

ジクロロブロモメタン (CAS no. 75-27-4)

試験管内試験結果

1. 試験項目

ジクロロブロモメタンについて、下表に示す試験項目（作用）を対象として、第1段階試験管内試験（レポーター遺伝子試験）を実施した。

試験対象とした作用モード							
エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	脱皮ホルモン	その他*
N	N	N	N	—	—	—	—

P : EC₅₀又はIC₅₀値が検出

○ : 試験対象としたが、まだ実施していない作用モード

N : EC₅₀又はIC₅₀値が検出不可

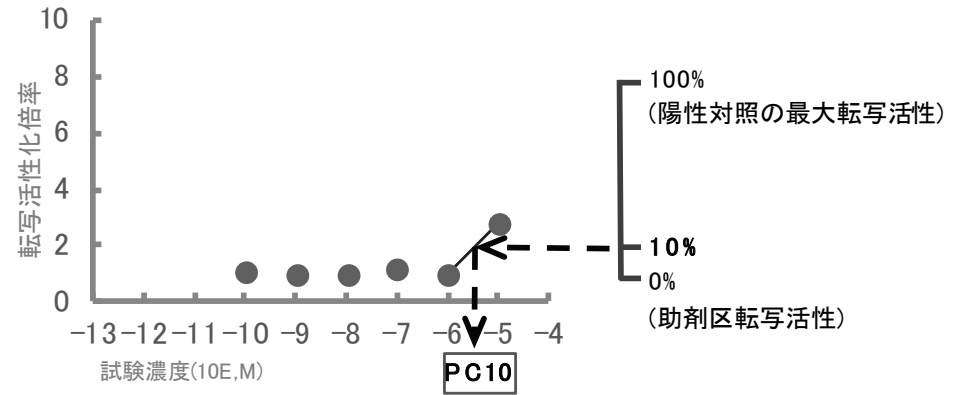
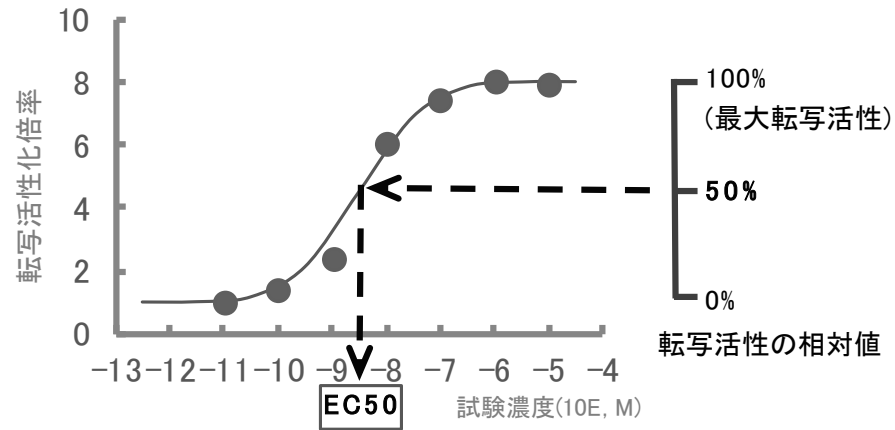
— : 試験対象としなかった作用モード

* : その他

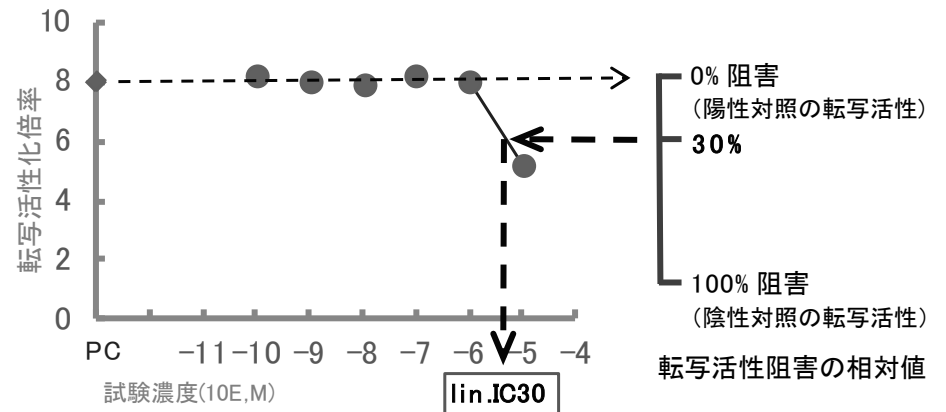
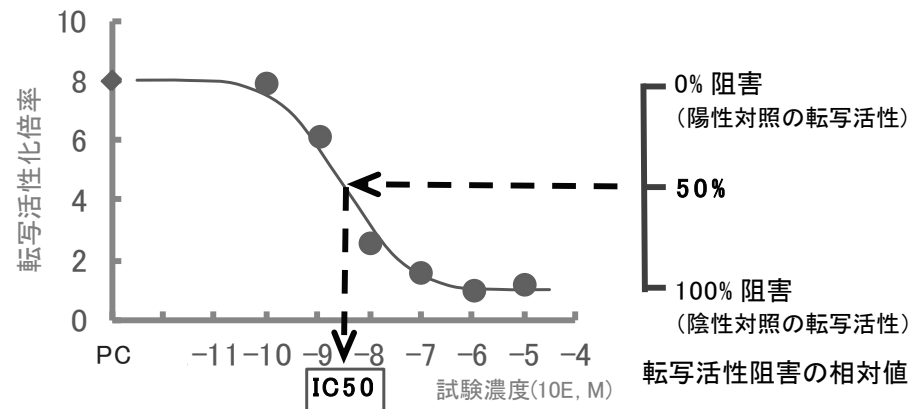
2. 試験方法

レポーター遺伝子試験は、OECDのTG455 (Stably Transfected Human Estrogen Receptor- α Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogen Agonist-Activity of Chemicals)及びDraft TG (Stably Transfected Human Androgen Receptor- α Transcriptional Activation Assay for Detection of Androgenic Agonist/Antagonist Activity of Chemicals)も参考に、化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究において開発した方法及び条件に準じて実施した。

アゴニスト検出系の試験での EC₅₀ 値及び PC₁₀ 値の算出

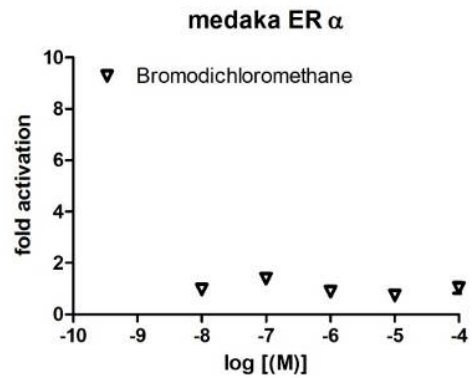
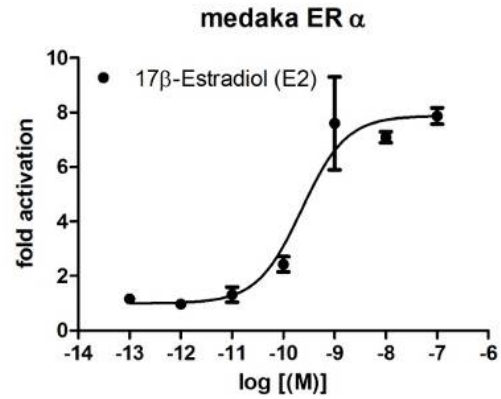


アンタゴニスト検出系の試験での IC₅₀ 値及び linIC₃₀ 値の算出



3. 結果

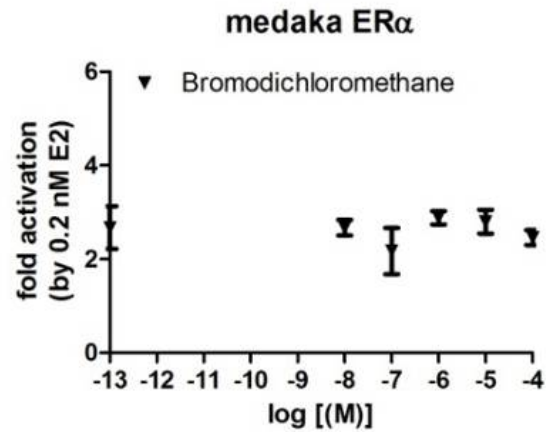
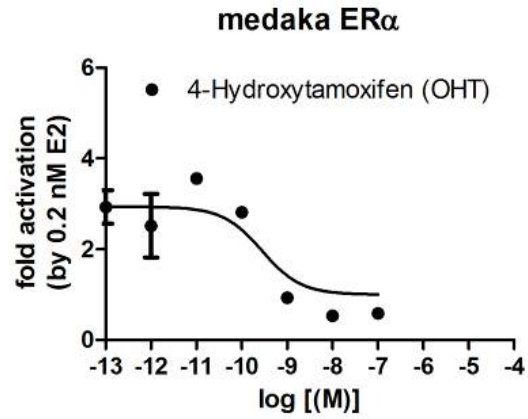
(1) メダカエストロゲン受容体 α (ER α) レポーター遺伝子試験 (エストロゲン作用)
 エストロゲン作用については、メダカ ER α の転写活性化は認められなかった。



試験対象物質	エストロゲン作用	
	EC ₅₀ 又はPC ₁₀	相対活性比
ジクロロブロモメタン	(得られなかった)	
17 β エストラジオール	2.3 × 10 ⁻¹⁰ M (PC ₁₀ =2.2 × 10 ⁻¹¹)	100%

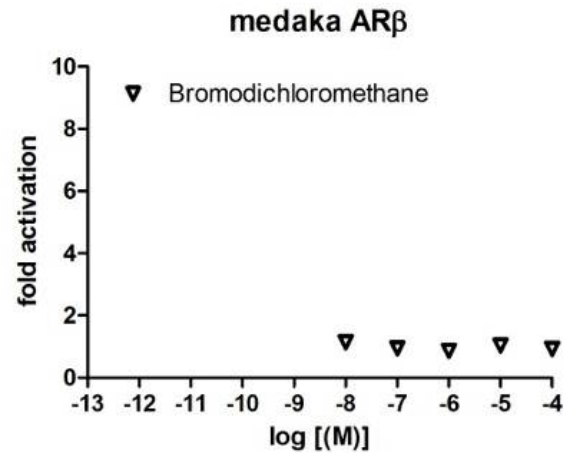
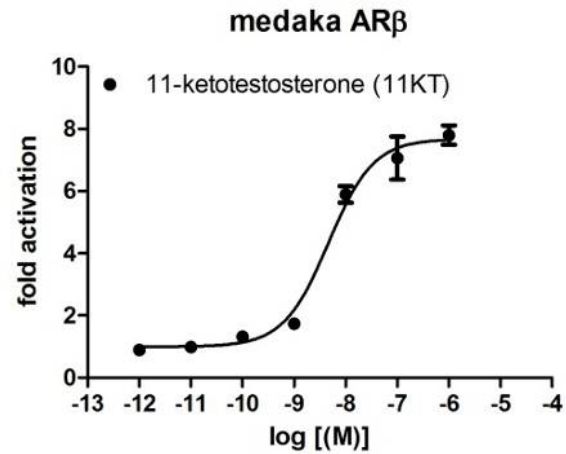
(2) メダカエストロゲン受容体 α (ER α) レポータージーン試験 (抗エストロゲン作用)

抗エストロゲン作用については、 17β -エストラジオール 2×10^{-10} M 共添加条件でメダカ ER α の転写活性化阻害は認められなかった。



試験対象物質	抗エストロゲン作用	
	IC ₅₀ 又は linIC ₃₀ [M]	相対活性比
ジクロロブロモメタン	(得られなかった)	
4-ヒドロキシタモキシフェン	2.8×10^{-10} M	100%

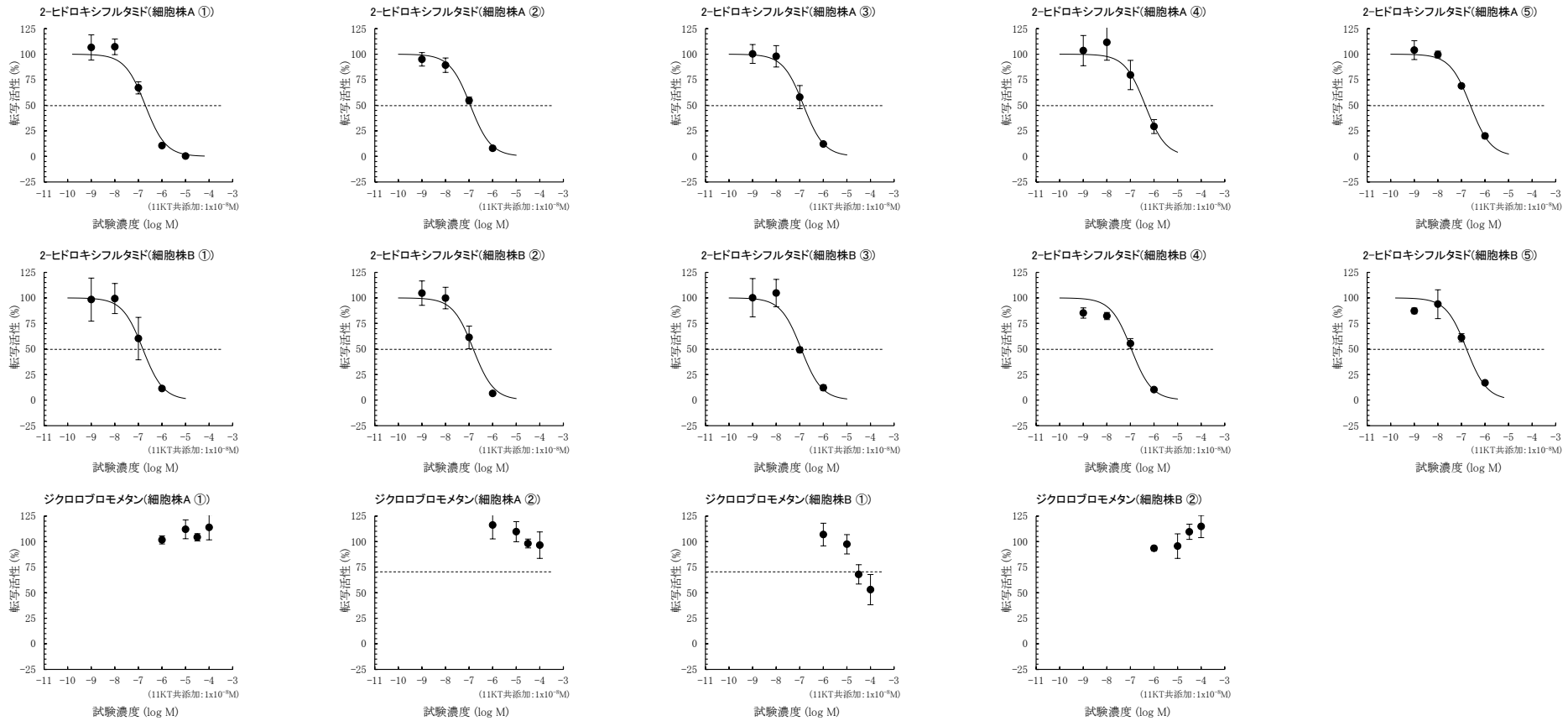
(3) メダカアンドロゲン受容体 β (AR β) レポーター遺伝子試験 (アンドロゲン作用)
 アンドロゲン作用については、メダカ AR β の転写活性化は認められなかった。



試験対象物質	アンドロゲン作用	
	EC ₅₀ 又はPC ₁₀	相対活性比
ジクロロブロモメタン	(得られなかった)	
11-ケトテストステロン	4.7 × 10 ⁻⁹ M	100%

(4) メダカアンドロゲン受容体 β (AR β) レポーター遺伝子試験 (抗アンドロゲン作用)

抗アンドロゲン作用については、11-ケトテストステロン 1×10^{-8} M 共添加条件でメダカ AR β の転写活性化阻害は認められなかった。



試験対象物質	抗アンドロゲン作用	
	IC ₅₀ 又は linIC ₃₀ [M]	相対活性比
ジクロプロモメタン	(得られなかった)	
2-ヒドロキシフルタミド	1.5×10^{-7} (linIC ₃₀ = 3.0×10^{-8})	100%

	メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験		メダカアンドロゲン受容体 β レポーター遺伝子試験		ニシツメガエル 甲状腺ホルモン受容体 β レポーター遺伝子試験
	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
細胞株	HEK293		HepG2		HEK293
受容体発現ベクター	medaka ER alpha/pcDNA		medaka AR beta/pcDNA		<i>tropicalis</i> TR beta/pcDNA
試験レポーターベクター	ERE-TK- <i>Luc</i>		MMTV- <i>Luc</i>		TRE-minP- <i>Luc</i>
コントロールレポーターベクター	pRL-TK- <i>Rluc</i>				
試験用培地	DMEM (2mM L-glutamine、10% FCS 含有)				
試験環境	37°C、5%CO ₂				
細胞播種数	5×10 ⁴ 細胞/well				
連数	3well/濃度				
試験液量	1 mL/well				
溶媒	ジメチルスルホキシド (DMSO)				
溶媒終濃度	0.1%	0.2%	0.1%	0.2%	0.2%
被験物質添加濃度 (試験濃度)	最高濃度：10 ⁻⁴ ~10 ⁻⁵ M、最低濃度：10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁹ M (公比 10)				
陽性物質及び共添加濃度	-	E2、2×10 ⁻¹⁰ M		11KT、1×10 ⁻⁸ M	T3、2×10 ⁻⁸ M
溶媒終濃度	0.1%	0.2%	0.1%	0.2%	0.2%

(EXTEND2010 に基づく平成 23 年度第 2 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会 資料 3-2 より抜粋)
(平成 28 年度第 1 回 EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会 資料 3-2 より抜粋)