最 終 報 告 書

硝酸カドミウム四水和物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：4797（ 115－139 ）

平成 13 年 6 月 4 日

試験委託者
厚生労働省　医薬局

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター

目 次

1. 要約 3
2. 表題 4
3. 試験目的 4

12. 被験物質 6
13. 試験材料および方法 8
14. 試験結果 15
15. 考察および結論 17
16. 参考文献 18
17. 参考とした資料 18

Figures F-1~3
Figure 1 Dose-survival curves of nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment] F-1
Figure 2 Incidence of structural aberrations induced by nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment : –S9] F-2
Figure 3 Incidence of structural aberrations induced by nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment : +S9] F-3

Tables		T-1~3
Table 1	Results of growth inhibition test on nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment]	T-1
Table 2	Chromosome aberration test on CHL cells treated with nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment : –S9]	T-2
Table 3	Chromosome aberration test on CHL cells treated with nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment : +S9]	T-3

1. 要約

本試験条件下の *in vitro* 試験系において，硝酸カドミウム四水和物は染色体異常を誘起するものと判断した.

硝酸カドミウム四水和物の変異原性について染色体異常誘発性の有無を検討するため，チャイニーズ・ハムスター肺線維芽細胞株（CHL/IU）を用いた *in vitro* 染色体異常試験を行った.
あらかじめ実施した細胞増殖抑制試験結果を基に，試験用量を設定した.
染色体異常試験では短時間処理法–S9 処理で 0.375，0.75，1.50 および 3.00 μg/mL の 4 用量，同+S9 処理で 3.00，6.00 および 12.0 μg/mL の 3 用量について顕微鏡観察を実施した.
その結果，硝酸カドミウム四水和物処理群の場合，短時間処理法の–S9 処理および+S9 処理のいずれにおいても染色体異常の出現頻度が上昇し，+S9 処理では用量に依存した明確な構造異常の誘発が見られたことから陽性反応と判断した.
また，短時間処理法–S9 処理の陽性対照物質であるマイトマイシン C（MMC）ならびに同+S9 処理の陽性対照物質シクロホスファミド（CP）は，いずれも染色体構造異常を高頻度に誘発した.

2. 表題

硝酸カドミウム四水和物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

3. 試験目的

被験物質の *in vitro* における染色体異常誘発性を検討した.

12. 被験物質

12.1.　被験物質名

硝酸カドミウム四水和物

12.2.　ロット番号

12.3.　純度／含量

99.07 wt%

12.4.　提供元

12.5.　一般名

硝酸カドミウム・四水和物

12.6.　化学名

Nitric acid cadmium salt tetra hydrate

12.7.　CAS No.

10022-68-1

12.8.　分子式

$Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$

12.9.　分子量

308.5

12.10.　物質の状態

白色針状結晶

12.11.　融点

59.4℃

12.12.　沸点

132℃

12.13.　溶解性

エタノールに可溶

水に易溶（溶解度：75%／20℃）

12.14.　安定性

吸湿性，潮解性がある.

溶媒中の安定性：通常の取り扱いにおいては安定.

12.15. 取り扱い上の注意

木，紙，油等の可燃物と混合加熱することにより着火する恐れがある．
経口において中程度の急性毒性あり．
皮膚に対し刺激性，感作性あり．

12.16. 残余被験物質の処理

被験物質の一部を保管した後，残りは被験物質提供元に返却した．

13. 試験材料および方法

13.1. 試験細胞株

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験に広く使用されていることから，試験細胞株としてチャイニーズ・ハムスターの肺由来の線維芽細胞株（CHL/IU 細胞）を選択した．

CHL/IU 細胞は昭和 59 年 11 月 15 日に国立衛生試験所（現国立医薬品食品衛生研究所）から分与を受け，一部についてはジメチルスルホキシド（DMSO：GC 用；Merck KGaA；純度 99.7%以上；Lot No. K23082678 651）を容量比で 10%添加した後，液体窒素中に保存した．試験に際しては凍結した細胞を融解した後，3～5 日ごとに継代したものを使用した．

なお，細胞増殖抑制試験で継代数 10 の細胞を，染色体異常試験では同 14 の細胞を用いた．

13.2. 培養液の調製

Eagle-MEM 液体培地（IWAKI：旭テクノグラス株式会社；Lot No. 99560004【用量設定試験】，99560005【染色体異常試験】）に，メンブランフィルター（孔径 0.45 μm：Featuring Corning and Costar Products）を用いて濾過除菌した非働化（56℃，30 分）済み仔牛血清（GIBCO Life Technologies, Inc；Lot No. 1075354【用量設定試験】，1027934【染色体異常試験】）を最終濃度で 10%になるよう添加した．調製後の培養液は使用時まで冷暗所（4℃）に保存した．

13.3. 培養条件

CO_2 インキュベーター（Forma および三洋電機メディカシステム株式会社）を用い，CO_2 濃度 5%，37℃の条件で細胞を培養した．

13.4. S9 mix

製造後 6 ヵ月以内の S9 mix（キッコーマン株式会社：Lot No. CAM-436）を試験に使用した．

13.4.1. S9 の調製方法

調製の際の動物種，性，臓器，誘導物質ならびに誘導方法等を以下に示す.

ロット番号	RAA-436
調製日	平成 12 年 12 月 1 日(誘導物質投与開始後 5 日目)
使用動物	ラット：Sprague-Dawley 系
性／週齢	雄／7 週齢
体重	210～245 g
臓器	肝臓
誘導物質投与量 および投与回数	Phenobarbital(PB)および 5,6-Benzoflavone(BF) PB：30 mg/kg 1 回（1 日目）， 60 mg/kg 3 回（2～4 日目） BF：80 mg/kg 1 回（3 日目）
投与方法	腹腔内投与
蛋白含量	25.88 mg/mL

13.4.2. S9 mix の組成

S9 mix 1 mL 中の量を以下に示す.

S9	0.3	mL
$MgCl_2$	5	μmol
KCl	33	μmol
G-6-P	5	μmol
NADP	4	μmol
HEPES 緩衝液（pH 7.2）	4	μmol

13.5. 被験物質液の調製

本被験物質は水に易溶であり，かつ水溶液中で安定であることから，被験物質を注射用水（株式会社大塚製薬工場；Lot No. K9G83）に溶解させ調製原液とした. この調製原液を使用溶媒を用いて所定濃度に順次希釈した後，速やかに処理を行った.

13.6. 対照群

13.6.1. 陰性（溶媒）対照
使用溶媒で試験した.

13.6.2. 陽性対照（短時間処理法–S9 処理）
注射用水（株式会社大塚製薬工場；Lot No. K0H76）5 mL に溶解したマイトマイシン C（MMC：協和醗酵工業株式会社；Lot No. 319AJD）を生理食塩液（日本薬局方生理食塩液：株式会社大塚製薬工場；Lot No. K9D89）を用いて希釈し，1 mL ずつ分注した後凍結保存したものを試験に用いた.
試験用量は，0.1 μg/mL とした.

13.6.3. 陽性対照（短時間処理法+S9 処理）
注射用水（Lot No. K0H76）5 mL に溶解したシクロホスファミド（CP：塩野義製薬株式会社；Lot No. 9007）を生理食塩液（Lot No. K9D89）を用いて希釈し，1 mL ずつ分注した後凍結保存したものを試験に用いた.
試験用量は 12.5 μg/mL とした.

13.7. 細胞増殖抑制試験（予備試験）

13.7.1. 試験用量
予備的な試験（8.10，27.0，90.0，300 および 1000 μg/mL の 5 用量：公比 10/3）の結果，短時間処理法–S9 および+S9 処理とも 27.0 μg/mL 以上の用量で強い細胞増殖抑制作用が観察された.
本結果を参考に，細胞増殖抑制試験の用量として下記に示した 10 用量（公比 5/3）を設定した.

試験系	用量数	試験用量 (μg/mL)
短時間処理法–S9 処理	10	0.302 ～ 30.0
短時間処理法+S9 処理	10	0.302 ～ 30.0

13.7.2. 使用ウエル数および識別
1 用量当たり 2 ウエルを用いた.
試験系および連番を明記することにより各ウエルを識別した.

13.7.3. 短時間処理法–S9 処理

12 ウエルのプレート（細胞培養用マルチプレート 12F：住友ベークライト株式会社）の各ウエルに培養液を用いて 8×10^3 細胞／mL に調製した細胞浮遊液 1 mL を播種し，3 日間培養した．培養終了後，培養液 460 μL を除いた後，溶媒あるいは被験物質液 60 μL を加えた．6 時間被験物質に暴露させた後，各ウエルの培養液を除去し，ダルベッコリン酸緩衝液（Sigma-Aldrich Japan K. K.；Lot No. 30K2398）を用いて細胞を洗浄した．新鮮な培養液 500 μL を加え，さらに 18 時間培養を続けた後に細胞生存率（陰性対照に対する比）を求めた．

13.7.4. 短時間処理法+S9 処理

各ウエルに 8×10^3 細胞／mL に調製した細胞浮遊液 1 mL を播種し，3 日間培養した．培養終了後，培養液 560 μL を除き，S9 mix を 100 μL 添加した後，溶媒あるいは被験物質液 60 μL を加えた．

以下の操作は 13.7.3.に記載の方法に準じた．

13.7.5. 50%細胞増殖抑制濃度の算出

細胞増殖抑制試験に供した各ウエルから培養液を除き，生理食塩液を用いて細胞を 1 回洗浄した．10%中性緩衝ホルマリン液（組織固定用：和光純薬工業株式会社；Lot No. ELJ8204）を加えて約 10 分間細胞を固定した後，0.1%クリスタル・バイオレット（関東化学株式会社；Lot No. 107D2074）水溶液で 10 分間染色した．各ウエルを水洗した後，乾燥させた．各ウエルに色素溶出液（30%エタノール，1%酢酸水溶液）を 3.0 mL 加え，5 分間放置した後，分光光度計（105-50 型；株式会社日立製作所）を用いて 580 nm での吸光度を測定した．陰性対照群での吸光度に対する比（＝細胞生存率）を各用量群について求め，さらにプロビット法を用いて 50%細胞増殖抑制濃度を算出した．算出には 0.302～30.0 μg/mL の 10 点（–S9 処理）および 0.840～30.0 μg/mL の 8 点（+S9 処理）を用いた．

なお，細胞生存率の平均値は各ウエルの四捨五入する以前の値から求めた．

13.8. 染色体異常試験（本試験）

13.8.1. 試験用量

細胞増殖抑制試験結果を基に，各試験系それぞれ6用量（公比2：下表参照）を本試験の用量に設定した．

試験系	試験用量 (μg/mL)					
短時間処理法–S9 処理	0.375	0.750	1.50	3.00	6.00	12.0
短時間処理法+S9 処理	0.750	1.50	3.00	6.00	12.0	24.0

下線を付した用量について染色体異常の観察を実施した．

13.8.2. 使用プレート数および識別

1用量当たり2枚のプレートを用いた．

試験系および連番を明記することにより各プレートを識別した．

13.8.3. 短時間処理法–S9 処理

直径60 mmのプレート（細胞培養用シャーレ：住友ベークライト株式会社）に8×10^3細胞／mLに調製した細胞浮遊液5 mL（4×10^4細胞）を播種し，3日間培養した．培養終了後，培養液2.3 mLを除いた後，溶媒，被験物質液あるいは陽性対照物質溶液300 μLを加えた．6時間各物質に暴露させた後，各プレートの培養液を除去し，ダルベッコリン酸緩衝液（Sigma-Aldrich Japan K. K.；Lot No. 70K2346）を用いて細胞を洗浄した．新鮮な培養液3 mLを加え，さらに18時間培養を続けた後に染色体標本を作製した．

13.8.4. 短時間処理法+S9 処理

各プレートに8×10^3細胞／mLに調製した細胞浮遊液5 mLを播種し，3日間培養した．培養終了後，培養液2.8 mLを除きS9 mixを500 μL添加した後，溶媒，被験物質液あるいは陽性対照物質溶液300 μLを加えた．以下の操作は13.8.3.に記載の方法に準じた．

13.8.5. 標本の作製

染色体標本作製の2時間前に最終濃度で0.2 μg/mLとなるようコルセミド溶液（GIBCO Life Technologies, Inc；Lot No. 1081687）を添加し，細胞分裂を中期で停止させた．次いで，培養液を遠心管に全量移した後，0.25%トリプシン溶液（GIBCO Life Technologies, Inc；Lot No. 1080325）を用いてプレートから細胞を剥離し，遠心管内の培養液に加えた．細胞懸濁液を1000 r/minで5分間遠心分離して培養液を除いた後，37℃に保温しておいた75 mmol/L塩化カリウム水溶液を5 mL加え，37℃中で16分間低張処理を行った．遠心分離により低張液を除いた後，4℃に冷却した固定液（メタノール3容：酢酸1容）で細胞を固定した．固定液を3回交換した後，新しい固定液を適量加えて細胞浮遊液とし，脱脂洗浄済みのスライドガラス上に1～2滴ずつ滴下した．スライド標本を十分乾燥させ，1/100 mol/Lナトリウム・リン酸緩衝液（pH 6.8：Merck KGaA；Lot No. TP392174 927）を用いて希釈した1.2%ギムザ染色液（Merck KGaA；Lot No. 040408362）で12分間染色した．スライドを軽く水洗した後，乾燥させた．

1プレート当たり2～3枚の染色体標本を作製した．

13.8.6. 細胞増殖抑制度の測定

染色体標本作製時に陰性対照，各被験物質処理群および陽性対照の各プレートについて，ATPフォトメーター（ルミテスターC-100LU：キッコーマン株式会社）を用いて細胞増殖に関するデータを採取した．

なお，細胞生存率の平均値は各プレートの四捨五入する以前の値から求めた．

13.8.7. 染色体の観察

各プレート当たり100個，すなわち1用量当たり200個（短時間処理法–S9の3.00 μg/mL処理では162細胞）の分裂中期像を顕微鏡下（×600）で観察し，染色体の形態的変化としてギャップ（gap），染色分体切断（ctb），染色体切断（csb），染色分体交換（cte），染色体交換（cse）およびその他（oth）の構造異常に分類した．ただし，染色分体あるいは染色体上に非染色性領域が存在し，染色体切断様の像が認められる場合，その非染色性領域が当該染色体の分体幅未満，かつ本来の位置からずれていない場合にのみギャップとして計数した．また，数的異常として1用量当たり200個（短時間処理法–S9の3.00 μg/mLでは観察不可能）の分裂中期像を観察し，倍数体等の出現数についても計数した．

全ての標本をコード化した後，マスキング法で観察した．

13.9. 結果の解析

最終評価はギャップのみ保有する細胞を含めない場合について行った.
異常細胞の出現頻度が5%未満を陰性，5%以上10%未満，かつ再現性が認められた場合に疑陽性，10%以上，かつ再現性あるいは被験物質の用量に依存性が認められた場合，陽性と判定した.
統計学的手法を用いた検定は実施しなかった.

13.10. D_{20}値ならびにTR値の算出法

D_{20}値は分裂中期像の20%にいずれかの異常を誘発するのに必要な被験物質濃度であり，最小二乗法により算出した．TR値は一定濃度（mg/mL）あたりの交換型異常（cte）出現数を示す比較値であり，染色分体交換の出現頻度（%）を被験物質濃度（mg/mL換算）で割ることにより算出した.

14. 試験結果

14.1. 細胞増殖抑制試験

14.1.1. 細胞増殖抑制試験結果

試験結果を Figure 1 および Table 1 に示した.

50%細胞増殖抑制濃度は，短時間処理法–S9 処理で 2.78 μg/mL，同+S9 処理で 6.44 μg/mL であった.

14.1.2. 析出等の観察

被験物質暴露終了時，pH の変動，析出等の特筆すべき変化は，いずれの試験用量においても観察されなかった.

14.2. 染色体異常試験

14.2.1. 短時間処理法–S9 処理

試験結果を Figure 2，Table 2 および Appendix 1 に示した.

硝酸カドミウム四水和物処理群での染色体構造異常出現頻度は 0.375 μg/mL で 0.0%, 0.750 μg/mL で 2.0%, 1.50 μg/mL で 9.5%（±）, 3.00 μg/mL で 8.6%（±）を示した．倍数性細胞の出現頻度はいずれの用量とも陰性対照と同等であった．また，試験用量に依存した細胞生存率の減少が観察され，染色体異常評価群中の高用量である 3.00 μg/mL での細胞生存率は 27.6%であった．また，同群では染色体異常の観察が可能な中期像は 162 細胞で

あった．高用量群の 6.00 および 12.0 μg/mL での生存率はそれぞれ 14.3 および 8.1%であった.

一方，陽性対照物質 MMC で処理した細胞では染色体構造異常が多数観察され，その出現頻度は 45.5%であった.

14.2.2. 短時間処理法+S9 処理

試験結果を Figure 3，Table 3 および Appendix 2 に示した.

硝酸カドミウム四水和物処理群での染色体構造異常出現頻度は 3.00 μg/mL で 2.0%，6.00 μg/mL で 15.5%（+），12.0 μg/mL で 26.0%（+）を示した. 倍数性細胞の出現頻度はいずれの用量とも陰性対照と同等であった．また，試験用量に依存した細胞生存率の減少が観察され，染色体異常評価群中の高用量である 12.0 μg/mL での細胞生存率は 27.4%であった.

高用量群の 24.0 μg/mL での生存率は 15.7%であった.

一方，陽性対照の CP 処理群での染色体構造異常出現頻度は 58.5%であった.

14.2.3. D_{20}値ならびにTR値算出結果

本染色体異常試験結果から算出したD_{20}値（mg/mL）ならびにTR値（mg当たり）は次の通りであった.

試験	試験系	異常の種類	D_{20}値	TR値
本試験	短時間処理法+S9処理	構造異常	0.0083	2333

14.2.4. 被験物質の析出等

被験物質処理終了時，pHの変動，析出等の特筆すべき変化は，いずれの試験用量においても観察されなかった.

15. 考察および結論

硝酸カドミウム四水和物の変異原性，すなわち染色体異常誘発性の有無を検討するため，培養細胞（CHL/IU）を用いた *in vitro* 染色体異常試験を実施した．

細胞増殖抑制試験結果を基に，短時間処理法–S9 処理ならびに同+S9 処理とも細胞の増殖が著しく抑制される濃度まで検討した．

その結果，硝酸カドミウム四水和物処理では短時間処理法–S9 処理で染色体構造異常の弱い誘発傾向が観察され，+S9 処理では試験用量に依存した明確な染色体構造異常の誘発が認められた．また，変異原性の強さに関する相対的比較値である D_{20} 値は 0.0083（mg/mL）および TR 値は 2333 と算出され，既知変異原性物質に比較して硝酸カドミウム四水和物の変異原性は中等度であることを示していた．

本被験物質硝酸カドミウム四水和物の変異原性に関する報告はなかった．類縁体である硫酸カドミウムは Ames 試験で陰性 [1]，CHL 細胞を用いた染色体異常試験で陽性 [2]，塩化カドミウムは Rec-assay で陽性 [2]，ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験で陰性 [2]，酢酸カドミウムは SHE 細胞を用いた細胞形質転換試験で陽性 [2]との報告がある．

なお，短時間処理法の陰性対照あるいは陽性対照での染色体異常出現頻度はいずれも当施設での背景データ（Appendix 3）の範囲内であり，本試験は適切な条件でなされたと判断された．

以上の試験結果から，本試験条件下において硝酸カドミウム四水和物のほ乳類培養細胞に対する染色体異常誘発性は陽性と判定した．

16. 参考文献

1) 労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課　監修：労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集，社団法人　日本化学物質安全・情報センター，東京，(1996).

2) 賀田恒夫，石館基　監修：環境変異原データ集 1，サイエンティスト社，東京，(1980).

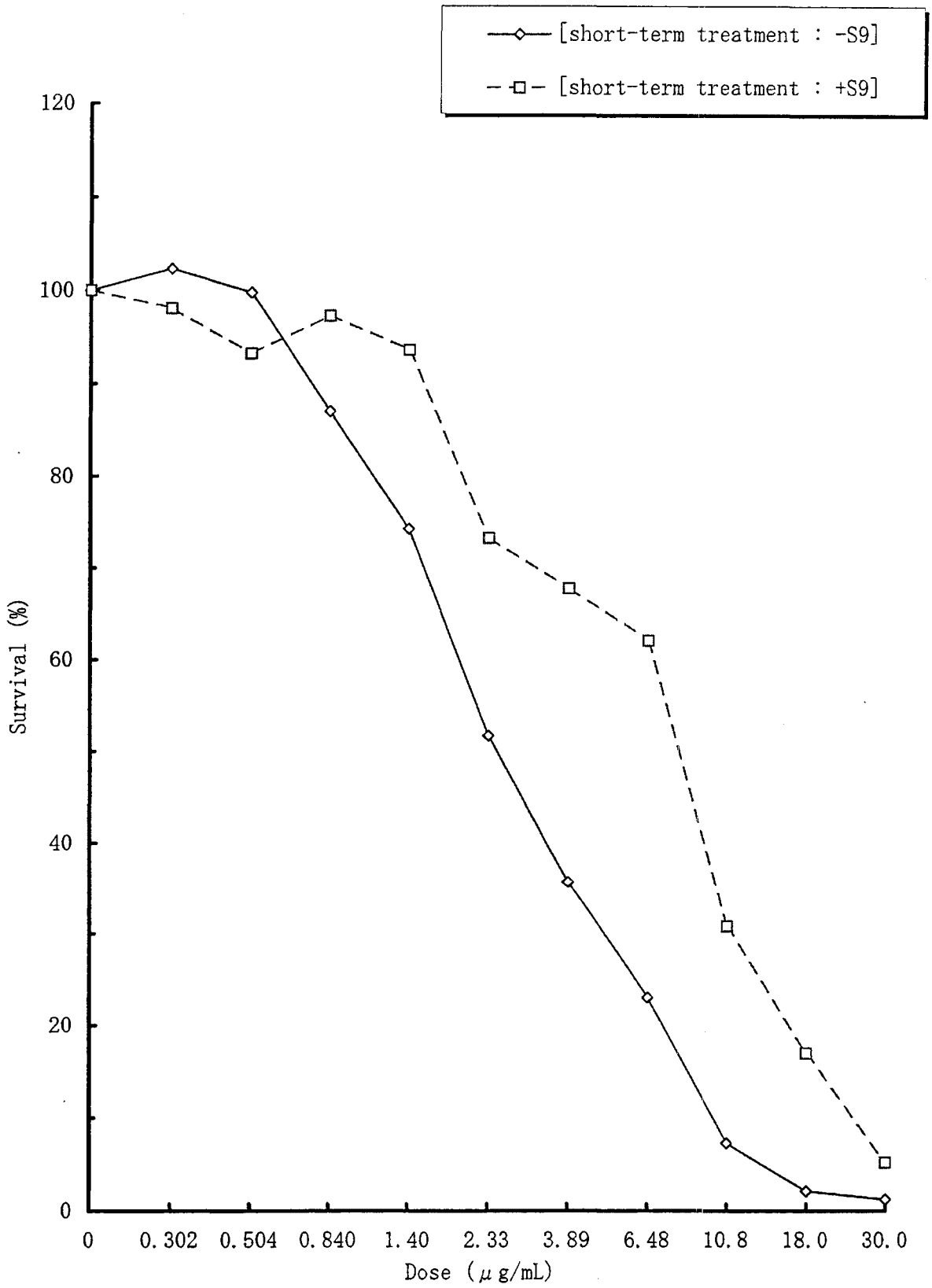

Figure 1. Dose-survival curves of nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment]

Exp. No. 4797 (115-139)

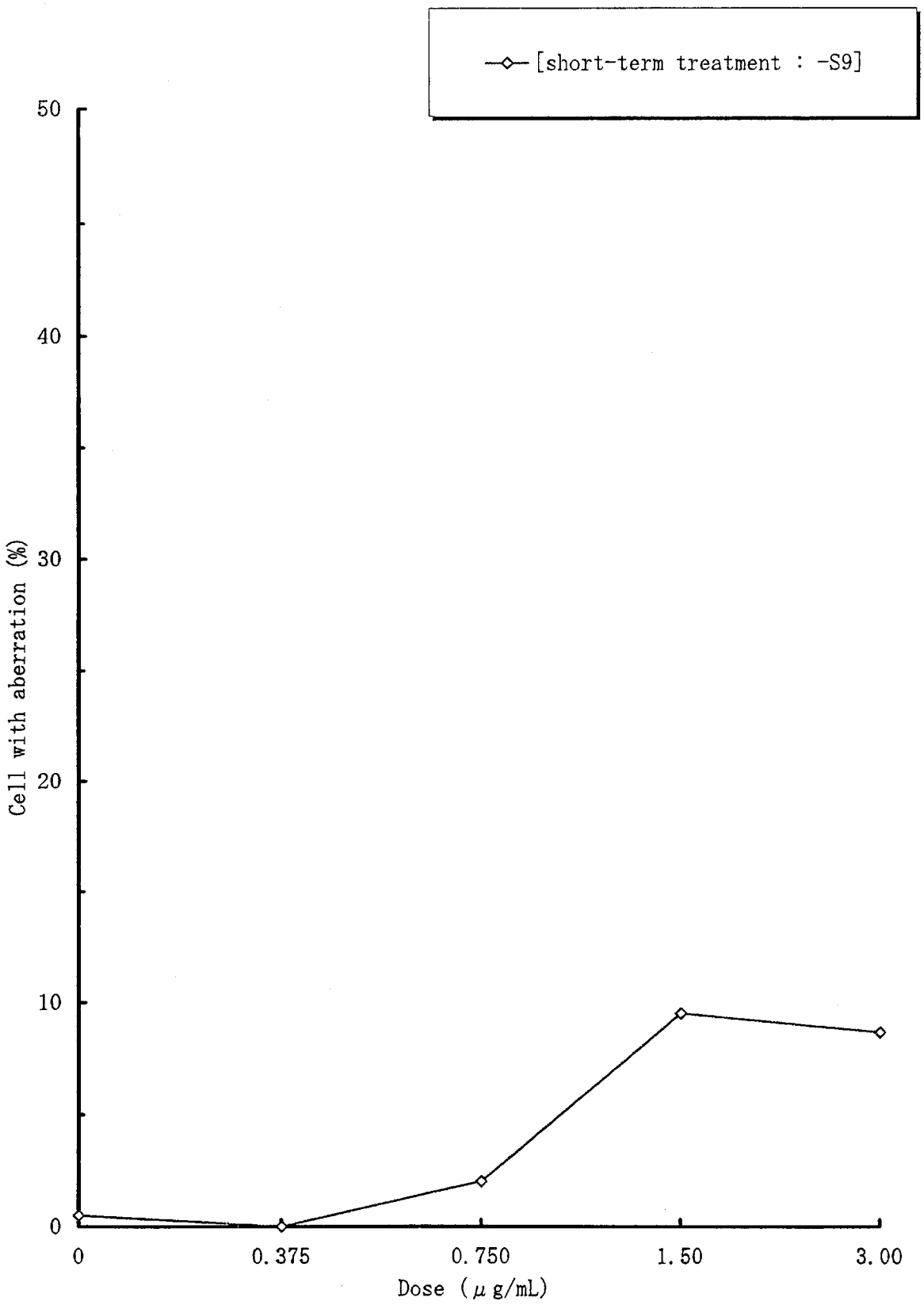

Figure 2. Incidence of structural aberrations induced by nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment:-S9]

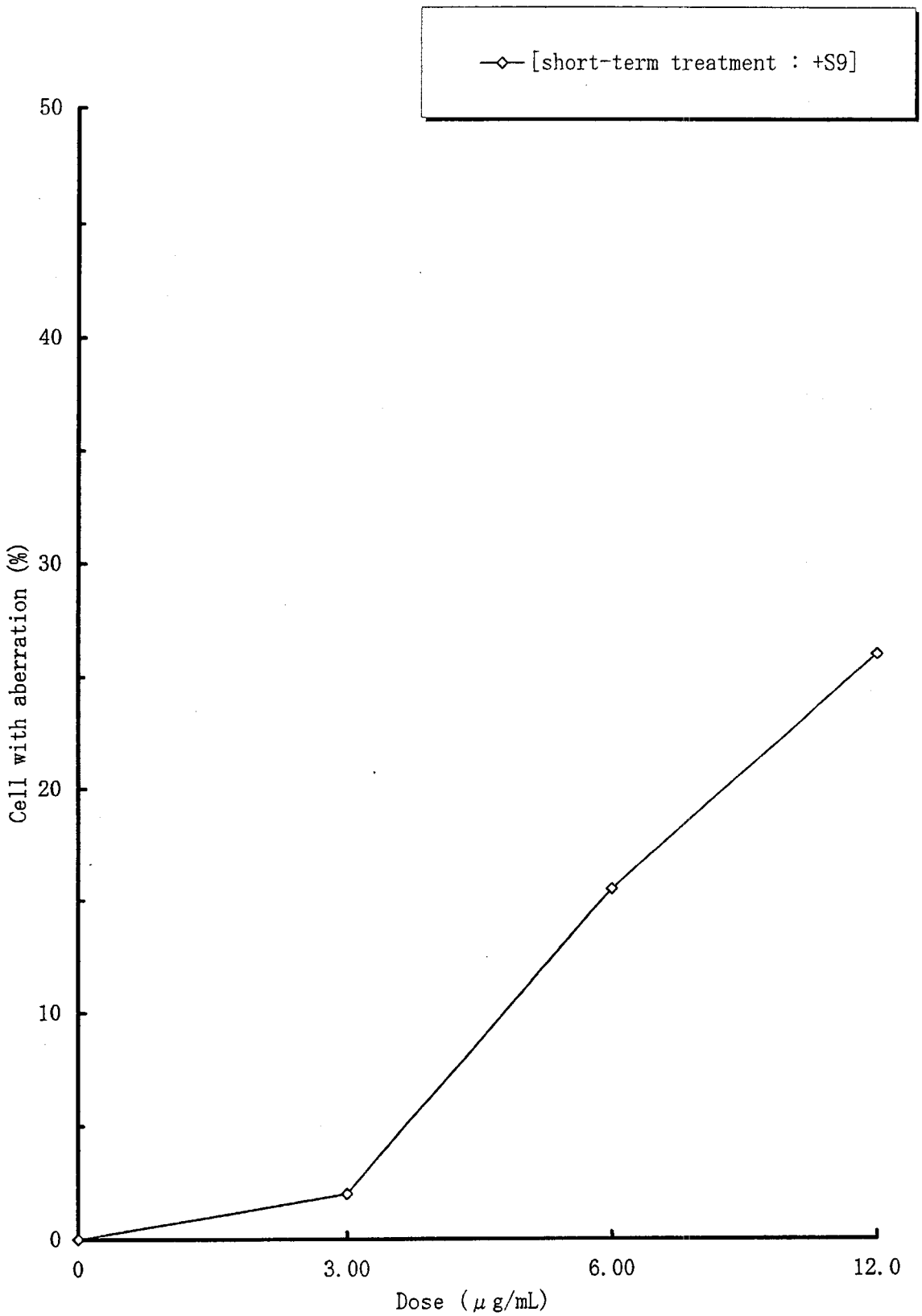

Figure 3. Incidence of structural aberrations induced by nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment:+S9]

Table 1. Results of growth inhibition test on nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment]

Exp. No. 4797 (115-139)

[short-term treatment : -S9]				[short-term treatment : +S9]			
Compound	Dose (μg/mL)	Survival (%)	[Mean]	Compound	Dose (μg/mL)	Survival (%)	[Mean]
D.W. a)	0	100.0 100.0	[100.0]	D.W. a)	0	100.0 100.0	[100.0]
Test substance	0.302	101.7 102.9	[102.3]	Test substance	0.302	99.4 96.7	[98.1]
	0.504	98.6 100.9	[99.7]		0.504	94.2 92.2	[93.2]
	0.840	86.7 87.3	[87.0]		0.840	94.7 99.8	[97.3]
	1.40	75.6 72.9	[74.3]		1.40	94.3 92.9	[93.6]
	2.33	52.1 51.4	[51.7]		2.33	74.2 72.3	[73.3]
	3.89	35.6 35.9	[35.7]		3.89	66.8 68.7	[67.8]
	6.48	22.8 23.2	[23.0]		6.48	61.6 62.6	[62.1]
	10.8	8.0 6.6	[7.3]		10.8	31.6 30.1	[30.8]
	18.0	2.2 2.1	[2.1]		18.0	16.1 17.9	[17.0]
	30.0	1.3 1.2	[1.2]		30.0	4.6 5.8	[5.2]

50% Growth inhibition dose was as follows:
[short-term treatment : -S9] ——— 2.78 (μg/mL)
[short-term treatment : +S9] ——— 6.44 (μg/mL)

a): Negative control

Table 2. Chromosome aberration test on CHL cells treated with nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment : -S9]

Exp. No. 4797 (115-139)

Compound	Dose (μg/mL)	Time of exposure (h)	Cell survival (%)	Number of cells analyzed	Number of cells with structural aberrations						Number of cells with aberrations -gap (%)	Number of polyploid cells analyzed	Number of polyploid cells (%)	Final judgement
					gap	ctb	cte	csb	cse	oth				
D.W. a)	0	6	100.0	200	2	0	0	0	1	0	1 (0.5) −	200	0 (0.0) −	−
Test substance	0.375	6	108.9	200	2	0	0	0	0	0	0 (0.0) −	200	0 (0.0) −	−
	0.750	6	101.7	200	3	2	3	0	0	0	4 (2.0) −	200	1 (0.5) −	−
	1.50	6	62.2	200	3	10	14	0	0	0	19 (9.5) ±	200	0 (0.0) −	±
	3.00	6	27.6	162	3	8	10	0	0	0	14 (8.6) ±	NE c)		±
	6.00	6	14.3	Toxic										
	12.0	6	8.1	Toxic										
MMC b)	0.1	6	56.0	200	15	48	69	1	0	0	91 (45.5) +	200	0 (0.0) −	+

Abbreviation: ctb; chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, oth: others
-gap: total number of cells with aberrations except gap
a): Negative control
b): Positive control (Mitomycin C)
c): Not examined

Table 3. Chromosome aberration test on CHL cells treated with nitric acid cadmium salt tetra hydrate [short-term treatment : +S9]

Exp. No. 4797 (115-139)

Compound	Dose (μg/mL)	Time of exposure (h)	Cell survival (%)	Number of cells analyzed	Number of cells with structural aberrations						Number of cells with aberrations -gap (%)	Number of polyploid cells analyzed	Number of polyploid cells (%)	Final judgement
					gap	ctb	cte	csb	cse	oth				
D.W. a)	0	6	100.0	200	0	0	0	0	0	0	0 (0.0) −	200	1 (0.5) −	−
Test substance	3.00	6	65.9	200	1	0	4	0	0	0	4 (2.0) −	200	1 (0.5) −	−
	6.00	6	50.2	200	4	16	28	0	0	0	31 (15.5) +	200	1 (0.5) −	+
	12.0	6	27.4	200	12	25	39	0	0	4	52 (26.0) +	200	1 (0.5) −	+
	24.0	6	15.7	Toxic										
CP b)	12.5	6	55.8	200	12	26	112	0	0	0	117 (58.5) +	200	0 (0.0) −	+

Abbreviation: ctb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, oth: others
-gap: total number of cells with aberrations except gap
a): Negative control
b): Positive control (Cyclophosphamide)