最 終 報 告 書

3－メチルフェノールのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

（試験番号：98-109）

財団法人　畜産生物科学安全研究所

目　次

要約 …… 1頁
試験目的 …… 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 …… 6
9．染色体異常試験 …… 7
1）被験物質および陽性対照物質の用量 …… 7
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 …… 9
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 …… 10

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．D_{20}値 …… 11
結論および参考事項 …… 11
参考文献 …… 12

表

表1　3－メチルフェノールの染色体異常試験結果
（短時間処理法：S9 mix 非存在下）…… 14
表2　3－メチルフェノールの染色体異常試験結果
（短時間処理法：S9 mix 存在下）…… 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

3－メチルフェノール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* における短時間処理法によ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，25～1100 μg/mL の範囲で細胞増殖抑制試験を行った。その結果，S9 mix 非存在下では 1100 μg/mL，また S9 mix 存在下では 300 μg/mL 以上の用量で 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，S9 mix 非存在下では 300，500，700，900，および 1100 μg/mL，S9 mix 存在下では 12.5，25，50，100，200 および 400 μg/mL とした。

試験の結果，S9 mix 非存在下では用量依存的な染色体構造異常細胞の増加が認められ，700 および 900 μg/mL での増加は統計学的に有意なものであった。1100 μg/mL では，細胞毒性のため観察可能な分裂中期像は認められなかった。また，S9 mix 存在下においても用量依存的な染色体構造異常細胞の増加が認められ，25 μg/mL 以上での増加は統計学的に有意なものであった。

以上の成績から，本実験条件下では，3－メチルフェノールの CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陽性と判定した。計算された D_{20} 値は，S9 mix 非存在下では 0.76 mg/mL，S9 mix 存在下では 0.098 mg/mL であった。

試 験 目 的

この試験は，３－メチルフェノール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(略号)：　３－メチルフェノール（3MP）

別名　*m*-Cresol; 3-Hydroxytoluene; *m*-Cresylic acid;

RCRA waste number U052; *m*-Toluol

ＣＡＳ番号：　108-39-4

ロット番号：

純　　度：　99.13%（平成10年10月６日分析）

〔不純物　4-Methylphenol：0.59%，残分は不明〕

入手先(製造元)：

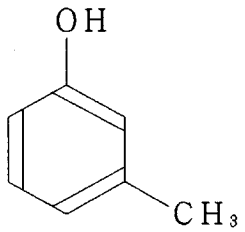
入　手　日：　平成10年10月７日

入　手　量：　250ｇ

物理化学的性状：

化 学 名　3-Methylphenol

構 造 式



分 子 式　C_7H_8O

分 子 量　108.14

性状(常温)　無色ないし淡黄色液体

融　　点　11～12℃

沸　　点　202.7℃

蒸 気 圧　10.5 Pa (20℃)

溶 解 性　水：難溶；アセトン，アルコール，ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）：易溶

安 定 性：　安定〔実験終了後，残余被験物質を　　において分析（平成11年６月16日）した結果，純度は99.12％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（４℃），密栓（窒素充塡）

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ジメチルスルホキシド（DMSO，和光純薬工業株式会社，ロット番号 ACH7185，純度 99.9％）を用いた。陽性対照物質は，連続処理法では 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine（MNNG，Aldrich Chemical Company，ロット番号 00613PN，純度 97％）を，短時間処理法では 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

被験物質は水および DMSO に可溶であるため，溶媒には DMSO を用いた。

陽性対照物質の MNNG および B[*a*]P の溶媒についても，DMSO〔和光純薬工業株式会社，ロット番号 ACH7185，純度 99.9％〕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，浮遊細胞液に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 1015566）を常法に従い調製し，これに非働化（56℃，30分間加熱処理）仔牛血清（Gibco Laboratories，ロット番号 1013320）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画分（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（用量設定試験：ロット番号 CAM-392，平成10年10月30日製造，平成10年12月３日購入，染色体異常試験：ロット番号 CAM-394，平成10年12月４日製造，平成10年12月18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 当たりの組成は，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：　211～248ｇ（CAM-392），200～239ｇ（CAM-394）

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（9,000×g）し，その上清を採取。

〔S9 mix 1 mL あたりの組成〕

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，短時間処理法の場合は 25，50，100，300，500，700，900 および 1100 μg/mL，連続処理法の場合は 12.5，25，50，100，200，300，400 および 500 μg/mL の用量を用いて，次に記載する細胞増殖抑制試験を行なった。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 DMSO に溶解して最高用量の供試液（原液）を調製した。次いで，原液の一部を DMSO で順次希釈して所定濃度の供試液を調製した。被験物質の供試液の添加量は，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 3.5 cm の円形プラスチック製シャーレ（Becton Dickinson 社）に 6×10^3 個/mL の細胞を含む培養液 2 mL を加え，培養開始３日後に S9 mix 非存在下の場合は培養液を取り替えず，DMSO（陰性対照）または被験物質の供試液各 0.01 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の培養液を取り除き，S9 mix 希釈液（S9 mix を培養液で６倍に希釈したもの）を 2 mL 加えた後，DMSO または被験物質の供試液各 0.01 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 2 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 DMSO または被験物質の供試液各 0.01 mL を加えて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，10%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，0.1 w/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。

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，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，短時間処理法においては，S9 mix 非存在下では 1100 μg/mL で，また，S9 mix 存在下では 300 μg/mL 以上の用量で 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それぞれ 900～1100 μg/mL 間および 100～300 μg/mL 間にあるものと判断された。連続処理法においては，24時間処理では 500 μg/mL 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 400～500 μg/mL 間にあるものと判断された。48時間処理では 300 μg/mL でほぼ 50%細胞増殖抑制を示し，400 μg/mL 以上の用量では 50%を上回る細胞増殖抑制が認められた。

〔短時間処理法〕

用　量	細胞増殖率（%）	
(μg/mL)	S9 mix 非存在下	S9 mix 存在下
0 （溶媒）	100　100 [100.0]	100　100 [100.0]
25	101　92 [96.5]	71　77 [74.0]
50	101　93 [97.0]	59　62 [60.5]
100	89　84 [86.5]	58　54 [56.0]
300	72　78 [75.0]	38　44 [41.0]
500	82　73 [77.5]	31　41 [36.0]
700	71　67 [69.0]	23　28 [25.5]
900	57　52 [54.5]	13　14 [13.5]
1100	8　7 [7.5]	10　8 [9.0]

[　]：平均値

〔連続処理法〕

用　量	細胞増殖率（%）	
(μg/mL)	24 時間処理	48 時間処理
0 （溶媒）	100　100 [100.0]	100　100 [100.0]
12.5	103　104 [103.5]	100　103 [101.5]
25	113　98 [105.5]	104　110 [107.0]
50	103　95 [99.0]	103　95 [99.0]
100	91　92 [91.5]	80　78 [79.0]
200	93　88 [90.5]	66　57 [61.5]
300	69　68 [68.5]	48　51 [49.5]
400	64　57 [60.5]	34　22 [28.0]
500	40　31 [35.5]	16　17 [16.5]

[　]：平均値

9．染色体異常試験（短時間処理法）

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，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事を考慮して，S9 mix 非存在下では 300，500，700，900 および 1100 μg/mL の5用量，S9 mix 存在下では 12.5，25，50，100，200 および 400 μg/mL の6用量（公比2）とした。陽性対照物質の MNNG は 2.5 μg/mL，B[*a*]P は 10 μg/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 DMSO に溶解して最高用量の供試液（原液）を調製した。次いで，原液の一部を DMSO で順次希釈し，所定濃度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。

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，DMSO，被験物質および MNNG の各供試液のそれぞれ 0.015 mL を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 DMSO，被験物質および B[*a*]P の各供試液のそれぞれ 0.015 mL を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。

4) 試験群の構成および使用シャーレ数

〔S9 mix 非存在下〕

用量（μg/mL）	使用シャーレ数
0 （陰性対照）[a]	4
300	4
500	4
700	4
900	4
1100	4
2.5（陽性対照）[b]	2

a : DMSO，b : MNNG，使用シャーレ総数 : 26

〔S9 mix 存在下〕

用量（μg/mL）	使用シャーレ数
0 （陰性対照）[a]	4
12.5	4
25	4
50	4
100	4
200	4
400	4
10 （陽性対照）[b]	2

a : DMSO，b : B[*a*]P，使用シャーレ総数 : 30

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 1010169）を最終濃度として 0.2 μg/mL となるように添加した。培養終了後，培養液を取り除き，0.2%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，1000 rpm，5分間遠心分離した。上清を捨て，細胞沈渣に低張液の 75 mM 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。1000 rpm 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か所に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（pH 6.8，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，10%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，0.1 w/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，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，かつ用量依存性あるいは再現性が認められた場合，陽性と判定した。

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に示した。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 1.5%であったが，被験物質群では 300，500，700 および 900 μg/mL でそれぞれ 2.0，4.0，20.0 および 27.5%と用量依存的な増加が認められ，700 および 900 μg/mL の増加は陰性対照群と比較して統計学的に有意なものであった。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は，陰性対照群では認められなかった。被験物質群では 0～2.0%の範囲の出現頻度で認められたが，陰性対照群との間に有意差はなかった。また，陽性対照群においては 0.5%の低い出現頻度であった。

なお，1100 μg/mL においては，細胞毒性のため観察可能な分裂中期像が認められなかった。

2．染色体異常試験（短時間処理法：S9 mix 存在下）

結果は表２に示した。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 0.5%であったのに対し，被験物質群では，12.5，25，50，100，200 および 400 μg/mL でそれぞれ 1.0，10.5，21.5，17.5，24.0 および 30.5%と用量依存的な増加が認められ，25

μg/mL 以上での増加は統計学的に有意なものであった。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 37.5%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，陰性対照群では 0.5%の低い出現頻度で認められ，また，被験物質群においても 0～1.0%の範囲の低い出現頻度であった。陽性対照群では認められなかった。

3．D_{20}値[4)]

短時間処理法 S9 mix 非存在および存在下において，陽性値を示す染色体異常細胞の増加が認められたため，D_{20}値〔分裂中期像の20%に異常を誘発させるために必要な被験物質の推定用量（mg/mL)〕を算出した。

その結果は次表に示したとおりであり，S9 mix 非存在および存在下の構造異常に関するD_{20}値は，いずれもS値が小さい方の 0.76 mg/mL および 0.098 mg/mL を採用した。

短時間処理法	回帰曲線	D_{20}値 (μg/mL)	S値 $\left(S=\frac{D_{20}}{r}\times\frac{1}{n^2}\right)$
〔構造異常〕			
S9 mix 非存在下	y=0.0306353x-3.70493(r=0.893645)	773.779	34.6348
	y=40.8588x-97.6313(r=0.890968)	756.781	33.9757
S9 mix 存在下	y=0.066015x+7.64474(r=0.826113)	187.158	4.62353
	y=16.9656x-13.7526(r=0.957728)	97.605	2.07986

S値：対象となったD_{20}値のうち，相関係数ｒが大きく，陰性対照群を含む群数ｎが多いものほどより妥当性が高いとする考えに基づく指標

結論および参考事項

3－メチルフェノールの変異原性については，*Allium cepa*（タマネギ）を用いた染色体異常試験で陽性[5)]，*Salmonella typhimurium* TA100，TA1535，TA98，TA1537 を用いた復帰突然変異試験で陰性[6)]，培養ヒト線維芽細胞およびマウス骨髄細胞を用いた姉妹染色分体交換（SCE）試験で陰性[7)]との報告があるが，ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験に関する報告は見当た

らない。

3－メチルフェノールの異性体である4－メチルフェノールの変異原性についても，上記文献の各試験で同様の結果が報告されている[5, 6, 7]。また，2－メチルフェノールについては培養ヒト線維芽細胞を用いた SCE 試験において，高用量でのみ姉妹染色分体交換の頻度がわずかではあるが統計学的に有意に増加したと報告されており[7]，これ以外の試験では3－メチルフェノールおよび4－メチルフェノールと同様の結果が報告されている[5, 6, 7]。また，3－メチルフェノールのその他の類縁化合物については，3－メチル－4－ニトロフェノールは，*S. typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験で陰性[8]，CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験で陽性[9]と報告されている。

そこで，今回3－メチルフェノールの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ともに，染色体構造異常細胞の用量依存的，かつ有意な増加が認められた。

したがって，本実験条件下では，3－メチルフェノールの CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陽性と判定した。短時間処理法において陽性結果が得られたため，連続処理法による試験は行わなかった。本被験物質のD_{20}値は，S9 mix 非存在下では 0.76 mg/mL，S9 mix 存在下では 0.098 mg/mL であった。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 10%以上を陽性とする生物学的判断基準[10]からみても，明らかな陽性と判断されるものであった。

参考文献

1) Ishidate, M. Jr. and Odashima, S. (1977). Chromosome tests with 134 componuds 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 test 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) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室　監修，“化審法毒性試験法の解説　改定版”化学工業日報社，東京，1992，pp.51-52.

5) 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，p111.

6) Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K., Speck, W. and Zeiger, E. (1983). *Salmonella* mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environmental Mutagenesis*, **5**, 3-142.

7) Cheng, M. and Kligerman, A.D. (1984). Evaluation of the genotoxicity of cresols using sister-chromatid exchange (SCE). *Mutation Research*, **137**, 51-55.

8) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室　監修，“化学物質毒性試験報告 Vol.2”化学物質点検推進委員会，東京，1995，pp.153-166.

9) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室　監修，“化学物質毒性試験報告 Vol.2”化学物質点検推進委員会，東京，1995，pp.167-170.

10) 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.

表1　　3－メチルフェノールの染色体異常試験結果（短時間処理法：S9 mix 非存在下）

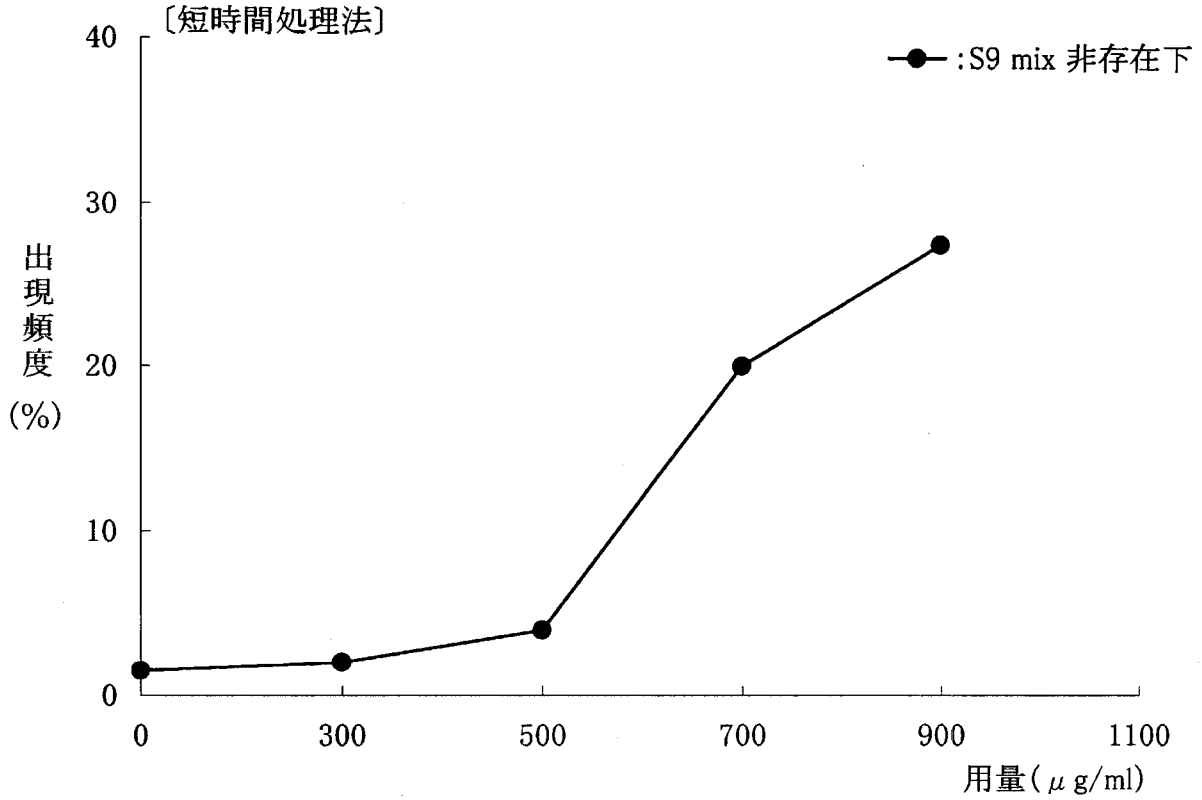
被験物質の用量（μg/mL）	染色体構造異常の細胞数（%）							ギャップの出現数（%）	染色体の数的異常の細胞数（%）				細胞増殖率（%）
	観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常細胞数		観察細胞数	倍数体	その他	総異常細胞数	
陰性対照（DMSO）	100	2	0	0	0	0	2	0	100	0	0	0	
	100	0	0	0	1	0	1	0	100	0	0	0	
0	200	2(1.0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	3(1.5)	0(0)	200	0(0)	0(0)	0(0)	100.0
300	100	0	0	0	0	0	0	2	100	1	0	1	
	100	2	2	0	0	0	4	0	100	1	0	1	
	200	2(1.0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(2.0)	2(1.0)	200	2(1.0)	0(0)	2(1.0)	96.5
500	100	0	5	0	1	0	6	0	100	1	0	1	
	100	1	2	0	0	0	2	0	100	2	0	2	
	200	1(0.5)	7(3.5)	0(0)	1(0.5)	0(0)	8(4.0)	0(0)	200	3(1.5)	0(0)	3(1.5)	83.5
700	100	6	16	1	2	0	18	1	100	2	0	2	
	100	5	22	0	0	0	22	1	100	2	0	2	
	200	11(5.5)	38(19.0)	1(0.5)	2(1.0)	0(0)	40(20.0)**	2(1.0)	200	4(2.0)	0(0)	4(2.0)	84.5
900	100	9	27	0	0	0	30	1	100	0	0	0	
	100	8	25	0	0	0	25	0	100	0	0	0	
	200	17(8.5)	52(26.0)	0(0)	0(0)	0(0)	55(27.5)**	1(0.5)	200	0(0)	0(0)	0(0)	74.0
1100#	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	23.0
陽性対照（MNNG）	100	42	94	2	1	0	95	3	100	1	0	1	
	100	39	96	0	0	0	96	3	100	0	0	0	
2.5	200	81(40.5)	190(95.0)	2(1.0)	1(0.5)	0(0)	191(95.5)**	6(3.0)	200	1(0.5)	0(0)	1(0.5)	--

#：細胞毒性のため，観察可能な分裂中期像なし．
DMSO：Dimethyl sulfoxide.　　MNNG：1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.　　**：$p<0.01$.

表2　　3－メチルフェノールの染色体異常試験結果（短時間処理法：S9 mix 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（%）	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	細胞増殖率（%）
陰性対照（DMSO）	100	1	0	0	1	0	1	1	100	0	0	0	
	100	0	0	0	0	0	0	0	100	1	0	1	
0	200	1(0.5)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	1(0.5)	1(0.5)	200	1(0.5)	0(0)	1(0.5)	100.0
12.5	100	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	
	100	0	2	0	0	0	2	0	100	0	0	0	
	200	0(0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	0(0)	200	0(0)	0(0)	0(0)	73.5
25	100	3	9	0	0	0	10	1	100	1	0	1	
	100	3	10	0	0	0	11	0	100	0	0	0	
	200	6(3.0)	19(9.5)	0(0)	0(0)	0(0)	21(10.5)**	1(0.5)	200	1(0.5)	0(0)	1(0.5)	55.5
50	100	11	19	0	0	0	20	0	100	0	0	0	
	100	9	22	0	0	0	23	2	100	1	0	1	
	200	20(10.0)	41(20.5)	0(0)	0(0)	0(0)	43(21.5)**	2(1.0)	200	1(0.5)	0(0)	1(0.5)	61.0
100	100	9	15	0	0	0	16	0	100	0	0	0	
	100	6	18	0	0	0	19	0	100	0	0	0	
	200	15(7.5)	33(16.5)	0(0)	0(0)	0(0)	35(17.5)**	0(0)	200	0(0)	0(0)	0(0)	56.5
200	100	10	23	0	0	0	28	2	100	2	0	2	
	100	9	17	2	0	0	20	0	100	0	0	0	
	200	19(9.5)	40(20.0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	48(24.0)**	2(1.0)	200	2(1.0)	0(0)	2(1.0)	49.5
400	100	18	31	0	0	0	33	0	100	0	0	0	
	100	5	25	1	0	0	28	3	100	0	0	0	
	200	23(11.5)	56(28.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	61(30.5)**	3(1.5)	200	0(0)	0(0)	0(0)	38.5
陽性対照（B[a]P）	100	8	28	0	0	0	33	0	100	0	0	0	
	100	13	36	0	1	0	42	1	100	0	0	0	
10	200	21(10.5)	64(32.0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	75(37.5)**	1(0.5)	200	0(0)	0(0)	0(0)	--

DMSO：Dimethyl sulfoxide.　　B[a]P：3,4-Benzo[a]pyrene.　　** ：p<0.01.



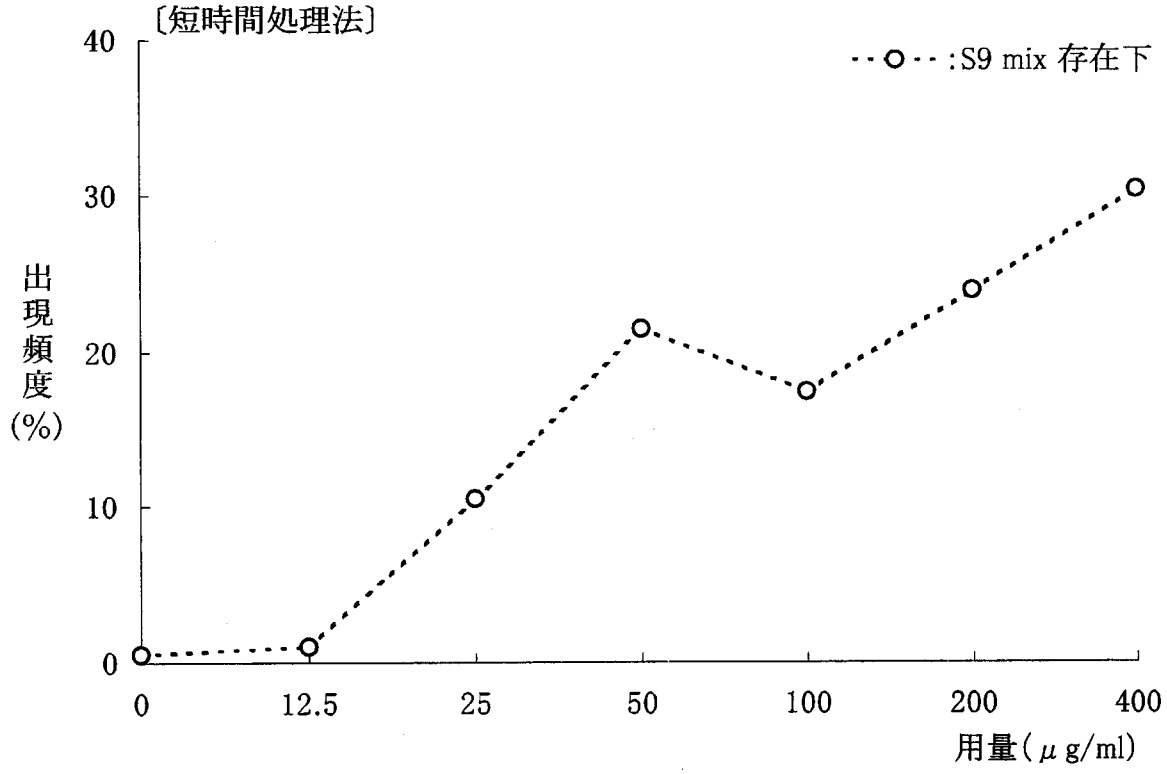
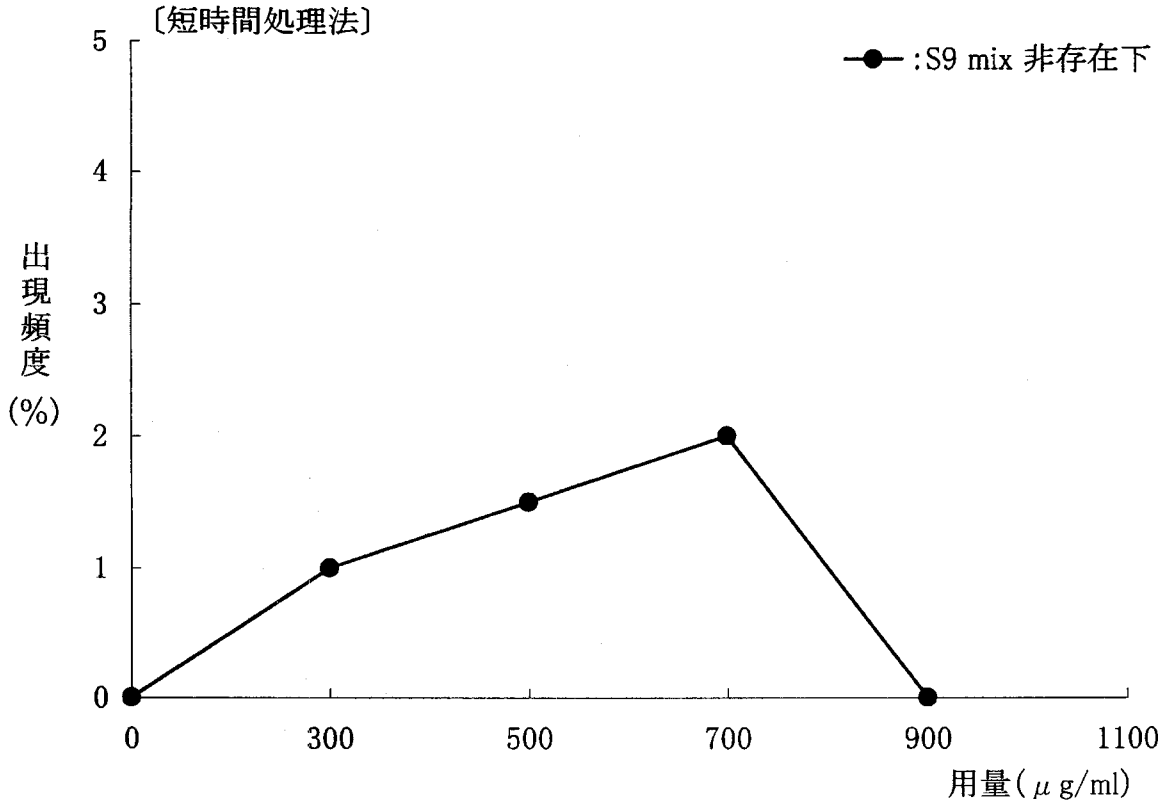


図 1　　構造異常を有する細胞の出現頻度



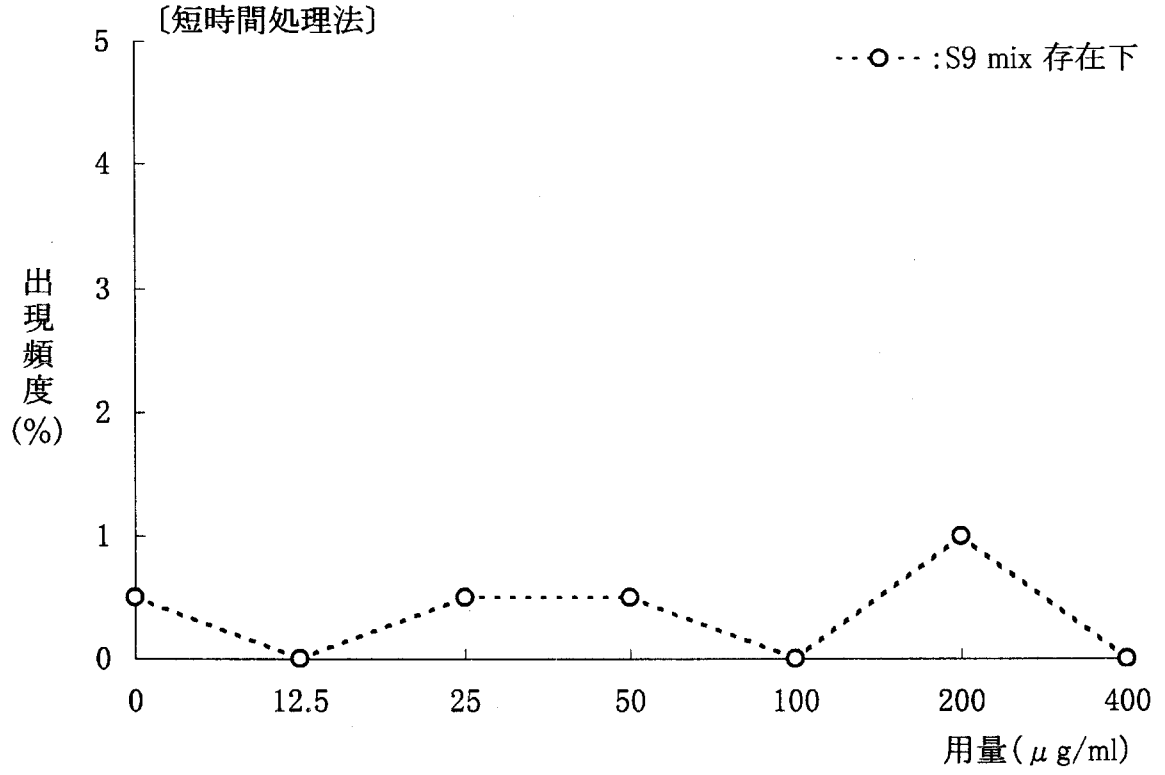


図 2　　数的異常を有する細胞の出現頻度