

## 4-*t*-ペンチルフェノール (CAS no. 80-46-6)

### 試験管内試験結果

#### 1. 試験項目

4-*t*-ペン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*
P	-	-	P	-	-	-	-

P : EC<sub>50</sub>又はIC<sub>50</sub>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 : EC<sub>50</sub>又はIC<sub>50</sub>値が検出不可

- : 試験対象としなかった作用モード

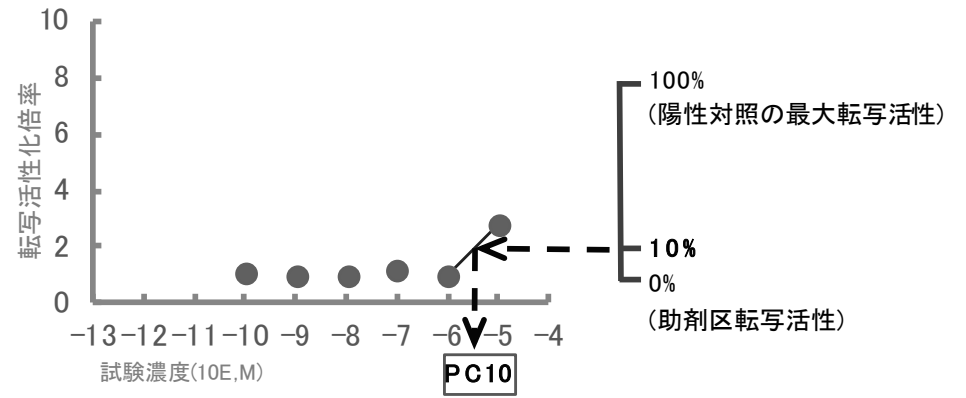
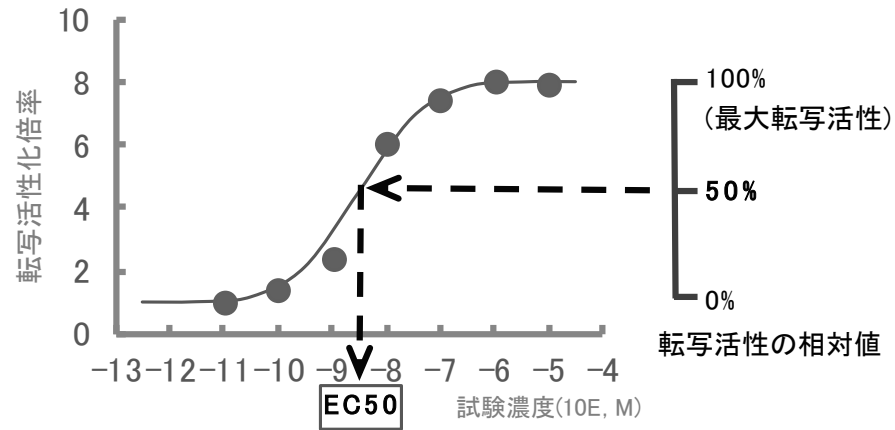
\* : その他

#### 3. 試験方法

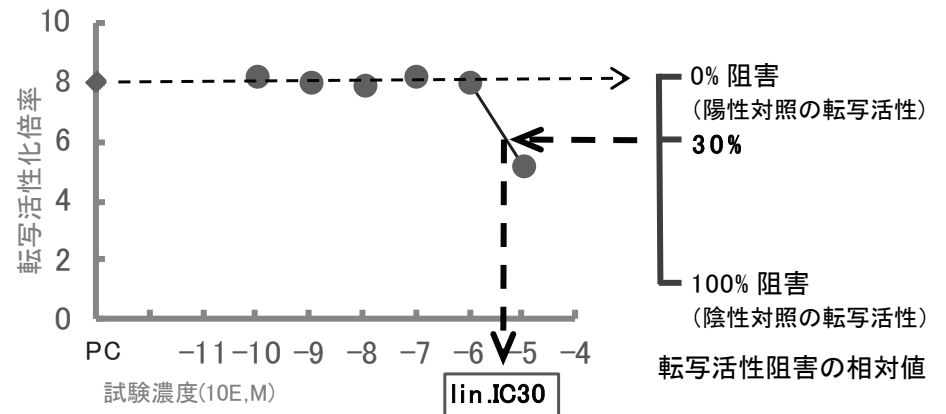
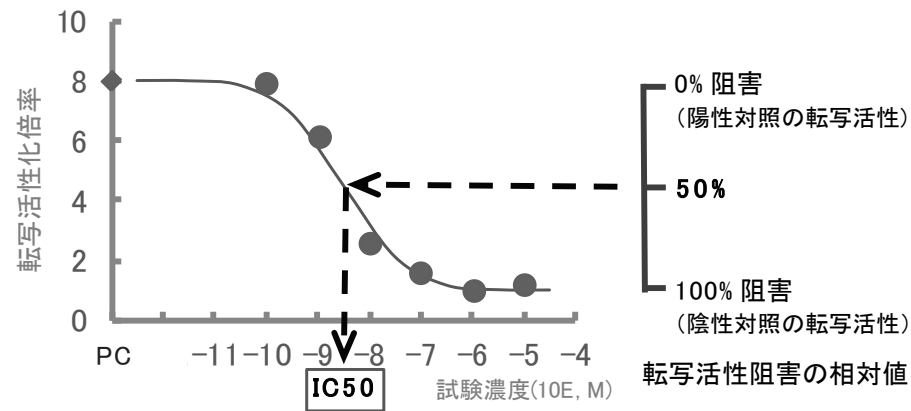
メダカエストロゲン受容体  $\alpha$  レポーター遺伝子試験（エストロゲン作用検出系及び抗エストロゲン作用検出系）、メダカアンドロゲン受容体  $\beta$  レポーター遺伝子試験（アンドロゲン作用検出系及び抗アンドロゲン作用検出系）及びニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  レポーター遺伝子試験（甲状腺ホルモン作用検出系及び抗甲状腺ホルモン作用検出系）の各試験は、ホルモン受容体遺伝子及びレポーター遺伝子等の導入効率の変動を標準化できるデュアル・ルシフェラーゼ・レポーターアッセイ法を適用した一過性発現細胞系を用いた。また、試験において、データの解析手法、妥当性や有効性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- $\alpha$  Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogen Agonist-Activity of Chemicals、Draft TG: Stably Transfected Human Androgen Receptor- $\alpha$  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 EC<sub>50</sub> 値及び PC<sub>10</sub> 値の算出



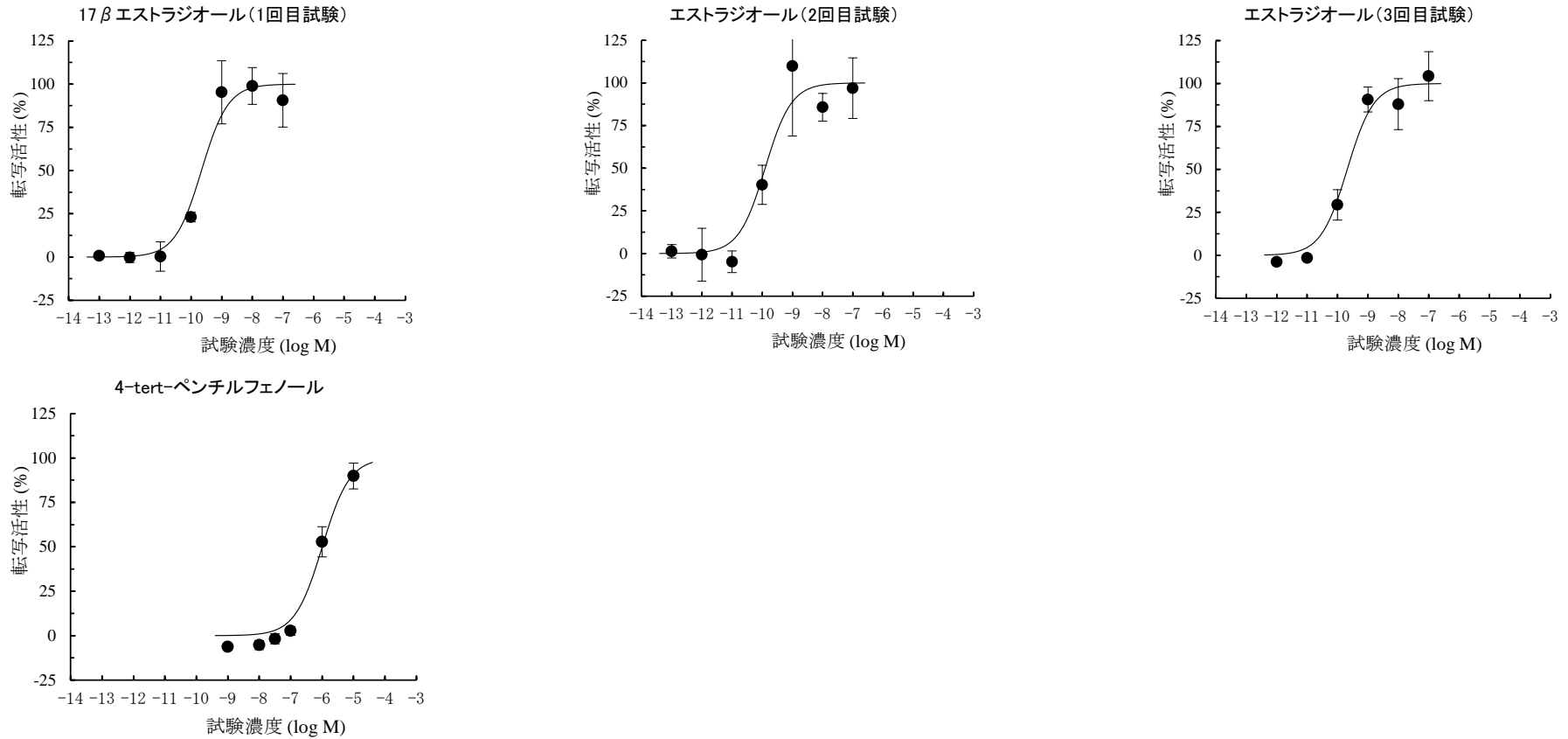
アンタゴニスト検出系の試験での IC<sub>50</sub> 値及び linIC<sub>30</sub> 値の算出



### 3. 結果

#### (1) メダカエストロゲン受容体 $\alpha$ (ER $\alpha$ ) レポーター遺伝子試験 (エストロゲン作用)

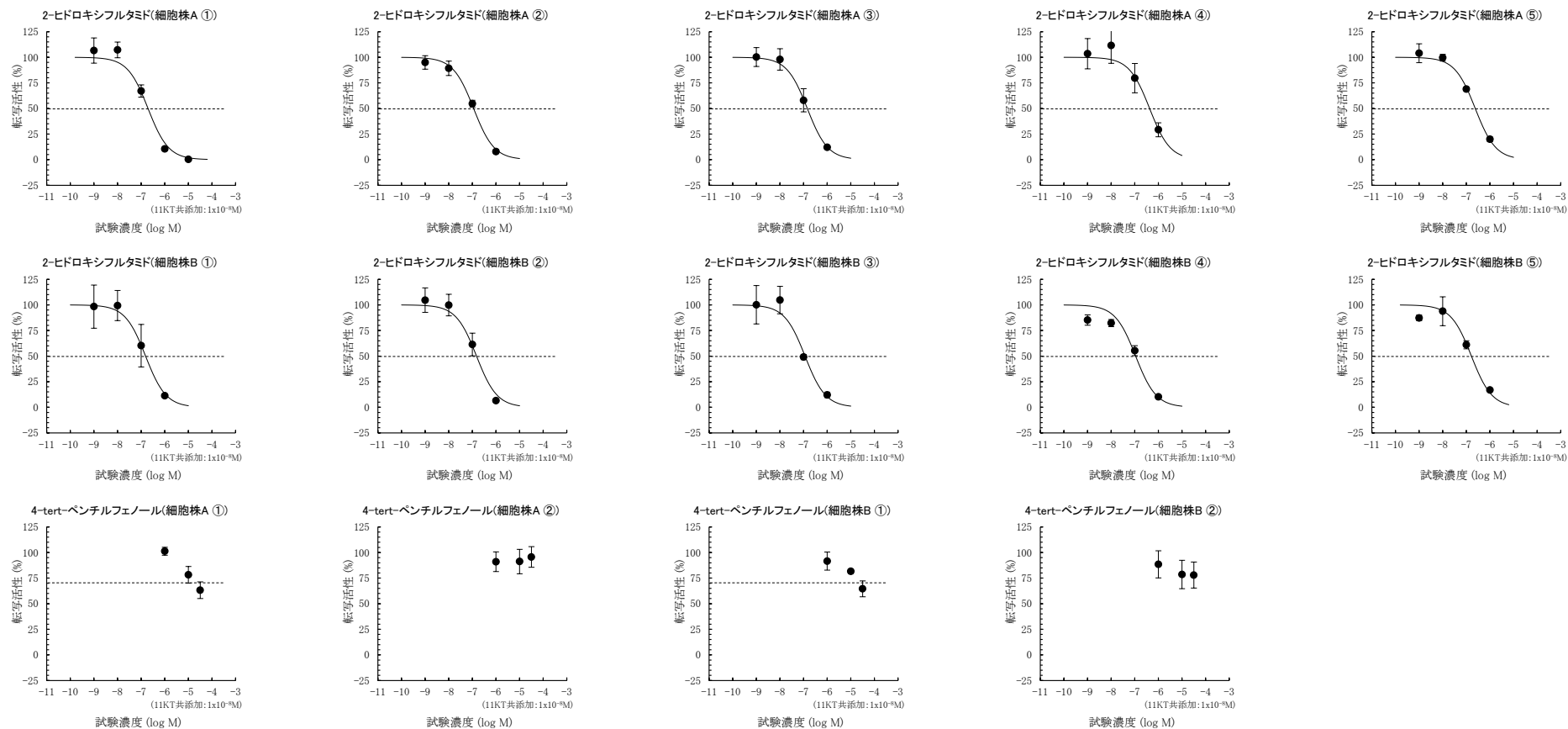
エストロゲン作用試験では、試験濃度に依存的な転写活性化倍率の有意な上昇がみられた。EC<sub>50</sub>値は、 $1.0 \times 10^{-6}$  M、17 $\beta$ -エストラジオール (陽性対照物質) に対する相対活性比は、 $2.1 \times 10^{-4}$ であった (相対活性比は17 $\beta$ -エストラジオールの3回目試験の結果との比較)。



試験対象物質	エストロゲン作用	
	EC <sub>50</sub> 又はPC <sub>10</sub>	相対活性比
4- <i>t</i> -ペンチルフェノール	$1.0 \times 10^{-6}$ M	0.021%*
17 $\beta$ -エストラジオール	EC <sub>50</sub> = $2.2 \times 10^{-10}$ M (1回目試験) EC <sub>50</sub> = $1.3 \times 10^{-10}$ M (2回目試験) EC <sub>50</sub> = $2.1 \times 10^{-10}$ M (3回目試験) *	

## (2) メダカアンドロゲン受容体 $\beta$ (AR $\beta$ ) レポーターゼン試験 (抗アンドロゲン作用)

抗アンドロゲン作用試験では、11-ケトテストステロン  $1 \times 10^{-8}$  M 共添加条件でメダカ AR $\beta$  の転写活性化阻害が認められ、 $\text{linIC}_{30}$  値は、 $1.7 \times 10^{-5}$  M、2-ヒドロキシフルタミド (陽性対照物質) の転写活性化阻害に対する相対活性比は、0.18%であった。



試験対象物質	抗アンドロゲン作用	
	IC <sub>50</sub> 又は $\text{linIC}_{30}$ [M]	相対活性比
4- <i>t</i> -ベンチルフェノール	( $\text{linIC}_{30} = 1.7 \times 10^{-5}$ )	0.18%
2-ヒドロキシフルタミド	$1.5 \times 10^{-7}$ ( $\text{linIC}_{30} = 3.0 \times 10^{-8}$ )	100%

	メダカエストロゲン受容体 $\alpha$ レポーター遺伝子試験		メダカアンドロゲン受容体 $\beta$ 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 $\beta$ 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	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	$5 \times 10^4$ 細胞/well		$5 \times 10^4$ 細胞/well		$5 \times 10^4$ 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 <sub>2</sub> 、40時間		37°C、5% CO <sub>2</sub> 、40時間		37°C、5% CO <sub>2</sub> 、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 $\beta$ エストラジオール $2 \times 10^{-10}$ M	—	11-ケトテストステロン $1 \times 10^{-8}$ M	—	トリヨードサイロニン $2 \times 10^{-9}$ 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)  
(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)