

2,4,6-トリブロモフェノール(CAS no. 118-79-6)

試験管内試験結果

1. 試験項目

2,4,6-トリブロモフェノールについて、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（レポータージーン試験）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 | — | — | — | P | — | — |

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

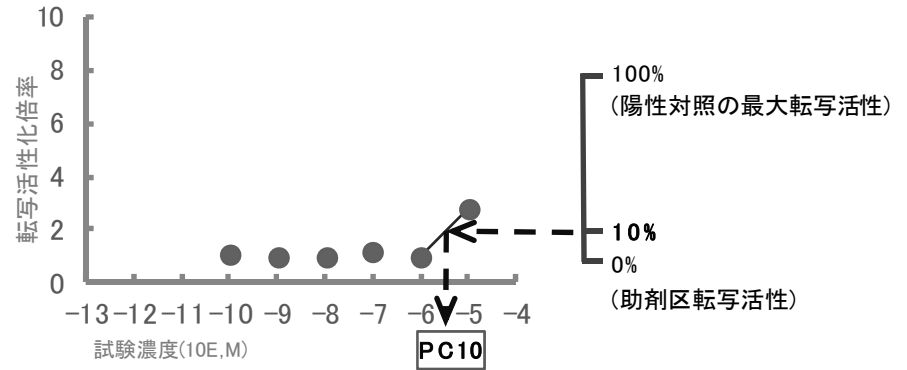
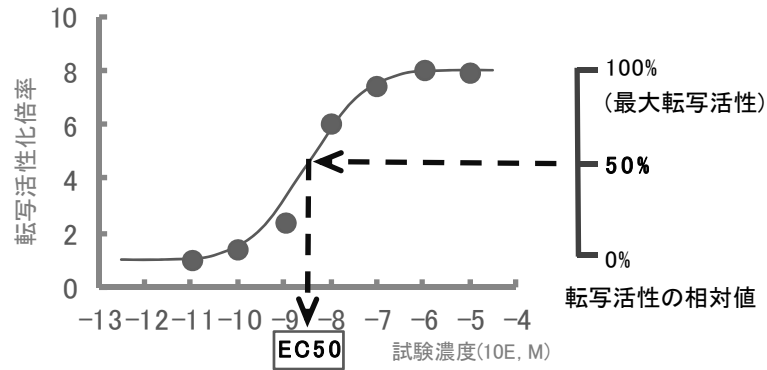
* : その他

2. 試験方法

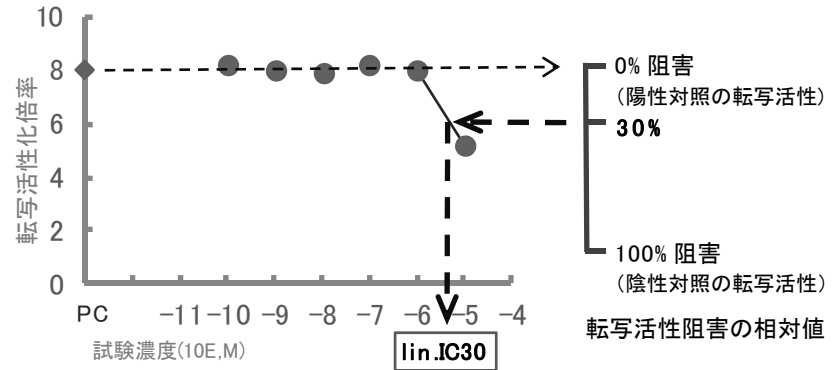
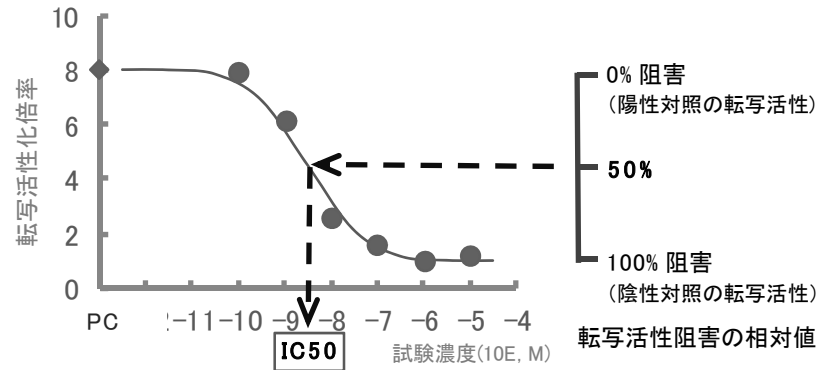
すべての各試験は、ホルモン受容体遺伝子及びレポーター遺伝子等の導入効率の変動を標準化できるデュアル・ルシフェラーゼ・レポーターアッセイ法を適用した一過性発現細胞系を用いた。また、試験において、データの解析手法、妥当性や有効性の考え方等については、OECD テストガイドライン (TG455: Stably Transfected Human Estrogen Receptor- α Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogen Agonist-Activity of Chemicals、Draft TG: Stably Transfected Human Androgen Receptor- α Transcriptional Activation Assay for Detection of Androgenic Agonist/Antagonist Activity of Chemicals) を参考にした。

すべての試験は、24 穴マイクロプレート 1 枚を 1 単位 (1 試験) として実施した。

アゴニスト検出系の試験での EC₅₀ 値及び PC₁₀ 値の算出



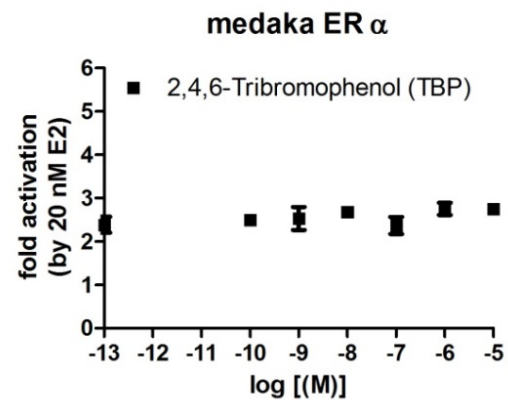
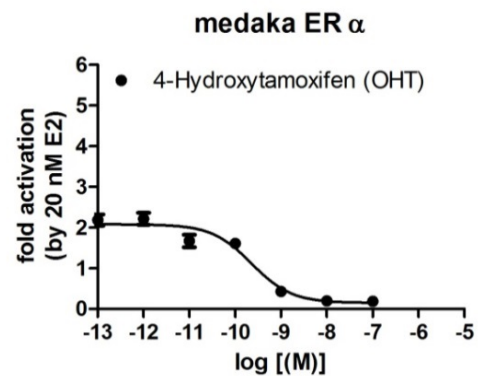
アンタゴニスト検出系の試験での IC₅₀ 値及び linIC₃₀ 値の算出



3. 結果

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

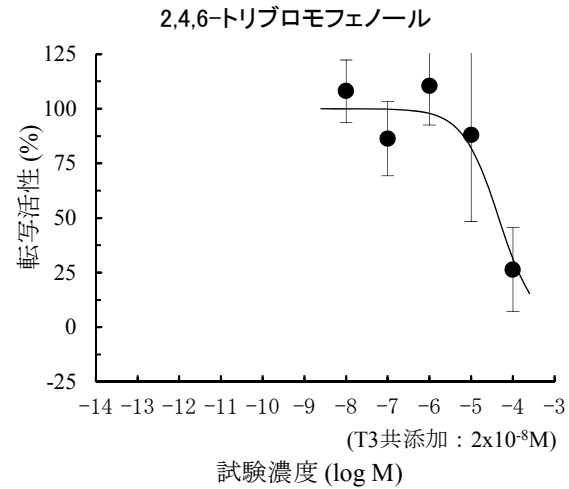
抗エストロゲン作用に関して、試験濃度範囲において 2×10^{-10} M の 17β -エストラジオール共存下でメダカ ER α に対する転写活性化阻害は認められなかった。



| 試験対象物質 | 抗エストロゲン作用 | |
|------------------|-------------------------|-------|
| | IC ₅₀ | 相対活性比 |
| 2,4,6-トリブロモフェノール | 得られなかった | |
| 4-ヒドロキシタモキシフェン | 2.3×10^{-10} M | 100% |

(2) ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β (TR β) レポーター遺伝子試験 (抗甲状腺ホルモン作用)

抗甲状腺ホルモン作用試験では、 2×10^{-8} M のトリヨードサイロニン共存下で試験濃度に依存的な転写活性化倍率の有意な低下がみられ、その IC₅₀ 値は 4.6×10^{-5} M であった (抗甲状腺ホルモン作用試験では陽性対照物質がないことから相対活性比は算出できない)。



| 試験対象物質 | 抗甲状腺ホルモン作用 | |
|------------------|------------------------|-------|
| | IC ₅₀ | 相対活性比 |
| 2,4,6-トリブロモフェノール | 4.6×10^{-5} M | — |

| | メダカエストロゲン受容体 α レポータージーン試験 | | メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験 | | ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポータージーン試験 | |
|---------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|--------------------------------------|---|------------------------------------|
| | 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 | 甲状腺ホルモン作用 | 抗甲状腺ホルモン作用 |
| 試験容器 | 24穴マイクロプレート | | 24穴マイクロプレート | | 24穴マイクロプレート | |
| 動物細胞株 | HEK293 | | HepG2 | | HEK293 | |
| 試験培地 | DMEM (2mM L-glutamine、10% FCS含有) | | DMEM (2mM L-glutamine、10% FCS含有) | | DMEM (2mM L-glutamine、10% FCS含有) | |
| 試験液量 | 1 mL/well | | 1 mL/well | | 1 mL/well | |
| 細胞播種数 | 5×10^4 細胞/well | | 5×10^4 細胞/well | | 5×10^4 細胞/well | |
| 受容体発現ベクター | medaka ERalpha/pcDNA | | medaka ARbeta/pcDNA | | tropicalis TR beta/pcDNA | |
| 試験レポーターベクター | ERE-TK-Luc | | ARE-MMTV-Luc | | TRE-minP-Luc | |
| コントロール レポーターベクター | pRL-TK-Rluc | | pRL-TK-Rluc | | pRL-TK-Rluc | |
| 培養環境及び時間 | 37°C、5% CO ₂ 、40時間 | | 37°C、5% CO ₂ 、40時間 | | 37°C、5% CO ₂ 、40時間 | |
| 連数 | 3連/濃度(ウェル) | | 3連/濃度(ウェル) | | 3連/濃度(ウェル) | |
| 共添加陽性物質 及び濃度 | — | 17 β エストラジオール 2×10^{-10} M | — | 11-ケトテストステロン 1×10^{-8} M | — | トリヨードサイロニン 2×10^{-9} M |
| 助剤及び終濃度 | DMSO 0.1% | DMSO 0.2% | DMSO 0.1% | DMSO 0.2% | DMSO 0.1% | DMSO 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)