

Fig. 3. Changes in expression levels of RXR α mRNA in the cerebra (A and B), cerebellum (C and D), and gonads (testes and ovaries: E and F, respectively) of 14.5- (A, C, and E) and 18.5-dpc embryos (B, D, and F). Open and closed bars represent males and females, respectively. Each value is the mean \pm SEM. * and **: P < 0.05 and 0.01, respectively, vs each male vehicle control. + and **: P < 0.05 and 0.01, respectively, vs each female vehicle control.

担当者 佐二木 順子

著者名: Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Hongslø JK, Stenersen J, Tollefsen KE

論文題名: Estrogenic effects of environmental chemicals: An interspecies comparison.

出典: Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2005 Jul;141(3):267-74.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、()その他 細胞 MCF-7, rainbow trout hepatocytes
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、()その他 in vitro screening
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 medium 添加
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、()出生後、()成熟動物、(x)細胞 その他 _____
6. 曝露濃度 用量段階 BPA 10^{-8} ~ 10^{-3}
7. 観察された影響の種類と濃度: Relative binding affinity(RBA): 0.315/BPA, 100/E2 for human ER, 5.8×10^{-3} /BPA, 100/E2 for rainbow trout ER, Relative estrogenic potency (REP): 2×10^{-3} /BPA, 100/E2 for cell growth MCF-7 cell 2.9×10^{-3} /BPA, 100/E2 for vitellogenin production
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。
GLPに準拠 ()はい、()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 _____、()いいえ

論文の概要:

4種類の in vitro screening methods [competitive binding to estrogen receptors (①human breast cancer cell line MCF-7, ②rainbow trout liver cells), ③proliferation assay with MCF-7 cells (E-SCREEN), ④induction of vitellogenin]を用い、内分泌攪乱化学物質の影響を調べた。強力なエストロゲン (E2, DES, zearalenone) に対する感度は E-SCREEN>hER=rtER=rtVtg であった。4-n-NP と BPA については hER との affinity が強かったが、4-t-BP, 4-n-BP では rtER との affinity が強かった。Zearalenone と新たなエストロゲン物質である 4-t-butylhexanol は r t Vtg より E-SCREEN で強い効果を示した。Alkylphenols や新たなエストロゲン様物質である 4-t-nitrobenzene は魚の方に強い効果を示した。4試験法について相関分析を行った結果、エストロゲン性に種間(魚由来細胞とヒト由来細胞)差が認められた。この差は内分泌攪乱化学物質の ER との反応性が細胞間で違うことに起因すると考えられた。しかし、ER への結合能については2種間で類似した結果を示した。

添付資料

Table 1

評価者のコメント:

In vitro のスクリーニングを行う上で、試験に供する化学物質の代謝系が使用する細胞に存在するか、細胞内に ER 以外の E2 と結合する蛋白質 (性ステロイド結合蛋白等) が存在するか等によりエストロゲン性の結果が異なる可能性を示した論文である。化学物質の構造と ER との相性もあるので、内分泌攪乱物質のスクリーニングにはできるだけ多くの種の細胞、手法を用いて総合的にエストロゲン性の判定を行うべきであることは言うまでもない。

Table 1

Relative Binding Affinity (RBA) for a range of compounds to the human and rainbow trout estrogen receptor (ER) and their relative estrogenic potential (REP) in human breast cancer cells (cell growth of MCF-7) and rainbow trout hepatocytes (vitellogenin production)

Test compound	Symbol	Human ER		Rainbow trout ER		Cell growth MCF-7 cell		Vitellogenin production	
		IC ₅₀ (M) ^a	RBA ^b	IC ₅₀ (M) ^a	RBA ^b	EC ₅₀ (M) ^c	REP ^d	EC ₅₀ (M) ^c	REP ^d
17β-estradiol	E2	1.8 × 10 ⁻⁹	100	6.6 × 10 ⁻⁹	100	6.1 × 10 ⁻¹⁷	100	1.0 × 10 ⁻¹⁰	100
Diethylstilbestrol	DES	5 × 10 ⁻¹⁰	500	2.1 × 10 ⁻⁹	390	1.8 × 10 ⁻¹¹	33.8	1.6 × 10 ⁻⁹	6.1
Zearalenone	ZEN	2 × 10 ⁻⁷	4.1	2.6 × 10 ⁻⁷	2.5	4.1 × 10 ⁻¹⁰	14.9	5.2 × 10 ⁻⁷	1.0 × 10 ⁻³
Bisphenol A	BPA	1.8 × 10 ⁻⁶	0.315	8.4 × 10 ⁻⁶	5.0 × 10 ⁻³	3 × 10 ⁻⁷	2 × 10 ⁻³	3.5 × 10 ⁻⁶	2.9 × 10 ⁻³
4-t-octylphenol	OP	3.8 × 10 ⁻⁵	6.4 × 10 ⁻³	8.4 × 10 ⁻⁴	7.6 × 10 ⁻³	5 × 10 ⁻⁶	1.2 × 10 ⁻⁶	3.1 × 10 ⁻⁶	3.3 × 10 ⁻³
4-n-nonylphenol	NP	1.3 × 10 ⁻⁵	2.0 × 10 ⁻³	3.6 × 10 ⁻⁴	9.4 × 10 ⁻⁴	wi ^e	-	8.0 × 10 ⁻⁵	2.0 × 10 ⁻⁴
4-t-butylphenol	CB	8.7 × 10 ⁻⁴	2.1 × 10 ⁻⁴	9.6 × 10 ⁻⁵	4.6 × 10 ⁻¹	3.2 × 10 ⁻⁵	1.9 × 10 ⁻³	1.8 × 10 ⁻⁵	5.6 × 10 ⁻⁴
4-n-butylphenol	CBn	2.1 × 10 ⁻⁴	3.2 × 10 ⁻³	1.8 × 10 ⁻⁵	2.3 × 10 ³	4 × 10 ⁻⁶	1.5 × 10 ⁻⁶	3.5 × 10 ⁻⁶	2.9 × 10 ⁻³
4-t-butyl cyclohexanol	C4-Cyclo	1.9 × 10 ⁻³	8.5 × 10 ⁻⁶	wb ^f	-	1 × 10 ⁻⁴	6.1 × 10 ⁻⁶	ne ^h	-
4-n-butyl chlorobenzene	C4-Cl	4.1 × 10 ⁻³	3 × 10 ⁻⁵	wb ^f	-	wi ^e	-	ne ^h	-
4-t-butyl nitrobenzene	C4-NO ₂	wb ^f	-	wb ^f	-	wi ^e	-	3.7 × 10 ⁻³	2.7 × 10 ⁻⁶
4-n-butyl aniline	C4-NH ₂	1.2 × 10 ⁻³	1.1 × 10 ⁻⁴	7.4 × 10 ⁻⁴	8.0 × 10 ⁻⁴	ne ^h	-	ne ^h	-

^aEquilibrium inhibitory concentration (IC₅₀) was calculated as the concentration causing 50% inhibition of [³H]17β-estradiol binding.

^bRelative binding affinity (RBA) was calculated as 100 × the ratio between the binding affinity (IC₅₀) of 17β-estradiol and the test compound.

^cwb: weak binding (<50% inhibition of [³H]17β-estradiol binding).

^dnb: no binding under conditions employed.

^eThe 50% effect concentration (EC₅₀) was calculated as the concentration causing 50% effect (cell growth or vitellogenin production).

^fRelative estrogenic potency (REP) is the ratio between 17β-estradiol and xenooestrogen concentration needed to produce EC₅₀ × 100.

^gwi: weak inducer (<50% induction of cell growth or vitellogenin production).

^hne: no effect under conditions employed.

著者名: Pfeiffer E, Metzler M.

論文題名: Effect of bisphenol A on drug metabolising enzymes in rat hepatic microsomes and precision-cut rat liver slices.

出典: Arch Toxicol. 2004 Jul;78(7):369-77. Epub 2004 Apr 28.

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、(x)その他 肝臓
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、()個体、()その他_____
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他_____
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、()出生後、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (100 μ M (水酸化)、200 μ M (抱合化))
7. 観察された影響の種類と濃度:
(100 μ M (水酸化)、200 μ M (抱合化))
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。
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:

BPAの第1層と第2層の代謝酵素への影響を調べた。試験はラットの肝ミクロソームと肝臓切片で実施した。チトクロームP450(CYP)の活性を詳細に調べるために、テストステロンの水酸化アッセイを用いた。その結果、テストステロンの2 α 位と16 α 位の水酸化を著しく阻害したが、6 β 位あるいは7 α 位の水酸化は阻害しなかった。これは、CYPのある型、特にCYP2C11において阻害に差があることを示唆している。この阻害は、事前にBPA暴露した肝臓切片で観察され、CYPの不可逆的阻害を示唆している。肝臓切片において水酸化テストステロン代謝物間で抱合化に差がみられ、BPAの存在下で抱合体が有意に減少した。しかし、事前にBPAを処理しても抱合化への影響はなかった。肝切片とBPA単独あるいはテストステロンまたはunbelliferoneとのインキュベーションにより、BPA自身は水酸化されないけれども、大量に抱合化が見られた。しかし、BPAの急速かつ優先的な抱合化はある型のCYPの不可逆的阻害を阻止しない。結論として、BPAは、ある型のCYPの選択的かつ不可逆的阻害を引き起し、他の薬品の抱合化を妨害する。

添付資料

Figure 3, Figure 4, Figure 5, Figure 6

評価者のコメント:

既報のCYPによるテストステロンの水酸化を調べる手法は、テストステロン代謝物のHPLCの分離能に問題があり、CYPの活性を間違って解釈する可能性があったので、著者は代謝物を分離する手法を開発して、信頼性のあるデータを得るようにした。

Fig. 3 Pattern of microsomal metabolites of testosterone in the absence (*left chart*) and presence (*right chart*) of BPA. Data are expressed as % of the sum of all detected compounds and represent the mean \pm standard deviation from three independent incubations. The *left chart* corresponds to the HPLC profile shown in Fig. 2. *T* testosterone, *A* androstenedione, *HO* hydroxy

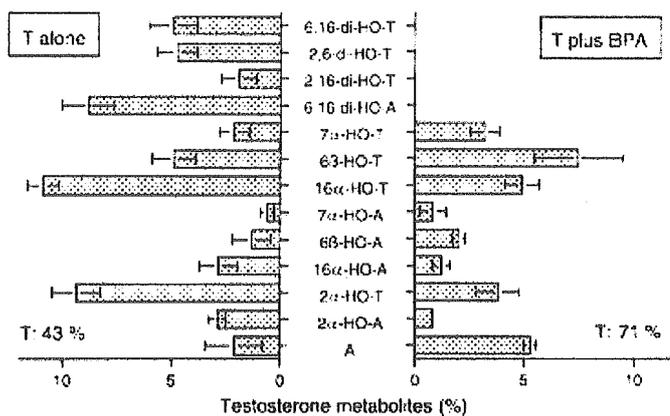


Fig. 4 Pattern of unconjugated (*stippled bars*) and conjugated (*shaded bars*) testosterone metabolites in liver slices from 12-week-old rats after 6-h incubation in the absence (*left chart*) and presence (*right chart*) of BPA. Data are expressed as % of the sum of all detected compounds and represent the mean from two rats and three independently incubated slices per rat. *T* testosterone, *A* androstenedione, *HO* hydroxy

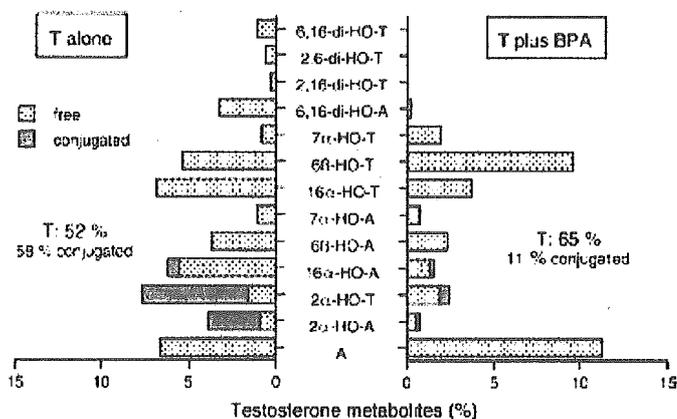


Fig. 5 Pattern of unconjugated (*stippled bars*) and conjugated (*shaded bars*) testosterone metabolites in liver slices from 12-week-old rats after 24-h incubation in the absence (*left chart*) and presence (*right chart*) of BPA. Data are expressed as % of the sum of all detected compounds and represent the mean from two rats and three independently incubated slices per rat. *T* testosterone, *A* androstenedione, *HO* hydroxy

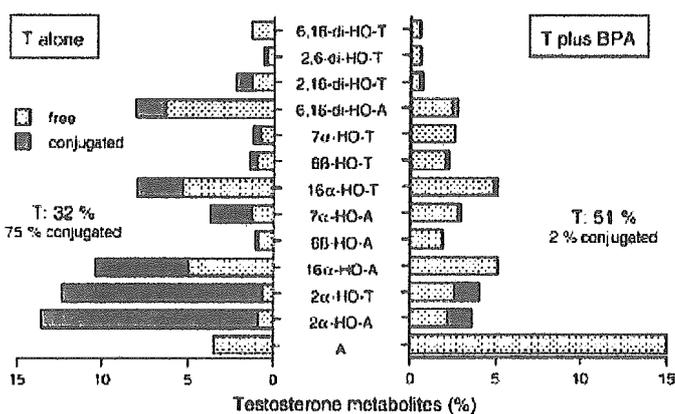
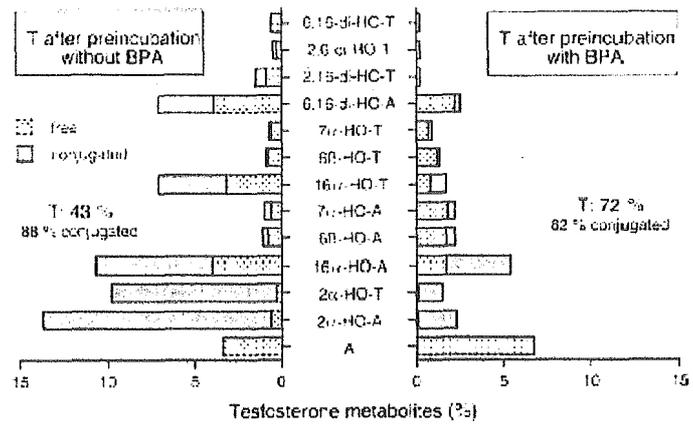


Fig. 6 Pattern of unconjugated (stippled bars) and conjugated (stained bars) testosterone metabolites in liver slices from 12-week-old rats after 24-h incubation. Slices were preincubated for 24 h in the absence (left chart) and presence (right chart) of BPA. Data are expressed as % of the sum of all detected compounds and represent the mean from two rats and three independently incubated slices per rat. *T* testosterone, *A* androstenedione, *HO* hydroxy



担当者 大西 純一

著者名: Reistad T, Mariussen E, Fonnum F.

論文題名: The effect of a brominated flame retardant, tetrabromobisphenol-A, on free radical formation in human neutrophil granulocytes: the involvement of the MAP kinase pathway and protein kinase C.

出典: Toxicol Sci. 2005 Jan;83(1):89-100. Epub 2004 Sep 29.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、()その他 ヒト細胞(ヒト好中性白血球)
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、()その他 _____
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、()個体、()その他 _____
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他 _____
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、()出生後、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階 (1-12 μ M)
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。
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:

本試験は最も頻繁に使用される臭素化難燃剤 (BFR) の一つである四臭素化ビスフェノール A (TBBPA) の活性酸素種 (ROS) やカルシウムのヒト好中性白血球中の濃度への影響を調べている。TBBPA ではヒト好中性白血球中で、細胞内外に ROS を検出した。TBBPA は呼吸バーストの活性化の結果、ROS の産生を誘発し、それは NADPH オキシダーゼ阻害剤 DPI によって示された。TBBPA の呼吸バーストの誘導もまた、MKE1/2 の阻害剤 U0126、PKC の阻害剤 BIM、チロシンキナーゼの阻害剤 erbstatin-A により阻害された。細胞外カルシウムがなく、そして verapamil が添加された条件下で、ROS 産生のわずかな減少が認められた。ERK 1/2 のリン酸化反応がウエスタンブロット法で確認された。TBBPA はまた、濃度依存的に、細胞内のフリーのカルシウムを増加させる。著者は、「ヒト好中性白血球中の臭素化難燃剤 PBBPA へのばく露が主に、ERK 1/2 の刺激経路により NADPH オキシダーゼの活性化をもたらす」ことを示唆している。データは、PKC、カルシウムそしてチロシンキナーゼが恐らく活性化を引き起すであろうということをも示している。Fig. 8 に ROS 産生経路を示している。

BPA ではヒト好中性白血球中において、ROS を細胞外で検出したが細胞内では検出されなかった。また、BPA は、わずかに有意であるが、濃度依存的に細胞内カルシウムの増加を示した。これは臭素置換が細胞内のカルシウムと ROS 産生を誘導するのに重要な役割をしていることを示している。

添付資料

Fig. 1, 2, 4, 8

評価者のコメント:

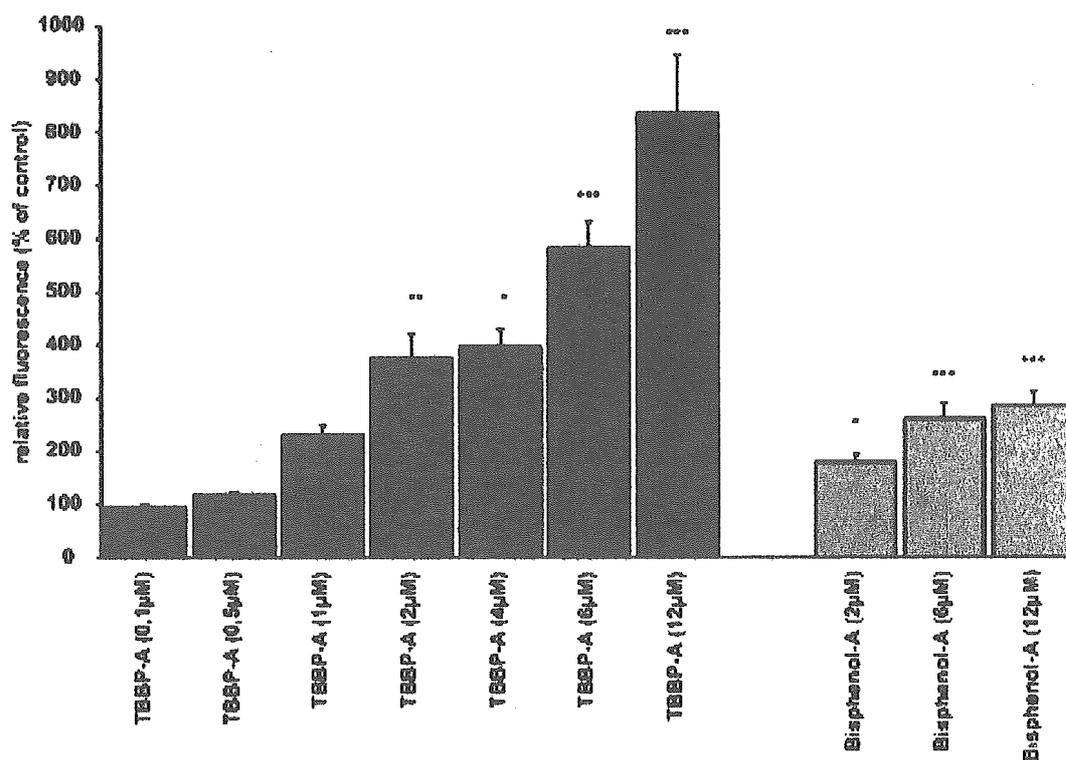


FIG. 1. Relative fluorescence used as a measure for formation of ROS in human neutrophil granulocytes after exposure to different concentrations of the brominated flame-retardants TBBPA and its non-brominated analog Bisphenol-A. The cells were loaded with the oxidative stress-sensitive dye DCFH-DA as described in Materials and Methods. The BFRs were added to the wells and fluorescence was recorded in a Perkin Elmer LS50B luminescence spectrometer for 60 min. All values are relative to the cell control (set to 100 %). Control value (AUC): 370 ± 26 (SEM). Values are mean \pm SEM, 5-10 experiments in triplicate. One-way ANOVA followed by Dunnett's 2-sided post hoc test was performed to indicate statistical significant differences between exposure groups with DMSO as control (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

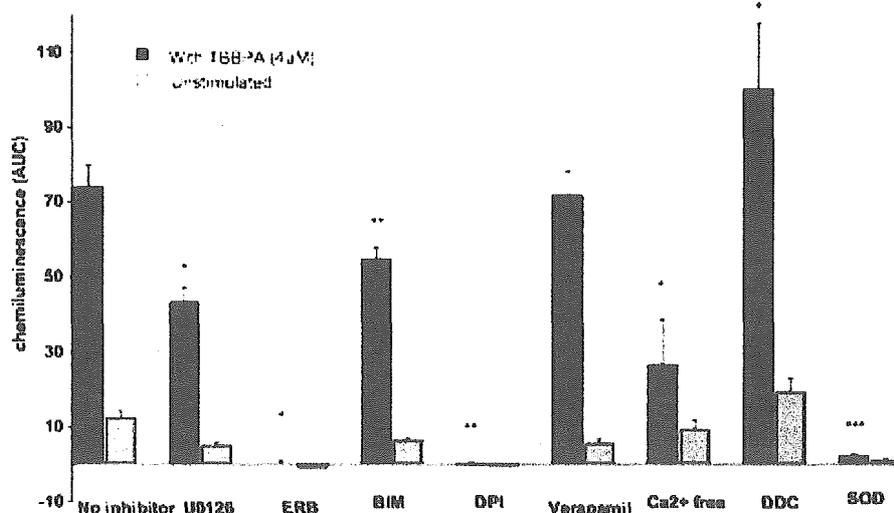


FIG. 2. Chemiluminescence as a measure for formation of ROS in human neutrophil granulocytes after exposure to 4 μM TBBPA in combination with ERK 1/2 inhibitor U0126 (10 μM), the tyrosine kinase inhibitor ERB (25 μM), the PKC inhibitor BIM (0.25 μM), the NADPH oxidase inhibitor DPI (4 μM), the Ca^{2+} channel blocker verapamil (10 μM), Ca^{2+} free buffer with EGTA added, the superoxide dismutase inhibitor DDC (100 μM), and superoxide dismutase (50 U/ml). Chemiluminescence was measured in a Labsystem Luminoskan luminometer for 60 min. All values are presented as area under the curve (AUC). Control value: 16 ± 4 (mean \pm SEM). Values are mean \pm SEM, 5–9 experiments in triplicate. Two-way Student's *t*-test (paired, two tail distribution) was performed to indicate statistical significant differences between each exposure group treated with or without the indicated inhibitor (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

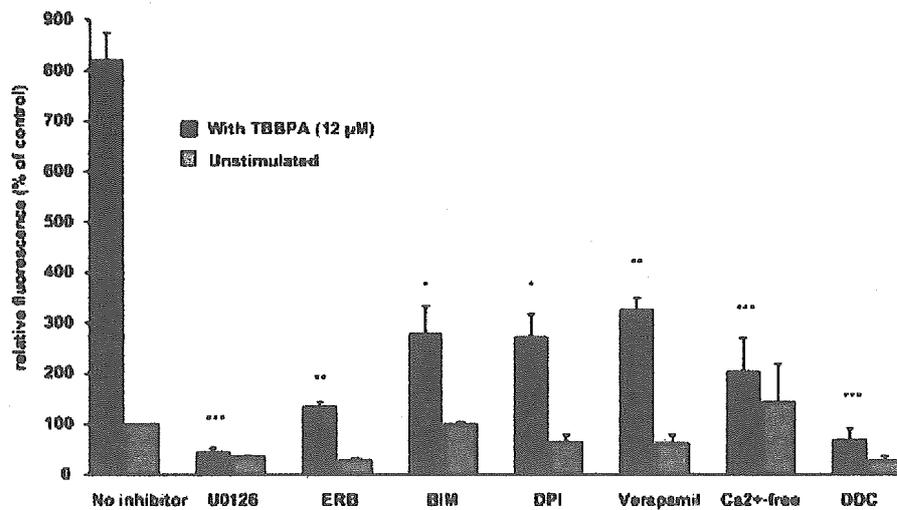


FIG. 4. Relative fluorescence used as a measure for formation of ROS in human neutrophil granulocytes after exposure to 12 μM TBBPA in combination with ERK 1/2 inhibitor U0126 (10 μM), the tyrosine kinase inhibitor ERB (25 μM), the PKC inhibitor BIM (0.25 μM), the NADPH oxidase inhibitor DPI (4 μM), the Ca^{2+} channel blocker verapamil (10 μM), Ca^{2+} free buffer with EGTA added, and the superoxide dismutase inhibitor DDC (100 μM).

Fluorescence was recorded in a Perkin Elmer LS50B luminescence spectrometer for 60 min. All values are relative to the cell control (set to 100%). Control value (AUC): 342 ± 25 (mean \pm SEM). Values are mean \pm SEM, 5–9 experiments in triplicate. Two-way Student's *t*-test (paired, two tail distribution) was performed to indicate statistical significant differences between each exposure group treated with or without the indicated inhibitor (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

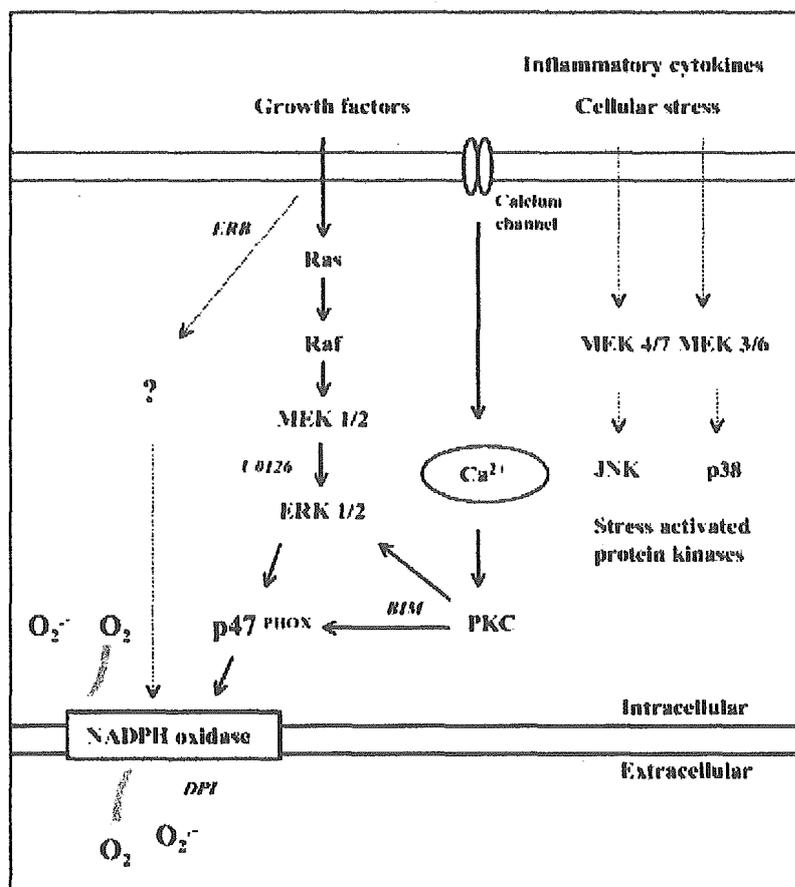


FIG. 8. Pathways found to be involved in TBBPA induced ROS formation. The MAPKs are major information pathways from the cell surface to the nucleus activated by e.g., growth factors, inflammatory cytokines, and cellular stress. The MAPK pathway includes the extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 (ERK 1/2), as well as c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p38 MAPK cascade. TBBPA probably induce NADPH oxidase activation by two different pathways, both important for p47^{PHOX} phosphorylation: an ERK 1/2 pathway independent of the p38 and Jun-kinase (JNK), and a calcium dependent PKC pathway. In addition we have found that tyrosine kinases, activated by growth factor receptors, might be involved in the ROS formation acting in parallel to or downstream of the MAP kinase cascade and PKC. Inhibitors of the different intracellular pathways are indicated in italic. The DCF assay is primarily an indicator of intracellular formation of ROS, whereas lucigenin assay primarily measures extracellular ROS.

担当者 関澤 純

著者名: Satoh K, Ohyama K, Aoki N, Iida M, Nagai F

論文題名: Study on anti-androgenic effects of bisphenol a diglycidyl ether (BADGE), bisphenol F diglycidyl ether (BFDGE) and their derivatives using cells stably transfected with human androgen receptor, AR-EcoScreen.

出典: Food Chem Toxicol. 2004 Jun;42(6):983-93.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット ()マウス、()人、()その他 (x)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、(x)細胞
6. 曝露濃度 用量段階 ()
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。
GLPに準拠 ()はい、()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 _____、()いいえ

論文の概要:

Chinese hamster ovary cellにヒト Androgen receptor (AR)と reporter (luciferase)を導入した。BPAと bisphenol F (BP)は 10^{-11} ~ 10^{-5} Mで agonist 活性を示さなかったがBPA、BPFは 10^{-6} Mで 5×10^{-10} M 5α -Dihydrotestosterone (DHT)の活性を有意に抑制した。BPA、BPFによるDHTのAR結合競合阻害の IC_{50} が 10^{-6} Mオーダーであることを確認した。並行してBPA、BPFおよび、それらの diglycidyl ether 化合物について同様の活性と Estrogen receptor (ER) binding reporter 活性を調べた。

添付資料

Figure 5, Table 2.

評価者のコメント:

BPA、BPFは in vivoで ER 活性の他に anti androgenic 作用を持つことを示す試験だが、活性が報告された濃度は比較的高かった。

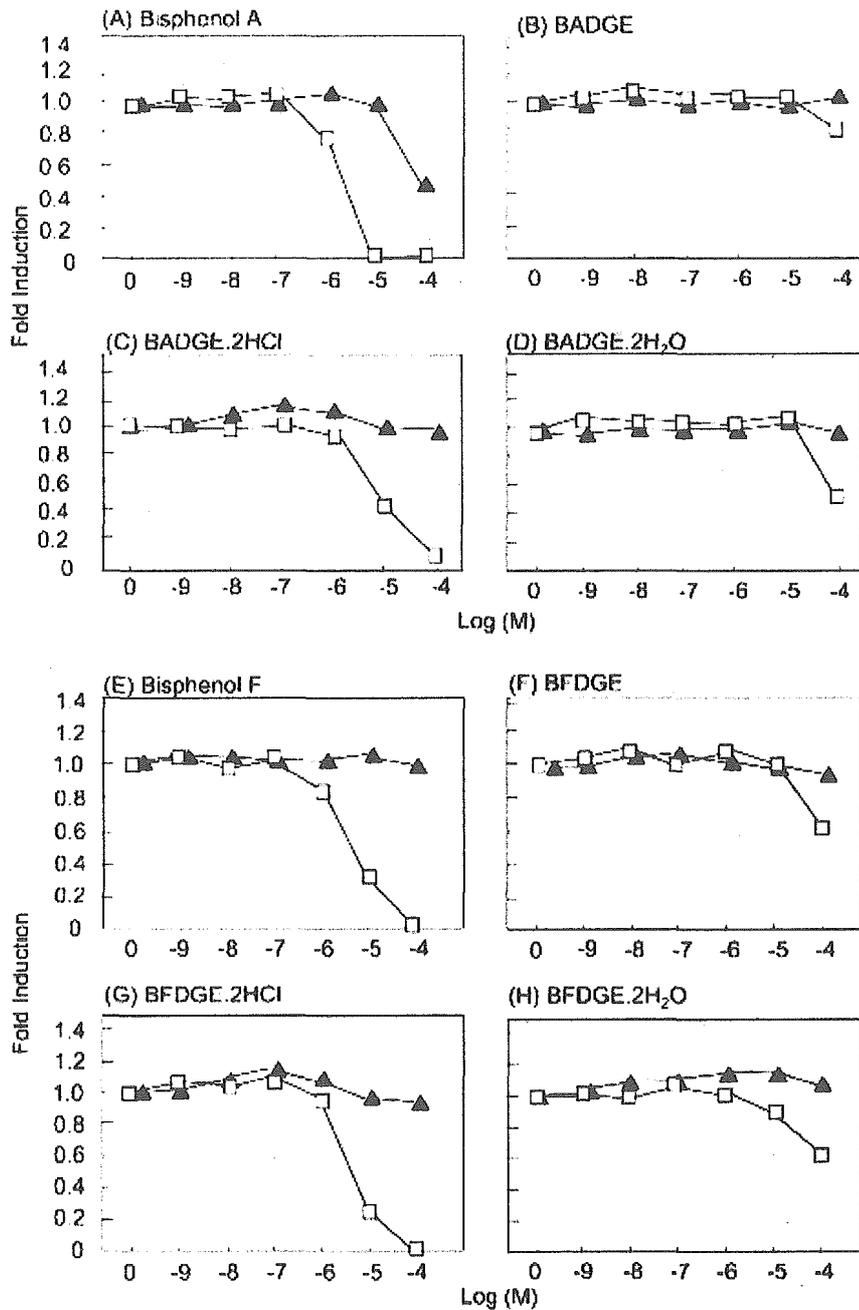


Fig. 5. AR antagonism assay of BADGE, BFDGE and related compounds. AR-ExoScreen and e-luc were treated with various concentrations of chemicals in the presence of 5×10^{-10} M DHT according to the legend in Fig. 5. Luciferase activity in the presence of DHT alone was shown as 1 fold. The S.D. was less than 2.4% ($n=4$). (A) Bisphenol A, (B) BADGE, (C) BADGE.2HCl, (D) BADGE.2H₂O, (E) Bisphenol F, (F) BFDGE, (G) BFDGE.2HCl, (H) BFDGE.2H₂O. □, AR-ExoScreen; ▲, e-luc.

Table 2
Androgen disruptive effects of BADGE, BFDGE and related compounds

Chemicals	AR-binding activity	Reporter gene assay with AR-EcoScreen	
		Agonist activity EC ₅₀ ^b (M)	Antagonist activity IC ₅₀ ^c (M)
Bisphenol A	7.9×10^{-6}	NE ^d	2.5×10^{-6}
BADGE	6.4×10^{-6}	NE	$> 1.0 \times 10^{-4}$
BADGE.2HCl	1.9×10^{-5}	NE	6.7×10^{-6}
BADGE.2H ₂ O	1.9×10^{-4}	NE	1.1×10^{-4}
Bisphenol F	9.0×10^{-6}	NE	4.8×10^{-6}
BFDGE	2.7×10^{-5}	NE	$> 1.0 \times 10^{-4}$
BFDGE.2HCl	1.8×10^{-5}	NE	5.2×10^{-6}
BFDGE.2H ₂ O	6.6×10^{-5}	NE	$> 1.0 \times 10^{-4}$
DHT	-	1.6×10^{-10}	-
CTA ^e	-	-	1.5×10^{-7}
Mibolerone ^f	1.7×10^{-8}	-	-

^a The concentration of the chemicals required to reduce the specific testosterone binding by 50%.

^b The concentration of the chemicals producing 50% of the maximum fold.

^c The concentration of the test chemicals required for reducing 50% of luciferase activity at 5×10^{-10} M 5 α -dihydrotestosterone (DHT).

^d No effect at 1.0×10^{-4} M.

^e Cyproterone acetate (CTA).

^f Synthetic androgen, attachment with Ligand Screening System-Androgen Receptor kit.

担当者 井藤 悦朗

著者名: Singleton DW, Feng Y, Chen Y, Busch SJ, Lee AV, Puga A, Khan SA.

論文題名: Bisphenol-A and estradiol exert novel gene regulation in human MCF-7 derived breast cancer cells.

出典: Mol Cell Endocrinol. 221(1-2):47-55, 2004.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 MCF-7 細胞
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x) その他 乳がん細胞
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 _____
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 ($10^{-6}M$)
7. 観察された影響の種類と濃度: 一番低い影響濃度のみ記入。複数あればそれらを記入。統計的な信頼性などの問題はコメント欄に記す。
(17β Estradiol (E2) の $10^{-8}M$ との比較で発現変動する遺伝子を RT-PCR で再確認したところ、Wiskott-Aldrich syndrome protein gene の Alu-type のエストロゲン反応性配列に共通であった。)
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。
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:

ER α を過剰に安定に発現している MCF-7 系の乳がん細胞を使って、BPA ($10^{-6}M$) の遺伝子発現への影響を調べた。

添付資料

特になし。

評価者のコメント:

遺伝子発現に対する BPA の影響が濃度依存的かどうかについては実施していない。

担当者 関澤 純

著者名: Singleton DW, Feng Y, Yang J, Puga A, Lee AV, Khan SA.

論文題名: Gene expression profiling reveals novel regulation by bisphenol-A in estrogen receptor-alpha-positive human cells.

出典: Environ Res. 2006 Jan ;100(1);86-92

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット () マウス、 () 人、 () その他 (x)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 _____
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 () _____
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。
GLP に準拠 () はい、 () 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 _____、 () いいえ

論文の概要:

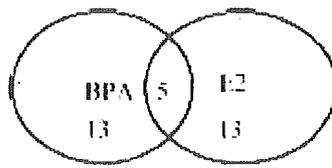
ヒト乳がん細胞(MCF-7)を用いて遺伝子発現プロファイルを調べた。BPA あるいは E2 に特異的に発現変化した遺伝子は各 13、共通に発現変化した遺伝子は 5 つであった。Homeodomain 含有たんぱく HOXC6 gene 産物 C1 と C6 が 1 μ M BPA で約 60% down regulate された。

添付資料

Figure 2, Figure 3.

評価者のコメント:

著者は HOX 特異遺伝子の発現の down regulation が正常な発生過程をかく乱する可能性ありとしているが in vitro 試験における 60% 程度の down regulation 観察の持つ意味についてより幅広い検討が必要だろう。



(A)

Gene	Protein	Accession No.	FC (BPA)	FC (E2)
<i>Signaling molecules</i>				
IRS1	Insulin receptor substrate 1	N62539	12.4	-1.7
PLC1	Ras-like protein 1-1	A1088063	12.8	2.8
PKC α	Phosphoinositide 3-kinase	Z26990	nd	-2.3
HR23A	Protein tyrosine kinase substrate	U38833	-12.8	nd
PIAS3	Protein inhibitor of activated Stat3	A1021008	-4.2	nd
HER3	Epidermal growth factor receptor	M14309	-2.4	nd
BRAS	Ras	M14646	nd	-6.9
JNK1	Jun N-terminal kinase	U26318	nd	-5.1
RAD1	Raf	N05484	nd	-2.5
TGFB2	Transforming growth factor- β 2	M19134	-2.3	nd
TSK	TGF- β activated kinase	A090335b	-2.5	nd
FZD5	Frizzled 5	U37882	-3.0	nd
SOX15A	Wnt signaling protein	U25861	-2.3	nd
SOX2	Sox2-related Sox inhibitor 2	A102989	3.0	nd
<i>Transcription factor</i>				
ETS	e-125	N01512	nd	-2.6
FKBP7	Forkhead winged factor	A078096	13.6	-2
MYB	c-MYC	M15074	15	-2.6
RIP40	Nicotinic receptor interacting protein	N84373	nd	-2.7
IKK β	IKK β	M29636	nd	-4.3
NRH2	NRH2	U07132	nd	-5.7
ESR1	Estrogen receptor α	NB000125	nd	-2.9
HES1	Hes1/5/6/7 protein	M16937	-2.5	nd
HES6	HES6/10/11/12/13/14/15/16/17/18/19/20/21/22/23/24/25/26/27/28/29/30/31/32/33/34/35/36/37/38/39/40/41/42/43/44/45/46/47/48/49/50/51/52/53/54/55/56/57/58/59/60/61/62/63/64/65/66/67/68/69/70/71/72/73/74/75/76/77/78/79/80/81/82/83/84/85/86/87/88/89/90/91/92/93/94/95/96/97/98/99/100/101/102/103/104/105/106/107/108/109/110/111/112/113/114/115/116/117/118/119/120/121/122/123/124/125/126/127/128/129/130/131/132/133/134/135/136/137/138/139/140/141/142/143/144/145/146/147/148/149/150/151/152/153/154/155/156/157/158/159/160/161/162/163/164/165/166/167/168/169/170/171/172/173/174/175/176/177/178/179/180/181/182/183/184/185/186/187/188/189/190/191/192/193/194/195/196/197/198/199/200/201/202/203/204/205/206/207/208/209/210/211/212/213/214/215/216/217/218/219/220/221/222/223/224/225/226/227/228/229/230/231/232/233/234/235/236/237/238/239/240/241/242/243/244/245/246/247/248/249/250/251/252/253/254/255/256/257/258/259/260/261/262/263/264/265/266/267/268/269/270/271/272/273/274/275/276/277/278/279/280/281/282/283/284/285/286/287/288/289/290/291/292/293/294/295/296/297/298/299/300/301/302/303/304/305/306/307/308/309/310/311/312/313/314/315/316/317/318/319/320/321/322/323/324/325/326/327/328/329/330/331/332/333/334/335/336/337/338/339/340/341/342/343/344/345/346/347/348/349/350/351/352/353/354/355/356/357/358/359/360/361/362/363/364/365/366/367/368/369/370/371/372/373/374/375/376/377/378/379/380/381/382/383/384/385/386/387/388/389/390/391/392/393/394/395/396/397/398/399/400/401/402/403/404/405/406/407/408/409/410/411/412/413/414/415/416/417/418/419/420/421/422/423/424/425/426/427/428/429/430/431/432/433/434/435/436/437/438/439/440/441/442/443/444/445/446/447/448/449/450/451/452/453/454/455/456/457/458/459/460/461/462/463/464/465/466/467/468/469/470/471/472/473/474/475/476/477/478/479/480/481/482/483/484/485/486/487/488/489/490/491/492/493/494/495/496/497/498/499/500/501/502/503/504/505/506/507/508/509/510/511/512/513/514/515/516/517/518/519/520/521/522/523/524/525/526/527/528/529/530/531/532/533/534/535/536/537/538/539/540/541/542/543/544/545/546/547/548/549/550/551/552/553/554/555/556/557/558/559/560/561/562/563/564/565/566/567/568/569/570/571/572/573/574/575/576/577/578/579/580/581/582/583/584/585/586/587/588/589/590/591/592/593/594/595/596/597/598/599/600/601/602/603/604/605/606/607/608/609/610/611/612/613/614/615/616/617/618/619/620/621/622/623/624/625/626/627/628/629/630/631/632/633/634/635/636/637/638/639/640/641/642/643/644/645/646/647/648/649/650/651/652/653/654/655/656/657/658/659/660/661/662/663/664/665/666/667/668/669/670/671/672/673/674/675/676/677/678/679/680/681/682/683/684/685/686/687/688/689/690/691/692/693/694/695/696/697/698/699/700/701/702/703/704/705/706/707/708/709/710/711/712/713/714/715/716/717/718/719/720/721/722/723/724/725/726/727/728/729/730/731/732/733/734/735/736/737/738/739/740/741/742/743/744/745/746/747/748/749/750/751/752/753/754/755/756/757/758/759/760/761/762/763/764/765/766/767/768/769/770/771/772/773/774/775/776/777/778/779/780/781/782/783/784/785/786/787/788/789/790/791/792/793/794/795/796/797/798/799/800/801/802/803/804/805/806/807/808/809/810/811/812/813/814/815/816/817/818/819/820/821/822/823/824/825/826/827/828/829/830/831/832/833/834/835/836/837/838/839/840/841/842/843/844/845/846/847/848/849/850/851/852/853/854/855/856/857/858/859/860/861/862/863/864/865/866/867/868/869/870/871/872/873/874/875/876/877/878/879/880/881/882/883/884/885/886/887/888/889/890/891/892/893/894/895/896/897/898/899/900/901/902/903/904/905/906/907/908/909/910/911/912/913/914/915/916/917/918/919/920/921/922/923/924/925/926/927/928/929/930/931/932/933/934/935/936/937/938/939/940/941/942/943/944/945/946/947/948/949/950/951/952/953/954/955/956/957/958/959/960/961/962/963/964/965/966/967/968/969/970/971/972/973/974/975/976/977/978/979/980/981/982/983/984/985/986/987/988/989/990/991/992/993/994/995/996/997/998/999/1000	nd	-3.3	
TFII1	Transcription intermediary factor 1	A106033	-3.2	nd
<i>Proteoglycan</i>				
H2B	Histone H2b	N00088	84.0	nd
H2B11	Histone H2	D64142	-7.9	nd
H2B1	Histone H2a/b	U50079	nd	-3.1
<i>Chaperone</i>				
HSP70	Heat shock protein 70kD	N51757	-4.4	-2.1
<i>Drug/biopharmaceuticals</i>				
CYP15A1	Cytochrome P450 15A1	M10667	nd	-3.8
CYP19	Cytochrome P450 aromatase	D21241	nd	-2.5
<i>Cell cycle control</i>				
CCN2	Cyclin D2	A1091443	nd	-2.2
CENH1	Cyclin H1	N77794	nd	-5.6

(B)

Fig 2. A partial list of genes regulated in ER α -HA by BPA and E2. Cultures were treated with vehicle, BPA (1 μ M), or E2 (10 nM) for 1h prior to the harvesting of RNA and analysis with the O95A probe array. (A) Diagram indicates transcripts exclusively changed by BPA or E2 or common to both ligands. (B) Selected transcripts related to growth and development, which showed a 2-fold or greater change by BPA and/or E2. FC designates the fold change relative to vehicle treated control; nd indicates no difference from control.

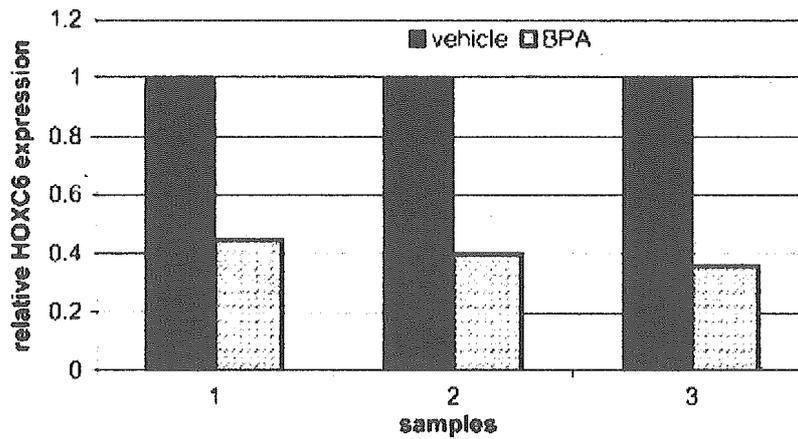


Fig. 3. HOXC6 expression is repressed by BPA. ER α -HA cultures were treated in triplicate with vehicle or 1 μ M BPA for 3 h prior to the harvesting of RNA and analysis with quantitative RT-PCR. Relative expression was compared to controls, which were assigned a value of 1. Each PCR was normalized with a GAPDH internal control as described under Materials and methods.

担当者 井藤 悦朗

著者名: Stroheker T, Picard K, Lhuguenot JC, Canivenc-Lavier MC, Chagnon MC.

論文題名: Steroid activities comparison of natural and food wrap compounds in human breast cancer cell lines.

出典: Food Chem Toxicol. 2004 Jun;42(6):887-97.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、(x) その他 MCF-7 細胞
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、(x) その他 乳がん細胞
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 _____
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 ()
7. 観察された影響の種類と濃度:
(EC50 of E-screen Assay: 410nM)
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。
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:

食品包装材に含まれる化学物質のステロイド様活性を乳がん細胞を使って調べた。エストロゲン受容体に対してはMCF-7、アンドロゲン受容体、グルココルチコイド受容体に対してはMDA-MB453を用いた。

添付資料

特になし。

評価者のコメント:

論文で示されている抗アンドロゲン作用、抗グルココルチコイド作用を評価する方法が妥当なのかどうか評価者には不明である。

担当者 迫田篤信

著者名: Takanashi A, Higashino F, Aoyagi M, Nakata T, Noda M, Shindoh M, Kohgo T, Sano H.

論文題名: Bisphenol A from Dental Polycarbonate Crown Upregulate the Expression of hTERT

出典: J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2004 Oct 15;71(1):214-21.

チェック項目:

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、()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 ()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 ()
7. 観察された影響の種類と濃度:
(人がん細胞を使った転写活性及びヒトテロメラーゼ触媒活性サブユニットの mRNA 発現
1 μ M=0.2 mg/l)
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。
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:

ポリカーボネート製の義歯冠から種々の溶媒に溶出する BPA の量を調べた。水、ヘプタンでは溶出は観察されなかったが酢酸では溶出が認められた。女性ホルモンがヒトテロメラーゼ触媒サブユニット (hTERT) の活性を増加させることを報告したが、BPA の影響については報告がないのでその影響を調べた。BPA は女性ホルモンと同様に hTERT の活性を増加させた。

添付資料

Table 2, Figure 5

評価者のコメント:

エストラジオールは低濃度側は 1 nM の濃度までしかデータが記載されていないが、BPA はエストラジオールの千倍以上の濃度で影響を示しており妥当な結果と思われる。