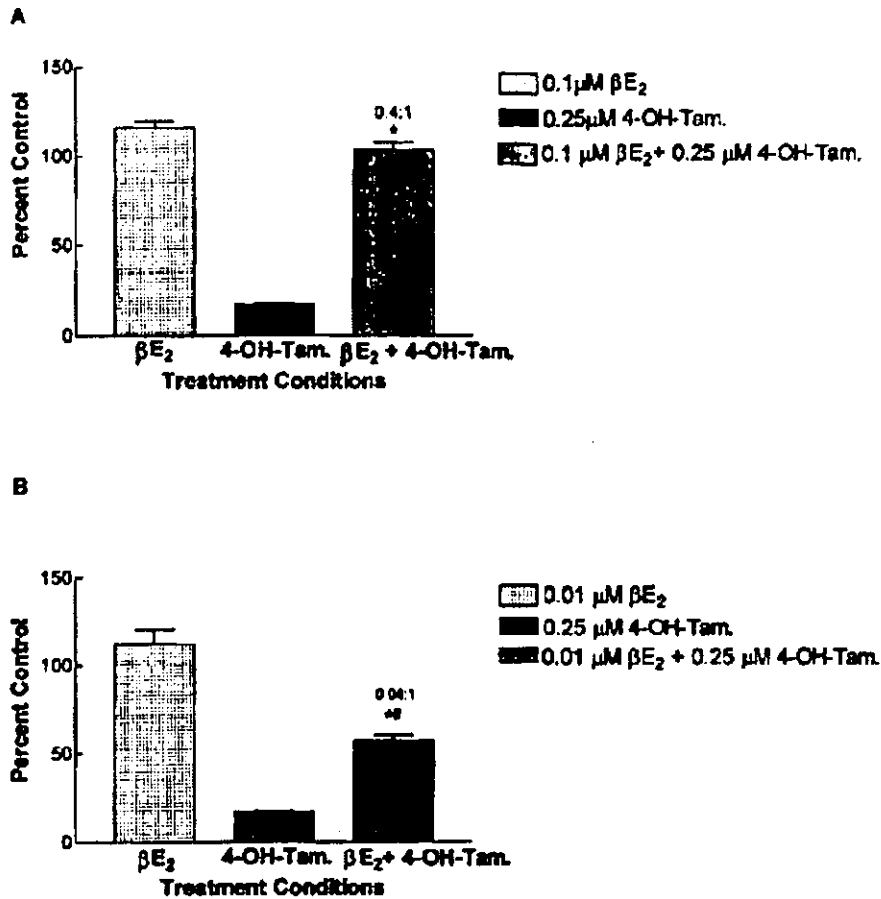


FIG. 3. Effect of treatment with 0.1 μM 17 β -estradiol (A) or 0.01 μM 17 β -estradiol (B) and 0.25 μM 4-hydroxytamoxifen, singly or in combination on mitochondrial dehydrogenase activity of the MCF-7 ATCC subline. All cells were harvested for MTT assay on day 7 of treatment. Optical density values obtained by MTT assay of control cultures (EtOH vehicle alone) were assigned a value of 100%. Optical density values obtained by MTT assay of treated cultures were normalized to control values and reported as percent control. * Indicates statistical significance ($P < 0.05$) compared to 4-hydroxytamoxifen treatment alone using one-way ANOVA and Newman-Keuls multiple comparison post test. # Indicates statistical significance ($P < 0.05$) compared to the identical concentration of 17 β -estradiol treatment alone.