

FIG. 4. Effect of treatment with 0.1 μM 17 α -estradiol (A), 1.0 μM 17 α -estradiol (B), or 5 μM 17 α -estradiol (C), and 0.25 μM 4-hydroxytamoxifen, singly or in combination on mitochondrial dehydrogenase activity of the MCF-7 HTB22 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 Scheffe's multiple comparison post test (A and B) or Newman-Keuls multiple comparison post test (C). † Indicates statistical significance ($P < 0.05$) compared to the identical concentration of 17 α -estradiol treatment alone.

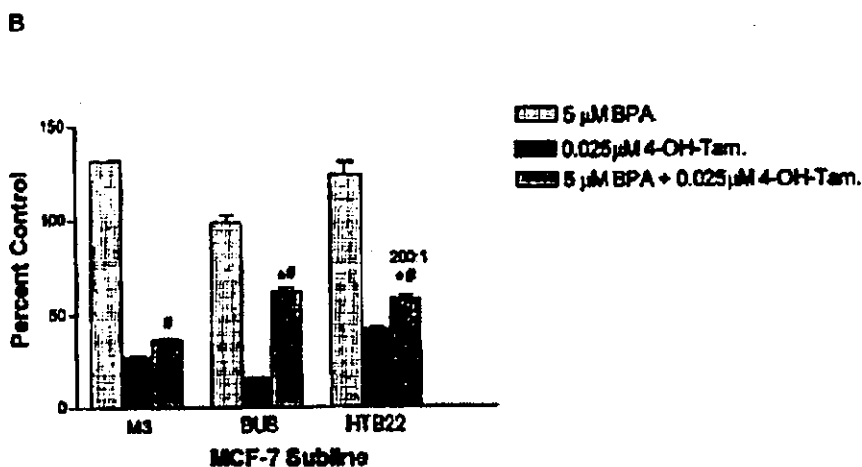
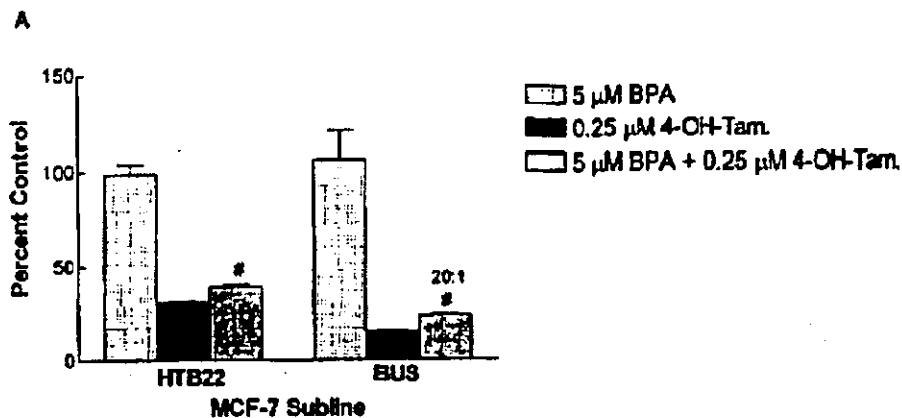


FIG. 5. Effect of treatment with 5 μ M BPA and 0.25 μ M 4-hydroxytamoxifen (A) or 0.025 μ M 4-hydroxytamoxifen (B), singly or in combination on mitochondrial dehydrogenase activity of MCF-7 sublines. All cells were harvested for MTT assay on day 7 of treatment. Optical density values obtained by MTT 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 Scheffe's multiple comparison post test (A) or Newman-Keuls multiple comparison post test (B). # Indicates statistical significance ($P < 0.05$) compared to BPA treatment alone.

NO. 159 文献番号: 11393178

担当者 内田 康一

著者名: Long X, Burke KA, Bigsby RM, Nephew KP.

論文題名: Effects of the xenoestrogen bisphenol A on expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the rat.

出典: Exp Biol Med (Maywood). 2001 May;226(5):477-83.

チェック項目:

1. 対象生物 ラット (S-D, 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 (子宮、膣、下垂体の VEGF 遺伝子発現)、 その他 _____
3. 影響の種類 細胞、 組織、 個体、 その他 mRNA の発現レベル
4. 曝露方法 経口、 埋め込み、 その他 腹腔腔内投与(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, 0.02, 0.2, 2, 10, 18.75, 37.5, 75, 150 mg/kg body wt)
7. 観察された影響の種類と濃度: (37.5 mg/kg body wt. : 腹腔腔内投与 2 時間後の VEGF 遺伝子発現が観察された最低濃度) (_____)
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 NIH standards (established by the Guidelines for the Care and Use of Experimental Animals and the American Veterinary Medical Association) に準拠した local protocols and procedures、 いいえ

論文の概要

ラットの系統(strain)により BPA へのレスポンスの感受性は異なることが報告されている。本報では、エストロゲンが作用する VEGF (vascular endothelial growth factor) 遺伝子の発現を指標とし、ラットの 2 系統 [Fisher 344 (F344), Sprague-Dawley (S-D)] における子宮、膣、下垂体における VEGF 遺伝子発現への BPA の影響、及び両系統への影響の差異を調べた。BPA は、腹腔腔内投与し、2 時間後の各臓器内の VEGF の mRNA レベルを測定した。その結果、BPA 37.5 mg/kg bw 以上にて、VEGF 遺伝子の発現が観察された。また、両系統間での差異は確認されなかった。

添付資料

Fig. 3、Fig. 4

評価者のコメント

BPA が子宮、膣、下垂体の VEGF 遺伝子発現を誘導するとの初めての報告である。BPA を腹腔腔内投与しているが、各器官における VEGF 遺伝子の発現レベルを測定しているのみであり、他の影響は観察されていない。一方、VEGF 遺伝子の遺伝子構成パターン(splicing isoforms)は多数あり、BPA への影響レベルも異なっている。また下垂体における VEGF の機能は不明であり、当該遺伝子の発現調節メカニズムも十分明らかになっていず、エストロゲン等の positive control、BPA 以外の化学物質の影響も明らかではないので、各器官における VEGF の機能、調節系等の更なる知見の収集が必要と考えられる。

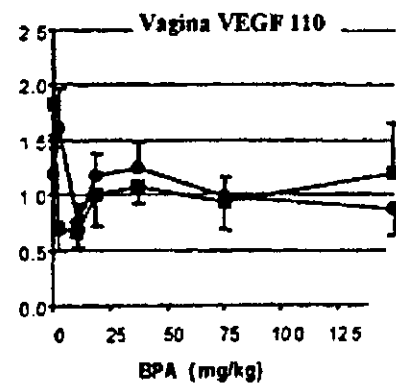
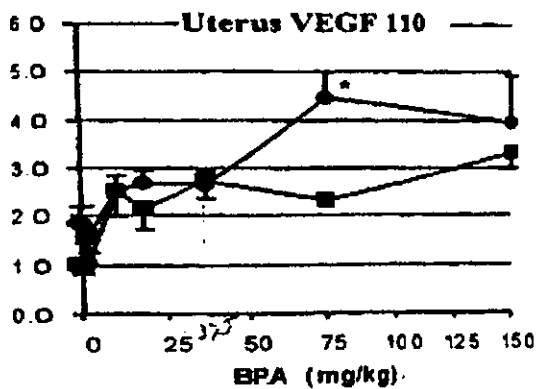
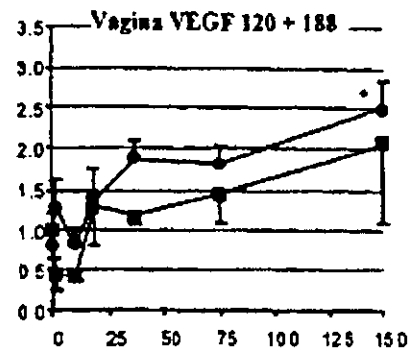
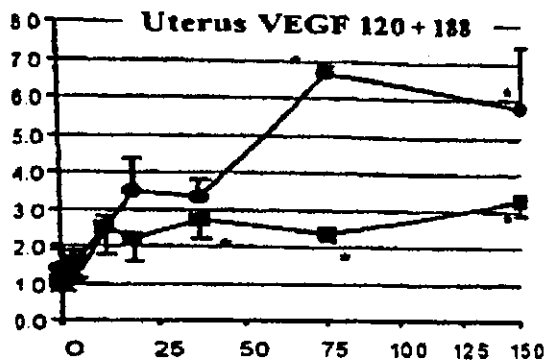
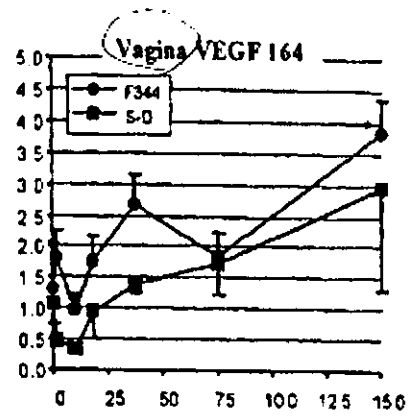
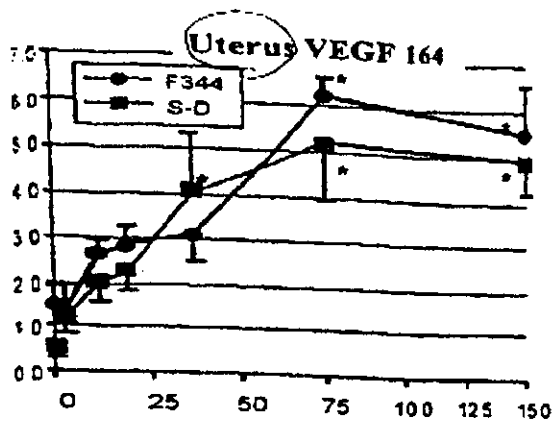


Fig. 2. Effect of BPA dose on VEGF isoform expression. VEGF mRNA levels for uterus (left) and vagina (right) are analyzed as arbitrary OD units relative to cyclophilin mRNA. VEGF expression was analyzed separately in F344 (●) and S-D (■) rats. Values are means \pm SEM, $n = 3$; asterisks indicate $P < 0.05$ versus the corresponding control (0 dose).

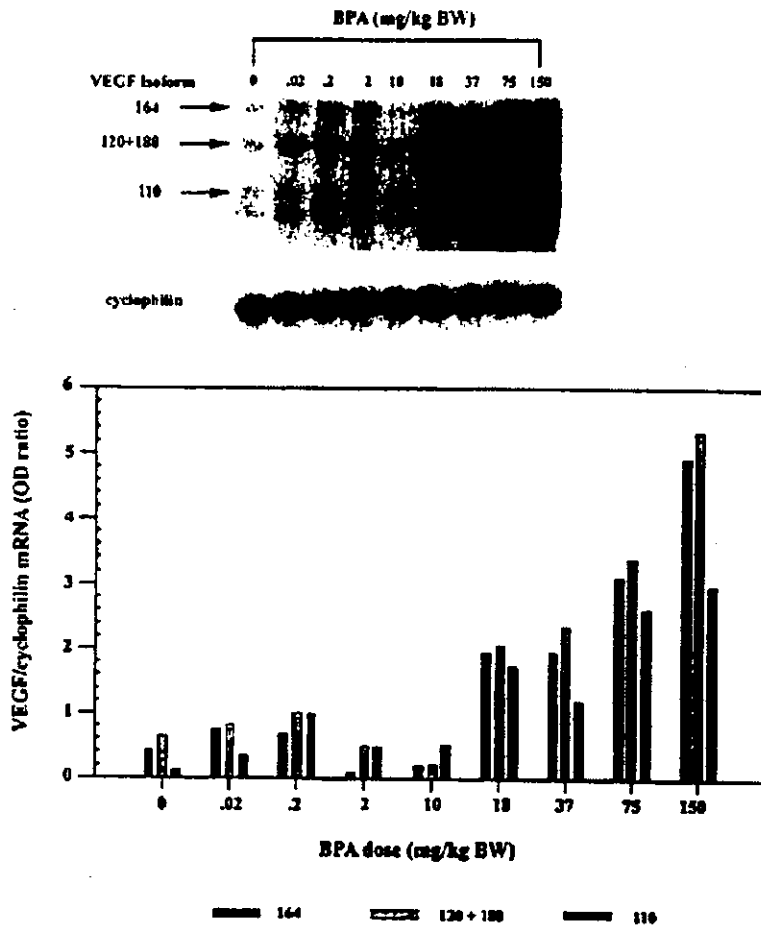


Figure 4. BPA induction of VEGF isoform expression in the pituitary. Two hours after BPA treatment, pituitaries were collected and pooled for three animals in the same dose group. Total RNA was extracted from the pooled pituitary samples and subjected to RPA for both VEGF and cyclophilin. The RPA autoradiogram from F344 rat pituitaries is shown on the upper half. The dose-response effect was analyzed by densitometric analysis of the autoradiogram and depicted graphically on the lower half.

NO. 169 文献番号： 11258963

担当者 内田 康一

著者名： Matthews JB, Twomey K, Zacharewski TR.

論文題名： In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors alpha and beta.

出典： Chem Res Toxicol. 2001 Feb;14(2):149-57.

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 レセプターへの結合
4. 曝露方法 経口、 埋め込み、 その他 皮下注射(sc)
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, 0.002, 0.02, 0.2, 1, 10, 100, 200, 800 mg/kg/day)
7. 観察された影響の種類と濃度
(子宮重量増： 皮下注射 10 mg/kg/day, 経口等よ 200 mg/kg/day)
() ()
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

3 種類の estrogen receptor (mouse-ER, human-ER α , human-ER β) に対し、BPA と 17 β -estradiol (E2) との競争結合試験を行ったところ、BPA はそれぞれ異なる親和性 (IC50) で競争置換し、ER β への親和性がより強かった。しかし、BPA による ER 遺伝子の発現誘導レベルは、ER α 、ER β とも同等だった。一方、BPA-glucuronide (BPA-G) についても、ER との結合試験および ER 遺伝子発現誘導性を調べたところ、BPA のような活性は全く観察されなかった。

未成熟雌ラットを用いた、子宮重量アッセイ法により BPA の影響を調べたところ、経口投与では 200、800mg/kg/day で影響が出たが、皮下注射では 10、100、800mg/kg/day で影響が観察された。

添付資料

Table 1, Table 2, Table 3, Table 5

評価者のコメント

BPA の投与経路により観察される影響に差が生じる現象は、Long Evans rats (Laws, S.C., et. al., 2000) でも報告されていた。本報により、BPA-G にはエルトロゲン様作用がないことが *in vitro* assay により確認され、BPA 投与経路による影響濃度の差は、BPA-G への代謝速度の差が原因となっていることが裏付けられたことになる。

Table 1. Summary of the IC₅₀ Values of the Competitive Binding of 17β-Estradiol, Bisphenol A, and Bisphenol A Glucuronide to GST-hERdef, Recombinant hERβ, and Mouse Uterine Cytosol

chemical	IC ₅₀ (M) ^a		
	GST-hERdef	hERβ	mouse cytosol
17β-estradiol	(2.9 ± 0.5) × 10 ⁻⁹	(3.6 ± 0.4) × 10 ⁻⁹	(3.0 ± 0.2) × 10 ⁻⁹
bisphenol A	(3.6 ± 1.6) × 10 ⁻⁵	(9.6 ± 2.3) × 10 ⁻⁷	(2.6 ± 1.1) × 10 ⁻⁵
bisphenol A glucuronide	nb ^b	nb	nb

^a IC₅₀ values represent the means and standard deviations from three independent experiments. ^b nb denotes nonbinder since this chemical did not displace more than 10% of the [³H]E2 at the highest concentration that was examined (100 μM).

Table 2. Summary of the Ability of 17β-estradiol, Bisphenol A, and Bisphenol A Glucuronide to Induce Estrogen Receptor-mediated Gene Expression

chemical	EC ₅₀ (M) ^a	
	Gal4-hERdef	Gal4-hERβdef
17β-estradiol	(5.3 ± 2.1) × 10 ⁻¹¹	(8.3 ± 2.9) × 10 ⁻¹¹
bisphenol A	(7.1 ± 2.9) × 10 ⁻⁷	(4.5 ± 1.8) × 10 ⁻⁷
bisphenol A glucuronide	ni ^b	ni

^a EC₅₀ values represent the means and standard deviations from three independent experiments. ^b ni denotes no induction.

Table 3. Effect of Oral Gavage of Bisphenol A on Blotted and Dry Uterine Weight in Rats

	dose level (mg/kg/day)	no. of animals	terminal body weight (g) (mean ± SD)	uterus weight (mg) (mean ± SD)	1/2 uterus blotted weight (mg) (mean ± SD)	1/2 uterus dry weight (mg) (mean ± SD)	1/2 uterus percent loss on drying (mean ± SD)
arachis oil	0	10	61.7 ± 4.5	29 ± 9	13 ± 3	3.4 ± 0.04	73.3 ± 3.8
bisphenol A	0.002	10	61.2 ± 6.1	34 ± 8	16 ± 3	3.8 ± 0.09	75.9 ± 2.2
bisphenol A	0.02	10	59.8 ± 6.3	31 ± 9	15 ± 3	3.8 ± 0.06	73.4 ± 3.6
bisphenol A	0.2	10	60.5 ± 8.4	31 ± 9	15 ± 4	3.7 ± 0.12	75.4 ± 3.1
bisphenol A	1	10	61.2 ± 6.6	33 ± 9	16 ± 4 ^c	4.3 ^c ± 0.11	73.7 ± 5.2
bisphenol A	10	10	61.8 ± 6.3	30 ± 11	13 ± 3	3.7 ± 0.09	71.8 ± 5.5
bisphenol A	100	10	60.6 ± 6.9	29 ± 6	14 ± 3	3.6 ± 0.08	74.0 ± 3.0
bisphenol A	200	10	61.8 ± 5.5	36 ± 8 ^c	17 ± 4 ^c	4.3 ± 0.07 ^c	74.4 ± 2.2
bisphenol A	800	9	60.7 ± 6.7	58 ± 14 ^b	29 ± 6 ^b	6.0 ± 0.08 ^b	78.1 ± 2.6 ^b
17β-estradiol	0.4	10	61.4 ± 5.1	109 ± 19 ^b	52 ± 11 ^b	10.3 ± 0.18 ^b	80.0 ± 1.1 ^b

^a p < 0.05 with a Student's t test (two-sided). ^b p < 0.01 with a Student's t test (two-sided).

Table 5. Effect of Subcutaneous Administration of Bisphenol A on Blotted and Dry Uterine Weight in Rats

	dose level (mg/kg/day)	no. of animals	terminal body weight (g) (mean ± SD)	uterus weight (mg) (mean ± SD)	1/2 uterus blotted weight (mg) (mean ± SD)	1/2 uterus dry weight (mg) (mean ± SD)	1/2 uterus percent loss on drying (mean ± SD)
arachis oil	0	10	63.3 ± 2.4	42 ± 8	19 ± 5.1	2.9 ± 1.7	85.3 ± 6.7
bisphenol A	0.002	10	61.9 ± 4.5	41 ± 14	19 ± 5.6	3.0 ± 2.7	85.2 ± 13.4
bisphenol A	0.02	10	61.4 ± 3.4	48 ± 21	22 ± 11	3.3 ± 4.7	86.7 ± 10.5
bisphenol A	0.2	10	63.4 ± 6.4	37 ± 8	16 ± 3.3	1.6 ± 1.4	90.1 ± 7.8
bisphenol A	1	10	66.5 ± 3.5	43 ± 10	21 ± 4.2	3.0 ± 2.4	86.7 ± 9.1
bisphenol A	10	10	66.4 ± 1.7	44 ± 10	19 ± 4.9	2.0 ± 2.1	89.5 ± 12.6
bisphenol A	100	10	64.4 ± 2.4	51 ± 5	22 ± 3.7	1.2 ± 1.2	94.9 ± 4.7 ^c
bisphenol A	800	10	62.6 ± 4.0	91 ± 33 ^b	42 ± 14	4.3 ± 3.7	90.7 ± 6.0
17β-estradiol	0.4	10	62.4 ± 5.8	135 ± 14 ^b	60 ± 6.4 ^b	7.7 ± 2.4 ^b	87.5 ± 3.4

^a p < 0.05 with a Student's t test (two-sided). ^b p < 0.01 with a Student's t test (two-sided).

No. 80 文献番号: 12414890

担当者 根岸 隆之

著者名: Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, Hataya Y, Shimatsu A, Kuzuya H, Nakao K.

論文題名: Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist.

出典: J Clin Endocrinol Metab. 2002 Nov;87(11):5185-90.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、()その他 細胞 (TSA201 clone (HEK293 (ヒト)由来)、HepG2 (ヒト))
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 遺伝子発現
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、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 1, 10, 100nM, 1, 10, 100μM)
7. 観察された影響の種類と濃度 (Ki 200μM で甲状腺ホルモン受容体(TR)に結合) (1μMBPA が 3nMT3 と TRα1 および TRβ1 との結合を阻害) (10μM および 100nMBPA が 10nMT3 存在下でのそれぞれ TRα1 および TRβ1 と TRE の結合を阻害) (10μM および 100nMBPA が 10nMT3 存在下でのそれぞれ TRβ1 および TRβ2 と TSHαプロモーター領域との結合を阻害) (BPA (1, 100, 10000nM) が濃度依存的に共役抑制因子と TR との結合を阻害)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、()思春期、()成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 ()あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、()なし
GLP に準拠 ()はい、()いいえ
ガイドラインへの準拠 ()はい: ガイドラインの名称 _____、()いいえ

論文の概要

BPA の甲状腺ホルモン受容体のリガンドとしての可能性を mammalian two-hybrid assay 系にて多角的に検討した。BPA は濃度依存的に甲状腺ホルモン (T3) 依存的遺伝子発現を抑制した。BPA はまた逆に甲状腺ホルモン依存的遺伝子発現抑制も阻害した。さらに BPA は TR に直接結合するだけでなく共役抑制因子にも結合し、TR と共役抑制因子との結合も阻害することが明らかとなった。以上のことから BPA は甲状腺ホルモンのアンタゴニストとしての活性を有する可能性が示された。

添付資料: 特になし

評価者のコメント: これまで系を問わずに言えばエストロゲン様および抗アンドロゲン様作用が報告されている BPA について、新たに抗甲状腺ホルモン様作用を初めて報告した論文である。Mammalian two-hybrid アッセイ系を用いて検討しているが、未だ in vivo でこれを立証した報告はない。また用いた BPA の濃度を考えると抗甲状腺ホルモンとしての活性は T3 に比べ著しく弱いと考えられる。

NO. 131 文献番号 : 11780963

担当者 川島 浩

著者名 : Murono EP, Derk RC, de Leon JH.

論文題名 : Differential effects of octylphenol, 17beta-estradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells.

出典 : Reprod Toxicol. 2001 Sep-Oct;15(5):551-60.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 SDラット Leydig 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 1, 10, 100, 500, 1000 nM)
7. 観察された影響の種類と濃度 (全ての濃度範囲でテストステロン産生量に影響なし)
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、(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 : Guide for the Care and Use of Laboratory Animals from AAALAC

論文の概要

in vitro 成熟ラット Leydig 細胞モデルを使って、4-オクチルフェノール(OP)、BPA、エンドスルファンのテストステロン産生に及ぼす影響を 17β-エストラジオールと比較して調べた。OP と異なり BPA、エンドスルファン、17β-エストラジオールは試験した濃度範囲で、hCG の有無に関わらず、テストステロン産生レベルに影響は見られていない。さらにテストステロン合成前駆体の 22(R)ヒドロキシコレステロール添加による影響も見られなかった。一方、OP は濃度依存的にテストステロン産生量に影響を及ぼすことから、Leydig 細胞でのテストステロン合成に関する感受性が OP と BPA で異なると考えられる。

添付資料

Fig. 3

評価者のコメント

OP と BPA は、ともにフェノール骨格を有す外因性のエストロゲン様物質として知られているが、標的細胞や動物種に対する感受性の違いを示したものと考えられる。ただ、感受性を比較するならば、OP は 2000nM まで影響を見ているので、BPA に関しても、2000nM まで見るべきではなかったかと思う。統計処理はされている。

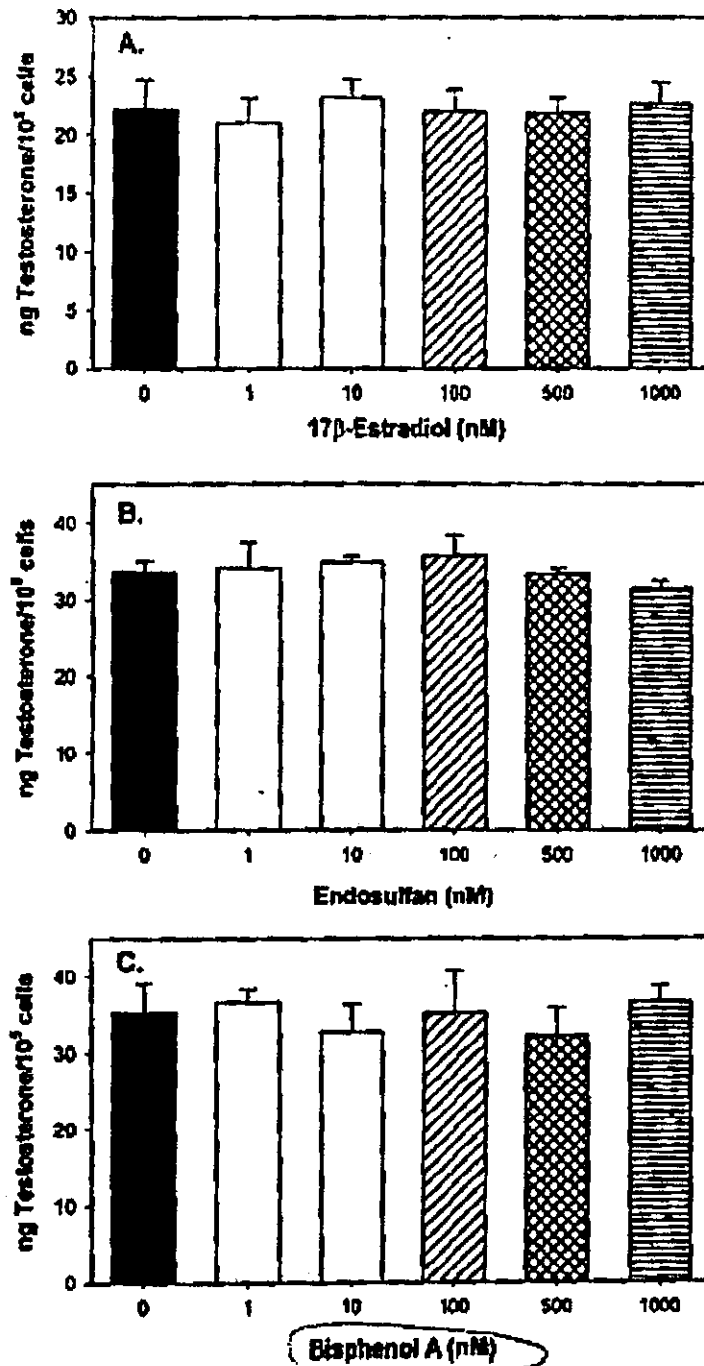


Fig. 3. Effect of initial exposure to 17β-estradiol, endosulfan, or bisphenol A and hCG on subsequent conversion of 22(R)hydroxycholesterol to testosterone. Leydig cells were exposed to increasing concentrations of 17β-estradiol (1 to 1000 nM, panel A), endosulfan (1 to 1000 nM, panel B), or BPA (1 to 1000 nM, panel C), and 10 mIU/mL hCG for 24 h. Next, fresh medium containing 1 μM 22(R)hydroxycholesterol was added to each well, and testosterone formation after incubation for 4 h was determined. Each treatment represents the mean ± SEM of 4 separate samples from a single experiment. These results are representative of at least 3 separate experiments.

著者名: Nagahori H, Komai K, Tomigahara Y, Saito K, Isobe N, Kaneko H.

論文題名: Initial induction and subsequent reduction of alpha(2u)-globulin in urine and serum of mature male rats after repeated intraperitoneal injections of (anti)estrogen.

出典: Toxicology. 2001 May 11;162(2):73-80.

チェック項目

1. 対象生物 ラット (Crj:CD(SD))、 マウス、 人、 その他 _____
2. 影響の標的臓器 神経系、 免疫系、 生殖系、 その他 肝臓中タンパク発現
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 腹膜腔内投与(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 100 mg/kg/day のみ)
7. 観察された影響の種類と濃度: (影響なし)
(_____)
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

成熟雄ラットの肝臓における $\alpha 2u$ -Globulin (a2uG) タンパク発現をバイオマーカーとし、エストロゲン作用の検出系としての利用可能性を検討した。各種性ホルモンを腹膜腔内投与し、尿および血清中の a2uG タンパクを検出した。17 β -estradiol (1 μ g/kg/day)、tamoxifen (50mg/kg/day) および diethylstilbestrol (1mg/kg/day) では a2uG 濃度が変化したが、dihydrotestosterone (1mg/kg/day)、flutamide (50mg/kg/day) および BPA (100mg/kg/day) では変化はみられなかった。

この結果は、尿中の a2uG タンパクレベルは、エストロゲン作用を簡便に感度よく検出する indicator として使用できることを示している。

添付資料

Fig. 5

評価者のコメント

本報によるアッセイ系により、BPA, nonylphenol (NP), dieldrin (DED), dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), genistein (GEN), daidzein (DAI) による影響は観察されなかったが、これは、これらの物質が容易に代謝されるので、*in vivo* におけるエストロゲン作用が非常に弱く、あるいは作用が無くなってしまいうためであろうと著者は推定している。

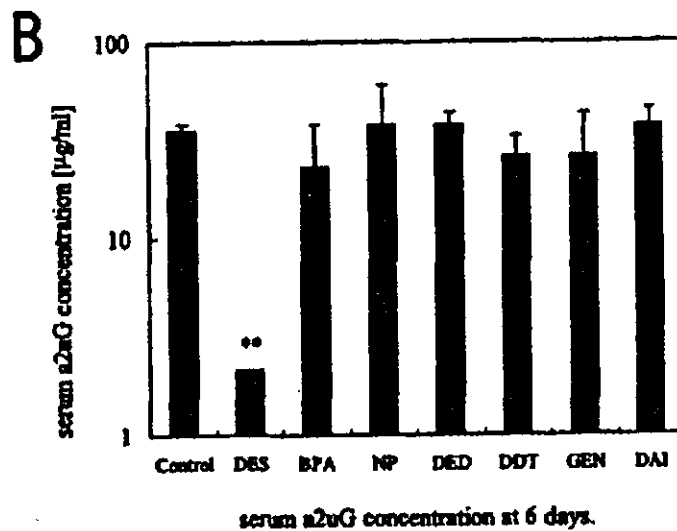
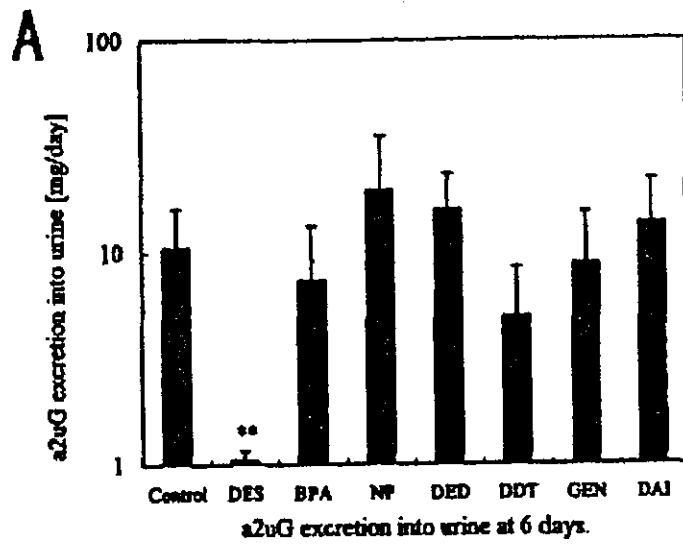


Fig. 5. GEN, DAI, DES, BPA, NP, DED and DDT effects on urinary (A) and serum (B) a2uG on day 6. Mature male rats were dosed with GEN (10 mg/kg/day), DAI (10 mg/kg/day), DES (1 mg/kg/day), BPA (100 mg/kg/day), NP (100 mg/kg/day), DED (10 mg/kg/day) or DDT (100 mg/kg/day) by repeated intraperitoneal injection twice daily for 5 days. Urine and serum were collected on day 6, and a2uG was quantified by ELISA. The results obtained are mg/day for urine and g/ml for serum. All data are means \pm S.D. ($n = 3$). * $P < 0.05$ vs. vehicle control; ** $P < 0.01$ vs. vehicle control.

NO. 129 文献番号 : 11823001

担当者 川島 浩

著者名 : Nakagawa Y, Suzuki T.

論文題名 : Metabolism of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in isolated rat hepatocytes and xenoestrogenic effects of its metabolites on MCF-7 human breast cancer cells.

出典 : Chem Biol Interact. 2002 Feb 20;139(2):115-28.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x)その他 ヒト組換えER α
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 ER結合試験
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 $5 \times 10^{-10} \sim 5 \times 10^{-4} M$)
7. 観察された影響の種類と濃度 (BPAのER α に対するIC₅₀は $1 \times 10^{-5} M$)
(_____) (_____)
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 ()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

樹脂添加剤として広く使用されている 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone (HMB) とそのラット肝代謝物の in vitro エストゲン活性について調べている。BPA は DES とともに比較物質として、受容体(ヒト ER α)結合試験を和光純薬のキットで使って行っている。BPA、DES の E2-ER α 結合阻害 IC₅₀ は、それぞれ $1 \times 10^{-5} M$ 、 $1 \times 10^{-8} M$ であった。一方、HMB は $10^{-9} \sim 10^{-4} M$ で結合阻害を示さなかったがその代謝産物は BPA と同レベルの結合親和性を示した。

添付資料

Fig. 5

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。

本報告では、HMB の活性評価が目的であり、BPA は比較物質として受容体結合試験結果のみ示されている。標題の MCF-7 細胞増殖試験における BPA のデータはない。統計処理はされている。BPA の ER α に対する IC₅₀ は $1 \times 10^{-5} M$ で、他の文献報告値と同じレベルである。

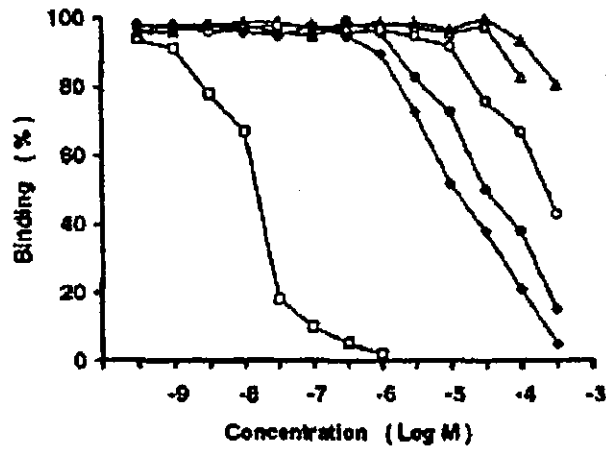


Fig. 5. Competitive binding assay of HMB, its metabolites, BPA and diethylstilbestrol (DES) for human recombinant estrogen receptor α (ER α). Ability of these compounds for binding to ER α was via competition with that of fluorescein-labeled 17 β -estradiol. Results are expressed as the means from three determinations. Keys: HMB, Δ ; DHB, \bullet ; DHMB, \blacktriangle ; THB, \circ ; BPA, \diamond ; DES, \square .

No. 156 文献番号：11465389

担当者 根岸 隆之

著者名：Nakagawa Y, Suzuki T.

論文題名：Metabolism of bisphenol A in isolated rat hepatocytes and oestrogenic activity of a hydroxylated metabolite in MCF-7 human breast cancer cells.

出典：Xenobiotica. 2001 Mar;31(3):113-23.

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 細胞 (肝細胞 (F344)、MCF-7 (ヒト乳ガン))
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、(x)細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (記入 $10^{-9} - 10^{-4}M$)
7. 観察された影響の種類と濃度：(BPA $10^{-7}M$ MCF-7 に対し細胞増殖活性、 $10^{-4}M$ で細胞毒性)
(3-OH-BPA $10^{-7}M$ MCF-7 に対し細胞増殖活性、 $10^{-5}M$ で細胞毒性)
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

培養肝細胞による BPA の代謝産物のエストロゲン様活性について検討した。培養肝細胞は培養液中に添加された BPA を硫酸抱合体、グルクロン酸抱合体および水酸化体 (3-OH-BPA) に代謝した。3-OH-BPA のエストロゲン受容体結合能は DES が $2.5 \times 10^{-8}M$ 、BPA が $10^{-5}M$ であるのに対し $5 \times 10^{-5}M$ であった。BPA は MCF-7 に対し $10^{-7}M$ で細胞増殖活性、 $10^{-4}M$ で細胞毒性を示した。一方、3-OH-BPA は MCF-7 に対し $10^{-7}M$ で細胞増殖活性、 $10^{-5}M$ で細胞毒性を示した。この結果は BPA そのものが代謝産物よりもエストロゲン様化学物質として働き、一方代謝産物が細胞毒性物質として働くことを示唆した。

添付資料：特になし

評価者のコメント：

代謝産物に関する報告である。この論文で着目している水酸化体にはエストロゲン様作用はみられなかったが、別の報告によると中間代謝産物である MBP は BPA の 100 倍に相当するエストロゲン様活性が存在するとある。生体内においては BPA はかならず代謝されその産物が生成されるためこれらの物質についての検討は重要であろう。

著者名: Nakagawa Y, Tayama S

論文題名: Metabolism and cytotoxicity of bisphenol A and other bisphenols in isolated rat hepatocytes.

出典: Arch Toxicol 74:99-105(2000)

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、()生殖系、()その他 _____
3. 影響の種類 (x)細胞、()組織、()個体、(x)その他 ミトコンドリア
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 (0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.0 mM)
7. 観察された影響の種類と濃度: (BPA0.25mM; 分子内ATPと全アデニンヌクレオチドの喪失を伴う肝細胞死) (BPA0.25mM; ミトコンドリアでstate4酸素消費増加及びstate3酸素消費減少)
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 (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

F344/DuCrj 種雄ラットの肝細胞と肝臓ミトコンドリアへBPA (及び他のビスフェノール類) を投与して、BPA代謝と細胞毒性作用の相関を調べた。肝細胞への0.25mM—0.50mM投与で分子内ATPと全アデニンヌクレオチドの喪失を伴う肝細胞死を生じた。肝細胞懸濁液中で低毒性レベルの0.25mM濃度BPAは急速にBPAグルクロン酸包合体に転換されたが、高毒性レベルの0.50mMでは投与2時間後も65%のBPAが未変化で存在した。サリチルアミド(2mM)の添加はBPAの細胞毒性を増幅した。BPAの添加でミトコンドリアの酸素消費速度への影響もあった。これらの毒性の強さは、diethylstilbestrol > BPA > 4,4'-methylenediphenol > 4,4'-biphenolの順であった。毒性強さと化学構造(親水性)との関連についても考察している。

BPAによる細胞毒性は分子内のエネルギー状態に依存し、ミトコンドリアが主な標的と考えられる。ATP合成阻害によって生じる毒性は細胞中の未代謝のフリーBPA濃度と関連があると推測している。

添付資料

Table 4.

評価者のコメント

BPAによる細胞毒性とBPA代謝の関連を調べ、未代謝のフリーBPAがミトコンドリアの機能を阻害することと細胞死に関連がることを用量相関のあるデータに基づいて結論しており、信頼性があると思われる。BPAのエンドクリン作用については試験されておらず、又その関連性も検討されていない。

Table 4 Comparative cytotoxicity of BPA and some bisphenols on isolated hepatocytes and isolated hepatic mitochondria

Treatments	Cell death ^a (%)	ATP ^a (nmol/10 ⁶ cells)	Mitochondrial respiration ^b (ng oxygen/mg protein per min)		RCI ^c
			State 4	State 3	
None	18 ± 3	17.3 ± 3.6	18.1 ± 2.5	86.0 ± 2.4	4.75
4,4'-Biphenol	22 ± 5	18.1 ± 2.0	18.5 ± 3.0	72.7 ± 2.8 ^d	3.93
4,4'-Methylenediphenol	34 ± 7 ^e	10.3 ± 3.8 ^d	19.5 ± 3.8	69.3 ± 5.1 ^d	3.55
BPA	54 ± 8 ^e	2.9 ± 0.6 ^d	31.5 ± 1.0 ^d	57.3 ± 0.6 ^d	1.81
Diethylstilbestrol	85 ± 4 ^e	0.6 ± 0.1 ^d	31.3 ± 2.7 ^d	37.6 ± 2.5 ^d	1.20

NO. 77 文献番号: 12419697

担当者 中西 義則

著者名: Nakazawa H, Yamaguchi A, Inoue K, Yamazaki T, Kato K, Yoshimura Y, Makino T

論文題名: In vitro assay of hydrolysis and chlorohydroxy derivatives of bisphenol A diglycidyl ether for estrogenic activity.

出典: Food and Chemical Toxicology 40 1827-1832 (2002)

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、()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 BADGE-4OH, 及び BADGE-2Cl : 10^{-14} , 10^{-13} , 10^{-12} , 10^{-11} , 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M)
7. 観察された影響の種類と濃度: (BADGE-4OH, 及び BADGE-2Cl : 10^{-11} Mで T47D 細胞増殖を示した)
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

BPA ジグリシジルエーテル(BADGE)の誘導体、BADGE-4OH 及び BADGE-2Cl について 10^{-14} ~ 10^{-4} M濃度でヒト乳がん細胞 T47D 増殖試験を行い、いずれも 10^{-11} M以上で濃度相関のある細胞増殖性が見られた。最大増殖濃度は 10^{-9} Mであり高濃度では増殖性が低下した。各々の細胞増殖率及び RPE(最大値)は [1.88, 88.5]、[1.4, 75.4] であり、ICI182,780 を添加したアンタゴニスト試験では両物質とも細胞増殖性が阻害された。 10^{-9} ~ 10^{-4} M濃度で行った両物質のヒト ER (α) 結合試験では結合性を示さなかった。この結果は両物質が未知の ER 非結合によるエストロゲン活性を示しているものと推測している。

添付資料

評価者のコメント

BPA 自体ではなく、その誘導体のグリシジルエーテル(BADGE)の加水分解物及びHC 1 付加体のエンドクリン作用に関する試験である。Olea らの報告(1996, 1998)でも BADGE やその加水分解物が MCF-7 細胞増殖性を示す一方、ER との結合性を示さないことが観察されているが、この結果と類似した結果が得られている。エストロゲン活性を顕す機構については検討されておらず、試験物質にエンドクリン作用があると断定するには更なる研究が必要と思われる。

著者名 : Nieminen P, Lindstrom-Seppa P, Juntunen M, Asikainen J, Mustonen AM, Karonen SL, Mussalo-Rauhamaa H, Kukkonen JV.

論文題名 : In vivo effects of bisphenol A on the polecat (mustela putorius).

出典 : J Toxicol Environ Health A. 2002 Jul 12;65(13):933-45

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、()その他 polecat
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(X)その他 代謝系
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、()個体、(X)その他 (代謝酵素系)
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、()出生後、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (0, 10, 50, 250mg/kg/day 混餌)
7. 観察された影響の種類と濃度 : (50mg/kg/day、メスで UDPGT の増加)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、()思春期、()成熟期 記載なし
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

野生生物のエストロゲン用物質による汚染に対する懸念から、polecat における 14 日間混餌による反復経口試験を実施し、体重、臓器重量、血中各種ホルモンおよび薬物代謝酵素の濃度を測定した。検査項目のうち、Glutathione S-transferase (GST) がメス 250mg/kg/day、UDP-glucosyltransferase (UDPGT) がオス 250mg/kg/day、メス 50 および 250mg/kg/day 投与群で増加した。また、薬物代謝増進に伴うと思われる肝臓の相対重量がメス 250mg/kg/day 投与群で増加したが、その他のホルモン濃度などで変化は認められなかった。

添付資料 Table 1 および Fig. 2, 3

評価者のコメント

polecat の年齢や実験動物としての信頼性が記載されておらず、動物実験そのものの評価を十分に下すことはできなかった。実験中、BPA はホルモン濃度などには一切影響せず、影響の対象は、薬物代謝酵素系の増進であった。これは、女性ホルモン作用の機序によるものではなく、生体外異物代謝のための非特異的な反応と思われた。

TABLE 1. Body Mass (BM), Length, BMI, and the Concentrations of Various Hormones of the Polecats Following BPA Exposure

	Male control	Male 10	Male 50	Male 250	Female control	Female 10	Female 50	Female 250
BM (kg)	2.41 ± 0.16 ^b	2.32 ± 0.25 ^b	2.51 ± 0.27 ^b	2.37 ± 0.25 ^b	1.20 ± 0.19 ^a	1.32 ± 0.09 ^a	1.42 ± 0.11 ^a	1.28 ± 0.12 ^a
Liver weight (g)	78 ± 12 ^c	77 ± 6 ^c	73 ± 8 ^c	84 ± 11 ^c	45 ± 11 ^a	50 ± 3 ^{a,b}	74 ± 5 ^{a,b}	58 ± 9 ^a
Liver weight: BM	32 ± 6 ^{a,b}	33 ± 4 ^a	30 ± 1 ^a	35 ± 3 ^{a,b}	37 ± 8 ^{a,b}	38 ± 3 ^b	38 ± 5 ^b	45 ± 8 ^a
Length (cm)	0.46 ± 0.09 ^b	0.45 ± 0.9	0.46 ± 0.06 ^b	0.46 ± 0.06 ^b	0.39 ± 0.11 ^a	0.40 ± 0.04 ^a	0.40 ± 0.08 ^a	0.39 ± 0.08 ^a
BMI (kg/m ³)	24.2 ± 2.4 ^{a,c,d}	24.8 ± 3.2 ^{c,d}	25.4 ± 2.2 ^d	24.7 ± 1.3 ^d	17.7 ± 1.6 ^a	21.3 ± 2.1 ^{a,b}	21.8 ± 2.1 ^{a,b,c}	21.2 ± 0.9 ^{a,b}
Testosterone (nmol/L)	22.4 ± 9.0 ^b	24.8 ± 20.2 ^b	28.6 ± 18.0 ^b	32.0 ± 27.1 ^b	0.5 ± 0.4 ^a	0.2 ± 0.05 ^a	0.5 ± 0.4 ^a	0.3 ± 0.14 ^a
Estradiol (pmol/L)	665.1 ± 126.1 ^{a,b}	524.2 ± 187.1 ^a	603.7 ± 190.6 ^{a,b}	602.1 ± 61.2 ^{a,b}	96.8 ± 36.9 ^{a,d}	874.6 ± 160.6 ^b	1215.3 ± 437.4 ^d	920.63 ± 146.6 ^c
FSH (mIU/ml)	1.02 ± 0.38	1.51 ± 0.47	1.19 ± 0.36	1.36 ± 0.55	1.09 ± 0.55	1.04 ± 0.38	0.96 ± 0.68	1.41 ± 0.75
T4 (nmol/L)	21.4 ± 2.8 ^{a,b}	21.7 ± 3.7 ^{a,b}	24.3 ± 4.5 ^b	26.1 ± 7.7 ^b	21.7 ± 4.1 ^{a,b}	23.8 ± 2.0 ^{a,b}	17.5 ± 3.1 ^a	21.6 ± 5.0 ^{a,b}
T3 (nmol/L)	1.44 ± 0.44	1.29 ± 0.41	1.34 ± 0.17	1.29 ± 0.22	1.54 ± 0.51	1.81 ± 0.23	1.37 ± 0.19	1.54 ± 0.53
T3/T4 100	6.49 ± 2.80 ^a	5.98 ± 1.66 ^a	5.50 ± 1.61 ^a	5.13 ± 1.08 ^a	7.63 ± 3.99 ^b	7.59 ± 5.56 ^b	8.06 ± 2.43 ^b	6.42 ± 1.73 ^b
TSH (ng/ml)	0.046 ± 0.015	0.043 ± 0.005	0.055 ± 0.013	0.043 ± 0.010	0.059 ± 0.021	0.047 ± 0.007	0.052 ± 0.012	0.049 ± 0.010
Cortisol (nmol/L)	17.7 ± 10.9	19.2 ± 9.3	13.5 ± 5.8	21.5 ± 10.0	48.5 ± 55.4	25.0 ± 10.6	18.2 ± 9.5 ^c	28.2 ± 18.4
Leptin (ng/ml)	0.38 ± 0.04	0.36 ± 0.04	0.38 ± 0.06	0.38 ± 0.07	0.34 ± 0.14	0.40 ± 0.05	0.41 ± 0.08	0.39 ± 0.04

Note. Data are mean ± SD of five animals per group.

^{a-d}One-way ANOVA. According to Duncan's test, the means with no common letter differ at $p < .05$ level.

^{*}The group differs significantly from the female control group (*t*-test, $p < .05$).

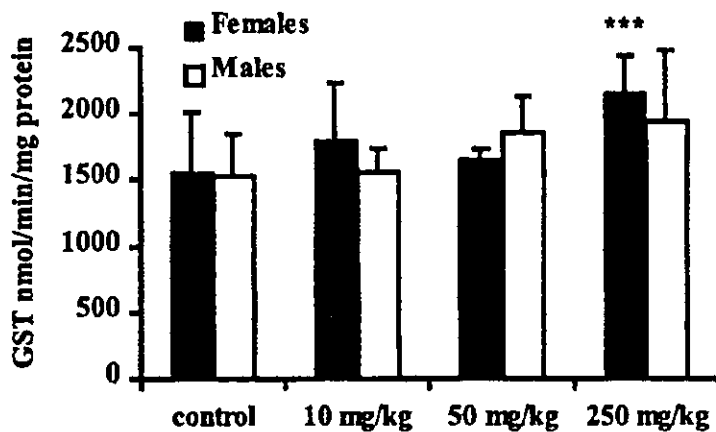


FIGURE 2. Liver GST activity (nmol/min/mg protein ± SD) of the male and female polecats following BPA exposure. Triple asterisk indicates significantly different from the control group of the same sex (ANOVA, $p < .05$).

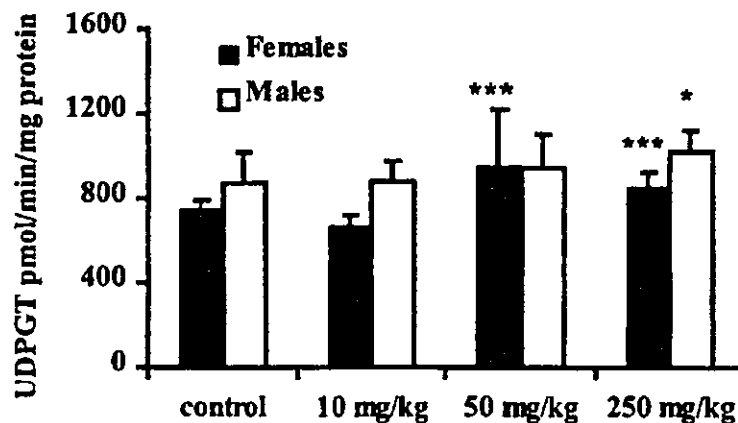


FIGURE 3. UDPGT activity (pmol/min/mg protein ± SD) of the male and female polecats following BPA exposure. Triple asterisk indicates significantly different from the control group of the same sex (ANOVA, $p < .05$); asterisk indicates this group differs from the control group of the same sex (*t*-test, $p < .05$).