最 終 報 告 書

デカヒドロナフタレンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

（試験番号：04-248-2）

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目　次

要　約 …… 1頁
目　的 …… 2
材料および方法 …… 2
1．被験物質 …… 2
2．対照物質 …… 3
3．溶媒 …… 3
4．試験細胞株 …… 3
5．培養液 …… 4
6．培養条件 …… 4
7．S9 mix …… 4
8．細胞増殖抑制試験 …… 5
1）被験物質の供試液の調製 …… 5
2）細胞の処理 …… 5
3）細胞増殖率の測定 …… 5
9．染色体異常試験 …… 6
1）被験物質および陽性対照物質の用量 …… 6
2）被験物質および陽性対照物質の供試液の調製 …… 7
3）細胞の処理 …… 7
4）試験群の構成および使用シャーレ数 …… 8
5）染色体標本の作製および細胞増殖率の測定 …… 8
6）染色体の観察 …… 9
7）染色体異常の分類および集計 …… 9
8）試験結果の判定 …… 9
結　果 …… 10
1．染色体異常試験（短時間処理法：S9 mix 非存在下）…… 10
2．染色体異常試験（短時間処理法：S9 mix 存在下）…… 10
3．染色体異常試験（連続処理法：24 時間処理）…… 10
結　論 …… 11
文　献 …… 11

表：

表１－１　デカヒドロナフタレンの染色体異常試験結果
（短時間処理法：S9 mix 非存在下）…… 13
表１－２　デカヒドロナフタレンの染色体異常試験結果
（短時間処理法：S9 mix 存在下）…… 14
表２　デカヒドロナフタレンの染色体異常試験結果
（連続処理法：24 時間処理）…… 15

図：

図１　構造異常を有する細胞の出現頻度 …… 16
図２　数的異常を有する細胞の出現頻度 …… 17

要　約

デカヒドロナフタレンの染色体異常誘発性の有無を検討するため，チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株（CHL/IU）を用いて *In vitro* における染色体異常試験を実施した。

染色体異常試験に用いる用量を決定するため，短時間処理法および連続処理法ともに 21.9～1400μg/mL の範囲で細胞増殖抑制試験を行った。その結果，短時間処理法では 50%を上回る細胞増殖抑制は認められなかった。連続処理法では 43.8μg/mL 以上で 50%を上回る細胞増殖抑制が認められた。

したがって，染色体異常試験における用量は，短時間処理法の場合は 350，700 および 1400μg/mL，連続処理法の場合は 5.63，11.3，22.5 および 45μg/mL とした。

試験の結果，短時間処理法 S9 mix 非存在および存在下ともに染色体異常細胞の増加は認められなかった。また，連続処理法 24 時間処理においても染色体異常細胞の増加は認められなかった。

以上の成績から，本実験条件下では，デカヒドロナフタレンの CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陰性と判定した。

目　的

この試験は，デカヒドロナフタレンのほ乳類培養細胞に対する染色体異常誘発性の有無を明らかにするために実施した。

材料および方法[1, 2]

1．被験物質

名　　称：　デカヒドロナフタレン

別　　名：　デカリン，ビシクロ[4,4,0]デカン，パーヒドロナフタレン

ＣＡＳ番号：　91-17-8

ロット番号：

純　　度：　99.98%〔cis-デカヒドロナフタレン：52.8701%，trans-デカヒドロナフタレン：47.1138%（平成16年8月5日において分析（ＧＣ法)〕

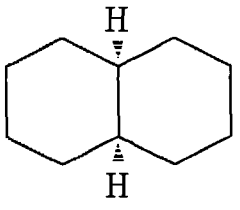
入　手　先：

入手日・量：　平成17年3月16日（35g）

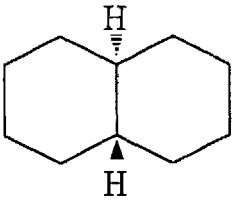
物　性　等：

化学名　　デカヒドロナフタレン
(Naphthalene, decahydro)

構造式



cis-デカヒドロナフタレン



trans-デカヒドロナフタレン

分子式　　$C_{10}H_{18}$

分子量　　138.25

性状　　ナフテン臭の無色透明な液体

沸点　　186℃

融点　　－45℃

溶解性　　水に不溶，エタノール，エーテルに可溶

溶解度　　水：<0.1%

安　定　性：安定［実験終了後，(財)畜産生物科学安全研究所において保管した残余被験物質を新日鐵化学株式会社において分析（平成18年4月3日，GC法）した結果，純度は99.99%〔cis-デカヒドロナフタレン：54.0069%，trans-デカヒドロナフタレン：45.9892%〕で，実験期間中被験物質は安定であったことを確認した。

保管条件　：冷暗所（2～6℃），密栓

2．対照物質

陰性対照物質は、被験物質の溶媒として使用したアセトン（和光純薬工業株式会社，ロット番号EWM6387，100%）を用いた。陽性対照物質は，連続処理法および短時間処理法 S9 mix 非存在下では 1-Methy-l-3-nitro-1-nitrosoguanidine（MNNG，Aldrich Chemical Company，ロット番号 00613PN，純度 97%）を，短時間処理法 S9 mix 存在下では 3,4-Benzo[*a*]pyrene（B[*a*]P，Sigma Chemical Company，ロット番号 57F-3434，純度 98%）を用いた。

3．溶媒

被験物質は水に難溶であり，予備的検討の結果，ジメチルスルホキシド（DMSO）に不溶，アセトンに可溶であったことから，溶媒にはアセトンを用いた。

陽性対照物質の MNNG および B[*a*]P については，DMSO（和光純薬工業株式会社，ロット番号TCE7729，100%）を用いた。

4．試験細胞株

国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部（元：国立衛生試験所 変異原性部）から昭和 60 年 1 月 13 日に分与を受けたチャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株（CHL/ IU）を使用した。供試細胞は，細胞懸濁液に 10%の割合で DMSO を添加し，液体窒素条件下で保存しておいたものを培養液に戻し，解凍後の継代数が 7 回までのものを使用した。

5．培養液

Eagle-MEM 粉末培地（Gibco Laboratories，ロット番号 1214390）を常法に従い調製し，これに非動化（56℃，30 分間加熱処理）仔牛血清（Gibco Laboratories，ロット番号 1199389，1249957）を 10%の割合で添加したものを用いた。

6．培養条件

供試細胞は，CO_2インキュベーター(Napco 社)を用い，CO_2濃度 5%，空気 95%，温度 37℃，加湿条件下で培養した。

7．S9 mix

S9 mix は，ラット肝臓のホモジネートの薬物代謝酵素分画（S9）にコファクターを加えて凍結されたものをキッコーマン株式会社から購入(ロット番号:CAM-527，2005 年 8 月 12 日製造，2005 年 10 月 28 日購入）し，−80℃以下で保存したものを，使用時に冷水中で解凍して用いた。使用した S9 の製造法および S9 mix の 1 mL あたりの組成は，次のとおりである。

〔S9 製造法〕

A．使用動物
- a）種・系統：　Sprague-Dawley 系ラット（日本エスエルシー株式会社）
- b）性・週齢：　雄・7 週齢
- c）体　　重：　190～248 g

B．誘導法
- a）誘導物質：　phenobarbital（PB），5，6-benzoflavone（BF）
- b）投与経路：　腹腔内投与
- c）投与法（投与開始日起算）
  - 1 日目−PB 30 mg/kg，　2，3，4 日目−PB 60 mg/kg
  - 3 日目−BF 80 mg/kg

C．調製法

最終投与の翌日に肝臓ホモジネートを遠心分離(9000×g)し，その上清を採取

S9 mix 1 mL 当たりの組成

S9	0.3	mL
$MgCl_2$	5	μmol/0.1 mL
KCl	33	μmol/0.1 mL
G-6-P	5	μmol/0.1 mL
NADP	4	μmol/0.1 mL
HEPES 緩衝液	4	μmol/0.2 mL
蒸留水	0.1	mL

8．細胞増殖抑制試験

染色体異常試験における被験物質の適切な用量を検討するため，短時間処理法および連続処理法ともに 21.9, 43.8, 87.5, 175, 350, 700 および 1400 μg/mL（10mM 相当）の用量を用いて，次に記載する細胞増殖抑制試験を行った。試験には各用量について 2 枚のシャーレを使用した。

1）被験物質の供試液の調製

被験物質の供試液は，使用時に被験物質をアセトンに溶解して最高用量の供試液（原液）を調製し，次いで，原液の一部をアセトンで順次希釈して所定用量の供試液を調製した。被験物質の添加量は，各シャーレの培養液量の 0.5 vol%とした。

2）細胞の処理

短時間処理法の場合，直径 6 cm の円形プラスチック製シャーレ（Becton Dickinson 社）に 4×10^3 個／mL の細胞を含む培養液 5 mL を加え，培養開始 3 日後に S9 mix 非存在下の場合は各シャーレとも 3 mL を残して培養液を取り除き，アセトン（陰性対照）または被験物質の供試液各 0.015 mL をシャーレに加えた。また，S9 mix 存在下の場合は各シャーレとも 2.5 mL を残して培養液を取り除き，S9 mix 0.5 mL を加えた後，アセトンまたは被験物質の供試液各 0.015 mL をシャーレに加えた。培養 6 時間後に培養液を取り除き，新しい培養液 5 mL を加えて 18 時間培養した。一方，連続処理法の場合は短時間処理法の場合と同様の方法で細胞を培養し，培養開始 3 日後にアセトンまたは被験物質の供試液各 0.025 mL をシャーレに加えて 24 時間および 48 時間培養した。培養終了後，培養液を取り除き，生理食塩液で細胞表面を 2 回洗浄し，10vol%ホルマリン水溶液を加えて約 10 分間固定した。固定後，水洗し，0.1w/v%クリスタルバイオレット水溶液で約 10 分間染色した。水洗後，室温で一晩自然乾燥した。

なお，短時間処理法および連続処理法ともに 175 μg/mL 以上の用量では，被験物質の供試液を培養液中に添加すると直ちに油滴様の被験物質の析出が認められ，所定の培養時間終了時においては，700 μg/mL 以上でわずかな残存が認められた。

3）細胞増殖率の測定

上述の 8-2）で固定・染色した細胞は，染色の濃淡から細胞密度を単層培養細

胞密度計（モノセレーターII，MI-60，オリンパス光学工業株式会社）を用いて測定し、陰性対照群の細胞増殖率を100%とした時の各用量群の細胞増殖率を求めた。

その結果は下表に示したとおり，短時間処理法の場合，S9 mix 非存在および存在下ともに 50%を上回る細胞増殖抑制は認められなかった。連続処理法の場合は，24 時間および 48 時間処理ともに 43.8μg/mL 以上で 50%を上回る細胞増殖抑制が認められ，50%細胞増殖抑制用量は 21.9～43.8μg/mL の用量域にあるものと判断された。

〔短時間処理法〕

用　量 (μg/mL)	細胞増殖率（%） S9 mix 非存在下			S9 mix 存在下		
0　(溶媒)	100	100	[100.0]	100	100	[100.0]
21.9	104	109	[106.5]	99	101	[100.0]
43.8	83	78	[80.5]	96	100	[98.0]
87.5	101	94	[97.5]	100	101	[100.5]
175	94	82	[88.0]	100	103	[101.5]
350	82	86	[84.0]	98	104	[101.0]
700	84	82	[83.0]	90	100	[95.0]
1400	102	77	[89.5]	99	98	[98.5]

[　]：平均値

〔連続処理法〕

用　量 (μg/mL)	細胞増殖率（%） 24 時間処理			48 時間処理		
0　(溶媒)	100	100	[100.0]	100	100	[100.0]
21.9	75	75	[75.0]	75	68	[71.5]
43.8	20	31	[25.5]	29	23	[26.0]
87.5	17	27	[22.0]	19	16	[17.5]
175	24	31	[27.5]	29	22	[25.5]
350	23	30	[26.5]	23	18	[20.5]
700	45	42	[43.5]	44	30	[37.0]
1400	33	41	[37.0]	30	25	[27.5]

[　]：平均値

9．染色体異常試験

1）被験物質および陽性対照物質の用量

細胞増殖抑制試験の結果から，被験物質の用量は，短時間処理法では，10mM に相当する 1400μg/mL を最高用量とし，以下公比 2 で 700 および 350μg/mL

の 3 用量，連続処理法 24 時間処理の場合は，50%細胞増殖抑制用量の前後が含まれ，かつ，3 用量以上のデータが得られることを考慮して 45μg/mL を最高用量とし，以下公比 2 で 22.5，11.3，および 5.63μg/mL の計 4 用量とした。陽性対照物質の MNNG は 2.5μg/mL，B[*a*]P は 10μg/mL の用量を用いた。

2）被験物質および陽性対照物質の供試液の調製

被験物質の供試液は，使用時に被験物質をアセトンに溶解して最高用量の供試液を調製した。次いで，原液の一部をアセトンで順次希釈し，所定用量の供試液を調製した。陽性対照物質の MNNG は 0.5 mg/mL，B[*a*]P は 2.0 mg/mL の供試液を調製した。

3）細胞の処理

4×10^3 個／mL の細胞を含む培養液 5 mL を直径 6 cm の円形プラスチック製シャーレ（Becton Dickinson 社）に加え，3 日間培養後，下記の方法で処理した。培養には 1 用量当たり 4 枚のシャーレを用い，そのうち 2 枚は染色体標本作製用に，残りの 2 枚は細胞増殖率測定用に使用した。但し，陽性対照群については細胞増殖率の測定は行わず,用いるシャーレは染色体標本作製用の 2 枚とした。

短時間処理法の S9 mix 非存在下の場合は，各シャーレとも 3 mL を残して培養液を取り除き，アセトン，被験物質供試液および MNNG の供試液をそれぞれ 0.015 mL ずつ各シャーレに添加して培養した。また，S9 mix 存在下の場合は，各シャーレとも 2.5 mL を残して培養液を取り除いた後,S9 mix 0.5 mL を加え，続いて，アセトン，被験物質供試液および B[*a*]P の供試液をそれぞれ 0.015 mL ずつ各シャーレに添加して培養した。S9 mix 非存在および存在下のいずれの場合も，培養 6 時間後に培養液を取り除き，新しい培養液 5 mL を加え，さらに 18 時間培養した。なお，700μg/mL 以上の用量では，その供試液を培養液中に添加すると直ちに油滴様の被験物質の析出が認められ，培養終了時においては，わずかに残存が認められた。

連続処理法の場合は，アセトン，被験物質供試液および MNNG の供試液をそれぞれ 0.025 mL ずつ各シャーレに加え，24 時間培養した。

4) 試験群の構成および使用シャーレ数

〔短時間処理法〕

用量(μg/mL)		使用シャーレ数	
		S9 mix 非存在下	S9 mix 存在下
0	(陰性対照)[a]	4	4
350		4	4
700		4	4
1400		4	4
2.5	(陽性対照)[b]	2	--
10	(陽性対照)[c]	--	2

a：アセトン，b：MNNG，c：B[*a*]P，使用シャーレ数：36

〔連続処理法：24 時間処理〕

用量(μg/mL)		使用シャーレ数
0	(陰性対照)[a]	4
5.63		4
11.3		4
22.5		4
45		4
2.5	(陽性対照)[b]	2

a：アセトン，b：MNNG，使用シャーレ数：22

5) 染色体標本の作製および細胞増殖率の測定

標本作製の 2 時間前に，培養中の各シャーレにコルセミド(Gibco Laboratories，ロット番号 1238727) を最終濃度として 0.2μg/mL となるように添加した。培養終了後，培養液を取り除き，0.2w/v%トリプシン水溶液 2 mL で処理して細胞をシャーレから剥離し，新鮮培養液 5 mL を入れた遠沈管に移し，1000rpm，5 分間遠心分離した。上清を捨て，細胞沈渣に低張液の 75mM 塩化カリウム水溶液 4 mL を加えて懸濁し，37℃で 15 分間低張処理した。低張処理後，用時調製した冷却メタノール・酢酸(3:1)混合液(v/v)1 mL を添加して固定した。1000rpm で 5 分間遠心分離し，上清を捨て，細胞沈渣を新しい固定液 4 mL で懸濁・固定した。この操作を 3 回繰り返した後，少量の固定液で適切な密度に細胞を懸濁し，スライドグラスの 2 ヶ所に 1 滴ずつ滴下し，室温で一晩自然乾燥した。乾燥後，Sφrensen 緩衝液 (pH6.8，株式会社ヤトロン，ロット番号 1478) を用いて希釈した 1.4 vol%ギムザ液で約 15 分間染色した。水洗後，室温で乾燥して染色体標本とした。標本は，1 シャーレ当たり 3 枚作製した。

細胞増殖率の測定は，培養終了後，培養液を取り除き，生理食塩液で細胞表面

を2回洗浄し，10vol%ホルマリン水溶液を加えて約10分間固定した。固定後水洗し，0.1w/v%クリスタルバイオレット水溶液で約10分間染色し，水洗後乾燥した。単層培養細胞密度計（モノセレーターII，MI-60，オリンパス光学工業株式会社）を用いて陰性（溶媒）対照群の細胞増殖率を100%とした時の各用量群の細胞増殖率を求めた。

6）染色体の観察

染色体の観察は60倍のノーカバー対物レンズを用いて総合倍率600倍で検鏡した。観察は標本をすべてコード化し，盲検法で行った。各用量とも，染色体が明瞭に識別でき，染色体の数が25±2本の分裂中期像について，1シャーレ当たり100個，すなわち，1用量当たり2枚のシャーレの合計200個について観察した。

7）染色体異常の分類および集計[3)]

染色体異常の分類は，構造異常については，染色分体型の切断と交換，染色体型の切断と交換（二動原体，環状染色体など）およびその他（断片化など）とした。数的異常については，倍数性細胞（倍数体）のみを記録した。

ギャップ（染色分体型および染色体型）については，異常として記録したが，構造異常には含めなかった。ギャップは， 染色分体幅よりも狭い非染色性部位とした。

染色体異常の集計については，上述に分類した異常を一つでも有する細胞は異常細胞として記録し，異常の種類別の集計を行った。構造異常および数的異常の総数は，観察した細胞200個中に認められた異常細胞数を表示した。

8）試験結果の判定

試験結果の判定に当たり，構造異常および倍数性細胞の出現頻度は，多試料χ^2検定を行って，有意差（有意水準5%以下）が認められた場合は，Fisherの直接確率法を用いて陰性対照群と各用量群との間の有意差検定（有意水準は多重性を考慮して，5%または1%を処理群の数で割ったものを用いた。）を行った。その結果，陰性対照群と比較して，被験物質群における染色体異常細胞の出現頻度が2用量以上で有意に増加し，さらに用量依存性が認められた場合，染色体異常誘発性は陽性と判定した。なお，単一用量でのみ有意な増加が認められた場合は，それに近い用量を用いて確認試験を行い，その結果，再現性のある結果が認

められた場合には，染色体異常誘発性は陽性とした。

結　果

1．染色体異常試験（短時間処理法：S9 mix 非存在下）

結果は表 1-1 に示す。染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は，陰性対照群では 1.0%と低値であった。被験物質群では 0 または 1.0%の低い出現頻度であり，陰性対照群との間に差は認められなかった。陽性対照群の MNNG による染色体構造異常細胞の出現頻度は 95.5%であり，顕著な染色体異常誘発が確認された。

数的異常を示す倍数体については，陰性対照群および陽性対照群では認められなかった。被験物質群では 350 および 1400μg/mL でそれぞれ 0.5%の低い出現頻度で認められた。

2．染色体異常試験（短時間処理法：S9 mix 存在下）

結果は表 1-2 に示す。染色体の構造異常を有する細胞は，陰性対照群では認められなかった。被験物質群では 0.5 または 1.0%の出現頻度で認められたが，陰性対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。陽性対照群の B[*a*]P による染色体構造異常細胞の出現頻度は 69.5%であり，顕著な染色体異常誘発が確認された。

倍数体については，陰性対照群および陽性対照群では認められなかった。被験物質群においては 350μg/mL でのみ 0.5%の低い出現頻度で認められた。

3．染色体異常試験（連続処理法：24 時間処理）

結果は表 2 に示す。染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は，陰性対照群では 1.0%と低値であった。被験物質群では 0.5 または 1.0%の出現頻度で認められ，陰性対照群との間に有意差はなかった。陽性対照群の MNNG による染色体構造異常細胞の出現頻度は 99.5%であり，顕著な染色体異常誘発が確認された。

倍数体については，陰性対照群および陽性対照群では認められなかった。被験物質群では，5.63μg/mL で 0.5%および 22.5μg/mL で 1.0%の低い出現頻度で認められた。

結　論

デカヒドロナフタレンについて染色体異常誘発性の有無を調べるため，CHL/IU 細胞を用いた *In vitro* における染色体異常試験を実施した。その結果，短時間処理法 S9 mix非存在および存在下並びに連続処理法24時間処理のいずれの方法においても染色体異常誘発作用は認められなかった。

したがって，本実験条件下では，デカヒドロナフタレンの CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陰性と判定した。本試験結果は，CHL/IU 細胞において染色体異常を有する細胞の出現頻度が 5%未満を陰性とする生物学的判断基準 [4]からみても陰性と判断されるものであった。

なお，試験を通して顕著な細胞周期の遅延が疑われる所見は認められなかったため，連続処理法 48 時間処理などの確認試験は行わなかった。

デカヒドロナフタレンの変異原性については，*Salmonella typhimurium* を用いた復帰突然変異試験において陰性，マウス小核試験において雄で陽性，雌で陰性，マウスリンフォーマ試験で陰性との報告がある [5]。また，2 年間の吸入試験において，雄ラットで発がん性ありとの報告がある [6]。

文　献

1) Ishidate, M. Jr. and Odashima, S. (1977). Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells *in vitro*, a screening for chemical carcinogens. *Mutation Research*, **48**, 337-354.

2) Matsuoka, A. Hayashi, M. and Ishidate, M. Jr. (1979). "Chromosomal aberration tests on 29 chemicals combined with S9 mix *in vitro*. *Mutation Research*, **66**, 277-290.

3) 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編，"化学物質による染色体異常アトラス"，朝倉書店，東京，1988，pp. 16-37.

4) 石館　基　監修，"改定増補 染色体異常試験データ集"，エル・アイ・シー，東京，1987，p. 19.

5) National Toxicology Program – Database Search Application.

6) Dill, J.A., Lee, K.M., Renne,R.A., Miller,R.A., Fuciarelli, A.F., Gideon, K.M., Chan, P.C., Burka, L.T and Roycroft, J.H. (2003). Alpha 2U –globurin

nephropathy and carcinogenicity following exposure to decarin(decahydro-naphthalene) in F344/N rats. *Toxicol. Sci.* 72(2), 223-234.

表 1-1　デカヒドロナフタレンの染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix非存在下)

被験物質の用量(μg/mL)	染色体構造異常の細胞数(%) 観察細胞数	染色分体 切断	染色分体 交換	染色体 切断	染色体 交換	その他	総異常細胞数	ギャップの出現数(%)	細胞増殖率(%)	染色体の数的異常の細胞数(%) 観察細胞数	倍数体	その他	総異常細胞数
陰性対照	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
0	100	0	1	0	0	0	1	0	100.0	100	0	0	0
	200	1	1	0	0	0	2	0		200	0	0	0
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	0	0	0	1	0	1	0		100	0	1	1
350	100	0	0	0	1	0	1	0	80.5	100	0	0	0
	200	0	0	0	2	0	2	0		200	0	1	1
		(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)	(1.0)	(0)			(0)	(0.5)	(0.5)
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
700	100	0	0	0	0	0	0	0	80.0	100	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	0	0	0	1	0	1	0		100	0	0	0
1400	100	0	0	0	1	0	1	0	57.5	100	1	0	1
	200	0	0	0	2	0	2	0		200	1	0	1
		(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)	(1.0)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
陽性対照	100	44	97	2	0	0	98	1		100	0	0	0
2.5	100	51	90	1	0	0	93	0	—	100	0	0	0
	200	95	187	3	0	0	191	1		200	0	0	0
		(47.5)	(93.5)	(1.5)	(0)	(0)	(95.5)**	(0.5)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:アセトン.

陽性対照:1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

**:p<0.01.

表 1-2　デカヒドロナフタレンの染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix存在下)

被験物質の用量(μg/mL)	観察細胞数	染色体構造異常の細胞数(%) 染色分体 切断	染色分体 交換	染色体 切断	染色体 交換	その他	総異常細胞数	ギャップの出現数(%)	細胞増殖率(%)	染色体の数的異常の細胞数(%) 観察細胞数	倍数体	その他	総異常細胞数
陰性対照	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
0	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
350	100	1	0	0	0	0	1	0	95.5	100	1	0	1
	200	1	0	0	0	0	1	0		200	1	0	1
		(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
700	100	2	2	1	0	0	2	0	94.0	100	0	0	0
	200	2	2	1	0	0	2	0		200	0	0	0
		(1.0)	(1.0)	(0.5)	(0)	(0)	(1.0)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	1	1	0	1	0	2	0		100	0	0	0
1400	100	0	0	0	0	0	0	0	94.5	100	0	0	0
	200	1	1	0	1	0	2	0		200	0	0	0
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)	(1.0)	(0)			(0)	(0)	(0)
陽性対照	100	17	57	2	0	0	62	0		100	0	0	0
10	100	24	70	0	0	0	77	0	—	100	0	0	0
	200	41	127	2	0	0	139	0		200	0	0	0
		(20.5)	(63.5)	(1.0)	(0)	(0)	(69.5)**	(0)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:アセトン.

陽性対照:3,4-Benzo[a]pyrene.

**:p<0.01.

表 2　　デカヒドロナフタレンの染色体異常試験結果(連続処理法:24時間処理)

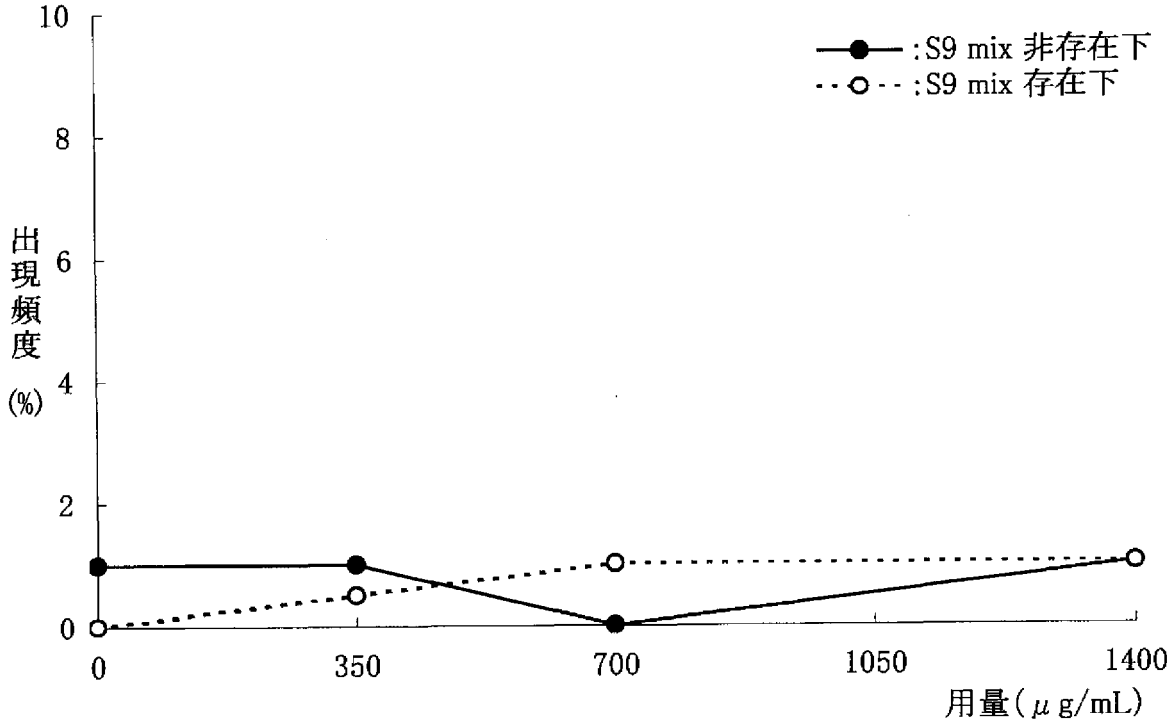
被験物質の用量(μg/mL)	観察細胞数	染色体構造異常の細胞数(%) 染色分体 切断	染色分体 交換	染色体 切断	染色体 交換	その他	総異常細胞数	ｷﾞｬｯﾌﾟの出現数(%)	細胞増殖率(%)	染色体の数的異常の細胞数(%) 観察細胞数	倍数体	その他	総異常細胞数
陰性対照	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
0	100	1	0	0	0	0	1	0	100.0	100	0	0	0
	200	2	0	0	0	0	2	0		200	0	0	0
		(1.0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	0	1
5 .63	100	1	1	0	0	0	2	0	103.5	100	0	0	0
	200	1	1	0	0	0	2	0		200	1	0	1
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
11 .3	100	0	0	0	0	0	0	0	112.5	100	0	0	0
	200	1	0	0	0	0	1	0		200	0	0	0
		(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)			(0)	(0)	(0)
	100	0	2	0	0	0	2	0		100	0	0	0
22 .5	100	0	0	0	0	0	0	0	102.0	100	2	0	2
	200	0	2	0	0	0	2	0		200	2	0	2
		(0)	(1.0)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)			(1.0)	(0)	(1.0)
	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
45	100	0	0	0	0	0	0	0	40.5	100	0	0	0
	200	1	0	0	0	0	1	0		200	0	0	0
		(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)			(0)	(0)	(0)
陽性対照	100	65	95	2	0	0	99	0		100	0	0	0
2 . 5	100	50	99	5	0	0	100	0	—	100	0	0	0
	200	115	194	7	0	0	199	0		200	0	0	0
		(57.5)	(97.0)	(3.5)	(0)	(0)	(99.5)**	(0)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:アセトン.

陽性対照:1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

**:p<0.01.

〔短時間処理法〕



〔連続処理法〕

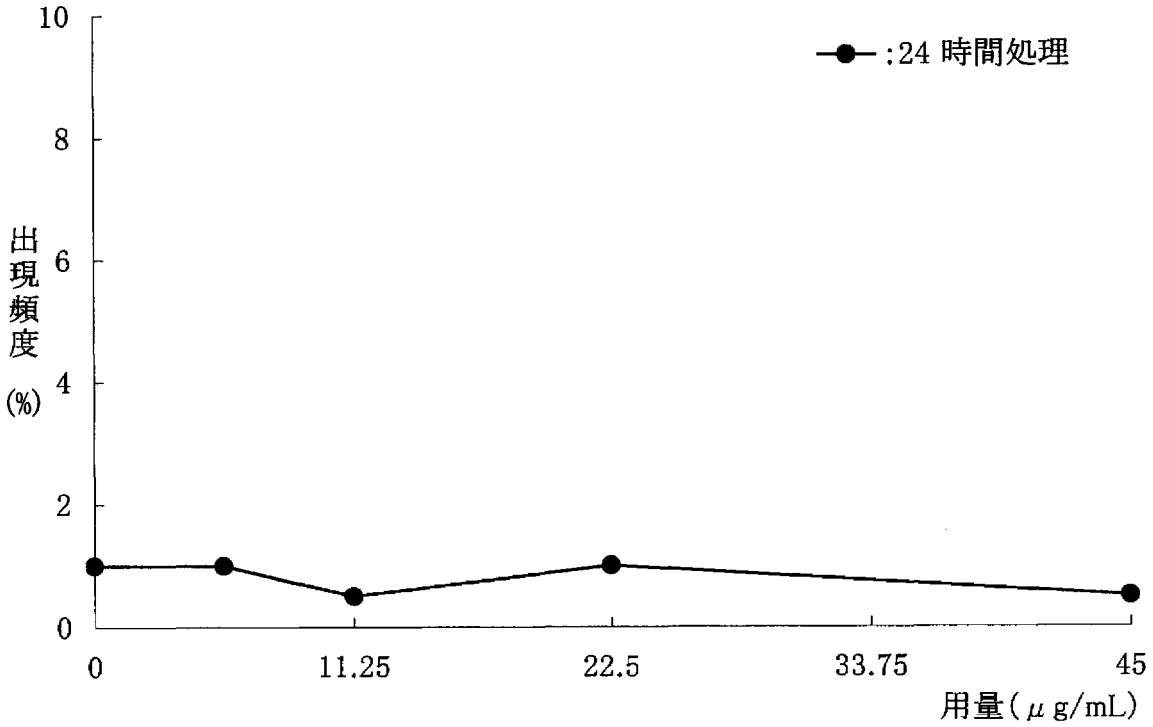
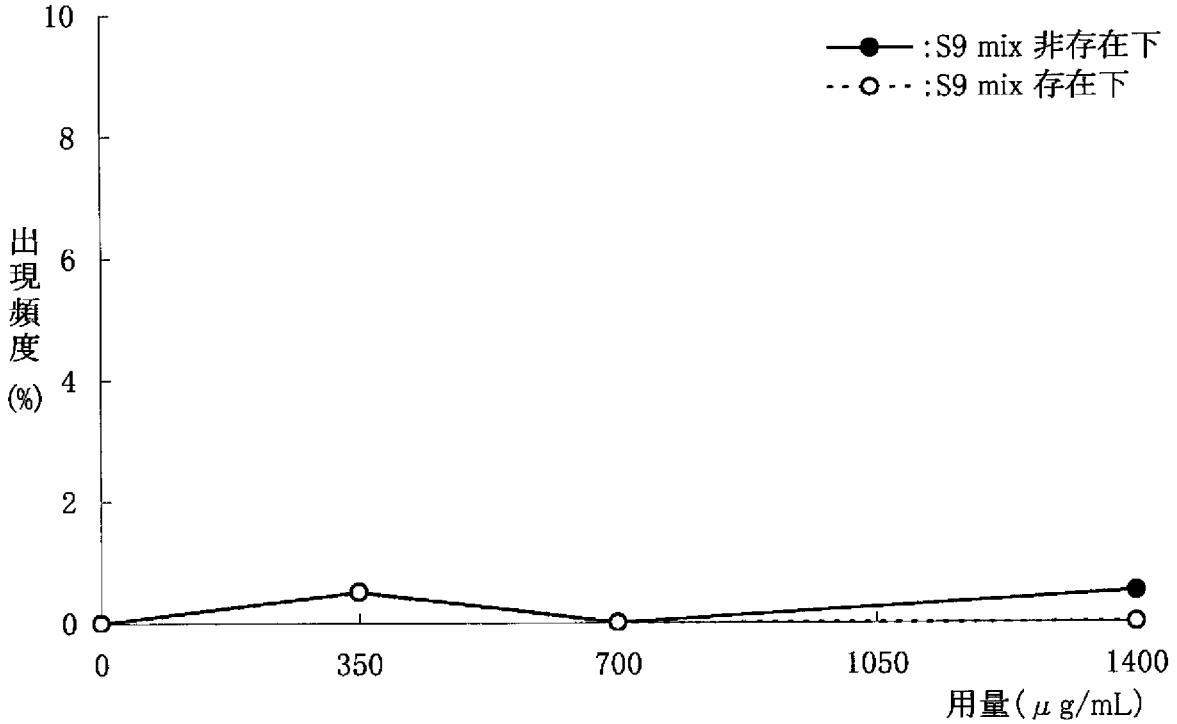


図 1　構造異常を有する細胞の出現頻度

〔短時間処理法〕



〔連続処理法〕

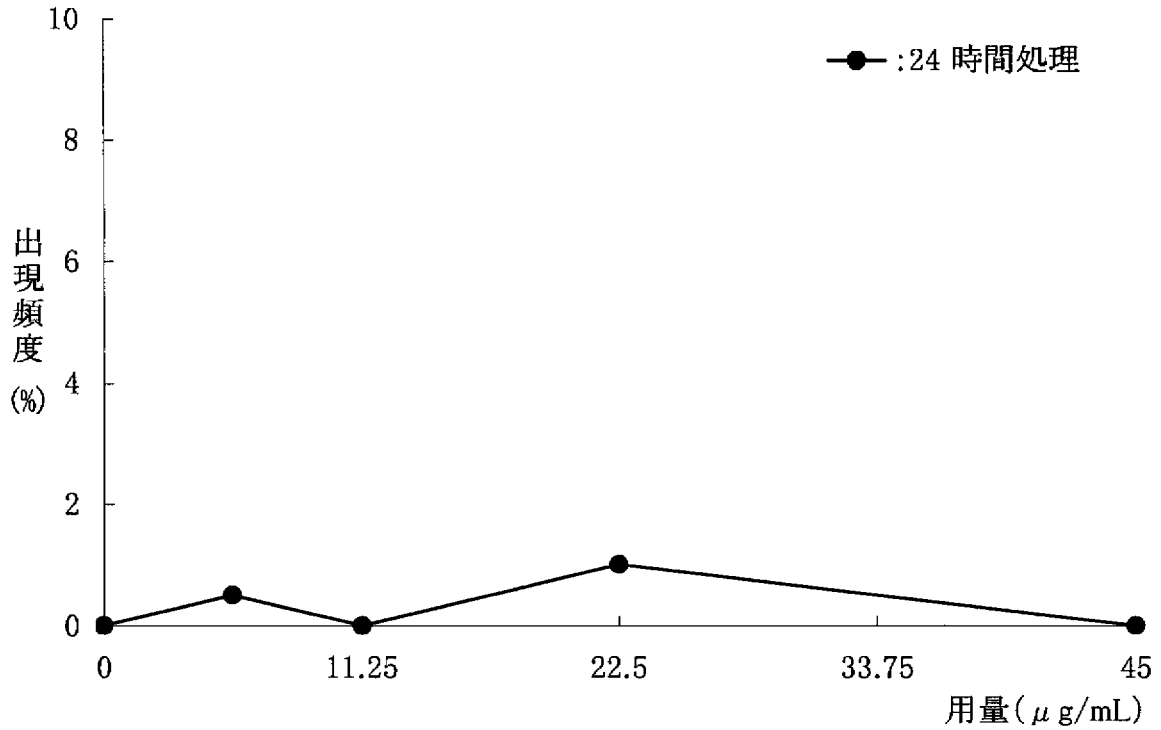


図 2　数的異常を有する細胞の出現頻度