



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 28647—2012

GB/T 28647—2012

## 化学品 啮齿类动物子宫增重试验 雌激素作用的短期筛选试验

Chemicals—Test method of uterotrophic bioassay in rodents—  
A short-term screening test for oestrogenic properties

中华人民共和国  
国家标准  
化学品 啮齿类动物子宫增重试验  
雌激素作用的短期筛选试验  
GB/T 28647—2012

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)  
北京市西城区三里河北街16号(100045)  
网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)  
总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235  
读者服务部:(010)68523946  
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷  
各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 35 千字  
2012年11月第一版 2012年11月第一次印刷

\*

书号: 155066·1-45822 定价 24.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换  
版权专有 侵权必究  
举报电话:(010)68510107



GB/T 28647-2012

2012-07-31 发布

2012-12-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

Adopted by Official Organization. New York: Academic Press

[33] Thigpen J. E. et al. Selecting the appropriate rodent diet for endocrine disruptor research and testing studies. ILAR J, 2004, 45(4): 401-416

[34] Gray L. E. and Ostby J. Effects of pesticides and toxic substances on behavioral and morphological reproductive development; endocrine versus non-endocrine mechanism. Toxicol Ind Health, 1998, 14 (1-2): 159-184

[35] Booth AN, Bickoff EM and Kohler GO. Estrogen-like activity in vegetable oils and mill by-products. Science, 1960, 131: 1807-1808

[36] Kato H, Iwata T, Katsu Y, Watanabe H, Ohta Y, Iguchi T. Evaluation of estrogenic activity in diets for experimental animals using in vitro assay. J. Agric Food Chem, 2004, 52: 1410-1414

---

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准技术性内容与经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 440(2007)《啮齿类动物子宫增重试验 雌激素作用的短期筛选试验》(英文版)一致。

本标准做了下列结构和编辑性修改：

——将 OECD 440 原文中的“前言”和“最初考虑和局限性”部分内容作为本标准的“引言”；

——增加了范围一章；

——将 OECD 440 原文中的“附录 1 定义”部分内容作为本标准的“术语和定义”；

——将 OECD 440 原文中的“附录 2 OECD 内分泌干扰物测定与评价的概念框架”部分内容作为本标准的“附录 A”。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、辽宁省职业病防治院、中国化工经济技术发展中心、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人：侯粉霞、曲波、王晓兵、李雪飞、白羽、李晞。

## 引 言

1998年,OECD启动了一项具有高度优先权的行动,即,修订现有指南、建立用于筛查和检测潜在内分泌干扰物的新指南<sup>[1]</sup>。行动的内容之一就是建立啮齿类动物子宫增重试验的试验指南。之后,对啮齿类动物子宫增重试验开展了广泛的验证程序,包括详细的背景文件的编辑<sup>[2-3]</sup>以及通过应用强活性参比雌激素、弱活性雌激素受体激动剂、强活性雌激素受体拮抗剂、阴性参比化学物等作为受试物,开展广泛的实验室内和实验室间的比对来说明该试验的相关性和可重复性<sup>[4-9]</sup>。该试验指南440是在汲取了验证试验中的经验和参照了雌激素激动剂类受试物试验结果后形成的。

子宫增重试验是一个始于20世纪30年代的短期筛选试验<sup>[27-28]</sup>,在1962年被一个专家委员会首次定为筛选试验<sup>[32,35]</sup>。它是基于子宫质量的增加或者子宫增重反应(参见5.3),用于评价一个化学物引起与天然雌激素(例如17 $\beta$ -雌二醇,17 $\beta$ -estradiol)的激动剂或拮抗剂作用相一致的生物学作用的能力。然而,该方法用于检测雌激素拮抗剂比用于检测雌激素激动剂要少得多。子宫对雌激素的反应方式有两种。最初的反应是吸收水分而引起子宫质量增加。此后,子宫组织增长进一步引起其质量增加<sup>[30]</sup>。大鼠和小鼠的子宫反应具有可比性。

该试验是一项体内筛选试验,它的应用可参见“OECD内分泌干扰物测定与评价的概念框架”(附录A)。在这个概念框架中,子宫增重试验作为一项体内试验位于框架的第3级,阐明单一一种内分泌作用机制,即雌激素样作用。

子宫增重试验希望被纳入用于检测潜在内分泌干扰作用的系列体内和体外试验中,最终用于对人类健康和环境影响进行危险评价。OECD在开展该方法验证试验时,使用强活性和弱活性的雌激素激动剂来评估该试验检测雌激素样作用物质的效能<sup>[4-8]</sup>。因此,除了实验室内和实验室间良好的可重复性外,该试验用于检测雌激素样作用物质的敏感性也得到了很好的证实。

在该方法的验证试验中,仅使用了一种阴性参比物,有报道该种物质的子宫增重试验以及体外受体结合试验和受体检测试验为阴性。此外,也对验证试验之外的资料进行了评价,这些资料进一步证明了子宫增重试验用于筛选雌激素样作用物质的特异性。

雌激素激动剂和拮抗剂作为雌激素 $\alpha$ 受体和 $\beta$ 受体的配体,可分别活化或抑制受体的转录。这可引起潜在的健康危害,包括对生殖和发育产生影响。因此,需要快速地评价化学物是否有可能可能是雌激素激动剂或拮抗剂。虽然受试物与雌激素受体的亲和力、雌激素受体基因转录活化体外试验等方面的资料可提供信息,但这些信息仅是决定是否有可能产生有害作用的因素之一。其他的决定因素包括化学物进入体内后的代谢活化和失活、在各组织的分布情况、从体内清除的情况等;这些情况至少部分地依赖于染毒途径和被检测的受试物。这就需要了解受试物在体内环境中的活性,除非已有资料可说明该化学物的吸收—分布—代谢—排泄的特征。子宫组织在受到雌激素刺激后发生快速增长,特别是啮齿类实验动物(其发情周期持续约4d)。啮齿类动物,特别是大鼠,被广泛应用于危害评估的毒理学试验中。因此,啮齿类动物的子宫对于体内筛选雌激素激动剂和拮抗剂是一个适宜的靶器官。

本标准是基于那些在OECD验证试验中使用的试验方法,这些验证试验的结果已经表明该方法在实验室内和实验室间是可靠的和可重复的<sup>[5,7]</sup>。现在可以利用两种方法,即切除卵巢的成年雌性动物方法(ovx-adult method)和未发育成熟的不切除卵巢的方法(imature method)。OECD验证试验结果显示这两种方法有可比较的敏感性和可重复性。然而,对于未发育成熟的动物,因为其具备完整的下丘脑—垂体—性腺(HPG)轴,用于试验时其反应的特异性要差一些,但却比切除卵巢的动物检测的范围更大一些,因为它除了可用于检测作用于雌激素受体的物质,也可用于检测作用于HPG轴的物质。在大约为15日龄时,大鼠的HPG轴具有了功能。在这之前,用促性腺激素释放激素等处理不能促进

on *in vivo* responses to exogenously administered estrogens. Environ. Health Perspec, 1998, 106: 369-373

[16] OECD (2007). Additional data supporting the Test Guideline on the Uterotrophic Bioassay in rodents. OECD Environmental Health and Safety Publication Series on Testing and Assessment No. 67

[17] Degen GH, Janning P, Diel P, Bolt HM. Estrogenic isoflavones in rodent diets. Toxicol. Lett, 2002, 128: 145-157

[18] Wade MG, Lee A, McMahon A, Cooke G, Curran I. The influence of dietary isoflavone on the uterotrophic response in juvenile rats. Food Chem. Toxicol, 2003, 41: 1517-1525

[19] Yamasaki K, Sawaki M, Noda S, Wada T, Hara T, Takatsuki M. Immature uterotrophic assay of estrogenic compounds in rats given different phytoestrogen content diets and the ovarian changes in the immature rat uterotrophic of estrogenic compounds with ICI 182,780 or antide. Arch. Toxicol, 2002, 76: 613-620

[20] Thigpen JE, Haseman JK, Saunders HE, Setchell KDR, Grant MF, Forsythe D. Dietary phytoestrogens accelerate the time of vaginal opening in immature CD-1 mice. Comp. Med, 2003, 53: 477-485

[21] Ashby J, Tinwell H, Odum J, Kimber I, Brooks AN, Pate I, Boyle CC. Diet and the aetiology of temporal advances in human and rodent sexual development. J. Appl. Toxicol, 2000, 20: 343-347

[22] Thigpen JE, Lockear J, Haseman J, Saunders HE, Caviness G, Grant MF, Forsythe DB. Dietary factors affecting uterine weights of immature CD-1 mice used in uterotrophic bioassays. Cancer Detect. Prev, 2002, 26: 381-393

[23] Thigpen JE, Li L-A, Richter CB, Lebetkin EH, Jameson CW. The mouse bioassay for the detection of estrogenic activity in rodent diets: I. A standardized method for conducting the mouse bioassay. Lab. Anim. Sci, 1987, 37: 596-601

[24] OECD Acute oral toxicity-up-and-down procedure. OECD Guideline for the testing of chemicals 425, 2001

[25] OECD Guidance document on the recognition, assessment and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 19. ENV/JM/MONO(2000)7

[26] OECD Guidance document on acute oral toxicity. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 24. ENV/JM/MONO(2001)4

[27] Bulbring, E., and Burn, J. H. The estimation of oestrin and of male hormone in oily solution. J. Physiol, 1935, 85: 320-333

[28] Dorfman, R. I., Gallagher, T. F. and Koch, F. C. The nature of the estrogenic substance in human male urine and bull testis. Endocrinology, 1936, 19: 33-41

[29] Reel, J. R., Lamb IV, J. C. and Neal, B. H. Survey and assessment of mammalian estrogen biological assays for hazard characterization. Fundam. Appl. Toxicol, 1996, 34: 288-305

[30] Jones, R. C. and Edgren, R. A. The effects of various steroid on the vaginal histology in the rat. Fertil. Steril, 1973, 24: 284-291

[31] OECD (1982). Organization for Economic Co-operation and Development-Principles of Good Laboratory Practice, ISBN 92-64-12367-9, Paris

[32] Dorfman R. I. (1962). Methods in Hormone Research, Vol. II, Part IV; Standard Methods