

ビスフェノール A を対象としてこれまでに実施した第1段階生物試験結果及び化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価結果



## 第1段階生物試験の実施結果について（案）

### 1. 平成27年度に実施した試験結果について

試験管内試験の結果等から第1段階生物試験を実施する優先順位が高いと考えられた1物質（ビスフェノールA）について、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(修正 TG229)を実施した（試験法の概要についてはp 2 参照）。

#### （1）ビスフェノールAの試験結果

0.155、0.826、4.67mg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、全長、体重、二次性徴、生殖腺体指数、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度、雌の肝臓体指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

なお、4.67mg/Lのばく露群の雌の結果については、生存個体が1水槽のみにいたため、統計学的な有意差検定ができなかった。統計学的な有意差は検定できなかったが、雌の全長、体重、生殖腺体指数は低値であり、肝臓体指数、肝臓中ビテロゲニン濃度は高値であった。

雄の肝臓中ビテロゲニン濃度は、4.67mg/Lのばく露群において、統計学的に有意な高値が認められた。

4.67mg/Lのばく露群において死亡率、雄の肝臓体指数の統計学的に有意な高値及び総産卵数、受精率の統計学的に有意な低値が認められた。

### 2. 試験結果のまとめ

#### （1）ビスフェノールA

4.67mg/Lのばく露群において死亡率の統計学的に有意な高値及び総産卵数、受精率の統計学的に有意な低値が認められたことから、メダカの生殖に対する有害性を示すことが示唆された。

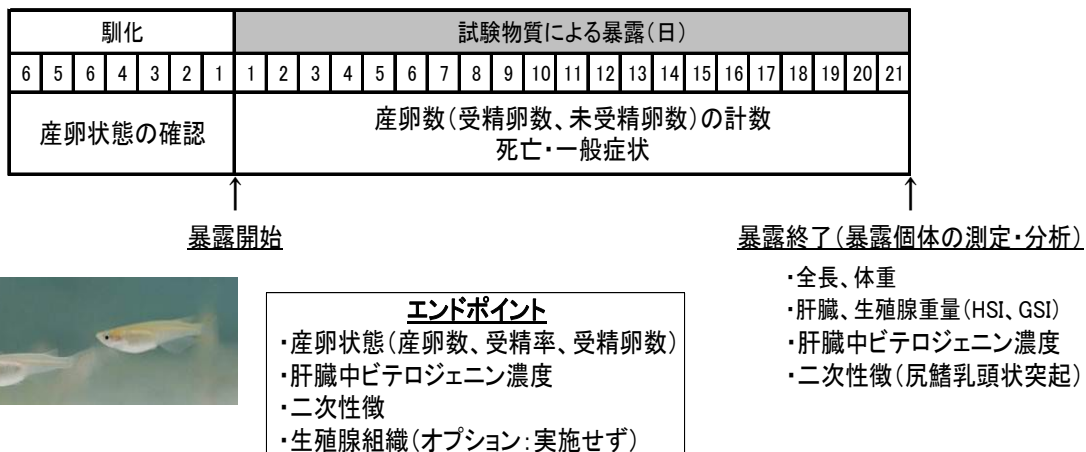
ビスフェノールAについては既存知見からエストロゲン作用を持つことが想定された。今回の試験結果において、死亡が認められた濃度において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められ、エストロゲン作用を持つことが確認された。

メダカの生殖に対する有害性が示唆されたばく露濃度4.67mg/Lは、平成17年度に実施された化学物質環境実態調査において測定された最高濃度1.0µg/Lの4,670倍であった。

(参考)

### メダカを用いた魚類短期繁殖試験法

魚類短期繁殖試験（OECD TG229）は、成熟したメダカを雌雄混合で試験対象物質に21日間ばく露し、ばく露期間中の産卵状況並びにばく露終了時の生存個体の肝臓中ピテロジェニン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。



## 第1段階生物試験結果(TG229)

### ビスフェノールA

実施機関：(一財)化学物質評価研究機構

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 (mg/L)	試験個体数		死亡率 (%)	全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雌雄	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	0	33.0 ± 0.3	32.0 ± 0.9	325 ± 17	318 ± 25
0.155	12	12	16.7	33.2 ± 0.9	31.7 ± 0.9	290 ± 23	313 ± 23
0.826	12	12	8.3	32.5 ± 0.9	32.0 ± 0.9	310 ± 10	342 ± 20
4.67	12	12	70.8*	33.6 ± 1.9	30.6	370 ± 72	281

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	総産卵数 (eggs/female/day)	受精卵数 (eggs/female/day)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	13.7 ± 2.1	-	97.2 ± 0.4	0.93 ± 0.33	6.50 ± 1.53
0.155	14.4 ± 1.8	-	96.1 ± 2.1	0.91 ± 0.13	6.77 ± 0.50
0.826	13.6 ± 1.6	-	94.2 ± 1.9	0.80 ± 0.23	6.00 ± 1.00
4.67	1.47 ± 1.2 **	-	59.2 ± 25 *	0.77 ± 0.23	2.25

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.04 ± 0.46	3.51 ± 0.33	ND	438 ± 60.3	67.8 ± 10.7	0
0.155	2.10 ± 0.40	3.36 ± 0.46	ND	435 ± 65.3	74.0 ± 3.6	0
0.826	2.30 ± 0.45	3.34 ± 0.75	ND	768 ± 297	71.3 ± 4.2	0
4.67	3.44 ± 1.15*	4.81	2,804 ± 811 *	3,456	76.0 ± 5.7	0

表 1-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	その他の所見
対照区	-
0.155	-
0.826	-
4.67	-

結果は平均値±標準偏差.

有意差水準 (\*\* $p < 0.01$ 、\* $p < 0.05$ ).

ND は未検出 (< 1 ng/mg liver).

(-)は、未測定

二次性徴：乳頭状突起を有する節板数

・濃度設定:LC50=13mg/L (Yokota H, et al. 2000) より1/3濃度の最高濃度4 mg/Lを初案とした。しかし、繁殖試験で設定濃度4 mg/Lで産卵数に有意な増減なし (Kang, et al. 2002) であったことから、産卵数への影響をより重視した5 mg/Lを採用した。

・試薬 (被験物質)

被験物質 : 2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propane (Bisphenol A)

メーカー : 東京化成工業株式会社

等級 : EP

ロット : KL28J

純度 : 99.9% (GC%、試験成績書より)

購入日 : 2015年6月29日

・VTGキット

キット名 : EnBio Medaka Vitellogenin ELISA system

メーカー : 藤倉化成株式会社

ロット : SBI25

購入日 : 2015年10月2日納品

使用期限 : 2016年6月

# 平成 27 年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する第一段階生物試験 (ビスフェノール A:BPA) 実施業務

(一財) 化学物質評価研究機構

## 1. 背景及び目的

本業務は、環境省が取りまとめた「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応—EXTEND2010—」に基づき、化学物質の内分泌かく乱作用についての評価手法の確立と評価の実施を加速化して進めることを目的とし、内分泌かく乱作用に関する評価等に必要データを集積するため、環境省が実施する試験管内試験の結果において第一段階生物試験を実施する優先順位が高いと考えられる物質について、第一段階生物試験である魚類短期繁殖試験を実施するものである。本業務では対象物質をビスフェノール A (BPA) とし、OECD テストガイドライン No.229 に従い、メダカ (*Oryzias latipes*) の内分泌かく乱に関わるエンドポイントへの作用・影響の有無及び NOEC または LOEC 等のデータ収集を行った。

## 2. 試験条件

被験物質	ビスフェノール A (BPA)
試験濃度	5.00、1.00、0.200 mg/L (公比 5.0) 及び対照区
試験液量	約 1.8 L (2.7 L 容器)
換水率	14 回/day (流量 17.5 mL/min)
供試魚	24 尾/試験区 (雄 3 尾、雌 3 尾/1 連、4 連)
供試魚週齢	18 週齢
暴露期間 (プレ暴露)	21 日間 (14 日間)
給餌	2 回/日、飽食量、アルテミアふ化幼生

## 3. BPA による魚類短期繁殖試験の試験結果

表 1：測定濃度

設定濃度 (mg/L)	測定濃度(対設定濃度%)				平均 測定濃度
	0day	7day	14day	21day	
対照区	ND	ND	ND	ND	ND
0.200	0.185 (92.3)	0.129 (64.5)	0.166 (83.0)	0.138 (69.2)	0.155 (77.3)
1.00	0.975 (97.5)	0.801 (80.1)	0.838 (83.8)	0.689 (68.9)	0.826 (82.6)
5.00	5.28 (106)	4.75 (95.0)	4.65 (93.0)	4.01 (80.2)	4.67 (93.5)

表 2：試験結果（死亡率/繁殖）

測定濃度 (mg/L)	死亡数 (尾)		死亡率計 (%)	産卵数 (eggs/female/day)	受精率 (%)
	♂	♀			
対照区	0	0	0	13.7 ± 2.1	97.2 ± 0.4
0.155	3	1	16.7	14.4 ± 1.8	96.1 ± 2.1
0.826	1	1	8.3	13.6 ± 1.6.	94.2 ± 1.9
4.67	7	10	70.8 *	1.47 ± 1.2 **	59.2 ± 25 *

\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
産卵数、受精率の値は、容器平均±標準偏差で示す。

表 3：試験結果（全長/体重/二次性徴）

測定濃度 (mg/L)	全長 (cm)		体重 (mg)		二次性徴(乳頭状小突起)	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
対照区	3.30 ± 0.03	3.20 ± 0.09	325 ± 17	318 ± 25	67.8 ± 10.7	0
0.155	3.22 ± 0.09	3.17 ± 0.09	290 ± 23	313 ± 23	74.0 ± 3.6	0
0.826	3.25 ± 0.09	3.20 ± 0.09	310 ± 10	342 ± 20	71.3 ± 4.2	0
4.67	3.36 ± 0.19	3.06	370 ± 72	281	76.0 ± 5.7	0

各測定値データの値は、容器平均±標準偏差で示す。4.67 mg/L 区の雌については 1 容器にしか生存個体がいなかったため、標準偏差は示さなかった。

表 4：試験結果（HSI/GSI/VTG）

測定濃度 (mg/L)	肝臓体指数 (%)		生殖腺体指数 (%)		ビテロジェニン (ng/mg liver)	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
対照区	2.04 ± 0.46	3.51 ± 0.33	0.93 ± 0.33	6.50 ± 1.53	ND	438 ± 60.3
0.155	2.10 ± 0.40	3.36 ± 0.46	0.91 ± 0.13	6.77 ± 0.50	ND	435 ± 65.3
0.826	2.30 ± 0.45	3.34 ± 0.75	0.80 ± 0.23	6.00 ± 1.00	ND	768 ± 297
4.67	3.44 ± 1.15 *	4.81	0.77 ± 0.23	2.25	2804 ± 811*	3456

\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。

各測定値データの値は、容器平均±標準偏差で示す。4.67 mg/L 区の雌については 1 容器にしか生存個体がいなかったため、標準偏差は示さなかった。

表 5：まとめ

エンドポイント	NOEC (mg/L)	LOEC (mg/L)
死亡	0.826	4.67 ↓
産卵数	0.826	4.67 ↓
受精率	0.826	4.67 ↓
肝臓体指数	0.826	4.67 ↑
ビテロジェニン	0.826	4.67 ↑



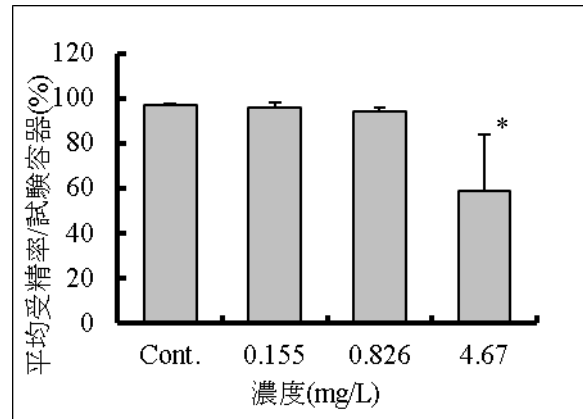
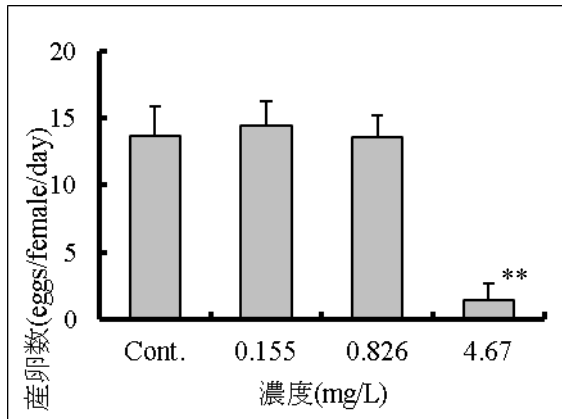


図1：暴露期間中の平均産卵数 (/female/day)

図2：暴露期間中の平均受精率 (/試験容器)

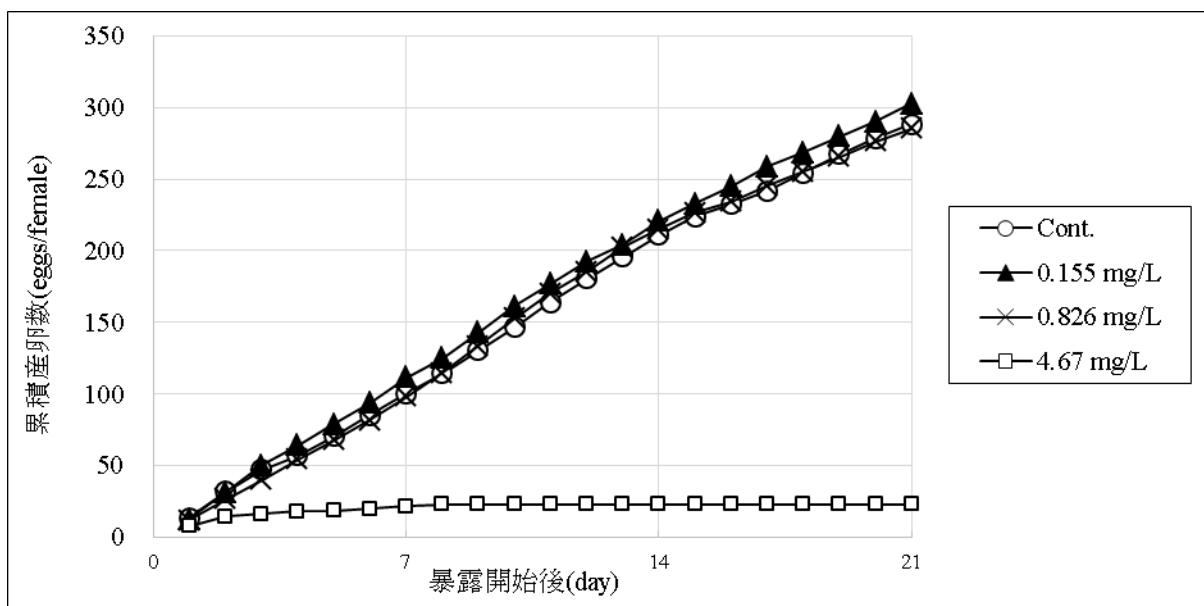


図3：暴露期間中の累積産卵数 (/female)

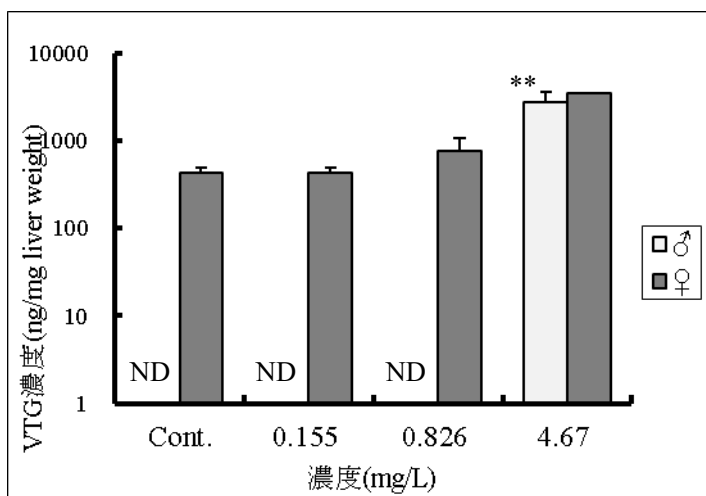


図4：肝臓中のビテロジェニン濃度 (ng/mg liver weight)

## Speed'98において実施した生物試験結果

**Bisphenol A****1. Vitellogenin Assay**

Table 1 Results (Male)

Average measured concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	Hepatosomatic Index (%)		Vitellogenin (ng/mg liver)	
	14 days	21 days	14 days	21 days
Control	1.4 $\pm$ 0.24	2.0 $\pm$ 0.28	ND	ND
Solvent control	1.4 $\pm$ 0.32	1.7 $\pm$ 0.23	ND	ND
58.5	1.4 $\pm$ 0.36	1.8 $\pm$ 0.34	ND	ND
141	1.5 $\pm$ 0.27	1.8 $\pm$ 0.29	1.9 $\pm$ 4.3	1.3 $\pm$ 2.7
334	1.6 $\pm$ 0.38	2.1 $\pm$ 0.54*	2.8 $\pm$ 6.1	17 $\pm$ 43*
772	1.5 $\pm$ 0.41	1.8 $\pm$ 0.23	30 $\pm$ 62**	8.5 $\pm$ 25**
1,740	1.7 $\pm$ 0.29*	2.4 $\pm$ 0.64**	32 $\pm$ 65**	280 $\pm$ 430**

Data shows mean  $\pm$  standard deviation.

Statistically significant differences from control and solvent control group (\*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05).

ND means not detected (< 1 ng/mg liver).

**2. Partial Life Cycle Test**

Table 2-A Results

Average measured concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	Hatchability (%)	Time to hatching (Day)	Mortality (%)	Body length (mm)	Body weight (mg)
Control	92 $\pm$ 2.9	12 $\pm$ 0.42	15 $\pm$ 8.6	20 $\pm$ 2.4	150 $\pm$ 53
Solvent control	92 $\pm$ 5.8	13 $\pm$ 0.31	22 $\pm$ 8.6	21 $\pm$ 1.9	180 $\pm$ 92
220	78 $\pm$ 2.9	12 $\pm$ 0.68	13 $\pm$ 11	22 $\pm$ 2.2	190 $\pm$ 48*
470	88 $\pm$ 13	15 $\pm$ 1.6	29 $\pm$ 19	22 $\pm$ 1.8**	190 $\pm$ 45**
890	90 $\pm$ 5.0	13 $\pm$ 0.36	29 $\pm$ 7.3	22 $\pm$ 2.3*	180 $\pm$ 52
2,120	92 $\pm$ 7.6	14 $\pm$ 2.0	23 $\pm$ 20	20 $\pm$ 1.9	140 $\pm$ 41
4,410	93 $\pm$ 2.9	18 $\pm$ 0.84**	34 $\pm$ 10	18 $\pm$ 2.8	120 $\pm$ 54**

Table 2-B Results (Continued)

Average measured concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	Gonadosomatic Index (%)		No. of fishes	Testis-ova
	Male	Female		
Control	0.78 $\pm$ 0.41	4.0 $\pm$ 7.4	20	0/10
Solvent control	0.69 $\pm$ 0.34	2.5 $\pm$ 3.5	20	0/10
220	0.73 $\pm$ 0.36	1.5 $\pm$ 0.92	20	0/10
470	1.0 $\pm$ 0.34	2.2 $\pm$ 3.7	20	0/10
890	0.92 $\pm$ 0.73	1.2 $\pm$ 0.49	20	4/10*
2,120	0.87 $\pm$ 0.53	1.6 $\pm$ 1.0	20	3/4**
4,410	1.4 $\pm$ 1.1	1.4 $\pm$ 0.62	20	5/6**

Table 2-C Results (Continued)

Average measured concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	Hepatosomatic Index (%)		Vitellogenin (ng/mg liver)	
	Male	Female	Male	Female
Control	2.4 $\pm$ 0.63	3.1 $\pm$ 0.52	1.5 $\pm$ 0.33	450 $\pm$ 540
Solvent control	2.9 $\pm$ 0.61	2.7 $\pm$ 1.1	2.6 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup>	440 $\pm$ 620
220	2.8 $\pm$ 0.65	2.8 $\pm$ 0.45	11 $\pm$ 32	440 $\pm$ 730
470	2.5 $\pm$ 0.92	3.5 $\pm$ 0.62	18 $\pm$ 24*	130 $\pm$ 380
890	2.6 $\pm$ 0.58	2.5 $\pm$ 1.1	590 $\pm$ 740**	900 $\pm$ 820
2,120	3.1 $\pm$ 0.70	3.8 $\pm$ 0.93*	1,600 $\pm$ 1,400*	2,400 $\pm$ 640**
4,410	4.5 $\pm$ 0.42**	5.8 $\pm$ 3.0**	2,700 $\pm$ 610*	2,700 $\pm$ 740**

Testis-ova means No. of Males with testis-ova/No. of Males.

Data shows mean  $\pm$  standard deviation.

Statistically significant differences from solvent control group (\*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05).

Statistically significant differences from control group (a).

ND means not detected (< 1 ng/mg liver).

### 3. Full Life Cycle Test

Table 3-A F<sub>0</sub> generation

Average measured concentration (µg/L)	Hatchability (%)	Time to hatching (Day)	Mortality (%)	Total length (mm)	Body weight (mg)	No. of fishes	Testis-ova
Control	95±5.0	11±1.3	12±3.1	31±1.7	320±59	20	0/9
Solvent control	90	11±0.13	11±5.6	31±1.5	320±57	20	0/10
2.03	95±5.0	13±1.1	21±4.9	30±2.4	290±79	20	0/13
9.24	92±2.9	12±0.81	11±5.7	31±2.2	320±74	20	0/9
50.4	90±5.0	12±0.51	11±6.1	30±2.5	280±79	20	0/14
248	90±8.7	12±0.99	15±1.9	31±1.5	320±52	20	0/9
1,185	95±5.0	12±0.66	28±3.3**	31±2.6	340±86	20	0/12

Table 3-B F<sub>0</sub> generation (Continued)

Average measured concentration (µg/L)	No. of eggs	Fertility (%)	Gonadosomatic Index (%)	
			Male	Female
Control	1,100±210	96±5.3	1.0±0.21	11±3.9
Solvent control	1,300±190	97±5.8	1.1±0.32	8.7±0.66*
2.03	1,100±190	95±2.5	0.90±0.25	9.7±1.4
9.24	1,100±230	88±16	0.88±0.15	8.8±4.9
50.4	1,000±360	90±10	1.0±0.27	12±5.0
248	1,000±370	96±3.0	1.1±0.14	9.0±3.0
1,185	1,100±110	95±3.3	1.4±0.43	9.1±1.2

Table 3-C F<sub>0</sub> generation (Continued)

Average measured concentration (µg/L)	Hepatosomatic Index (%)		Vitellogenin (ng/mg liver)	
	Male	Female	Male	Female
Control	1.8±0.48	5.2±1.5	36±27	1,600±930
Solvent control	1.6±0.42	4.9±1.0	21±16	1,800±1,700
2.03	2.3±0.74	5.4±0.54	37±37	1,500±480
9.24	1.6±0.52	4.4±1.4	11±13	1,400±1,000
50.4	2.9±0.94**	4.9±2.0	22±26	1,400±600
248	2.7±1.3	4.5±2.1	36±34	1,600±830
1,185	3.6±2.1*	5.4±0.81	116±85	2,000±480

Table 3-D F<sub>1</sub> generation

Average measured concentration (µg/L)	Hatchability (%)	Time to hatching (Day)	Mortality (%)	Total length (mm)	Body weight (mg)	No. of fishes	Testis-ova
Control	95±5.0	12±4.1	12±2.4	31±2.3	320±77	20	0/12
Solvent control	98±2.9	15±2.9	17±6.1	30±2.3	300±77	20	0/11
2.03	85±10*	10±2.4	17±9.8	32±1.1**	360±61**	20	0/12
9.24	100	14±2.6	2.0±2.7	29±1.5	290±63	20	0/9
50.4	90	14±2.9	22±15	31±1.3**	350±52*	20	0/10
248	97±2.9	17±0.53	33±15	30±2.1	330±76	20	0/10
1,185	88±7.6	17±4.7	36±26	32±2.1**	360±76**	20	2/10*

Table 3-E F<sub>1</sub> generation (Continued)

Average measured concentration (µg/L)	Hepatosomatic Index (%)		Vitellogenin (ng/mg liver)	
	Male	Female	Male	Female
Control	1.9±0.46	3.9±1.6	ND	1,100±920
Solvent control	2.4±0.52	3.6±1.4	ND	940±740
2.00	2.4±0.42	4.0±0.82	ND	1,700±880
9.30	2.1±0.51	3.6±0.82	ND	1,500±1,000
49.7	2.9±1.1	4.2±1.1	ND	1,100±830
247	2.5±1.0	3.3±1.0	4.5±8.5	2,300±1,600
1,179	2.3±0.86	4.0±1.2	24±30**	1,800±850

Testis-ova means No. of Males with testis-ova/No. of Males.

Data shows mean ± standard deviation.

Statistically significant differences from control and solvent control group (\*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ ).

ND means not detected (< 1 ng/mg liver).

## 化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価について（抜粋）

### IV. ビスフェノールA

#### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ビスフェノールAの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響(甲殻類)、生態影響(魚類)、生態影響(両生類)、生態影響(軟体動物等)、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生への影響、神経系への影響、免疫系への影響、成長因子及び成長ホルモン産生への影響及び脂肪細胞への影響の有無に関する報告がある。なお、健康影響、試験管内試験(エストロゲン作用)及び疫学的調査に関する報告については、記載していない。

なお、本物質の主な用途は、エポキシ樹脂、ポリカーボネート、可塑性ポリエステル原料である。本物質は、平成23年度化学物質環境実態調査の大気調査において検出されている。

#### (1)生態影響(魚類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

②Hatefら(2012a)によって、ビスフェノールA0.2、20 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に2～3年齢から最長90日間ばく露した成熟雄キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、0.2 $\mu$ g/L以上のばく露区で精液容量、精液中総精子細胞数、運動精子率の低値、肝臓中エストロゲン受容体  $\beta$ 1 mRNA 相対発現量、精巣中エストロゲン受容体  $\beta$ 2 mRNA 相対発現量の高値、0.2 $\mu$ g/Lのばく露区で精巣中 *StAR* mRNA 相対発現量の低値、20 $\mu$ g/Lのばく露区で精液中精子密度、精子運動速度の低値、精巣中アンドロゲン受容体 mRNA 相対発現量、精巣中 *CYP19a* mRNA 相対発現量、精巣中エストロゲン受容体  $\beta$ 1 mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体  $\beta$ 2 mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び試験方法(飼育条件等)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

③Hatefら(2012b)によって、ビスフェノールA0.61 $\pm$ 0.03、4.5 $\pm$ 0.70、11.01 $\pm$ 0.55 $\mu$ g/Lの濃度(測定濃

度)に2～3年齢から最長30日間ばく露した成熟雄キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、0.61µg/L以上のばく露区で運動精子率、精子運度速度の低値、0.61µg/Lのばく露区で血漿中11-ケトテストステロン濃度の低値、11.01µg/Lのばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中11-ケトテストステロン濃度、血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

⑫Sunら(2014)によって、ビスフェノールA 6、20、60、200、600µg/Lの濃度(設定濃度)に受精後4時間から44日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)の全身中遺伝子発現への影響が検討されている。その結果として、6µg/L以上のばく露区で雄*CYP11A* mRNA 相対発現量、雄*CYP11B* mRNA 相対発現量の低値、20µg/L以上のばく露区で雄*CYP17A* mRNA 相対発現量、雄*CYP17B* mRNA 相対発現量、雄*CYP19A* mRNA 相対発現量、雄*CYP19B* mRNA 相対発現量の低値、雌エストロゲン受容体*α* mRNA 相対発現量の高値、20、60、200µg/Lのばく露区で雌*CYP19A* mRNA 相対発現量の高値、20µg/Lのばく露区で雌アンドロゲン受容体*α* mRNA 相対発現量、雌*CYP17A* mRNA 相対発現量、雌*CYP17B* mRNA 相対発現量の高値、60µg/L以上のばく露区で雌*CYP19B* mRNA 相対発現量、雄エストロゲン受容体*β* mRNA 相対発現量の低値、200µg/L以上のばく露区で雄アンドロゲン受容体*α* mRNA 相対発現量、雌*CYP11A* mRNA 相対発現量、雌*CYP11B* mRNA 相対発現量、孵化率、総生存率の低値、雌体重、雌*VTG2* mRNA 相対発現量の高値、200µg/Lのばく露区で雌体長の高値、600µg/Lのばく露区で雌雄*VTG1* mRNA 相対発現量、雄*VTG2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験動物の入手先の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄*VTG1* mRNA 相対発現量、雄*VTG2* mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

⑭Yokotaら(2000)によって、ビスフェノールA 2.27、13.0、71.2、355、1,820µg/Lの濃度(測定濃度)に受精後数時間以内から孵化までばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、13.0µg/Lのばく露区で孵化までの所要日数の遅延が認められた。

また、ビスフェノールA 2.27、13.0、71.2、355、1,820µg/Lの濃度(測定濃度)に受精後数時間以

内からばく露を継続し孵化 60 日間後までばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、1,820µg/L のばく露区で雄性比(表現型)、体長、体重の低値、精巣卵の出現が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄性比(表現型)の低値、精巣卵の出現が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ⑩Lee ら(2002)によって、ビスフェノールA 5、50、100、200、500µg/L の濃度(設定濃度)に 144 時間ばく露した成熟雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、50µg/L 以上のばく露区で肝臓中コリオゲニン L mRNA 発現、200µg/L 以上のばく露区で肝臓中コリオゲニン H mRNA 発現が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、肝臓中コリオゲニン L mRNA 発現、肝臓中コリオゲニン H mRNA 発現が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ⑪Mihaich ら(2012)によって、ビスフェノールA 1.19、13.4、52.8、130、567µg/L の濃度(測定濃度)に約 120 日齢から 164 日間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、52.8µg/L 以上のばく露区で雄及び雌血漿中ビテロゲニン濃度の高値、130µg/L 以上のばく露区で雄生殖腺細胞に占める精母細胞率、雄生殖腺細胞に占めるライディッヒ細胞率の低値、567µg/L のばく露区で雄生存率、雌生殖細胞に占める初期卵黄形成期での卵胞率の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ⑫Li ら(2012)によって、ビスフェノールA 10、30、100、300、1,000µg/L の濃度(設定濃度)に 15 日間ばく露した幼若キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、



100µg/L以上のばく露区で雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

②4 Staples ら(2011)によって、ビスフェノールA 10、100、320、640µg/Lの濃度(設定濃度)に受精後24時間未満から孵化32日後まで36日間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されているが、孵化率、生存率、体長、体重、全身中ビテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

また、ビスフェノールA 1、16、160、640、1,280µg/Lの濃度(設定濃度)に122日齢から286日齢までばく露した成熟F<sub>0</sub>雌雄ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響(164日齢から交配試験開始)が検討されている。その結果として、160µg/L以上のばく露区で雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値、640µg/L以上のばく露区で雄及び雌生殖腺体指数の低値、1,280µg/Lのばく露区で日毎産卵数の低値が認められた。

また更に、ビスフェノールA 1、16、160、640µg/Lの濃度(設定濃度)に産卵後(上記F<sub>0</sub>が産卵)から306日齢までばく露したF<sub>1</sub>雌雄ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響(150日齢から交配試験開始)が検討されている。その結果として、160µg/L以上のばく露区で雄及び雌血漿中ビテロゲニン濃度の高値、640µg/L以上のばく露区で孵化率、60日齢生存率、日毎産卵数の低値が認められた。

また更に、ビスフェノールA 1、16、160、640µg/Lの濃度(設定濃度)に産卵後から60日齢までばく露したF<sub>2</sub>雌雄ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響(150日齢から交配試験開始)が検討されている。その結果として、160µg/L以上のばく露区で孵化率の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

③2 Tabata ら(2004)によって、ビスフェノールA 100、200、500、1,000µg/Lの濃度(設定濃度)に5週間ばく露した成熟雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、500µg/L以上のばく露区で血清中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないこと

から、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血清中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ③⑧Kang ら(2002)によって、ビスフェノールA 837±134、1,720±184、3,120±574µg/L の濃度(測定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、837µg/L 以上のばく露区で精巣卵の出現、3,120µg/L のばく露区で雄肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。なお、総産卵数、受精率、雄及び雌生殖腺体指数、雄及び雌肝臓体指数には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣卵の出現、雄肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ④⑩van den Belt ら(2003)によって、ビスフェノールA 40、200、1,000µg/L の濃度(設定濃度)に 3 週間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、1,000µg/L のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 40、200、1,000µg/L の濃度(設定濃度)に 3 週間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1,000µg/L のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び試験動物の入手先の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ④⑤Shioda と Wakabayashi (2000)によって、ビスフェノールA 0.3、1、3、10µM(=68.4、228、684、2,280µg/L)の濃度(設定濃度)に 2 週間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10µM(=2,280µg/L)のばく露区で総産卵数、孵化率の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、

総産卵数、孵化率の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：その他の作用(毒性影響の可能性もあり)、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

④⑥Chow ら(2013)によって、ビスフェノールA 525、2,010、2,620、3,930 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精直後から96時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)胚への影響が検討されている。その結果として、3,930 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中ビテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

ビスフェノールA 804、2,010、4,020、6,030 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精直後から96時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)卵稚仔への影響が検討されている。その結果として、6,030 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中ビテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び試験動物の入手先の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、全身中ビテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

④⑦Schiller ら(2014)によって、ビスフェノールA 8,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化後7日目から7日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、アロマターゼ b mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体 2 $\alpha$  RNA 相対発現量、ラノステロールシンターゼ mRNA 相対発現量の低値、メバロン酸ジカルボキシラーゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、アロマターゼ b mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体 2 $\alpha$  RNA 相対発現量、ラノステロールシンターゼ mRNA 相対発現量の低値、メバロン酸ジカルボキシラーゼ mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

④⑧Yamaguchi ら(2005)によって、ビスフェノールA 800、8,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に8時間ばく露した成熟雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、8,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲン II mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials

and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲン II mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。  
想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

#### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Xu ら(2013)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10、100、1,000 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に孵化4時間後から164時間後までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)での免疫応答及び酸化ストレス応答関連遺伝子発現(全身中)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ g/L以上のばく露区で *TRAF6* mRNA 相対発現量の低値、*MyD88* mRNA 相対発現量の高値、0.1、1、100、1,000 $\mu$ g/Lのばく露区で *IL10* mRNA 相対発現量の高値、0.1、1、1,000 $\mu$ g/Lのばく露区で *Nrf2* mRNA 相対発現量、*IFN $\gamma$*  mRNA 相対発現量、*CXCL-ccl* mRNA 相対発現量、*TRIF* mRNA 相対発現量の高値、0.1、100、1,000 $\mu$ g/Lのばく露区で *SARM* mRNA 相対発現量の高値、0.1、10、1,000 $\mu$ g/Lのばく露区で *IL1 $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、0.1、1,000 $\mu$ g/Lのばく露区で *IRAK4* mRNA 相対発現量の高値、1 $\mu$ g/L以上のばく露区で *Mx* mRNA 相対発現量の高値、1、1,000 $\mu$ g/Lのばく露区で *CC-chemokine* mRNA 相対発現量、*TLR3* mRNA、*iNOS* mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ g/L以上のばく露区で細胞内活性酸素種濃度、細胞内亜硝酸濃度、細胞内亜硝酸合成酵素濃度の高値、1,000 $\mu$ g/Lのばく露区で *Keap1* mRNA 相対発現量、*TNF $\alpha$*  mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、*TRAF6* mRNA 相対発現量の低値、*MyD88* mRNA 相対発現量の高値等が認められたが、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。

「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定されるメカニズム：免疫毒性

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

⑱Bhandari ら(2015)によって、ビスフェノールA 100 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に受精8時間後から7日間(受精5~7日後が性分化の critical window に相当)ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響(P<sub>0</sub>にのみばく露し、F<sub>4</sub>まで経代飼育、各世代とも120日齢からペア化し2週間交配試験)が検討されている。その結果として、F<sub>2</sub>ペア受精率、F<sub>3</sub>ペア受精率、F<sub>3</sub>胚生存率、F<sub>4</sub>胚生存率の低値が認められた。なお、P<sub>0</sub>ペア受精率、F<sub>1</sub>ペア受精率、P<sub>0</sub>胚生存率、F<sub>1</sub>胚生存率、F<sub>2</sub>胚生存率、P<sub>0</sub>ペア産卵数、F<sub>1</sub>ペア産卵数、F<sub>2</sub>ペア産卵数、F<sub>3</sub>ペア産卵数には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials

and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び入手先の記載がないこと及び試験方法(飼育条件等)の詳細な記載がないことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

#### ※参考 生態影響(魚類)(今回評価対象としなかった文献)

- ④ Mandich ら(2007)によって、ビスフェノール A 0.85±0.08、7.34±0.08、90.73±16.30、1055.40±166.32µg/L の濃度(測定濃度)に1年齢から14日間ばく露したコイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、雄への影響として、0.85µg/L以上のばく露区で精巣顆粒球浸潤発生率、精巣小葉構造変化発生率の高値、0.85、7.34µg/Lのばく露区で血漿中17βエストラジオール濃度の低値、血漿中17βエストラジオール/11ケトテストステロン濃度比の低値(1055.40µg/L区では有意な高値)、90.73µg/L以上のばく露区で間性出現率の高値、1055.40µg/Lのばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。また、雌への影響として、0.85µg/L以上のばく露区で前卵黄形成期卵胞の閉鎖率の高値、0.85、7.34、90.73µg/Lのばく露区で血漿中17βエストラジオール濃度の低値、1055.40µg/Lのばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。
- ⑤ Molina ら(2013)によって、ビスフェノール A 1、10、100、1,000µg/L の濃度(設定濃度)に16週齢から14日間ばく露した雌ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1µg/L以上のばく露区で成熟卵胞存在率の低値、表層胞状卵胞存在率、卵黄形成期卵胞存在率、閉鎖卵胞存在率の高値、1、10、100µg/Lのばく露区で卵原細胞を有する成卵胞存在率の高値が認められた。
- ⑥ Kwak ら(2001)によって、ビスフェノール A 0.2、2、20µg/L の濃度(設定濃度)に23日齢から60日間ばく露したカダヤシ科の一種ソードテール(*Xiphophorus helleri*)への影響が検討されている。その結果として、2µg/L以上のばく露区でソード長の低値が認められた。
- また、ビスフェノール A 400、2,000、10,000µg/L の濃度(設定濃度)に72時間ばく露したカダヤシ科の一種ソードテール(*X. helleri*)成熟雄への影響が検討されている。その結果として、400µg/L以上のばく露区で精巣細胞の細胞膜損傷によるアポトーシス発生率の高値、2,000µg/L以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン mRNA 発現、10,000µg/Lのばく露区で精巣細胞でのアポトーシス発生(細胞染色法による確認)が認められた。
- ⑦ Saili ら(2012)によって、ビスフェノール A 0.001、0.01、0.1、1、10µM(=0.228、2.28、22.8、228、2,280µg/L)の濃度(設定濃度)に受精後8~10時間後から48時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(ばく露後、更に受精後5日目まで非ばく露条件下で飼育)が検討されている。その結果として、0.01、0.1µM(=2.28、22.8µg/L)のばく露区で自発運動試験における遊泳持続時間の高値、雄及び雌のT迷路試験における習得までの試行回数の高値が認められた。
- ⑧ Zhang ら(2014)によって、ビスフェノール A 5、15、50µg/L の濃度(設定濃度)に約9ヶ月齢から35日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌への影響が検討されている。その結果として、5µg/L以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン相対濃度の高値、5、15µg/L以上のばく露

区で卵巣中 *star* mRNA 相対発現量の高値、5 µg/L のばく露区で卵巣中 *hsd11b2* mRNA 相対発現量、卵巣中 *esr1* mRNA 相対発現量の高値、15 µg/L のばく露区で生殖腺体指数、卵巣中 *nr5a1b* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑨Gao ら(2014)によって、ビスフェノールA 5、15、50 µg/L の濃度(設定濃度)に8ヶ月齢から最長35日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌雄への影響が検討されている。その結果として、5 µg/L 以上のばく露区で雄肝臓中 *CYP3A* mRNA 相対発現量の低値、5、15 µg/L 以上のばく露区で雄肝臓中 *PXR* mRNA 相対発現量、雄肝臓中 *SULT1 ST6* mRNA 相対発現量の低値、5 µg/L のばく露区で雌肝臓中 *PXR* mRNA 相対発現量、雌肝臓中 *SULT1 ST6* mRNA 相対発現量の高値、50 µg/L のばく露区で雌肝臓中 *CYP3A* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

⑩Zhang ら(2013)によって、ビスフェノールA 5、15、50 µg/L の濃度(設定濃度)に8ヶ月齢から14日間(最長35日間)ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雄への影響が検討されている。その結果として、5 µg/L 以上のばく露区で精巣中 *nr5a2* mRNA 相対発現量の低値、生殖腺体指数、肝臓中 *vtg* mRNA 相対発現量の高値、5 µg/L のばく露区で精巣中 *nr5a1b* mRNA 相対発現量の低値、15 µg/L 以上のばく露区で精巣中 *foxl2* mRNA 相対発現量の低値、15 µg/L のばく露区で精巣中 *nr5a1a* mRNA 相対発現量の高値、50 µg/L のばく露区で精巣中 *esr2b* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

⑪Liu ら(2012)によって、ビスフェノールA 5、15、50 µg/L の濃度(設定濃度)に受精233日後から7日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌雄への影響が検討されている。その結果として、5、50 µg/L のばく露区で卵巣中 *cyp19a1* mRNA 相対発現量の低値(15 µg/L 区では高値)、15 µg/L のばく露区で精巣中 *cyp11a1* mRNA 相対発現量の高値、50 µg/L のばく露区で卵巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑬Huang ら(2010)によって、ビスフェノールA 10、100 µg/L の濃度(設定濃度)に4週間ばく露したナイティラピア(*Oreochromis niloticus*)(成熟雄と思われる)への影響が検討されている。その結果として、10 µg/L 以上のばく露区で精巣中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、精巣中エストロゲン受容体  $\beta 1$  mRNA 相対発現量の高値、10 µg/L のばく露区で精巣中エストロゲン受容体  $\beta 2$  mRNA 相対発現量の低値が認められた。

⑮Zhang ら(2014)によって、ビスフェノールA 5、15、50 µg/L の濃度(設定濃度)に8ヶ月齢から14日間(最長35日間)ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌への影響が検討されている。その結果として、15 µg/L のばく露区で肝臓中 bone morphogenetic protein 15 mRNA 相対発現量、肝臓中 growth differentiation factor 9 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑱Larsen ら(2006)によって、ビスフェノールA 59±10 µg/L の濃度(測定濃度)に3週間ばく露した幼若タイセイヨウダラ(*Gadus morhua*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中ビテロゲニン濃度(雌雄混合)、血漿中透明帯蛋白質濃度(雌雄混合)の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 59±10 µg/L の濃度(測定濃度)に3週間ばく露した幼若イシビラメ(*S. maximus*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中透明帯蛋白質濃度(雌雄混合)の高値が認められた。

⑳Shanthanagouda ら(2014)によって、ビスフェノールA 100、500 µg/L の濃度(設定濃度)に96時間

- ばく露した成熟雌雄 Murray レインボーフィッシュ(*Melanotaenia fluviatilis*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L以上のばく露区で精巣中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量の低値、雄脳中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量の高値、500 $\mu$ g/Lのばく露区で雌脳中 *cyp19a1a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ②Chen ら(2008)によって、ビスフェノールA 1、10、100、200 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に7日間ばく露した成熟雌雄インドメダカ(*Oryzias melastigma*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L以上のばく露区で雌肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、雌肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量、雄肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量の高値、200 $\mu$ g/Lのばく露区で雄肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ③Metcalfe ら(2001)によって、ビスフェノールA 10、50、100、200 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に孵化1日後から孵化85~110日後までばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L以上のばく露区で肥満度(雌雄混合)の高値が認められた。なお、全長(雌雄混合)、体重(雌雄混合)、性比には影響は認められなかった。
- ④Huang ら(2011)によって、ビスフェノールA 200 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に受精2時間後から孵化までばく露したインドメダカ(*Oryzias melastigma*)への影響(孵化後、非ばく露条件下で飼育し10日齢で試験)が検討されている。その結果として、体長(孵化時)、体幅(孵化時)、*NKA* mRNA 相対発現量、*BMP4* mRNA 相対発現量、*COX-1* mRNA 相対発現量、*FGF8* mRNA 相対発現量、*GATA4* mRNA 相対発現量、*NKX2.5* mRNA 相対発現量の低値、*COX-2* mRNA 相対発現量、*LERP* mRNA 相対発現量、*TNF $\alpha$*  mRNA 相対発現量、*IL 1 $\beta$*  mRNA 相対発現量、*SOD* mRNA 相対発現量、*CCL11* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ⑤Wang ら(2013)によって、ビスフェノールA 1、5、15 $\mu$ M(=228、1,140、3,420 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に受精6時間後から90時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上のばく露区で受精120時間後の平均遊泳速度の低値、受精96時間後の壊疽死細胞率、受精96時間後のDNA損傷量の高値、5 $\mu$ M(=1,140 $\mu$ g/L)以上のばく露区で受精27時間後の一次運動神経細胞軸索長の低値、受精96時間後のアポトーシス死細胞率、受精96時間後のカスパーゼ-3活性、受精96時間後の活性酸素種発生量の高値、15 $\mu$ M(=3,420 $\mu$ g/L)のばく露区で受精72時間後の二次運動神経細胞軸索長、受精27時間後の尾運動距離、受精28時間後の自発運動頻度、受精48時間後の遊泳距離及び遊泳時間の低値、受精96時間後の *Bax* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ⑥Suzuki ら(2003)によって、ビスフェノールA 1 $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に最長8日間ばく露した未成熟キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果(雌雄混合)として、血漿中カルシウム濃度、血漿中カルシトニン濃度の低値、血漿中ピテロゲニン発現が認められた。
- ⑦Rhee ら(2011)によって、ビスフェノールA 300 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に25日齢から24時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)への影響が検討されている。その結果として、*sf1* mRNA 相対発現量、*dmrt1* mRNA 相対発現量、*mis* mRNA 相対発現量の低値、*figla* mRNA 相対発現量、*dax1* mRNA 相対発現量、*StAR* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ⑧Yu ら(2008)によって、ビスフェノールA 300 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に24時間ばく露したカダヤシ

目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)稚魚への影響が検討されている。その結果として、全身中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑩Pelayo ら(2012)によって、ビスフェノールA 100、400、1,000、2,000、4,000 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に受精 48 時間後(自由遊泳)から 72 時間ばく露(トリヨードサイロニン 5nM 共存下)したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(全身中遺伝子発現)が検討されている。その結果として、400 $\mu$ g/L 以上のばく露区で hemoglobin alpha embryonic-3 mRNA 相対発現量の低値、1,000 $\mu$ g/L 以上のばく露区で alpha globin (adult) mRNA 相対発現量の高値、2,000 $\mu$ g/L 以上のばく露区で red-sensitive opsin-1 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 17.5 $\mu$ M(=4,000 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に受精 48 時間後(自由遊泳)から 72 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響(全身中遺伝子発現)が検討されている。その結果として、甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、red-sensitive opsin-1 mRNA 相対発現量、alpha globin (adult) mRNA 相対発現量、hemoglobin alpha embryonic-3 mRNA 相対発現量、cyp261a mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑪Song ら(2014)によって、ビスフェノールA 500、1,000、1,500 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 2 ヶ月齢から 21 日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

- ③⑫Rhee ら(2009)によって、ビスフェノールA 600 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に受精 2 日後から 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)への影響が検討されている。その結果として、全身中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、全身中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 600 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 600 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑬Rhee ら(2008)によって、ビスフェノールA 600 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 mRNA 相対発現量(腸管及び肝臓中)の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 600 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホル



- モン受容体 mRNA 相対発現量(脳下垂体、精巣、腸管及び肝臓中)の高値が認められた。
- ③⑤Lee ら(2008)によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、精巣及び腸管中 *N-ras* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ③⑥Seo ら(2006)によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、精巣及び肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ③⑦Lee ら(2006)によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、脳中及び生殖腺中 *cyp1a* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ③⑨Kamata ら(2011)によって、ビスフェノール A 100、300、1,000、3,000 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 48 時間ばく露した成熟雄カダヤシ(*Gambusia affinis*)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区でビテロゲニン(*vtga*、*vtgb* 及び *vtgc*) mRNA 発現個体率の高値が認められた。
- ④①Segner ら(2003)によって、ビスフェノール A 94、188、375、750、1,500 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に受精卵から 75 日齢までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(75~78 日齢で交配試験)が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 6.14 $\mu\text{M}$ (=1,400 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で受精率の低値が認められた。
- ④②Kausch ら(2008)によって、ビスフェノール A 0.1、2、20、200、400、1,000、2,000 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 11 日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、2,000 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中 *vtg1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ④③Cotter ら(2013)によって、ビスフェノール A 10 $\mu\text{M}$ (=2,280 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に受精 24 時間後から受精 120 時間後までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、エストロゲン受容体  $\alpha\text{s}$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ④④Kishida ら(2001)によって、ビスフェノール A 設定濃度、0.01、0.1、1、10 $\mu\text{M}$ (=2.28、22.8、228、2,280 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に孵化 2 時間後から孵化 48 時間後までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{M}$ (=2,280 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で P450 アロマトラーゼ B(脳内イソフォーム) mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ④⑨Wu ら(2012)によって、ビスフェノール A 0.0001、0.001、0.01 $\mu\text{M}$ (=0.0228、0.228、2.28 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に受精後 21 日目から 3 日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)(雌雄混合と思われる)への影響が検討されているが、ビテロゲニン mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 1 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 2 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 3 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 4 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 5 mRNA 相対発現量には影響が認められなかった。
- ⑤⑩Mochida ら(2004)によって、ビスフェノール A 0.28、0.79、3.02、19.1 $\mu\text{g/L}$  の濃度(測定濃度)に 3 週間ばく露した雌雄マハゼ(*Acanthogobius flavimanus*)への影響が検討されているが、精巣中ユビ

キチン C 末端ヒドロラーゼ mRNA 相対発現量、脳中ユビキチン C 末端ヒドロラーゼ mRNA 相対発現量、血漿中ビテロゲニン-320 濃度、血漿中ビテロゲニン-530 濃度には影響が認められなかった。

51 Pastva ら(2001)によって、ビスフェノール A 20、200 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に受精 5 時間以内から 9 日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されているが、胚発達異常(重篤度を日毎観察)には影響が認められなかった。

## (2)生態影響(両生類)

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Levy ら(2004)によって、ビスフェノール A 0.01、0.1 $\mu\text{M}$ (=2.28、22.8 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 42/43 から 120 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{M}$ (=22.8 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で雄性比の低値が認められた。

また、ビスフェノール A 0.01、0.1、1  $\mu\text{M}$ (=2.28、22.8、228 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 42/43 から 120 日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{M}$ (=22.8 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で雄性比の低値が認められた。

また、ビスフェノール A 0.1 $\mu\text{M}$ (=22.8 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 50 から 14 日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、全身中エストロゲン受容体 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄性比の低値、全身中エストロゲン受容体 mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

②Kloas ら(1999)によって、ビスフェノール A 0.01、0.1 $\mu\text{M}$ (=2.28、22.8 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 38/40 から 12 週間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{M}$ (=22.8 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で雄性比の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び試験方法(餌の種類等)の詳細な記載がないことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

③Iwamuro ら(2003)によって、ビスフェノール A 10、25 $\mu\text{M}$ (=2,280、5,700 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)

に Nieuwkoop-Faber stage 52 から 22 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上のばく露区で到達 stage の遅延、甲状腺受容体  $\beta$ mRNA 相対発現量(頭部、胴部、尾部のそれぞれにおいて)の低値が認められた。

また、ビスフェノール A 10、25 $\mu$ M(=2,280、5,700 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 52 から 22 日間ばく露(0.1 $\mu$ M サイロキシン共存下)したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上のばく露区で到達 stage の遅延、甲状腺受容体  $\beta$ mRNA 相対発現量(頭部、胴部、尾部のそれぞれにおいて)の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度、試験動物の入手先及び試験方法(餌の種類等)の詳細な記載がないことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定されるメカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用

#### ※参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

- ④Selcer と Verbanic (2014)によって、ビスフェノール A 1,000 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 20 日間ばく露した成熟雄ヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されているが、血漿中ビテロゲニン濃度には影響が認められなかった。
- ⑤Yang ら(2005)によって、ビスフェノール A 2、20、200 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 5 日齢から 60 日間ばく露したトノサマガエル(*Rana nigromaculata*)への影響が検討されているが、全身中総サイロキシン濃度、全身中テストステロン濃度、全身中ビテロゲニン濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)には影響が認められなかった。
- ⑥Pickford ら(2003)によって、ビスフェノール A 0.83、2.1、9.5、23.8、100、493 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に stage 43/45(受精 4 日後)から stage 66(変態完了)まで約 90 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されているが、全長(雌雄混合プールデータとして)、雄頭胴長(SVL)、stage 66 到達所要日数、性比、累積死亡率には影響が認められなかった。

#### ※参考 (3)生態影響(甲殻類)(今回評価対象としなかった文献)

- ①Marcial ら(2003)によって、ビスフェノール A 0.01、0.1、1、10 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*Tigriopus japonicus*)F<sub>0</sub>への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ g/L 以上の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、1  $\mu$ g/L 以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また更に、ビスフェノール A 0.01、0.1、1、10 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に誕生(上記 F<sub>0</sub> が出産)から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*T. japonicus*)F<sub>1</sub>への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.1、1.0 $\mu$ g/L の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、1  $\mu$ g/L 以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

②Brennan ら(2006)によって、ビスフェノールA 200、400、600、800、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に24時間未満齢から21日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)F<sub>0</sub>への影響が検討されている。その結果として、600 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度で死亡率の高値が認められたが、累積脱皮回数、累積産仔数には影響は認められなかった。

また更に、ビスフェノールA 200、400、600、800、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に誕生(上記F<sub>0</sub>が出産)から21日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)F<sub>1</sub>への影響が検討されている。その結果として、200 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度で死亡率の高値が認められたが、累積脱皮回数、累積産仔数には影響は認められなかった。

③Caspers (1998)によって、ビスフェノールA 0.316、3.16 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に21日間(24時間未満齢からと思われる)ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されているが、総産仔数、脱皮回数には影響は認められなかった。

#### ※参考 (4)生態影響(軟体動物等)(今回評価対象としなかった文献)

①Oehlmann ら(2006)によって、ビスフェノールA 0.05、0.1、0.25、0.5 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に18ヶ月齢以後から5ヶ月間ばく露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、0.25 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積産卵数、個体当産卵数、死亡率の高値が認められた。

②Jobling ら(2004)によって、ビスフェノールA 1、5、25、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に最長63日間ばく露した成熟コモチカワツボ(*Potamopyrgus antipodarum*)への影響が検討されている。その結果として、1、5、25 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で胚産生数の高値(21、42日目)が認められた。

③Oehlmann ら(2000)によって、ビスフェノールA 1、5、25、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に最長5ヶ月間ばく露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積死亡率の高値、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 1、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化後から最長12ヶ月間ばく露したアンモナイトスネール(*M. cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でインポセックス重篤度の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 1、25、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に成熟期から最長3ヶ月間ばく露したヨーロッパチヂミボラ(*Nucella lapillus*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で陰茎長、前立腺長の低値、卵管に卵母細胞をもつ雌の個体率、卵殻腺(capsule gland)長、卵管外套腺(pallial gland)重量の高値が認められた。

④Sieratowicz ら(2011)によって、ビスフェノールA 4.60、8.89、19.4、38.7 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に4週間ばく露した成熟コモチカワツボ(*Potamopyrgus antipodarum*)への影響が検討されている。その結果として、8.89 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で胚産生数(7、25 $^{\circ}\text{C}$ で飼育)の高値、38.7 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で胚産生数(16 $^{\circ}\text{C}$ で飼育)の高値が認められた。

⑤Schirling ら(2006)によって、ビスフェノールA 50、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に最長14日間ばく

露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で心拍数(9日後)の低値、産卵後体重の高値が認められた。

⑥Mihaich ら(2009)によって、ビスフェノールA470、940、1,900、3,800、7,500 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に21日齢から48時間ばく露したツボワムシ(*Bachionus calyciflorus*)への影響が検討されている。その結果として、3,800 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で内的増殖速度の低値が認められた。

⑦Ortiz-Zarragoitia と Cajaraville (2006)によって、ビスフェノールA50 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した成熟ムラサキイガイ(*Mytilus edulis*)への影響が検討されているが、消化腺ペルオキシソーム中アシル-CoA オキシダーゼ活性、ペルオキシソームが消化腺に占める容積率、雄及び雌の生殖腺体指数、生殖腺中ピテロゲン濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)、雌生殖腺に閉鎖卵母細胞が占める容積率には影響が認められなかった。

## (5)抗エストロゲン作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Teng ら(2013)によって、ビスフェノールA0.01 から 100 $\mu\text{M}$ (=2.28 から 22,800 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に24時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.2nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

②Sohoni と Sumpter (1998)によって、ビスフェノールA0.001 から 100 $\mu\text{M}$ (=0.228 から 22,800 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に72時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.25nM 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験方法(設定濃度等)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

## (6)アンドロゲン作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Teng ら(2013)によって、ビスフェノールA 0.01 から 100 $\mu$ M(=2.28 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.2nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

②Sohoni と Sumpter (1998)によって、ビスフェノールA 0.0001 から 100 $\mu$ M(=0.0228 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験方法(設定濃度等)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、 $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

③Jolly ら(2009)によって、ビスフェノールA 0.00000001、0.000001、0.0001、0.01、1  $\mu$ M(=0.00000228、0.000228、0.0228、2.28、228 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したイトヨ腎臓細胞(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンばく露により腎臓肥大が認められた成熟雌由来)への影響が検討されているが、スピギン発現量には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、スピギン発現量には影響は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

④Xu ら(2005)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールトランスフェラ

ーゼ蛋白質発現誘導は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

#### ※参考 アンドロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

- ⑤Sun ら(2006)によって、ビスフェノールA0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。

#### (7)抗アンドロゲン作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Jolly ら(2009)によって、ビスフェノールA 0.00000001、0.000001、0.0001、0.01、1  $\mu$ M(=0.00000228、0.000228、0.0228、2.28、228 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 10nM 共存下)したイトヨ腎臓細胞(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンばく露により腎臓肥大が認められた成熟雌由来)への影響が検討されている。その結果として、0.01 $\mu$ M(=2.28 $\mu$ g/L)の濃度でスピギン発現誘導に対する阻害が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、スピギン発現誘導に対する阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

- ②Lee ら(2003)によって、ビスフェノールA0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(テストステロン10nM 共存下)したマウスセルトリ細胞15p-1(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.08 $\mu$ M(=18.2 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、ビスフェノールA0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(テストステロン10nM 共存下)したヒト肝臓がん細胞 HepG2(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.318 $\mu$ M(=72.6 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、ビスフェノールA0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に3時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)した酵母(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub>値 1.8 $\mu$ M(=411 $\mu$ g/L)の濃度で $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験動物の入手先の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

③Xu ら(2005)によって、ビスフェノールA0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ ジヒドロテストステロン 1nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導)が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度でクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

⑤Teng ら(2013)によって、ビスフェノールA0.01 から 100 $\mu$ M(=2.28 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(R1881 0.5nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub>値 2.34 $\mu$ M(=534 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

⑦Sohoni と Sumpter (1998)によって、ビスフェノールA0.01 から 100 $\mu$ M(=2.28 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ ジヒドロテストステロン 1.25nM 共存下)した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を



用いた  $\beta$  ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、 $IC_{50}$  値約  $10\mu M(=2,280\mu g/L)$ の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験方法(設定濃度等)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

#### ※参考 抗アンドロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

- ④Sun ら(2006)によって、ビスフェノールA0.1、1、 $10\mu M(=22.8、228、2,280\mu g/L)$ の濃度に24時間ばく露( $5\alpha$ ジヒドロテストステロン  $1nM$  共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$  ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、 $1\mu M(=228\mu g/L)$ 以上の濃度で  $\beta$  ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。
- ⑥Ermler ら(2010)によって、ビスフェノールA0.1 から  $100\mu M(=22.8$  から  $22,800\mu g/L)$ の濃度に24時間ばく露( $5\alpha$ ジヒドロテストステロン  $0.25nM$  共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-kb2(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、 $IC_{50}$  値  $4.2\mu M(=958\mu g/L)$ の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。
- ⑧Roy ら(2004)によって、ビスフェノールA0.1、1、10、 $50\mu M(=22.8、228、2,280、11,400\mu g/L)$ の濃度に24時間ばく露(R1881  $0.1nM$  共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO K1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、 $IC_{50}$  値  $19.6\mu M(=4,470\mu g/L)$ の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。(12223)(、p.)
- ⑨Fang ら(2003)によって、ビスフェノールA0.00428 から  $428\mu M(=0.976$  から  $97,600\mu g/L)$ の濃度でアンドロゲン受容体(ヒトアンドロゲン受容体と同じリガンド結合ドメインをもつ)を用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、 $IC_{50}$  値  $75\mu M(=17,100\mu g/L)$ の濃度で R1881  $1nM$  に対する結合阻害が認められた。
- ⑩Kim ら(2010)によって、ビスフェノールA10 から  $1,000\mu M(=2,280$  から  $228,000\mu g/L)$ の濃度でアンドロゲン受容体(ヒトアンドロゲン受容体と同じリガンド結合ドメインをもつ)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた結合阻害試験)が検討されている。その結果として、 $IC_{50}$  値  $110\mu M(=17,100\mu g/L)$ の濃度で R1881  $8nM$  に対する結合阻害が認められた。

#### (8)甲状腺ホルモン作用

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Ghisari と Bonfeld-Jorgensen (2005)によって、ビスフェノールA0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に6日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(T-Screen assay)が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度で細胞濃度の高値が認められた。なお、この細胞増殖活性は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 18-2780 1nM 共存下で阻害された。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、細胞濃度の高値、細胞増殖活性が、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 18-2780 共存下で阻害されたことが認められたが、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：甲状腺ホルモン作用については不明

#### ※参考 甲状腺ホルモン作用(今回評価対象としなかった文献)

②Sheng ら(2012)によって、ビスフェノールA0.001 から 0.1 $\mu$ M(=0.228 から 22.8 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(甲状腺ホルモン受容体  $\beta$ 1 を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

③Sun ら(2009)によって、ビスフェノールA 1、2.5、10、31.6 $\mu$ M(=228、570、2,280、7,200 $\mu$ g/L)の濃度に12時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

④Freitas ら(2011)によって、ビスフェノールA0.01、0.05、0.1、1、5、10、50、100、500 $\mu$ M(=2.28、11.4、22.8、114、228、1,140、2,228、11,400、22,800、114,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

⑤Terasaki ら(2011)によって、ビスフェノールA100 $\mu$ M(=22,800 $\mu$ g/L)までの濃度に4時間ばく露した酵母(ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

#### (9)抗甲状腺ホルモン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

②Moriyama ら(2002)によって、ビスフェノールA0.001、0.01、0.1、1、10、100M(=0.228、2.28、22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に8時間ばく露(トリヨードサイロニン 3 nM 共存下)したヒ

ト腎臓細胞 TSA201(ヒト胚由来、ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\alpha 1$  又は  $\beta 1$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、 $1 \mu\text{M}(=228\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

⑧Ishihara ら(2003)によって、ビスフェノールA  $8 \mu\text{M}(=1,820\mu\text{g/L})$ の濃度でニホンウズラ血清由来精製トランスサイレチンを用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、トリヨードサイロニン  $0.1\text{nM}$  に対する結合阻害が認められた。

なお、ビスフェノールA  $1 \mu\text{M}(=228\mu\text{g/L})$ の濃度で由来甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  リガンド結合ドメインを用いた結合阻害試験が検討されているが、トリヨードサイロニン  $0.1\text{nM}$  に対する結合阻害は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験方法(試験動物の性別、飼育条件)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、トリヨードサイロニンに対する結合阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Sheng ら(2012)によって、ビスフェノールA  $0.001$  から  $0.1\mu\text{M}(=0.228$  から  $22.8\mu\text{g/L})$ の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン  $0.1\text{nM}$  共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(甲状腺ホルモン受容体  $\beta 1$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、 $0.001\mu\text{M}(=0.228\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。※疑惑論文

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験結果のねつ造が疑われており、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑥Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)によって、ビスフェノールA  $0.01$ 、 $0.1$ 、 $1$ 、 $10\mu\text{M}(=22.8$ 、 $228$ 、 $2,280\mu\text{g/L})$ の濃度に 6 日間ばく露(トリヨードサイロニン  $0.5\text{nM}$  共存下)したラット下垂体腫

瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(T-Screen assay)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

#### ※参考 抗甲状腺ホルモン(今回評価対象としなかった文献)

- ③Sun ら(2009)によって、ビスフェノールA 1、2.5、10、31.6 $\mu$ M(=228、570、2,280、7,200 $\mu$ g/L)の濃度に 12 時間ばく露(トリヨードサイロニン 10nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。
- ④Freitas ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.01、0.05、0.1、1、5、10、50、100、500 $\mu$ M(=2.28、11.4、22.8、114、228、1,140、2,228、11,400、22,800、114,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 0.25nM 共存下)したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値約 50 $\mu$ M(=11,400 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する微弱な阻害が認められた。
- ⑤Terasaki ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.4、8、20 $\mu$ M(=182、912、4,560 $\mu$ g/L)までの濃度に 4 時間ばく露(トリヨードサイロニン 100nM 共存下)した酵母(ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかった。
- ⑦Marchesini ら(2006)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度の濃度でサイロキシン被膜化バイオセンサーを用いた結合阻害試験が検討されているが、サイロキシン結合グロブリン、トランスサイレチンに対する結合阻害は認められなかった。

#### (10)ステロイド産生への影響

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Kim ら(2010)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に最長 72 時間ばく露したラットライディッヒ細胞 RC2 への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(24 時間)の低値、アロマターゼ mRNA 相対発現量(24 時間)、アロマターゼ相対発現量(72 時間)、細胞増殖率(テストステロン 0.1 $\mu$ M 共存下、72 時間)、シクロオキシゲナーゼ-2 mRNA 相対発現量(16 時間)、プロスタグランジン E2 産生量(24

時間)、cAMP 産生量(18 時間)の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、テストステロン産生量の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

②Zhou ら(2008)によって、ビスフェノールA0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したラット卵巣莢膜及び間質細胞(幼若雌 SD ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量、P450scc mRNA 相対発現量の高値、0.1、10、100 $\mu$ M(=22.8、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度で P450c17 mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度で StAR mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したラット卵巣顆粒膜細胞(幼若雌 SD ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度でプロゲステロン産生量の高値(ただし、100 $\mu$ M では低値)、1  $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の濃度でエストラジオール産生量、P450arom mRNA 相対発現量の低値、1、10 $\mu$ M(=228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度 P450scc mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ M(=22,800 $\mu$ g/L)の濃度で StAR mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、テストステロン産生量の高値、エストラジオール産生量の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用

③Nikula ら(1999)によって、ビスフェノールA0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(前処理として培養後、ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で更に 3 時間培養)したマウスライディッヒ腫瘍細胞 mLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度で c-AMP 産生量の低値、1  $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の濃度でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」におい

ては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗プロゲステロン作用

- ⑧Zhang ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.039、0.156、0.625、2.5、10、40 $\mu$ M(=2.2、8.9、35.6、143、571、2,280、9,120 $\mu$ g/L)の濃度に 30 分間ばく露したヒト副腎皮質がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度で 17 $\beta$ エストラジオール代謝速度の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、17 $\beta$ エストラジオール代謝速度の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：ステロイド産生への影響

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ⑩Muroño ら(2001)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、0.5、2 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、114、456 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下 24 時間後、更に 22R-ヒドロキシコレステロール 1  $\mu$ M を添加し 4 時間)したラットライディッシュ細胞(55 から 65 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されているが、テストステロン産生量には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、テストステロン産生量には影響は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：その他の作用 (テストステロン産生系への影響)

#### ※参考 ステロイド産生への影響(今回評価対象としなかった文献)

- ④Ye ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=2.28、22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度でヒト精巣マイクロソームを用いた酵素活性阻害試験が検討されている。その結果として、3 $\beta$ ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性を IC<sub>50</sub> 値 7.92 $\mu$ M(=1,806 $\mu$ g/L)の濃度で、CYP17A1 活性を IC<sub>50</sub> 値 18.99 $\mu$ M(=4,300 $\mu$ g/L)の濃度で阻害した。

また、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=2.28、22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度でラット精巣マイクロソームを用いた酵素活性阻害試験が検討されている。その結果として、3 $\beta$ ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性を IC<sub>50</sub> 値 26.49 $\mu$ M(=6,040 $\mu$ g/L)の濃度で、CYP17A1 活性を IC<sub>50</sub> 値 64.67 $\mu$ M(=14,700 $\mu$ g/L)の濃度で阻害した。

また、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=2.28、22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)

の濃度に3時間ばく露(基質として黄体形成ホルモン 100ng/mL、プレグネノロン 20 $\mu$ M、プロゲステロン 20 $\mu$ M、アンドロステンジオン 20 $\mu$ M のいずれかの共存下)したラットライディッヒ細胞(90日齢雄 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量の低値が認められた。

⑤Dankers ら(2013)によって、ビスフェノールA 0.1、0.3、1、3、10、30 $\mu$ M(=22.8、68.4、228、2,280、6,840 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したマウスライディッヒ腫瘍細胞 MA-10 への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量の高値が認められた。

⑥Peretz と Flaws (2013)によって、ビスフェノールA 1、10、100 $\mu$ M(=228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に96時間ばく露したマウス胞状卵胞(32-35日齢雌 CD-1 マウス卵巣由来)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度でプロゲステロン産生量、アンドロステンジオン産生量、テストステロン産生量、エストラジオール産生量、StAR mRNA 相対発現量、Cyp11a1 mRNA 相対発現量の低値が認められた。

⑦Savchuk ら(2013)によって、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度に17時間ばく露(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン 10ng/mL 共存下)したマウスライディッヒ細胞(未成熟雄 CBA/Lac マウス精巣由来、血清中テストステロン/エストロゲン濃度比が高い系統)への影響が検討されている。その結果として、5 $\alpha$ -アンドロスタン-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -ジオール産生量の低値、テストステロン産生量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度に17時間ばく露(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン 10ng/mL 共存下)したマウスライディッヒ細胞(未成熟雄 C57BL/6j マウス精巣由来、血清中テストステロン/エストロゲン濃度比が低い系統)への影響が検討されている。その結果として、5 $\alpha$ -アンドロスタン-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -ジオール産生量の低値、テストステロン産生量の高値が認められた。

⑨Kwintkiewicz ら(2010)によって、ビスフェノールA 40、60、80、100 $\mu$ M(=9,130、13,700、18,300、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露(卵胞刺激ホルモン 100ng/mL 共存下)したヒト卵巣顆粒膜様がん細胞 KGN への影響が検討されている。その結果として、40 $\mu$ M(=9,120 $\mu$ g/L)以上の濃度でIGF-1 mRNA 相対発現量、CYP19 mRNA 相対発現量、転写因子 GATA4 mRNA 相対発現量の低値、80 $\mu$ M(=18,300 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -エストラジオール分泌量の低値が認められた。

また、ビスフェノールA 40、60、80、100 $\mu$ M(=9,130、13,700、18,300、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露(卵胞刺激ホルモン 100ng/mL 共存下)したヒト卵巣顆粒膜細胞への影響が検討されている。その結果として、40 $\mu$ M(=9,120 $\mu$ g/L)以上の濃度でCYP19 mRNA 相対発現量の低値が認められた。

#### ※参考 (11)神経系への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Miyatake ら(2006)によって、ビスフェノールA 0.00000001、0.0000001、0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1 $\mu$ M(=0.00000228、0.0000228、0.000228、0.00228、0.0228、0.228、2.28、22.8、228 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したマウス星状細胞(1日齢 ICR マウス中脳由来)への影響が検討されている。その結果として、0.0000001 $\mu$ M(=0.0000228 $\mu$ g/L)以上の濃度(ただし、0.0001、

0.001 $\mu$ M では影響なし)でグリア線維性酸性蛋白質発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 0.00000001、0.0000001、0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1 $\mu$ M(=0.00000228、0.0000228、0.000228、0.00228、0.0228、0.228、2.28、22.8、228 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したマウスニューロン細胞及びグリア細胞(1日齢ICRマウス中脳由来)への影響が検討されている。その結果として、0.0000001 $\mu$ M(=0.0000228 $\mu$ g/L)以上の濃度(ただし、0.0001、0.001、0.01 $\mu$ Mでは影響なし)でグリア線維性酸性蛋白質発現量の高値が認められた。

②Tanabeら(2012)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、10 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に2時間ばく露したラットCA-1神経細胞(成熟雄SDラット海馬由来)への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.1 $\mu$ M(=2.28、22.8 $\mu$ g/L)で棘突起数(樹状突起面積当)の高値が認められた。

③Iwakuraら(2010)によって、ビスフェノールA 0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)の濃度に7日間ばく露したラット視床下部細胞(妊娠15日目胎仔SDラット由来)への影響が検討されている。その結果として、Sinapsin I(シナプス前駆蛋白質の一種)発現量、MAP2(微小管結合蛋白質の一種)発現量、pERK 1(りん酸化細胞外シグナル調節キナーゼの一種)発現量、pERK 2(りん酸化細胞外シグナル調節キナーゼの一種)発現量の高値が認められた。

④NakazawaとOhno(2001)によって、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度にばく露したアフリカツメガエル卵母細胞(ヒト神経細胞ニコチン受容体 $\alpha 3\beta 4$ を発現)への影響が検討されている。その結果として、興奮電位(アセチルコリン300 $\mu$ M共存下、20秒間)の低値が認められた。

⑤Matsunagaら(2010)によって、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラットニューロン細胞(妊娠17日目ラット由来)への影響が検討されているが、MAP2又はTau(いずれも微小管結合蛋白質の一種)を発現する神経突起長には影響は認められなかった。

#### ※参考 (12)免疫系への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Watanabeら(2003)によって、ビスフェノールA 10.0001、0.001、0.01、0.1 $\mu$ M(=0.0228、0.228、2.28、22.8 $\mu$ g/L)の濃度に6日間ばく露(顆粒球コロニー刺激因子25ng/mL共存下)したヒト白血病細胞HL-60への影響が検討されている。その結果として、0.0001 $\mu$ M(=0.0228 $\mu$ g/L)以上の濃度でオプソニン化ザイモサン誘導性スーパーオキシド産生量の高値、0.0001 $\mu$ M(=0.0228 $\mu$ g/L)の濃度でオプソニン化ザイモサン誘導性CD18受容体発現量の高値が認められた。

#### ※参考 (13)成長因子及び成長ホルモン産生への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Nanjappaら(2012)によって、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度に18時間ばく露(黄体形成ホルモン10ng/mL共存下)したラットライディッヒ前駆細胞(21日齢ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、インスリン様成長因子1受容体相対発現量、上皮成長因子受容体相対発現量の高値が認められた。

②Okadaら(2007)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞GH3への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の成長ホルモン産生量の高値が認められた。



※参考 (14)脂肪細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Masuno ら(2003)によって、ビスフェノールA0.001 $\mu$ M(=0.228 $\mu$ g/L)の濃度に6時間ばく露したヒト脂肪細胞(ヒト乳房組織、ヒト腹部上皮組織由来)への影響が検討されている。その結果として、アディポネクチン産生量の低値が認められた。

2. 総合的判断(案)

得られた報告について信頼性評価を実施した結果として、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告が得られた。

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗プロゲステロン作用、ステロイド産生への影響を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表14に示した。

表14 信頼性評価のまとめ

物質名：ビスフェノールA

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(1)生態影響(魚類)	免疫毒性	①Xu ら(2013)	○	?	—
	エストロゲン様作用	②Hatef ら(2012a)	△	○P	○
	エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	③Hatef ら(2012b)	△	○P	○
		④Mandich ら(2007)評価未実施			
		⑤Molina ら(2013)評価未実施			
		⑥Kwak ら(2001)評価未実施			
		⑦Saili ら(2012)評価未実施			
		⑧Zhang ら(2014)評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
	⑨Gao ら(2014) 評価未実施			
	⑩Zhang ら(2013) 評価未実施			
	⑪Liu ら(2012) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑫Sun ら(2014)	△	○P	○
	⑬Huang ら(2010) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑭Yokota ら(2000)	○	○P	○
	⑮Zhang ら(2014) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑯Lee ら(2002)	△	○P	○
エストロゲン様作用	⑰Mihaich ら(2012)	○	○P	○
	⑱Larsen ら(2006)評 価未実施			
	⑲Bhandari ら(2015)	×	—	×
	⑳Shanthanagouda ら (2014) 評価未実施			
エストロゲン様作用	㉑Li ら(2012)	△	○P	○
	㉒Chen ら(2008) 評価未実施			
	㉓Metcalf ら(2001)評 価未実施			
エストロゲン様作用	㉔Staples ら(2011)	○	○P	○
	㉕Huang ら(2011) 評価未実施			
	㉖Wang ら(2013) 評価未実施			
	㉗Suzuki ら(2003)評 価未実施			
	㉘Rhee ら(2011) 評価未実施			
	㉙Yu ら(2008) 評価未実施			
	㉚Pelayo ら(2012) 評価未実施			
	㉛Song ら(2014) 評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
エストロゲン様作用	⑳Tabata ら(2004)	△	○P	○	
	㉑Rhee ら(2009) 評価未実施				
	㉒Rhee ら(2008) 評価未実施				
	㉓Lee ら(2008) 評価未実施				
	㉔Seo ら(2006) 評価未実施				
	㉕Lee ら(2006) 評価未実施				
	エストロゲン様作用	㉖Kang ら(2002)	○	○P	○
		㉗Kamata ら(2011)評価未実施			
	エストロゲン様作用	㉘van den Belt ら(2003)	△	○P	○
		㉙Segner ら(2003)評価未実施			
		㉚Kausch ら(2008)評価未実施			
		㉛Cotter ら(2013)評価未実施			
		㉜Kishida ら(2001)評価未実施			
	視床下部一下垂体一生殖腺への作用	㉝Shioda と Wakabayashi (2000)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	㉞Chow ら(2013)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	㉟Schiller ら(2014)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	㊱Yamaguchi ら(2005)	○	○P	○
		㊲Wu ら(2012) 評価未実施			
		㊳Mochida ら(2004)評価未実施			
		㊴Pastva ら(2001)評価未実施			
(2)生態影響(両生類)	エストロゲン様作用	①Levy ら(2004)	○	○P	○
	エストロゲン様作用	②Kloas ら(1999)	×	—	×
	抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	③Iwamuro ら(2003)	×	—	×

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
	④Selcer と Verbanic (2014) 評価未実施			
	⑤Yang ら(2005) 評価未実施			
	⑥Pickford ら(2003)評 価未実施			
(3)生態 影響(甲 殻類)	①Marcial ら(2003)評 価未実施			
	②Brennan ら(2006)評 価未実施			
	③Caspers (1998) 評価未実施			
(4)生態 影響(軟 体動物 等)	①Oehlmann ら(2006) 評価未実施			
	②Jobling ら(2004)評 価未実施			
	③Oehlmann ら(2000) 評価未実施			
	④Sieratowicz ら (2011) 評価未実施			
	⑤Schirling ら(2006) 評価未実施			
	⑥Mihaich ら(2009)評 価未実施			
	⑦Ortiz-Zarragoitia と Cajaraville (2006) 評価未実施			
(5)抗エストロゲン作用	①Teng ら(2013)	△	○N	×
	②Sohoni と Sumpter (1998)	△	○N	×
(6)アンドロゲン作用	①Teng ら(2013)	△	○N	×
	②Sohoni と Sumpter (1998)	△	○N	×
	③Jolly ら(2009)	○	○N	×
	④Xu ら(2005)	○	○N	×
	⑤Sun ら(2006) 評価未実施			
(7)抗アンドロゲン作用	①Jolly ら(2009)	○	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
	②Lee ら(2003)	△	○P	○
	③Xu ら(2005)	○	○P	○
	④Sun ら(2006) 評価未実施			
	⑤Teng ら(2013)	△	○P	○
	⑥Ermler ら(2010)評 価未実施			
	⑦Sohoni と Sumpter (1998)	△	○P	○
	⑧Roy ら(2004) 評価未実施			
	⑨Fang ら(2003) 評価未実施			
	⑩Kim ら(2010) 評価未実施			
(8)甲状腺ホルモン作用	①Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)	△	? エストロゲン作用は認められた	—
	②Sheng ら(2012)	×	—	×
	③Sun ら(2009) 評価未実施			
	④Freitas ら(2011)評 価未実施			
	⑤Terasaki ら(2011)評 価未実施			
(9)抗甲状腺ホルモン作用	①Sheng ら(2012)	×	—	×
	②Moriyama ら(2002)	△	○P	○
	③Sun ら(2009) 評価未実施			
	④Freitas ら(2011)評 価未実施			
	⑤Terasaki ら(2011)評 価未実施			
	⑥Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)	△	○N	×
	⑦Marchesini ら(2006) 評価未実施			
	⑧Ishihara ら(2003)	△	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(10)ステロイド産生への影響	抗アンドロゲン作用	①Kim ら(2010)	△	○P	○
	抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用	②Zhou ら(2008)	△	○P	○
	抗プロゲステロン作用	③Nikula ら(1999)	△	○P	○
		④Ye ら(2011) 評価未実施			
		⑤Dankers ら(2013)評価未実施			
		⑥Peretz と Flaws(2013) 評価未実施			
		⑦Savchuk ら(2013)評価未実施			
	エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用	⑧Zhang ら(2011)	△	○P	○
	ステロイド産生への影響	⑨Kwintkiewicz ら(2010) 評価未実施			
	その他の作用(テストステロン産生系への影響)	⑩Murono ら(2001)	△	○N	×
(11)神経系への影響		①Miyatake ら(2006) 評価未実施			
		②Tanabe ら(2012)評価未実施			
		③Iwakura ら(2010)評価未実施			
		④Nakazawa と Ohno(2001) 評価未実施			
		⑤Matsunaga ら(2010) 評価未実施			
(12)免疫系への影響		①Watanabe ら(2003) 評価未実施			
(13)成長因子		①Nanjappa ら(2012) 評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
及び成長ホルモン産生への影響	②Okada ら(2007) 評価未実施			
(14)脂肪細胞への影響	①Masuno ら(2003) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗プロゲステロン作用、ステロイド産生への影響を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 参考文献

Marcial HS, Hagiwara A and Snell TW (2003) Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (12), 3025-3030.

Brennan SJ, Brougham CA, Roche JJ and Fogarty AM (2006) Multi-generational effects of four selected environmental oestrogens on *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 64 (1), 49-55.

Caspers N (1998) No estrogenic effects of Bisphenol A in *Daphnia magna* STRAUS. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61 (2), 143-148.

Xu H, Yang M, Qiu W, Pan C and Wu M (2013) The impact of endocrine-disrupting chemicals on oxidative stress and innate immune response in zebrafish embryos. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (8), 1793-1799.

Hatef A, Zare A, Alavi SM, Habibi HR and Linhart O (2012a) Modulations in androgen and estrogen mediating genes and testicular response in male goldfish exposed to bisphenol A. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (9), 2069-2077.

- Hatef A, Alavi SM, Abdulfatah A, Fontaine P, Rodina M and Linhart O (2012b) Adverse effects of bisphenol A on reproductive physiology in male goldfish at environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76 (2), 56-62.
- Mandich A, Bottero S, Benfenati E, Cevasco A, Erratico C, Maggioni S, Massari A, Pedemonte F and Vigano L (2007) *In vivo* exposure of carp to graded concentrations of bisphenol A. *General and Comparative Endocrinology*, 153 (1-3), 15-24.
- Molina AM, Lora AJ, Blanco A, Monterde JG, Ayala N and Moyano R (2013) Endocrine-active compound evaluation: Qualitative and quantitative histomorphological assessment of zebrafish gonads after bisphenol-A exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88, 155-162.
- Kwak HI, Bae MO, Lee MH, Lee YS, Lee BJ, Kang KS, Chae CH, Sung HJ, Shin JS, Kim JH, Mar WC, Sheen YY and Cho MH (2001) Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (4), 787-795.
- Saili KS, Corvi MM, Weber DN, Patel AU, Das SR, Przybyla J, Anderson KA and Tanguay RL (2012) Neurodevelopmental low-dose bisphenol A exposure leads to early life-stage hyperactivity and learning deficits in adult zebrafish. *Toxicology*, 291 (1-3), 83-92.
- Zhang Y, Gao J, Xu P, Yuan C, Qin F, Liu S, Zheng Y, Yang Y and Wang Z (2014) Low-dose bisphenol A disrupts gonad development and steroidogenic genes expression in adult female rare minnow *Gobiocypris rarus*. *Chemosphere*, 112, 435-442.
- Gao J, Zhang Y, Yang Y, Yuan C, Qin F, Liu S, Zheng Y and Wang Z (2014) Molecular characterization of PXR and two sulfotransferases and hepatic transcripts of PXR, two sulfotransferases and *CYP3A* responsive to bisphenol A in rare minnow *Gobiocypris rarus*. *Molecular Biology Reports*, 41 (11), 7153-7165.
- Zhang Y, Yuan C, Hu G, Li M, Zheng Y, Gao J, Yang Y, Zhou Y and Wang Z (2013) Characterization of four nr5a genes and gene expression profiling for testicular steroidogenesis-related genes and their regulatory factors in response to bisphenol A in rare minnow *Gobiocypris rarus*. *General and Comparative Endocrinology*, 194, 31-44.
- Liu S, Qin F, Wang H, Wu T, Zhang Y, Zheng Y, Li M and Wang Z (2012) Effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and bisphenol A on steroidogenic messenger ribonucleic acid levels in the rare minnow gonads. *Aquatic Toxicology*, 122-123, 19-27.
- Sun L, Lin X, Jin R, Peng T, Peng Z and Fu Z (2014) Toxic Effects of Bisphenol A on Early Life Stages of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 93 (2), 222-227.



- Huang W, Zhang Y, Jia X, Ma X, Li S, Liu Y, Zhu P, Lu D, Zhao H, Luo W, Yi S, Liu X and Lin H (2010) Distinct expression of three estrogen receptors in response to bisphenol A and nonylphenol in male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36 (2), 237-249.
- Yokota H, Tsuruda Y, Maeda M, Oshima Y, Tadokoro H, Nakazono A, Honjo T and Kobayashi K (2000) Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19 (7), 1925-1930.
- Zhang Y, Yuan C, Qin F, Hu G and Wang Z (2014) Molecular characterization of *gdf9* and *bmp15* genes in rare minnow *Gobiocypris rarus* and their expression upon bisphenol A exposure in adult females. *Gene*, 546 (2), 214-221.
- Lee C, Na JG, Lee KC and Park K (2002) Choriogenin mRNA induction in male medaka, *Oryzias latipes* as a biomarker of endocrine disruption. *Aquatic Toxicology*, 61 (3-4), 233-241.
- Mihaich E, Rhodes J, Wolf J, van der Hoeven N, Dietrich D, Hall AT, Caspers N, Ortego L, Staples C, Dimond S and Hentges S (2012) Adult fathead minnow, *Pimephales promelas*, partial life-cycle reproductive and gonadal histopathology study with bisphenol A. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (11), 2525-2535.
- Larsen BK, Bjornstad A, Sundt RC, Taban IC, Pampanin DM and Andersen OK (2006) Comparison of protein expression in plasma from nonylphenol and bisphenol A-exposed Atlantic cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) by use of SELDI-TOF. *Aquatic Toxicology*, 78 (Supplement 1), S25-S33.
- Bhandari RK, vom Saal FS and Tillitt DE (2015) Transgenerational effects from early developmental exposures to bisphenol A or 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in medaka, *Oryzias latipes*. *Scientific Reports*, 5, 9303. doi: 10.1038/srep09303.
- Shanthanagouda AH, Nugegoda D and Patil JG (2014) Effects of Bisphenol A and Fadrozole Exposures on *cyp19a1* Expression in the Murray Rainbowfish, *Melanotaenia fluviatilis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 67 (2), 270-280.
- Li Z, Zhang H, Gibson M and Liu P (2012) An evaluation of the combined effects of phenolic endocrine disruptors on vitellogenin induction in goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21 (7), 1919-1927.
- Chen X, Li VW, Yu RM and Cheng SH (2008) Choriogenin mRNA as a sensitive molecular biomarker for estrogenic chemicals in developing brackish medaka (*Oryzias melastigma*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71 (1), 200-208.

- Metcalfe CD, Metcalfe TL, Kiparissis Y, Koenig BG, Khan C, Hughes RJ, Croley TR, March RE and Potter T (2001) Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by *in vivo* assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (2), 297-308.
- Staples CA, Tilghman Hall A, Friederich U, Caspers N and Klecka GM (2011) Early life-stage and multigeneration toxicity study with bisphenol A and fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 (6), 1548-1557.
- Huang Q, Fang C, Chen Y, Wu X, Ye T, Lin Y and Dong S (2011) Embryonic exposure to low concentration of bisphenol A affects the development of *Oryzias melastigma* larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 19 (7), 2506-2514.
- Wang X, Dong Q, Chen Y, Jiang H, Xiao Q, Wang Y, Li W, Bai C, Huang C and Yang D (2013) Bisphenol A affects axonal growth, musculature and motor behavior in developing zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 142-143, 104-113.
- Suzuki N, Kambegawa A and Hattori A (2003) Bisphenol A influences the plasma calcium level and inhibits calcitonin secretion in goldfish. *Zoological Science*, 20 (6), 745-748.
- Rhee JS, Kim BM, Lee CJ, Yoon YD, Lee YM and Lee JS (2011) Bisphenol A modulates expression of sex differentiation genes in the self-fertilizing fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Aquatic Toxicology*, 104 (3-4), 218-229.
- Yu IT, Rhee JS, Raisuddin S and Lee JS (2008) Characterization of the glutathione S-transferase-Mu (GSTM) gene sequence and its expression in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus* as a function of development, gender type and chemical exposure. *Chemico-Biological Interactions*, 174 (2), 118-125.
- Song M, Liang D, Liang Y, Chen M, Wang F, Wang H and Jiang G (2014) Assessing developmental toxicity and estrogenic activity of halogenated bisphenol A on zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 112, 275-281.
- Tabata A, Watanabe N, Yamamoto I, Ohnishi Y, Itoh M, Kamei T, Magara Y and Terao Y (2004) The effect of bisphenol A and chlorinated derivatives of bisphenol A on the level of serum vitellogenin in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Water Science and Technology*, 50 (5), 125-132.
- Rhee JS, Kang HS, Raisuddin S, Hwang DS, Han J, Kim RO, Seo JS, Lee YM, Park GS, Lee SJ and Lee JS (2009) Endocrine disruptors modulate expression of hepatic choriogenin genes in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 150 (2), 170-178.

- Rhee JS, Seo JS, Raisuddin S, Ki JS, Lee KW, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2008) Gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) gene expression is differently modulated in gender types of the hermaphroditic fish *Kryptolebias marmoratus* by endocrine disrupting chemicals. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147 (3), 357-365.
- Lee YM, Raisuddin S, Rhee JS, Ki JS, Kim IC and Lee JS (2008) Modulatory effect of environmental endocrine disruptors on *N-ras* oncogene expression in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147 (3), 299-305.
- Seo JS, Lee YM, Jung SO, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2006) Nonylphenol modulates expression of androgen receptor and estrogen receptor genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346 (1), 213-223.
- Lee YM, Seo JS, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2006) Endocrine disrupting chemicals (bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-*tert*-octylphenol) modulate expression of two distinct cytochrome P450 aromatase genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345 (2), 894-903.
- Kang IJ, Yokota H, Oshima Y, Tsuruda Y, Oe T, Imada N, Tadokoro H and Honjo T (2002) Effects of bisphenol a on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 (11), 2394-2400.
- Kamata R, Itoh K, Nakajima D, Kageyama S, Sawabe A, Terasaki M and Shiraishi F (2011) The feasibility of using mosquitofish (*Gambusia affinis*) for detecting endocrine-disrupting chemicals in the freshwater environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30 (12), 2778-2785.
- van den Belt K, Verheyen R and Witters H (2003) Comparison of vitellogenin responses in zebrafish and rainbow trout following exposure to environmental estrogens. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56 (2), 271-281.
- Segner H, Navas JM, Schafers C and Wenzel A (2003) Potencies of estrogenic compounds in *in vitro* screening assays and in life cycle tests with zebrafish *in vivo*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54 (3), 315-322.
- Kausch U, Alberti M, Haindl S, Budczies J and Hock B (2008) Biomarkers for exposure to estrogenic compounds: Gene expression analysis in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology*, 23 (1), 15-24.
- Cotter KA, Yershov A, Novillo A and Callard GV (2013) Multiple structurally distinct ERalpha mRNA variants in zebrafish are differentially expressed by tissue type, stage of development and estrogen exposure. *General and Comparative Endocrinology*, 194, 217-229.

- Kishida M, McLellan M, Miranda JA and Callard GV (2001) Estrogen and xenoestrogens upregulate the brain aromatase isoform (P450aromB) and perturb markers of early development in zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 129 (2-3), 261-268.
- Shioda T and Wakabayashi M (2000) Effect of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 40 (3), 239-243.
- Chow WS, Chan WK and Chan KM (2013) Toxicity assessment and vitellogenin expression in zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae acutely exposed to bisphenol A, endosulfan, heptachlor, methoxychlor and tetrabromobisphenol A. *Journal of Applied Toxicology*, 33 (7), 670-678.
- Schiller V, Zhang X, Hecker M, Schafers C, Fischer R and Fenske M (2014) Species-specific considerations in using the fish embryo test as an alternative to identify endocrine disruption. *Aquatic Toxicology*, 155, 62-72.
- Yamaguchi A, Ishibashi H, Kohra S, Arizono K and Tominaga N (2005) Short-term effects of endocrine-disrupting chemicals on the expression of estrogen-responsive genes in male medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 72 (3), 239-249.
- Wu T, Wang H, Qin F, Liu S, Li M, Xu P and Wang Z (2012) Expression of zona pellucida B proteins in juvenile rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, 4-nonylphenol and bisphenol A. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 155 (2), 259-268.
- Mochida K, Ohkubo N, Matsubara T, Ito K, Kakuno A and Fujii K (2004) Effects of endocrine-disrupting chemicals on expression of ubiquitin C-terminal hydrolase mRNA in testis and brain of the Japanese common goby. *Aquatic Toxicology*, 70 (2), 123-136.
- Pastva SD, Villalobos SA, Kannan K and Giesy JP (2001) Morphological effects of Bisphenol-A on the early life stages of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 45 (4-5), 535-541.
- Levy G, Lutz I, Kruger A and Kloas W (2004) Bisphenol A induces feminization in *Xenopus laevis* tadpoles. *Environmental Research*, 94 (1), 102-111.
- Kloas W, Lutz I and Einspanier R (1999) Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals *in vitro* and *in vivo*. *Science of the Total Environment*, 225 (1-2), 59-68.
- Iwamuro S, Sakakibara M, Terao M, Ozawa A, Kurobe C, Shigeura T, Kato M and Kikuyama S (2003) Teratogenic and anti-metamorphic effects of bisphenol A on embryonic and larval *Xenopus laevis*. *General and Comparative Endocrinology*, 133 (2), 189-198.
- Selcer KW and Verbanic JD (2014) Vitellogenin of the northern leopard frog (*Rana pipiens*): Development of an ELISA assay and evaluation of induction after immersion in xenobiotic estrogens. *Chemosphere*, 112, 348-354.

- Yang FX, Xu Y and Wen S (2005) Endocrine-disrupting effects of nonylphenol, bisphenol A, and *p,p'*-DDE on *Rana nigromaculata* tadpoles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75 (6), 1168-1175.
- Pickford DB, Hetheridge MJ, Caunter JE, Hall AT and Hutchinson TH (2003) Assessing chronic toxicity of bisphenol A to larvae of the African clawed frog (*Xenopus laevis*) in a flow-through exposure system. *Chemosphere*, 53 (3), 223-235.
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Bachmann J, Oetken M, Lutz I, Kloas W and Ternes TA (2006) Bisphenol A induces superfeminization in the ramshorn snail *Marisa cornuarietis* (*Gastropoda: Prosobranchia*) at environmentally relevant concentrations. *Environmental Health Perspectives*, 114 (Supplement 1), 127-133.
- Jobling S, Casey D, Rogers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawlowski S, Baunbeck T, Turner AP and Tyler CR (2004) Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology*, 66 (2), 207-222.
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M and Markert B (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (*Mollusca: Gastropoda*) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicology*, 9 (6), 383-397.
- Sieratowicz A, Stange D, Schulte-Oehlmann U and Oehlmann J (2011) Reproductive toxicity of bisphenol A and cadmium in *Potamopyrgus antipodarum* and modulation of bisphenol A effects by different test temperature. *Environmental Pollution*, 159 (10), 2766-2774.
- Schirling M, Bohlen A, Triebkorn R and Kohler HR (2006) An invertebrate embryo test with the apple snail *Marisa cornuarietis* to assess effects of potential developmental and endocrine disruptors. *Chemosphere*, 64 (10), 1730-1738.
- Mihaich EM, Friederich U, Caspers N, Hall AT, Klecka GM, Dimond SS, Staples CA, Ortego LS and Hentges SG (2009) Acute and chronic toxicity testing of bisphenol A with aquatic invertebrates and plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72 (5), 1392-1399.
- Ortiz-Zarragoitia M and Cajaraville MP (2006) Biomarkers of exposure and reproduction-related effects in mussels exposed to endocrine disruptors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50 (3), 361-369.
- Teng C, Goodwin B, Shockley K, Xia M, Huang R, Norris J, Merrick BA, Jetten AM, Austin CP and Tice RR (2013) Bisphenol A affects androgen receptor function via multiple mechanisms. *Chemico-Biological Interactions*, 203 (3), 556-564.
- Sohoni P and Sumpter JP (1998) Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *Journal of*

Endocrinology, 158 (3), 327-339.

Jolly C, Katsiadaki I, Morris S, Le Belle N, Dufour S, Mayer I, Pottinger TG and Scott AP (2009) Detection of the anti-androgenic effect of endocrine disrupting environmental contaminants using *in vivo* and *in vitro* assays in the three-spined stickleback. *Aquatic Toxicology*, 92 (4), 228-239.

Xu LC, Sun H, Chen JF, Bian Q, Qian J, Song L and Wang XR (2005) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of bisphenol A, octylphenol and nonylphenol *in vitro*. *Toxicology*, 216 (2-3), 197-203.

Sun H, Xu LC, Chen JF, Song L and Wang XR (2006) Effect of bisphenol A, tetrachlorobisphenol A and pentachlorophenol on the transcriptional activities of androgen receptor-mediated reporter gene. *Food and Chemical Toxicology*, 44 (11), 1916-1921.

Lee HJ, Chattopadhyay S, Gong EY, Ahn RS and Lee K (2003) Antiandrogenic effects of bisphenol A and nonylphenol on the function of androgen receptor. *Toxicological Sciences*, 75 (1), 40-46.

Ermler S, Scholze M, and Kortenkamp A (2010) The sensitivity of the MDA-kb2 cell *in vitro* assay in detecting anti-androgenic chemicals--identification of sources of variability and estimation of statistical power. *Toxicology in Vitro*, 24 (6), 1845-1853.

Roy P, Salminen H, Koskimies P, Simola J, Smeds A, Saukko P and Huhtaniemi IT (2004) Screening of some anti-androgenic endocrine disruptors using a recombinant cell-based *in vitro* bioassay. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 88 (2), 157-166.

Fang H, Tong W, Branham WS, Moland CL, Dial SL, Hong H, Xie Q, Perkins R, Owens W and Sheehan DM (2003) Study of 202 natural, synthetic, and environmental chemicals for binding to the androgen receptor. *Chemical Research in Toxicology*, 16 (10), 1338-1358.

Kim JY, Han EH, Kim HG, Oh KN, Kim SK, Lee KY and Jeong HG (2010) Bisphenol A-induced aromatase activation is mediated by cyclooxygenase-2 up-regulation in rat testicular Leydig cells. *Toxicology Letters*, 193 (2), 200-208.

Ghisari M and Bonefeld-Jorgensen EC (2005) Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat *GH3* cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 244 (1-2), 31-41.

Sheng ZG, Tang Y, Liu YX, Yuan Y, Zhao BQ, Chao XJ and Zhu BZ (2012) Low concentrations of bisphenol a suppress thyroid hormone receptor transcription through a nongenomic mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 259 (1), 133-142.

Sun H, Shen OX, Wang XR, Zhou L, Zhen SQ and Chen XD (2009) Anti-thyroid hormone activity of bisphenol A, tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A in an improved reporter gene assay. *Toxicology in Vitro*, 23

(5), 950-954.

Freitas J, Cano P, Craig-Veit C, Goodson ML, Furlow JD and Murk AJ (2011) Detection of thyroid hormone receptor disruptors by a novel stable *in vitro* reporter gene assay. *Toxicology in Vitro*, 25 (1), 257-266.

Terasaki M, Kosaka K, Kunikane S, Makino M and Shiraishi F (2011) Assessment of thyroid hormone activity of halogenated bisphenol A using a yeast two-hybrid assay. *Chemosphere*, 84 (10), 1527-1530.

Marchesini GR, Meulenberg E, Haasnoot W, Mizuguchi M and Irth H (2006) Biosensor recognition of thyroid-disrupting chemicals using transport proteins. *Analytical Chemistry*, 78 (4), 1107-1114.

Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, Hataya Y, Shimatsu A, Kuzuya H and Nakao K (2002) Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87 (11), 5185-5190.

Ishihara A, Nishiyama N, Sugiyama S and Yamauchi K (2003) The effect of endocrine disrupting chemicals on thyroid hormone binding to Japanese quail transthyretin and thyroid hormone receptor. *General and Comparative Endocrinology*, 134 (1), 36-43.

Kim JY, Han EH, Kim HG, Oh KN, Kim SK, Lee KY and Jeong HG (2010) Bisphenol A-induced aromatase activation is mediated by cyclooxygenase-2 up-regulation in rat testicular Leydig cells. *Toxicology Letters*, 193 (2), 200-208.

Zhou W, Liu J, Liao L and Han S (2008) Effect of bisphenol A on steroid hormone production in rat ovarian theca-interstitial and granulosa cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 283 (1-2), 12-18.

Nikula H, Talonpoika T, Kaleva M and Toppari J (1999) Inhibition of hCG-stimulated steroidogenesis in cultured mouse Leydig tumor cells by bisphenol A and octylphenols. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 157 (3), 166-173.

Ye L, Zhao B, Hu G, Chu Y and Ge RS (2011) Inhibition of human and rat testicular steroidogenic enzyme activities by bisphenol A. *Toxicology Letters*, 207 (2), 137-142.

Dankers AC, Roelofs MJ, Piersma AH, Sweep FC, Russel FG, van den Berg M, van Duursen MB and Masereeuw R (2013) Endocrine disruptors differentially target ATP-binding cassette transporters in the blood-testis barrier and affect Leydig cell testosterone secretion *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 136 (2), 382-391.

Peretz J and Flaws JA (2013) Bisphenol A down-regulates rate-limiting *Cyp11a1* to acutely inhibit steroidogenesis in cultured mouse antral follicles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 271 (2), 249-256.

Savchuk I, Soder O and Svechnikov K (2013) Mouse leydig cells with different androgen production potential are

- resistant to estrogenic stimuli but responsive to bisphenol a which attenuates testosterone metabolism. PLoS One, 8 (8), e71722.
- Zhang X, Chang H, Wiseman S, He Y, Higley E, Jones P, Wong CK, Al-Khedhairi A, Giesy JP and Hecker M (2011) Bisphenol A disrupts steroidogenesis in human *H295R* cells. Toxicological Sciences, 121 (2), 320-327.
- Kwintkiewicz J, Nishi Y, Yanase T and Giudice LC (2010) Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma mediates bisphenol A inhibition of FSH-stimulated *IGF-1*, aromatase, and estradiol in human granulosa cells. Environmental Health Perspectives, 118 (3), 400-406.
- Murono EP, Derk RC and de Leon JH (2001) Differential effects of octylphenol, 17beta-estradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells. Reproductive Toxicology, 15 (5), 551-560.
- Miyatake M, Miyagawa K, Mizuo K, Narita M and Suzuki T (2006) Dynamic changes in dopaminergic neurotransmission induced by a low concentration of bisphenol-A in neurones and astrocytes. Journal of Neuroendocrinology, 18 (6), 434-444.
- Tanabe N, Yoshino H, Kimoto T, Hojo Y, Ogiue-Ikeda M, Shimohigashi Y and Kawato S (2012) Nanomolar dose of bisphenol A rapidly modulates spinogenesis in adult hippocampal neurons. Molecular and Cellular Endocrinology, 351 (2), 317-325.
- Iwakura T, Iwafuchi M, Muraoka D, Yokosuka M, Shiga T, Watanabe C and Ohtani-Kaneko R (2010) *In vitro* effects of bisphenol A on developing hypothalamic neurons. Toxicology, 272 (1-3), 52-58.
- Nakazawa K and Ohno Y (2001) Modulation by estrogens and xenoestrogens of recombinant human neuronal nicotinic receptors. European Journal of Pharmacology, 430 (2-3), 175-183.
- Matsunaga H, Mizota K, Uchida H, Uchida T and Ueda H (2010) Endocrine disrupting chemicals bind to a novel receptor, microtubule-associated protein 2, and positively and negatively regulate dendritic outgrowth in hippocampal neurons. Journal of Neurochemistry, 114 (5), 1333-1343.
- Watanabe H, Adachi R, Kusui K, Hirayama A, Kasahara T and Suzuki K (2003) Bisphenol A significantly enhances the neutrophilic differentiation of promyelocytic HL-60 cells. International Immunopharmacology, 3 (12), 1601-1608.
- Nanjappa MK, Simon L and Akingbemi BT (2012) The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat Leydig cells. Biology of Reproduction, 86 (5), 135, 131-112.
- Okada K, Imaoka S, Hashimoto S, Hiroi T and Funae Y (2007) Over-expression of protein disulfide isomerase



reduces the release of growth hormone induced by bisphenol A and/or T3. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 278 (1-2), 44-51.

Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW and Ben-Jonathan N (2008) Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environmental Health Perspectives*, 116 (12), 1642-1647.