

2,4-ジクロロフェノール (CAS no. 120-83-2)

文献信頼性評価結果

| 示唆された作用 | | | | | | | |
|---------|---------|--------|---------|---------|----------|--------|------|
| 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* |
| ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | — | — | ○ |

○：既存知見から示唆された作用

—：既存知見から示唆されなかった作用

*その他：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用等

2,4-ジクロロフェノールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、動物試験の報告において、エストロゲン作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、ステロイドホルモン合成への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン作用、エストロゲン関連受容体 γ に対する抑制作用、アンドロゲン作用、アンドロゲン作用への促進作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生影響を示すことが示唆された。

(1)生態影響

- Ma ら(2012)によって、2,4-ジクロロフェノール 30、100、300 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、雄において、30 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中テストステロン濃度の高値、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巣中 *CYP19A* mRNA 相対発現量、精巣中 *ptgs2* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量の高値、300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣中 *ER β* mRNA 相対発現量の低値、血漿中 17 β -エストラジオール濃度、精巣中 *ER α* mRNA 相対発現量、精巣中 *FSHR* mRNA 相対発現量、脳中 *FSH* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG3* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER α* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER β* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、生殖腺体指数、肝臓体指数、脳中 *CYP19B* mRNA 相対発現量、精巣中 *3 β HSD* mRNA 相対発現量、精巣中 *CYP17* mRNA 相対発現量、精巣中 *17 β HSD* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。また、雌において、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中 17 β -エストラジオール濃度の低値、卵巣中 *CYP17* mRNA 相対発現量、卵巣中 *17 β HSD* mRNA 相対発現量、卵巣中 *ER β* mRNA 相対発現量の高値、300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で生殖腺体指数の低値、脳中 *CYP19B* mRNA 相対発現量、脳中 *FSH* mRNA 相対発現量の高値、卵巣中 *3 β HSD* mRNA 相対発現量、卵巣中 *CYP19A* mRNA 相対発現量、卵巣中 *ER α* mRNA 相対発現量、卵巣中 *FSHR* mRNA 相対発現量、卵巣中 *ptgs2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG3* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER α* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、肝臓体指数、血漿中テストステロン濃度、卵巣中 *ER β* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。また、産卵において、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で孵化率の低値、300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で日毎産卵数の低値が認められた。なお、卵中蛋白質重量、卵直径には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、ステロイドホルモン合成への作用

- Li ら(2016a)によって、2,4-ジクロロフェノール 20、60、200、2,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 15 日間ばく露した幼若キンギョ(*Carassius auratus*)(雌雄混合)への影響が検討されている。その結果とし

て、200 μ 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。

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

(2)生殖影響

- Aoyamaら(2005)によって、2,4-ジクロロフェノール 500、2,000、8,000ppm(餌中濃度)を交配 10 週間前(5 週齢)から妊娠、出産、哺育終了まで混餌投与した Wistar-Hannover ラット F₀への影響が検討されている。その結果として、F₀雄において、8,000ppm のばく露群で腎臓相対重量(絶対重量は有意差なし)、肉眼的病理所見率の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、精嚢絶対及び相対重量、前立腺絶対及び相対重量、組織病理学的病理所見率、精巣中精子数、精巣上体中精子数、運動精率、正常形態精子率には影響は認められなかった。また、F₀雌において、2,000ppm のばく露群で副腎絶対及び相対重量の低値、8,000ppm のばく露群で体重、卵巣絶対重量(相対重量は有意差なし)の低値、脳相対重量、肉眼的病理所見率(特に乳腺)の高値が認められた。なお、下垂体絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、組織病理学的病理所見率、正常発情周期発生率、発情周期所要日数には影響は認められなかった。また、F₀生殖において(新生仔とは F₁を示す)、8,000ppm のばく露群で雌雄新生仔(7、14、21 日齢)体重、雌雄新生仔(14 日齢)眼瞼開裂率が認められた。なお、雌雄新生仔(3 日齢)耳介展開率、雌雄新生仔(11 日齢)歯牙萌出率、雌雄交尾率、受精率、出産率、妊娠期間、着床部位数、新生仔数、新生仔雄性比、新生仔(0、4、21 日齢)生存率には影響は認められなかった。

また、更に 2,4-ジクロロフェノール 500、2,000、8,000ppm(餌中濃度)を交配 10 週間前(離乳後)から妊娠、出産、哺育終了まで混餌投与した Wistar-Hannover ラット F₁(上記 F₀が出産)への影響が検討されている。その結果として、F₁雄において、500、8,000ppm のばく露群で下垂体絶対及び相対重量の高値、8,000ppm のばく露群で体重の低値、肉眼的病理所見率、脳相対重量(絶対重量は有意差なし)、精巣相対重量(絶対重量は有意差なし)、腎臓相対重量(絶対重量は有意差なし)の高値が認められた。なお、肝臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、精嚢絶対及び相対重量、前立腺絶対及び相対重量、組織病理学的病理所見率、精巣中精子数、精巣上体中精子数、運動精率、正常形態精子率には影響は認められなかった。また、F₁雌において、500ppm 以上のばく露群で肉眼的病理所見率(特に乳腺)の高値、2,000ppm 以上のばく露群で肝臓絶対重量(相対重量は有意差なし)の低値、8,000ppm のばく露群で体重、下垂体絶対重量(相対重量は有意差なし)、脾臓絶対重量(相対重量は有意差なし)、腎臓絶対重量(相対重量は有意差なし)、卵巣絶対重量(相対重量は有意差なし)の低値、脳相対重量(相対重量は有意差なし)、子宮相対重量(絶対重量は有意差なし)の高値が認められた。なお、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、副腎絶対及び相対重量、組織病理学的病理所見率、正常発情周期発生率、発情周期所要日数には影響は認められなかった。また、F₁生殖において(新生仔とは F₂を示す)、8,000ppm のばく露群で雄新生仔(7、14 日齢)体重、雌新生仔(7、14、21 日齢)体重、雌雄新生仔(14 日齢)眼瞼開裂率、着床部位数の低値、新生仔雄包皮分離日の遅延が認められた。なお、新生仔雌膈開口日、雌雄新生仔(3 日齢)耳介展開率、雌雄新生仔(4 日齢)肛門生殖突起間距離(AGD)、雌雄新生仔(11 日齢)歯牙萌出率、雌雄交尾率、受精率、出産率、妊娠期間、原子卵胞数、新生仔数、新生仔雄性比、新生仔(0、4、21 日齢)生存率には影響は認められなかった。

(3) エストロゲン関連受容体 γ に対する抑制作用

- Liら(2010)によって、2,4-ジクロロフェノール 0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.163、1.63、16.3、163、1,630、16,300 μ g/L)の濃度に2時間ばく露(4-ヒドロキシタモキシフェン 10 μ M 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン関連受容体 γ を発現)によるレポーターアッセイ(エスト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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導、endogenous ligand が発見されていないため、4-ヒドロキシタモキシフェン共存下での inverse agonist activity を測定)が検討されている。その結果として、EC₂₀ 値 100 μ M(=16,300 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導(inverse agonist activity)が認められた。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.163、1.63、16.3、163、1,630、16,300 μ g/L)の濃度に2時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン関連受容体 γ を発現)によるレポーターアッセイ(エスト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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 β -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。

(4) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- Liら(2016b)によって、2,4-ジクロロフェノール 0.5~40 μ M(=81.5~6,520 μ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体への標識 17 β -エストラジオール 7.2nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 7.85 μ M(=1,280 μ g/L)で濃度依存的な結合阻害が認められた。

(5) アンドロゲン作用

- Kimら(2005)によって、2,4-ジクロロフェノール 0.005、0.05、0.5 μ M(=0.815、8.15、81.5 μ g/L)の濃度でヒトアンドロゲン受容体(アフリカミドリザル腎線維芽細胞 COS1 にて大量発現)への標識 5 α -テストステロン 5 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.5 μ M(=81.5 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.0000001、0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.0000163、0.000163、0.00163、0.0163、0.163、1.63、16.3、163、1,630 μ g/L)の濃度に96時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 22Rv1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)による細胞増殖試験が検討されているが、細胞増殖誘導は認められなかった。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.0001 μ M(=0.0163 μ g/L)の濃度にばく露(24時間と思われる)したヒト前立腺がん細胞 22Rv1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)への影響が検討されているが、アンドロゲン受容体 mRNA 及び蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.163、1.63、16.3、163、1,630 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 22Rv1(ヒトアンドロゲン受容体を発現かつ遺伝子導入)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ルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.01 μ M(=1.63 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3 (ヒトアンドロゲン受容体非発現だが遺伝子導入)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ルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.01 μ M(=1.63 μ g/L)の濃度に 10 分間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3 (GFP-AR 融合蛋白質を遺伝子導入)への影響が検討されているが、GFP-AR 融合蛋白質の相対核内移動量には影響が認められなかった。

注：GFP-AR は green fluorescent protein - androgen receptor の略

(6)アンドロゲン作用に対する促進作用

- Kim ら(2005)によって、2,4-ジクロロフェノール 0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1 μ M(=0.000163、0.00163、0.0163、0.163、1.63、16.3、163 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 10nM 共存下)したヒト前立腺がん細胞 22Rv1(ヒトアンドロゲン受容体を発現かつ遺伝子導入)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ルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、0.0001(=0.0163 μ g/L)及び 0.001 μ M(=0.163 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の促進が認められた。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.0000001、0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.0000163、0.000163、0.00163、0.0163、0.163、1.63、16.3、163、1,630 μ g/L)の濃度に 96 時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 10nM 共存下)したヒト前立腺がん細胞 22Rv1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、0.001、0.01、0.1、1 μ M(=0.163、1.63、16.3、163 μ g/L)の濃度で細胞増殖誘導の促進が認められた。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.01 μ M(=1.63 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 10nM 共存下)したヒト前立腺がん細胞 PC3 (ヒトアンドロゲン受容体非発現だが遺伝子導入)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ルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、ルシフェラーゼ発現誘導の促進が認められた。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.01 μ M(=1.63 μ g/L)の濃度に 10 分間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 10nM 共存下)したヒト前立腺がん細胞 PC3 (GFP-AR 融合蛋白質を遺伝子導入)への影響が検討されている。その結果として、GFP-AR 融合蛋白質の相対核内移動量の高値が認められた。

また、2,4-ジクロロフェノール 0.0001 μ M(=0.0163 μ g/L)の濃度にばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 10nM 共存下、24 時間と思われる)したヒト前立腺がん細胞 22Rv1(ヒトアンドロゲン受容体を発現)への影響が検討されているが、アンドロゲン受容体 mRNA 及び蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：アンドロゲン受容体の核内移行促進

注：GFP-AR は green fluorescent protein - androgen receptor の略

(7)抗アンドロゲン作用

- Li ら(2010)によって、2,4-ジクロロフェノール 0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.163、1.63、16.3、163、1,630、16,300 μ g/L)の濃度に 2 時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 50nM 共存下)した酵母(ヒトアンドロゲン受容体 α 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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 10 μ M(=1,630 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。

- Krüger ら(2008)によって、2,4-ジクロロフェノール 0.0001~100 μ M(=0.0163~16,300 μ g/L)の濃度にばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 25pM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (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ルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 12 μ M(=1,960 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

(8)甲状腺ホルモン作用

- Ghisari ら(2009)によって、2,4-ジクロロフェノール 0.0001~50 μ M(=0.00163~8,150 μ g/L)の濃度に6日間ばく露したラット下垂体前葉腺腫細胞 GH3 による細胞増殖試験(T-スクリーンアッセイ)が検討されている。その結果として、10 μ M(=163 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

(9)ステロイド産生影響

- Ma ら(2012)によって、2,4-ジクロロフェノール 100、300、1,000 μ g/L の濃度に48時間ばく露したヒト副腎皮質がん細胞 295R への影響が検討されている。その結果として、100 μ g/L 以上の濃度区で *CYP19* mRNA 相対発現量の低値、300 μ g/L 以上の濃度区で *17 β -エストラジオール* 産生量の低値、*CYP11* mRNA 相対発現量、*CYP17* mRNA、*3 β -HSD* mRNA の高値、1,000 μ g/L の濃度区で *StAR* mRNA 相対発現量、*17 β -HSD* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、テストステロン産生量には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成への影響

参考文献

- Ma Y, Han J, Guo Y, Lam PK, Wu RS, Giesy JP, Zhang X and Zhou B (2012) Disruption of endocrine function in *in vitro* H295R cell-based and in *in vivo* assay in zebrafish by 2,4-dichlorophenol. *Aquatic Toxicology*, 106-107, 173-181.
- Zhang X, Zha J, Li W, Yang L and Wang Z (2008) Effects of 2,4-dichlorophenol on the expression of vitellogenin and estrogen receptor genes and physiology impairments in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*). *Environmental Toxicology*, 23 (6), 694-701.
- Li Z, Zhang H, Gibson M and Liu P (2012a) An evaluation of the combined effects of phenolic endocrine disruptors on vitellogenin induction in goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21 (7), 1919-1927.
- Aoyama H, Hojo H, Takahashi KL, Shimizu N, Araki M, Harigae M, Tanaka N, Shirasaka N, Kuwahara M, Nakashima N, Yamamoto E, Saka M and Teramoto S (2005) A two-generation reproductive toxicity study of 2,4-dichlorophenol in rats. *Journal of Toxicological Sciences*, 30 Spec No., 59-78.
- Rodwell DE, Wilson RD, Nemec MD and Mercieca MD (1989) Teratogenic assessment of 2,4-dichlorophenol in Fischer 344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 13 (4), 635-640.
- Terasaka S, Inoue A, Tanji M and Kiyama R (2006) Expression profiling of estrogen-responsive genes in breast cancer cells treated with alkylphenols, chlorinated phenols, parabens, or bis- and benzoylphenols for evaluation of estrogenic activity. *Toxicology Letters*, 163 (2), 130-141.
- Li J, Ma M and Wang Z (2010) *In vitro* profiling of endocrine disrupting effects of phenols. *Toxicology in Vitro*, 24 (1), 201-207.
- Ghisari M and Bonefeld-Jorgensen EC (2009) Effects of plasticizers and their mixtures on estrogen receptor and thyroid hormone functions. *Toxicology Letters*, 189 (1), 67-77.
- Li Z, Zhang H, Gibson M and Li J (2012b) An evaluation on combination effects of phenolic endocrine disruptors by estrogen receptor binding assay. *Toxicology in Vitro*, 26 (6), 769-774.
- Kim HJ, Park YI and Dong MS (2005) Effects of 2,4-D and DCP on the DHT-induced androgenic action in human prostate cancer cells. *Toxicological Sciences*, 88 (1), 52-59.
- Krüger T, Long M and Bonefeld-Jørgensen EC (2008) Plastic components affect the activation of the aryl hydrocarbon and the androgen receptor. *Toxicology*, 246 (2-3), 112-123.
- Aker AM, Watkins DJ, Johns LE, Ferguson KK, Soldin OP, Anzalota Del Toro LV, Alshawabkeh AN, Cordero JF and Meeker JD (2016) Phenols and parabens in relation to reproductive and thyroid hormones in pregnant women. *Environmental Research*, 151, 30-37.

Buttke DE, Sircar K and Martin C (2012) Exposures to endocrine-disrupting chemicals and age of menarche in adolescent girls in NHANES (2003-2008). *Environmental Health Perspectives*, 120 (11), 1613-1618.

(平成 29 年度第 2 回 EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会 資料 1-1 より抜粋)