

4-*t*-オクチルフェノールを対象としてこれまでに実施した第1段階生物試験
結果及び化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価結果

平成26年度第1段階生物試験の実施結果について（抜粋）

1. 平成26年度に実施した試験結果について

試験管内試験の結果等から第1段階生物試験を実施する優先順位が高いと考えられた3物質（4-ノニルフェノール(分岐型)、4-*t*-オクチルフェノール及び4-ヒドロキシ安息香酸メチル）について、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(修正 TG229)を実施した（試験法の概要についてはp 3参照）。

（2）4-*t*-オクチルフェノールの試験結果

25.3、82.3、250 μ g/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、受精率、総産卵数、受精卵数、二次性徴、生殖腺体指数、肝臓体指数、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

雄の肝臓中ビテロゲニン濃度は、ばく露濃度の上昇と共に増加し、82.3 μ g/L 以上のばく露群において、統計学的に有意な高値が認められた。

2. 試験結果のまとめ

（2）4-*t*-オクチルフェノール

今回の試験結果からは、メダカに対する有害性を示すことは示唆されなかった。

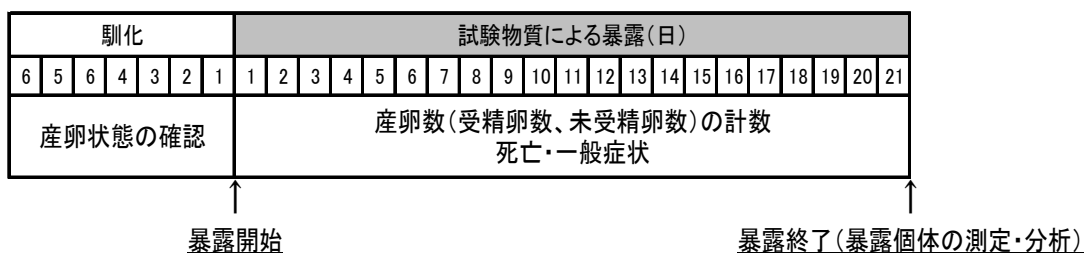
4-*t*-オクチルフェノールについては既存知見からエストロゲン作用を持つことが想定された。今回の試験結果において、死亡が認められない濃度範囲において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められ、エストロゲン作用を持つことが確認された。

なお、今回の最高ばく露濃度 250 μ g/L は、平成24年度に実施された化学物質環境実態調査において検出された最高値 0.031 μ g/L の約 8,060 倍であった。

(参考)

メダカを用いた魚類短期繁殖試験法

魚類短期繁殖試験（OECD TG229）は、成熟したメダカを雌雄混合で試験対象物質に21日間ばく露し、ばく露期間中の産卵状況並びにばく露終了時の生存個体の肝臓中ピテロジェニン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。



エンドポイント

- ・産卵状態(産卵数、受精率、受精卵数)
- ・肝臓中ピテロジェニン濃度
- ・二次性徴
- ・生殖腺組織(オプション:実施せず)

- ・全長、体重
- ・肝臓、生殖腺重量(HSI、GSI)
- ・肝臓中ピテロジェニン濃度
- ・二次性徴(尻鰭乳頭状突起)

第1段階生物試験結果(TG229)

4- *t*-オクチルフェノール

実施機関：いであ株式会社

表 3-A 試験結果

平均濃度実測値 (μ g/L)	試験個体数		死亡率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	0	0	38.1 \pm 1.2	36.5 \pm 0.5	664 \pm 73	578 \pm 29
25.3	12	12	0	0	37.0 \pm 0.9	37.8 \pm 0.5	608 \pm 31	625 \pm 55
82.3	12	12	8.3	0	37.9 \pm 0.6	37.0 \pm 0.2	630 \pm 44	599 \pm 16
250	12	12	0	0	37.4 \pm 0.4	36.7 \pm 0.5	626 \pm 21	605 \pm 10

表 3-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (μ g/L)	総産卵数 (eggs/female/day)	受精卵数 (eggs/female/day)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	24.8 \pm 4.8	23.3 \pm 5.2	93.8 \pm 3.9	0.92 \pm 0.33	10.3 \pm 1.5
25.3	26.3 \pm 3.2	24.1 \pm 3.5	91.4 \pm 5.1	0.83 \pm 0.11	11.4 \pm 1.6
82.3	26.5 \pm 1.3	24.4 \pm 1.5	91.9 \pm 2.1	0.81 \pm 0.08	10.7 \pm 0.39
250	23.3 \pm 2.6	20.7 \pm 2.6	88.5 \pm 3.3	0.81 \pm 0.08	11.1 \pm 2.0

表 3-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (μ g/L)	肝臓体指数 (%)		ビテログニン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.6 \pm 0.50	4.2 \pm 0.63	1.6 \pm 0.8	3,740 \pm 699	104 \pm 3.45	0 \pm 0
25.3	2.1 \pm 0.16	4.6 \pm 0.82	3.2 \pm 2.2	3,710 \pm 617	99 \pm 4.06	0 \pm 0
82.3	2.6 \pm 0.10	4.1 \pm 0.58	5.6 \pm 1.9 *	4,380 \pm 1,350	105 \pm 7.67	0 \pm 0
250	2.9 \pm 0.28	4.5 \pm 0.29	11,400 \pm 3,040 *	5,290 \pm 2,030	98 \pm 8.51	0 \pm 0

表 3-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (μ g/L)	その他の所見
対照区	特になし
25.3	特になし
82.3	特になし
250	特になし

結果は平均値 \pm 標準偏差.

有意差水準 (* p <0.05).

ND は未検出 (< 1 ng/mg liver).

(-)は、未測定

二次性徴：乳頭状突起を有する節板数

化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価について（抜粋）

XIII. 4-*tert*-オクチルフェノール

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

4-*tert*-オクチルフェノール（該当する物質名に下線を付した。）の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響(魚類)、生態影響(両生類)、生態影響(甲殻類)、生態影響(軟体動物等)、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、ステロイド産生への影響、免疫系への影響、副腎皮質細胞への影響及び線維芽細胞への影響の有無に関する報告がある。なお、健康影響、試験管内試験(エストロゲン作用を対象としたことが明確に判断された報告)及び疫学的調査に関する報告については、記載していない。

なお、4-オクチルフェノールとの記載では、4-*tert*-オクチルフェノールと4-*n*-オクチルフェノールとの区別がつかない。

なお、本物質の主な用途は、油性フェノール樹脂、界面活性剤の原料である。

本物質は、平成 24 年度化学物質環境実態調査の水質調査において検出されている。

(1)生態影響(魚類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

③Huang と Wang (2001)によって4-*tert*-オクチルフェノール 4、16、40、64、256 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 42 日間ばく露した幼若雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、4 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び試験方法(ばく露方法、注射手法)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

⑦Seki ら(2003)によって4-*tert*-オクチルフェノール 6.94 \pm 13.0、11.4 \pm 11.7、23.7 \pm 6.5、48.1 \pm 6.6、94.0 \pm 6.0 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に孵化 12 時間未満齢から 60 日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、11.4 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値、間性の出現、23.7 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で累積死亡率、体長、体重の高値、48.1 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄性比(第二次性徴及び組織学的検査による)の低値、雌肝臓中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値、間性の出現が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

⑧Li ら(2012) によって4-*tert*-オクチルフェノール 5、15、50、150、500 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 15 日間ばく露した幼若キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、15 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ⑨Gronen ら(1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 20.0±12.6、40.7±10.0、73.9±17.0、229.5±8.5µg/L の濃度(測定濃度)に約6ヶ月齢から21日間ばく露した雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、20.0µg/L以上のばく露区で日毎産卵数の低値、胚発達異常発生数の高値が認められた。また、受精率、胚生存率に濃度依存的な低値傾向、血漿中ビテロゲン濃度に濃度依存的な高値傾向が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中ビテロゲン濃度に濃度依存的な高値傾向が認められたが認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ⑭van den Belt ら(2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 12.5、25、30、50、100µg/L の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、30µg/Lのばく露区で血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 20、100、500µg/L の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されているが、血漿中ビテロゲン濃度には影響が認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験動物の入手先の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ⑮Nozaka ら(2004)によって 4-tert-オクチルフェノール 12.7±0.6、27.8±0.8、64.1±7.7、129±4.6、296±16.5µg/L の濃度(測定濃度)に約3ヶ月齢から21日間ばく露した雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、64.1µg/L以上のばく露区で肝臓中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 12.7±0.6、27.8±0.8、64.1±7.7、129±4.6、296±16.5µg/L の濃度(測定濃度)に約3ヶ月齢から21日間ばく露した雌メダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、296µg/Lのばく露区で肝臓中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、肝臓中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

- ⑥Gray ら(1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 10、25、50、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に1日齢から6ヶ月間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10、50、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でばく露雄と非ばく露雌による産卵の受精率の低値、10、25、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でばく露雌雄による産卵の受精率の低値、25 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で旋回遊泳行動回数、繁殖成功率(相対受精卵数)の低値、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で接近行動回数、交尾行動回数の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験方法(飼育条件等)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。内分泌かく乱作用との関連の有無においては、受精率、旋回遊泳行動回数、繁殖成功率、接近行動回数、交尾行動回数の低値が認められたが、一般的な毒性と区別がつかないことから、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定されるメカニズム：一般的な毒性と区別がつかない

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ⑤Scholz と Gutzeit (2001)によって 4-tert-オクチルフェノール 10、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化直後から2ヶ月間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌の生殖腺体指数の低値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄精巢中アロマトーゼ mRNA の発現が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験方法(ばく露方法等)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、生殖腺体指数の低値、1雄精巢中アロマトーゼ mRNA の発現が認められたが、濃度依存性がなく、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

※参考 生態影響(魚類)(今回評価対象としなかった文献)

- ①Ashfield ら(1998)によって 4-tert-オクチルフェノール 1、10、50 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に0日齢から22日間ばく露したXX型雌ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で最長86日間飼育)が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重(108日齢)の低値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 1、10、30 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に0日齢から35日間ばく露したXX型雌ニジマス(*O. mykiss*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で最長431日間飼育)が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体重(300、466日齢)の低値、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体重(150日齢)、体長(150日齢)の低値が認められた。なお、生殖腺体指数(466日齢)には影響が認められなかった。

- ②Knorr と Braunbeck (2002)によって4-オクチルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし)2、20、50 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精2～4時間後(2及び4割球期)から孵化7日後までばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積死亡率の高値が認められた。

また、4-オクチルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし)2、20、50 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化7日後(上記孵化稚魚)から14週齢までばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響(12～13週間齢にて3日間連続生殖試験)が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄性比の低値、精巢卵の出現、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄及び雌体重、雄及び雌体長の低値が認められた。なお、受精率、日毎産卵数には影響は認められなかった。

- ④Rasmussen ら(2005)によって 4-tert-オクチルフェノール 9 \pm 0.5、35 \pm 1.4、63 \pm 3.0 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に3週間(精子産生期に相当する春季)ばく露したゲンゲ科の一種(*Zoarces viviparus*)成熟雄への影響が検討されている。その結果として、9 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巢中 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ活性の低値、組織病理学的検査におけ

る精巣影響の重篤度の高値、35 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生殖腺体指数の低値、血漿中ビテロゲニン濃度の高値、65 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓体指数、精巣中蛋白質濃度の高値認められた。

- ⑩Andreassen ら(2005)によって 4-tert-オクチルフェノール 25 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 168 時間ばく露したゲンゲ科の一種(*Zoarces viviparus*)雄への影響が検討されている。その結果として、血漿中ビテロゲニン濃度、肝臓中エストロゲン受容体 α mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン受容体発現量の高値が認められた。
- ⑪van den Belt ら(2001)によって 4-tert-オクチルフェノール 12.5、25、50、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 3 週間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(ばく露期間最後の 5 日間は雌雄隔離し雌に自然産卵)が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で非産卵雌生殖腺体指数の低値が認められた。なお、雄及び雌の累積死亡率、雄及び雌の血漿中ビテロゲニン濃度、雌産卵率、雄受精率には影響が認められなかった。
- ⑫Robinson ら(2004)によって 4-tert-オクチルフェノール 4 \pm 5、3 \pm 2、20 \pm 5、31 \pm 6、101 \pm 47 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に 28 日間ばく露したハゼ科の一種サンドゴビー(*Pomatoschistus minutus*)未成熟雌雄への影響が検討されている。その結果として、31 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。
- また、4-tert-オクチルフェノール 7、28、119 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度中央値)に最長 6 ヶ月間ばく露したハゼ科の一種サンドゴビー(*P. minutus*)未成熟雌雄への影響が検討されている。その結果として、28 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積死亡率の高値、28 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量(ばく露開始から 46、80、159 日後)、雌肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量(ばく露開始から 24、80、159 日後)、雄精管腺(spermatid gland)体指数(ばく露開始から 46、80 日後)、雄婚姻色スコア(ばく露開始から 80、137 日後)の低値が認められた。
- ⑬Segner ら(2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 1.2、3.7、11.9、38 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精卵から 75 日齢までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(75~78 日齢で交配試験)が検討されている。その結果として、 EC_{50} 値 0.136 μM (=28.0 $\mu\text{g/L}$)の濃度で受精率の低値が認められた。
- ⑭Toft と Baatrup (2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 1、10、100、200 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に約 6 日齢から 90 日間ばく露したグッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌生殖腺体指数の低値、雄性行動試験における posturing 行動頻度、雄交尾びれ長、雄精巣中精子数の高値、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄婚姻色係数の低値、雄体長の高値が認められた。
- ⑮Toft と Baatrup (2001)によって 4-tert-オクチルフェノール 100、300、900 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 30 日間ばく露した成熟雄グッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生殖腺体指数の低値、100、300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で放出精子数の高値、300 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体色係数(オレンジ斑点模様が体表に占める面積率)の低値が認められた。
- また、4-tert-オクチルフェノール 100、300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 60 日間ばく露した成熟雄グッピー(*P. reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体色係数(オレンジ斑点模様が体表に占める面積率)の低値、放出精子数の高値が認められた。
- ⑯Bayley ら(1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 150 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 4 週間ばく露した成熟雄グッピー(*Poecilia reticulata*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で 10 日間飼育)が検討されている。その結果として、性行動(sigmoid displays)持続時間の低値が認められた。
- ⑰Senthil Kumaran ら(2011)によって 4-tert-オクチルフェノール 250、500、750、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露したヒレナマズ科の一種アフリカンクララ(*Clarias gariepinus*)成熟個体への影響が検討されている。その結果として、250 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中コルチゾール濃度の高値が認められた。
- ⑱Rhee ら(2009)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精 2 日後から 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)への影響が検討されている。その結果として、全身中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、全身中コリオゲニン LmRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ②①Yu ら(2008)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン *S* トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン *S* トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ②②Rhee ら(2008)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 mRNA 相対発現量(脳下垂体、精巣及び腸管中)の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 mRNA 相対発現量(脳下垂体、精巣、腸管及び肝臓中)の高値が認められた。

- ②③Lee ら(2006)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ②④Gray と Metcalfe (1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 50、100、250、500、750、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精 2～3 時間後から遊泳開始まで 17 日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で孵化終了までの生存率の低値が認められた。

(2)生態影響(両生類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Mayer ら(2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1 μM 、(=0.206、2.06、20.6 $\mu\text{g/L}$)の濃度(設定濃度)に Gosner stage32 の朝 8:00～10:00 から 24 時間ばく露したウシガエル(*Rana catesbeiana*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.001 μM (=0.206 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で性分化が認められた個体率、雄個体率、雌個体率の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1 μM 、(=0.206、2.06、20.6 $\mu\text{g/L}$)の濃度(設定濃度)に Gosner stage33 の朝 8:00～10:00 から 24 時間ばく露したウシガエル(*R. catesbeiana*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.001 μM (=0.206 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で性分化が認められた個体率、雄個体率の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1 μM 、(=0.206、2.06、20.6 $\mu\text{g/L}$)の濃度(設定濃度)に Gosner stage33 の朝 8:00～10:00 から 24 時間ばく露したウシガエル(*R. catesbeiana*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.001 μM (=0.206 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で性分化が認められた個体率、雄個体率の高値、0.1 μM (=20.6 $\mu\text{g/L}$)のばく露区で雄及び未分化生殖腺中 SF-1 発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、性分化が認められた個体率、雄個体率、雌個体率、雄及び未分化生殖腺中 SF-1 発現量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性

が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

- ③Porter ら(2011)によって 4-tert-オクチルフェノール 1.2 ± 0.5 、 3.5 ± 0.7 、 10 ± 2 、 $36\pm 7\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 46 から 31 週間(変態が完了する stage 65 から 25 週間後に相当)ばく露したネッタイツメガエル(*Xenopus tropicalis*)への影響が検討されている。その結果として、 1.2 、 $36\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄精巢の組織病理学的異常所見発生率(多巣変性生殖細胞壊変)の高値、 $10\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄精巢中精子濃度、表現型雌性比の高値、 $36\mu\text{g/L}$ のばく露区で累積生存率の低値、卵管出現雄の卵管重量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、卵管出現雄の卵管重量の高値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ④Kloas ら(1999)によって 4-オクチルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし) 0.01 、 $0.1\mu\text{M}$ ($=2.06$ 、 $20.6\mu\text{g/L}$)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 38/40 から 12 週間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、 $0.01\mu\text{M}$ ($=2.06\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で雄性比の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び試験方法(餌の種類等)の詳細な記載がないことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

※参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

- ②Crump ら(2002)によって 4-オクチルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし) $0.001\mu\text{M}$ ($=0.206\mu\text{g/L}$)の濃度(設定濃度)に Gosner stage 21 から 10 日間ばく露したヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されている。その結果として、視床下部中 *BA12* mRNA 相対発現量の低値、間脳中 *NAP4* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ⑤Selcer と Verbanic (2014)によって 4-オクチルフェノール(Chem Service、CAS#記載なし) $1,000\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 20 日間ばく露した成熟雄ヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されているが、血漿中ビテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

※参考 (3)生態影響(甲殻類)(今回評価対象としなかった文献)

- ①Marcial ら(2003)によって、4-tert-オクチルフェノール 0.01 、 0.1 、 1 、 $10\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*Tigriopus japonicus*) F_0 への影響が検討されている。その結果として、 0.1 、 $1\mu\text{g/L}$ の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、 $1\mu\text{g/L}$ の濃度で総産卵数の高値が認められた。
- また更に、4-tert-オクチルフェノール 0.01 、 0.1 、 1 、 $10\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に誕生(上記 F_0 が出産)から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*T. japonicus*) F_1 への影響が検討されている。その結果として、 0.01 、 0.1 、 $1.0\mu\text{g/L}$ の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、 $1\mu\text{g/L}$ 以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。
- ②Isidori ら(2006)によって 4-tert-オクチルフェノール(公比2倍で7ばく露区設定)に 24 時間未満齢から 7 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討

されている。その結果として、EC₅₀ 値 10µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

- ③Zou と Fingerman (1997)によって4-オクチルフェノール(Sigma、CAS#記載なし)10、20、40µg/L の濃度(設定濃度)に1令幼生(初脱皮 12 時間後)から4令幼生に至るまで約5日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されているが、4令幼生に至るまでの所要日数には影響が認められなかった。

※参考 (4)生態影響(軟体動物等)(今回評価対象としなかった文献)

- ①Oehlmann ら(2000)によって4-オクチルフェノール(Merck、CAS#記載なし)1、5、25、100µg/L の濃度(設定濃度)に最長5ヶ月間ばく露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1µg/L 以上のばく露区で累積死亡率の高値、5µg/L 以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値が認められた。

また、4-オクチルフェノール(Merck、CAS#記載なし)1、100µg/L の濃度(設定濃度)に孵化後から最長12ヶ月間ばく露したアンモナイトスネール(*M. cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1µg/L 以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値が認められた。

また、4-オクチルフェノール(Merck、CAS#記載なし)1、25、100µg/L の濃度(設定濃度)に成熟期から最長3ヶ月間ばく露したヨーロッパチヂミボラ(*Nucella lapillus*)への影響が検討されている。その結果として、1µg/L 以上のばく露区で陰茎長、前立腺長の低値、卵管に卵母細胞をもつ雌の個体率、卵殻腺(capsule gland)長、卵管外套腺(pallial gland)重量の高値が認められた。

- ②Jobling ら(2004)によって4-tert-オクチルフェノール1、5、25、100µg/L の濃度(設定濃度)に最長63日間ばく露した成熟コモチカワツボ(*Potamopyrgus antipodarum*)への影響が検討されている。その結果として、525µg/L のばく露区で胚産生数の高値(21日目)、5、25µg/L のばく露区で胚産生数の高値(63日目)が認められた。

(5)エストロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)によって、4-オクチルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし)0.01、0.1、1、10µM(=2.06、20.6、206、2,060µg/L)の濃度に6日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(T-Screen assay)が検討されている。その結果として、1µM(=206µg/L)の濃度で細胞濃度の高値が認められた(10µM では細胞毒性が認められた濃度範囲に相当し、低値)。なお、この細胞増殖活性は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 18-2780 1nM 共存下で阻害された。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないこと及び異性体の区別がつかないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、細胞増殖活性が、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 18-2780 共存下で阻害されたが認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

(6)アンドロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ①Xu ら(2005)によって、4-オクチルフェノール(Sigma、CAS#記載なし)0.1、1、10µM(=20.6、206、2,060µg/L)の濃度に24時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、クロラムフェ

ニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

(7)抗アンドロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Xu ら(2005)によって、4-オクチルフェノール(Sigma, CAS#記載なし) 0.1、1、10 μ M(=20.6、206、2,060 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 1nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,060 μ g/L)の濃度でクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

(8)抗甲状腺ホルモン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Ishihara ら(2003)によって、4-tert-オクチルフェノール 8 μ M(=1,650 μ g/L)の濃度でニホンウズラ血清由来精製トランスサイレチンを用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害が認められた。

なお、4-tert-オクチルフェノール 1 μ M(=206 μ g/L)の濃度で由来甲状腺ホルモン受容体 β リガンド結合ドメインを用いた結合阻害試験が検討されているが、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験方法(試験動物の性別、飼育条件)の詳細な記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、トリヨードサイロニンに対する結合阻害が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

②Ghisari と Bonfeld-Jorgensen (2005)によって、4-オクチルフェノール(Aldrich, CAS#記載なし) 0.01、0.1、1、10 μ M(=2.06、20.6、206、2,060 μ g/L)の濃度に 6 時間ばく露(0.5nM トリヨードサイロニン共存下)したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(T-Screen assay)が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,060 μ g/L)の濃度で細胞濃度の低値が認められた(ただし、細胞毒性が認められる濃度範囲に相当)。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないこと及び異性体の区別がつかないことから、一部記載が不十分であると評価された。内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、細胞濃度の低値が認められたが、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

(9)ステロイド産生への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Kotula-Balak ら(2011)によって、4-tertオクチルフェノール 0.01、0.1、1、10、100 μ M(=2.06、20.6、206、2,060、20,600 μ g/L)の濃度に3時間ばく露したマウスライディッチ腫瘍細胞 MA-10 への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=20.6 μ g/L)以上の濃度で 3β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ相対発現量、アンドロゲン受容体相対発現量の低値、1 μ M(=206 μ g/L)以上の濃度でプロゲステロン相対分泌量の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、 3β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ相対発現量、アンドロゲン受容体相対発現量の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

- ②Murono ら(2001)によって、4-tertオクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2 μ M(=0.206、2.06、20.6、103、412 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で培養後、各基質を添加し更に4時間培養)したラットライディッチ細胞(55 から 65 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=20.6 μ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(プレグネノロン 1 μ M を基質とする)の低値、0.5 μ M(=103 μ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(22R-ヒドロキシコレステロール 1 μ M を基質とする)、テストステロン産生量(プロゲステロン 1 μ M を基質とする)の低値が認められた。なお、テストステロン産生量(アンドロステンジオン 1 μ M を基質とする)には影響は認められなかった。

また、4-tertオクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2 μ M(=0.206、2.06、20.6、103、412 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したラットライディッチ細胞(55 から 65 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、0.5 μ M(=103 μ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(基底状態)の低値が認められた。なお、テストステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下)には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、 3β -テストステロン産生量の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：その他の作用 (テストステロン産生系への影響)

- ⑤Nikula ら(1999)によって、4-tertオクチルフェノール 0.1、1、10、100 μ M(=20.6、206、2,060、20,600 μ g/L)の濃度に48時間ばく露(前処理として培養後、ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で更に3時間培養)したマウスライディッチ腫瘍細胞 mLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=206 μ g/L)以上の濃度でプロゲステロン産生量、c-AMP 産生量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度及び試験に使用した細胞の入手先の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量、c-AMP 産生量の低値が認められたことから、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗プロゲステロン作用

※参考 ステロイド産生への影響(今回評価対象としなかった文献)

③Muroño ら(2000)によって、4-tertオクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2 μM (=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 24 時間ばく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で培養後、各基質を添加し更に 4 時間培養)したラットライディッヒ細胞(23 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 μM (=20.6 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度でテストステロン産生量(プレグネノロン 1 μM を基質とする)の低値、0.5 μM (=103 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度でテストステロン産生量(22R-ヒドロキシコレステロール 1 μM を基質とする)、テストステロン産生量(プロゲステロン 1 μM を基質とする)の低値が認められた。なお、テストステロン産生量(アンドロステンジオン 1 μM を基質とする)には影響は認められなかった。

また、4-tertオクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2 μM (=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 24 時間ばく露したラットライディッヒ細胞(23 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 μM (=20.6 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度でテストステロン産生量(8-プロモ-cAMP 1mIU/mL 共存下)の低値、0.5 μM (=103 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度でテストステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下)の低値が認められた。

④Muroño ら(1999)によって、4-tertオクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2 μM (=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 24 時間ばく露したラットライディッヒ細胞(1 から 3 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、0.5 μM (=103 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度でテストステロン産生量(8-プロモ-cAMP 1mIU/mL 共存下)の低値、2 μM (=412 $\mu\text{g/L}$)の濃度でテストステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下)の低値が認められた(ただし、0.001 及び 0.01 μM の濃度では高値)。

また、4-tertオクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2 μM (=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 24 時間ばく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で培養後、プレグネノロン、22R-ヒドロキシコレステロール、プロゲステロン、アンドロステンジオンのいずれか 1 μM を基質として添加し更に 4 時間培養)したラットライディッヒ細胞(1 から 3 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されているが、テストステロン産生量には影響は認められなかった。

※参考 (10)免疫系への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Lee ら(2004)によって、4-tertオクチルフェノール 0.01、0.1、1、5、10 μM (=20.6、206、1,030、2,060 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 4 時間ばく露したマウスリンパ節細胞への影響が検討されている。その結果として、0.1 μM (=20.6 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度でキーホールリンペットヘモシアン誘導性インターロイキン-4 分泌量の高値が認められた。

また、4-tertオクチルフェノール 0.01、0.1、1、5、10 μM (=20.6、206、1,030、2,060 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 2 時間ばく露したマウス胸腺腫細胞 EL4 への影響が検討されている。その結果として、1、5 μM (=206、1,030 $\mu\text{g/L}$)の濃度で PMA(ホルボールエステル類の一種)誘導性インターロイキン-4 分泌量の高値が認められた。

②Iwata ら(2004)によって、4-tertオクチルフェノール 10 μM (=2,060 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 5 時間ばく露した DKO マウス脾臓細胞への影響が検討されているが、インターフェロン- γ 産生細胞率、インターロイキン-4 産生細胞率には影響は認められなかった。

※参考 (11)副腎皮質細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Nakajin ら(2001)によって、4-tertオクチルフェノール 1.3、2.3、4.8、13、23、48 μM (=260、600、1,000、2,600、6,000、10,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 48 時間ばく露(ジブチリル c-AMP 1mM 共存下)したヒト副腎皮質細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、1.3 μM (=260 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度でコルチゾール産生量の低値が認められた。

※参考 (12)線維芽細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Masuno ら(2003)によって、4-tertオクチルフェノール 10,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度に 8 日間ばく露したマウス線維芽細胞 3T3-L1 への影響が検討されている。その結果として、リポ蛋白質リパーゼ活性(DNA 重量当)、トリアシルグリセロール産生量(DNA 重量当)の低値、DNA 量の高値が認められた。

2. 総合的判断(案)

得られた報告について信頼性評価を実施した結果として、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告が得られた。

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系への作用、抗プロゲステロン作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 13 に示した。

表 13 信頼性評価のまとめ

物質名：4-*tert*-オクチルフェノール

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響(魚類)	①Ashfield ら(1998)評価未実施				
	②Knorr と Braunbeck (2002)評価未実施				
	エストロゲン様作用	③Huang と Wang (2001)	△	○P	○
		④Rasmussen ら(2005)評価未実施			
		⑤Scholz と Gutzeit (2001)	△	○N	×
	一般的な毒性と区別がつかない	⑥Gray ら(1999)	△	?	—
	エストロゲン様作用	⑦Seki ら(2003)	○	○P	○
	エストロゲン様作用	⑧Li ら(2012)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	⑨Gronen ら(1999)	○	○P	○
		⑩Andreassen ら(2005)評価未実施			
		⑪van den Belt ら(2001)評価未実施			
		⑫Robinson ら(2004)評価未実施			
		⑬Segner ら(2003)評価未実施			
	エストロゲン様作用	⑭van den Belt ら(2003)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	⑮Nozaka ら(2004)	○	○P	○
		⑯Toft と Baatrup (2003)評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証 するために必要である 『材料と方法(Materials and Methods)』に関する 記載の有無及びその評 価 ¹⁾	内分泌か く乱作用 との関連 の有無 ²⁾	内分泌かく乱 作用に関する 試験対象物質 として選定す る根拠として の評価 ³⁾	
	⑰Toft と Baatrup (2001)評価未実施				
	⑱Bayley ら(1999)評 価未実施				
	⑲Senthil Kumaran ら(2011) 評価未実施				
	⑳Rhee ら(2009) 評価未実施				
	㉑Yu ら(2008) 評価未実施				
	㉒Rhee ら(2008) 評価未実施				
	㉓Lee ら(2006) 評価未実施				
	㉔Gray と Metcalfe (1999) 評価未実施				
(2)生態影 響(両生 類)	エストロゲン様作用、視床下部一下垂 体一生殖腺軸への作用	①Mayer ら(2003)	△	○P	○
		②Crump ら(2002) 評価未実施			
	エストロゲン様作用	③Porter ら(2011)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	④Kloas ら(1999)	×	—	×
		⑤Selcer と Verbanic (2014) 評価未実施			
(3)生態影 響(甲殻 類)		①Marcial ら(2003) 評価未実施			
		②Isidori ら(2006) 評価未実施			
		③Zou と Fingerman (1997) 評価未実施			
(4)生態影 響(軟体動 物等)		①Oehlmann ら (2000) 評価未実施			
		②Jobling ら(2004) 評価未実施			
(5)エストロゲン作用		①Ghisari と Bonfeld-Jorgensen (2005)	△	○P	○
(6)アンドロゲン作用		①Xu ら(2005)	○	○N	×

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証 するのために必要である 『材料と方法(Materials and Methods)』に関する 記載の有無及びその評 価 ¹⁾	内分泌かく乱 作用との関連 の有無 ²⁾	内分泌かく乱 作用に関する 試験対象物質 として選定す る根拠として の評価 ³⁾
(7)抗アンドロゲン作用	①Xu ら(2005)	○	○P	○
(8)抗甲状腺ホルモン作用	①Ishihara ら(2003)	△	○P	○
	②Ghisari と Bonfeld-Jorgensen (2005)	△	?	—
(9)ステロ イド産生 への影響	抗アンドロゲン作用 ①Kotula-Balak ら (2011)	△	○P	○
	その他の作用 (テスト ステロン産生系への 影響) ②Muroño ら(2001)	△	○P	○
	③Muroño ら(2000) 評価未実施			
	④Muroño ら(1999) 評価未実施			
	抗プロゲステロン作 用 ⑤Nikula ら(1999)	△	○P	○
(10)免疫 系への影 響	①Lee ら(2004) 評価未実施			
	②Iwata ら(2004) 評価未実施			
(11)副腎 皮質細胞 への影響	①Nakajin ら(2001) 評価未実施			
(12)線維 芽細胞へ の影響	①Masuno ら(2003) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系への作用、抗プロゲステロン作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Marcial HS, Hagiwara A and Snell TW (2003) Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (12), 3025-3030.

Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A and Parrella A (2006) Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols. *Chemosphere*, 64 (1), 135-143.

Zou E and Fingerman M (1997) Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38 (3), 281-285.

- Ashfield LA, Pottinger TG and Sumpter JP (1998) Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomatic index. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17 (4), 679-686.
- Knorr S and Braunbeck T (2002) Decline in reproductive success, sex reversal, and developmental alterations in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) after continuous exposure to octylphenol. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51 (3), 187-196.
- Huang RK and Wang CH (2001) The effect of two alkylphenols on vitellogenin levels in male carp. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life Sciences*, 25 (4), 248-52.
- Rasmussen TH, Teh SJ, Bjerregaard P and Korsgaard B (2005) Anti-estrogen prevents xenoestrogen-induced testicular pathology of eelpout (*Zoarces viviparus*). *Aquatic Toxicology*, 72 (3), 177-194.
- Scholz S and Gutzeit HO (2001) Lasting effects of xeno- and phytoestrogens on sex differentiation and reproduction of fish. *Environmental Sciences: an International Journal of Environmental Physiology and Toxicology*, 8 (1), 57-73.
- Gray MA, Teather KL and Metcalfe CD (1999) Reproductive success and behavior of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 4-*tert*-octylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (11), 2587-2594.
- Seki M, Yokota H, Maeda M, Tadokoro H and Kobayashi K (2003) Effects of 4-nonylphenol and 4-*tert*-octylphenol on sex differentiation and vitellogenin induction in medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (7), 1507-1516.
- Li Z, Zhang H, Gibson M and Liu P (2012) An evaluation of the combined effects of phenolic endocrine disruptors on vitellogenin induction in goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21 (7), 1919-1927.
- Gronen S, Denslow N, Manning S, Barnes S, Barnes D and Brouwer M (1999) Serum vitellogenin levels and reproductive impairment of male Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 4-*tert*-octylphenol. *Environmental Health Perspectives*, 107 (5), 385-390.
- Andreassen TK, Skjoedt K and Korsgaard B (2005) Upregulation of estrogen receptor alpha and vitellogenin in eelpout (*Zoarces viviparus*) by waterborne exposure to 4-*tert*-octylphenol and 17beta-estradiol. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 140 (3-4), 340-346.
- van den Belt K, Verheyen R and Witters H (2001) Reproductive effects of ethynylestradiol and 4-*t*-octylphenol on the zebrafish (*Danio rerio*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 41 (4), 458-467.
- Robinson CD, Brown E, Craft JA, Davies IM and Moffat CF (2004) Effects of prolonged exposure to 4-*tert*-octylphenol on toxicity and indices of oestrogenic exposure in the sand goby (*Pomatoschistus minutus*, Pallas). *Marine Environmental Research*, 58 (1), 19-38.
- Segner H, Navas JM, Schafers C and Wenzel A (2003) Potencies of estrogenic compounds in *in vitro* screening assays and in life cycle tests with zebrafish *in vivo*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54 (3), 315-322.
- van den Belt K, Verheyen R and Witters H (2003) Comparison of vitellogenin responses in zebrafish and rainbow trout following exposure to environmental estrogens.

- Ecotoxicology and Environmental Safety, 56 (2), 271-281.
- Nozaka T, Abe T, Matsuura T, Sakamoto T, Nakano N, Maeda M and Kobayashi K (2004) Development of vitellogenin assay for endocrine disrupters using medaka (*Oryzias latipes*). Environmental Sciences: an International Journal of Environmental Physiology and Toxicology, 11 (2), 99-121.
- Toft G and Baatrup E (2003) Altered sexual characteristics in guppies (*Poecilia reticulata*) exposed to 17beta-estradiol and 4-*tert*-octylphenol during sexual development. Ecotoxicology and Environmental Safety, 56 (2), 228-237.
- Toft G and Baatrup E (2001) Sexual characteristics are altered by 4-*tert*-octylphenol and 17beta-estradiol in the adult male guppy (*Poecilia reticulata*). Ecotoxicology and Environmental Safety, 48 (1), 76-84.
- Bayley M, Nielsen JR and Baatrup E (1999) Guppy sexual behavior as an effect biomarker of estrogen mimics. Ecotoxicology and Environmental Safety, 43 (1), 68-73.
- Senthil Kumaran S, Kavitha C, Ramesh M and Grummt T (2011) Toxicity studies of nonylphenol and octylphenol: hormonal, hematological and biochemical effects in *Clarias gariepinus*. Journal of Applied Toxicology, 31 (8), 752-61.
- Rhee JS, Kang HS, Raisuddin S, Hwang DS, Han J, Kim RO, Seo JS, Lee YM, Park GS, Lee SJ and Lee JS (2009) Endocrine disruptors modulate expression of hepatic choriogenin genes in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus*. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology, 150 (2), 170-178.
- Yu IT, Rhee JS, Raisuddin S and Lee JS (2008) Characterization of the glutathione S-transferase-Mu (GSTM) gene sequence and its expression in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus* as a function of development, gender type and chemical exposure. Chemico-Biological Interactions, 174 (2), 118-125.
- Pelayo S, Oliveira E, Thienpont B, Babin PJ, Raldua D, Andre M and Pina B (2012) Triiodothyronine-induced changes in the zebrafish transcriptome during the eleutheroembryonic stage: implications for bisphenol A developmental toxicity. Aquatic Toxicology, 110-111, 114-122.
- Rhee JS, Seo JS, Raisuddin S, Ki JS, Lee KW, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2008) Gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) gene expression is differently modulated in gender types of the hermaphroditic fish *Kryptolebias marmoratus* by endocrine disrupting chemicals. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology, 147 (3), 357-365.
- Lee YM, Seo JS, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2006) Endocrine disrupting chemicals (bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-*tert*-octylphenol) modulate expression of two distinct cytochrome P450 aromatase genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 345 (2), 894-903.
- Gray MA and Metcalfe CD (1999) Toxicity of 4-*tert*-octylphenol to early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Aquatic Toxicology, 46 (2), 149-154.
- Mayer LP, Dyer CA and Proper CR (2003) Exposure to 4-*tert*-octylphenol accelerates sexual differentiation and disrupts expression of steroidogenic factor 1 in developing bullfrogs. Environmental Health Perspectives, 111 (4), 557-561.
- Crump D, Lean D and Trudeau VL (2002) Octylphenol and UV-B radiation alter larval

- development and hypothalamic gene expression in the leopard frog (*Rana pipiens*). *Environmental Health Perspectives*, 110 (3), 277-284.
- Porter KL, Olmstead AW, Kumsher DM, Dennis WE, Sprando RL, Holcombe GW, Korte JJ, Lindberg-Livingston A and Degitz SJ (2011) Effects of 4-*tert*-octylphenol on *Xenopus tropicalis* in a long term exposure. *Aquatic Toxicology*, 103 (3-4), 159-169.
- Kloas W, Lutz I and Einspanier R (1999) Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals *in vitro* and *in vivo*. *Science of the Total Environment*, 225 (1-2), 59-68.
- Selcer KW and Verbanic JD (2014) Vitellogenin of the northern leopard frog (*Rana pipiens*): Development of an ELISA assay and evaluation of induction after immersion in xenobiotic estrogens. *Chemosphere*, 112, 348-354.
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M and Markert B (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (*Mollusca: Gastropoda*) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicology*, 9 (6), 383-397.
- Jobling S, Casey D, Rogers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawlowski S, Baunbeck T, Turner AP and Tyler CR (2004) Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology*, 66 (2), 207-222.
- Xu LC, Sun H, Chen JF, Bian Q, Qian J, Song L and Wang XR (2005) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of bisphenol A, octylphenol and nonylphenol *in vitro*. *Toxicology*, 216 (2-3), 197-203.
- Ghisari M and Bonefeld-Jorgensen EC (2005) Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat GH3 cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 244 (1-2), 31-41.
- Ishihara A, Nishiyama N, Sugiyama S and Yamauchi K (2003) The effect of endocrine disrupting chemicals on thyroid hormone binding to Japanese quail transthyretin and thyroid hormone receptor. *General and Comparative Endocrinology*, 134 (1), 36-43.
- Kotula-Balak M, Pochec E, Hejmej A, Duda M and Bilinska B (2011) Octylphenol affects morphology and steroidogenesis in mouse tumor Leydig cells. *Toxicology in Vitro*, 25 (5), 1018-1026.
- Murono EP, Derk RC and de Leon JH (2001) Differential effects of octylphenol, 17beta-estradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells. *Reproductive Toxicology*, 15 (5), 551-560.
- Murono EP, Derk RC and de Leon JH (2000) Octylphenol inhibits testosterone biosynthesis by cultured precursor and immature Leydig cells from rat testes. *Reproductive Toxicology*, 14 (3), 275-288.
- Murono EP, Derk RC and de Leon JH (1999) Biphasic effects of octylphenol on testosterone biosynthesis by cultured Leydig cells from neonatal rats. *Reproductive Toxicology*, 13 (6), 451-462.
- Nikula H, Talonpoika T, Kaleva M and Toppari J (1999) Inhibition of hCG-stimulated steroidogenesis in cultured mouse Leydig tumor cells by bisphenol A and octylphenols. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 157 (3), 166-173.
- Lee MH, Kim E and Kim TS (2004) Exposure to 4-*tert*-octylphenol, an environmentally

persistent alkylphenol, enhances interleukin-4 production in T cells via NF-AT activation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 197 (1), 19-28.

Iwata M, Eshima Y, Kagechika H and Miyaura H (2004) The endocrine disruptors nonylphenol and octylphenol exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development. *Immunology Letters*, 94 (1-2), 135-139.

Nakajin S, Shinoda S, Ohno S, Nakazawa H and Makino T (2001) Effect of phthalate esters and alkylphenols on steroidogenesis in human adrenocortical H295R cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10 (3), 103-110.

Masuno H, Okamoto S, Iwanami J, Honda K, Shiosaka T, Kidani T, Sakayama K and Yamamoto H (2003) Effect of 4-nonylphenol on cell proliferation and adipocyte formation in cultures of fully differentiated 3T3-L1 cells. *Toxicological Sciences*, 75 (2), 314-320.