

動物（免疫毒性）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	書誌情報	黒田先生コメント	小島先生コメント	評価書 引用
0001	HBGV	免疫毒性	ー	Abnormal differentiation of regulatory T cells and Th17 cells induced by perinatal bisphenol A exposure in female offspring mice	2020	Dong et al.	Mol Cell Toxicol	妊娠 6 日目から授乳終了時（PND21）の母マウスにBPA（0, 0.2ug/mL, 2 ug/mL）を飲水投与。PND50の仔のTh17を解析。 Tregの割合増加（高用量で顕著）、RORgtタンパクレベルで増加、血清IL-17が増加。 Tregの割合減少、FoxP3タンパクレベルで減少、血清TGF-bが減少。 Th17/Tregバランスの崩れが自己免疫疾患の発症リスクを高める可能性示唆。 NOAEL, LOAEL算出不可。0.2でもTh17増加あり。	BPA 2用量（0.2, 2.0 mg/mL）の妊娠C57BL/6マウスを用いた飲水試験（GD6～PND21）。PND50で雌仔のTregとTh17機能に及ぼす胎児・授乳期BPA曝露の影響を検討。脾臓Treg誘導低下と+M4:M6Th17誘導亢進を示し、血清TGF-βの減少や血清IL-17の上昇を認めている。発達初期のBPA曝露は、のちに自己免疫疾患へ移行する可能性を示唆しており、重要な知見と考えられる。ただし3用量以上の設定ではない。	議論
0002	HBGV	免疫毒性	ー	The imbalance of Treg/Th17 cells induced by perinatal bisphenol A exposure is associated with activation of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in male offspring mice	2020	Gao et al.	Food Chem Toxicol	妊娠 6 日目から離乳期（PND21）まで母マウスにBPA（0.2 または 2.0 ug/mL）を飲水投与。一部のオス仔マウスには離乳後も 1 ヶ月間継続投与。 PND51 に卵白アルブミンを腹腔内投与で感作。 オス仔マウスの脾臓においてTh17 細胞数増加とTregの減少。血清中の IL-17 および TNF レベルが上昇。PI3K/Akt/mTOR シグナル伝達経路の活性化。 mTOR 阻害剤により、BPA によるTreg/Th17 バランスが改善。 BPAはPI3K/Akt/mTOR シグナル伝達経路の活性化を通じてTh17/Tregバランスの崩れに関与。 NOAEL, LOAEL算出不可。0.2でもTh17増加あり。	上記論文と同じグループの研究。BPA 2用量（0.2, 2.0 μg/mL）の妊娠C57BL/6マウスを用いた飲水試験（GD6～PND21）。PND21～51は水投与とBPA 0.2 μg/mL継続の 2 群に分け、この期間にOVA腹腔内投与で感作した。PND51で雄仔の血清IL-17, TNF-αの上昇と血清IFN-γの低下を示し、上記論文の雌仔と同様に脾臓Treg誘導低下とTh17誘導亢進を示したが、PND21以降のBPA曝露の影響は認められなかった。このTreg/Th17インバランスにERαを介したPI3k/Akt/mTOR活性化経路の関与を見出している。重要な知見であるが、3用量以上の設定ではない。	議論
0003	HBGV	免疫毒性	ー	Oral administration of bisphenol A directly exacerbates allergic airway inflammation but not allergic skin inflammation in mice	2018	Tajiki-Nishino et al.	Toxicol Sci	マウスをTDIの腹部塗布で感作、3週間後に腹部に追感作。5日後に0.06, 0.2 mg/kgのBPAを 3 日間経口投与。 29日目にTDIを皮膚あるいは気道感作して惹起、アレルギー症状を確認。 アレルギー性皮膚炎は抑制傾向、局所の炎症性サイトカイン低下。 アレルギー性気道炎症は増悪傾向、好酸球、炎症性サイトカイン増加。 上皮系の細胞の関与が示唆される。 LOAELは0.06 mg/kg/day?	Balb/cマウスを用いたTDI誘導アレルギー性炎症モデルに対するBPA 2用量（0.06, 0.2 mg/kg）経口投与の影響を試験した。アレルギー性皮膚炎は高用量で有意な低下を示し、アレルギー性気道炎症は逆に血清IgE上昇とともに肺炎症スコアやリンパ節IL-4の上昇が見られた。BPA曝露は、皮膚炎にほぼ影響を認めないが、気道炎症（喘息）を悪化させることが示され、重要な知見と考えられる。ただし3用量以上の設定ではない。	議論
0004	HBGV	免疫毒性	ー	Gestational and lactational exposure to low-dose bisphenol A increases Th17 cells in mice offspring	2016	Luo et al.	Environ Toxicol Pharmacol	妊娠 0 日（GD0）から離乳日（PND21）まで、ビスフェノール A（BPA：10, 100, 1000 nM）を母マウスに飲水投与。PND21と42のマウスを解析。 Th17 細胞の割合が用量依存的かつ持続的（PND21 および PND42）に増加。雌の仔マウスの方が低濃度（100 nM）から反応、感度高い。 RORγt の発現量が上昇、血清中のIL-17, IL-21, IL-6, TGF-bが上昇。 周産期の BPA 曝露が成長後の自己免疫疾患や炎症性疾患のリスクを高める可能性。 Th17増加のLOAELは10nM（母マウス0.27~0.34 ug/kg/day)	BPA 3用量（10, 100, 1000 nM）の妊娠ICRマウスを用いた飲水試験（GD0～PND21）。PND21と42で血清サイトカインと脾臓Th17誘導能を評価した。血清IL-17, IL-21, IL-6, IL-23は用量依存的に上昇し、雄仔よりも雌仔の影響が強かった。しかし、TGF-βには影響しなかった。発達初期の低用量BPA曝露は、脾臓Th17を誘導し、免疫疾患の形成維持に関与する可能性を示唆しており、重要な知見と考えられる。	議論
0005	HBGV	免疫毒性	ー	Early life exposure to bisphenol A investigated in mouse models of airway allergy, food allergy and oral tolerance	2015	Nygaard et al.	Food Chem Toxicol	母マウス交配期から離乳期までBPA（0, 10, 100 ug/mL）飲水投与。 気道アレルギーはPND4,18にOVA感作、PND25にOVAを点鼻して解析。 食物アレルギーはPND21に寛容のための経口投与、PND28から経口感作。抗原はルービン。 気道アレルギーは100 ug/mLで好酸球数とIgEが増加。 食物アレルギーはBPA曝露群で症状なし。100 ug/mLでアナフィラキシー指標のMMCP-1は減少。IL-13, IL-2, IFN-gの分泌増加。 経口寛容モデルではBPA曝露で寛容の破綻はなし。100 ug/mLでMMCP-1の減少。 NOAEL:気道アレルギー 10 ug/mL, 食物アレルギーで100 ug/mL LOAEL:気道アレルギー 100 ug/mL	BPA 2用量（10, 100 μg/mL）飲水曝露による妊娠Balb/cマウスを用いた気道アレルギー試験とBPA 3用量（1, 10, 100 μg/mL）飲水曝露による妊娠C3Hマウスを用いた食物アレルギー試験（GD0～PND21）。気道アレルギーは高用量のみ亢進し、食物アレルギーやトレランスには影響しなかった。ヒトBPA曝露量レベルでは、胎児・授乳期で曝露されてもアレルギーを悪化させないデータを示しており、重要な知見と考えられる。ただし、気道アレルギー試験が2用量設定であることが気になる。	議論

動物（免疫毒性）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	書誌情報	黒田先生コメント	小島先生コメント	評価書 引用
0060	1	免疫毒性	免疫	The effects of maternal exposure to bisphenol A on allergic lung inflammation into adulthood	2012	Bauer et al.	Toxicol Sci	妊娠(d6)～授乳中(PND21)の母マウスへBPA（0, 0.5, 5, 50, 500 ug/kg/day）を経口投与し、成体となった仔マウス（雌雄）に2通りの方法（粘膜感作／腹腔感作）でアレルギー（OVA）を誘発。 気道・肺の炎症細胞数、組織像、T細胞成分、特異的IgE、および気道高応答性（呼吸機能）。 粘膜感作（メス）：一部高用量群で気道・肺のリンパ球浸潤がわずかに増加。 腹腔感作（メス）：中・低用量群で気道好酸球数や特異的IgEが抑制された。 呼吸機能：呼吸機能は全群で影響なし オス：オスでは影響がほとんどなし 発達期のBPA曝露によるアレルギー性肺炎症への影響は軽微であり、性別や感作経路により応答が異なるものの、成体期のアレルギー性気道機能を悪化させるまでには至らない。 NOAEL：安全性優先なら5 ug/kg/day 評価に使用する論文	BPA 5用量(0, 0.5, 5, 50, 500 mg/kg/day)のC57BL/6妊娠マウスを用いた経口投与試験（GD6～PND21）。雌仔に①LPS+OVA吸入による粘膜感作、②OVA+alum腹腔内感作を行い、OVAエアゾール曝露でアレルギー症状を誘発した。50 ug/kg/day以上曝露の①雌仔で、気道リンパ球増加と肺炎症増強を認め、50 ug/kg/day以下曝露の②雌仔で、気道好酸球増加と特異的IgEは抑制された。雄仔では影響なし。母体のBPA曝露が仔の発達期に軽微なアレルギー影響を与えるが、アレルギーの感作経路や性別に大きく依存することが示された。しかし、胎児・授乳期BPA曝露が成体期のアレルギー発症に関与する確たる証拠は得られなかった。評価値算出の議論に用いるべき論文。	引用
0061	1	免疫毒性	免疫	Impacts of Bisphenol A and Ethinyl Estradiol on Male and Female CD-1 Mouse Spleen	2017	Gear et al.	Sci Rep	CD-1 マウスの成体雄・雌に対し、受精から 12～14 週齢まで BPA（4, 40, 400, 4000, 40000 μg/kg/day）を曝露（混餌投与）した場合の脾臓の組織学的および微細構造の変化を解析。 脾臓の細胞および微細構造に対して用量依存性かつ性差特異的な影響を与え、免疫調節および造血機能における軽微な変化が認められた。 発達期曝露で性特異的な影響を示すが、変化は微細構造レベル（形態的变化）にとどまり、有害作用や機能的な免疫毒性の評価までは行われていない。 評価に使用しない論文	BPA 5用量（4, 40, 400, 4000, 40000 μg/kg/day）のCD-1マウスを用いた混餌投与試験（12～14週齢）。脾臓の組織学的および微細構造の変化を解析し、用量依存性かつ性差特異性を確認している。脾細胞を用いた免疫機能の評価しておらず、どのような免疫毒性に辿り着くかの疑問は残る。組織学的な論文として参考程度にするのが良い。	議論
0062	1	免疫毒性	免疫	CLARITY-BPA: Effects of chronic Bisphenol A exposure on the immune system: Part 1 - Quantification of the relative number and proportion of leukocyte populations in the spleen and thymus	2018	Li et al.	Toxicology	Sprague-Dawleyラットに受胎6日目～PND21まで母体経口投与、その後直に最大1年間（90日、6ヶ月、1年で評価）継続投与。2.5, 25, 250, 2,500, 25,000 ug/kg/day 脾臓および胸腺（PND21のみ）の主要白血球（B/T/NK細胞、顆粒球、単球、マクロファージ、樹状細胞）の細胞数および画分割合。 530項目におよぶ測定のうち、統計的有意差が見られたのはわずか10項目（すべて脾臓、主にマクロファージ・樹状細胞）。これらの変化は軽度～中程度で、用量依存性がなく、一過性（短期間で消失）であった。 BPAの慢性曝露による免疫細胞構成への影響は極めて限定的であり、総合的な免疫能を損なう可能性は低い。本試験における免疫毒性のNOAELは 25,000 ug/kg/day（評価した最高用量）と判断される。 NOAELが高用量だが評価に使用する論文？	BPA 5用量（2.5, 25, 250, 2,500, 25,000 μg/kg/day）の妊娠SDラットを用いた経口投与（GD6～PND21）後、90日、半年、1年間の継続投与。脾細胞による免疫機能検査の530項目のうち10項目で有意差が認められたが、用量依存性や経時的持続性は確認できなかった。影響としては、ほとんどが軽度または最大でも中程度であり、有害性といえる証拠は得られなかった。胎児期～成体1年間を通しての長期曝露試験は貴重であり、最高用量で免疫毒性の影響がほぼ認められていない。	議論
0063	1	免疫毒性	免疫	CLARITY-BPA: Effects of chronic bisphenol A exposure on the immune system: Part 2 - Characterization of lymphoproliferative and immune effector responses by splenic leukocytes	2018	Li et al.	Toxicology	Sprague-Dawleyラットに受胎6日目～PND21まで母体経口投与、その後直に最大1年間（90日、6ヶ月、1年で評価）継続投与。2.5, 25, 250, 2,500, 25,000 ug/kg/day 脾臓細胞を用いた免疫機能（リンパ球増殖、B細胞抗体産生、T/NK/単球/マクロファージ/樹状細胞等の活性化・サブセット解析） 測定した全630項目のうち35項目で統計的差異が認められたが、特定用量のみの観察など多くは散発的であり、用量依存性や経時的持続性は見られなかった。 変化の程度も全体として軽度～中程度であり、有害性とはみなされない。 特徴的变化として、1年齢の雄でPWMおよびLPS刺激に対するリンパ球増殖の増強が見られたが、これはエストロゲン対照群（EE2）でも同様。 BPA長期曝露による免疫系への影響は限定的かつ一過性であり、成人ラットの免疫機能に重大な影響を与える可能性は低い。本試験における免疫毒性のNOAELは 25,000 ug/kg/day（評価した最高用量）と判断される。 NOAELが高用量だが評価に使用する論文？	BPA 5用量（2.5, 25, 250, 2,500, 25,000 μg/kg/day）の妊娠SDラットを用いた経口投与（GD6～PND21）後、90日、半年、1年間の継続投与。脾細胞による免疫機能検査の630項目のうち35項目で有意差が認められたが、散発的であり用量依存性や経時的持続性は確認できなかった。影響としては、ほとんどが軽度～中程度であり、1年齢雄でPWM/LPS応答増強（EE2でも同様）が認められた。しかし、免疫機能の低下・自己免疫誘発などの有害性は示されなかった。「長期・高用量で影響なし」という結果は、免疫毒性の懸念が低いことを示す重要な否定的エビデンスであり、上記論文と同様にNOAEL = 25,000 μg/kg/dayという評価に使用する論文。	議論

動物（免疫毒性）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	書誌情報	黒田先生コメント	小島先生コメント	評価書 引用
0064	1	免疫毒性	免疫	Bisphenol A and phthalates modulate peritoneal macrophage function in female mice involving SYMD2-H3K36 dimethylation	2018	Li et al.	Endocrinology	ヒト曝露レベル相当のBPAが、マウス腹腔マクロファージの炎症応答に及ぼす影響を in vitro/in vivo評価。 ・ in vitro：BPA 2, 20, 200 ng/mL ・ CD1雌マウス経口投与（0.2～200 μ g/kgを1日3回）： 発生期曝露：GD9～PND10の母マウス經由（0.6～600 μ g/kg/day） →仔(PND42)評価 成体曝露：PND42雌に60 μ g/kg/dayで3週間 ・ 想定血中濃度（0.5～10 ng/mL）はヒト日常曝露域を反映。 ・ in vitro：LPS刺激下でIL-6, TNF- α , Ccl2上昇、IL-1b, iNOS低下（不均衡応答）。 ・ 発生期曝露：腹腔マクロファージのTNF- α , IL-1b低下、IL-6上昇。 ・ 成体曝露：TNF- α , IL-6, Ccl2上昇、iNOS, IL-1b低下。 ・ BPAによりスカベンジャー受容体発現・貪食能が低下。 ・ エピジェネティック修飾（H3K36ac上昇、H3K36me2低下）。 ・ メチル化酵素SMYD2抑制によりTNF- α , IL-6上昇、貪食能低下。 ヒト相当量（0.2 μ g/kg/day）でサイトカイン応答変化、2 μ g/kg/dayでSMYD2不活性化・H3K36me2低下に伴うマクロファージ機能異常を誘発。HBGV検討等のサポート論文として活用可能。 サポート評価に使用する論文	CD-1雌マウス腹腔マクロファージの炎症反応に及ぼすBPAの経口投与試験と in vitro 試験。投与試験はGD9～PND10の胎児・授乳期BPA曝露（0.6～600 μ g/kg/day）でPND42から3週間曝露（60 μ g/kg/day）。ヒト日常曝露域を想定しており、マウス血中濃度は0.5～10 ng/mL。特記すべきは、エピジェネティック変化でH3K36ac(上昇)とH3K36me2（低下）を示した。SMYD2（H3K36メチル化酵素）の関与を示唆しており、BPAによりSMYD2活性が抑制され、TNF- α とIL-6上昇、貪食能低下を示した。SMYD2-H3K36me2 軸が BPA の免疫影響の中心的メカニズムと考えられ、サポート評価に使用できる論文。	引用
0065	1	免疫毒性	免疫	Food intolerance at adulthood after perinatal exposure to the endocrine disruptor bisphenol A	2014	Menard et al.	Faseb J	ラット妊娠15日目～授乳期（PND21）、低用量BPA（0.5、5、50 μ g/kg/day）、毎日経口投与。 OVAに対する免疫応答：OVA耐性化（tolerized）または免疫化（immunized）したラットで抗OVA IgGやサイトカイン測定。経口OVAチャレンジ後の大腸炎・免疫反応BPA曝露により、OVA耐性化ラットで抗OVA IgG増加（0.5 μ g/kg/day）。脾臓でのIFN- γ 分泌増加、活性化CD4 T細胞増加（5 μ g/kg/dayのみ評価）。経口OVAチャレンジで大腸炎発症（好中球浸潤、IFN- γ 増加、TGF- β 減少）（5 μ g/kg/dayのみ評価）。BPA曝露は経口免疫寛容（oral tolerance）を破壊し、食物不耐症を誘発。周産期の低用量BPA曝露は新生児の免疫系を脆弱にし、食物不耐症や過敏性反応を引き起こす可能性あり。 LOAELとして0.5 μ g/kg/dayが出せるが、非単調の変化（50 μ g/kg/dayで下がる）。NOAEL不明のため、サポート論文としての扱いが良い サポート評価に使用する論文	ラットに妊娠15日目から授乳期（PND21）まで、低用量BPA（0.5、5、50 μ g/kg/day）を経口投与し、周産期曝露が経口免疫寛容（oral tolerance）に及ぼす影響を検討した。仔ラットをOVA耐性化または免疫化し、抗OVA IgG、脾臓サイトカイン、CD4+T細胞活性化、さらに経口OVA誘発後の腸管炎症を評価した。BPA曝露により、OVA耐性化ラットで抗OVA IgGが0.5 μ g/kg/dayで上昇し、5 μ g/kg/dayでは脾臓のIFN- γ 産生増加と活性化CD4+T細胞の増加が認められた。経口OVA誘発では、5 μ g/kg/day曝露群で大腸炎が発症した。これらの結果は、周産期の低用量BPA曝露が経口免疫寛容を破壊し、食物不耐症様の免疫反応を誘発することを示す。用量反応の結果からはNOAELを設定できないが、LOAELとして0.5 μ g/kg/dayを提示可能である。周産期曝露による新生児免疫系の脆弱化を示す点から、HBGV検討におけるサポート論文として有用。	引用
0066	2	免疫毒性	免疫	Perinatal bisphenol A exposures increase production of pro-inflammatory mediators in bone marrow-derived mast cells of adult mice	2014	O'Brien et al.	J Immunotoxicol	交配して生まれた子供のうちB6遺伝子を持つa/aのマウスのみ使用。 交配2週間前から妊娠期・授乳期を経て、PND21まで母マウスの混餌投与にて曝露（50ng, 50 μ g, 50mg BPA/kg diet）。6ヶ月齢のマウスから骨髓細胞採取、in vitroで肥満細胞に分化・誘導して、IgE交差リンクで刺激し、液性因子を測定。また、エピジェネティクス評価として全DNAメチル化レベル（5-mC濃度）を測定。 周産期のBPA曝露は、直接の曝露終了後も長期にわたり、肥満細胞の炎症性メディエーター産生を高める。さらに、全DNAメチル化レベルの低下が関与している可能性が示唆された。ヒトの日常的な摂取レベルを下回るような低用量（50 ng/kg diet）の曝露であっても、アレルギー性呼吸器疾患の発症・悪化リスクに影響を与える可能性あり。ただし、評価はin vitro誘導型肥満細胞にとどまり、in vivoでの影響は不明。さらにDNAメチル化については全DNAを用いた解析のため、具体的にどの遺伝子に影響しているかは不明。 評価に使用しない論文。	BPA 3用量（50 ng, 50 μ g, 50 mg BPA/kg diet）の母マウスへの混餌投与試験（交配2週間前～妊娠期～授乳期～PND21）。6か月齢で骨髓細胞採取し、in vitroで肥満細胞へ誘導した。IgE交差リンク刺激で液性因子産生を測定し、全DNAメチル化（5-mC）レベルを評価した。肥満細胞の機能変化については、周産期BPA曝露は、曝露終了後も長期にわたり肥満細胞の炎症性メディエーター産生を増強。エピジェネティクス変化は全DNAメチル化レベル（5-mC）の低下が認められ、炎症性表現型の獲得に関与している可能性が示唆。50 ng/kg dietという低用量曝露でもアレルギー性呼吸器疾患の発症・悪化リスクに影響し得る可能性を示唆。「周産期BPA曝露が肥満細胞の炎症性表現型を長期に変化させる可能性」を示す興味深い知見ではあるものの、in vitro誘導細胞のみの評価、全DNAメチル化という粗い解析のため、評価には使用しない論文と考えられる。	×

動物（免疫毒性）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	書誌情報	黒田先生コメント	小島先生コメント	評価書 引用
0067	1	免疫毒性	免疫	The effects of bisphenol A on some plasma cytokine levels and distribution of CD8(+) and CD4(+) T lymphocytes in spleen, ileal Peyer's patch and bronchus associated lymphoid tissue in rats	2018	Ozaydin et al.	Acta Histochem	8週齢の雄性Wistar Albinoラット（40匹）、BPA 5、50、500 ug/kg/day の各用量で8週間経口投与(エタノールに溶解後にトウモロコシ油と混合)。 血漿サイトカイン濃度や、脾臓、回腸パイエル板、気管支関連リンパ組織（BALT）の組織標本にてCD4+およびCD8+ Tリンパ球の分布・細胞数を定量評価。 血漿TNF（全BPA投与群）、IL-4およびIL-6（50および500 ug/kg/day 投与群）の有意な上昇。脾臓（動脈周囲リンパ鞘）および回腸パイエル板（濾胞間領域）において、CD8+ Tリンパ球数の増加とCD4+ Tリンパ球数の減少を検出。 低用量BPAの経口曝露で、血漿サイトカインバランスを前炎症性へ傾かせるとともに、脾臓やパイエル板におけるTリンパ球の分布に変化を及ぼす。自己免疫疾患や免疫不全を引き起こすリスクにつながる可能性が示唆されるが、LOAEL出すとしたら5ug/kg/dayが候補になるかもしれないが、非線形な用量反応であり、反応が有害性なのか軽微な反応なのかの判断難しい。 評価に使用しない論文	8週齢雄性Wistar AlbinoラットにBPA 3用量（5、50、500 μg/kg/day）を8週間経口投与し、血漿サイトカインと脾臓・回腸パイエル板・BALTにおけるCD4+/CD8+T細胞の分布を評価した。BPA曝露により、TNF-a（全用量群）、IL-4およびIL-6（50・500 μg/kg/day）が有意に上昇した。脾臓およびパイエル板では、CD8+T細胞の増加とCD4+T細胞の減少が認められ、T細胞バランスの変化が示唆された。これらの変化は、低用量BPAが前炎症性サイトカインの増加とリンパ組織のT細胞分布変化を誘導する可能性を示すが、用量反応は非線形で、5 μg/kg/dayをLOAELと判断できるかは不確定である。また、変化が有害性が軽微な反応かの判定が難しい。そのため、本研究は正式な評価には使用しない論文と考えられる。	×
0068	3	免疫毒性	免疫	Effects of bisphenol A on inflammation and Th17 cells in adipose tissue of high-fat fed mice[Article in Chinese]	2017	Luo et al.	Wei Sheng Yan Jiu	Th17について書かれているようであるが、中国語なのでさすがに本文はわからない。 評価に使用しない論文	中国語のためコメントは難しい。	×
0069	1	免疫毒性 生殖・発生 毒性	免疫	Prenatal exposure to bisphenol S and bisphenol A differentially affects male reproductive system in the adult offspring	2022	Molangiri et al.	Food Chem Toxicol	生殖毒性の論文？ 免疫毒性の要素がないので、免疫毒性としては評価に使用しない論文。	妊娠期間（GD4–21）にBPA 3用量（0.4、4.0、40.0 μg/kg/day）を経口投与し、90日齢のWistarラット雄仔における精子DNA損傷・メチル化および精巣機能を評価することで、精巣発達への影響を調べた。低用量BPA（0.4 μg/kg）に胎児期曝露した雄仔は、対照群よりもAGDの低下、血中テストステロン濃度の上昇を認め、精巣での核内受容体ARやERRγの減少を認めている。精巣組織学的解析では、精細管間の広い間質ギャップを伴う膜の肥厚、精巣炎症の増加、酸化ストレスの上昇、TIMP-1発現の増加、VCAM-1発現の低下が認められた。BPAはIL-6や切断型カスパーゼの上昇を介してアポトーシスを促進し、精子DNA断片化の増加を引き起こした。胎児期のBPA曝露は、PI3K-AKTシグナルの障害を介して精子運動性を低下させ、仔の精巣におけるTEX11発現を増加させた。胎児期のBPA曝露は、雄性生殖系の発達プログラムを乱すことが示され、BPAは雄の生殖機能に影響を及ぼす強力な内分泌かく乱物質である可能性がある。生殖・発達毒性や内分泌かく乱の評価には使用できる。	議論

- 1：BPAのリスク評価への使用が有用と考えられる文献
- 2：BPAのリスク評価の上で有用性が低いと考えられる文献
- 3：何らかの理由で判断できない文献

確認対象文献リスト（コメント統合表）

動物（発がん性及び乳腺増殖影響）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	雑誌名	渋谷先生コメント	内木先生コメント	評価書 引用
0044	HBGV	発がん性及 び乳腺発達 影響	—	In utero exposure to bisphenol A shifts the window of susceptibility for mammary carcinogenesis in the rat.	2010	Betancourt et al.	Environ Health Perspect	BPAはSigma Chemical Co.より入手。成体の雌雄SDラット（各群30匹以上）を交配させ、妊娠雌はガラス製給水瓶を備えたポリプロピレン製ケージに個別飼育した。雌仔10匹/母動物となるよう間引きを行った。GD 10からGD 21の間、BPAを25 μg/kg体重/日（低用量）または250 μg/kg体重/日（高用量）の用量で、あるいは溶媒（対照群）を強制経口投与した。（サテライト実験として、高用量BPAおよび対照群の曝露実験も実施した。）、雌仔はPND 21で離乳した。PND50±1およびPND100±2に、各処置群n=8を、発情期にある個体を選んで安楽死させ、第4腹側乳腺を迅速に摘出し、イムノブロット解析用に保存し、対側の乳腺は、パラフィン包埋用にホルマリン固定した。 腫瘍発生実験では、各腹から雌の産仔を1匹ずつ選び、PND 50またはPND 100にDMBA（30 mg/kg体重）を1回経口投与した。PND 50には、対照群31匹、BPA低用量群29匹、BPA高用量群33匹の産仔（いずれも異なる腹由来）にDMBAを投与し、PND 100には、対照群30匹とBPA高用量群28匹の産仔にDMBAを投与した。動物は、生後12ヶ月齢に達した時点、または腫瘍量が体重の10%を超えた時点で剖検した。 各処置群につき6～8個の生物学的サンプルを用いてイムノブロット法を実施した。 パラフィン切片について、細胞増殖：Ki-67免疫染色（N=6/群）；アポトーシスアッセイ（N=6/群？）を実施した。 最初の腫瘍が発生するまでの期間、および安楽死させるまでの期間については、Kaplan-Meier法を用いて各群の生存関数を推定し、Wilcoxon log-rank検定および生存回帰分析を用いたパラメトリックな手法により群間比較を行った。腫瘍の多発性については、Cochran-Armitageの傾向検定を用いて解析した。細胞増殖およびアポトーシスに関しては、分割表を作成した。ウェスタンブロットの結果については、2標本F検定を用いて等分散性を検討し、その結果に応じて適切な（等分散または不等分散を仮定した）2標本t検定を用いた。 プロモーション（BPA）投与の後にイニシエーション（DMBA）投与をしているので、プロモーション作用を証明するものではない。発達期のBPA曝露が鼠動物の乳腺上皮細胞に永続的な影響を与えるような効果を及ぼしたものと考えられる。後のDMBA処置により、その細胞がイニシエーションを受けて、不可逆的なプロモーション下で発癌した可能性がある。方法は網羅的でデータに矛盾や齟齬はない。25 μg/kg/日 BPA群のデータは示されていない。採用。	採用： 胎生期BPA曝露後、PND100でDMBAを投与した群において乳腺腫瘍発生率の増加及び潜伏期間の短縮が認められており、乳腺発がん感受性への影響を評価する上で有用と考える。一方、BPA単独の発がん性を示す試験ではなく、陽性となったPND100の発がん試験は250 μg/kg bw/dayの一用量のみであるため、用量反応性の評価には限界がある。	引用
0045	HBGV	発がん性及 び乳腺発達 影響	—	Oral exposure to bisphenol a increases dimethylbenzanthracene-induced mammary cancer in rats.	2009	Jenkins et al.	Environ Health Perspect	雌のSDラットを交配させ、妊娠動物をポリプロピレン製ケージとガラス製給水ボトルで飼育した。産後2日目に、雌を多く残してリッターサイズを調整した。PND 2-20の間、母動物に対して、溶媒またはBPA（Sigma Chemical社）を25 μgもしくは250 μg/kg/日、胃内投与（週5回）した。 生後50日目に、各投与群の各腹から雌仔1匹を選び、DMBA（30 mg/kg体重）を1回胃内投与した。動物は、生後12ヶ月齢に達した時点、または腫瘍量が体重の10%を超えた時点で剖検した。 生後21日齢および50日齢の時点で、同様の処置を受けた各ラットから第4腹部乳腺を採取し、一方の乳腺はイムノブロット用のサンプリング（n = 8/群）、対側の乳腺はホルマリン固定・パラフィン包埋（n = 5/群）を行った。生後50日齢の時点では、すべての雌を発情期に屠殺した。 生後50日齢に、BPA（250 mg/kg）または溶媒を授乳期に曝露された雌の産仔の血清中の17β-エストラジオールおよびプロゲステロン濃度を測定した（n = 8/群）。乳腺上皮の細胞増殖とアポトーシスを調べるため、Ki-67免疫染色とTUNEL染色を実施した（n = 5/群）。蛋白質発現はイムノブロットングで解析した（n = 8/群）。 最初の腫瘍発生までの時間と安楽死までの時間は、Kaplan-Meier法をにより各群の生存関数を推定し、次いでWilcoxon log-rank検定および生存回帰分析を用いて3群間比較を行った。腫瘍多発性データについては、generalized linear modelsを用い、腫瘍出現率に対してgeneralized Poisson regressionを適用して解析した。細胞増殖およびアポトーシスについては、染色細胞対非染色細胞について分割表を作成した。イムノブロットの結果は、2標本F検定を用いて等分散性を検定し、その結果に応じて適切な2標本t検定（等分散または不等分散を仮定）を用いた。 0044文献と同じグループの論文で、BPAの投与期間は0044の論文とは異なるものの、同様な結果が得られ、コメントは基本的に同じ。一方、0044文献ではアポトーシスに変化はなかったが、本実験ではアポトーシス低下。採用。	採用： 授乳期BPA曝露後に雌児DMBA誘発乳腺腫瘍のmultiplicity増加及び潜伏期間短縮が認められており、初期生涯曝露による乳腺発がん感受性への影響を評価する上で有用と考える。複数用量で腫瘍関連指標を評価しており、発がん感受性に関する資料として有用と考える。	引用
0046	HBGV	発がん性及 び乳腺発達 影響	—	Bisphenol A alters the development of the rhesus monkey mammary gland.	2012	Tharp et al.	Proc Natl Acad Sci U S A	妊娠中の成体メスのアカゲザルに対して、体重1kgあたり400 μgの重水素化BPA（CDN Isotopes社製）、または溶媒を、妊娠100日目から165日目まで果物に混入して経口投与した。すべての仔は、出生後1～3日目に剖検を行い、乳腺組織を採取した。母獣の血清サンプルは、経口投与の約4時間後、自然分娩の直前に採取し、抱合型および非抱合型BPAを測定した。 各新生仔の乳腺のうち一方をスライドガラス上でホルマウント標本とし、もう一方を組織学的解析用に処理した。形態計測解析として、末端（terminal ends）、芽（buds）、分岐末端（bifurcating ends）、および分岐点（branching points）の数を定量化するために、ホルマウント標本とした乳腺を用いた。対照群5サンプル、BPA投与群4サンプルの計9サンプルを解析した。組織学的解析用サンプルからパラフィン切片を作製し、免疫組織化学的解析を実施した。 群間の有意差は、平均値の等価性に関するスチューデントのt検定を用いて判定した。 乳腺の形態変化を検討し、BPA曝露群のサルでは乳腺芽の密度が有意に高く、乳腺の全体的な発達も非曝露群のサルと比較して進んでいた。ERの発現には有意差は認められなかった。一方、免疫組織化学的にはkeratin 14, keratin 18, SMA, Erα, Erβ等を染めているが、対照群と比較していない。増殖活性も検討していない。採用。	参考資料： 非ヒト霊長類への経口曝露試験で、母体血中非抱合BPA濃度も実測されており、乳腺発達影響の種差を検討する上では参考となる。一方、対照5例、BPA群4例と例数が極めて少なく一用量のみで、有意差を認めた形態指標も限定的であり、増殖性病変や腫瘍を評価した試験ではないことから、補助的資料としての評価が妥当である。	引用
0047	HBGV	発がん性及 び乳腺発達 影響	—	Effect of prenatal exposure to the endocrine disruptor bisphenol A on mammary gland morphology and gene expression signature.	2008	Moral et al.	J Endocrinol	8週齢の雌性SDラットを飼育・維持した。妊娠雌ラット（各処置群10匹）に対し、GD10-21の期間、BPA 25 mg/kg体重（低用量群）、BPA 250 mg/kg体重（高用量群）、または同量のゴマ油（溶媒対照群）を強制経口投与した。雌ラットは生後21日、35日、50日、および100日の時点で、すべての雌を発情期に屠殺した。第4腹部乳腺を迅速に摘出し、後のマイクロアレイ解析のために凍結保存した。別のラット群からは、ホルマウント標本作製および乳腺分化解析のために乳腺を摘出し、対側の乳腺は細胞増殖解析のためにパラフィン包埋した。各時点および各群において、異なる個体から採取した8～10個の乳腺を使用した。 摘出した乳腺は、ホルマウント標本として形態学的解析に供した。上皮構造（TEB、終末導管（TD）、胞状芽（AB）、およびタイプ1小葉（Lob 1））の総数を測定した。データは、ANOVAおよび両側非対応t検定を用いて解析した。 動物には、安楽死させる2時間前にプロモデオキシウリジン（BrdU）を投与した。腹部乳腺を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋し、切片について、BrdU免疫細胞化学反応を行った。増殖指数は、特定の上皮構造内の陽性細胞の割合として定量的に算出した。各群のデータは、ANOVAおよび非対応t検定を用いて解析した。 マイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルの決定：凍結した腹部乳腺組織からTotal RNAを抽出した。各群の8サンプルをプールし、1群あたり4サンプルに統合した。その後、Agilent製60-merオリゴマイクロアレイを用いて網羅的発現解析を実施した。その後、いくつかの遺伝子を選定し、定量リアルタイムRT-PCRを用いて発現結果の検証を行った。 方法は問題なく、データの出し方に矛盾や齟齬はないが、BPAの入手先が不明。不採用。	非採用： 胎生期BPA曝露後に乳腺構築及び遺伝子発現の変化が報告されているが、明確な過形成・腫瘍等は評価されておらず、BrdUによる細胞増殖にも顕著な変化を認めていない。発がん性又は乳腺増殖影響の主要なリスク評価資料としての有用性は低いと考える。	×

動物（発がん性及び乳腺増殖影響）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	雑誌名	渋谷先生コメント	内木先生コメント	評価書 引用
0048	HBGV	発がん性及 び乳腺発達 影響	—	Low-dose bisphenol a in a rat model of endometrial cancer: A clarity-bpa study	2020	Leung et al.	Environ Health Perspect	本研究は、CLARITY-BPAコンソーシアムの助成対象研究の一つである。 BPA [TCI America社製] を、SDラットに対し、GD 6から分娩開始時まででは経口ゾンデにより投与し、その後、出生仔に対してはPND 1から、PND 21、PND 90、またはPND 365まで経口ゾンデにより投与した。 BPAの投与量は、2.5、25、250、2,500、および25,000 μg/kg体重/日とした。各評価項目の解析には、10腹からそれぞれ1匹ずつ、計10匹の子ラットを使用した。対照群（CTL）として媒体を投与する群を設け、陽性対照としてEE2を0.05および0.5 μg/kg体重/日の用量で投与する群を含めた。 各子宮の重量を測定した後、試料をサンプリングした。PND 90またはPND 365に達した時点で、発情期にある個体からのみ子宮を採取した。連日の観察において5日目までに子宮を摘出した。 組織学的解析およびIHC解析： H&E染色は、3つの時点（生後21日、90日、365日）の切片に対して実施した。同様に免疫組織化学（IHC）解析を行った。TUNEL法を用いてアポトーシス細胞の染色も行った。 全ゲノムRNA-Seq解析：発情期にある1歳齢ラットから採取し急速凍結した子宮サンプル（各群n=4）を、ゲノムワイドなRNA-Seqプロファイリングの対象として選定した。 統計解析：バイオマーカーと治療群との関連は、分散分析（ANOVA）モデルに基づくF検定を用いて評価した。ANOVAモデルの下で群間の平均値を事後比較し、ボンフェローニ法を用いて多重比較の補正を行った。二値またはカテゴリ型のバイオマーカーについては、フィッシャーの正確確率検定を用いて群効果との関連を評価した。また、ボンフェローニ法による多重比較の補正を行った上で、治療群間の頻度を比較する際にも同様にフィッシャーの正確確率検定を用いた。 子宮内膜の増殖活性やアポトーシスには変化がみられない。扁平上皮化生の発生頻度に用量依存性はないが、網羅的遺伝子発現プロファイルは貴重なデータ。方法、結果共に齟齬はない。採用。	採用： GD6からPND365まで複数用量のBPAを曝露し、子宮内膜の病理組織学的変化を経時的に評価しており、BPA群では明確な増殖性病変や腫瘍形成を認めておらず、陰性データとしてリスク評価上有用と考える。一方、観察期間は1年間、各群約10匹であり、長期発がん性の評価としては限定的である。	引用
0049	HBGV	発がん性及 び乳腺発達 影響	—	Low-dose effects of bisphenol A on mammary gland development in rats	2016	Mandrup et al.	Andrology	ビスフェノールA（純度99%以上、Sigma-Aldrich社）を用いた。 交配済み雌Wistarラット、計110匹を5つの群（各群n = 22）に割り当て、ポリスルホン製ケージで飼育し、床敷きにはアスペン材チップとした。母動物には、GD 7から出産予定日（GD 21）の前日まで、および出産翌日からPND 22まで、BPAを0、0.025、0.25、5、または50 mg/kg体重/日の用量で経口投与した。 乳腺解析のため、児動物をPND 22、約PND 100、および約PND 400の時点で安楽死させた。各時点において、1腹あたり雌雄各1匹の児動物を剖検に供した。PND 22には、第4乳腺のホルマウントを作製した。成獣については、雄はPND 90–115、雌はPND 100（104–129）およびPND 400（398–416）の時点で安楽死させた。PND 400では雄の安楽死は行わなかった。成獣においては、組織学的検査のために、隣接リンパ節を含む第4乳腺を採取し、組織学的に検査した。PD 400では、下垂体も検査した。安楽死時の発情周期を評価した。 乳腺のホルマウント標本は、雌ではn = 13～17/群、雄ではn = 13～19/群について、伸展、縦方向の伸展、横方向の伸展、リンパ節までの距離および第5乳腺までの距離、ゾーンCにおける末端終末芽の数、ならびに密度を評価した。下垂体と乳腺のH&E染色標本を作製して組織学的検査を実施した。 統計解析として、連続データについては、体重を共変量としたANOVAを用いて解析し、Dunnett検定を行った。統計解析の検出力を高めるため、体重を共変量とし、性別およびlitterをランダム要因としたANOVAを用いて解析した。非単調な用量反応関係の検討は、LSMeansに対するTukey検定を行った。 計数データおよび多段階スコアデータについては、Dunn事後検定を伴うノンパラメトリック検定を用いて解析した。組織学的スコアデータ、フィッシャーの正確確率検定またはカイ二乗検定を用いて解析した。 用量非依存的な反応を認めるものの、データの出し方は問題ない。採用。	非採用： 多用量の周産期曝露試験で、雌雄の乳腺を複数時点で評価している。PD400雌では0.25 mg/kg bw/day群でextensive intraductal hyperplasiaが有意に増加したが、低用量群にも病変を認め、高用量群では増加せず、明確な用量反応関係を示さない。PD22雄の最低用量における乳腺発達所見もoverall ANOVAでは有意でなく、定量的なリスク評価やNOAEL/POD設定への利用には限界がある。	議論
0208	2	発がん及び 乳腺増殖影 響	発がん(乳 がん)	Chronic oral exposure to Bisphenol a results in a nonmonotonic dose response in mammary carcinogenesis and metastasis in mmtv-erb2 mice	2011	Jenkins et al.	Environ Health Perspect	BPAはSigma Chemical Companyから購入した。 マウス乳腺腫瘍ウイルス（MMTV）-erbB2/neuトランスジェニックマウス [FVB/N-TgN(MMTV-neu202Mul)] のコロニーを用いた。プロゲステロンおよび妊娠がMMTVプロモーターを活性化させることが報告されているため、未交配の雌マウスのみが使用された。動物はポリプロピレン製ケージで飼育し、ガラス製給水ボトルで水を提供した。 雌のMMTV-erbB2マウスに対し、生後56日から生涯（生後252日）にわたり、BPAを飲水投与した。BPA用量は、0（対照群:94匹）、2.5（BPA2.5群:38匹）、25（BPA25群:76匹）、250（BPA250群:37匹）、および2,500（BPA2500群:36匹）μg/Lとした。 マウスは、生後252日齢時、または腫瘍が体重の10%を超えた時点で安楽死させ、すべての腫瘍、肉眼的な病変、および肺の切片を採取し、パラフィン包埋した。 メカニズム解析のために、生後112日齢を選定し、第4腹側乳腺を採取した。組織切片のKi-67染色を実施した。アポトーシス指数は、TUNELアッセイにより計数した。個々の乳腺について、細胞増殖とアポトーシスの比率を算出した。イムノプロットिंगも実施した。 腫瘍発生までの期間（腫瘍潜伏期間）の評価は、既報（Betancourt et al. 2010）の方法に従って行った。腫瘍多発性についてはCochran-Armitage検定を用いて解析した。肺転移の発生率についてはFisherの正確確率検定を用いて比較した。正規分布に従うデータについては、分散分析（ANOVA）を行い、続いてBonferroni法による多重比較検定を行った。正規分布に従わないデータについては、Kruskal-Wallis検定を行い、続いてDunn法による多重比較検定を行った。 用量依存性のない反応は、増殖活性とアポトーシスのバランスの用量依存的なシフトによるものと思われる。方法やデータに齟齬はない。採用。	非採用： 低用量BPA曝露により乳腺腫瘍のmultiplicity増加、潜伏期間短縮及び肺転移増加が認められているが、これらの影響は低用量群に限られ、高用量群では認められず、明確な用量反応関係を示していない。このため、BPAの定量的なリスク評価に用いるには限界があると考える。	議論
0209	2	発がん及び 乳腺増殖影 響	発がん(乳 がん)	Gestational high-fat diet and bisphenol A exposure heightens mammary cancer risk	2017	Leung et al.	Endocr Relat Cancer	雌性SDラット（7～9週齢）を6群（各群n = 11）に割り当て、実験食曝露を開始してから2週間後、交配させた。交配および妊娠期間中、母動物には、BPA（Sigma-Aldrich社製）を、0、2.5、25、250、または2500 μg/kg 体重/日の用量で混餌投与した。PND 50に、各群の各腹から雌児動物を1匹ずつ選び、DMBAを単回経口投与した。すべての児動物は、PND 140時点、または腫瘍の重量が総体重の10%を超えた時点で安楽死させた。PND 21およびPND 50に各種の血清ホルモンを測定した。 形態学的解析を行うため、PND 21の雌仔から採取した第4腹部乳腺のホルマウント標本を作製し、実体顕微鏡下で末端終末芽（TEB）の総数を評価した。 BPAの0ないし25 μg/kg体重/日群の雌児動物（各群5腹、1腹につき1匹）のPND 21 乳腺をレーザーキャプチャーマイクロダイセクションにより採取し、RNA-seq解析、発現変動を示した代表的な遺伝子のリアルタイムPCR（qPCR）による検証解析を行った。 雌の産仔（各群4～6腹、1腹につき1匹の産仔を使用）のPND21の乳腺切片を用い、バイサルファイトシーケンシング解析を行った。 The Cancer Genome Atlas (TCGA) の乳がん検体に関するRNA-seq解析データ（RNA-seqV2）および患者の臨床データを用いて、生存期間解析を実施した。 遺伝子発現解析およびバイサルファイトシーケンシング解析は、Studentのt検定および事後検定としてのMann-Whitney検定を用いて解析した。バイサルファイトシーケンシングのデータはメチル化率（%）として表し、two-way ANOVAおよびBonferroniの事後検定を用いて解析した。 連続数値データについてMann-Whitney検定ができるのかが疑問。バイサルファイトシーケンシングデータを何に関してtwo-way ANOVA解析したのかが不明。他のデータの解析方法は記載されていないが、TEB数に関してもtwo-way ANOVA解析を実施している点に疑問がある。よって、統計解析方法に疑問があるため、不採用。	非採用： 胎生期BPA曝露後のDMBA誘発乳腺腫瘍について、25 μg/kg bw/day群で腫瘍発生率の増加及びtumor-free survivalの短縮が認められている。一方、複数用量を設定しているにもかかわらず、腫瘍発生率の有意な増加は25 μg/kg bw/day群に限られ、明確な用量反応関係を認めないことから、リスク評価上の有用性は低いと考える。	×

動物（発がん性及び乳腺増殖影響）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	雑誌名	渋谷先生コメント	内木先生コメント	評価書 引用
0210	1	発がん及び 乳腺増殖影 響	発がん(肝 がん)	Dose-Dependent incidence of hepatic tumors in adult mice following perinatal exposure to Bisphenol A	2014	Weinhouse et al.	Environ Health Perspect	6週齢の未経産野生型（a/a）雌マウスに、4段階の用量（0、50 ng、50 μg、または50 mg/kg飼料：体重1kgあたり0、10 ng、10 μg、10 mg相当）のいずれかのBPA添加飼料を摂取させた。BPAはNTPから入手した。動物はポリカーボネート不使用のケージで飼育し、飼料およびBPAを含まない水を自由に摂取させた。所定のBPA含有食を2週間摂取させた後、Avy/a雄と同居させ、0.5～5日以内に受胎させた。この交配により、約50%の野生型（a/a）産仔と約50%のヘテロ接合体（Avy/a）産仔が得られた。すべての産仔は、離乳（PND 22）まで母親（各BPA含有食の摂取を継続）と共に飼育された。その後、野生型（a/a）マウスの一部は、同性のAvy/a同胞と飼育され、生後10ヶ月齢までフィトエストロゲンを含まない標準対照食を与えられた。 このサブセットには、各BPA含有食群の同腹仔から、雄1匹および雌1匹ずつが選定された：対照群（雄10匹、雌9匹）、50 ng/kg群（雄10匹、雌10匹）、50 μg/kg群（雄10匹、雌11匹）、および50 mg/kg群（雄9匹、雌9匹）。 本研究では、この野生型動物のサブセットにおけるBPA曝露と肝腫瘍発生率との関連を解析した。 マウスが10ヶ月齢に達した時点で肝臓組織の病理評価を実施した。 細菌およびウイルスのスクリーニング：10ヶ月齢の4匹およびPND 22の4匹の肝臓組織について、PCR法を用いてHelicobacter hepaticus、Helicobacter mastomyrinusへの感染の有無を調べた。また、監視用動物に対し、マウス肝炎ウイルス（MHV）の血清学的検査も実施した。 BPA曝露量と15種類の肝病変との関連性について、NTP（1982）の解析手法との比較可能性を考慮し、正確確率検定および回帰分析を用いて評価した。投与量群と病変発生率との関連性にはFisherの正確確率検定、投与量に伴う傾向にはCochran–Armitageの傾向性正確確率検定を用いた。また、ロジスティック回帰分析では一般化推定方程式（GEE）を用いて同腹仔内のクラスターリングを調整し、要約スコアには同腹仔によるクラスターリングを調整したポアソン回帰分析を適用した。 本研究はよく計画されており、方法は網羅的でデータに矛盾や齟齬はない。採用。	採用： 妊娠・授乳期の母獣食餌にBPA 0、50 ng、50 μg、50 mg/kg dietを添加し、児を10か月齢まで追跡。各腹から概ね雌雄各1匹を用いた。母獣摂取量から推定した曝露量は0、10 ng、10 μg、10 mg/kg bw/day。肝細胞腺腫、肝細胞癌、前腫瘍性病変をblindのboard-certified veterinary pathologistがINHAND基準で評価し、腫瘍性病変には有意なdose trendを認めた。影響は主として最高用量群で強かった。周産期BPA曝露のみで肝腫瘍を評価しており、発がん性評価上有用と考える。	引用

1：BPAのリスク評価への使用が有用と考えられる文献
2：BPAのリスク評価の上で有用性が低いと考えられる文献
3：何らかの理由で判断できない文献

確認対象文献リスト（コメント統合表）

動物（遺伝毒性）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	雑誌名	増村先生コメント	渡辺先生コメント	評価書 引用
0211	2	遺伝毒性	遺伝毒性	Genotoxic effects of bisphenol A on somatic cells of female mice, alone and in combination with X-rays	2013	Gajowik et al.	Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen	> 方法 使用動物が一般的な系統でない（Pzh:Sfis outbreed laboratory female mice）。7週齢、1群6～9匹。 BPA（媒体は水、毎週調製）を5, 10, or 20 mg/kg bwの用量で2週間飲水投与。陽性対照群の設定なし。 X線（5 day/week）との複合曝露群あり(0.05 Gy + 5 mg/kg bw, 0.10 Gy + 10 mg/kg bw BPA)。 投与1週後と2週後（最終投与24h後）に末梢血小核試験。投与2週後（最終投与24h後）に解剖して骨髓小核試験とコメット試験。 > 結果 コメット試験では肝臓、腎臓、脾臓、骨髓で陰性。肺のみ有意な増加（5, 10 mg/kg投与群で陰性対照群と比べて有意な増加、ただし20 mg/kgでは有意差なく用量依存性不明確）。 末梢血小核試験は投与1週後は陰性、2週後は10, 20 mg/kgで有意な増加（ただし陰性対照群のSDが小さい影響の可能性も）。骨髓小核試験は2週後で陰性。 複合曝露の影響は明らかでない。 > 採否 コメット試験は一部の臓器（肺）と用量群でDNA損傷を示唆する有意な増加があるものの用量依存性不明確。小核試験は抹消血と骨髓で結果が一致せず。明らかな遺伝毒性を示唆するものでないと考えます。 評価書に採用しなくてよいと考えます。	> 方法 Pzh:Sfis outbreed laboratory female mice, 8 weeks old、1群6～9匹 BPA:5, 10, or 20 mg/kg bw/day, 2週間飲水投与 X線（5回／週）との複合曝露群あり（0.05 Gy／回 + 5 mg/kg bw/day, 0.10 Gy／回 + 10 mg/kg bw/day BPA） > 結果 コメット試験：肺のみ5-10mg/kg で用量依存的にtail moment の増加が観察されたが、X線との複合曝露では観察されなかった。腎臓、脾臓、骨髓、肝臓では陰性であった。 末梢血小核試験：途中採血（1週後）では陰性、2週後では10mg/kg 以上で有意な増加がみられるが、control のSDが小さい影響が推察される。複合曝露では1週、2週の結果が逆転している。 骨髓小核試験：陰性 > 採否 骨髓小核試験が陰性、他の陽性結果は複合曝露と整合性がない。仮に陽性としても、X線の作用との相加性がなく、これまで知られている酸化ストレスによるDNA鎖切断・染色体異常誘発性という評価を超えるものではない。 要議論と致します。	議論
0212	2	遺伝毒性	遺伝毒性	Genotoxic and infertility effects of bisphenol a on wistar albino rats	2016	Srivastava and Gupta	Int J Pharm Sci Rev Res	> 方法 male wistar albino rats（3 months old）にBPA (5 μg, 50 μg and 100 μg/100g bw)（媒体はolive oil）を90日間強制経口投与。各群10匹。vitamin E同時投与群あり（4mg/100g/bw、媒体はolive oil）。 Day91に解剖、骨髓小核試験を実施。個体あたりのカウント細胞数不明。陽性対照群はmitomycin C (3 μg/gram body weight)を解剖49h前に投与。 > 結果 BPA用量依存的に精巢のタンパク量の有意な低下およびLDH（androgen sensitive biochemical marker lactate dehydrogenase）活性レベルの有意な増加あり、vitamin E同時投与で影響低減傾向。骨髓小核誘発はBPA投与群で用量依存的にMNPCE増加傾向、vitamin E同時投与群で影響低減傾向、いずれも有意差の有無の記載なし。（論文には群合計データのみで個体平均やSDのデータなし。）陽性対照群は有意な増加。 > 採否 骨髓小核試験の投与群でMNPCE増加傾向見られるが統計学的有意差の記載なし。vitamin E同時投与群で影響低減傾向は酸化ストレス関与の可能性を示唆。 評価書に採用しなくてよいと考えます。	> 方法 male wistar albino rats,3 month old、1群10匹 BPA:0.05, 0.5, or 1 mg/kg bw/day, 90日間経口投与（olive oil） vitamin E（40 mg/kg bw/day）との同時投与群あり > 結果 骨髓小核試験において、用量依存的な増加の傾向があるが、その差は大きくなく、有意であるか否かも不明である。さらに、数値が個体、群のいずれを表すのかなど、基本的な記載がない。なおvitamin E 同時投与により増加の傾向はなくなるが、これもvitamin E による有意な変化か否か不明。加えてprotein とLDH 含めてデータの信頼性に疑問がある。 > 採否 記載不十分であり、不採用と考えます。	×

- 1：BPAのリスク評価への使用が有用と考えられる文献
- 2：BPAのリスク評価の上で有用性が低いと考えられる文献
- 3：何らかの理由で判断できない文献

確認対象文献リスト（コメント統合表）

動物（一般毒性）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	雑誌名	小野先生コメント	石井先生コメント	評価書 引用
0055	1	一般毒性	一般毒性, 多臓器	Analysis of Blood Biochemistry and Pituitary-Gonadal Histology after Chronic Exposure to Bisphenol-A of Mice	2022	Molina-López et al.	Int J Environ Res Public Health	一般毒性としては、いずれも不採用： 0055では低血糖、0056では高血糖を報告、その他、脂質関連のパラメータの非単調な用量反応変化を報告しているが、採血時の絶食の有無が記載されていない。0056では他の研究者がfasting blood glucoseに影響が認められなかったことを引用しており、これらの試験では絶食しておらず、認められた変化は採血直前の食事の影響によると考えられる。肝臓や腎臓への影響が示唆されたと書いてあるが病理検査は実施していない。	不採用：雌雄のC57BL/6マウスに低用量BPAを52週間飲水投与した試験。BPAの入手先のみ（製品番号、Lot.及び純度なし）。血液生化学検査の結果について雌雄が示されていない、又は雌雄混合。血清生化学検査の結果から肝・腎への影響が示唆されているが、病理組織学的検査は下垂体、精巣、卵巣に限定されており、毒性学的意義の判断には限界がある。そのため、一般毒性評価としての有用性は低いと考えられる。	×
0056	2	一般毒性 生殖・発生 毒性	一般毒性 (繁殖、生 化)	Analysis of Indirect Biomarkers of Effect after Exposure to Low Doses of Bisphenol A in a Study of Successive Generations of Mice	2022	Bujalance-Reyes et al.	Animals (Basel)	0056は3世代試験であることから生殖発生への影響についてはご担当の先生の判断にお任せします。	不採用：BPAの低用量飲水投与による多世代影響を検討した研究。BPAの純度の記載なし。発情周期の長さ、産仔数、離乳期生存率といった生殖指標に変化なし。動物数について8週齢のC57BL/6JRjを24匹を6群に配しており、F0は繁殖ペア数が極端に少ない。生殖指標には明確な影響が認められず、血液生化学値の一部に変化が認められているものの、関連臓器の病理組織学的評価も行われていない。これらの変化について毒性学的意義の判断には限界があることから、一般毒性評価での有用性は低いと考えられる。	×
0057	2	一般毒性	一般毒性 (唾液腺への影響)	Oral Homeostasis Disruption by Medical Plasticizer Component Bisphenol A in Adult Male Rats	2013	Folia et al.	Laryngoscope	条件付き採用： 顎下腺（腺細胞）の肥大 (5 µg/kgの低用量から有意)、塩分嗜好性の増大 (高用量)を報告している。齧歯類において、エストロゲンへの慢性的な曝露は塩分嗜好性を高めることが知られており、ラットで見られた結果をヒトで検証するにはさらなる研究が必要であると明記されていることから、疫学研究で関連する作用が報告されている場合は採用。	不採用：雄性ラットにBPAを6週間飲水投与した試験。各群12匹を設け、BPAを含まないポリプロピレンケージ・飲水ボトルとphytoestrogen-free dietを使用。顎下腺および口腔粘膜の病理組織学評価及び計測が実施されている。BPAによる顎下腺への生物学的影響を示す所見と考えられるが、毒性学的意義は不明。一般毒性評価での有用性は低いと考えられる。	議論
0058	3	一般毒性	一般毒性 (主に肝臓)	Low-Dose Bisphenol A Increases Bile Duct Proliferation in Juvenile Rats: A Possible Evidence for Risk of Liver Cancer in the Exposed Population?	2017	Jeong et al.	Biomol Ther	採用： 幼若ラットにおける胆管の増殖（過形成）・炎症 (雄: 0.5 mg/kg以上の全群)を報告	採用：幼弱ラットにBPAを13週間反復投与した試験。被検物質の純度不明。4用量について一般毒性評価、病理組織学的検索及びTKが実施されているが、病理組織学的検査は肝臓のみと思われる。肝臓では投与群における変異肝細胞、胆管過形成、炎症細胞浸潤の増加が報告されているが、病理検査は各群5例。肝毒性を示す毒性情報としては有用と考えられる。	引用
0059	3	一般毒性	一般毒性 (用量反応 性解析)	CLARITY-BPA Core Study: analysis for non-monotonic dose-responses and biological relevance	2019	Badding et al.	Food Chem Toxicol	採用： FDA、NTP、NIEHSが共同で実施したガイドラインに準拠した大規模研究（CLARITY-BPA）の再解析により、CLARITY-BPAコアスタディのデータにおけるビスフェノールA（BPA）曝露と非単調な用量反応（NMDR）の関連性について証拠は極めて限定的と結論 基準を満たした2項目についても、生物学的観点およびデータ精度の観点から偶発的または見せかけの所見と判断 非単調な用量反応（NMDR）を否定する論文として採用	要議論：CLARITY-BPA Core Studyで有意な変化を示した81項目について、non-monotonic dose responsesの妥当性について再解析した研究。NMDRを支持する所見は2項目で、いずれも毒性学的意義は不明。	議論

- 1：BPAのリスク評価への使用が有用と考えられる文献
- 2：BPAのリスク評価の上で有用性が低いと考えられる文献
- 3：何らかの理由で判断できない文献

確認対象文献リスト（コメント統合表）

動物（心毒性）

通し 番号	文献 ランク	エンド ポイント	分野	タイトル	発行年	著者名	雑誌名	小野先生コメント	石井先生コメント	評価書 引用
0202	1	心毒性	心血管	Bisphenol A Alters Autonomic Tone and Extracellular Matrix Structure and Induces Sex-Specific Effects on Cardiovascular Function in Male and Female CD-1 Mice	2015	Belcher et al.	Endocrinology	不採用： 測定対象として同腹児の平均体重に最も近い個体を意図的に選択しており、これがデータのばらつきを抑える一方で、体重変化の検出においてバイアスや偽陽性を生んでいる可能性があると著者自身が認めている。	採用：雌雄のCD-1マウスにBPAを発生期から混餌投与し、心血管機能及び心臓の病理組織学的変化を評価した試験。BPAの純度は過去の試験を引用しており、引用文献にはUSEPA/NIEHS standard、Lot 11909が記載されている。雄で心拍数・血圧低下、心重量、心筋コラーゲンの増加等が認められた。心毒性を示す毒性情報としては有用と考えられる。	議論
0203	1	心毒性	心臓	Bisphenol A, an environmental estrogen-like toxic chemical, induces cardiac fibrosis by activating the ERK1/2 pathway	2016	Hu et al.	Toxicol Lett	不採用： 雄のみ。影響が認められた用量は高用量（20mg/kg/day以上）。メカニズムの検証はin vitroのみ。	採用：雄性SDラットにBPAを30日間反復投与し、心機能及び心臓の病理組織学的変化を評価した試験。BPAの入手先は記載されているが純度・Lotの記載なし。4～6匹/群。心筋線維化と心機能低下が認められた。In vitroで心線維芽細胞の増殖及びcollagen産生に関する機序を検討。心毒性を示す毒性情報としては有用と考えられる。	議論
0204	2	心毒性	心血管	Low-dose exposure to bisphenol A in combination with fructose increases expression of genes regulating angiogenesis and vascular tone in juvenile Fischer 344 rat cardiac tissue	2017	Klint et al.	Ups J Med Sci	不採用： 雌のみ。果糖（5%果糖）との併用曝露であるため、BPAのみの影響を評価できない。	不採用：雌性F344ラットにBPAを10週間飲水投与し、心臓における遺伝子発現への影響を検討した試験。BPA投与群はすべてフルクトースとの併用投与。血管新生や血管緊張を制御する遺伝子の発現が増加した。動物実験は12匹/群だが、遺伝子発現解析は4匹/群で実施。データは遺伝子発現変化のみであり、心毒性評価での有用性は低いと考えられる。	×
0205	1	心毒性	心血管	Oral administration of bisphenol A induces high blood pressure through angiotensin II/CaMKII-dependent uncoupling of eNOS	2014	Saura et al.	Faseb J	条件付き採用： 疫学研究によってBPAと心血管疾患（高血圧を含む）の関連が報告されていると著者らは述べており、その分子メカニズムを提示する報告である。疫学で関連する報告があれば採用してもよい。	不採用：8週齢のCD-1マウスにBPAを30日間飲水投与し、血圧、血管内皮機能への影響を評価した試験。性不明。BPAの入手先は記載されているが純度・Lotの記載なし。BPAによる血圧上昇とその機序について示されており心毒性を示す毒性情報としては有用と考えられるが、用量は飲水中濃度で示されており、飲水量は5 mL/匹/日と仮定されていることから、実際の飲水量およびBPA摂取量は確認できない。	議論
0206	1	心毒性	心臓	BPA Alters Estrogen Receptor Expression in the Heart After Viral Infection Activating Cardiac Mast Cells and T Cells Leading to Perimyocarditis and Fibrosis	2019	Bruno et al.	Front Endocrinol	不採用： 雌のみ。BPAがウイルス性心筋炎を悪化させることを示したと述べている。実験に使用したプラスチックケージや給水ボトルからBPAが溶出しており、「BPA 0」と設定した対照群が実際にはゼロではなかった可能性が示されている。	不採用：6週齢の雌性BALB/cマウスにBPAを飲水投与し、2週間後にCVB3を感染させ自己免疫性心筋炎へのBPAの影響を評価した試験。BPAの入手先、純度不明。BPA曝露により心膜炎及び線維化の悪化が認められている。用量は飲水中濃度で示されており、飲水量は4 mL/匹/日と仮定されていること、使用したケージや給水ボトルからのBPA曝露が確認されていることから、実際のBPA摂取量は不明。	×
0207	1	心毒性	心臓	Effects of bisphenol A on incidence and severity of cardiac lesions in the NCTR-Sprague-Dawley rat: A CLARITY-BPA study.	2017	Gear et al.	Toxicol Lett	不採用： 雌で進行性心筋症（PCM）の発症率・重症度の増加を報告しているが、使用したラットの系統（NCTR-SD）において、対照群でも60～90%という非常に高い確率でPCMが自然発生しており、BPAによる影響と判断できない。また、評価項目が死後の形態計測（心臓重量や壁の厚さ）に限られている。	不採用：CLARITY-BPA試験の雌雄ラットについて、心重量、左室壁厚、線維化及び心筋病変を評価した試験。BPAの入手先・純度の記載あり。心肥大及び線維化に明らかな影響なし。	×

- 1：BPAのリスク評価への使用が有用と考えられる文献
- 2：BPAのリスク評価の上で有用性が低いと考えられる文献
- 3：何らかの理由で判断できない文献