

最終報告書

表題：2,6-ナフタレンジカルボン酸の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：SR14251

株式会社化合物安全性研究所

試験責任者の署名

表題：2,6-ナフタレンジカルボン酸の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：SR14251

株式会社化合物安全性研究所

試験責任者



2015 年 3 月 23 日

信頼性保証書

表題 : 2,6-ナフタレンジカルボン酸の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験
 試験番号 : SR14251

本試験は、株式会社化合物安全性研究所 QAU によって、下記のとおり査察された。

査察段階	査察日	試験責任者 への報告日	運営管理者 への報告日
試験計画書	2015 年 1 月 7 日	2015 年 1 月 7 日	2015 年 1 月 7 日
被験物質の受入・表示・保存	2015 年 1 月 7 日	2015 年 1 月 7 日	2015 年 1 月 7 日
試験計画書変更書 (No.1)	2015 年 1 月 13 日	2015 年 1 月 13 日	2015 年 1 月 13 日
被験物質調製液の調製	2015 年 2 月 12 日	2015 年 2 月 12 日	2015 年 2 月 12 日
試験の実施	2015 年 2 月 12 日	2015 年 2 月 12 日	2015 年 2 月 12 日
標本作製	2015 年 2 月 13 日 2015 年 2 月 16 日	2015 年 2 月 16 日	2015 年 2 月 16 日
観察	2015 年 2 月 18 日	2015 年 2 月 18 日	2015 年 2 月 18 日
生データ	2015 年 3 月 6 日	2015 年 3 月 6 日	2015 年 3 月 6 日
最終報告書 (草案) : 図表	2015 年 3 月 6 日	2015 年 3 月 6 日	2015 年 3 月 6 日
最終報告書 (草案) : 本文	2015 年 3 月 6 日	2015 年 3 月 6 日	2015 年 3 月 6 日
最終報告書	2015 年 3 月 23 日	2015 年 3 月 23 日	2015 年 3 月 23 日

本試験は、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 23 年 3 月 31 日 薬食発 0331 第 8 号・平成 23・03・29 製局第 6 号・環保企発第 110331010 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知) に従い実施された。

本試験は、試験計画書に従って実施され、また、本報告書には当該試験に使用した方法および手順が正確に記載されており、試験成績には当該試験の実施過程において得られた生データが正確に反映していることを確認した。

株式会社化合物安全性研究所

QAU 責任者



2015 年 3 月 23 日

目次	頁
表紙	1
試験責任者の署名	2
信頼性保証書	3
目次	4
表題	6
試験番号	6
試験目的	6
試験実施基準および試験法ガイドライン	6
試験委託者	6
試験施設	6
試験責任者	6
試験従事者およびその業務分担	7
試験日程	7
1 要約	8
2 緒言	9
3 材料および方法	9
4 成績	19
5 考察	20
6 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	21
7 参考文献	21
8 資料の保存	22

表および図

表 1	2,6-ナフタレンジカルボン酸の細胞増殖抑制試験の結果 (予備試験) (SR14251)	23
表 2	2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験・細胞増殖率測定の結果 (本試験) (SR14251)	24
表 3	2,6-ナフタレンジカルボン酸処理における培養液 pH 測定の結果 (予備試験) (SR14251)	25
表 4	2,6-ナフタレンジカルボン酸処理における培養液 pH 測定の結果 (本試験) (SR14251)	25

表 5-1	2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験の結果 (S9 mix-, 6-18 h) (SR14251)	26
表 5-2	2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験の結果 (S9 mix+, 6-18 h) (SR14251)	27
表 5-3	2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験の結果 (S9 mix-, 24-0 h) (SR14251)	28
図 1	2,6-ナフタレンジカルボン酸の細胞増殖率の結果 (S9 mix-, 6-18 h) (SR14251)	29
図 2	2,6-ナフタレンジカルボン酸の細胞増殖率の結果 (S9 mix+, 6-18 h) (SR14251)	30
図 3	2,6-ナフタレンジカルボン酸の細胞増殖率の結果 (S9 mix-, 24-0 h) (SR14251)	31
図 4	2,6-ナフタレンジカルボン酸の異常出現頻度 (S9 mix-, 6-18 h) (SR14251)	32
図 5	2,6-ナフタレンジカルボン酸の異常出現頻度 (S9 mix+, 6-18 h) (SR14251)	33
図 6	2,6-ナフタレンジカルボン酸の異常出現頻度 (S9 mix-, 24-0 h) (SR14251)	34

表題

2,6-ナフタレンジカルボン酸の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号

SR14251

試験目的

チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) を用いて2,6-ナフタレンジカルボン酸の *in vitro* における染色体異常誘発性の有無を検討した。

試験実施基準および試験法ガイドライン

試験実施基準 (GLP) : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」 (平成 23 年 3 月 31 日薬食発 0331 第 8 号・平成 23・03・29 製局第 6 号・環境企発第 110331010 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)

試験法ガイドライン : 「新規化学物質等に係る試験の方法について」 (平成 23 年 3 月 31 日薬食発 0331 第 7 号・平成 23・03・29 製局第 5 号・環境企発第 110331009 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)

試験委託者

名称 : 厚生労働省 医薬食品局
所在地 : 東京都千代田区霞が関 1-2-2 (〒100-8916)
連絡先 : 審査管理課 化学物質安全対策室

試験施設

名称 : 株式会社化合物安全性研究所
所在地 : 札幌市清田区真栄 363 番 24 (〒004-0839)
運営管理者 

試験責任者

氏名 
所属 : 株式会社化合物安全性研究所 安全性研究部

試験従事者およびその業務分担

被験物質管理 :

試験操作・観察 :

試験日程

試験開始日 : 2015 年 1 月 7 日

実験開始日 : 2015 年 1 月 26 日

予備試験

被験物質処理開始 : 2015 年 1 月 29 日

細胞増殖率の測定 : 2015 年 1 月 30 日

本試験

被験物質処理開始 : 2015 年 2 月 12 日

標本作製 : 2015 年 2 月 13 日

標本観察終了日 : 2015 年 2 月 24 日

実験終了日 : 2015 年 2 月 24 日

試験終了日 : 2015 年 3 月 23 日

1 要約

チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) を用いて、2,6-ナフタレンジカルボン酸の *in vitro* における染色体異常誘発性の有無を検討した。試験は、短時間処理法 -S9 処理、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の 3 試験系列で実施した。

予備試験 (細胞増殖抑制試験：被験物質の用量；17.2, 34.4, 68.8, 138, 275, 550, 1100 および 2200 µg/mL) の結果、いずれの試験系列においても 550 および 1100 µg/mL の用量では処理開始時に、2200 µg/mL の用量で処理開始時および終了時に被験物質の析出が観察された。培養液 pH への影響は、各試験系列ともに 550 µg/mL の用量では処理開始時に、1100 および 2200 µg/mL の用量では処理開始時および終了時に pH の低下が認められた。細胞増殖率は、いずれの試験系列においても最高用量の 2200 µg/mL では 60%程度まで細胞増殖率の低下が認められたもののいずれの用量においても 50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。

本試験 (染色体異常試験) は、予備試験の結果に基づき、いずれの試験系列においても 275, 550, 1100, 1650 および 2200 µg/mL の用量を設定した。

細胞増殖率の測定結果より、いずれの試験系列においても 1100, 1650 および 2200 µg/mL を選択して、標本観察を実施した。その結果、染色体の構造異常および数的異常の出現率は、各試験系列のいずれの用量においても 5%未満であり、結果は陰性であった。また、各試験系列の細胞増殖への影響、被験物質調製液処理による析出および培養液 pH への影響は、予備試験の結果と一致するもので再現性が確認された。

陽性対照群における染色体の構造異常の出現率は各試験系列において明確な陽性値を示し、本試験系が適切な感度を有していたことが確認された。

以上のことから、2,6-ナフタレンジカルボン酸は、当該試験条件において哺乳類の培養細胞に対し染色体異常誘発性を有しないと判断した。

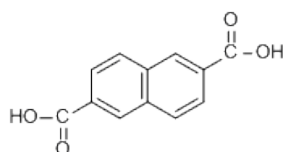
2 緒言

チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) を用いて、2,6-ナフタレンジカルボン酸の *in vitro* における染色体異常誘発性の有無を検討した。

3 材料および方法

3.1 被験物質

名称	: 2,6-ナフタレンジカルボン酸
英名 ¹⁾	: 2,6-Naphthalenedicarboxylic Acid
別名 ²⁾	: 2,6-Naphthalic Acid
CAS 番号	: 1141-38-4
官報公示整理番号 (化審法) ¹⁾	: (4)-402
構造式 ³⁾	:



化学式 ¹⁾	: C ₁₂ H ₈ O ₄
分子量 ²⁾	: 216.19
物理化学的性質	: 白色 ~ わずかにうすい黄色, 結晶 ~ 粉末 ¹⁾ 融点・凝固点; >300°C ⁴⁾ 溶解度; 水に不溶, アルコール類に難溶, N,N-ジメチルホルムアミドに可溶 ⁴⁾ . 試験施設において, 水, ジメチルスルホキシドおよびアセトンを用いて調製確認を行った. 確認内容を, 3.2.1 陰性対照物質 (媒体) の選択理由に記載した.
ロット番号	: J82SE
純度 ⁵⁾	: 99.7% (GC), 99.6% (中和滴定)
製造業者	
入手日	: 2014 年 10 月 20 日
入手量	: 100 g (関連試験と共用)
安定性	: 関連試験を含めた試験操作終了後, 被験物質の一部を東京化成工業株式会社に送付し分析を依頼した. 分析の結果, 得られた純度は 99.9% (GC) および 100.3% (中和滴定) であり (報告書, 整理 No. Z0062, 2015 年 2 月 21 日), 被験物質は試験期間中, 安定であったことが確認された.

保存条件 : 冷蔵[1 ~ 10°C : 実測範囲 5.0 ~ 9.4°C (被験物質保存室), 3.9 ~ 7.5°C (変異原性試験室)], 暗所, 気密

保存場所および保存期間 : 被験物質保存室 [2014 年 10 月 20 日 (入手) ~ 2015 年 1 月 13 日] および変異原性試験室 [2015 年 1 月 13 日 ~ 2015 年 2 月 12 日 (本試験 被験物質処理)]

取扱上の注意 : マスク, 手袋および保護メガネを着用した

残余被験物質の処置 : 試験操作終了後, 焼却処分するために, 産業廃棄物として回収した.

3.2 対照物質およびその調製

3.2.1 陰性対照物質

名称 : ジメチルスルホキシド (以下, DMSO と略す)

ロット番号 : EU020

グレード : 紫外吸収スペクトル用純溶媒

純度 : 100.0%

製造者 : 株式会社同仁化学研究所

陰性対照物質 (媒体)の選択理由 :

試験施設において被験物質の調製確認を行った結果, 日本薬局方注射用水には 50 mg/mL で溶解せず, 均一に懸濁もしなかった. アセトンには 220 mg/mL および 50 mg/mL で均一に懸濁するが, すぐに沈殿が生じた. 一方, DMSO には 220 mg/mL で均一に懸濁し, 50 mg/mL で溶解した. いずれの調製液においても発熱, 発泡, 変色は認められなかった. 従って, 本被験物質の媒体 (陰性対照物質) には DMSO を選択した.

3.2.2 陽性対照物質

3.2.2.1 短時間処理法 -S9 処理および連続処理法 24 時間処理

名称 : マイトマイシン C (以下, MMC と略す)

ロット番号 : 566ABB

含量 : 100.6%

使用期限 : 2016 年 2 月

製造者 : 協和発酵キリン株式会社

調製方法 : MMC 2mg の入ったバイアル瓶に日本薬局方注射用水 (ロット番号 ; K3I73, 株式会社大塚製薬工場) 5 mL を加え溶解した後, 日本

薬局方生理食塩液 (ロット番号 ; K2K84, 株式会社大塚製薬工場)
を用いて希釈し5および10 µg/mLの濃度に調製した (調製日:2014
年7月30日) . 調製の際には1 mg (力価) を1 mgとして換算した.

保存条件 : -20°C 以下で 0.3mL ずつ分注凍結保存した.
使用期限 : 2015 年 7 月 29 日 (調製後 1 年)
調製液の添加容量 : プレート内の液に対し 1 vol%の割合で添加した.

3.2.2.2 短時間処理法 +S9 処理

名称 : 3,4-ベンゾピレン (以下, BP と略す)
ロット番号 : 2IGMD
純度 : 98.6%
使用期限 : 2017 年 12 月 (購入後 5 年)
製造者 : 東京化成工業株式会社
調製方法 : BP 31 mg を DMSO (ロット番号 ; EU020, 株式会社同仁化学研究所)
3.1 mL に溶解し, これをさらに DMSO を用いて 10 倍希釈し, 1
mg/mL の濃度に調製した (調製日 : 2014 年 7 月 30 日) . 調製の
際には含量の補正は行わなかった.
保存条件 : -20°C 以下で 0.3mL ずつ分注凍結保存した.
使用期限 : 2015 年 7 月 29 日 (調製後 1 年)
調製液の添加容量 : プレート内の液に対し 1 vol%の割合で添加した.

3.3 被験物質調製液の調製

調製方法 : 予備試験では, 被験物質を 440.0mg 秤量した. 適量の DMSO を加えタ
ッチミキサー攪拌により懸濁した後, 2mL に定溶し, 最高濃度調製液
(220 mg/mL) とした. 最高濃度調製液の一部を, DMSO を用いて以下公
比 2 で段階希釈して 110, 55, 27.5, 13.8, 6.88, 3.44 および 1.72 mg/mL
を調製した.
本試験では, 被験物質を 1100.0 mg 秤量した. 適量の DMSO を加えタ
ッチミキサー攪拌により懸濁した後, 5 mL に定溶し, 最高濃度調製液
(220 mg/mL) とした. 最高濃度調製液の一部を, DMSO を用いて以下段
階希釈して 165, 110, 55 および 27.5 mg/mL を調製した.
調製頻度 : 被験物質調製液は用時に調製し, 予備試験では調製後 40 分以内, 本試
験では調製後 50 分以内に使用した.
調製液の添加容量 : プレート内の液に対し 1vol%の割合で添加した.

残余調製液の処置 : 残余調製液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

3.4 細胞

細胞名 : CHL/IU

種 (由来組織) : チャイニーズハムスター (新生チャイニーズハムスター (雌) の肺)

細胞の選択理由 : 増殖速度、継代における染色体の安定性、染色体標本の観察の容易さおよび既知の変異原物質に対する感受性を考慮し選択した。

入手先 : DS ファーマバイオメディカル株式会社

入手年月日 : 2013 年 7 月 23 日

入手時継代数 : 14

凍結条件 : 10 vol% DMSO を含む培地を用いて 1×10^6 cells/mL 細胞浮遊液を調製し、1 mL ずつアンプルに分注したものを漸次冷却して凍結させた後、液体窒素内で保存した (細胞保存日 : 2013 年 7 月 30 日)。

培養条件 : 75 cm² 培養フラスコを用いて、5.0%CO₂, 37.0 °C に設定した CO₂ インキュベーター [MCO-18AIC (UV) ; パナソニック ヘルスケア株式会社] 内で培養し、3 日あるいは 4 日毎に継代を行い、他試験と共通で使用した。

マイコプラズマチェック :

蛍光染色法によりマイコプラズマチェックを行い、陰性であることを確認した。

染色体数 (モード) : 25 (2n=22)

倍加時間 : 14.8 時間

供試細胞の継代数 : 30 以下 (予備試験 : 20, 本試験 : 24)

マイコプラズマチェック、染色体数および倍加時間は、供試細胞と同時に保存した細胞を用いて、2013 年 11 月 1 日までに確認した。

3.5 培地

培地は事前あるいは試験開始後に下記の組成で必要量調製し、他試験と共通で使用した。

培地 : イーグル MEM 培地 (Code 05900, ロット番号 ; 712408, 日水製薬株式会社)

血清 : 牛胎児血清 (ロット番号 ; 1438137, GIBCO) を、56°C で 30 分間非働化した後、使用した。

調製方法 : イーグル MEM 培地 7.52 g を日本薬局方注射用水 (ロット番号 ; 3K87, 株式会社大塚製薬工場) に溶解し全量を 800 mL とした。オートクレー

ブ滅菌後、室温まで冷却し、滅菌済みの 7.5%炭酸水素ナトリウム溶液 (ロット番号 ; 409U1643, 関東化学株式会社) 26.9 mL を添加した。使用前に、ろ過除菌した L-グルタミン溶液 (ロット番号 ; WEK5905, PDG2279, 和光純薬工業株式会社) 0.292 g/L および牛胎児血清を 10%となるように添加した。

3.6 S9 mix

製造者 : キッコーマンバイオケミファ株式会社
 ロット番号 : CAM 201412A
 製造年月日 : 2014 年 12 月 19 日
 製造方法 : フェノバルビタール (1 日目 30 mg/kg を 1 回腹腔内投与, 2 日目以降 60 mg/kg を 1 日 1 回 3 日間腹腔内投与) および 5,6-ベンゾフラボン (フェノバルビタール投与 3 日目に 80 mg/kg を 1 回腹腔内投与) で酵素誘導を行った Slc : SD ラット (雄, 7 週齢, 体重 ; 186 ~ 235g) の肝ホモジネートから調製した S9 (ロット番号 ; RAA 201412A, S9 中蛋白含量 23.48 mg/mL, 細胞処理時の最終蛋白含量 : 1.17 mg/mL) 1.05 mL に, コファクターミックス 2.45 mL を加え調製されている。S9 mix 1 mL 中のコファクターの成分濃度を次表に示す。

S9 mix 1 mL 中のコファクターの成分濃度		
MgCl ₂	(和光純薬工業株式会社 LAK4493)	5 μmol
KCl	(和光純薬工業株式会社 CTH1823)	33 μmol
G-6-P	(オリエンタル酵母工業株式会社 118308)	5 μmol
NADP	(オリエンタル酵母工業株式会社 045308)	4 μmol
HEPES 緩衝液	(株式会社同仁化学研究所 GA014)	4 μmol

保存条件 : -80°C で凍結保存
 使用期限 : 製造後 6 ヶ月 (製造より 2 ヶ月以内に使用した)

3.7 試験方法

3.7.1 予備試験 (細胞増殖抑制試験)

3.7.1.1 試験系列

短時間処理法 -S9 処理, 短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の 3 試験系列について実施した。

3.7.1.2 試験群

被験物質の最高用量を 2200 µg/mL (約 10 mM に相当) とし、以下公比 2 で低下させた計 8 用量 (2200, 1100, 550, 275, 138, 68.8, 34.4 および 17.2 µg/mL) の試験群を設定した。更に、試験系列毎に陰性対照群を設定した。

各群につき 2 枚のプレートを使用し、各プレートには識別番号を明記した。

3.7.1.3 細胞の播種

直径 60 mm のプレートに、 0.4×10^4 cells/mL の濃度の細胞浮遊液をそれぞれ 5 mL ずつ播種し、5.0%CO₂, 37.0°C に設定した CO₂ インキュベーター [MCO-175 ; パナソニック ヘルスケア株式会社] 内で培養した。

3.7.1.4 被験物質調製液の処理

a 短時間処理法 -S9 処理

細胞播種後 3 日目に、プレートの培養液を除去し、新鮮培地 3 mL を加え、更に被験物質調製液 0.03 mL を加え、6 時間培養した。6 時間経過後に、プレート内の液を除去して Ca²⁺ および Mg²⁺ フリーの Dulbecco のリン酸緩衝液 [以下、PBS(-)と略す] で細胞を洗い、新鮮な培地 5 mL を加えて更に 18 時間培養した。

b 短時間処理法 +S9 処理

細胞播種後 3 日目に、プレートの培養液を除去し、新鮮培地 2.5 mL と S9 mix 0.5 mL (S9 の最終濃度約 5 vol%) を加え、更に被験物質調製液 0.03 mL を加え、6 時間培養した。6 時間経過後に、プレート内の液を除去して PBS(-)で細胞を洗い、新鮮な培地 5 mL を加えて更に 18 時間培養した。

c 連続処理法 24 時間処理

細胞播種後 3 日目に、プレートの培養液を除去し、新鮮培地 5 mL を加え、更に被験物質調製液 0.05 mL を加え、24 時間培養した。

3.7.1.5 被験物質析出の有無の確認

被験物質調製液による処理の開始時と終了時に、被験物質の析出の有無を目視確認した。

3.7.1.6 被験物質調製液による培養液 pH への影響の有無の確認

被験物質調製液による処理の開始時と終了時に、培養液色の変化の有無を目視確認した。培養液色に変化が認められない場合には、被験物質調製液処理による培養液 pH への影響は無いものと判断した。いずれの試験系列の 550 µg/mL 以上の用量において培養液色に pH 低下の色調変化が認められたため、pH 試験紙 (BTB, ロット番号 ; 10712001, 東洋濾紙株式会社) で培養液の pH を確認した。

3.7.1.7 細胞増殖率の測定および 50%細胞増殖抑制濃度 (IC₅₀) の算出

培養終了後、プレート内の液を除去して PBS(-)で細胞を洗い、10%ホルマリンで 10 分間の固定、0.1 w/v%クリスタルバイオレットで 10 分間の染色を行った。染色後、水道水を入れた水槽内でプレートを洗浄して風乾させた。陰性対照群のプレートを 100%として、各プレートの細胞増殖率を単層培養細胞密度測定装置 (MONOCELLATER II, 東洋測器株式会社) で測定した。細胞増殖率が 50%以下まで低下した場合には、用量を対数化した回帰計算により 50%細胞増殖抑制濃度 (IC₅₀) を算出することとした。いずれの試験系列のいずれの試験群においても細胞増殖率が 50%以上であったため、IC₅₀ の算出は行わなかった。

3.7.2 本試験 (染色体異常試験)

3.7.2.1 試験系列

短時間処理法 -S9 処理、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の 3 試験系列について実施した。

3.7.2.2 試験群

a 被験物質

予備試験の結果、いずれの試験系列においても最高用量の 2200 µg/mL では 60%程度まで細胞増殖率の低下が認められたもののいずれの用量においても 50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。この結果に基づき、染色体異常試験の用量は、2200 µg/mL を最高用量とし、それぞれ、275, 550, 1100, 1650 および 2200 µg/mL の用量を設定した。

b 対照物質

各試験系列について、陰性対照群ならびに次表の陽性対照群を設定した。

試験系列	陽性対照物質	用量 (µg/mL)
短時間処理法 -S9 処理	MMC	0.1
短時間処理法 +S9 処理	BP	10
連続処理法 24 時間処理	MMC	0.05

c サテライト群

被験物質の細胞増殖への影響を確認するためのサテライト群を、陽性対照群を除く各用量に設定した。

d プレート数

陽性対照群を除く各群に 4 枚のプレート (2 枚はサテライト群) を、陽性対照群に 2 枚のプレートを使用した。各プレートには識別番号を明記した。

3.7.2.3 細胞の播種

3.7.1.3 細胞の播種と同様の方法で実施した。

3.7.2.4 被験物質調製液の処理

a 短時間処理法 -S9 処理

3.7.1.4 の a 短時間処理法 -S9 処理と同様の方法で実施した。

b 短時間処理法 +S9 処理

3.7.1.4 の b 短時間処理法 +S9 処理と同様の方法で実施した。

c 連続処理法 24 時間処理

3.7.1.4 の c 連続処理法 24 時間処理と同様の方法で実施した。

3.7.2.5 被験物質析出の有無の確認

3.7.1.5 被験物質析出の有無の確認と同様の方法で実施した。

3.7.2.6 被験物質調製液による培養液 pH への影響の有無の確認

3.7.1.6 被験物質調製液による培養液 pH への影響の有無の確認と同様の方法で実施した。

いずれの試験系列の 550 µg/mL 以上の用量において培養液色に pH 低下の色調変化が認められたため、pH 試験紙 (BTB, ロット番号 ; 10712001, 東洋濾紙株式会社) で培養液の pH を確認した。

3.7.2.7 細胞増殖率の測定

3.7.1.7 細胞増殖率の測定および 50%細胞増殖抑制濃度 (IC₅₀) の算出と同様の方法で実施した。本試験では IC₅₀ の算出および陽性対照群の細胞増殖率の測定は行わなかった。

3.7.2.8 染色体標本の作製

培養終了の 2 時間前に、各プレートに最終濃度 0.2 µg/mL のコルセミド (ロット番号 ; 1393179, GIBCO) を加えた。培養終了時間に、プレート内の液をそれぞれ遠沈管に回収し、各プレートを 0.02 % EDTA-0.25 %トリプシン (0.5M EDTA : ロット番号 ; 1045847, GIBCO, 2.5%トリプシン : ロット番号 ; 1511084, GIBCO) で処理して細胞を剥離させ、得られた細胞浮遊液を同上の遠沈管に回収して 1000 rpm で 5 分間遠心分離した。上清を除去し、0.075 mol/L 塩化カリウム (ロット番号 ; 310U1825, 関東化学株式会社) を加え、穏やかにピペッティングし 37°C で 15 分間細胞を膨満化させた。氷冷したカルノア固定液 (メタノール : 酢酸 = 3 : 1, メタノール : ロット番号 ; 609B1143, 関東化学株式会社, 酢酸 : ロット番号 ; KPM0110, 和光純薬工業株式会社) を加えて細胞を半固定した後、1000 rpm で 5 分間遠心分離して上清を除去し、新しいカルノア固定液を加え固定した。細胞の固定操作を 3 回繰り返した後、細胞浮遊液をスライドガラス上に滴下し、自然乾燥させた。各プレートより、2 枚の染色体標本を作製した。各スライドは、3%ギムザ液 [ギムザ液 : ロット番号 ; AJ257, 和光純薬工業株式会社, インスタント燐酸緩衝液 (pH6.8) : ロット番号 ; T403, 株式会社 LSI メディエンス] で 20 分間染色し、水洗および風乾の後、封入剤 (マリノール, ロット番号 ; 1300901, 武藤化学薬品株式会社) で封入した。

3.7.2.9 観察用量の選択

観察用量は、3.7.2.7 の細胞増殖率の測定において、いずれの試験系列においても 50% を超える細胞増殖抑制がみられなかったため、それぞれ、最高用量とそれに連続した 3 用量 (1100, 1650 および 2200 $\mu\text{g/mL}$) を選択した。

3.7.2.10 選択標本の確認

3.7.2.9 で選択した用量の標本ならびに対照群の標本について実施した。

作製した 1 枚の標本あたり約 50 個以上の分裂中期細胞が得られることを確認した。

3.7.2.11 染色体標本のコード化

選択した観察用量の標本について、1 プレートにつき 1 枚の標本を選択してコード化した。

3.7.2.12 染色体標本の観察

総合倍率 1000 倍の顕微鏡 (BX51TF ; オリンパス株式会社) で、プレート 1 枚あたり 100 個 (用量あたり 200 個) の分裂中期像を選択して観察し、以下の分類に従って染色体異常の判定を行った。構造異常については 25 ± 2 の染色体をもつものを観察対象とした。

a 構造異常 (structural aberration)

・染色分体切断 (ctb : chromatid break)

染色分体のはっきりした不連続部分 (切断部分) で、不連続部分が染色分体の幅以上である場合、あるいは切断片が染色分体の長軸線上から外れている場合に染色分体切断として判定した。

・染色分体交換 (cte : chromatid exchange)

染色分体の 2 ヶ所以上の切断部位が相互に交換 (結合反応) しているものを染色分体交換として判定した。

・染色体切断 (csb : chromosome break)

両方の染色分体の同じ位置に切断が生じている場合に、染色体切断として判定した。切断の判定基準は、染色分体切断に準じた。

・染色体交換 (cse : chromosome exchange)

両方の染色分体の同じ位置で同じ方向に交換が生じている場合に、染色体交換として判定した。

・その他 (others)

その他の構造異常として、断片化 (fragmentation) がある。一つの分裂中期像のほとんど全ての染色体に切断やギャップが現れ、交換型の異常が含まれていない場合に断片化として判定した。

b ギャップ (gap)

染色分体あるいは染色体上に生じた非染色部分 (染色性が全くみられない部分) で、

非染色部分の幅が染色分体の幅より狭い場合にギャップとして判定した。

c 数的異常 (numerical aberration)

・倍数体 (poly : polyploid)

染色体数 (25 ± 2) が倍加し、染色体数が 36 以上 (三倍体, 四倍体等) となったものを倍数体として判定した。

・その他 (others)

その他の数的異常として核内倍加がある。倍加した染色体が分離せずに平行に並んでいる場合に核内倍加 (end : endoreduplication) と判定し、倍数体とは区別し計数した。

3.7.2.13 観察結果の集計方法

プレート毎に以下に示す細胞出現数を求め、試験群毎にその合計値を算出した。更に、構造異常 (1 個の細胞に複数の構造異常がある場合にも、構造異常を有する細胞数は 1 として計数) および数的異常を有する細胞の total について、それぞれ出現率 (%) を求めた。出現率 (%) は、観察した細胞数 (分裂中期像の数) に対する出現数の百分率で算出した。

a 構造異常について

- ・ctb : 染色分体切断をもつ細胞数
- ・cte : 染色分体交換をもつ細胞数
- ・csb : 染色体切断をもつ細胞数
- ・cse : 染色体交換をもつ細胞数
- ・others : その他の構造異常をもつ細胞数
- ・total : 何らかの構造異常をもつ細胞数

b ギャップについて

- ・gap : ギャップをもつ細胞数

c 数的異常について

- ・poly : 倍数体の細胞数
- ・others : その他の数的異常をもつ細胞数
- ・total : 何らかの数的異常をもつ細胞数

3.7.2.14 試験の成立条件

以下の 2 点を、試験結果が正しく評価出来る条件とした。試験の結果、いずれの試験系列もその条件を満たしていた。

- a 各試験系列の陰性対照群の染色体異常の構造異常および数的異常の出現率が、ともに 5%未満である。
- b 各試験系列の陽性対照群の染色体異常の構造異常の出現率が 10%以上である。

3.7.2.15 試験結果の評価

染色体の構造異常および数値異常の出現率 (%) が、いずれも 5%未満の場合を陰性、いずれかの出現率あるいは双方の出現率が 5%以上 10%未満の場合には確認試験を実施し、再現性が認められる場合を疑陽性、いずれかの出現率あるいは双方の出現率が 10%以上で、再現性あるいは用量の増加にともなう増加が認められる場合を陽性とした。統計学的手法は用いなかった。

3.7.2.16 再試験

いずれかの試験系列において、染色体標本の質が劣悪である、あるいは陰性対照群又は陽性対照群の染色体異常の出現率が試験の成立条件を満たさなかった場合には、該当する試験系列あるいは全試験系列について再試験を実施することとした。当該試験において上記該当事項は発生せず、再試験は行わなかった。

4 成績

4.1 予備試験

細胞増殖抑制試験 (予備試験) の結果を表 1、表 3 および図 1~3 に示す。

いずれの試験系列においても 550 および 1100 $\mu\text{g/mL}$ の用量では処理開始時に、2200 $\mu\text{g/mL}$ の用量で処理開始時および終了時に被験物質の析出が観察された。培養液 pH への影響は各試験系列ともに 550 $\mu\text{g/mL}$ の用量では処理開始時に、1100 および 2200 $\mu\text{g/mL}$ の用量で処理開始時および終了時に pH の低下が認められた。細胞増殖率は、いずれの試験系列においても最高用量の 2200 $\mu\text{g/mL}$ では 60%程度まで細胞増殖率の低下が認められたもののいずれの用量においても 50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。

4.2 本試験

染色体異常試験 (本試験) の結果を表 2、表 4、表 5-1~5-3 および図 1~6 に示す。

いずれの試験系列においても 550 および 1100 $\mu\text{g/mL}$ の用量では処理開始時に、1650 および 2200 $\mu\text{g/mL}$ の用量で処理開始時および終了時に被験物質の析出が観察された。培養液 pH への影響は各試験系列ともに 550 $\mu\text{g/mL}$ の用量では処理開始時に、1100、1650 および 2200 $\mu\text{g/mL}$ の用量で処理開始時および終了時に pH の低下が認められた。

染色体異常誘発性と同時に評価した細胞増殖率は、用量依存的な細胞増殖率の低下が認められたが、いずれの試験系列のいずれの用量においても 50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。

細胞増殖率の結果に基づき、いずれの試験系列においても 1100、1650 および 2200 $\mu\text{g/mL}$ の用量を選択し、選択標本ならびに対照群の標本について標本の確認を実施した。その結果、いずれ

の試験系列のいずれの用量においても 50 個以上の分裂中期細胞が認められたため、引き続き標本観察を実施した。

標本観察の結果、染色体の構造異常および数的異常の出現率は、短時間処理法 -S9 処理、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理のいずれの用量においても 5%未満であった。

陽性対照群の染色体の構造異常の出現率は、短時間処理法 -S9 処理で 41.0%、短時間処理法 +S9 処理で 40.0%および連続処理法 24 時間処理で 46.0%であった。

5 考察

2,6-ナフタレンジカルボン酸の *in vitro* における染色体異常誘発性の有無をチャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) を用いて検討した。

本試験の結果、染色体の構造異常ならびに数的異常の出現率は各試験系列のいずれの用量においても 5%未満であり、結果は陰性であった。また、被験物質調製液処理による析出の有無および培養液 pH への影響については、予備試験と本試験で同様の結果が得られ再現性が確認された。

陽性対照群における染色体の構造異常の出現率は各試験系列において明確な陽性値を示し、本試験系が適切な感受性を有していたことが確認された。

以上のことから、2,6-ナフタレンジカルボン酸は、当該試験条件において哺乳類の培養細胞に対し染色体異常誘発性を有しないと判断した。

なお、2,6-ナフタレンジカルボン酸は、復帰突然変異試験で陰性、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用いた HGPRT 突然変異試験で陰性、CHO を用いた染色体異常試験では析出濃度で弱い構造異常を有することが示唆されている⁶⁾。

2,6-ナフタレンジカルボン酸の類縁物質では、2,6-ナフタレンジカルボン酸のジメチルエステル体である dimethyl 2,6-naphthalene dicarboxylate (CAS 番号 840-65-3) は、復帰突然変異試験で陰性、CHO を用いた HGPRT 突然変異試験で陰性、CHO あるいはチャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) を用いた染色体異常試験で陰性と報告されている^{7,8)}。カルボキシル基が還元された類縁物質である 1,5-naphthalenediol (CAS 番号 83-56-7) は、復帰突然変異試験で陰性、L5178Y マウスリンフォーマ試験で陰性、チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79) を用いた染色体異常試験では代謝活性化系の非存在下で陽性、マウスの骨髄小核試験で陰性と報告されている⁹⁾。また、2,7-naphthalenediol (CAS 番号 582-17-2) も同様に、復帰突然変異試験で陰性、L5178Y マウスリンフォーマ試験で陰性、V79 を用いた染色体異常試験では代謝活性化系の非存在下で陽性、マウスの骨髄小核試験で陰性と報告されている¹⁰⁾。一方、1,3-, 1,4-およ

び 1,6-naphthalenediol は復帰突然変異試験で陽性と報告されている¹¹⁾。
 3-Hydroxy-2-naphthoic acid (CAS 番号 92-70-6) は、復帰突然変異試験は陰性、V79 を用いた染色体異常試験では代謝活性化系の非存在下で陽性と報告されている¹²⁾。母核の naphthalene (CAS 番号 91-20-3) は、復帰突然変異試験で陰性、*Drosophila melanogaster* の体性突然変異試験で陽性、CHO を用いた姉妹染色分体交換試験および染色体異常試験で陽性、マウスへの経口投与で脳および肝臓の DNA 断片を増加させ、骨髄小核試験は陰性と報告されている¹³⁾。

以上のように、2,6-ナフタレンジカルボン酸は培養細胞を用いた染色体異常試験における陰性結果について、比較できる情報は得られていないものの、当施設で実施した復帰突然変異試験においても陰性結果が得られており¹⁴⁾、類縁物質を含め遺伝毒性の明確な陽性を示唆するデータは示されておらず、当該試験結果は、これらの情報と矛盾がないと考えられる。

6 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

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はなかった。

7 参考文献

- 1) 安全データシート，東京化成工業株式会社
- 2) Material Safety Data Sheet TCI America
- 3) 東京化成工業株式会社ホームページ，オンラインカタログ
- 4) 安全データシート，和光純薬工業株式会社
- 5) 試験成績書，東京化成工業株式会社
- 6) NATIONAL INDUSTRIAL CHEMICALS NOTIFICATION AND ASSESSMENT SCHEME, File No.: NA/503, 2,6-Naphthalenedicarboxylic acid, 1997, NICNAS
- 7) NATIONAL INDUSTRIAL CHEMICALS NOTIFICATION AND ASSESSMENT SCHEME, File No.: NA/504, Dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate, 1997, NICNAS
- 8) OECD SIDS, Dimethyl 2,6-naphthalenedicarboxylate, 1999
- 9) Scientific Committee on Consumer Products, OPINION ON 1,5-Naphthalenediol. 2007, COLIPIA
- 10) Scientific Committee on Consumer Safety, OPINION ON 2,7-Naphthalenediol. 2010, COLIPIA
- 11) Hakura A et al, Mutagenicity of dihydroxybenzenes and dihydroxynaphthalenes for Ames Salmonella tester strains, Mutation Research, 371, 293-9 (1996)
- 12) OECD SIDS, 3-Hydroxy-2-naphthoic acid, 2004

- 13) IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS,
Volume 82, Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene, 2002,
WHO
- 14) XXXXXXXXXX 2,6-ナフタレンジカルボン酸の細菌を用いる復帰突然変異試験
(SR14250). 株式会社化合物安全性研究所 (2015)

8 資料の保存

8.1 資料の種類

以下を、株式会社化合物安全性研究所の資料保存室に保存する。

1. 試験計画書および試験計画書変更書
2. 生データその他の記録文書
3. 最終報告書
4. 染色体標本

8.2 保存期間

試験終了後 10 年間保存し、その後の保存については試験委託者との協議により決定する。

表 1 2,6-ナフタレンジカルボン酸 の細胞増殖抑制試験の結果 (予備試験)
(SR14251)

細胞増殖率 (%)

試験群	用量 ($\mu\text{g/mL}$)	S9-	S9+	S9-
		6-18 h (平均値)	6-18 h (平均値)	24-0 h (平均値)
DMSO	—	100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)
2,6-ナフタレンジ カルボン酸	17.2	93 , 112 (102.5)	103 , 103 (103.0)	111 , 100 (105.5)
	34.4	99 , 108 (103.5)	99 , 98 (98.5)	105 , 108 (106.5)
	68.8	98 , 106 (102.0)	105 , 95 (100.0)	107 , 112 (109.5)
	138	96 , 109 (102.5)	100 , 97 (98.5)	117 , 111 (114.0)
	275	97 , 111 (104.0)	99 , 98 (98.5)	108 , 106 (107.0)
	550 * †	100 , 109 (104.5)	96 , 102 (99.0)	110 , 101 (105.5)
	1100 * ††	96 , 109 (102.5)	102 , 98 (100.0)	102 , 99 (100.5)
	2200 ** ††	62 , 70 (66.0)	62 , 75 (68.5)	63 , 61 (62.0)
IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)		-	-	-

DMSO : ジメチルスルホキシド

*: 被験物質処理開始時に被験物質の析出が認められた.

**: 被験物質処理開始時および終了時に被験物質の析出が認められた.

†: 被験物質処理開始時にpHの低下が認められた.

††: 被験物質処理開始時および終了時にpHの低下が認められた.

表 2 2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験・細胞増殖率測定の結果
(本試験) (SR14251)

細胞増殖率 (%)

試験群	用量 ($\mu\text{g/mL}$)		S9-	S9+	S9-
			6-18 h (平均値)	6-18 h (平均値)	24-0 h (平均値)
DMSO	—		100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)
	275		100 , 99 (99.5)	102 , 102 (102.0)	102 , 105 (103.5)
	550	* †	97 , 97 (97.0)	100 , 104 (102.0)	103 , 106 (104.5)
2,6-ナフタレンジ カルボン酸	1100	* ††	98 , 90 (94.0)	102 , 108 (105.0)	100 , 103 (101.5)
	1650	** ††	93 , 98 (95.5)	84 , 93 (88.5)	92 , 95 (93.5)
	2200	** ††	68 , 66 (67.0)	63 , 70 (66.5)	68 , 66 (67.0)

DMSO：ジメチルスルホキシド

*:被験物質処理開始時に被験物質の析出が認められた.

**:被験物質処理開始時および終了時に被験物質の析出が認められた.

†:被験物質処理開始時にpHの低下が認められた.

††:被験物質処理開始時および終了時にpHの低下が認められた.

表 3 2,6-ナフタレンジカルボン酸処理における培養液pH測定の結果 (予備試験) (SR14251)

試験群	用量 ($\mu\text{g/mL}$)	S9-		S9+		S9-	
		6-18 h		6-18 h		24-0 h	
		処理開始時	処理終了時	処理開始時	処理終了時	処理開始時	処理終了時
2,6-ナフタレンジ カルボン酸	17.2	変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし	
	34.4	変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし	
	68.8	変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし	
	138	変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし	
	275	変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし	
	550	7.0 , 変化なし		7.0 , 変化なし		7.0 , 変化なし	
	1100	6.8 , 7.0		6.8 , 7.0		6.8 , 7.0	
	2200	6.4 , 6.6		6.4 , 6.6		6.4 , 6.6	

表 4 2,6-ナフタレンジカルボン酸処理における培養液pH測定の結果 (本試験) (SR14251)

試験群	用量 ($\mu\text{g/mL}$)	S9-		S9+		S9-	
		6-18 h		6-18 h		24-0 h	
		処理開始時	処理終了時	処理開始時	処理終了時	処理開始時	処理終了時
2,6-ナフタレンジ カルボン酸	275	変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし		変化なし , 変化なし	
	550	7.0 , 変化なし		7.0 , 変化なし		7.0 , 変化なし	
	1100	6.8 , 7.0		6.8 , 7.0		6.8 , 7.0	
	1650	6.8 , 7.0		6.8 , 7.0		6.8 , 7.0	
	2200	6.4 , 6.6		6.4 , 6.6		6.4 , 6.6	

表 5-1 2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験の結果 (S9 mix-, 6-18 h) (SR14251)

処理時間- 回復時間 (hours)	S9	試験群	用量 (μg/mL)	構造異常を有する細胞							gap	細胞 増殖率 (%)	数的異常を有する細胞				判定 ^a
				観察 細胞数	ctb	cte	csb	cse	others	総異常細胞数 (%)			観察 細胞数	poly	others	総異常細胞数 (%)	
6-18	-	DMSO	—	100	1	0	0	0	0	1	0	100.0	100	1	0	1	-
				100	0	1	0	0	0	1	0		100	2	0	2	
				200	1	1	0	0	0	2 (1.0)	0		200	3	0	3 (1.5)	
		2,6-ナフタレンジカルボン酸	275	観察対象外							99.5	観察対象外					
			550 * †	観察対象外							97.0	観察対象外					
			1100 * ††	100	0	0	0	0	0	0	0	94.0	100	0	0	0	-
				100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0	
				200	0	1	0	0	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)	
			1650 ** ††	100	0	0	0	0	0	0	0	95.5	100	0	0	0	-
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0	
				200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)	
			2200 ** ††	100	0	0	0	0	0	0	0	67.0	100	0	0	0	-
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0	
				200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)	
		マイトマイシン C	0.1	100	12	31	0	0	0	41	0		100	0	0	0	+
				100	9	32	0	0	0	41	0		100	0	0	0	
				200	21	63	0	0	0	82 (41.0)	0		200	0	0	0 (0.0)	

ctb, 染色分体切断 cte, 染色分体交換 csb, 染色体切断 cse, 染色体交換 gap, ギャップ poly, 倍数体 others, その他

DMSO:ジメチルスルホキシド

a: 染色体の構造異常と数的異常の出現率による判定;- , 陰性 ±, 疑陽性 +, 陽性

*: 被験物質処理開始時に被験物質の析出が認められた.

** : 被験物質処理開始時および終了時に被験物質の析出が認められた.

†: 被験物質処理開始時にpHの低下が認められた.

††: 被験物質処理開始時および終了時にpHの低下が認められた.

表 5-2 2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験の結果(S9 mix+, 6-18 h) (SR14251)

処理時間- 回復時間 (hours)	S9	試験群	用量 (μg/mL)	構造異常を有する細胞							gap	細胞 増殖率 (%)	数的異常を有する細胞				判定 ^a	
				観 察 細胞数	ctb	cte	csb	cse	others	総異常細胞数 (%)			観 察 細胞数	poly	others	総異常細胞数 (%)		
6-18	+	DMSO	—	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0	-	
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0		
				200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)		
		2,6-ナフタレンジカルボン酸	275	観 察 対 象 外								102.0	観 察 対 象 外				-	
			550 * †	観 察 対 象 外								102.0	観 察 対 象 外					
			1100 * ††	100	2	0	0	0	0	2	0	105.0	100	0	0	0		-
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0		
				200	2	0	0	0	0	2 (1.0)	0		200	0	0	0 (0.0)		
			1650 ** ††	100	0	1	0	0	0	1	0	88.5	100	0	0	0		-
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0		
				200	0	1	0	0	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)		
			2200 ** ††	100	0	0	0	0	0	0	0	66.5	100	0	0	0		-
				100	2	1	0	0	0	2	0		100	0	0	0		
				200	2	1	0	0	0	2 (1.0)	0		200	0	0	0 (0.0)		
		3,4-ベンゾピレン	10	100	16	28	0	0	0	41	0		100	0	0	0	+	
				100	12	28	0	0	0	39	0		100	0	0	0		
				200	28	56	0	0	0	80 (40.0)	0		200	0	0	0 (0.0)		

ctb, 染色分体切断 cte, 染色分体交換 csb, 染色体切断 cse, 染色体交換 gap, ギャップ poly, 倍数体 others, その他

DMSO:ジメチルスルホキシド

a: 染色体の構造異常と数的異常の出現率による判定;- , 陰性 ±, 疑陽性 +, 陽性

*: 被験物質処理開始時に被験物質の析出が認められた.

** : 被験物質処理開始時および終了時に被験物質の析出が認められた.

†: 被験物質処理開始時にpHの低下が認められた.

††: 被験物質処理開始時および終了時にpHの低下が認められた.

表 5-3 2,6-ナフタレンジカルボン酸の染色体異常試験の結果(S9 mix-, 24-0 h) (SR14251)

処理時間- 回復時間 (hours)	S9	試験群	用量 (μg/mL)	構造異常を有する細胞							gap	細胞 増殖率 (%)	数的異常を有する細胞				判定 ^a	
				観察 細胞数	ctb	cte	csb	cse	others	総異常細胞数 (%)			観察 細胞数	poly	others	総異常細胞数 (%)		
24-0	-	DMSO	—	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0	-	
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0		
				200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)		
		2,6-ナフタレンジカルボン酸	275	観察対象外								103.5	観察対象外				-	
			550 * †	観察対象外								104.5	観察対象外					
			1100 * ††	100	0	0	0	0	0	0	0	101.5	100	0	0	0		-
				100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0		
				200	1	0	0	0	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)		
			1650 ** ††	100	0	0	0	0	0	0	0	93.5	100	1	0	1		-
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0		
				200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	1	0	1 (0.5)		
			2200 ** ††	100	1	0	0	0	0	1	0	67.0	100	0	0	0		-
				100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0		
				200	1	0	0	0	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)		
		マイトマイシン C	0.05	100	12	36	0	0	0	47	0	/	100	0	0	0	+	
				100	14	34	0	0	0	45	0		100	0	0	0		
				200	26	70	0	0	0	92 (46.0)	0		200	0	0	0 (0.0)		

ctb, 染色分体切断 cte, 染色分体交換 csb, 染色体切断 cse, 染色体交換 gap, ギャップ poly, 倍数体 others, その他

DMSO:ジメチルスルホキシド

a: 染色体の構造異常と数的異常の出現率による判定;- , 陰性 ±, 疑陽性 +, 陽性

*: 被験物質処理開始時に被験物質の析出が認められた.

** : 被験物質処理開始時および終了時に被験物質の析出が認められた.

†: 被験物質処理開始時にpHの低下が認められた.

††: 被験物質処理開始時および終了時にpHの低下が認められた.

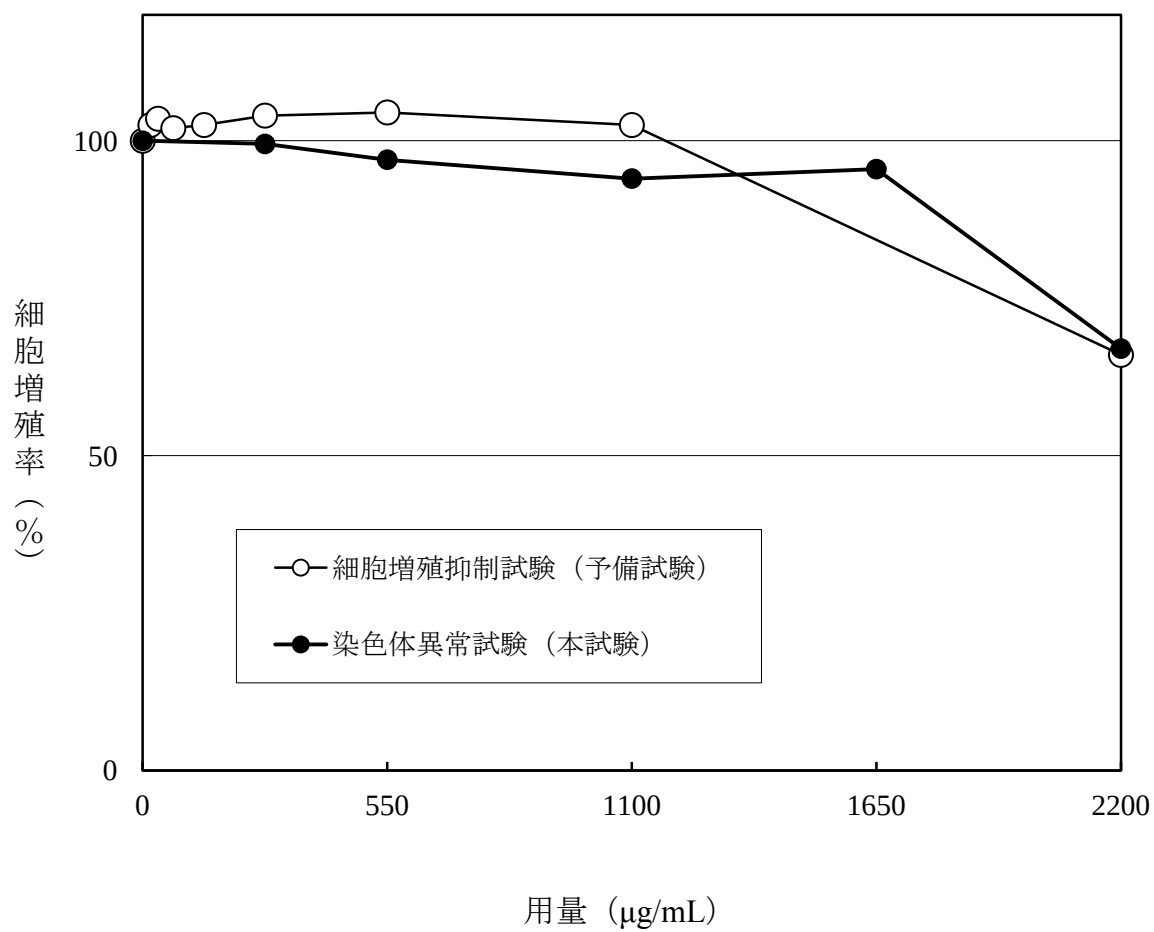


図1 2,6-ナフタレンジカルボン酸の細胞増殖率の結果
(S9 mix-, 6-18 h) (SR14251)

各ポイントは2つの値の平均値を表す。

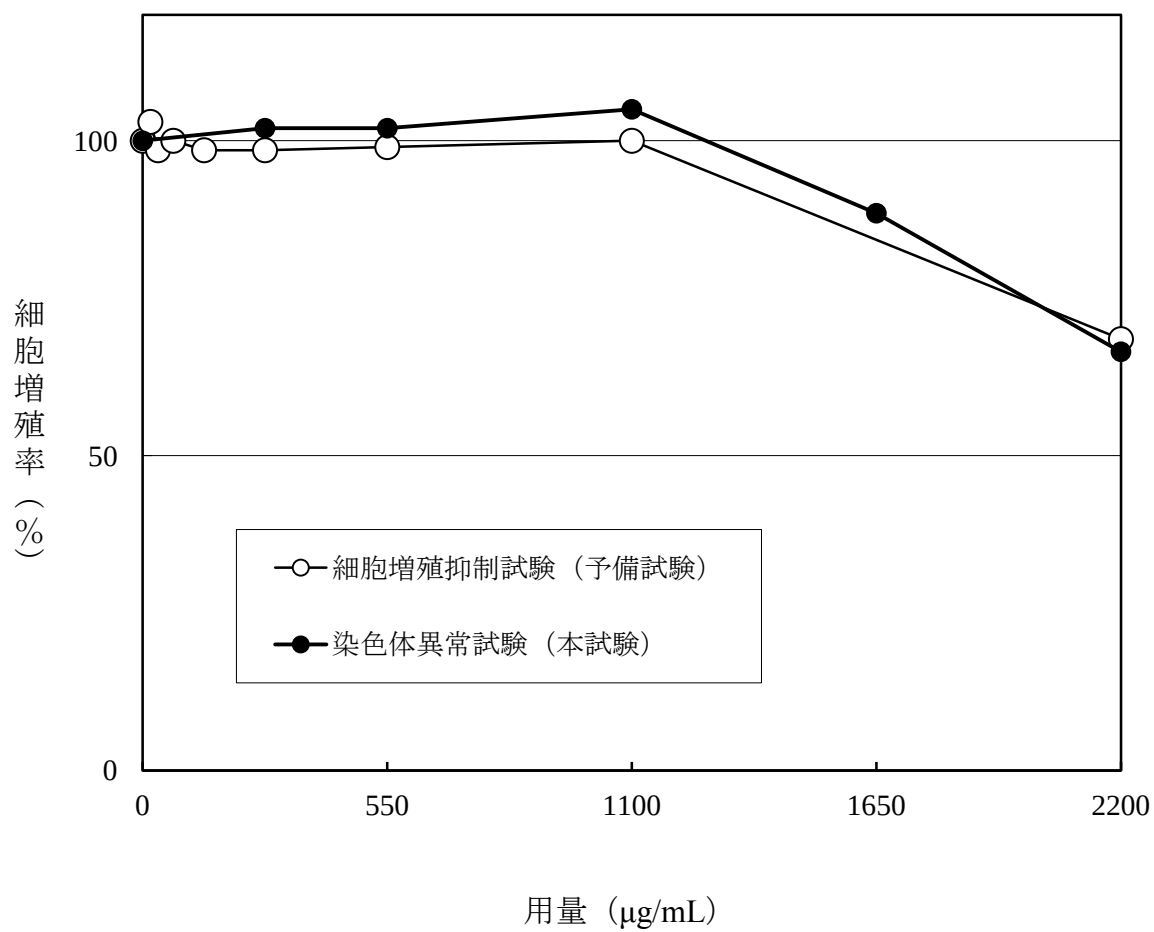


図2 2,6-ナフタレンジカルボン酸の細胞増殖率の結果
(S9 mix+, 6-18 h) (SR14251)

各ポイントは 2 つの値の平均値を表す。

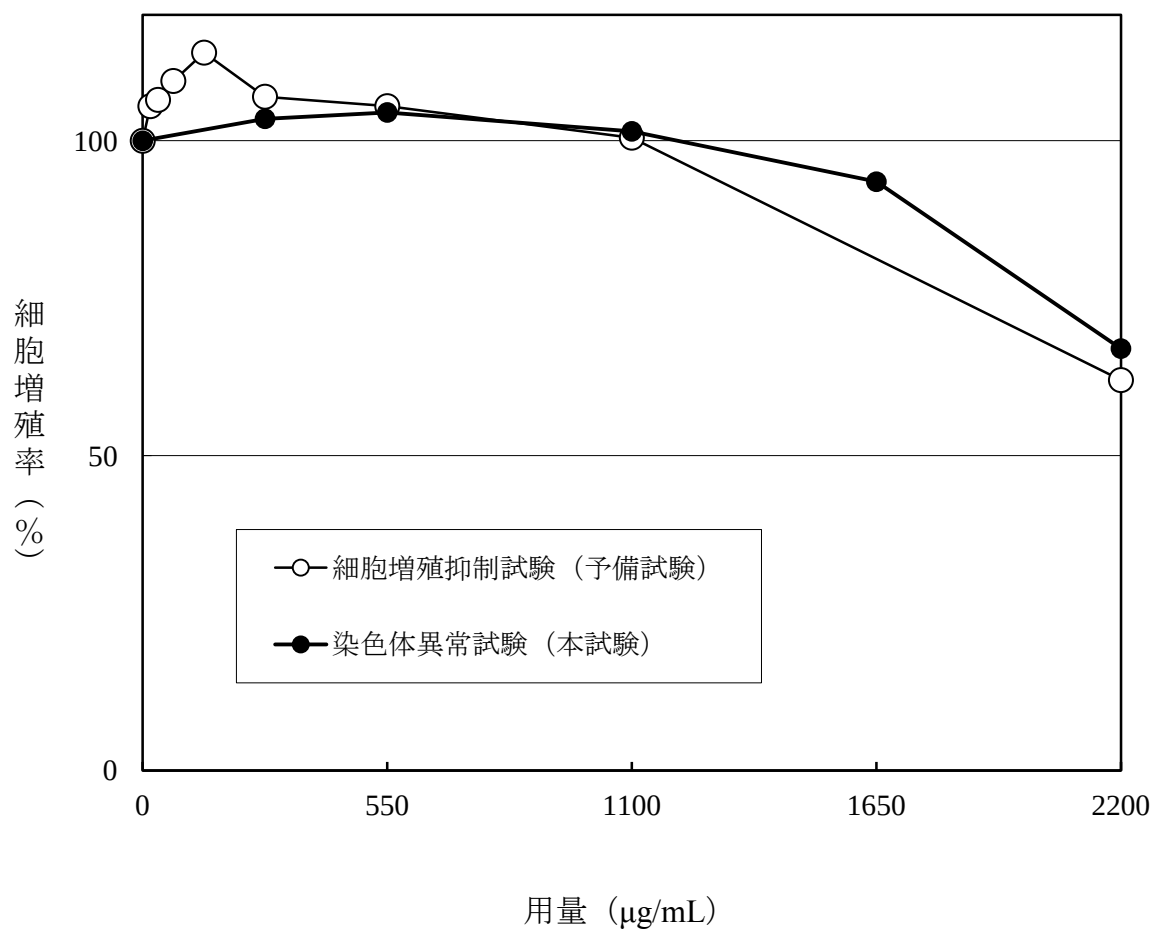


図3 2,6-ナフタレンジカルボン酸の細胞増殖率の結果
(S9 mix-, 24-0 h) (SR14251)

各ポイントは 2 つの値の平均値を表す。

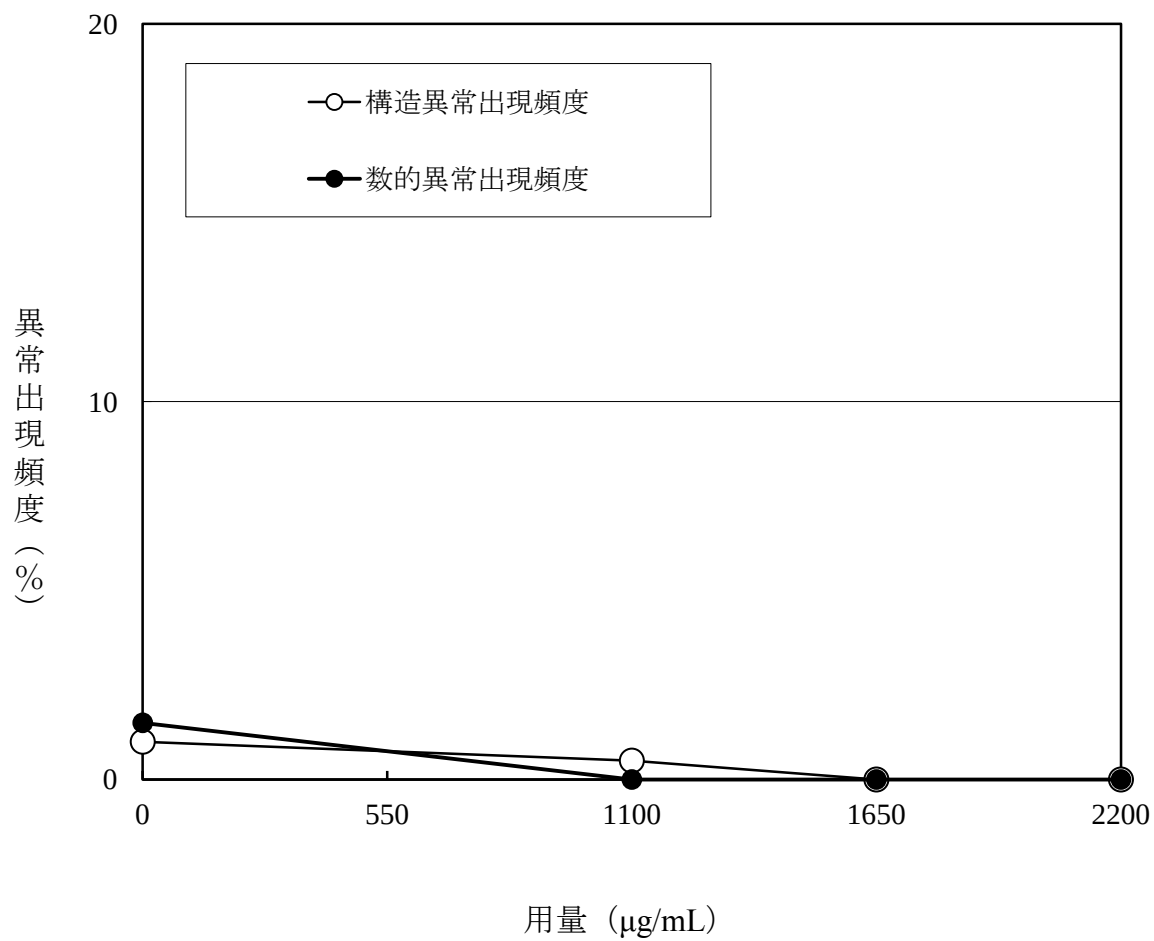


図4 2,6-ナフタレンジカルボン酸の異常出現頻度 (S9 mix-, 6-18 h) (SR14251)

各ポイントは2つの値の平均値を表す。

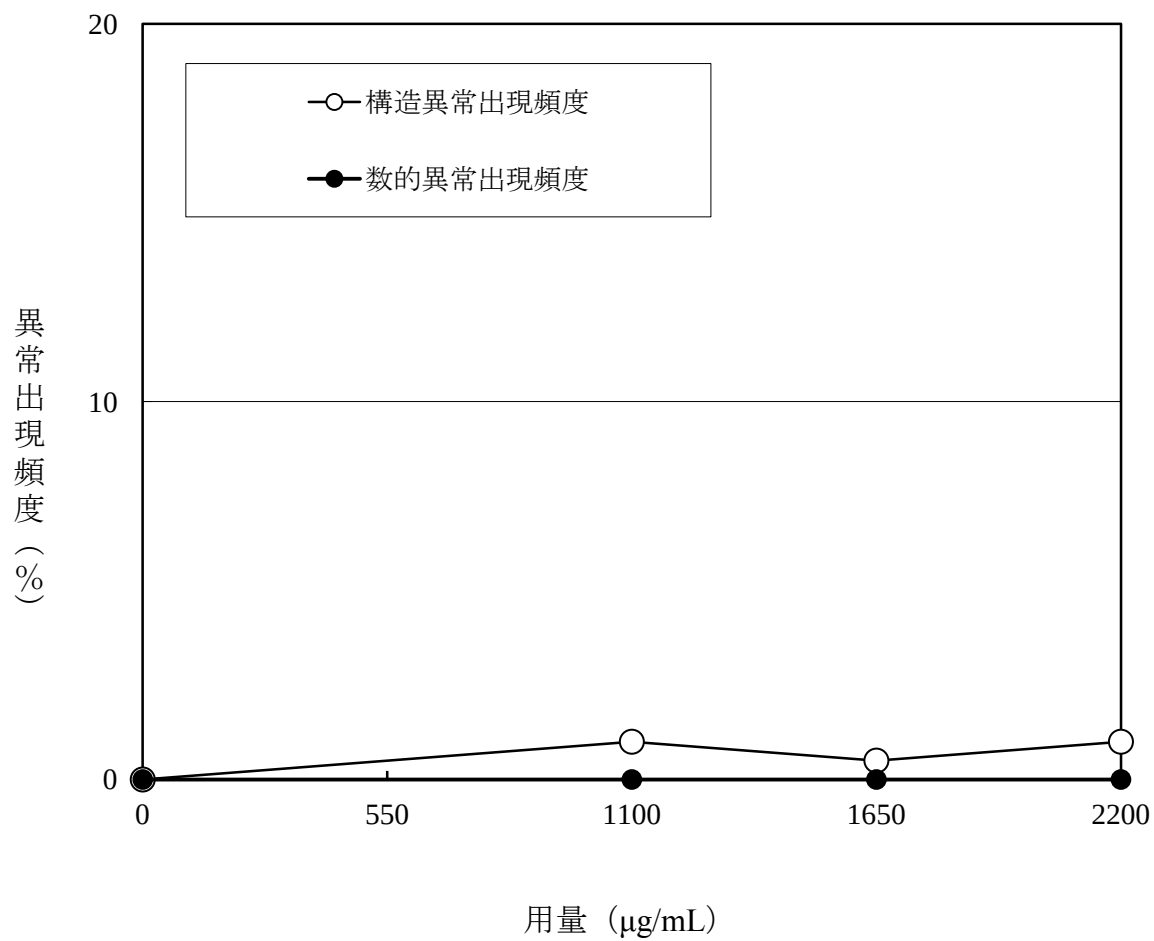


図5 2,6-ナフタレンジカルボン酸の異常出現頻度
(S9 mix+, 6-18 h) (SR14251)

各ポイントは2つの値の平均値を表す.

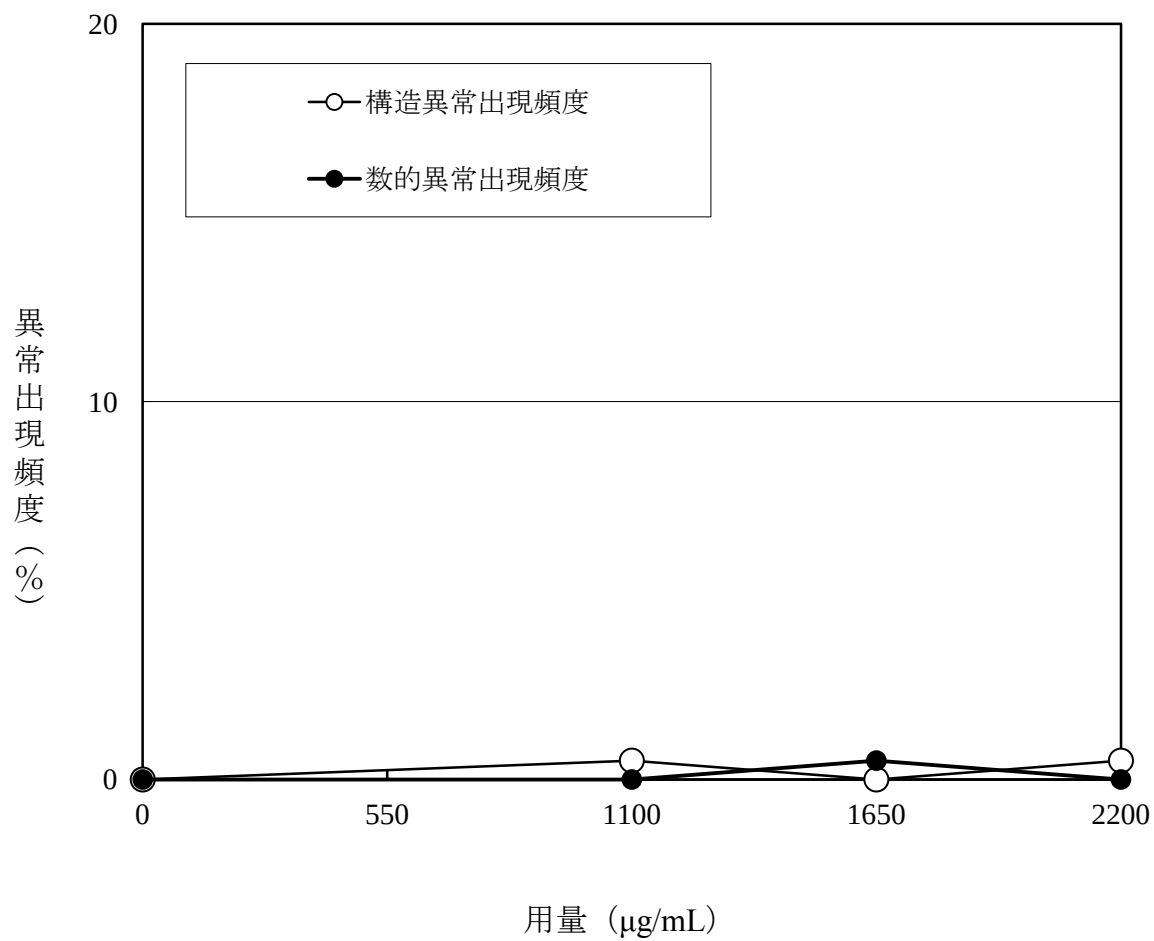


図6 2,6-ナフタレンジカルボン酸の異常出現頻度
(S9 mix-, 24-0h) (SR14251)

各ポイントは2つの値の平均値を表す。