

基準（案）に基づいた文献評価例

T-35: Rat two-generation reproductive toxicity study of Bisphenol A (Reprod. Toxicol., 15:505-523, 2001)

分類	項目	コメント
研究体制	ガイドライン準拠の有無	農林水産省，OECD および ICH ガイドラインに準拠した標準的な 2 世代繁殖試験が実施されており，調べた指標の科学的妥当性に関する信頼性は高いと思われる。
	GLP 準拠の有無	環境省，厚生労働省および経済産業省の GLP に準拠して試験が実施されており，データの採取や取り扱いについて一定の信頼を与えることができる。
	研究者・技術者の研究実施能力	試験を実施した研究機関にはラットを用いた生殖・発生毒性試験実施の経験が十分あり，動物の取り扱いや得られたデータの精度に関して一定の信頼が置ける。また，論文の責任著者と試験責任者の双方に生殖・発生毒性評価に関する十分な知識と経験があるので，試験結果の解釈についても信頼度が高いと判断される。
	実験規模	一般的なガイドラインの推奨を満たす数の試験群数（対照群と 4 用量の BPA 投与群）と動物数（25/sex/group）が設定されており，結果の再現性は高いと推測される。
	個別別データの入手可能性	試験実施機関から論文著者に個別別データを含む最終報告書が提出されており，必要に応じて開示を要請できると思われる。
研究内容	研究目的	リスク評価に用いることを前提にした危害分析（Hazard identification）を目的とした試験である。
	実験の種類（in vivo/in vitro の区分）	ラットを用いた in vivo 試験である。
	実験条件の設定	外科的な前処置や，BPA 以外の化合物による処置は施されていない。
	ヒトへの外挿性	標準的なガイドラインが推奨する指標を採用しており，これらの指標を採用した根拠に問題はないと判断される。
実験動物の制御	遺伝学的統御（1）	生殖・発生毒性試験で標準的に用いられているストックとは言え，アウトブリード（クローズドコロニー系）の SD ラット（Crj:CD(SD)IGS）が用いられており，一定の遺伝的変異が容認されている。したがって，対照群と投与群との間で遺伝的な偏りに基づく BPA 投与とは無関係な差が生ずる可能性が僅かにあるので，結果の解釈に注意を要する。
	遺伝学的統御（2）	遺伝子操作動物は用いられていない。

	感受性	同じストックの動物を用いた研究で BPA の高用量影響は正しく評価されており, 低用量影響を観察したとの報告もあるので, 用いたラットの感受性に特段の問題はないと推測される。
	反応の均一性	このストックのラットにはブリーダーの生産コロニーに AhR の遺伝的多型が報告されているので (http://www.criver.com/SiteCollectionDocuments/rm_rm_r_Wistar_Han_AhR_Mutation.pdf), 結果の解釈に注意を要する場合がある。
	調べた指標の妥当性	試験を実施した研究機関には正常個体における標準的データが十分に蓄積されており, 実験で得られたデータの解釈が科学的に妥当であるか否かを背景データに基づいて判断し得ると考えられる。
実験環境の制御	飼料の栄養価 (1)	げっ歯目の実験動物を用いて実施される生殖・発生毒性試験用の標準的な保証飼料 (CRF-1) が用いられている。
	飼料の栄養価 (2)	基礎飼料に含まれる栄養成分に植物エストロゲンが豊富に含まれていると推測されるが, これらの成分は分析されていない。
	基礎飼料の汚染 (1)	基礎飼料を化学分析することにより BPA 含量が検出限界値 (0.003 µg/g) 以下であることが確認されており, 対照群の動物に対する BPA 曝露は極めて低い (計算上は 0.2 µg/kg/day 未満) ことが保証されている。
	基礎飼料の汚染 (2)	基礎飼料を汚染する可能性のある BPA 以外のエストロゲン様物質は分析されていない。
	飲料水および溶媒の汚染	基礎飼料と同様に飲料水の分析も実施されており, BPA 含量が検出限界値 (0.03 µg/litter) 以下であることが確認されており, 飲料水を経由した BPA 曝露は無視し得るほど低いと判断される。
	飼育器具の汚染	ステンレススチール製のケージを用いて動物を飼育し, 巣材に含まれる BPA は検出限界値 (0.003 µg/g) 以下であることが化学分析により保証されており, 巣材を経由した BPA 曝露は無視し得るほど低いと判断される。
文献評価	結果の概要	BPA を蒸留水に溶解し, 試験期間を通じて動物に 0, 0.2, 2, 20 または 200 µg/kg の用量を強制経口投与した。BPA のロットおよび入手先は明記されており, 純度と安定性の分析も実施されている。また, 投与液の分析により, 濃度 (目標濃度の 90.0-105.3%) と安定性が確認されている。試験方法について指標ごとに明快な記載があり, 検査日程も明記されている。データ解析に用いた統計学的手法は妥当である。 各投与群における親動物の体重, 体重増加量および摂餌量には, BPA 投与に関連した変化は認められなかった。対照群といずれかの投与群との間でこれらの指標にみられた統計学的有意差はいずれ

		<p>も一過性であり、相互に関連のない変動と判断された。</p> <p>いずれの投与群においても、BPA 投与は動物の繁殖に対して悪影響を及ぼさなかった。正常な性周期を示した雌の割合と妊娠期間について一部の投与群でみられた対照群との差は、世代間における一貫性や用量反応関係を伴うものではなかった。精子検査の結果には、いずれの投与群においても BPA 投与の影響は認められなかった。</p> <p>F1 および F2 児動物の生後発達および性成熟に及ぼす BPA の影響は、いずれの投与群にも認められなかった。一部の指標にみられた対照群といずれかの投与群との間の差は、いずれにも世代間で一定の傾向が認められず、用量反応関係を伴わない変動と判断された。F1 および F2 世代の雌雄で、観察時期により、肛門生殖突起間距離に対照群といずれかの投与群との間に有意な差がみられた。しかし、その差は僅かであり、世代間に一貫性が認められないことから、BPA 投与との関連や毒性学的意義を示すものではなかった。</p> <p>オープンフィールドテストおよび水迷路試験の結果、いずれの投与群の F1 児動物にも BPA 投与の影響は認められなかった（論文中にデータは示されていない）。</p> <p>いずれの投与群においても生殖器を含む臓器の重量に BPA 投与の影響は認められず、BPA 投与に起因する剖検所見や病理組織学的所見は観察されなかった。</p> <p>対照群と各投与群における F0 および F1 世代の雄に、血中ホルモン濃度の差は観察されなかった。F0 世代の雌では LH と T3 濃度に群間で変動がみられたが、明確な用量相関性を欠くものであり、F1 世代の雌にはこのような差が認められなかったことから、BPA 投与に起因したのではなく、毒性学的な意味はないと考えられた（論文中にデータは示されていない）。</p> <p>繁殖毒性試験においては、膣開口日齢の低下、性周期の長期化および子宮重量の増加が、被験物質のエストロゲン様作用を示す鋭敏な指標となる。また、雄における肛門生殖突起間距離の延長が鋭敏な指標になるとの報告もある。しかし、今回の試験では、これらの指標に BPA 投与に関連した変化は認められなかった。</p>
--	--	---

<p>評価の焦点 再現性 最終的な判断(①生殖発生毒性、②発達毒性、③神経毒性、④発がん性について、各々のヒトへの食品健康影響を考えた場合のまとめ)</p>	<p>今回の実験では、基礎飼料、飲料水および巣材の BPA 汚染は無視できるほどに小さいことが化学分析により確認されているものの、飼料に含まれるエストロゲン様物質（栄養素としての植物エストロゲンやノニルフェノールなどのエストロゲン様作用を持つコンタミナント）の濃度は測定されていない。一般に、対照群を含むすべての投与群の動物は投与した BPA より遥かに大量のエストロゲン様物質を摂取していると考えられることから、この実験ではエストロゲン様作用または抗エストロゲン作用に基づく BPA の低用量影響は必ずしも鋭敏に検出できなかった可能性が示唆され、仮に対照群と BPA 投与群との間で何らかの差が検出されたとしても、その原因（BPA 投与の影響と判断するのであればその作用機序）に関する合理的な解釈を得ることが困難であると推測される。しかし、いずれの投与群にも BPA 投与に起因する影響は認められなかったと結論されていることから、実験条件と得られた結果に矛盾はないと判断される。</p> <p>一方、BPA に特有の作用機序に基づく影響があったとすれば、飼料、飲料水および巣材からの BPA 曝露は無視できるほどに小さいことが保証されているので、そのような影響は検出可能であったと考えられ、実験結果に対する信頼性は高いと評価される。したがって、BPA は 200 µg/kg/day 以下の用量でラットの繁殖と児動物の発達に悪影響を及ぼさないとの結論は信頼できる。</p>
<p>FDA による評価の妥当性</p>	<p>GLP 試験として実施されたこと、基礎飼料、飲料水および巣材に含まれる BPA が検出限界以下であったこと、およびステンレススチール製のケージを用いて動物を飼育していることから、FDA はこの試験結果に一定の信頼を与え、調べた用量の BPA は生殖・発生毒性を誘発しないとの結論を紹介している。しかし、原報告書と生データが入手できないため、full review の対象からは除外している。</p> <p>FDA の判断は支持できるが、本ワーキンググループでは原報告書を入手して詳細な評価を実施すべきと考えられる。</p>