

## りん酸トリクレジル(CAS no. 1330-78-5)

### 試験管内試験結果

#### 1. 試験項目

りん酸トリクレジルについて、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	—	—	—	—	—	—

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

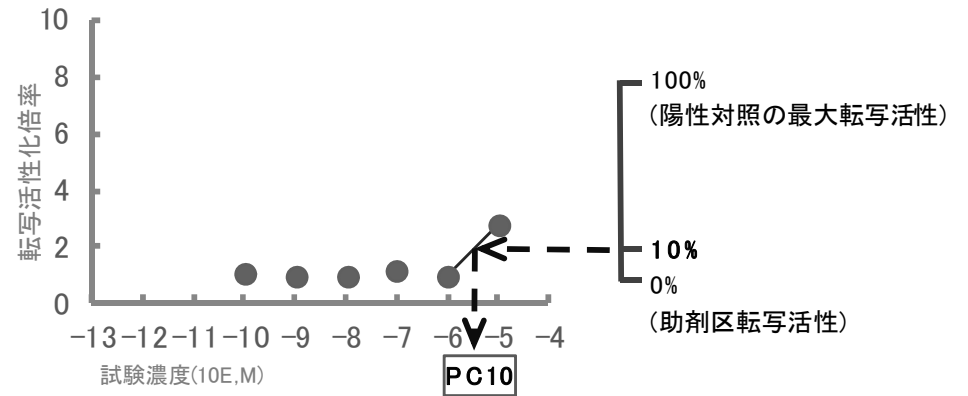
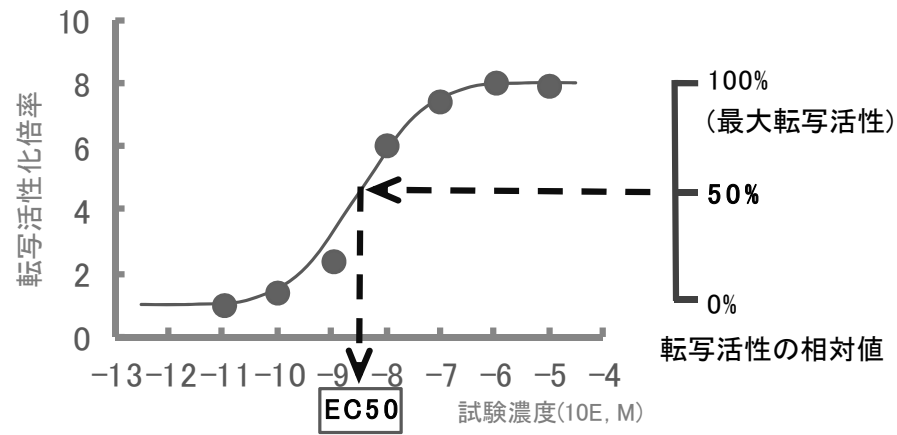
#### 2. 試験方法

すべての試験項目のレポーター遺伝子試験は、一過性発現細胞系による受容体遺伝子及びレポーター遺伝子等の細胞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用いて実施した。

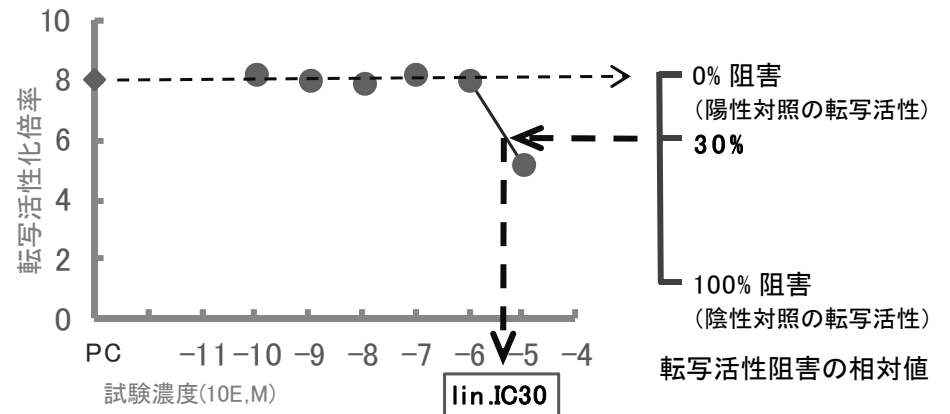
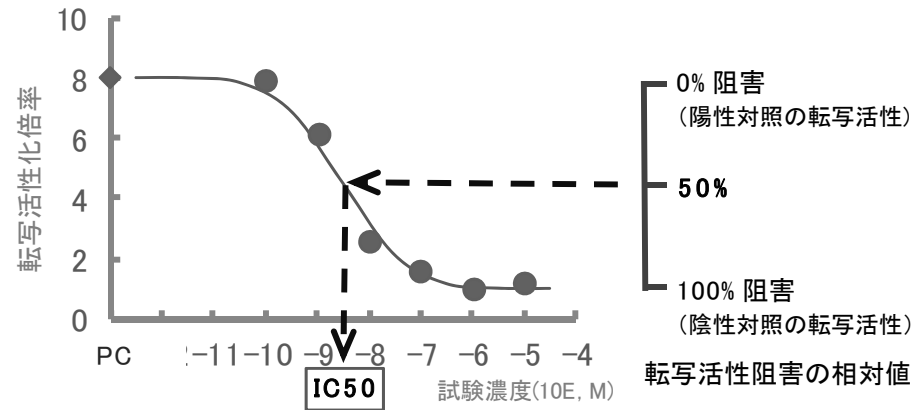
試験は、純度 95% 以上の試薬を用いて行った。抗エストロゲン作用のレポーター遺伝子試験では、試験対象物質の阻害作用を確認するための共添加物質として、17β-エストラジオール又はトリヨードサイロニンをそれぞれ試験系に 2×10<sup>-9</sup> M 又は 1×10<sup>-8</sup> M で添加した。また、試験が適切に実施されたことの確認及び試験対象物質の転写活性化能又は転写活性化阻害の相対的な強さ（相対活性比）を推定するために、試験対象物質での試験と並行して、陽性対照物質（抗エストロゲン作用：4-ヒドロキシタモキシフェン）による試験を実施した。

各試験は、96 穴マイクロプレートを用いて、濃度あたり 3 連以上で行った。アゴニスト検出系の試験では、ベクターを一過的に導入した培養細胞を被験物質でばく露した後、ホタルルシフェラーゼの発光強度でホルモン応答による転写活性、ウミシイタケルシフェラーゼの発光強度で内部コントロールの転写活性を測定し、それらの比（発光強度比）を求めた。各試験濃度における転写活性化倍率（助剤対照の発光強度比に対する試験濃度での発光強度比の割合）から、以下により、アゴニスト系試験では転写活性の有無及び EC<sub>50</sub> 値（又は PC<sub>10</sub> 値）、アンタゴニスト系試験では転写活性阻害の有無及び IC<sub>50</sub> 値（又は linIC<sub>30</sub> 値）を求めた。また、EC<sub>50</sub> 値又は IC<sub>50</sub> 値等が得られた場合には、それらを基に陽性対照物質の活性に対する比率（相対活性比）を算出した。

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



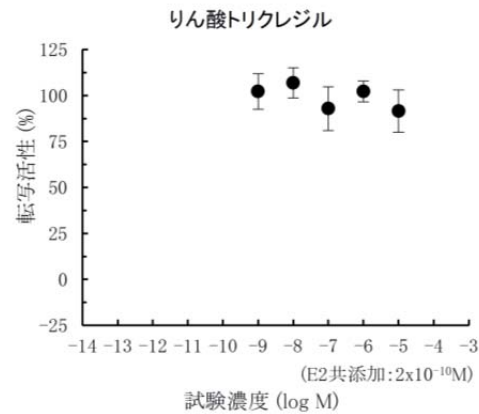
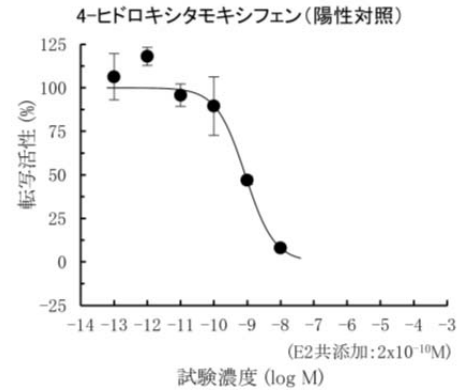
アンタゴニスト検出系の試験での IC<sub>50</sub> 値及び linIC<sub>30</sub> 値の算出



### 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 (抗エストロゲン作用)

抗エストロゲン作用試験の結果、試験濃度範囲において、試験系に共添加した 17 $\beta$ -エストラジオールによるメダカ ER $\alpha$  に対する転写活性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 <sub>50</sub> 又は linIC <sub>30</sub>	相対活性比
リン酸トリクレジル	(得られなかった)	
4-ヒドロキシタモキシフェン	IC <sub>50</sub> = $8.7 \times 10^{-10}$ M	

(EXTEND2010 に基づく平成 27 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 参考資料 2-3 より抜粋)