

2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール（BHT）（CAS no. 128-37-0）

試験管内試験結果

1. 試験項目

2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチル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	—	—	—	—

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

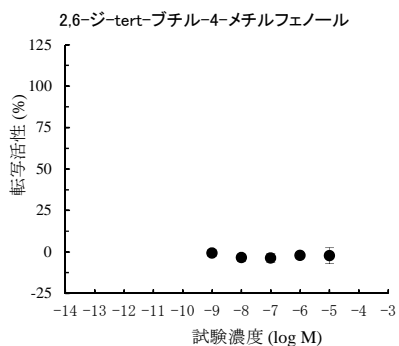
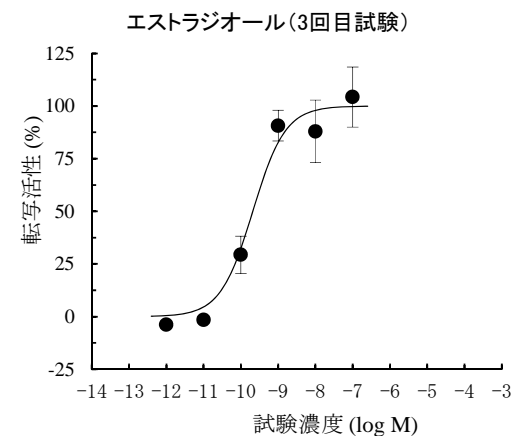
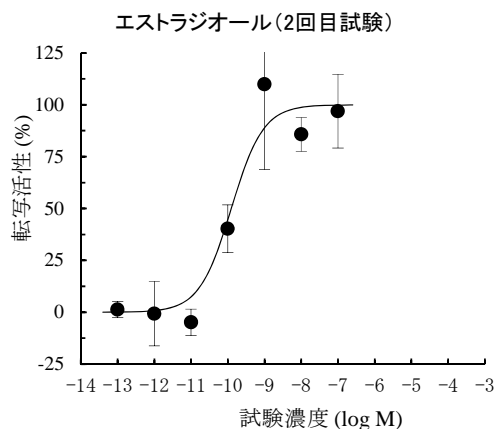
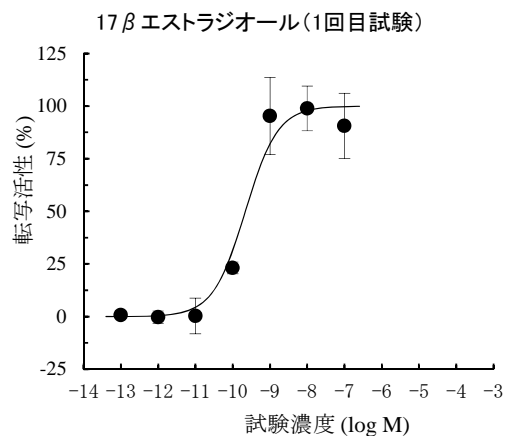
メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験（エストロゲン作用検出系及び抗エストロゲン作用検出系）、メダカアンドロゲン受容体 β レポーター遺伝子試験（アンドロゲン作用検出系及び抗アンドロゲン作用検出系）及びニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポーター遺伝子試験（甲状腺ホルモン作用検出系及び抗甲状腺ホルモン作用検出系）の各試験は、ホルモン受容体遺伝子及びレポーター遺伝子等の導入効率の変動を標準化できるデュアル・ルシフェラーゼ・レポーターアッセイ法を適用した一過性発現細胞系を用いた。また、試験において、データの解析手法、妥当性や有効性の考え方等については、OECD テストガイドライン (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。

3. 結果

(1) 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 (エストロゲン作用)

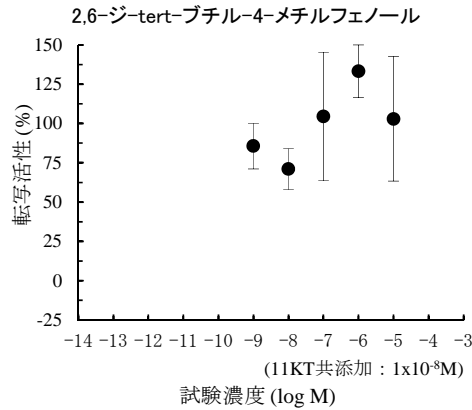
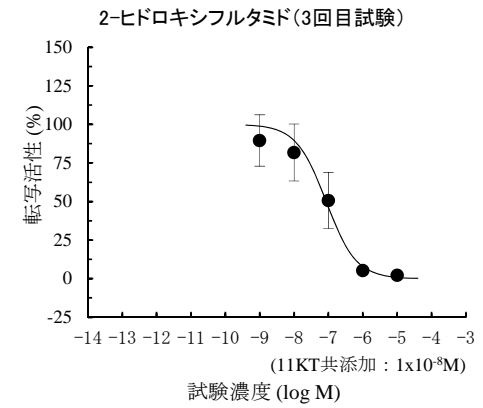
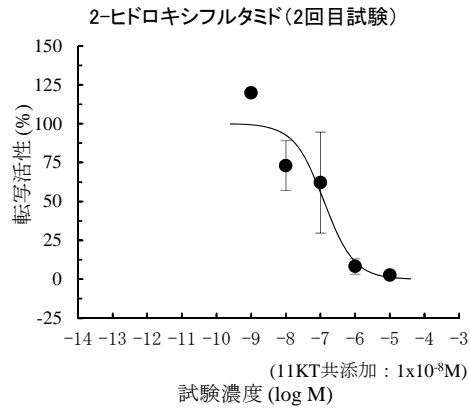
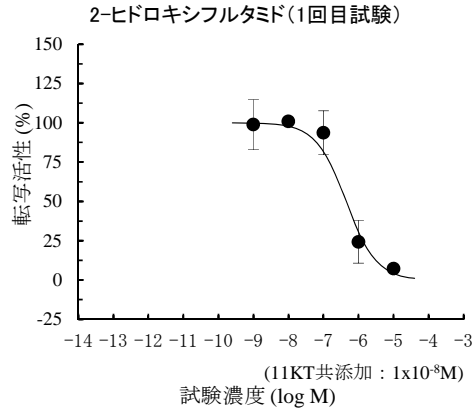
エストロゲン作用試験では、試験濃度範囲においてメダカエストロゲン受容体 α の転写活性化はみられなかった。



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
2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール	(得られなかった)	
17 β -エストラジオール	EC ₅₀ = 2.2 × 10 ⁻¹⁰ M (1回目試験)	
	EC ₅₀ = 1.3 × 10 ⁻¹⁰ M (2回目試験)	
	EC ₅₀ = 2.1 × 10 ⁻¹⁰ M (3回目試験)	

(2) 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試験では、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 の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	
	IC ₅₀ 又は linIC ₃₀	相対活性比
2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール	(得られなかった)	
2-ヒドロキシフルタミド	IC ₅₀ = 4.4×10^{-7} M (1 回目試験)	
	IC ₅₀ = 1.3×10^{-7} M (2 回目試験)	
	IC ₅₀ = 8.6×10^{-8} M (3 回目試験)	

	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 25 年度第 1 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会 資料 3-3 より抜粋)