

フェニトイン (CAS no. 57-41-0)

試験管内試験結果

1. 試験項目

フェニトインについて、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	N	－	－	P	－	－

P : EC₅₀ 又は IC₅₀ 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 : EC₅₀ 又は IC₅₀ 値が検出不可

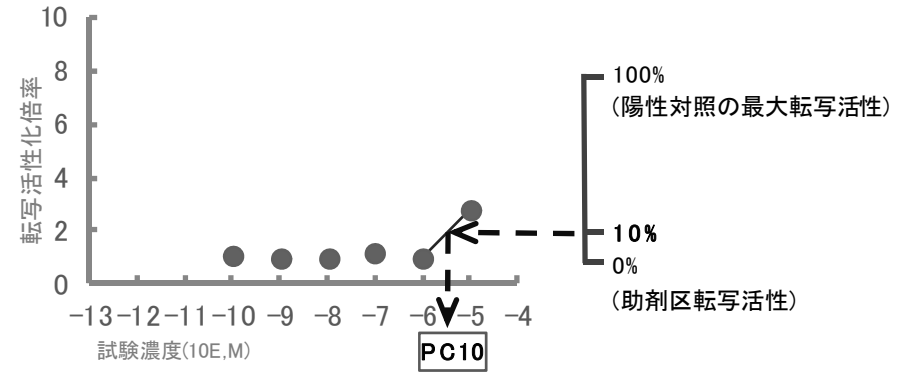
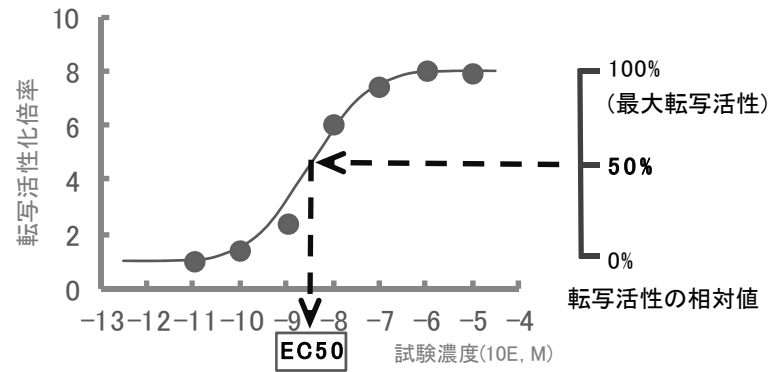
－ : 試験対象としなかった作用モード

* : その他

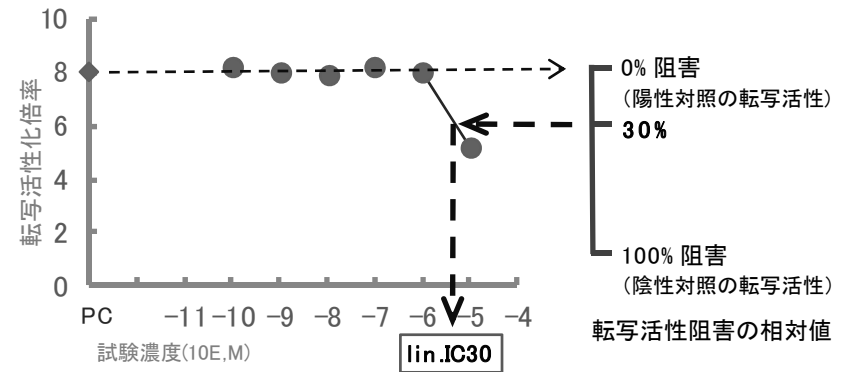
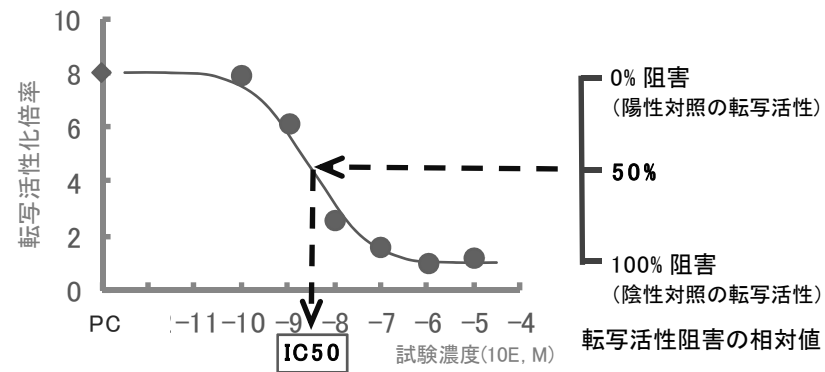
2. 試験方法及び条件

レポーター遺伝子試験は、OECD の TG455 (Stably Transfected Human Estrogen Receptor- α Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogen Agonist-Activity of Chemicals)及び Draft TG (Stably Transfected Human Androgen Receptor- α Transcriptional Activation Assay for Detection of Androgenic Agonist Agonist/Antagonist Activity of Chemicals)も参考に、化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究において開発した方法及び条件に準じて実施した。

アゴニスト検出系の試験での EC₅₀ 値及び PC₁₀ 値の算出



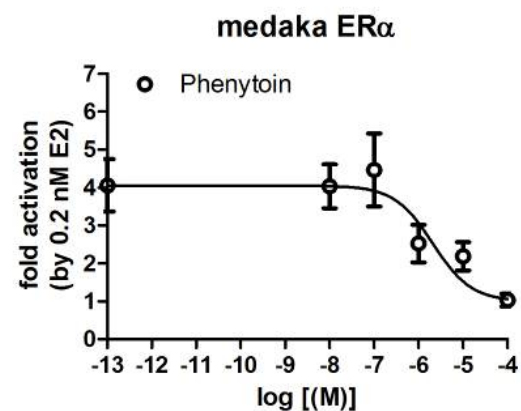
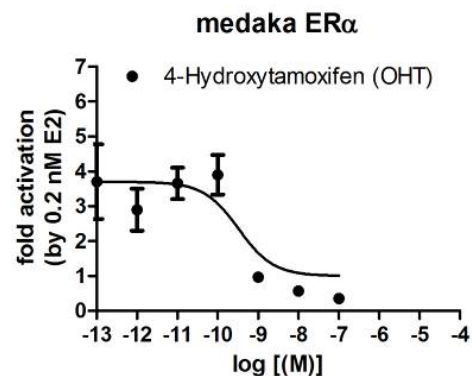
アンタゴニスト検出系の試験での IC₅₀ 値及び linIC₃₀ 値の算出



3. 結果

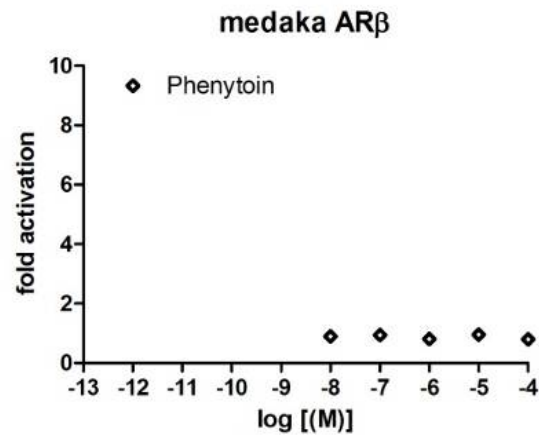
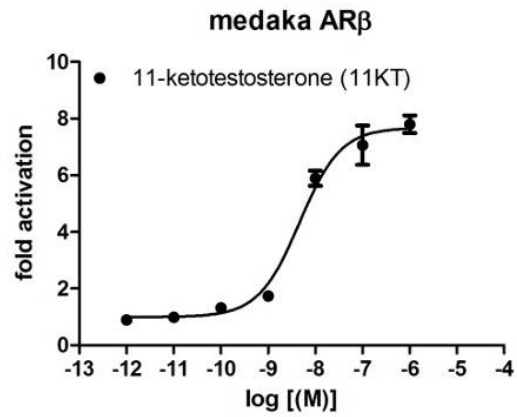
(1) メダカエストロゲン受容体 α (ER α) レポーター遺伝子試験 (抗エストロゲン作用)

抗エストロゲン作用については、転写活性化倍率に濃度依存的低下がみられた。IC₅₀ 値は 2.1×10^{-6} M、相対活性比は 4-ヒドロキシタモキシフェンの 0.016% であった。



試験対象物質	抗エストロゲン作用	
	IC ₅₀	相対活性比
フェニトイン	2.1×10^{-6} M	0.016%
4-ヒドロキシタモキシフェン	3.3×10^{-10} M	100 %

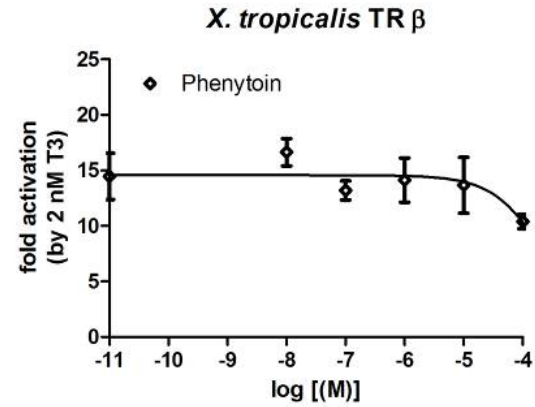
(2) メダカアンドロゲン受容体 β (AR β) レポーター遺伝子試験 (アンドロゲン作用)
 アンドロゲン作用に関しては、試験濃度範囲において転写活性はみられなかった。



試験対象物質	アンドロゲン作用	
	EC ₅₀ 又は PC ₁₀	相対活性比
フェニトイン	(得られなかった)	
11-ケトテストステロン	4.7 × 10 ⁻⁹ M	100 %

(3) ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β (TR β) レポータージーン試験 (抗甲状腺ホルモン作用)

抗甲状腺ホルモン作用に関して、試験最高濃度で転写活性倍率の低下がみられた。その linIC_{30} 値は 6.3×10^{-5} M であった (抗甲状腺ホルモン作用については陽性対照物質での試験を実施していないため相対活性比は算出できなかった)。



試験対象物質	抗甲状腺ホルモン作用	
	EC ₅₀ 又は PC ₁₀	相対活性比
フェニトイン	$\text{linIC}_{30}=6.3 \times 10^{-5}$	—

	メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験		メダカアンドロゲン受容体 β 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 β 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	抗甲状腺ホルモン作用
細胞株	HEK293		HepG2		HEK293
受容体発現ベクター	medaka ER alpha/pcDNA		medaka AR beta/pcDNA		<i>tropicalis</i> TR beta/pcDNA
試験レポーターベクター	ERE-TK- <i>Luc</i>		MMTV- <i>Luc</i>		TRE-minP- <i>Luc</i>
コントロールレポーターベクター	pRL-TK- <i>Rluc</i>				
試験用培地	DMEM (2mM L-glutamine、10% FCS 含有)				
試験環境	37°C、5%CO ₂				
細胞播種数	5×10 ⁴ 細胞/well				
連数	3 well/濃度				
試験液量	1 mL/well				
溶媒	ジメチルスルホキシド (DMSO)				
溶媒終濃度	0.1%	0.2%	0.1%	0.2%	0.2%
被験物質添加濃度 (試験濃度)	最高濃度 : 10 ⁻⁴ ~10 ⁻⁵ M、最低濃度 : 10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁹ M (公比 10)				
陽性物質及び共添加濃度	-	E2、2×10 ⁻¹⁰ M		11KT、1×10 ⁻⁸ M	T3、2×10 ⁻⁸ M
溶媒終濃度	0.1%	0.2%	0.1%	0.2%	0.2%

(EXTEND2010 に基づく平成 23 年度第 2 回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)