

4-tert-ブチルフェノール (CAS no. 98-54-4)

第2段階生物試験

メダカ拡張1世代繁殖試験 (MEOGRT: OECD TG240)

(1) 試験結果

●F0世代(ばく露期間：4週間)

生存個体数(死亡率)、雌雄の全長、雌雄の体重、総産卵数、受精卵数、受精率、雌の肝臓体指数、雌雄の二次性徴、雌の生殖腺体指数に有意な変化は認められなかった。

10.2µg/L以上のばく露群において、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値(濃度依存性は認められなかった)が認められた。

1,030µg/Lのばく露群において、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度、雄の肝臓体指数の統計学的に有意な高値、雄の生殖腺体指数の統計学的に有意な低値が認められた。

●F1世代(ばく露期間：16週間)

ふ化率、生存率(成熟個体)、雄の全長(10週齢)、雌の体重(10週齢、成熟個体)、雌の生殖腺体指数(10週齢)、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度(10週齢)、雌の二次性徴(10週齢、成熟個体)、雌の肝臓体指数(成熟個体)に統計学的に有意な変化は認められなかった。

10.2、31.8、97.4、316µg/Lのばく露群において、雄の体重(10週齢)に統計学的に有意な高値(濃度依存性は認められなかった)が認められた。

31.8µg/L以上のばく露群において、雌の生殖腺体指数(成熟個体)、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められた。

97.4µg/L以上のばく露群において、受精率の統計学的に有意な低値が認められた。

316µg/L以上のばく露群において、ふ化日数の統計学的に有意な低値、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(10週齢)、雄の肝臓体指数(10週齢)の統計学的に有意な高値が認められた。

1,030µg/Lのばく露群において、生存率(4週齢、8週齢)、雌の全長(10週齢)、雄の二次性徴(10週齢)、総産卵数、受精卵数、雄の二次性徴(成熟個体)、雌の肝臓体指数(10週齢)、雌雄の全長(成熟個体)の統計学的に有意な低値、雄の生殖腺体指数(10週齢)、雄の体重(成熟個体)、雄の肝臓体指数(成熟個体)、雄の生殖腺体指数(成熟個体)、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められた。

●F2世代(ばく露期間：2週間)

10.2、31.8µg/Lのばく露群において、ふ化率の統計学的に有意な低値が認められた。

31.8µg/Lのばく露群において、ふ化日数の統計学的に有意な低値が認められた。

(2) まとめ

メダカ(*Oryzias latipes*)を用い、10.2、31.8、97.4、316、1,030µg/L(実測値)のばく露濃度で試験(全ばく露期間：19週間)を行った。

4-tert-ブチルフェノール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(令和

2年度に実施したメダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験の結果としてEC₅₀値は、 6.3×10^{-8} Mで、 17β -エストラジオールに対する相対活性比は、0.001であった、抗エストロゲン作用はND、アンドロゲン作用は未実施)。

令和3年度に第1段階生物試験として実施したメダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)では、1,000 μ g/Lのばく露群において雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められたため、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、雌雄ともに死亡が認められなかった濃度範囲(1,030 μ g/L未満)において、エストロゲン作用を示す雄(F1成熟個体)の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値が認められ、エストロゲン作用を持つことが確認された。

また、97.4 μ g/L以上のばく露群において受精率の統計学的に有意な低値が認められたことから、メダカの繁殖に対する有害性を示すことが認められた。

なお、令和3年度に第1段階生物試験として実施したメダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)では、313 μ g/Lのばく露群において受精卵数の統計学的に有意な低値が認められていた。

また、この試験結果等から、4-*tert*-ブチルフェノールはメダカに対してエストロゲン作用を示すことが確認されたとともに、本物質がメダカの繁殖に及ぼす影響に関する最低影響濃度(LOEC)として97.4 μ g/Lが得られ、TG229で得られたLOECの約1/3の濃度であった。

メダカの繁殖に対する有害性が示唆されたばく露濃度97.4 μ g/Lは、平成9年度に実施された化学物質環境実態調査において測定された最高濃度0.1 μ g/Lの約970倍であった。

また、メダカの繁殖に対する有害性が示唆されなかったばく露濃度31.8 μ g/Lは、平成9年度に実施された化学物質環境実態調査において測定された最高濃度0.1 μ g/Lの約320倍であった。

●F0世代

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	試験個体数		生存個体数		全長 (mm)		体重 (mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	12	11	30.3 \pm 1.5	30.6 \pm 0.9	305 \pm 44	373 \pm 41
10.2	6	6	6	6	30.6 \pm 2.2	29.3 \pm 1.0	322 \pm 47	333 \pm 50
31.8	6	6	6	6	30.7 \pm 1.3	30.0 \pm 1.6	311 \pm 48	346 \pm 59
97.4	6	6	6	6	30.7 \pm 1.4	30.4 \pm 1.3	304 \pm 46	355 \pm 54
316	6	6	6	5	28.8 \pm 2.0	30.6 \pm 1.7	285 \pm 64	378 \pm 60
1,030	6	6	6	6	30.1 \pm 1.6	29.0 \pm 1.5	319 \pm 49	329 \pm 68

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	総産卵数 (eggs/day/pair)	受精卵数 (eggs/day/pair)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	21.4 \pm 4.8	20.5 \pm 4.6	96.1 \pm 3.9	1.2 \pm 0.4	9.0 \pm 1.3
10.2	21.2 \pm 2.9	20.4 \pm 3.1	96.2 \pm 2.9	1.0 \pm 0.2	11.0 \pm 2.9
31.8	22.5 \pm 5.3	21.9 \pm 5.2	97.6 \pm 2.9	1.2 \pm 0.4	9.9 \pm 2.2
97.4	22.5 \pm 7.0	21.7 \pm 6.8	96.8 \pm 2.5	1.0 \pm 0.3	9.7 \pm 3.1
316	21.9 \pm 5.3	17.3 \pm 4.1	80.9 \pm 14.0	1.2 \pm 0.5	11.0 \pm 2.1
1,030	16.3 \pm 6.0	15.3 \pm 6.4	90.6 \pm 12.4	0.7 \pm 0.2*	9.2 \pm 4.4

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.5 \pm 0.7	5.3 \pm 1.2	1.21 \pm 3.4	627 \pm 99	67 \pm 11	0
10.2	2.4 \pm 1.3	5.8 \pm 1.1	ND	864 \pm 172**	73 \pm 12	0
31.8	2.4 \pm 0.6	7.3 \pm 2.8	ND	790 \pm 301**	66 \pm 15	0
97.4	2.3 \pm 0.5	4.9 \pm 1.4	7.6 \pm 16.4	775 \pm 227**	67 \pm 6	0
316	3.3 \pm 0.6	6.1 \pm 0.7	0.5 \pm 0.6	910 \pm 100**	69 \pm 10	0
1,030	4.2 \pm 0.5**	5.5 \pm 1.0	65.9 \pm 143.1*	856 \pm 333**	60 \pm 10	0

●F1世代(胚、仔魚期)

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)
対照区	96 \pm 4	7.5 \pm 0.3
10.2	99 \pm 2	7.4 \pm 0.1
31.8	97 \pm 4	7.4 \pm 0.1
97.4	98 \pm 4	7.6 \pm 0.2
316	100 \pm 0	7.4 \pm 0.2**
1,030	98 \pm 3	7.4 \pm 0.1*

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	生存率 (%)	生存率 (%)	全長 (mm)(10週齢)		体重 (mg)(10週齢)	
	(4週目)	(8週目)	雄	雌	雄	雌
対照区	97 \pm 4	96.4 \pm 4	25.9 \pm 1.1	27.3 \pm 1.0	209 \pm 28	301 \pm 45
10.2	100 \pm 0	100 \pm 0	28.5 \pm 1.0	29.7 \pm 1.6	287 \pm 35**	388 \pm 54
31.8	99 \pm 3	99 \pm 3	27.8 \pm 2.0	30.1 \pm 1.6	279 \pm 50**	415 \pm 79
97.4	100 \pm 0	100 \pm 0	27.9 \pm 1.2	28.9 \pm 1.0	285 \pm 41**	384 \pm 58
316	93 \pm 6	93 \pm 6	25.2 \pm 2.1	26.7 \pm 1.3	265 \pm 74*	341 \pm 48
1,030	83 \pm 8**	83 \pm 8**	23.8 \pm 1.4	23.1 \pm 1.8*	223 \pm 42	228 \pm 47

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	3.8 \pm 1.1	7.3 \pm 1.5	ND	935 \pm 407	68 \pm 12	0
10.2	4.1 \pm 1.2	7.0 \pm 1.6	ND	1,450 \pm 473	74 \pm 16	0
31.8	3.4 \pm 0.9	6.3 \pm 1.2	ND	676 \pm 372	80 \pm 15	0
97.4	3.8 \pm 0.6	6.6 \pm 1.1	ND	1,300 \pm 485	81 \pm 11	0
316	5.2 \pm 1.1*	7.4 \pm 0.9	235 \pm 383**	942 \pm 305	36 \pm 28	0
1,030	6.0 \pm 1.0**	5.8 \pm 1.0*	389 \pm 552**	826 \pm 411	0*	0

表 2-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	生殖腺体指数 (%)	
	雄	雌
対照区	0.95 \pm 0.3	8.3 \pm 2.7
10.2	1.0 \pm 0.3	9.7 \pm 3.2
31.8	1.0 \pm 0.3	10.3 \pm 4.0
97.4	0.99 \pm 0.2	9.2 \pm 2.5
316	3.0 \pm 3.9	8.3 \pm 3.1
1,030	4.5 \pm 4.5*	6.0 \pm 3.2

●F1世代(成熟個体)

表 2-E 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	生存率 (%)		全長 (mm)		体重 (mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	100(24/24)	100(24/24)	32.0 \pm 1.6	33.5 \pm 1.0	352 \pm 50	545 \pm 67
10.2	100(12/12)	100(12/12)	33.2 \pm 1.2	34.9 \pm 1.2	378 \pm 42	601 \pm 77
31.8	100(12/12)	100(12/12)	33.5 \pm 1.1	34.6 \pm 1.6	416 \pm 34	619 \pm 72
97.4	100(11/12)	100(12/12)	32.7 \pm 2.0	33.6 \pm 1.0	375 \pm 69	603 \pm 72
316	100(12/12)	100(12/12)	31.1 \pm 0.9	32.4 \pm 1.0	351 \pm 35	573 \pm 92
1,030	100(12/12)	100(12/12)	30.4 \pm 0.8**	29.1 \pm 1.0**	445 \pm 50**	458 \pm 49

表 2-F 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	総産卵数 (eggs/day/pair)	受精卵数 (eggs/day/pair)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	38.2 \pm 6.0	35.7 \pm 7.1	93.4 \pm 8.8	1.2 \pm 0.4	13.7 \pm 1.4
10.2	48.4 \pm 3.2	46.2 \pm 3.1	95.6 \pm 2.4	1.1 \pm 0.1	14.4 \pm 1.1
31.8	52.3 \pm 6.3	48.2 \pm 8.7	91.9 \pm 9.8	1.2 \pm 0.2	14.9 \pm 1.1**
97.4	47.4 \pm 5.0	42.8 \pm 5.0	90.4 \pm 6.3*	1.2 \pm 0.2	14.9 \pm 1.3**
316	33.6 \pm 8.0	27.6 \pm 12.5	74.7 \pm 30.4**	1.2 \pm 0.2	18.0 \pm 7.0**
1,030	16.9 \pm 9.6**	0.4 \pm 0.6**	3.3 \pm 4.4**	11.9 \pm 8.0**	18.3 \pm 4.7**

表 2-G 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.9 \pm 0.9	6.9 \pm 1.9	0.43 \pm 0.97	1,010 \pm 364	100 \pm 15	0
10.2	2.9 \pm 2.2	6.6 \pm 1.9	0.55 \pm 0.91	1,080 \pm 180	100 \pm 14	0
31.8	2.1 \pm 0.5	7.3 \pm 1.1	ND	1,350 \pm 559*	97 \pm 8	0
97.4	2.1 \pm 0.7	7.4 \pm 1.0	ND	1,350 \pm 663**	90 \pm 9**	0
316	3.0 \pm 0.9	7.2 \pm 2.1	0.86 \pm 1.92	1,340 \pm 384**	77 \pm 10**	0
1,030	5.8 \pm 0.9*	5.7 \pm 0.9	1,305 \pm 611**	1,850 \pm 541**	0**	0

●F2世代(胚、仔魚期)

表 3-A 試験結果

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)
対照区	98 \pm 3	8.4 \pm 0.2
10.2	90 \pm 8*	8.1 \pm 0.1
31.8	88 \pm 4*	8.0 \pm 0.1**
97.4	96 \pm 4	8.5 \pm 0.2
316	94 \pm 6	8.3 \pm 0.2
1,030	受精卵が得られなかった	受精卵が得られなかった

結果は平均値 \pm 標準偏差.

有意差水準 (* p <0.05、** p <0.01).

NDは未検出 (< 0.4 ng/mg liver).

NA: not available

二次性徴：尻鰭の乳頭状小突起を有する節板数

(令和7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 資料2-7より抜粋)