

4-tert-ブチルフェノール (CAS no. 98-54-4)

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

4-tert-ブチル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、エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用、性ステロイド結合蛋白質への競合阻害作用、ステロイド産生影響、 γ -アミノ酪酸受容体への作用を示すことが示唆された。

(1)生態影響

- Barse ら(2006)によって、4-tert-ブチルフェノール 690、1,380、2,300 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 28 日間ばく露した成熟雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、690 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生殖腺体指数、筋肉組織中アルカリフォスファターゼ比活性、筋肉組織中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ比活性の低値、肝臓体指数、腎臓体指数、筋肉組織中ピテロゲニン濃度、筋肉組織中アラニンアミノトランスフェラーゼ比活性の高値、1,380 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で筋肉組織中酸フォスファターゼ比活性の高値(690 $\mu\text{g/L}$ 区では低値)が認められた。なお、頭蓋体指数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：エストロゲン作用

(2)エストロゲン作用

- Tollefsen ら(2008)によって、4-tert-ブチルフェノール 0.3、1、3、10、30、100 μM (=45、150、450、1,500、4,500、15,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 96 時間ばく露したニジマス肝培養細胞(未成熟雄由来)への影響が検討されている。その結果として、0.3、1、3、10 μM (=45、150、450、1,500 $\mu\text{g/L}$)の濃度区でピテロゲニン産生濃度の高値、30 μM (=4,500 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度区で細胞生存率の低値が認められた。
- Jobling と Sumpter(1993)によって、4-tert-ブチルフェノール 10 μM (=1,500 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 4 日間ばく露したニジマス肝培養細胞(未成熟雄由来)への影響が検討されている。その結果として、ピテロゲニン産生濃度の高値が認められた。
- Körner ら(1998)によって、4-tert-ブチルフェノール(測定濃度の記載不明瞭)に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、10 μM (=1,500 $\mu\text{g/L}$)の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。
- Olsen ら(2005)によって、4-tert-ブチルフェノール 0.3、1、3、10、30、100 μM (=45、150、450、1,500、4,500、15,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 4 日間ばく露したニジマス肝培養細胞(未成熟雄由来)への影響が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 18 μM (=2,700 $\mu\text{g/L}$)の濃度でピテロゲニン産生濃度の高値が認められた。

また、4-*tert*-ブチルフェノール 0.3、1、3、10、30、100 μ M(=45、150、450、1,500、4,500、15,000 μ g/L)の濃度に6日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 32 μ M(=4,800 μ g/L)の濃度で細胞増殖誘導が認められた。

- Routledge と Sumpter (1997)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 1~1,000 μ M(=150~150,000 μ g/L)の濃度に84時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)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 -ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されている。その結果として、100 μ M(=15,000 μ g/L)付近の濃度以上で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

(3)性ステロイド結合蛋白質への競合阻害作用

- Milligan ら(1998)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 0.3、3、30、300 μ M(=45、450、4,500、45,000 μ g/L)の濃度でステロイド結合蛋白質(ニジマス血漿を使用)による17 β -エストラジオールに対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 10~100 μ M(=1,500~15,000 μ g/L)付近の濃度で結合阻害が認められた。

また、4-*tert*-ブチルフェノール 0.3、3、30、300 μ M(=45、450、4,500、45,000 μ g/L)の濃度で α -フェトプロテイン(妊娠17日目ラット羊水を使用)による17 β -エストラジオールに対する結合阻害(競合結合)試験が検討されているが、結合阻害は認められなかった。

また、4-*tert*-ブチルフェノール 0.3、3、30、300 μ M(=45、450、4,500、45,000 μ g/L)の濃度でステロイド結合蛋白質(妊娠女性血清を使用)による5 α -ジヒドロテストステロンに対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 10~100 μ M(=1,500~15,000 μ g/L)付近の濃度で結合阻害が認められた。

また、4-*tert*-ブチルフェノール 0.3、3、30、300 μ M(=45、450、4,500、45,000 μ g/L)の濃度でステロイド結合蛋白質(ニジマス血漿を使用)による5 α -ジヒドロテストステロンに対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 10~100 μ M(=1,500~15,000 μ g/L)付近の濃度で結合阻害が認められた。

本試験結果の解釈にあたっては、統計学的な検定が示されていない点に注意を要すると判断された。

- Tollefsen (2007)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 3、10、30、100、300、1,000 μ M(=450、1,500、4,500、15,000、45,000、150,000 μ g/L)の濃度でステロイド結合蛋白質(雌ニジマス血漿を使用)による標識17 β -エストラジオール 2.5nM 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 250 μ M(=37,500 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

(4)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- Tollefsen と Nilsen (2008)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 1、3、10、30、100、300 μ M(=150、450、1,500、4,500、15,000、45,000 μ g/L)の濃度でエストロゲン受容体(未成熟雌ニジマス肝臓由来)による標識17 β -エストラジオール 2.5nM 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 87 μ M(=13,050 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

本試験結果の解釈にあたっては、統計学的な検定が示されていない点に注意を要すると判断された。

- Blair ら(2000)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 1,000 μ M(=150,000 μ g/L)までの濃度でエストロゲン受容体(成熟雌 SD ラット子宮サイトゾルを使用)による標識17 β -エストラジオール 1nM 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

368 μ M(=55,200 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

(5)ステロイド産生影響

- Myllymäki ら(2005)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 0.01、0.1、1 μ M (=1.5、15、150 μ g/L)の濃度に4～5日間ばく露したラット卵胞(14日齢 SD ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、0.01 μ M(=1.5 μ g/L)以上の濃度区でテストステロン産生量、エストラジオール産生量の低値が認められた。なお、アロマターゼ比活性には影響は認められなかった。

また、4-*tert*-ブチルフェノール 0.01、0.1 μ M (=1.5、15 μ g/L)の濃度に5日間ばく露したラット卵胞(14日齢 SD ラット由来)への影響(ホルスコリン 10 μ M 共存下)が検討されているが、cAMP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：エストロゲン産生低下作用、テストステロン産生低下作用

- Haavisto ら(2003)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 10,000、100,000、500,000 μ g/L の濃度に3時間ばく露したラット精巣培養組織(妊娠 19.5 日目 SD ラット胎仔由来)への影響が検討されている。その結果として、100,000 μ g/L 以上の濃度区でテストステロン産生濃度の高値、100,000 μ g/L の濃度区でプロゲステロン産生濃度の高値が認められた。なお、組織中テストステロン濃度、cAMP 産生濃度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：ステロイド産生への作用

(6) γ アミノ酪酸受容体への作用への影響

- Aoshima ら(2001)によって、4-*tert*-ブチルフェノール 10 μ M(=1,500 μ g/L)の濃度にばく露したラット又はウシ脳由来 γ -アミノ酪酸(GABA)受容体(アフリカツメガエル卵細胞中で発現)への影響(GABA 1 μ M 共存下)が検討されている。その結果として応答電気パルス強度の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：その他の作用(GABA 受容体応答性増強(神経伝達抑制増強))

参考文献

- Barse AV, Chakrabarti T, Ghosh TK, Pal AK and Jadhao SB (2006) One-tenth dose of LC₅₀ of 4-*tert*-butylphenol causes endocrine disruption and metabolic changes in *Cyprinus carpio*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 86, 172-179.
- Haavisto TE, Adamsson NA, Myllymaki SA, Toppari J and Paranko J (2003) Effects of 4-*tert*-octylphenol, 4-*tert*-butylphenol, and diethylstilbestrol on prenatal testosterone surge in the rat. *Reproductive Toxicology*, 17 (5), 593-605.
- Tollefsen KE, Eikvar S, Finne EF, Fogelberg O and Gregersen IK (2008) Estrogenicity of alkylphenols and alkylated non-phenolics in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) primary hepatocyte culture. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 370-383.
- Jobling S and Sumpter JP (1993) Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: An *in vitro* study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 27 (3-4), 361-372.
- Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N and Serrano FO (1995) The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 103 (supplment 7), 113-122.
- Soto AM, Lin T-M, Justicia H, Silvia RM and Sonnenschein C (1992) An “in culture” bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics. In: *Chemically Induced Alterations in Sexual Development: The Wildlife/Human Connection* (Colborn T, Clement C, eds). Princeton, NJ: Princeton Scientific Publishing, 1992;295-309
- Körner W, Hanf V, Schuller W, Bartsch H, Zwirner M and Hagenmaier H (1998) Validation and application of a rapid *in vitro* assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals. *Chemosphere*, 37 (9-12), 2395-2407.
- Olsen CM, Meussen-Elholm ETM, Hongslo JK, Stenersen J and Tollefsen KE (2005) Estrogenic effects of environmental chemicals: An interspecies comparison. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 141, 267-274.
- Routledge EJ and Sumpter JP (1997) Structural features of alkylphenolic chemicals associated with estrogenic activity. *Journal of Biological Chemistry*, 272 (6), 3280-3288.
- Milligan SR, Khan O and Nash M (1998) Competitive binding of xenobiotic oestrogens to rat alpha-fetoprotein and to sex steroid binding proteins in human and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) plasma. *General and Comparative Endocrinology*, 112 (1), 89-95.
- Tollefsen KE (2007) Binding of alkylphenols and alkylated non-phenolics to the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) plasma sex steroid-binding protein. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68 (1), 40-48.
- Tollefsen KE and Nilsen AJ (2008) Binding of alkylphenols and alkylated non-phenolics to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatic estrogen receptors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69, 163-172.
- Blair RM, Fang H, Branham WS, Hass BS, Dial SL, Moland CL, Tong W, Shi L, Perkins R and Sheehan DM (2000) The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: structural diversity of ligands. *Toxicological Sciences*, 54, 138-153.

- van den Berg KJ, van Raaij JAG, Bragt PC and Notten WR (1991) Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels *in vivo*. Archives of Toxicology, 65 (1), 15-19.
- Myllymäki S, Haavisto T, Vainio M, Toppari J and Paranko J (2005) *In vitro* effects of diethylstilbestrol, genistein, 4-*tert*-butylphenol, and 4-*tert*-octylphenol on steroidogenic activity of isolated immature rat ovarian follicles. Toxicology and Applied Pharmacology, 204 (1), 69-80.
- Aoshima H, Hossain SJ, Imamura H and Shingai R (2001) Effects of bisphenol A and its derivatives on the response of GABA(A) receptors expressed in *Xenopus* oocytes. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 65 (9), 2070-2077.
- Aschengrau A, Coogan PF, Quinn MM and Cashins LJ (1998) Occupational exposure to estrogenic chemicals and the occurrence of breast cancer: An exploratory analysis. American Journal of Industrial Medicine, 34 (1), 6-1

(令和元年度第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より抜粋)