

# 最終報告書

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

被験物質名称 : Accucide 100

株式会社 UBE 科学分析センター

表題 (標題) Accucide 100のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験コード番号 USA-R-11321

試験目的 ほ乳類培養細胞を用いて、被験物質による染色体構造異常誘発性の有無を検索する。倍数体等が出現した場合には、それを記録する。

試験委託者 名称 株式会社 日新化学研究所  
所在地 大阪府高槻市大塚町 1-2-12

試験実施施設 名称 株式会社 UBE 科学分析センター  
所在地 山口県宇部市大字小串字沖の山 1978-6

#### 試験実施期間

試験開始日 2011年11月9日  
実験開始日 2011年11月14日  
実験終了日 2011年12月12日  
試験終了日 2011年12月22日

試験期間 2011年11月9日 ～ 2011年12月22日

最終報告書作成年月日 2011年12月22日

#### 試験関係者

試験責任者

2011年12月22日 村田 浩一



試験担当者 : 村田 浩一

## 1. 要約

Accucide 100の CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験を行った。染色体の異常は、短時間処理法の代謝活性化系によらない場合及び代謝活性化系による場合において、構造異常・数的異常ともにいずれの用量においても 5.0%未満であった。連続処理法についても同様に、24 時間処理、48 時間処理ともに、いずれの用量においても 5.0%未満の頻度であった。よって、総合的な判断から本被験物質の染色体異常誘発性は「陰性」と判断された。なお、いずれの処理条件においても陰性・陽性対照値に問題は認められず、試験は適切に実施された。

## 2. 被験物質及び溶媒

## 2.1. 被験物質

名 称	Accucide 100		
別名（慣用名）	---		
構造式又は示性式 （いずれも不明の場合は、その製法の概要）	スライム防止剤 混合剤		
試験に供した被験物質の純度(%)	---	試験に供した被験物質の Lot No.	---
不純物の名称、構造式、含有率(%)等	---		
CAS 番号	---	蒸気圧	---
分子量	---	分配係数	---
融 点	---	常温における性状	液体
沸 点	---		
安定性	---		
保 管	室温		
溶媒に対する溶解性・安定性*	溶 媒	溶解度	溶媒中の安定性
	生理食塩水 DMSO	50.0mg/mL で溶解 500mg/mL で不溶	安定 —

※株式会社 UBE 科学分析センターにおける溶解性試験の結果。溶媒中の安定性は、調製液の観察を 2 時間行い、変色・発熱・発泡等の変化が認められない場合を安定とした。

## 2.2. 被験物質溶液の調製（溶媒の選択理由等）

本被験物質は生理食塩水（50.0mg/mL）に溶解であったため、溶媒としては生理食塩水を選択した。本被験物質は攪拌にて調製し、所定濃度に順次希釈した。また、調製の際、純度換算は行わなかった。

（溶液の調製から使用までの保存時間と温度）

### 《短時間処理法》

細胞増殖抑制試験（-S9 mix）	: 28分	24℃
細胞増殖抑制試験（+S9 mix）	: 28分	24℃
染色体異常試験（-S9 mix）	: 24分	24℃
染色体異常試験（+S9 mix）	: 24分	24℃

### 《連続処理法》

細胞増殖抑制試験（24-0h 処理）	: 28分	24℃
細胞増殖抑制試験（48-0h 処理）	: 28分	24℃
染色体異常試験（24-0h 処理）	: 20分	24℃
染色体異常試験（48-0h 処理）	: 20分	24℃

※被験物質溶液は全て用時調製とした。

## 3. 対照物質

### 3.1. 陰性対照

陰性対照は、被験物質溶液の調製溶媒である生理食塩水（㈱大塚製薬工場製、日本薬局方、Lot. K9L92）を用いた。

### 3.2. 陽性対照

#### 3.2.1. 代謝活性化系によらない場合（-S9 mix）

- (1) Mitomycin C（略称 MMC）：協和発酵工業㈱製、日本薬局方注射用、2mg/瓶、Lot. 550AJC
- (2) 最終用量
 

短時間処理法	: 6-18h 処理用 0.09µg/mL
連続処理法	: 24-0h 処理用 0.05µg/mL, 48-0h 処理用 0.03µg/mL
- (3) 調製法
 

日本薬局方蒸留水（㈱大塚製薬工場製）を加えて溶解後、さらに日本薬局方生理食塩液（㈱大塚製薬工場製）にて希釈し所定濃度に調製した。

#### 3.2.2. 代謝活性化系による場合（+S9 mix）

- (1) Benzo [a] pyrene（略称 BP）：和光純薬工業㈱製、環境分析用、純度 99.8%、Lot. KWP9839
- (2) 最終用量
 

短時間処理法	: 6-18h 処理用 10µg/mL
--------	---------------------
- (3) 調製法
 

DMSO（和光純薬工業㈱製、分光分析用、純度 100.0%、Lot. ALN9138）を加えて溶解し所定濃度に調製した。

#### 3.2.3. 陽性対照物質の保管及び取扱い

MMC 及び BP は 100 倍濃縮液を一時調製し、-20℃以下で冷凍保存したものを使用した。試験のために一度解凍した溶液は再使用しなかった。

## 4. 試験材料

## 4.1. 試験に用いた細胞の種類等

- (1) 細胞名 : CHL/IU (チャイニーズ・ハムスター肺由来繊維芽細胞)
- (2) 入手先 : (財)ヒューマンゲノム振興財団ヒューマンゲノム研究資源バンク
- (3) 入手年月日 : 平成8年12月11日 (ロット番号 113092)
- (4) 細胞選択理由 : 染色体が比較的大きく本数も少ないため観察に適すること。化学物質に関する背景データが豊富であること。
- (5) 凍結保存条件 :  $1.5 \times 10^6$  cells/mL の細胞密度 (含 10% DMSO) で液体窒素中に保存。
- (6) 継代数 : 入手時 5 代。試験には、凍結保存した 7 代 (凍結ロット番号 031212) を解凍後 30 代以内のものを使用した。
- (7) 特性検査 : 形態異常なし。染色体数 (モード数) 25 本。細胞倍加時間は約 15 時間。マイコプラズマ汚染なし。

## 4.2. 培養液

Eagle's MEM (SIGMA-ALDRICH 製) に仔牛血清を 10% (SAFC Biosciences 製, Lot. 9D0732) 加えたものを使用した。仔牛血清は当施設で非働化した。

## 4.3. 培養条件

- (1) 培養器 : 60mm プラスチックシャーレ (Becton Dickinson 製, 有効培養面積 20.8 cm<sup>2</sup>)
- (2) 温度, 炭酸ガス濃度 : 37°C, 5% (CO<sub>2</sub> インキュベーター, SANYO 製 MCO-96 型)
- (3) 前培養条件 : 播種細胞数  $2 \times 10^4$  個 / 培養液 5mL / 培養器, 3 日間培養

## 4.4. S9 及び S9 mix

- (1) 製造元 : キッコーマン(株)
- (2) S9の製造日 : 2011年5月27日
- (3) S9のロット番号 : RAA-632
- (4) 保存温度 : -80°C (保存機器: SANYO 製超低温フリーザー - MDF-192AT 型)
- (5) 使用動物 : Sprague-Dawley 系ラット、雄、7 週 (208-253g)
- (6) 誘導物質 : フェノール (PB: 和光純薬工業(株)) 及び 5,6-ベンゾフラボン (BF: 和光純薬工業(株)) を以下のように腹腔内投与  
1 日目 PB 30mg/kg、2 日目 PB 60mg/kg、3 日目 PB 60mg/kg + BF 80mg/kg、  
4 日目 PB 60mg/kg、5 日目 S9 調製

## (7) S9 mix の組成 (1mL 中)

S9	: 0.3 mL	NADP	: 4 μmol
MgCl <sub>2</sub>	: 5 μmol	HEPES	: 4 μmol
KCl	: 33 μmol	精製水	: 0.7 mL
グルコース-6-リン酸	: 5 μmol		

- (8) S9 量 (最終濃度) : 5%
- (9) S9 蛋白量 (最終濃度) : 1.3 mg/mL (計算値)

## 5. 試験方法

### 5.1. 短時間処理法

#### (1) 細胞増殖抑制試験（用量設定のための予備試験）

代謝活性化系によらない場合及び代謝活性化系による場合について、用量当たり 1 個の培養器を用いて実施した。細胞は培養器当たり  $2 \times 10^4$  個播種し、3 日間前培養したものをを用いた。

予め培養液を入れた用量段階数分の試験管に、被験物質溶液を 0.3mL 添加し混和した。代謝活性化系による場合は、さらに S9 mix を 0.5mL 加え混和した。直ちに培養器の培養液と交換し、CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 6 時間処理した。被験物質処理中の合計液量は、培養器当たり 3mL で行った。処理終了後、被験物質の析出の有無を観察し、PBS で洗浄（被験物質除去）、新鮮な培養液を 5mL 加え、さらに 18 時間培養した。培養終了後、倒立位相差顕微鏡下で細胞の状態を観察し、次いで細胞増殖率の測定を行った。細胞増殖率は、陰性対照を 100% として算出した。

#### (2) 染色体異常試験

用量当たり 2 個の培養器を用いて実施した。前培養及び被験物質処理は細胞増殖抑制試験と同様に行い、染色体標本作製した。

### 5.2. 連続処理法

#### (1) 細胞増殖抑制試験（用量設定のための予備試験）

24 時間処理及び 48 時間処理について、用量当たり 1 個の培養器を用いて実施した。細胞は培養器当たり  $2 \times 10^4$  個播種し、3 日間前培養したものをを用いた。

予め培養液を入れた用量段階数分の試験管に、被験物質溶液を 0.5mL 添加し混和した。直ちに培養器の培養液と交換し、CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 24 時間又は 48 時間処理した。被験物質処理中の合計液量は、培養器当たり 5mL で行った。処理終了後、被験物質の析出の有無及び細胞の状態を観察し、次いで細胞増殖率の測定を行った。細胞増殖率は、陰性対照を 100% として算出した。

#### (2) 染色体異常試験

用量当たり 2 個の培養器を用いて実施した。前培養及び被験物質処理は細胞増殖抑制試験と同様に行い、染色体標本作製した。

### 5.3. 染色体標本の作製

分裂中期の細胞を得るため、培養終了 2 時間前にコルセミド溶液（GIBCO）を 0.2µg/mL になるように添加した。培養終了後、培養液を遠心管に移し、0.25% トリプシン溶液で剥離させた細胞と合わせて遠心分離した。上清を除去後、0.075M 塩化カリウム溶液を 4mL 加え、37°C の恒温水槽中で 15 分間低張処理した。これに数滴の固定液（アルコールと酢酸の混液）を加え細胞を半固定し、遠心分離後、新しい固定液と交換した。同操作で固定液の置換を数回行い、細胞を十分に固定した。適度な濃度の細胞懸濁液を作製し、スライドガラス上に滴下、空気乾燥後 2% ギムザ液で染色した。

## 6. 観察、測定、検査及び分析の方法

### 6.1. 識別方法

処理法、被験物質、試験用量、同一用量で複数枚ある場合など、それぞれを識別するため、識別番号を各培養器に記載、又は試験管にラベルを貼付して操作を行った。

### 6.2. 細胞数測定法

0.25%トリプシン溶液で培養器から剥離させた細胞懸濁液の一部を採取し、トリパンプルーで染色後、血球計算盤を用いて倒立位相差顕微鏡下で細胞数を計測した。

### 6.3. 染色体標本の観察

観察は盲検法で行い、良く広がった分裂中期細胞について、原則として各用量当たり 200 個を倍率 600~1000 倍の顕微鏡下で観察した。

#### (1) 構造異常

CHL/IU 細胞の染色体モード数は 25 であるので、 $25 \pm 2$  本の染色体数を有するものを観察対象とした。構造異常は次の分類に従い、いずれかの異常を 1 個以上有する細胞を異常細胞 (aberrant cell) 1 個として記録した。また、同時に異常の種類を記録した。例えば、1 個の細胞中に、切断型が 2 個、交換型が 3 個存在していた場合、異常細胞は 1 個、異常の種類には切断型を 1 個、交換型を 1 個として記録した。

#### 〔構造異常の分類〕

染色分体型切断 (略称 ctb) 染色分体型交換 (略称 cte)

染色体型切断 (略称 csb) 染色体型交換 (略称 cse) その他 (others、断片化など)

#### (2) 数的異常

半数体染色体数が倍加している細胞 (3 倍体以上の倍数体、略称 poly)、核内倍加 (略称 end) が出現した場合には、これらの細胞数を記録した。

#### (3) ギャップ

染色分体型及び染色体型ギャップ (略称 g) は、他の異常と区別して記録し、構造異常には含めなかった。ギャップは、非染色部位が染色分体幅より狭く同軸上にあるものとし、非染色部位が染色分体幅以上のものは切断とした。

## 7. 試験結果の判定及びデータ解析のために用いた統計学的方法

### 7.1. 試験結果の判定基準

#### 〔各処理用量別の判定〕

石館らの判定基準に従い、構造異常と数的異常の各々の出現頻度 (%) について、次の基準によって判定した。

〈出現頻度〉	〈判定基準〉
5%未満	陰性 (−)
5%以上 10%未満	疑陽性 (±)
10%以上	陽性 (+)

#### 〔最終判定〕

最終的な判定は、処理群の値が陰性対照値と比較して明らかに上昇し、且つ用量依存性が認められた場合を陽性とした。また、単一の用量のみ陽性になる場合や疑陽性の場合には、確認試験を行い、再現性が確認されれば、総合的に陽性と判定した。

## 7.2. 統計学的方法

データ解析のための統計学的手法は用いなかった。

## 8. 結果及び考察

### 8.1. 短時間処理法

#### (1) 細胞増殖抑制試験（表1及び図1）

代謝活性化系によらない場合及び代謝活性化系による場合について、公比2の7段階にて0.0781～5.00mg/mLの用量範囲で細胞増殖抑制試験を行った。被験物質の析出は、両処理群とも処理開始時・終了時ともにいずれの用量にも認められなかった。50%以上の細胞増殖抑制は、代謝活性化系によらない場合で2.50mg/mL以上の用量、代謝活性化系による場合で1.25mg/mL以上の用量に認められた。

#### (2) 用量設定（染色体異常試験）

細胞増殖抑制試験の結果から、代謝活性化系によらない場合においては、2.50mg/mLから公比 $2^{1/2}$ で得られる2.50、1.77、1.25・・・の用量の内、十分な細胞毒性が予想される1.77mg/mLを最高用量とし、同公比の4段階とした（0.625～1.77mg/mL）。代謝活性化系による場合においても同様に、十分な細胞毒性が予想される1.25mg/mLを最高用量とし、公比 $2^{1/2}$ の4段階とした（0.442～1.25mg/mL）。

#### (3) 染色体異常試験（表3及び図3）

代謝活性化系によらない場合及び代謝活性化系による場合について、上記用量設定にて染色体異常試験を行った。被験物質の析出は、両処理群とも処理開始時・終了時ともにいずれの用量にも認められなかった。50%以上の細胞増殖抑制は、代謝活性化系によらない場合で1.77mg/mLの用量、代謝活性化系による場合で0.884mg/mL以上の用量に認められた。染色体の異常は、両処理群とも構造異常・数的異常ともにいずれの用量においても5.0%未満であった。

なお、代謝活性化系による場合の1.25mg/mLの用量では、強い細胞毒性のため適切な標本が得られなかった。よって、当該用量はコード化を行わず、分析対象から除外した（「TOX」と表記した）。また、代謝活性化系によらない場合において、十分な細胞毒性を示した1.77mg/mLの用量では、染色体分析を行ったものの、観察対象となる分裂中期細胞が少なく、規定細胞数での実施に至らなかった。よって、当該用量は判定対象から除外した（構造異常用・数的異常用ともに観察細胞数29個のため「TOX」と表記した）。

### 8.2. 連続処理法

#### (1) 細胞増殖抑制試験（表2及び図2）

24時間及び48時間処理について、公比2の9段階にて0.0195～5.00mg/mLの用量範囲で細胞増殖抑制試験を行った。被験物質の析出は、両処理群とも処理開始時・終了時ともにいずれの用量にも認められなかった。50%以上の細胞増殖抑制は、両処理群とも0.625mg/mL以上の用量に認められた。



## (2) 用量設定 (染色体異常試験)

細胞増殖抑制試験の結果から、24 時間処理においては、1.25mg/mL から公比  $2^{1/2}$  で得られる 1.25、0.884、0.625・・・の用量の内、十分な細胞毒性が予想される 0.884mg/mL を最高用量とし、同公比の 5 段階とした (0.221~0.884mg/mL)。48 時間処理においても同様に、0.625mg/mL から公比  $2^{1/2}$  で得られる 0.625、0.442、0.313・・・の用量の内、十分な細胞毒性が予想される 0.442mg/mL を最高用量とし、同公比の 4 段階とした (0.156~0.442mg/mL)。

## (3) 染色体異常試験 (表 4 及び図 4)

24 時間及び 48 時間処理について、上記用量設定にて染色体異常試験を行った。被験物質の析出は、両処理群とも処理開始時・終了時ともにいずれの用量にも認められなかった。50%以上の細胞増殖抑制は、24 時間処理で 0.625mg/mL 以上の用量、48 時間処理で 0.442mg/mL の用量に認められた。染色体の異常は、両処理群とも構造異常・数的異常ともにいずれの用量においても 5.0%未満であった。

なお、24 時間処理の 0.884mg/mL の用量では、強い細胞毒性のため適切な標本が得られなかった。よって、当該用量はコード化を行わず、分析対象から除外した (「TOX」と表記した)。また、24 時間処理においては、十分な細胞毒性を示した 0.625mg/mL の用量では、染色体分析を行ったものの、観察対象となる分裂中期細胞が少なく、規定細胞数での実施に至らなかった。よって、当該用量は判定対象から除外した (構造異常用・数的異常用ともに観察細胞数 7 個のため「TOX」と表記した)。

## 8.3. 結果の表示 (図表)

- 表 1 細胞増殖抑制試験結果 (短時間処理法)
- 表 2 細胞増殖抑制試験結果 (連続処理法)
- 表 3 染色体異常試験結果 (短時間処理法)
- 表 4 染色体異常試験結果 (連続処理法)
- 図 1 細胞増殖抑制試験結果 (短時間処理法)
- 図 2 細胞増殖抑制試験結果 (連続処理法)
- 図 3 染色体異常試験結果 (短時間処理法)
- 図 4 染色体異常試験結果 (連続処理法)

## 9. 結論

Accucide 100の CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験を行った。染色体の異常は、短時間処理法の代謝活性化系によらない場合及び代謝活性化系による場合において、構造異常・数的異常ともにいずれの用量においても 5.0%未満であった。連続処理法についても同様に、24 時間処理、48 時間処理ともに、いずれの用量においても 5.0%未満の頻度であった。よって、総合的な判断から本被験物質の染色体異常誘発性は「陰性」と判断された。なお、いずれの処理条件においても陰性・陽性対照値に問題は認められず、試験は適切に実施された。

## 10. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当なし。

## 11. 試資料の保管

生データ、標本、記録文書、最終報告書、残余被験物質、その他試験に係わる資料等は、試験終了後、試験委託者へ提出する。

## 12. 試験法の対応

### (1) 化審法対応

平成 23 年 3 月 31 日付け、薬食発 0331 第 7 号、平成 23・03・29 製局第 5 号、環企発第 110331009 号「新規化学物質等に係る試験の方法について」の「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」に準拠した。

### (2) 労働安全衛生法対応

平成 11 年 9 月 16 日付け労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課長事務連絡「ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の手法及び試験結果の評価方法について」に準拠した。

## 13. 参考文献

- (1) 労働省化学物質調査課編：安衛法における変異原性試験，中央労働災害防止協会 (1991)
- (2) 日本環境変異原学会・MMS 分科会編：化学物質による染色体異常トプス，朝倉書店 (1988)
- (3) 祖父尼俊雄監修：染色体異常試験データ集 改訂 1998 年版，L.I.C.社 (1999)
- (4) 菊池康基・三宅幸雄：変異原性試験 Q&A，サイエント社 (1992)
- (5) 三宅幸雄他編：遺伝毒性試験 Q&A，サイエント社 (2000)
- (6) 祖父尼俊雄著：染色体異常試験ーメカニズムから試験法,国際的標準化法までー，サイエント社 (2005)
- (7) 石館基監修：染色体異常試験データ集，(株)エル・アイ・シー (1987)
- (8) 石館基著：GLP に基づく染色体異常試験ガイド，(株)エル・アイ・シー (2006)

表1 細胞増殖抑制試験結果(短時間処理法)

代謝活性化系によらない場合(6-18h)		代謝活性化系による場合(6-18h)	
用量(mg/mL)	増殖率(%)	用量(mg/mL)	増殖率(%)
0	100 -	0	100 -
0.0781	92 -	0.0781	98 -
0.156	90 -	0.156	102 -
0.313	82 -	0.313	99 -
0.625	78 -	0.625	80 -
1.25	59 -	1.25	13 +
2.50	0 +	2.50	7 tox
5.00	0 tox	5.00	0 tox

[備考]被験物質処理終了時、析出が認められた場合は該当する用量に†印を付した。  
 また、コルセミド添加の際、検鏡下にて細胞の状態を観察し、次の分類で「増殖率」欄に記載した。  
 -:死細胞なし, +:一部死細胞, tox:大部分死細胞

表2 細胞増殖抑制試験結果(連続処理法)

連続処理による場合(24-0h)		連続処理による場合(48-0h)	
用量(mg/mL)	増殖率(%)	用量(mg/mL)	増殖率(%)
0	100 -	0	100 -
0.0195	98 -	0.0195	103 -
0.0391	102 -	0.0391	105 -
0.0781	104 -	0.0781	99 -
0.156	100 -	0.156	92 -
0.313	86 -	0.313	70 -
0.625	42 +	0.625	16 +
1.25	3 tox	1.25	0 tox
2.50	0 tox	2.50	0 tox
5.00	0 tox	5.00	0 tox

[備考]被験物質処理終了時、析出が認められた場合は該当する用量に†印を付した。  
 また、コルセミド添加の際、検鏡下にて細胞の状態を観察し、次の分類で「増殖率」欄に記載した。  
 -:死細胞なし, +:一部死細胞, tox:大部分死細胞

表3 染色体異常試験結果(短時間処理法)

被験物質の名称 Accucide 100

処理時間(h)	S9 mix	被験物質の 用量	観察細胞数		染色体分体切断		染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)		染色体交換 染色体分体交換	染色体交換 染色体分体交換	染色体異常細胞数(%)	ギャンプ の出現数	細胞増殖率 (%)	染色体数的異常の細胞数(出現頻度%)				
			観察細胞数	染色体分体切断	染色体分体切断	染色体分体交換	染色体分体交換	観察細胞数						倍率	染色体異常細胞数(%)			
6-18	-	陰性対照 (生理食塩水)	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0		
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0		
			200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(100)	0	0	(0.0)	
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	81	0	0	
			100	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	82	0	0	
			200	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	(82)	0	0	(0.0)
			100	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	60	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	65	0	0	
			200	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	(63)	0	0	(0.0)
			100	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	55	0	0	
			100	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51	0	0	
			200	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(53)	0	0	(0.0)
		TOX											31	TOX				
		TOX											38	TOX				
		TOX											(35)	TOX				
6-18	+	陽性対照 (MMC) 0.09 µg/mL	100	8	15	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0		
			100	13	17	0	0	0	0	0	0	0	0	22	0	0		
			200	21	32	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0		
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	
			200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(100)	0	0	(0.0)
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	82	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80	0	0	
			200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(81)	0	0	(0.0)
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	63	0	0	
			100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	67	0	0	
			200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(65)	0	0	(0.0)
100	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	0	0				
100	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0				
200	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(28)	0	0	(0.0)			
		TOX											12	TOX				
		TOX											5	TOX				
		TOX											(9)	TOX				
6-18		陽性対照 (BP) 10 µg/mL	100	3	30	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0		
			100	1	37	0	1	0	0	0	0	0	0	100	0	0		
			200	4	67	0	1	0	0	0	0	0	0	71	0	0	(0.0)	

1. 処理時間の欄は、処理時間一回復時間の順に示した。  
 2. 陰性及び陽性対照物質を括弧内に示した。MMC: Mitomycin C, BP: Benzo [a] pyrene  
 3. 被験物質の析出が認められた場合は、該当する用量にT印を付した。  
 4. 染色体像の観察が不能であった場合は、該当する用量の観察細胞数欄に次の記号を付した。細胞毒性による場合: TOX, 被験物質の析出による場合: #  
 5. 染色体構造異常その他の欄は断片化(fragmentation) 数的異常その他の欄は核内倍加(endoreduplication)を示した。  
 6. 各群の培養器毎のデータを1及び2行目、その合計を3行目に示した。括弧内は平均値%を示した。

表4 染色体異常試験結果(連続処理法)

被験物質の名称 Accucide 100

処理時間(h)	S9 mix	被験物質の 用量	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)			細胞増殖率 (%)	ギャップ の出現数	染色体学的異常の細胞数(出現頻度%)				
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換			観察細胞数	倍率体			
24-0	陰性対照 (生理食塩水)	0.221	100	0	0	100	0	0	0	0	0	
			100	0	0	100	0	0	0	0	0	0
			200	0	0	(100)	0	0	0	0	0	0
			100	1	0	0	91	0	0	0	0	0
			100	0	0	0	87	0	0	0	0	0
			200	1	0	0	(89)	0	0	0	0	0
			100	1	0	0	84	0	0	0	0	0
			100	0	0	0	88	1	0	0	0	0
			200	1	0	0	(86)	1	0	0	0	0
			100	1	1	0	68	0	0	0	0	0
			100	1	0	0	73	0	0	0	0	0
			200	2	1	0	(71)	0	0	0	0	0
48-0	陽性対照 (MMC) 0.05 µg/mL	0.156	TOX			40			TOX			
			TOX			38			TOX			
			TOX			(39)			TOX			
			TOX			13			TOX			
			TOX			10			TOX			
			TOX			(12)			TOX			
			100	8	25	1	0	86	0	0	0	0
			100	17	27	0	0	84	0	0	0	0
			200	25	52	1	0	(85)	0	0	0	0
			100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
			100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
			200	1	0	0	0	(100)	0	0	0	0
100	0	0	0	0	86	0	0	0	0			
100	0	1	0	0	100	0	0	0	0			
200	0	1	0	0	(85)	0	0	0	0			
100	1	0	0	0	80	0	0	0	0			
100	0	0	0	0	79	0	0	0	0			
200	1	0	0	0	(80)	0	0	0	0			
100	0	0	0	0	70	0	0	0	0			
100	0	0	0	0	64	0	0	0	0			
200	0	0	0	0	(67)	0	0	0	0			
100	0	0	0	0	47	0	0	0	0			
100	0	0	0	0	41	0	0	0	0			
200	0	0	0	0	(44)	0	0	0	0			
100	11	17	1	0	27	1	0	0	0			
100	10	26	0	0	31	0	0	0	0			
200	21	43	1	0	58	1	0	0	0			

1. 処理時間の欄は、処理時間一回復時間の順に示した。  
 2. 陰性及び陽性対照物質を括弧内に示した。MMC:Mitomycin C  
 3. 被験物質の析出が認められた場合は、該当する用量に甘印を付した。  
 4. 染色体像の観察が不能であった場合は、該当する用量の観察細胞数欄に次の記号を付した。細胞毒性による場合:TOX、被験物質の析出による場合:#  
 5. 染色体構造異常その他の欄は断片化(fragmentation)、教の異常その他の欄は核内倍加(endoreduplication)を示した。  
 6. 各群の培養器毎のデータを1及び2行目、その合計を3行目に示した。括弧内は平均値%を示した。

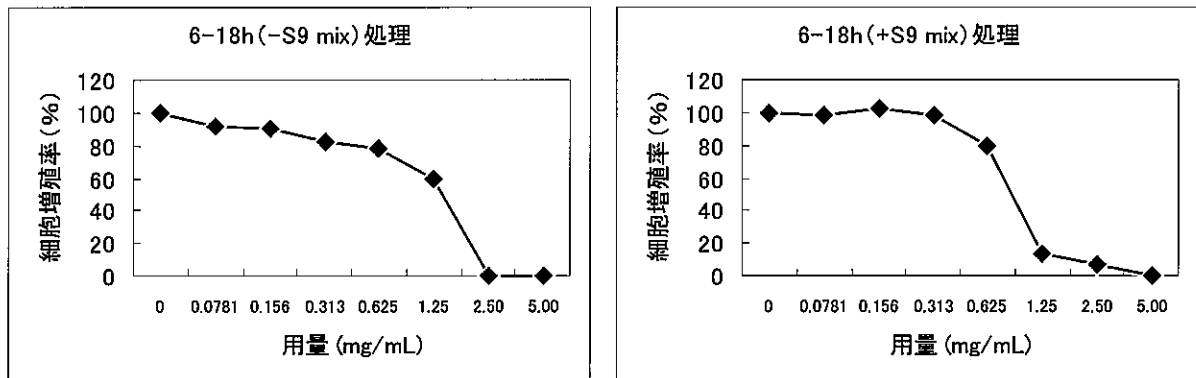


图1 细胞增殖抑制试验结果(短时间处理法)

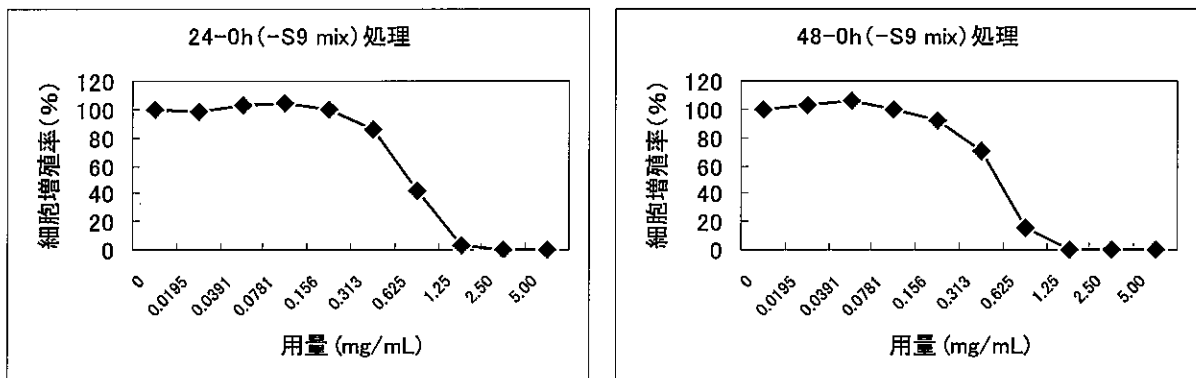
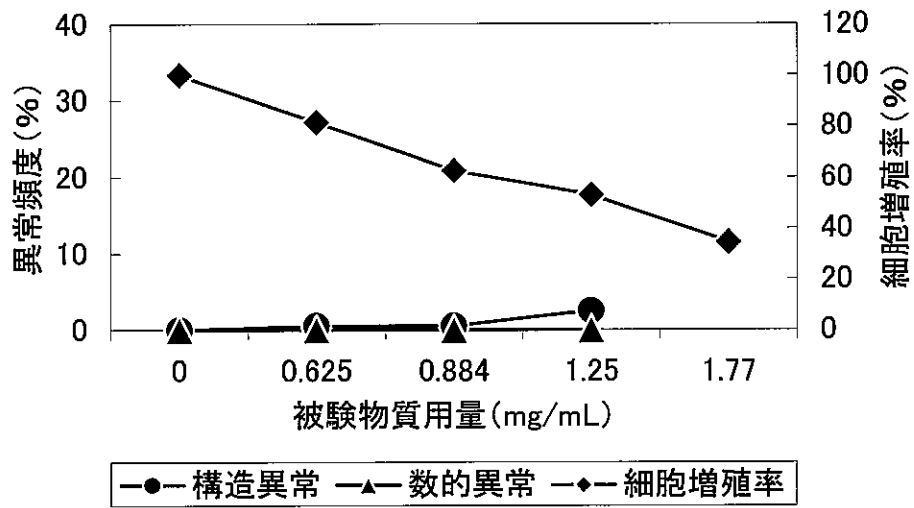
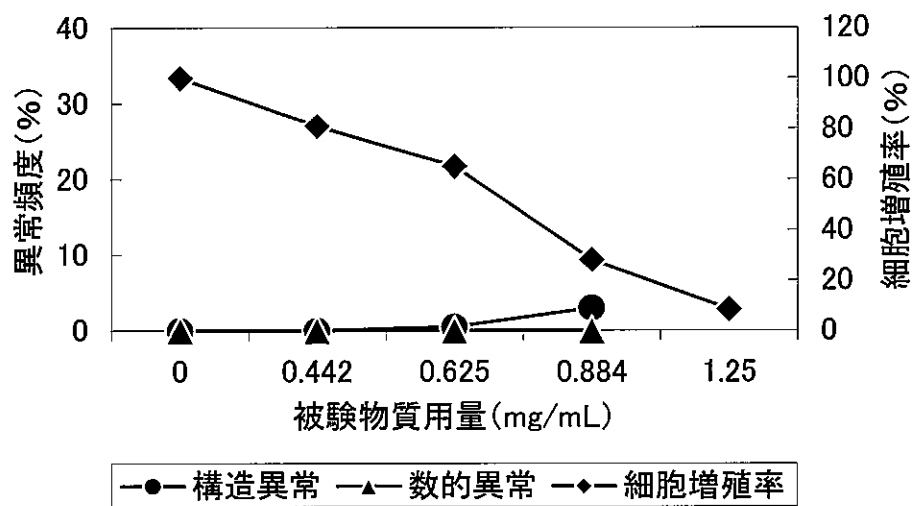


图2 细胞增殖抑制试验结果(连续处理法)

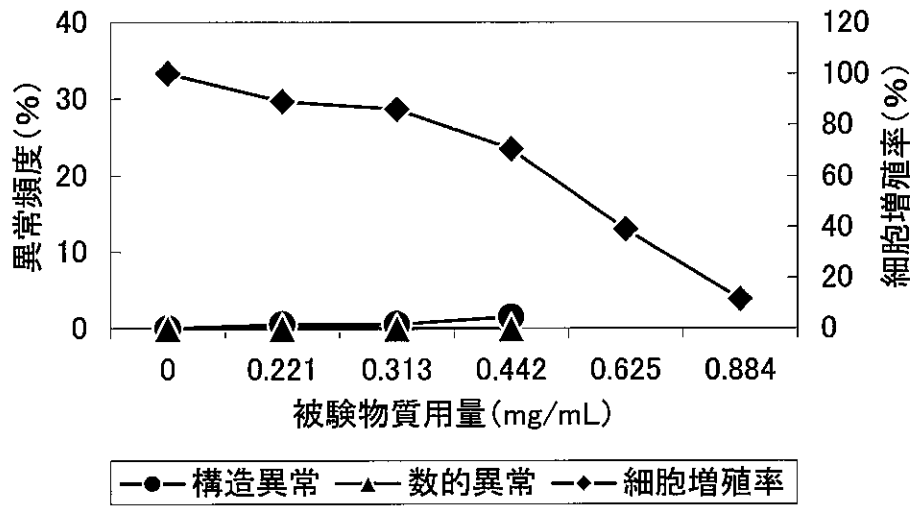


6-18h(-S9 mix) 处理

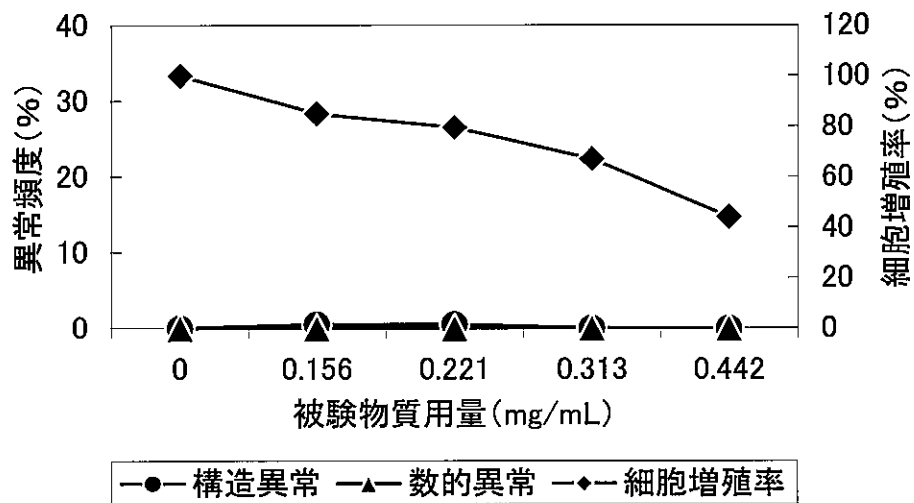


6-18h(+S9 mix) 处理

图3 染色体異常試驗結果(短時間处理法)



24-0h(-S9 mix) 處理



48-0h(-S9 mix) 處理

圖4 染色体異常試驗結果(連續處理法)