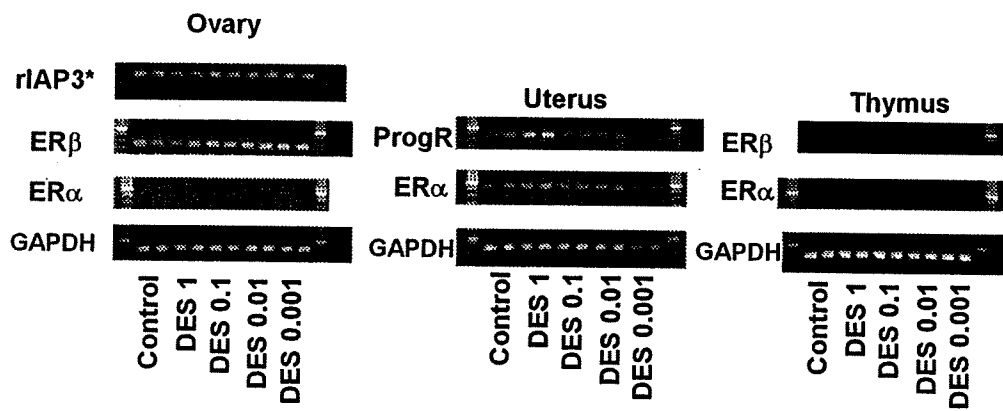


Fig. 7 Histopathology of the vagina



rIAP3*, rat inhibitor of apoptosis protein

Fig. 8 mRNA Expressions in the ovary, uterus and thymus at 5 wks of age

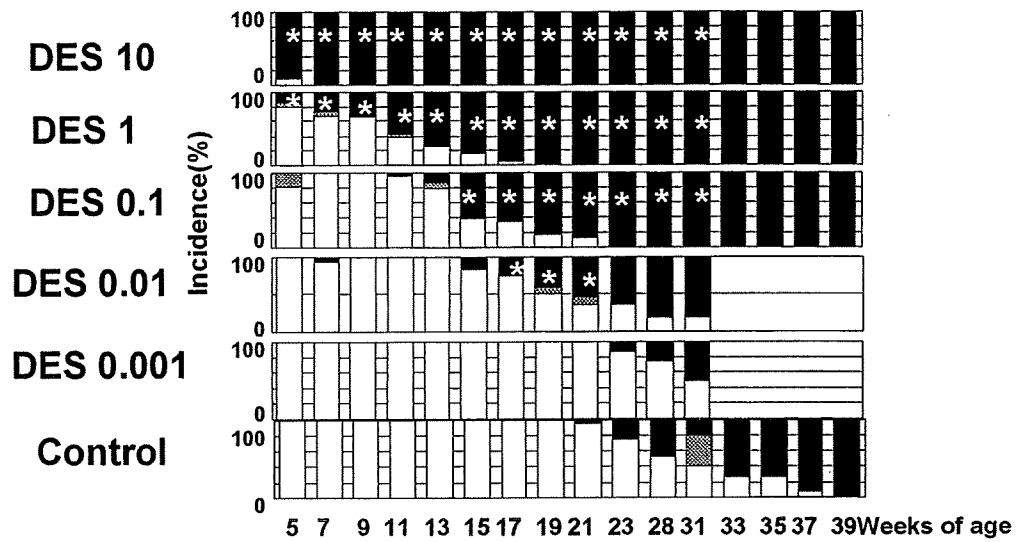


Fig. 9 Estrous cyclicity

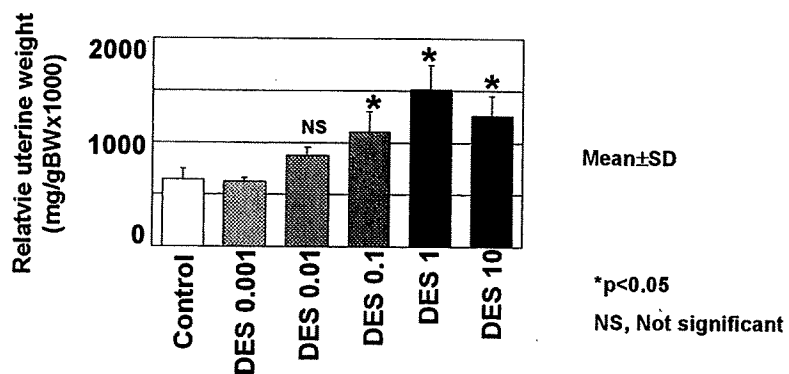
□ Normal cycling
 ▨ Abnormal cycling
 ■ Persistent estrus

Table 1 投与量の換算

Pup PND1 の体重6.2g→6gとして

DES 10 μ g/pup	=約1500 μ g/kgBW
DES 1 μ g/pup	=約150 μ g/kgBW
DES 0.1 μ g/pup	=約15 μ g/kgBW
DES 0.01 μ g/pup	=約1.5 μ g/kgBW
DES 0.001 μ g/pup	=約0.15 μ g/kgBW

Adult Donryu rat with cycling
(BW 287 to 385g, 3 or 4 rat/group)



•Single subcutaneous treatment with DES 2 weeks after ovariectomy.

•Necropsy after 24 hours of the DES treatment

Fig. 10 Estrogenic activity of DES dosing using uterotrophic assay

Table 2 離乳までの児数(マウス)

Group	Nb of dam	Females	Males	Total	離乳までの死亡児数	哺育中断回数
Intact control	5	1.6 ± 1.5	4 ± 2	5.6 ± 1.7	0.2 ± 0.4	0
Vehicle control	5	2.2 ± 1.3	3.2 ± 1.1	5.4 ± 2.1	0 ± 0	0
DES 0.02ug/pup	10	3.3 ± 1.8	3.2 ± 2	6.5 ± 1.1	0.3 ± 0.7	0
DES 0.2ug/pup	10	1.9 ± 1.1	4.1 ± 1.3	6 ± 2	0.7 ± 2	2
DES 2ug/pup	5	1.6 ± 1.3	3.8 ± 1.5	5.4 ± 1.8	0 ± 0	0

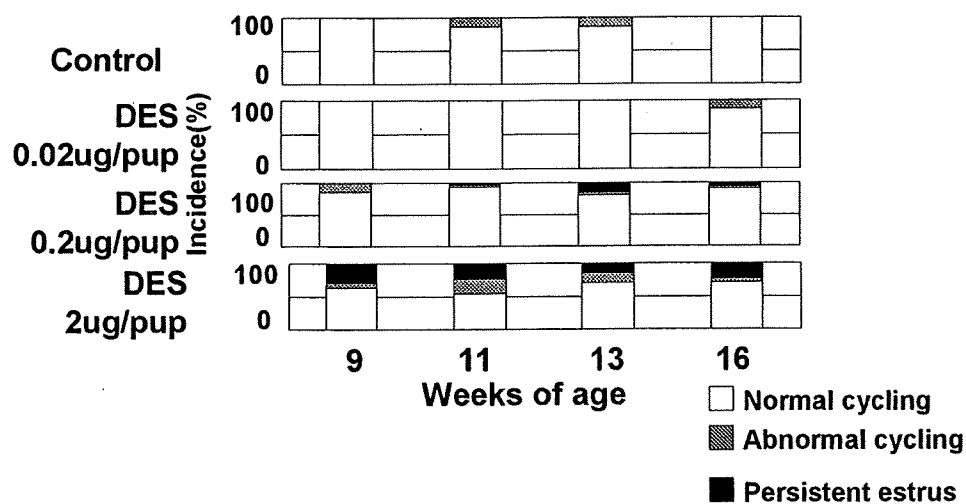


Fig. 11 Estrous cyclicity(mouse)

Table 3
Incidence(%) and multiplicity data for uterine endometrial lesions

Group	No. of rats	Atypical hyperplasias				Adc	Multiplicity(a)
		-	+	++	+++		
Control	16	6.3	6.3	43.8	18.8	25.0	1.41 ± 0.80
Busulfan 2.5mg/kg	20	30.0	5.0	15.0	10.0	30.0	1.21 ± 1.11
Busulfan 5.0mg/kg	26	11.5	0	23.1	11.5	53.8*	3.03 ± 5.79*

(a), Total number of neoplastic lesions including atypical hyperplasias and adenocarcinomas per rat.

-, No lesion; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe
 Adc, Adenocarcinoma

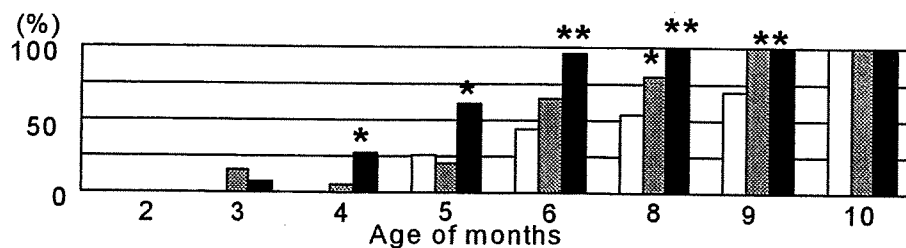


Fig.12

Incidence(%) of persistent estrus in rats treated with busulfan

* significant difference from the control group at 5%.

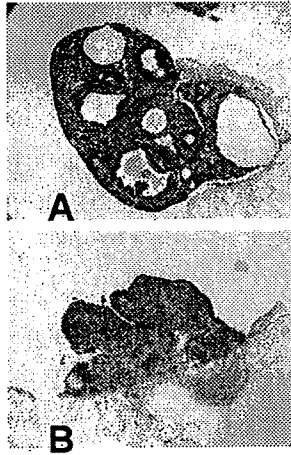


Fig. 13 Histopathology of the Ovary in rats treated with Busulfan(B) and control (A)

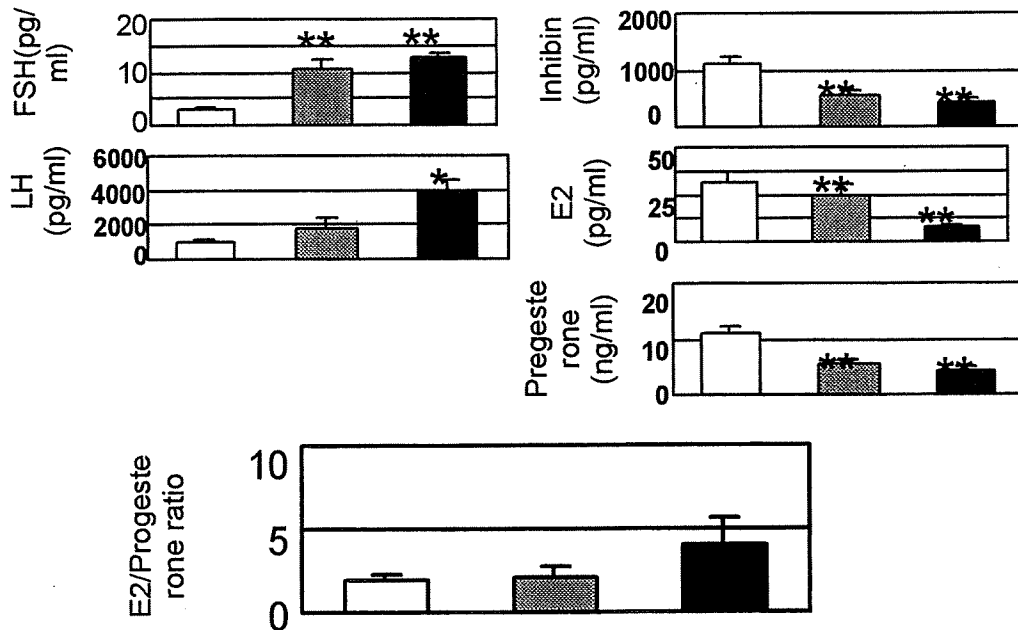


Fig. 14 Hormonal profiles in rats treated with busulfan

□ Control ▨ 2.5mg/kg Busulfan ■ 5.0mg/kg Busulfan

**Table4 まとめ DESを用いた雌性生殖器遅発性新生児曝露影響検
ラット 出**

性成熟期まで	体重	臓器重量 卵巣 子宮	形態学的検査	膣開口
DES 1500µg/kg	-	↓*	卵巣黄体なし* 膣Cornification *	-
DES 150µg/kg	-	↓*	卵巣黄体なし*	-
DES 15µg/kg	-	-	-	-
DES 1.5µg/kg	-	-	-	-
DES 0.15µg/kg	-	-	-	-

性成熟期以降	体重	臓器重量 卵巣 子宮	性周期
DES 1500µg/kg	-	↓*	膣開口後直ちに持続発情*
DES 150µg/kg	-	↓*	11週で半数、15週でほぼ全例持続発情#
DES 15µg/kg	-	-	15週で半数、19週でほぼ全例が持続発情#
DES 1.5µg/kg	-	-	21週で半数、28週でほぼ全例が持続発情#
DES 0.15µg/kg	-	-	31週齢で半数が持続発情
Control	-	-	31週齢で半数が持続発情

* ,即時型androgenization #遅発型影響

**Table 5
ラットにおける遅発影響検出モデル**

系統: Crj:Donryu
 陽性対照物質: DES
 投与量: 0.15µg/kg
 投与経路・回数: 皮下・単回
 投与時期: 生後24時間以内
 観察期間: 10ヶ月齢(40週間)
 Endpoint: 持続発情の早期出現(性周期観察)

9. 内分泌かく乱化学物質の生殖系系の老化に至る過程に対する影響

分担研究者 太田 亮 (財)食品薬品安全センター秦野研究所 研究員

研究要旨：EDCs の確定試験としての、げっ歯類を用いる一生涯試験の確立を目的として、DES の新生児投与によるラットを用いた一生涯試験を実施中である。現在までところ性成熟、性周期、交尾率、受胎率、産児数、精子数などの生殖系系に関する指標を観察し、さらに行動試験や免疫検査を実施して、一生涯試験の有用性と問題点を検討している。

A. 研究目的

近年、EDCs の影響が生殖系系のみならず、神経系や免疫系にも及ぶことが示唆され、ほ乳類を用いる EDCs の確定試験として、一世代あるいは多世代繁殖試験に代わる試験系の確立が急務となっている。そこで、EDCs 確定試験としてのげっ歯類を用いる一生涯試験の確立を目的として、本研究では陽性対照物質をラットの新生児期に投与して、一生涯試験を実施中である。

B. 研究方法

EDCs の影響が、生殖系系の老化のみならず、神経系や免疫系にも及ぶことを考慮し、ラットを用いた一生涯試験のプロトコル案を作成した。以下に、その概略を示す。

1. 使用動物：Crj:CD-1GS ラット
2. 群数：4 群（生児出産雌として各群 10 腹以上）
3. 飼料：固型 CE-2（日本クレア）
4. 飲料水：水道水（秦野市水道局給水）
5. 投与物質：DES
6. 媒体：コーン油
7. 投与経路：強制経口
8. 投与量：0（コーン油）、0.05、0.5、5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$
9. 投与量設定理由：子宮肥大試験において、子宮重量の増加を来たす 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を高用量に設定し、子宮重量の増加が起こらない 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を中用量、0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を低用量に設定

した。

10. 投与期間：生後 1 日～生後 5 日

11. 観察項目

- (1) 生存率
- (2) 体重推移
- (3) 性成熟（膣開口、陰茎包皮分離）
- (4) 性周期（8 週齢～52 週齢）
- (5) 交配（12、23、34、45、56 週齢～）
- (6) 交尾率、受胎率
- (7) 産児数
- (8) 行動試験（24 および 48 週齢）
- (9) 剖検（26、52 および 104 週齢）
- (10) 器官重量（26、52 および 104 週齢）
- (11) 精子検査（26、52 週齢）
- (12) 免疫学的検査（26、52 週齢）
- (13) 排卵検査（52 週齢）
- (14) 腫瘍発生率

C. 研究結果

現在、投与開始から約 1 年が経過したが、これまでのところ上記のプロトコル案に沿って、試験は確実に遂行されている。現在までに得られている結果を以下に示す。

1. 体重推移

哺育期（生後 0～21 日）、成熟期（3～10 週齢）、壮年期（11～26 週齢）を通して、各投与群とも順調に増加し、これまでのところ DES 投与の影響を示唆する体重の変化は認められていない。

2. 性成熟（Figs.1, 2）

雌の腔開口時期を観察した結果、0.5 µg/kg 投与群 (31.6±1.8) および 5 µg/kg 投与群 (29.8±2.2) の群平均完成日が対照群 (32.9±1.7) の値と比較して有意に短縮した。

雄の陰茎包皮分離時期については、対照群と DES 各投与群との間に有意差は認められなかった。

3. 性周期 (Figs.3, 4)

8 週齢から雌の性周期を観察した結果、5 µg/kg 投与群では正常な発情周期を示す動物は、1 例もみられなかった。0.5 µg/kg 投与群では、8~13 週齢時には約 80%の動物が正常な発情周期を示していたが、20~25 週齢時には約 50%、28 週齢以降は 10%未満となった。0.05 µg/kg 投与群では、対照群とほぼ同様の推移を示し、8~29 週齢にかけて 80%以上の動物が正常な発情周期を示し、36 週齢以降は 50%未満となった。

4. 交尾率および受胎率 (Table 1)

雄については、12、23 および 34 週齢のいずれの交配時期においても、各投与群とも順調に交尾し、交尾率および受胎率に DES 投与の影響を示唆する変化は認められなかった。

雌については、12 週齢の交配で、5 µg/kg 投与群の交尾率は 90%を示したが、受胎率は 0%であったため、同群雌については 23 週齢以降の交配は中止した。23 週齢の交配では、0.05 µg/kg 投与群の交尾率が 60%に低下し、0.5 µg/kg 投与群の受胎率が 33.3%に低下した。34 週齢の交配では、対照群を含む各投与群の交尾率および受胎率が低下した。

5. 産児数

各投与群の妊娠雌は、全例とも自然分娩させ、哺育 4 日まで観察したが、初回分娩においては産児数に、DES 投与の影響を示唆する変化は認められなかった。2 産目では、0.5 µg/kg 投与群 (7.6±5.8) の群平均産児数が対照群 (12.8±

3.9) より有意に減少した。3 産目は、対照群を含む各投与群で受胎率が低下したことから、産児数の評価はできなかった。

6. 行動試験 (Fig. 5)

24 週齢時にシャトルボックスを用いた条件回避学習試験を実施した結果、0.05 µg/kg 投与群において雄の回避率が対照群よりやや低下したが、有意な変化ではなかった。雌の回避率には、対照群と DES 各投与群との間に差は認められなかった。

7. 精子検査および器官重量

26 週齢時に実施した精子検査では、精巣上体尾部の精子数および精巣内精子頭部数に、DES 投与の影響を示唆する変化は認められなかった。

26 週齢時に測定した雄性生殖器の重量に DES 投与の影響を示唆する変化は認められなかった。

8. 免疫学的検査 (Fig. 6)

25 週齢時にヒツジ赤血球 (SRBC) を雄動物に投与して、血中の抗 SRBC-IgM および抗 SRBC-IgG を測定した結果、全ての DES 投与群において、免疫抑制を示唆する変化が認められた。

G. 研究発表

無し

H. 知的所有権の出願・取得状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

Fig.1

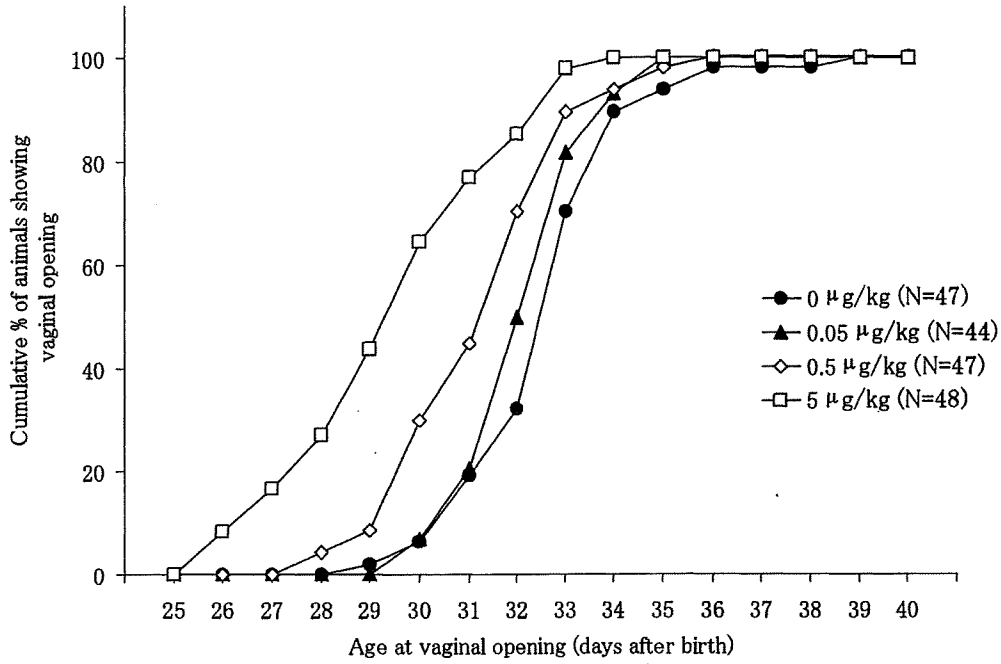


Fig.2

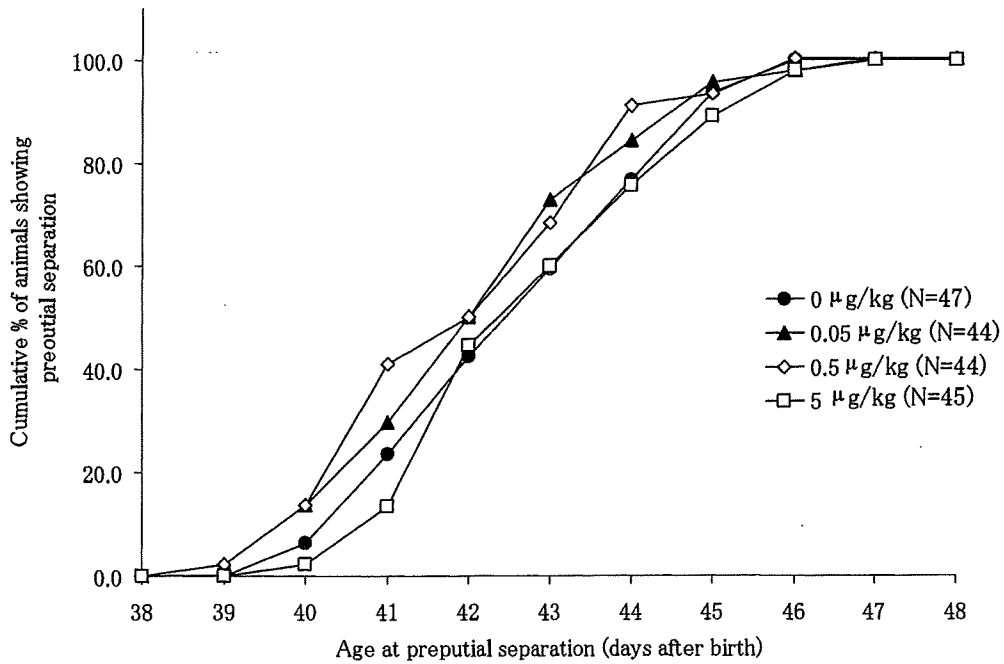


Fig.3

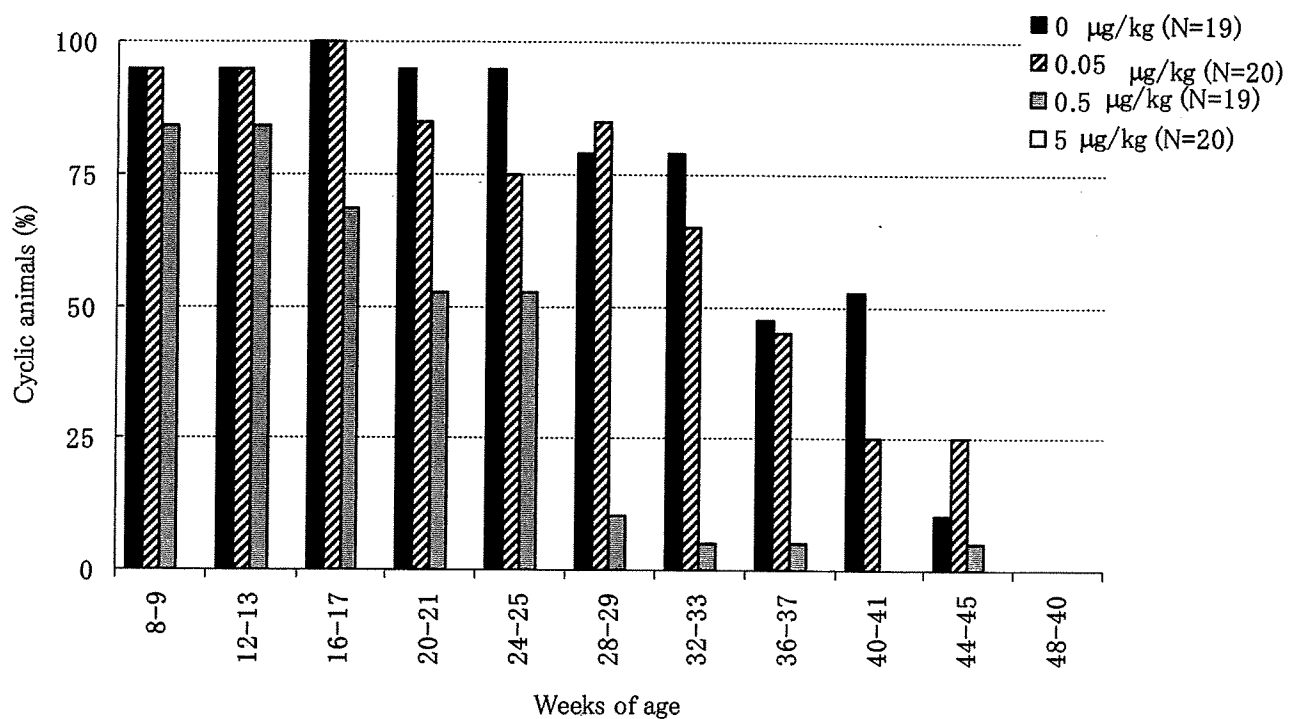


Fig.4

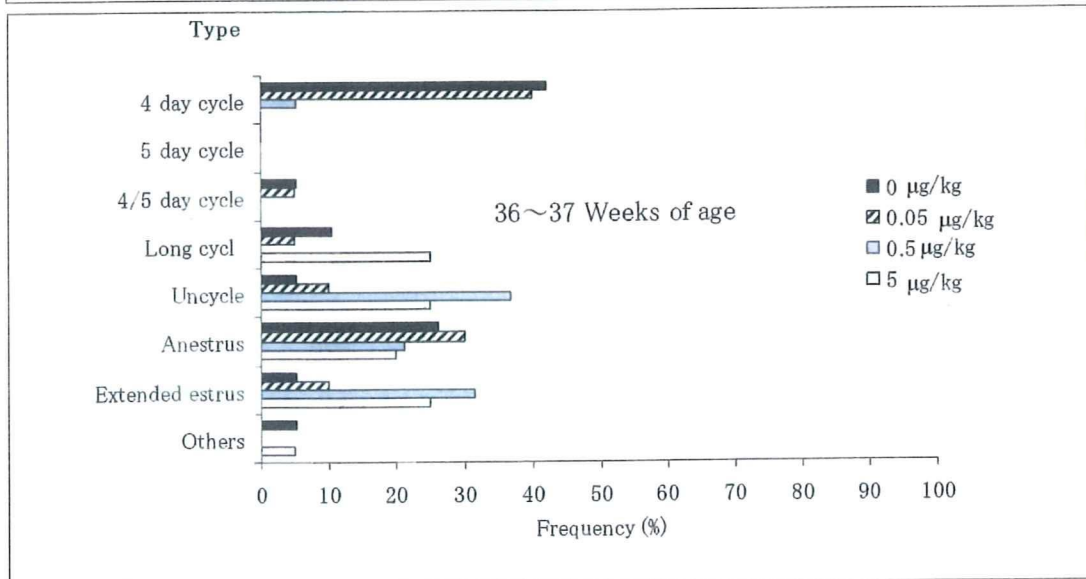
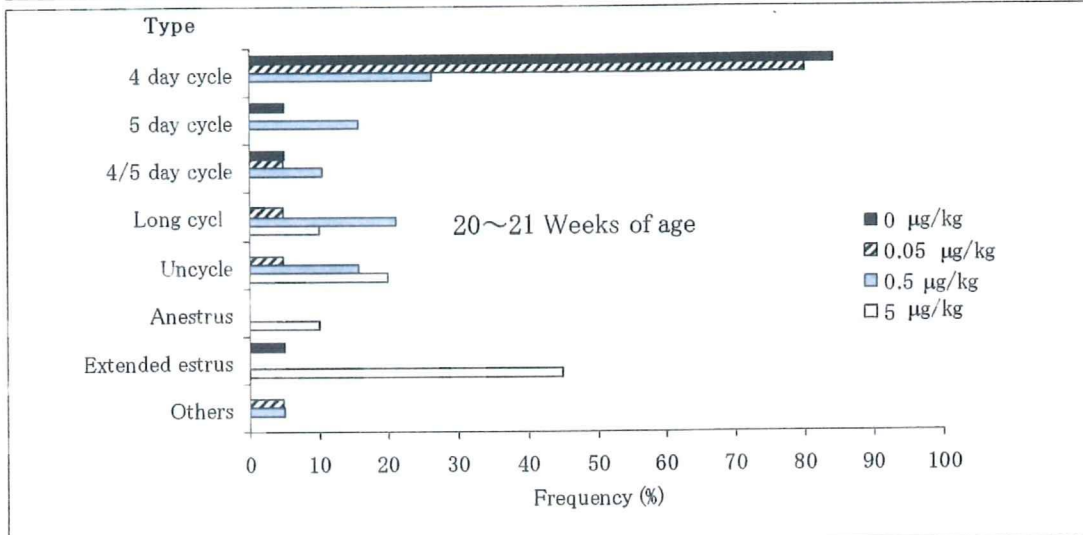
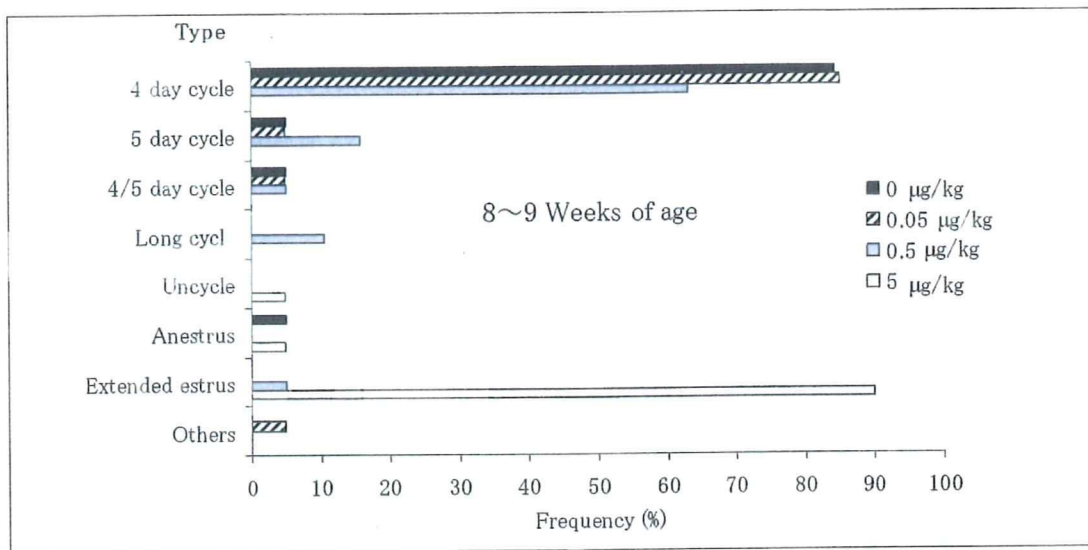


Table 1

Reproductive performance of rats following neonatal exposure to diethylstilbestrol

At 12 weeks of age				
	Diethylstilbestrol ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)			
	0	0.05	0.5	5
Males				
Copulation index (%)	100.0	95.0	100.0	90.0
(No. copulated/no. mated)	(20/20)	(19/20)	(20/20)	(18/20)
Fertility index (%)	100.0	84.2	95.0	100.0
(No. pregnant/no. copulated)	(20/20)	(16/19)	(19/20)	(18/18)
Females				
Copulation index (%)	100.0	95.0	100.0	90.0
(No. copulated/no. mated)	(20/20)	(19/20)	(20/20)	(18/20)
Fertility index (%)	90.0	81.3	80.0	0.0
(No. pregnant/no. copulated)	(18/20)	(13/16)	(16/20)	(0/18) **
Data was combined with the 1st and 2nd mating.				
At 23 weeks of age				
	Diethylstilbestrol ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)			
	0	0.05	0.5	5
Males				
Copulation index (%)	100.0	95.0	100.0	90.0
(No. copulated/no. mated)	(20/20)	(17/20)	(20/20)	(18/20)
Fertility index (%)	89.5	100.0	100.0	83.3
(No. pregnant/no. copulated)	(17/19)	(17/17)	(20/20)	(15/18)
Females				
Copulation index (%)	100.0	60.0	90.0	
(No. copulated/no. mated)	(20/20)	(12/20) **	(18/20)	
Fertility index (%)	80.0	58.3	33.3	
(No. pregnant/no. copulated)	(16/20)	(7/12)	(6/18) **	
Data was combined with the 1st and 2nd mating.				
At 34 weeks of age				
	Diethylstilbestrol ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)			
	0	0.05	0.5	5
Males				
Copulation index (%)	100.0	90.0	100.0	95.0
(No. copulated/no. mated)	(20/20)	(18/20)	(20/20)	(19/20)
Fertility index (%)	95.0	72.2	90.0	84.2
(No. pregnant/no. copulated)	(19/20)	(13/18)	(18/20)	(16/19)
Females				
Copulation index (%)	55.0	25.0	20.0	
(No. copulated/no. mated)	(11/20)	(5/20)	(4/20) *	
Fertility index (%)	54.5	60.0	25.0	
(No. pregnant/no. copulated)	(6/11)	(3/5)	(1/4)	
Data was combined with the 1st and 2nd mating.				

Fig.5

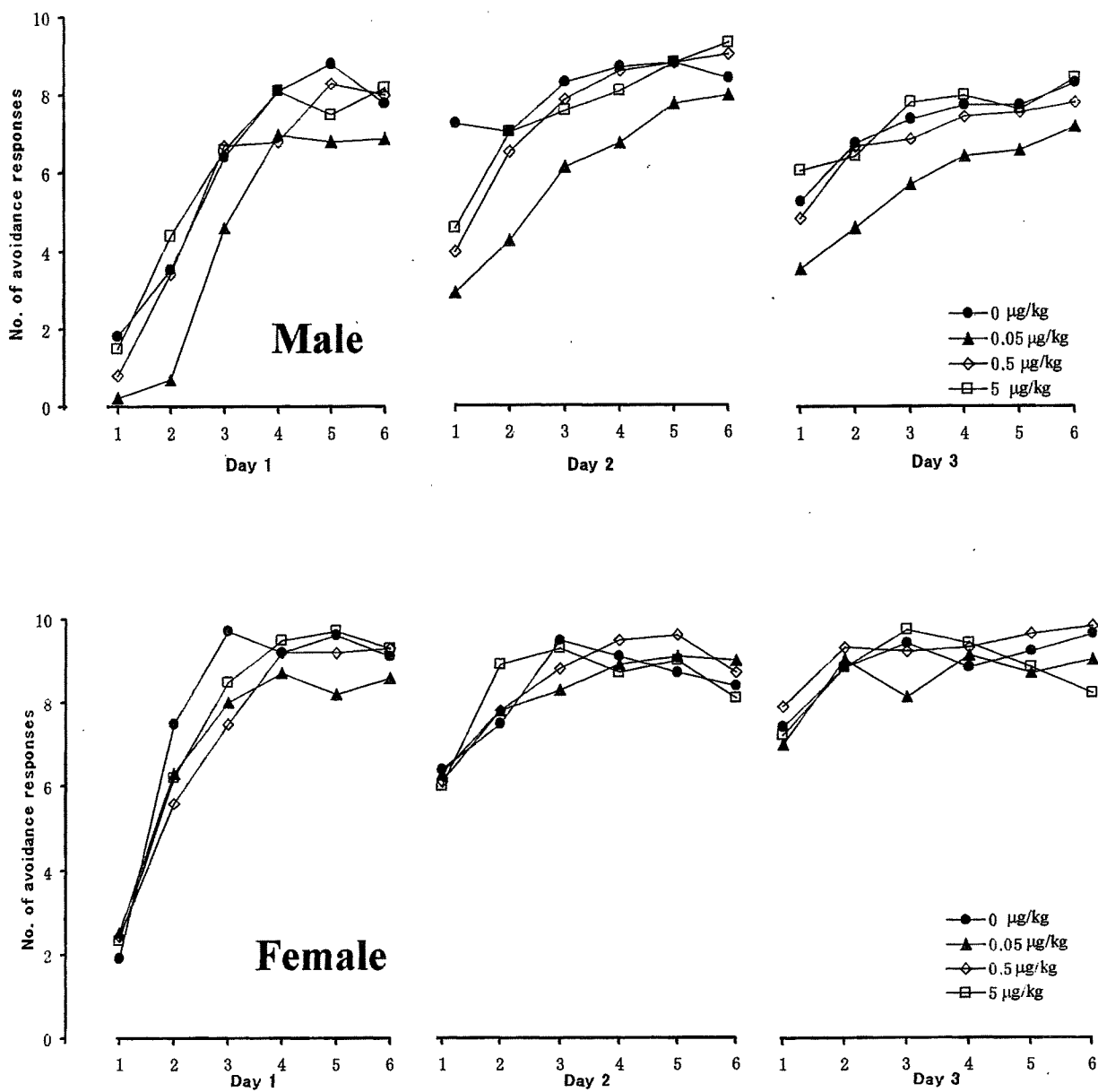
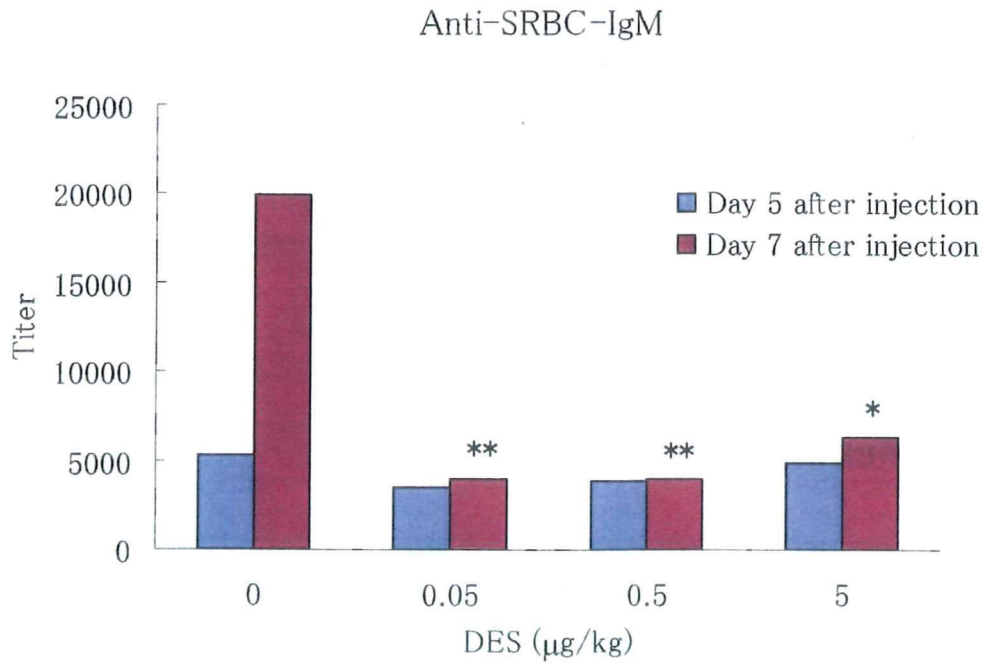
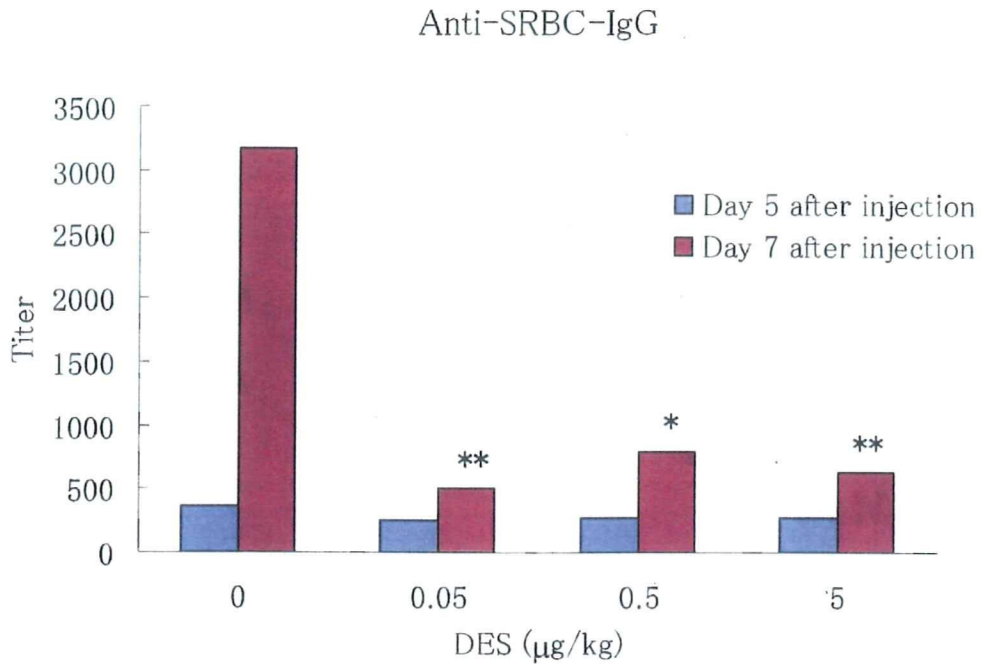


Fig.6



内分泌かく乱性確定試験開発支援基礎研究)

10. 確定試験に関わる発がん性検討:

乳腺上皮系の分化形質を指標とした内分泌かく乱化学物質の発がん影響の検討

分担研究者 長村 義之 東海大学 医学部 基盤診療学系 病理診断学 教授

研究要旨: EDCs の乳腺に対する影響を確認するため、ラット及び乳癌由来株化細胞を用いた検索を進めている。EDCs は周産期に曝露されることにより影響が顕在化することが知られており、周産期に BPA や DES を投与した母ラットから生まれた仔ラットの DMBA 乳腺発がん系における影響を観察した。さらに、ER 及び HER2 の発現が異なる乳腺腫瘍由来の細胞を用い EDCs 曝露に対する反応性を観察している。これらの解析を通し乳癌関連因子と EDCs との関わりを明らかにしていく。

A. 研究目的

EDCs の乳腺発がんに及ぼす影響を検討するため、代表的な EDCs である BPA や DES の母動物を介する周産期曝露が仔ラット(F1)の乳腺上皮の分化及び腫瘍化にもたらす影響について検討した。さらに、ヒト乳腺腫瘍由来の株化細胞(MCF-7, SK-BR-3 等)を ER 及び HER2 の発現の有無を指標として大別し、DES 及び BPA の曝露に対する反応性の差に注目し観察を進める。

B. 研究方法

1. EDCs の周産期投与による、ラット乳腺発現系への影響

妊娠母ラット(F0)に妊娠 12 日目から出産後の 21 日まで DES の 10, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, BPA の 25, 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を反復経口投与し、その F0 から生まれた雌仔ラット(F1)が 7 週齢時に 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 100 mg/kg を単回経口投与し、4 および 13 週間後に解剖し、乳腺を採取して、病理組織学的に検索した。対照として F0 に溶媒を投与し、F1 に DMBA 投与なしの溶媒群と DMBA を投与した DMBA 対照群を設定した(Fig.1)。採材した乳腺は、病理組織学的検査及び Whole Mount(WM)標本による観察を実施した。さらに Terminal End Bud (TEB)および導管を中心に乳腺上皮細胞の細胞増殖を Ki-67 の免疫組織学的染色により算出した。

2. EDCs による乳癌由来株化細胞への影響

乳癌由来の株化細胞のうち ER および HER2 発現の有無により区別される以下の細胞を用いて BPA 及び DES に対する用量反応性の確認を進めている。

MCF-7: ER(+), HER2(-)

MDA-MB-231: ER(-), HER2(-)

BT474: ER(+), HER2(+)

SK-BR-3: ER(-), HER2(+)

いずれの細胞も Soto らの E-SCREEN Test に則り 12 穴の培養皿を用いて、20,000 個の細胞をダルベッコ改変イーグル培養液 5%ウシ胎児血清存在下で 24 時間培養後、活性炭処理した血清 5%を含むフェノールレッドフリーの培養液に変え、これに DES の $10^{-11} \sim 10^{-7}$ M 及び BPA の $10^{-9} \sim 10^{-5}$ M を添加して 6 日間培養し、MTT 法を用いて細胞増殖を観察した。

現在、MCF-7, BT474 及び SK-BR-3 を用いた細胞増殖アッセイまでが終了した。

C. 研究結果

1. EDCs の周産期投与によるラット乳腺発現系への影響

DMBA 投与 4 週間後の F1 の乳腺では、病理組織学的に DES 低用量及び BPA では明らかな形態変化が見られなかった。但し、DMBA 単独群と比較し DES 低用量群の乳腺では TEB 及び導管上皮の細胞増殖活性に増加傾向が認められた。一方、DES 高用量では、腺房形成、乳汁分泌及び導管の拡張といった明らかな組織学的変化が認められ、腺房の上皮は高い細胞増殖活性を示した。同様に WM 標本の観察からも溶媒対照群、DMBA 対照群、DES 低用量及び BPA 投与群では、いずれも導管及び TEB が主体を成していたのに対し、DES 高用量群では腺房及び太い導管が観察され、TEB は認められなかった(Photo 1, Table 3)。また、乳腺腫瘍の初期病変(小結節)は DMBA 処置を施した全群で認め

られたが、発現状況は群間に明らかな差は見られなかった。

DMBA 投与 13 週間後では、F1 の腫瘍発生率は、いずれも 83~100%と高頻度であり、DMBA 対照群に対し明らかな差は認められなかった(Table 1)。病理組織学的には DES 低用量群、BPA の両投与群では、主に papillary /ductal adenoma もしくは carcinoma であり、誘発された腫瘍の組織像にも DMBA 対照群と差は認められなかった。一方、DES 高用量群では intraductal cribriform carcinoma が主体で ductal carcinoma が混在し、他群の腫瘍に比し悪性度が高く組織形態に明らかな差が認められた(Table 2)。

2. EDCs による乳癌由来株化細胞への影響(Fig.2)

ER(+), HER2(-)の MCF-7 では、DES 処理では明らかな傾向は確認できなかった。一方、BPA 処理では $10^{-7}M$ 及び $10^{-5}M$ 添加で細胞増殖が認められた。

ER(+), HER2(+)の BT474 では、DES 処理では低濃度の $10^{-11}M$ で細胞増殖傾向が確認されたが、逆に高濃度の $10^{-7}M$ では細胞数の低下を示した。一方、BPA 処理ではいずれの添加濃度でも溶媒添加したサンプルとの差が認められなかった。

ER(-), HER2(+)の SK-BR-3 では、DES 及び BPA 処理共に明らかな傾向は確認できなかった。

D. 考察

1. EDCs の周産期投与によるラット乳腺発現系への影響

代表的な EDCs である DES や BPA の母動物を介しての周産期曝露が仔動物の乳腺の発達や腫瘍化に及ぼす影響について DMBA モデルを用い検討した。

DMBA 投与 4 週間後の観察において DES 周産期曝露では F1 乳腺の発達に対する影響が認められた。即ち、DES 低用量では TEB 及び導管で高率な細胞増殖活性を示し、これは腫瘍化促進に関連する所見と推測された。しかし、DMBA 投与 13 週間後の観察において腫瘍発生率及び腫瘍重量は DMBA 対照群と比較し DES 投与による促進作用は見られなかった。一方、DES 高用量群では、DMBA 投与 4 週間後の観察において、腺房形成及び導管拡張が主体で、DMBA の標的組織とさ

れている TEB は消失していた。これは腫瘍発現がむしろ抑制傾向を示す要因と推測した。しかし、DMBA 対照群と同様に DMBA 投与 13 週間後では高頻度に腫瘍が誘発された。但し、病理組織学的には他群の DMBA 誘発腫瘍とは異なり悪性度が高く Intraductal cribriform type の腫瘍が多く誘発された。これは通常の 7 週齢雌ラットに対して DMBA を投与した際には標的部位になりにくい腺房ないし導管上皮が腫瘍誘発の標的になったことによる変化と考えられた。

尚、BPA については DMBA 投与 4 及び 13 週間後の両時点において周産期曝露による明らかな影響は認められなかった。

2. EDCs による乳癌由来株化細胞への影響

今回の検索では、MCF-7 のみで BPA の中間及び高濃度として設定した $10^{-7}M$ 及び $10^{-5}M$ で細胞増殖作用が見られた。しかし、DES では今回の添加濃度において細胞増殖に関する傾向が確認できなかった。MCF-7 は ER を発現しエストロゲンに対して細胞増殖反応を示すとされており、 E_2 の 10^{-11} ~ $10^{-10}M$ で細胞増殖及びプロジェステロンレセプター(PR)の誘導が報告されている。また、BPA は 25nM で細胞増殖 及び PR を誘導するものの、抗エストロゲンの Tamoxifen の同時添加によってその作用が抑制されるという報告もある。現時点では、各細胞の増殖活性を指標として反応性を確認しているが、今後はこれまでに報告されている PR の発現に加え、各細胞で発現する c-myc, p53, VEGF, PRL などの因子についても検索を進めていく予定である。

E. 結論

EDCs の乳腺への影響を in vivo 系で検証するため、BPA 及び DES を周産期に曝露し、乳腺発がん及ぼす影響を精査した。その結果、EDCs の周産期投与によるラット DMBA 乳腺発がんの腫瘍促進効果は認められなかった。また、DES 高用量では誘発腫瘍に組織学的な差が認められたが、これは TEB から腺房に腫瘍の発生領域が変化したために起こりうる変化と考えられた。また、ヒト乳癌由来の株化細胞を用いて EDCs の評価を開始し、MCF-7 で BPA の $10^{-7}M$ 及び $10^{-5}M$ に細胞

増殖作用が認められた。今後は各細胞の増殖活性に加え、鋭敏に反応する関連因子に着目した観察が必要であると考えられた。

周産期曝露がラット DMBA 誘発乳腺発がんに及ぼす影響 (P210)

美谷島 克宏, 柿本 恒知, 竹腰 進, 長村 義之

F. 健康危惧情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Y Sekido, S Umemura, S Takekoshi, Y Suzuki, Y Tokuda, T Tajima, RY Osamura: Heterogeneous gene alterations in primary breast cancer contribute to discordance between primary and asynchronous metastatic/recurrent sites: HER2 gene amplification and p53 mutation, International Journal of Oncology 22, 1225-1232, 2003

2) S Umemura, H Itoh, M Ohta, Y Suzuki, M Kubota, Y Tokuda, T Tajima, RY Osamura: Immunohisto-chemical Evaluation of Hormone Receptor for Routine Practice of Breast Cancer: Highly Sensitive Procedures Significantly Contribute to the Correlation with Biochemical Assays, AIMM 11(1), 62-72, 2003

2. 学会発表

1) 92nd USCAP(United States and Canadian Academy of Pathology), 2003年3月22-28日 (Marriott Wardman Park Hotel, Washington DC)

2) 日本病理学会, 第94回総会, 2005年4月14-16日 (パシフィコ横浜)
エストロゲンによる下垂体の腫瘍発生に及ぼす影響 (P173)

美谷島 克宏, 柿本 恒知, 竹腰 進, 長村 義之

3) 日本トキシコロジー学会学術年会, 第32回研究発表会, 2005年6月29日-7月1日(タワーホール船堀)

Diethylstilbestrol の周産期曝露がラット乳腺上皮の分化および腫瘍発生に及ぼす影響 (P169)

美谷島 克宏, 竹腰 進, 柿本 恒知, 長村 義之 他

4) 環境ホルモン学会, 第8回研究発表会, 2005年9月27-29日(江戸東京博物館)

Diethylstilbestrol および Bisphenol A の

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

Table 2 乳腺の病理組織学的変化：DMBA 処置 13 週間後の乳腺腫瘍のまとめ

群	DMBA誘発腫瘍の組織形態像およびIHC結果			
	組織像	ER α (IHC)	Ki-67 (IHC)	Ki-67 LI % (+/-SD)
1. Vehicle + Sham (Control)	-	-	-	-
2. Vehicle + DMBA (DMBA)	DAC, PAC	+/-~+	+~++	16 (4)
3. DES 10 μ g/kg + DMBA (DES-L)	DAC, PAC	~+	+~++	12 (8)
4. DES 100 μ g/kg + DMBA (DES-H)	IDC, DAC	+/-~+	++	13 (2)
5. BPA 25 μ g/kg + DMBA (BPA-L)	DAC, PAC	~+/-	+~++	10 (5)
6. BPA 250 μ g/kg + DMBA (BPA-H)	DAC, PAC	~+/-	+~++	13 (8)

DAC, Ductal adenoma/carcinoma; PAC, Papillary adenoma/ carcinoma,

IDC, Intraductal/cribriform adenoma or carcinoma.

-, No abnormality or negative

Photo 1 Whole Mount 標本観察 (DMBA 処置後 4 週間)

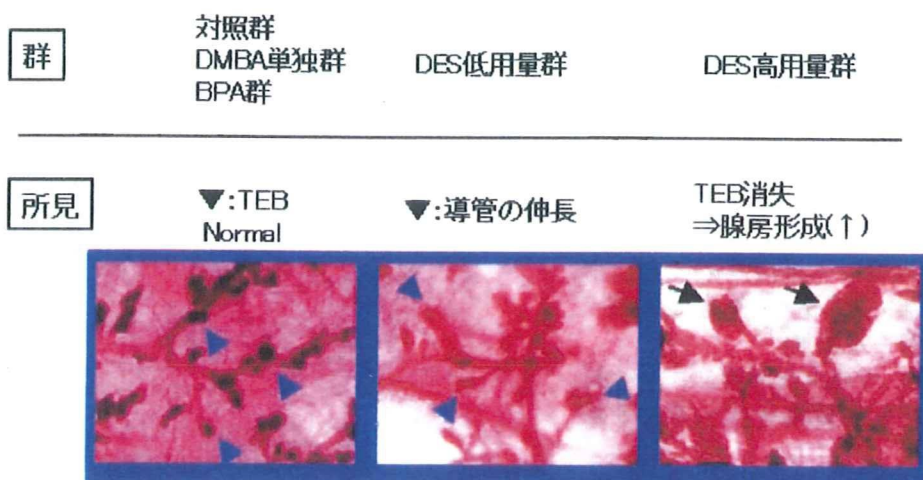


Fig. 1 試験系：周産期投与によるラット乳腺発現系への影響

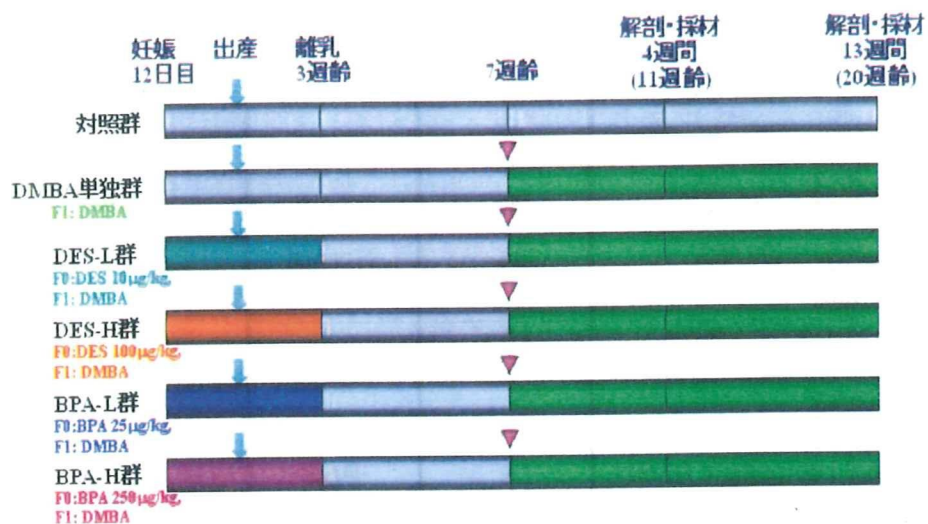


Table 1 F1 の DMBA 処置 13 週間後の腫瘍発現状況

群 (n=12)	発現頻度 (%)	腫瘍個数	腫瘍重量 (g)
1. Vehicle + Sham (Control)	0.0	0.0	0.0
2. Vehicle + DMBA (DMBA)	100.0	3.8	14.9
3. DES 10 µg/kg + DMBA (DES-L)	100.0	4.2	10.3
4. DES 100 µg/kg + DMBA (DES-H)	83.0	9.0	15.9
5. BPA 25 µg/kg + DMBA (BPA-L)	83.0	2.6	2.7
6. BPA 250 µg/kg + DMBA (BPA-H)	100.0	3.5	11.7