

表9 内面工ボキシ樹脂粉体塗料
構成モノマー毒性調査結果一覽表

No.	名称	構成モノマー 分子式/分子量	構成比 (CA%)	CAS No.	RTECS No.	変異原性	生殖毒性	発がん性	経路-生物		毒性データ	資料
									中濃量	資料		
1.	フェノール Phenol.	C ₆ H ₅ OH 94. 12	0~21	108-95-2	SJ3325000	-	-	-	ori-rat ori-mus ori-mam	LD ₅₀ 317mg/kg LD ₅₀ 270mg/kg LD ₅₀ 500mg/kg	PSEBAA 32, 592, 1935 GISAAA 38(8), 6, 1973 GTPZAB 32(10), 25, 1988	
2.	アセトン Acetone.	(CH ₃) ₂ CO 58. 09	0~6	67-64-1	AL3150000	-	-	-	ori-rat ori-mus ori-rbt	LD ₅₀ 5800mg/kg LD ₅₀ 3 gm/kg LD ₅₀ 5340mg/kg	JTEHD6 15, 609, 1985 PCJOAU 14, 162, 1980 FAONAU 48A, 86, 1970	
3.	エビクロロエチレン Propene, 1-chloro-2, 3-epoxy.	C ₂ H ₃ Cl 92. 53	0~30	106-89-8	TX4900000	+	+	+	ori-rat ori-mus ori-rbt	LD ₅₀ 90mg/kg LD ₅₀ 195mg/kg LD ₅₀ 345mg/kg	JHHTAB 30, 63, 1949 GISAAA 33(1), 46, 1968 GISAAA 33(1), 46, 1968	
4.	ホルムアルデヒド Formaldehyde.	HCHO 30. 03	0~28	50-00-0	LP8925000	+	+	+	ori-rat ori-mus ori-gdg	LD ₅₀ 100mg/kg LD ₅₀ 42mg/kg LD ₅₀ 260mg/kg	FCTOD7 26, 447, 1988 NTIS AD-A125-539 JHHTAB 23-259, 1941	
5.	メタキシレン m-Xylene.	C ₈ H ₈ (CH ₃) ₂ 106. 18	0~8. 4	108-38-3	ZE2275000	-	-	-	ori-rat ipr-mus skn-rbt	LD ₅₀ 5gm/kg LD ₅₀ 2003ul/kg LD ₅₀ 14100ul/kg	YAKUD5 22, 883, 1980 ARTODN 58, 106, 1985 AIHAAP 23, 95, 1962	
6.	アンモニア Ammonia.	NH ₃ 17. 04	0~2. 1	7664-41-7	B00875000	-	-	-	ihl-hmn unr-mam ihl-rat	LDLo 5000ppm/SM LDLo 132mg/kg LD ₅₀ 2000ppm/4H 34ZIAG 607, 1969	TABIA2 3, 231, 1933 85DCAI 2, 73, 1970 UCDS 11/15/1971	
7.	イソホロン 2-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl	C ₉ H ₁₆ O 138. 23	0~3. 3	78-59-1	GW7700000	-	-	-	ori-rat ori-mus skn-rbt	LD ₅₀ 1870mg/kg LD ₅₀ 2690mg/kg LD ₅₀ 1500ul/kg	UCDS 11/15/1971 TXAPA9 17, 498, 1970 UCDS 11/15/1971	
8.	シアン化水素 Hydrocyanic-acid	HCN 27. 03	0~0. 6	74-90-8	MW6825000	-	-	-	ivn-rat ori-mus ori-rbt	LD ₅₀ 810ug/kg LD ₅₀ 3700ug/kg LDLo 4mg/kg	NTIS AD-A028-501 APFRAD 19, 740, 1961 HBAMAK 4, 1340, 1935	
9.	エチレンジクロライド Ethane, 1,2-dichloro.	C ₂ H ₂ Cl ₂ 98. 96	0~2. 5	107-06-2	KI0525000	+	-	+	ori-rat ori-mus ori-rbt	LD ₅₀ 670mg/kg LD ₅₀ 413mg/kg LD ₅₀ 860mg/kg	FMCHAZ C130, 1991 EVHPAZ 43, 41, 1982 GUCHAZ 6, 264, 1973	
10.	メルカプト酢酸 Acetic acid, mercapto	HSCH ₂ COOH 92. 12	0~9	68-11-1	AI5950000	-	-	-	ori-rat ori-mus ori-rbt	LD ₅₀ 114mg/kg LD ₅₀ 242mg/kg LD ₅₀ 119mg/kg	ZHYGAM 20, 575, 1974 ZHYGAM 20, 575, 1974 ZHYGAM 20, 575, 1974	
11.	トリメチロールプロパン 2-(hydromethyl)	CH ₂ CH ₂ C(CH ₂ OH) ₂ 134. 20	0~3	77-99-6	TY6470000	-	-	-	ori-rat ori-mus	LD ₅₀ 14100mg/kg LD ₅₀ 13700mg/kg	HYSAAV 32(5), 288, 1967 HYSAAV 32(5), 288, 1967	
12.	アルキレングリコール (C12~C13)	CH ₂ (CH ₂) ₁₀ CH ₂ OH 186. 38	0~6. 5	112-53-8	JR5775000	-	-	-	ori-rat skn-rbt	LD ₅₀ 12800mg/kg LD ₅₀ 5600mg/kg	FCTXAV 11, 95, 1973 NPIRI 1, 114, 1974	
13.	ネオペンチルグリコール 1,3-Propanediol, 2,2-dimethyl.	(CH ₂) ₂ C(CH ₂ OH) ₂ 104. 17	0~17	126-30-7	TY5775000	-	-	-	ori-rat ihl-rat	LDLo 3200mg/kg LDLo 39000ppm/6H	KODAK 21, MAY, 1971 KODAK 21, MAY, 1971	
14.	キシレン Xylene.	C ₈ H ₈ (CH ₃) ₂ 106. 18	0~2. 5	1330-20-7	ZE2100000	-	-	-	ori-rat ori-mam ori-mus	LD ₅₀ 4300mg/kg LD ₅₀ 4300mg/kg LDLo 6gm/kg	AMIHAB 14, 387, 1956 GTPZAB 32(10), 25, 1988 NTP-TR-327, 1986	
15.	スチレン Styrene.	C ₆ H ₅ CH=CH ₂ 104. 16	0~2. 5	100-42-5	ML3675000	-	-	+	ori-rat ori-mam ori-rbt	LD ₅₀ 2650mg/kg LD ₅₀ 316mg/kg LD ₅₀ > 1500mg/kg	SRTCAC 36(1-4), 10, 1989 NCILB NCI-E-C-72-3252-1973 GISAAA 39(4), 86, 1974	
16.	トルエン Toluene.	C ₆ H ₅ CH ₃ 92. 15	0~12	108-88-3	X55250000	-	-	-	ori-rat ori-mam skn-rbt	LD ₅₀ 636mg/kg LD ₅₀ 4gm/kg LD ₅₀ 14100ul/kg	NRTXDN 2, 567, 1981 GTPZAB 32(10), 25, 1988 AIHAAP 30, 470, 1969	
17.	ベンジアルコール Benzyl-alcohol.	C ₆ H ₅ CH ₂ OH 108. 15	0~10	100-51-6	DN3150000	-	-	-	ori-rat ori-mus ori-rbt	LD ₅₀ 1230mg/kg LD ₅₀ 1360mg/kg LD ₅₀ 1040mg/kg	FCTXAV 2, 327, 1964 GISAAA 50(7), 81, 1985 JPETAB 84, 358, 1945	

No.	構成モノマー		構成比 (CA%)	CAS No.	RTECS No.	変異原性	生殖毒性	発がん性	経路-生物	毒性データ	
	名称	分子式/分子量								中毒量	資料
着色顔料											
18.	二酸化チタン Titanium-oxide.	TiO ₂ 79. 90	2~10	13463-67-7	XR2275000	-	-	-	ori-rat	LD ₅₀	>12,000mg/kg
19.	カーボンブラック Carbon-Black.	C	0.1~2	1333-86-4	FF5800000	+	-	+	毒性データなし		
体質顔料											
20.	タルク Talc(Powder) containing no asbestos fibers	3MgO·4SiO ₂ ·H ₂ O 96. 33	10~50	14807-96-6	WW2710000	-	-	-	毒性データなし		
21.	硫酸バリウム Barium-sulfate.	BaSO ₄	0~20	7727-43-7	CR0600000	-	-	-	毒性データなし		
22.	炭酸カルシウム Carbonic acid, calcium salt.(1:1) マイカ(セリサイト)	CaCO ₃ 100. 09	0~10	471-34-1	FF9335000	-	-	-	ori-rat	LD ₅₀	6450mg/kg
23.		K ₂ O·3Al ₂ O ₃ 6SiO ₂ ·2H ₂ O	0~10	12001-26-2		-	-	-	毒性データなし		28ZPAK 267, 1972
24.	シリカ Silica colloidal.	SiO ₂	0~2	7631-86-9	VV7310000	-	-	-	ori-rat	LD ₅₀	>22,500mg/kg
添加剤											
25.	シリコンオイル Siloxanes and Silicones,Di-Me Silicone L-45		0~1	63148-62-9	VJ6200000 VW1511000	-	-	-	ori-rat ori-rat	LD ₅₀ LD ₅₀	>24gm/kg >50mL/kg
26.	アマイドワックス		0~5	553-49-01		-	-	-	毒性データなし		NTIS LMF-69 UCDS 1/14/1972
27.	エポキシ系シランカップリング剤 Silane,3-(2,3-epoxypropoxy) propyltrimethoxy.	CH ₂ -CH CH ₂ OC ₃ H ₆ Si(OCH ₃) ₃ 236. 38	0~3	2530-83-8	VV4025000	+	-	-	ori-rat skn-rbt	LD ₅₀ LD ₅₀	22600uL/kg 3970uL/kg

備考 1) 変異原性、生殖毒性、および発がん性はMSDS情報に基づく。
 毒性データあり: + 毒性データなし: -
 2) 毒性データはRTECS(1997, 7まで)を参照した。

表10 水道用コンクリート槽等のライニング原材料安全性調査一覽表
(不飽和ポリエステル樹脂、ビニルエステル樹脂系)

物質名	急性経口毒性 [LD ₅₀ mg/kg]	変異原性 (遺伝毒性)	ガン原性	許容濃度 (ACGIH)		CAS No	RTECS No	外観	沸点 [°C]	融点 [°C]	溶解度 (水)	含有率 (FRP(GC.25%)の 場合の一例)	含有率 (wt%)* その他の 場合
				時間加重平均値 ppm	短時間暴露限界 ppm								
[不飽和ポリエタレンの主原料] [二塩基酸]													
1 無水フタル酸	ラット 4,020 マウス 100	陰性	動物実験 で陰性	1	(-)	88-44-9	T13150000	白色結晶 刺激臭	284.5	131.1	0.6g/100g (25°C)	17.7	
2 イソフタル酸	ラット 12,200	陰性	-	(-)	(-)	121-91-5	NT2007000	白色結晶	-	346.5	極微量	17.7	
3 無水マレイン酸	ラット 481~850 マウス 465	陰性	-	0.25	1	108-31-6	ON3675000	白色昇華性 結晶、刺激臭	202	52.8	可溶	11.0	
4 フマル酸 (食品添加物)	ラット 9,300	dnitラット静脈 内40mg/kg	-	(-)	(-)	110-17-8	LS9625000	白色結晶	-	287~ 302	8~9g/100g (25°C)	11.0	
5 アジピン酸	マウス 1,900	陰性	-	-	5	124-04-9	AU8400000	白色粉末 結晶	330.5	152.1	2.2g/100g (25°C)	4.6	
[グリコール]													
6 プロピレングリコール (食品添加物)	ラット 25,600	陰性	なし	(-)	(-)	57-55-6	TY2000000	無色液体	187.4	-59	可溶	20.1	
7 エチレングリコール	ラット 8,540	陰性	なし	-	-	107-21-1	KW2975000	無色液体	197	-12.6	可溶	3.3	
8 ジプロピレングリコール	ラット 14,800 マウス 17,600	-	-	-	-	110-98-5	UB8785000	無色液体	232	-40	可溶	6.8	
9 ジエチレングリコール	ラット 14,800	陰性	投与量少ない 時なし	50	127	111-46-6	ID6950000	無色液体	245	-8	可溶	5.5	
10 ポリオキシプロピレン ビスフェノールAエーテル [ビニル系ビニル樹脂の主原料] [ビニル系ビニル樹脂]	-	-	-	(-)	(-)	37353-75-6	-	白色固体	200 以上	-	不溶	28.2	
11 液状タイプ	ラット 11,400 ラット 10,000~ 14,000	陽性	グループ3 (IARC)	-	-	25068-38-6	-	淡黄色液体	-	-	不溶	32	
12 固形タイプ	ラット 30,000	-	グループ3 (IARC)	-	-	25068-38-6	-	淡黄色固体	-	-	不溶	32	
[不飽和一塩基酸]													
13 メタクリル酸	ラット 2,200	大腸菌 DNA損傷テスト 50μmol/kg (4.3mg)	-	20	70	(-)	(-)	無色液体 刺激臭	161	15	易溶	16	
[エステル化触媒]													
14 トリエチルアミン	ラット 460	陰性	-	-	-	121-44-8	-	無色液体 不臭	89.7	-115	5.5wt% (20°C)	0.15	
15 2-メチルイミダゾール	マウス 2,385	陰性	-	-	-	693-98-1	-	淡黄色固体	-	137~ 145	35g/100g (20°C)		

物質名	急性経口毒性 [LD ₅₀ , mg/kg] ラット 2.5mL/kg マウス 1.28mL/kg	変異原性 (1/1A試験)	ガン原性	許容濃度 (ACGIH)		CAS No.	RTECS No	外観	沸点 [°C]	融点 [°C]	溶解度 (水)	含有率 (wt%) *	
				PPM, mg/m ³	PPM, mg/m ³ / 時間加重平均値 / 短時間暴露限界							FRP (Gr. 25%) の場合の一例	その他の場合
16 2,4,6-トリス(ジメチルアミノメチル)フェノール	ラット 2.5mL/kg マウス 1.28mL/kg	-	-	-	-	90-72-2	-	淡黄色褐色液体	-	-	不溶	-	-
17 塩化ベンザルニコウム (重合性モノマー)	-	-	-	-	-	139-68-2	-	白~微黄色粉体	64.4	-	任意に相溶	-	-
18 ステレン	ラット 5,000~8,000 マウス 316	陽性	グループ 2 B (IARC)	50	215	100-42-5	WL3675000	無色透明液体 特異臭	145.1	-31	0.3g/L	26	-
19 オクチル酸コハルト [金属石鹸]	-	陰性	グループ 2 B (IARC)	-	-	136-52-7	-	青紫色固体	-	-	難溶	0.7	-
20 ナフテン酸コハルト (金属6wt%, ミチルヒリット10wt%) [促進剤の溶剤]	ラット 3,900	-	-	-	-	61789-51-3	QX8925000	赤紫色液体	-	-	難溶	0.9	-
21 ミネラルスピリット [助促進剤]	腹腔内ラット 8,500	陰性	グループ 3 (IARC)	(-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-)	64475-85-0	(-)	無色透明液体	152~162	-	-	0.6	-
22 アセチルアセトン	ラット 1,000 マウス 951 ラット 55	陰性	-	(-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-)	123-54-6	SAI1925000	無色透明液体	140	-23	16.6wt% (2)°C	-	0.04
23 アセト酢酸エチルエステル	ラット 5,105	陰性	-	(-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-)	141-97-9	AK5250000	無色透明液体 果実臭	180.4	-44	1.9g/100mL	-	-
24 アセト酢酸メチルエステル	ラット 3,228	-	-	(-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-)	105-45-3	AK5775000	無色透明液体 弱い芳香臭	170	-32	45.5wt%	-	-
25 N,N-ジメチルアニリン	ヒト 50 ラット 1,410 マウス 350	陽性 ラット腹腔内 DNA損傷485 他	-	5	25	121-69-7	BX4725000	淡黄色液体 刺激臭	194	2	不溶	-	-
26 N,N-ジエチルアニリン [重合禁止剤(遅延剤)]	ラット 782	-	-	(-) (-) (-) (-)	(-) (-) (-) (-)	91-66-7	BX3400000	淡黄色液体 刺激臭	146	-30	1.4g/L	-	-
27 ヒドロキノン	ヒト 29 ラット 320 マウス 200	陰性	グループ 3 (IARC)	-	-	123-31-9	-	白色針状結晶	287	172	6g/100mL (15°C)	0.04	-
28 P-lerl-ブチルカルチコール	マウス 200	陰性	-	-	-	98-29-3	-	淡黄色固体	285	53	0.2% (25°C)	-	-
29 P-ベンゾキノン	ラット 130	-	-	-	-	106-51-4	-	黄緑色結晶	(昇華)	115.7	1.4g/100g (25°C)	-	-
30 酸化チタン (白色)	-	-	-	-	-	13463-67-7	-	白色粉末	-	1843	不溶	-	5 (ラット, マウス)
31 チタニイエロー (黄色)	ラット 2,500以上	陰性	-	-	-	8007-18-9	-	黄色粉末	-	-	不溶	-	-
32 酸化第二鉄 (赤色)	ラット 15,000	-	-	-	-	1309-37-1	-	赤褐色粉末	-	1550	不溶	-	-
33 四三酸化鉄 (黒色)	-	陰性	-	-	-	1309-38-2	-	黒色粉末	-	1550	不溶	-	-

物質名	急性経口毒性 [LD50, mg/kg]	変異原性 (E15試験)	ガン原性	許容濃度 (ACGIH)		CAS No	RTECS No	外観	沸点 [°C]	融点 [°C]	溶解度 (水)	含有率 (wt%) *	
				時間加重平均値 ppm, mg/m ³	短時間暴露限界 ppm, mg/m ³							FRP (0.25%) の 場合の一例	その他の 場合
34 コバルトブルー (青色)	ラット 2,500以上	陰性	-	-	1345-16-0	-	-	青色粉末	-	-	不溶	-	-
35 フタロシアニンブルー (青色)	ラット 5,000以上	陰性	なし (ラット)	-	147-14-8	-	-	青色粉末	-	-	不溶	-	-
36 カーボンブラック (黒色)	-	陰性	-	-	1333-86-4	-	-	粉状黒色固体	3000 以上	-	不溶	-	-
[改質剤]													
37 パラフィンワックス (食品包装容器の素材, F.D.A適合)	ラット 4,000以上	-	-	2 (t.i.d)	8002-74-2	RY0350000	-	白色固体	-	48~ 69	不溶	0.38	-
38 コロイダルシリカ	ラット 10,000以上	-	-	-	112945-52-5 117631-86-9	-	-	白色微粉末	-	1700	不溶	0.75	-
39 疎水性コロイダルシリカ	ラット 2,000以上	-	-	-	68909-20-6	-	-	白色微粉末	-	1700	不溶	0.75	-
40 シランカップリング剤	ラット 10ml/kg	陰性	-	(-)	2530-85-0	(-)	-	無色透明液体	255	0以下	難溶	0.75	-
41 B Y K 添加剤	ラット 5,000又は 以上	-	-	-	-	-	-	液体	-	-	不溶	0.15	-
[充填剤]													
42 炭酸カルシウム	-	-	-	-	471-34-1	-	-	白色粉末	-	900 以上	不溶	-	50 (パ)等)
43 クレーン・カオリン	-	-	-	-	1332-58-7	-	-	粉末	-	1600 以上	不溶	-	50 (パ)等)
44 タルク	-	-	-	-	14807-96-6	-	-	白色粉末	-	200 (分解)	不溶	-	50 (パ)等)
45 水酸化アルミニウム	ラット LD0150	-	-	-	471-34-1	-	-	白色粉末	-	-	不溶	-	50 (パ)等)
46 ガラスフレーク	-	-	グループ 3 (IARC)	-	65997-17-3	-	-	白色鱗片状 ガラス	-	710 軟化点	-	-	25 (フレク)に シグ)
[硬化剤]													
[有機過酸化物]													
47 过氧化ベンゾイル	ラット 484 ラット 1,330	陰性	-	0.2 天井値, 天井値	1338-23-4	EL9450000	-	無色透明液体	-	-10以下	一部溶解	0.75	-
48 过氧化トロン	ラット 2,870 (33~34%品)	陽性	-	(-)	37187-22-7	SA2400000	-	無色透明液体	-	-10以下	可溶	-	-
49 tert-ブチルペルオキシベンゾイル	ラット 4,838 ラット 1,330 ラット 914 ラット 2,500	僅かに陽性	-	(-)	614-45-9	SD9450000	-	淡黄色透明液体	-	8	不溶	-	-
50 tert-ブチルペルオキシ-3,5- トリメチルベンゾイル	ラット 5,000以上	陰性	-	-	13122-18-4	-	-	無色透明液体	-	-30以下	不溶	-	-
51 tert-ブチルペルオキシジブチル ペルオキシド	ラット (雑) 5,000以上	-	-	-	2372-21-6	-	-	無色透明液体	-	-20	不溶	-	-
52 tert-ブチルペルオキシ-3,5- ジメチルベンゾイル	ラット 2,000以上	陽性	-	-	68860-54-8	-	-	無色透明液体	-	-20以下	不溶	-	-
53 tert-ブチルペルオキシジブチル ペルオキシド	ラット 2,000以上	陽性	-	-	134350-67-0	-	-	透明液体	-	-37以下	0.012% (30°C)	-	-
54 tert-ブチルペルオキシド	ラット 810	-	-	(-)	75-91-2	EQ4900000	-	無色透明液体	-	-2.8	可溶	-	-

物質名	急性経口毒性 [LD ₅₀ , mg/kg]	変異原性 (IATA試験) 1) 陽性 2) 疑わしい 3) 陰性 (70%品) 陰性	ガン原性	許容濃度 (ACGIH)		CAS No	RTECS No	外観	沸点 [°C]	融点 [°C]	溶解度 (g)	含有率 FRP (G.C. 25%) の 場合の一例	(wt%) * その他 の場合
				ppm	mg/m ³								
55 ケンゾウ油・材料	ラット 800~ 1,600 ラット 382	1) 陽性 2) 疑わしい 3) 陰性 (70%品) 陰性	発ガン性 なし	(-) (-)	(-) (-)	80-15-9	MX2450000	淡黄色透明液体	-	-	不溶		
56 ベンゾイカ・材料	ラット 5,000以上	陰性	-	(-) 5	(-) (-)	94-36-0	DM8575000	白色粉末	-	-	不溶	0.75	
[硬化剤の溶剤]													
57 3-メチル-3-ブチルアクリレート	ラット 4,680 ラット 1,330	陰性	-	(-) (-)	(-) (-)	103429-90-9	(-)	無色透明液体 (強い臭)	188	-50以下	6.8wt%		
58 トリエチルアクリレート	ラット 1,600 ラット 1,500	陰性 他	-	(-) (-)	(-) (-)	78-40-0	TC7900000	無色液体	80/ -5mbaf	-56	可溶		
59 N-ブチル-2-ヒドロキシ	ラット 7cc/kg ラット 3,914 ラット 5,130	陰性 染色体異常 G ⁺ 酵母菌 154mmol/L	発ガン性 なし	(-) (-)	(-) (-)	872-50-4	UY5790000	透明液体 弱いワシ臭	202~ 265	-24.4	可溶		
60 アクリル酸エチル	ラット 12,600 ラット 5,289	陰性 (枯葉菌・大腸菌)	発ガン性 なし	(-) (-)	(-) (-)	84-74-2	TI0875000	透明液体	340	-35	28ppm (25°C)		
61 アクリル酸メチル	ラット 6,800	陽性	-	(-) (-)	(-) (-)	131-11-3	TI1575000	透明液体	282	0	0.45% (25°C)		
62 アクリル酸ブチル	ラット 8,532	陰性 (イグ/ト)	-	(-) (-)	(-) (-)	108-65-6	AI8925000	透明液体 特有臭	146	-80	18.5% (20°C)		
63 アクリル酸ヘキシル	ラット 32,000 以上	-	-	(-) (-)	(-) (-)	77-90-7	TZ8330000	無色透明油状 液体	173	-	不溶 (25°C)		
64 合成ビニル系炭化水素 [強化材]	ラット 20,000 以上	-	-	(-) (-)	(-) (-)	64742-48-9	(-)	無色透明液体 弱い特異臭	166~ 202	-	ほとんど 不溶		
65 ガラス繊維	-	-	グループ 3 (IARC)	-	-	65997-17-3	-	-	-	610~ 860 (軟化点)	ほとんど 不溶	25	
66 多環芳香族炭化水素	-	-	なし	-	-	25038-59-9	-	繊維状物・黒色	-	250以上	不溶		
67 炭素繊維	-	-	呼吸器の刺激	-	-	7440-44-0	-	繊維状物・黒色	-	-	不溶		
[不飽和ポリエステル樹脂]													
68 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶		
69 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶		
70 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶		
71 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶	49	
72 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶	75	
73 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶		
74 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶		
75 不飽和ポリエステル樹脂	-	陰性	-	-	-	-	-	淡黄色固体	-	-	不溶		

注1) 表中「-」は情報、知見なし
注2) 表中「(-)」はRTECSに記載なし(規制されていない)
注3) 含有率*はその物質を使用した場合におけるガラス含有率25%のFRPの一例

その他の場合は、FRP以外のパラおよびトップコートで主に使用される物質の一例

酵母Two-Hybrid Systemにおける
代謝活性化の効果に関する検討

分担研究者 西村哲治、安藤正典

酵母 Two-Hybrid System における代謝活性化の効果に関する検討

国立医薬品食品衛生研究所 西村哲治、安藤正典

1. はじめに

水環境には、自然由来の有機物、工場、事業所や家庭からの排水中に含まれる化学物質、雨水により流入する大気からの化学物質等、発生源も種類も多岐にわたる化学物質が流入してきている。さらに、これらの化学物質は、水環境中で光や生物により、または種々の処理により分解を受けたり新たな反応生成物に変化することもある。この結果、水環境中には微量ではありながら莫大な種類の化学物質が存在していることになる。これら化学物質の中には、生物に取りこまれた後、内分泌系をかく乱する恐れのあるものも少なくないと考えられ、その実態把握が求められている。水道原水として利用されている河川や湖沼等の水にも、これらの化学物質が含まれている可能性があり、個々の化学物質の内分泌系に及ぼす影響と環境中の実態を把握することが大切である。

本研究では、ビフェニル類を対象に取り上げ、酵母 Two-Hybrid System 法により、エストロゲン受容体との複合体形成の結果生じる遺伝子転写促進活性について検討した。また、化学物質は生物の体内に吸収された後、代謝を受ける結果、作用機構や作用の強弱等に変化を生じる可能性が考えられることから、生理的な状態を反映する試験系として、代謝酵素を含む肝ミクロゾームの共存下における酵母 Two-Hybrid System 法の試験方法について検討を加えた。

2. 材料および装置

ビフェニル（純度 98%；以下同様）、*o*-ヒドロキシビフェニル（99.5%）、*p*-ヒドロキシビフェニル（99%）、2,2'-ジヒドロキシビフェニル（97%）、4,4'-ジヒドロキシビフェニル（97%）、17 β -エストラジオール（97%以上）は和光純薬（株）より入手した。*m*-ヒドロキシビフェニル（90%以上）は関東化学（株）から、グルコース-6-リン酸、還元型ニコチンアミド-アデニンジヌクレオチドリジン酸（NADPH）、還元型ニコチンアミド-アデニンジヌクレオチド（NADH）はオリエンタル酵母（株）から入手した。ラット肝ミクロゾーム画分（S9）は、キッコーマン社より、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンにより酵素誘導をかけたラット肝臓から調製した S9 を購入して用いた。塩類など特に記載の無いものについては、和光純薬（株）の特級試薬を用いた。

吸光度は、島津製作所製 CS-9300PC を用いて測定した。

3. 実験方法

本実験の酵母試験系（酵母 Two-Hybrid System）は、ヒトエストロゲン α 受

容体のリガンド結合領域と GAL4 遺伝子産物の DNA 結合領域の融合タンパク質、および RNA ポリメラーゼと相互作用をする GAL4 活性化領域と転写活性化共役因子ヒト TIF2 の一部との融合タンパク質を導入した組換え酵母株を用いた¹⁾。

試験には、SD 培地 (6.7g/l Difco yeast nitrogen base without amino acid (Difco 社), 2% グルコース (和光純薬(株)), 30mg/l L-イソロイシン, 15mg/l L-バリン, 20mg/l L-アデニンヘミサルファー塩, 20mg/l L-ヒスチジン塩酸一水和物, 100mg/l L-ロイシン, 30mg/l L-リジン塩酸, 20mg/l L-メチオニン, 50mg/l L-フェニルアラニン, 200mg/l L-スレオニン, 20mg/l L-トリプトファン, 30mg/l L-チロシン, 20mg/l L-ウラシル (以上 SigmaChemical Co.; St. Louis, MO) を含む培地) で、30°C、約 16 時間培養した酵母菌を用いた。200 μ l の新鮮な SD 培地に、酵母培養液を 50 μ l 加え、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した被験物質を 2.5 μ l 加え、30°C、4 時間暴露した。暴露後、150 μ l を分取し、595nm の吸光度を 2 回測定した。残りの菌液を 15,000rpm、5 分間遠心し、上清を除いた。1mg/ml ザイモリエース (生化学工業(株)) を含む溶液 (60mM リン酸水素二ナトリウム, 40mM リン酸水素一ナトリウム, 10mM 塩化カリウム, 1mM 硫酸マグネシウム) を 200 μ l 加え懸濁した後、30°C、15 分間保温した。40 μ l の 4mg/ml o-ニトロフェニルガラクトピラノシド (ONPG) を加え、さらに 30°C、30 分間保温し、被験物質の添加により誘導された β -ガラクトシダーゼと反応させた。100 μ l の 1M 炭酸ナトリウムを加えて反応停止後、遠心により細胞残さを除き、上清の吸光度 (420nm および 570nm) を測定した。被験物質のエストロゲン様活性は、レポーター遺伝子として導入した β -ガラクトシダーゼ遺伝子から誘導合成された酵素の活性値として測定した。 β -ガラクトシダーゼ活性の算出は以下の式を用いた。

$$\text{Units} = 1000 \times \{ [\text{OD}_{415}] - [1.75 \times \text{OD}_{570}] \} \div \{ [t] \times [v] \times [\text{OD}_{595}] \}$$

t = 反応時間 (30 分)

v = 反応に用いた細胞溶液の量 (0.1ml)

OD₅₉₅ = 反応開始時の細胞密度 (2 回の測定値の平均)

OD₄₂₀ = 反応終了時の o-ニトロフェノールの吸光度

OD₅₇₀ = 反応停止時の反応液のブランク

OD₅₇₀ = 反応停止時の反応液のブランク

4. 結果および考察

- (1) 化学物質は生物の体内に吸収された後、代謝を受け作用点やその機構の変化、作用の強弱化を示す可能性が考えられることから、生理的な状態を反映する試験系として、代謝酵素を含むラット肝ミクロゾームの共存下における酵母 Two-Hybrid System 法の試験方法について検討を加えた。外部から取りこまれた化学物質は、肝臓、小腸、肺、腎臓

などで代謝を受けるが、主として肝臓の代謝酵素系により代謝を受けている。そこで、ネズミチフス菌を用いる変異原性試験の方法²⁾に準じて、ラット肝マイクロゾーム画分 (S9) 混合液を作製し、添加した S9 の最終濃度の違いによる代謝活性化の効果を調べた。フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンにより酵素誘導したラットの肝臓から調製した S9 には、種々の代謝酵素が含まれている。反応液に最終濃度として 4mM 塩化マグネシウム, 16.5mM 塩化カリウム, 2.5mM グルコース-6-リン酸, 2mM NADPH, 2mM NADH および ラット S9 を含む 50mM ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH7.4) 100 μ l を、2 倍濃度に調製した酵母培地 100 μ l に加え、酵母菌培養液を 50 μ l 加えた。S9 混合液共存下で、 1×10^{-3} M のビフェニルを 30 $^{\circ}$ C、4 時間暴露した後、誘導された β -ガラクトシダーゼの活性を測定した。図 1 に示すように、最終添加濃度として 10% まで濃度に依存して誘導活性が上昇した。10% から 15% の間でも酵素活性誘導の上昇が見られたが、添加濃度に比べて濃度依存度の低い誘導活性のみを示したことから、以後の試験での S9 の添加最終濃度は 10% とした。

- (2) S9 混合液の組成成分の必要性について検討した。全ての成分を含む混合液から検討する一つの成分を除き、酵母菌および 1×10^{-3} M のビフェニルと共存した状態で、30 $^{\circ}$ C、4 時間暴露した場合の誘導に及ぼす影響を検討した(表 1)。S9 を除くと誘導は全く見られなかった。NADPH または NADH を除くことによって、誘導活性は大きく減少した。その他の三種の成分については、16% から 45% ほどの減少が見られた。これら三種の成分については、誘導活性に対して大きな影響を及ぼさないかもしれないが、S9 混合液の安定性を考慮に入れ、S9 混合液の成分として加えることとした。これらの結果から、表 2 に示した成分をそれぞれの最終添加濃度になるように、2.5 倍濃度の S9 混合液を調製し、反応系に加えることとした。ただし、ここに示した濃度は、被験化学物質の種類や濃度等の違いによる詳細な比較検討を行っていないため、必ずしも最適濃度を示しているものとは限らず、今後さらに検討を加える必要がある。
- (3) 被験物質の代謝に係る時間について検討した。被験物質の暴露時間 4 時間は一定に定め、酵母菌に暴露する前にどの程度被験物質に S9 混合液を作用させるかについて検討を加えた。図 2 に示すように、0 時間から 2.5 時間の前処理の時間をかけることにより、前処理の時間に依存して徐々に誘導活性が上昇する傾向が見られた。しかしながら、時間をかける割にはその効果が見られなかった(最高の誘導率で前処理行なわない場合の 109.2%)。これらの結果から、以後の試験では、酵母菌と被験物質および S9 混合液を同時に混ぜ、代謝活性化を行なわない従来の方法と同様 4 時間暴露させることとした。
- (4) 図 3 に示すビフェニル、*o*-ヒドロキシビフェニル、*m*-ヒドロキシビ

フェニル、*p*-ヒドロキシビフェニル、2,2'-ジヒドロキシビフェニル、4,4'-ジヒドロキシビフェニルの6種類のビフェニル類に対して、誘導活性を検討した。図4に濃度—反応性の関係を示す。暴露は $1 \times 10^{-3} \text{M}$ を最高濃度として10倍段階希釈系列で行ない、誘導活性は3回の独立した測定値の平均値で示した。

代謝活性化を行なわない場合は、4,4'-ジヒドロキシビフェニル、*p*-ヒドロキシビフェニルの2種がそれぞれ $3 \times 10^{-4} \text{M}$ 、 $3 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度で最高誘導活性を示した。 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 17 β -エストラジオールの誘導活性に比較して、それぞれ55.9%、35.9%の誘導活性が認められた。*o*-ヒドロキシビフェニルおよび*m*-ヒドロキシビフェニルは $1 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度でごく僅かの誘導活性が見られた。ビフェニルおよび2,2'-ジヒドロキシビフェニルについては、今回の検討では有意な誘導活性は認められなかった(表3)。

昨年度のフェノール類の検討において、酵母 Two-Hybrid System では、フェノールの水酸基の位置に対してパラ位にアルキル基が存在する構造を持つ化学物質の誘導活性が高いことが認められている。本年度の結果からも、同様に水酸基に対してパラ位にベンゼン環が結合した構造を持つ化学物質の誘導活性が高いことが認められた。すなわち、酵母 Two-Hybrid System を用いて検討した結果においては、構造と誘導活性の間に相関関係が存在することが示唆される。これは、(1) フェノールの構造を持ち、水酸基に対してパラ位に別の官能基を持つ構造の化学物質がエストラジオール受容体に結合親和性が高い一般的な性質を表している、(2) 酵母を試験株として用いていることの特異性による、(3) 化学物質の性状に由来する、等の可能性が考えられる。ここで見られた構造と誘導活性の関係の意味するところについては、さらに検討を加えていかなければならない。また、酵母 Two-Hybrid System を用いた場合、親水性物質に比べ脂質親和性の高い物質の誘導活性が高く出る傾向が見られる、フェノール構造を持たない化学物質は誘導活性が出にくい、酵母 Two-Hybrid System で誘導活性が有意に認められない化学物質であっても、別の方法で調べるとエストロゲン受容体との親和性が見られるものもある、などの情報も蓄積してきており、構造と誘導活性との関係を含めて、さらに化学物質のエストロゲン様活性についての知見の蓄積を進めていかなければならない。

- (5) 6種のビフェニル類を前記の条件で、代謝活性化をしながら試験酵母株に暴露した結果、*o*-ヒドロキシビフェニルおよび2,2'-ジヒドロキシビフェニルを除いて有意な酵素誘導活性が認められた。ビフェニル、および*m*-ヒドロキシビフェニルでは、代謝活性化をしない場合には誘導活性が有意に認められないか、もしくはごくわずかし誘導活性を示さなかった(表3)。しかしながら、代謝活性化を行なうことにより、代謝活性化を行なわない場合の $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 17 β -エストラジオールの誘

導活性に比較して、それぞれ 33.0%、24.4%の誘導活性が認められるようになった(表 3)。

また、代謝活性化を行なわない場合にも強い誘導活性の認められた *p*-ヒドロキシビフェニルおよび 4,4'-ジヒドロキシビフェニルでは、さらに誘導活性が増強された(それぞれ、代謝活性化を行なわない場合の約 2 倍ほど)(表 3)。また、17 β -エストラジオールについては、代謝活性化を行なうことにより、誘導活性は認められなくなった。

これらの結果から、ある種の化学物質は、生体内で代謝酵素により代謝を受けることによりエストロゲン受容体への結合親和性が生じたり増強することが考えられる。また、17 β -エストラジオールのようにその活性が消失する化学物質もあることがわかった。

5. おわりに

酵母 Two-Hybrid System を用いて、ビフェニル類 6 種のエストロゲン様酵素誘導活性を検討した。*p*-ヒドロキシビフェニルおよび 4,4'-ジヒドロキシビフェニルでは誘導活性が有意に示されることがわかった。

さらに、生体内に吸収された後の代謝活性化を考慮して、ラット肝臓の代謝酵素を作用させると、誘導活性が見られなかったビフェニルと誘導活性がごくわずかであった *m*-ヒドロキシビフェニルに誘導活性が見られるようになった。代謝活性化を行なわない場合にも誘導活性の認められた *p*-ヒドロキシビフェニルおよび 4,4'-ジヒドロキシビフェニルでは、さらに誘導活性が増強された。

これらの結果から、エストロゲン様活性を検討していく上で、生体内の代謝活性化を考慮した試験系を併用していくことも必要であると考えられる。

6. 参考文献

1. Nishikawa, J., Saito, K., Goto, J., Dekeyama, F., Matsuo, M. and Nishihara, T.: New screening method for chemicals with hormonal activities using interaction of nuclear hormone receptor with coactivator. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **154**, 76-83 (1999).
2. 労働省化学物質調査課編；安衛法における変異原性試験—テストガイドラインと GLP—、中央労働災害防止協会（平成 3 年 3 月 25 日）

**Fig.1 S9 concentration dependence
in metabolic activation with S9**

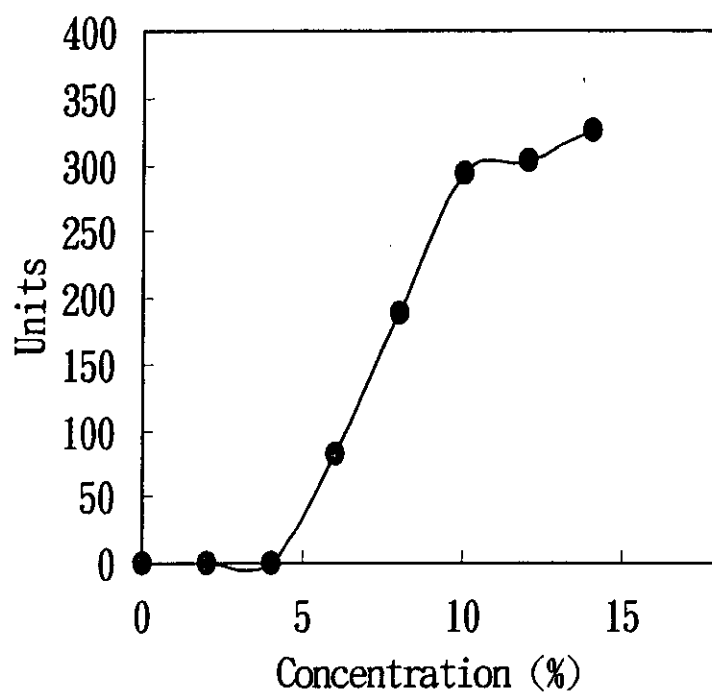


Fig.2 The effect for the pretreatment time

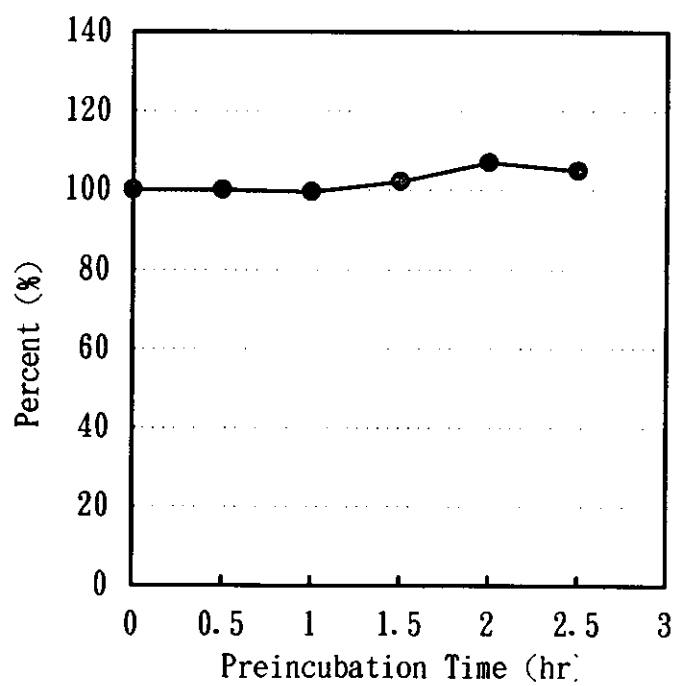
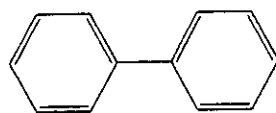
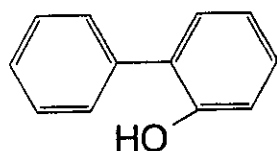


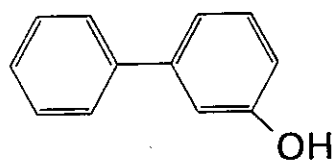
Fig. 3 The structure of biphenyls



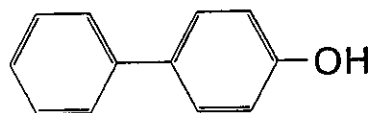
Biphenyl



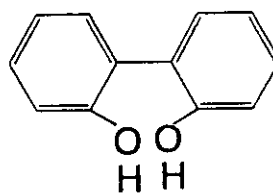
***o*-Hydroxybiphenyl**



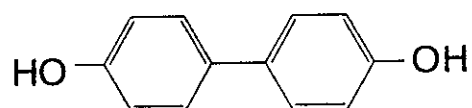
***m*-Hydroxybiphenyl**



***p*-Hydroxybiphenyl**



2,2'-Dihydroxybiphenyl



4,4'-Dihydroxybiphenyl

Fig.4 Estrogen-like activity of biphenyls with or without S9

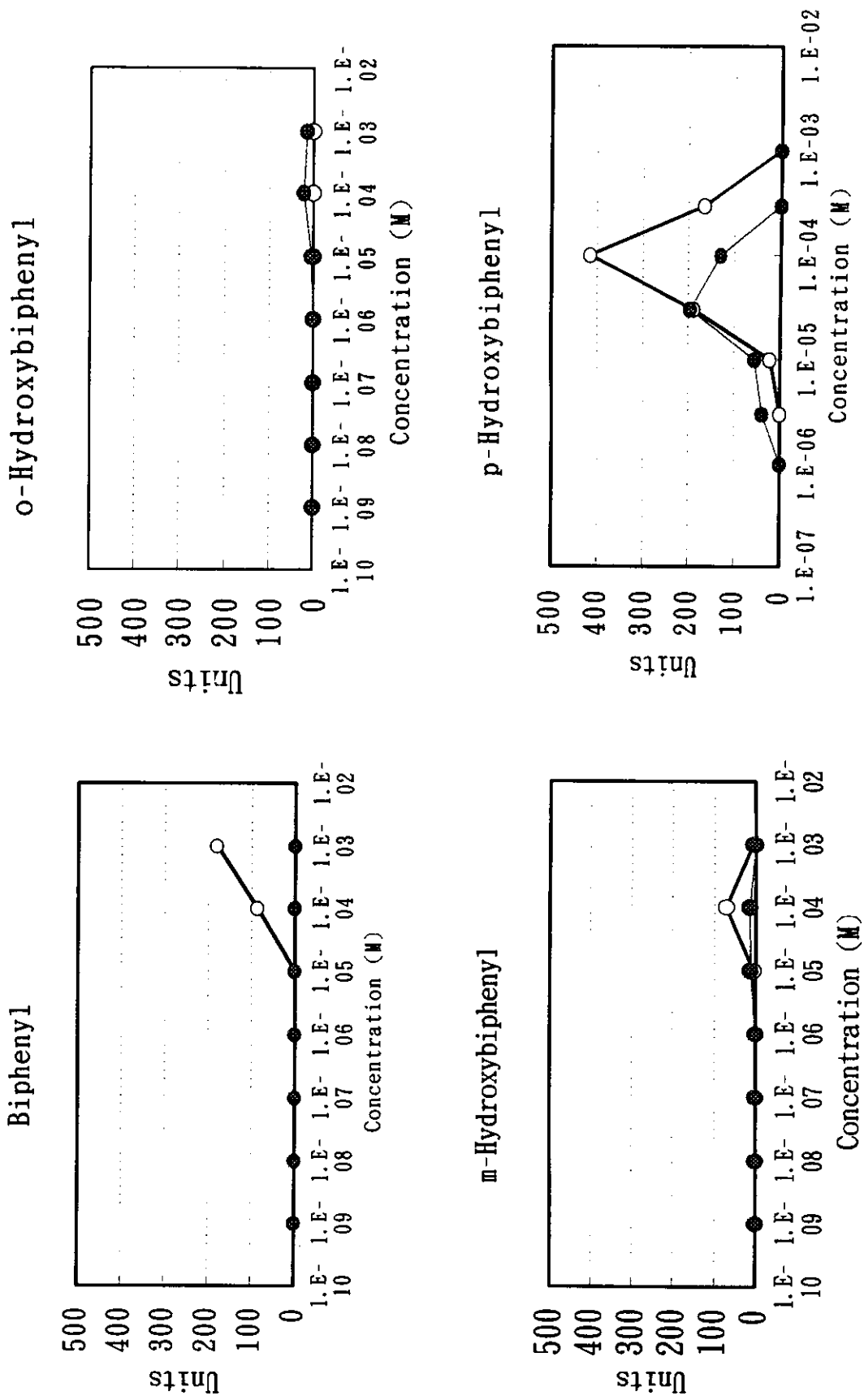
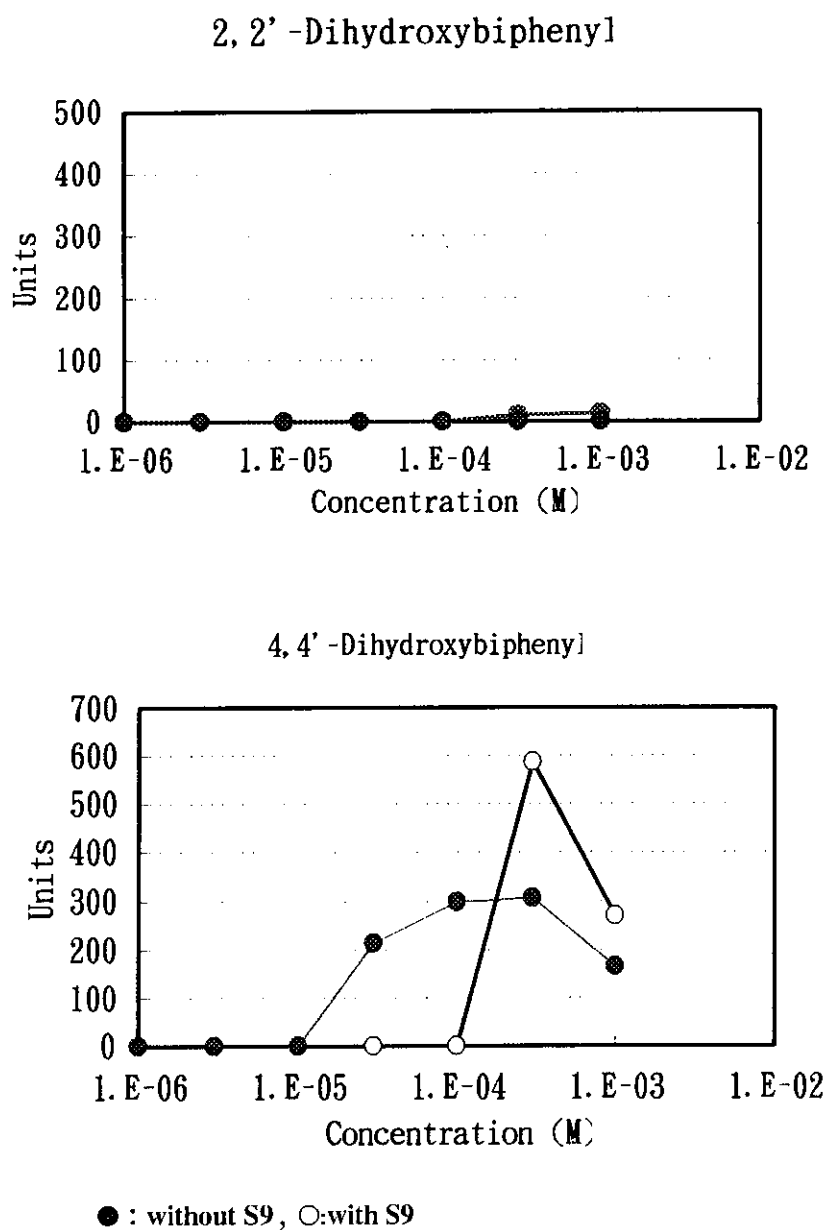


Fig.4 Estrogen-like activity of biphenyls with or without S9(continued)



**Table 1. The comparison of the requirement
of the component**

Component	β -Galactosidase Activity (units)	Percent of Control (%)
Complete (Control)	5 0 0.0	1 0 0.0
—S9	0.0	0.0
—NADPH	8 9.8	1 8.0
—NADH	4 6.3	9.3
—Glucose-6-phosphate	2 9 8.8	5 9.8
—MgCl₂	2 7 3.3	5 4.7
—KCl	4 1 7.9	8 3.6

Table 2 The composition and the concentration of the added

S9 mixture

10% S9*, 4mM MgCl₂, 16.5mM KCl,

2.5mM Glucose-6-phosphate, 2mM NADPH,

2mM NADH, 50mM Na-PO₄(pH 7.4)

***S9: S9 is prepared from the liver of the rat that put on the induction with 5,6- benzoflavone and phenobarbital.**

Table3 Estrogen-like activities of biphenyls

Chemicals	Without S9		With S9			
	Concentration Induced Maximum Activity	Induced Units	% of 17 β -estradiol (10^{-8} M)	Concentration Induced Maximum Activity	Induced Units	% of 17 β -estradiol (10^{-8} M)
Biphenyl	$>10^{-3}$ M	—	—	10^{-3} M	180.8	33.0
o-Hydroxybiphenyl	10^{-4} M	21.6	3.9	$>10^{-3}$ M	—	—
m-Hydroxybiphenyl	10^{-4} M	13.3	2.4	10^{-4} M	133.9	24.4
p-Hydroxybiphenyl	3×10^{-5} M	196.7	35.9	10^{-4} M	415.4	75.8
2,2'-Dihydroxybiphenyl	$>10^{-3}$ M	—	—	10^{-3} M	13.5	2.5
4,4'-Dihydroxybiphenyl	3×10^{-4} M	306.2	55.9	10^{-4} M	587.1	107.2
17 β -Estradiol	$(1 \times 10^{-8}$ M)	547.8	100.0			