

フェンチオン (CAS no. 55-38-9)

試験管内試験結果

1. 試験項目

フェンチオンについて、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。

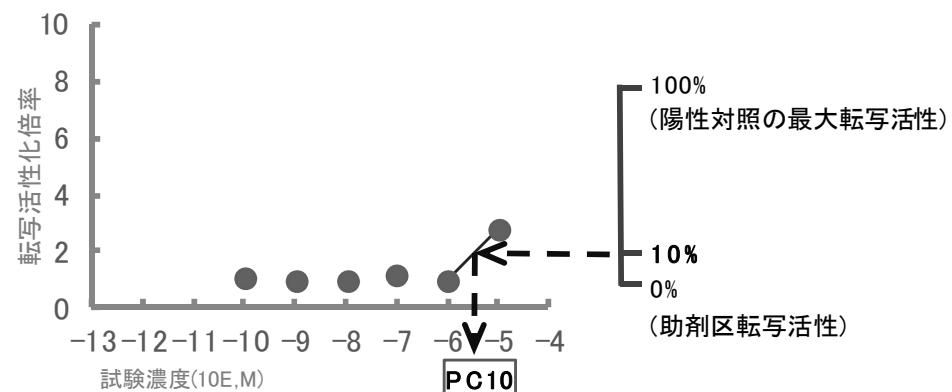
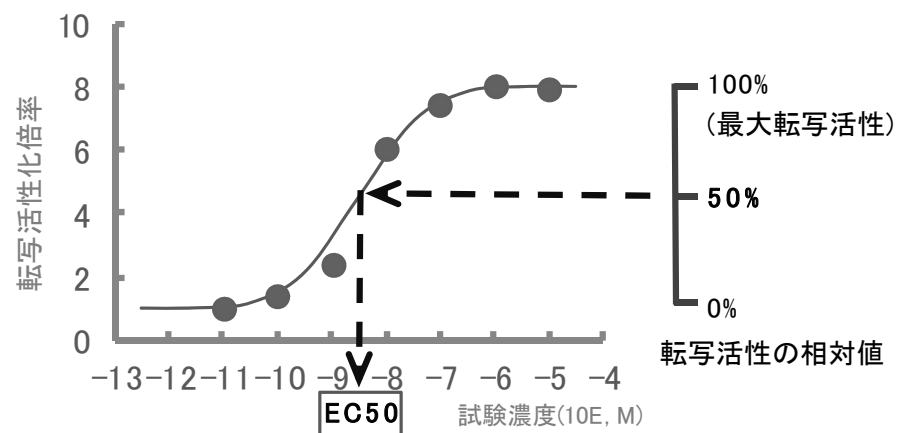
試験対象とした作用モード							
エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	脱皮ホルモン	その他*
－	N	N	N	－	－	－	－

- P : EC₅₀ 又は IC₅₀ 値が検出
N : EC₅₀ 又は IC₅₀ 値が検出不可
* : その他
- : 試験対象としたが、まだ実施していない作用モード
－ : 試験対象としなかった作用モード

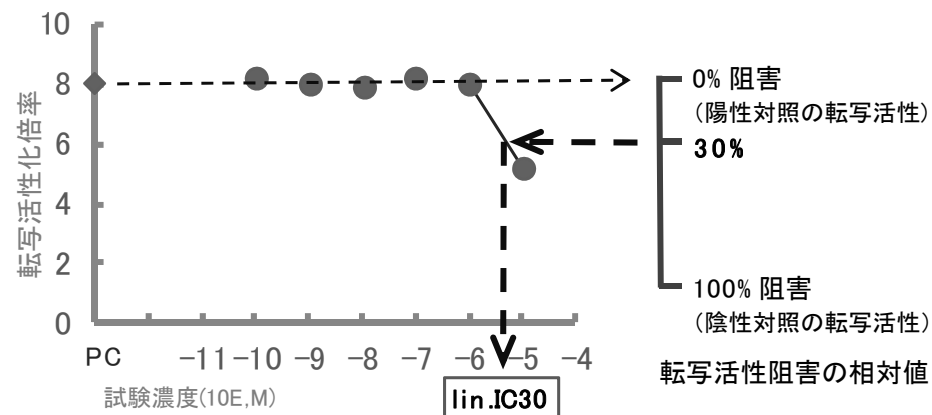
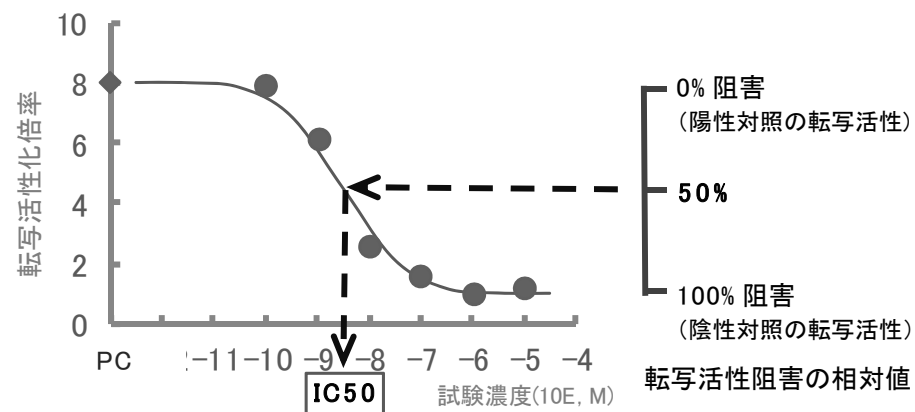
2. 試験方法

レポータージーン試験は、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 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



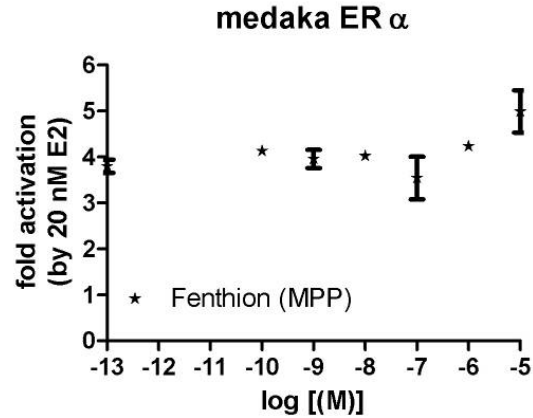
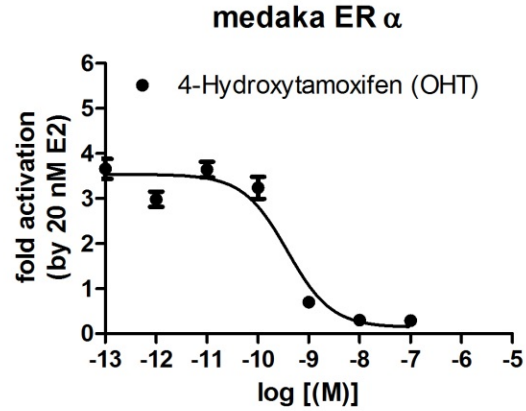
アンタゴニスト検出系の試験での IC₅₀ 値及び linIC₃₀ 値の算出



3. 結果

(1) メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験 (抗エストロゲン作用)

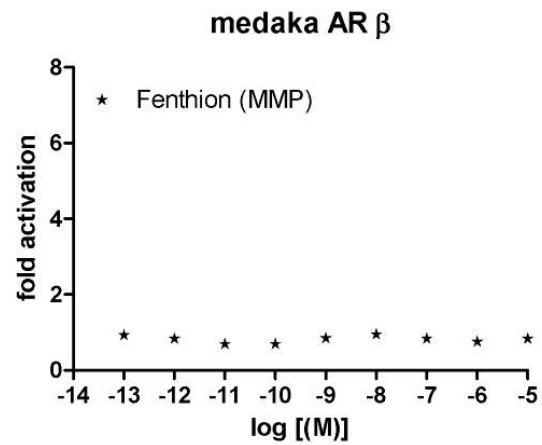
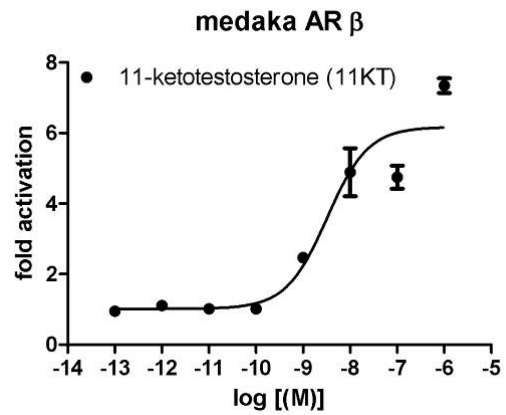
抗エストロゲン作用に関して、試験濃度範囲において 2×10^{-10} M の 17β -エストラジオール共存下でメダカ ER α に対する転写活性化阻害は認められなかった。



試験対象物質	抗エストロゲン作用	
	EC ₅₀ 又は PC ₁₀	相対活性比
フェンチオン	(得られなかった)	
4-ヒドロキシタモキシフェン	3.8×10^{-10}	100%

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

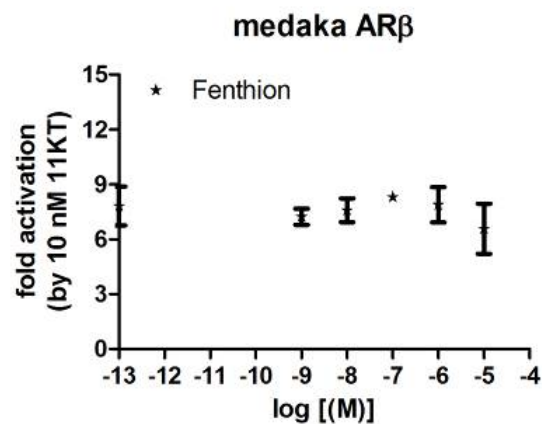
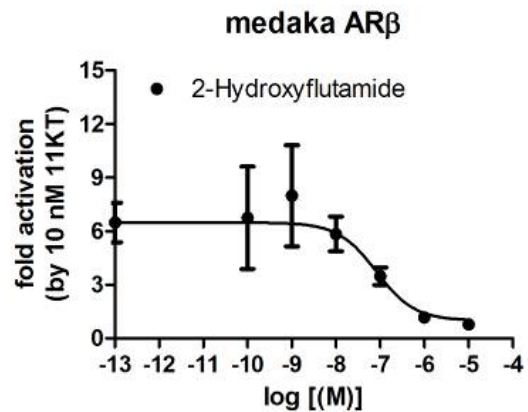
アンドロゲン作用に関して、試験濃度範囲においてメダカ $AR\beta$ の転写活性化は認められなかった。



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
フェンチオン	(得られなかった)	
11-ケトテストステロン	3.2 × 10 ⁻⁹	100%

(3) メダカアンドロゲン受容体 β (AR β) レポータージーン試験 (抗アンドロゲン作用)

抗アンドロゲン作用に関しては、試験濃度範囲において、 1×10^{-8} M の 11-ケトテストステロン共存下でメダカアンドロゲン受容体 β に対する転写活性化阻害はみられなかった。



試験対象物質	抗アンドロゲン作用	
	EC ₅₀ 又は PC ₁₀	相対活性比
フェンチオン	(得られなかった)	
11-ケトテストステロン	8.2×10^{-8} (lin.IC ₃₀ = 2.7×10^{-8})	100%

	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	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 (2 mM 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 %

4. 引用文献

- 1) Katsu Y, Taniguchi E, Urushitani H, Miyagawa S, Takase M, Kubokawa K, Tooi O, Oka T, Santo N, Myburgh J, Matsuno A, Iguchi T. Molecular cloning and characterization of ligand- and species-specificity of amphibian estrogen receptors. *Gen Comp Endocrinol.* 168, 220-230 (2010).
- 2) Katsu Y, Kubokawa K, Urushitani H, Iguchi T. Estrogen-dependent transactivation of amphioxus steroid hormone receptor via both estrogen and androgen response elements. *Endocrinology* 151, 639-648 (2010).
- 3) Katsu, Y., S. Kohno, S. Hyodo, S. Ijiri, S. Adachi, A. Hara, L.J. Guillette, T. Iguchi, T. Molecular cloning, characterization and evolutionary analysis of estrogen receptors from phylogenetically ancient fish. *Endocrinology* 149, 6300-6310 (2008).
- 4) Katsu Y, Hinago M, Sone K, Urushitani H, Guillette LJ Jr, Iguchi T. *In vitro* assessment of transcriptional activation of the estrogen and androgen receptors of mosquitofish, *Gambusia affinis affinis*. *Mol Cell Endocrinol.* 276, 10-17 (2007).
- 5) Katsu Y, Lange A, Urushitani H, Ichikawa R, Paull GC, Cahill LL, Jobling S, Tyler CR, Iguchi T. Functional associations between two estrogen receptors, environmental estrogens, and sexual disruption in the roach (*Rutilus rutilus*). *Environ Sci Technol.* 41, 3368-3374 (2007).
- 6) Katsu Y., S. Kohno, T. Oka, N. Mitsui, O. Tooi, N. Santo, H. Urushitani, Y. Fukumoto, K. Kuwahara, K. Ashikaga, S. Minami, Y. Ohta, S. Kato, L.J. Guillette, T. Iguchi, Molecular cloning of estrogen receptor alpha (ER α , ESR1) of Japanese giant salamander, *Andrias japonicus*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 257-258, 84-94 (2006).
- 7) Katsu Y, Bermudez DS, Braun EL, Helbing C, Miyagawa S, Gunderson MP, Kohno S, Bryan TA, Guillette LJ Jr, Iguchi T. Molecular cloning of the estrogen and progesterone receptors of the American alligator. *Gen Comp Endocrinol.* 136, 122-33(2004).

(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 参考資料2より抜粋)
(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)