

## 最終報告書

トリポリリン酸二水素アルミニウム  
のは乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

(試験番号：B010040)

2002年2月28日

株式会社三菱化学安全科学研究所

## 目次

要約	5
材料および方法	6
1. 試験物質	6
2. 細胞	7
3. 培地	7
4. S9 mix	7
5. 試験物質溶液および懸濁液の調製	8
6. 細胞増殖抑制試験	9
7. 染色体異常試験（本試験・確認試験）	10
8. 結果のまとめ	13
結果	14
考察および結論	15
参考文献	15
表 1 染色体異常試験の結果（短時間処理法）[本試験]	17
表 2 染色体異常試験の結果（短時間処理法）[確認試験]	18
図 1 トリポリリン酸二水素アルミニウムの細胞毒性（短時間処理法・－S9 mix）	19
図 2 トリポリリン酸二水素アルミニウムの細胞毒性（短時間処理法・＋S9 mix）	19
図 3 トリポリリン酸二水素アルミニウムの細胞毒性（連続処理法）	20
図 4 トリポリリン酸二水素アルミニウムによる染色体異常細胞出現頻度 （短時間処理法・－S9 mix）	21
図 5 トリポリリン酸二水素アルミニウムによる染色体異常細胞出現頻度 （短時間処理法・＋S9 mix）	21

## 要約

雌チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 CHL/TU を用い、トリポリリン酸二水素アルミニウムの *in vitro* における染色体異常試験を実施した。

予備試験の結果に基づいて、細胞増殖抑制試験の用量は、短時間処理法の S9 mix 非共存下（以下 -S9 mix）および S9 mix 共存下（以下 +S9 mix）では 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu\text{g/mL}$ 、連続処理法の 24 時間処理（以下 24 時間処理）では 50, 100, 200, 300, 400, 500  $\mu\text{g/mL}$  を設定した。その結果、被験物質による 50%細胞増殖抑制用量は -S9 mix で 55  $\mu\text{g/mL}$ 、+S9 mix で 1251  $\mu\text{g/mL}$ 、24 時間処理で 33  $\mu\text{g/mL}$  であった。

この結果に基づき、染色体異常試験（本試験）は、-S9 mix で 6.25, 12.5, 25, 50, 100  $\mu\text{g/mL}$ 、+S9 mix で 250, 500, 1000, 1500, 2000  $\mu\text{g/mL}$  を設定した。

本試験の標本観察の結果、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は、+S9 mix の 2000  $\mu\text{g/mL}$  において 33.0%であり、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度が最高用量のみで急激に増加していた。この結果から、用量依存性を検討するために、+S9 mix で 1600, 1800, 2000  $\mu\text{g/mL}$  を設定して確認試験を実施した。

確認試験の結果、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は 2000  $\mu\text{g/mL}$  において 11.0%となり再現性が認められた。

一方、数的異常を持つ細胞の出現頻度は、いずれの用量においても 5%未満であった。

従って、トリポリリン酸二水素アルミニウムは、本試験条件下において CHL/TU 細胞に対する染色体異常誘発性を有すると結論した。

## 材料および方法

## 1. 試験物質

## 1.1 被験物質

から提供されたトリポリリン酸二水素アルミニウムを使用時まで室温で保存し、使用した。被験物質の純度、組成および物理化学的性質は以下の通りである。

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	トリポリリン酸二水素アルミニウム		
別 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)	$\text{AlH}_2\text{P}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		
試験に供した新規 化学物質の純度	94.7wt%	試験に供した新規 化学物質の Lot No.	
不純物の名称及び濃度	ZnO : 2.1%, Cd : 1 ppm 以下, As : 0.05 ppm 以下 Pb : 2 ppm, Cr : 1 ppm 以下, Hg : 0.01 ppm 以下		
CAS 番号	13939-25-8	蒸 気 圧	—
分 子 量	317.94	分配係数	—
融 点	約 1200℃	常温における性状	白色粉末
沸 点	—		
安 定 性	安定		
溶媒に対する溶解度等	溶 媒	溶 解 度	溶媒中の安定性
	水	難溶性	—
	DMSO	500 mg/mL で均一に懸濁*1	*2
	アセトン	難溶性	—
	その他	—	—

DMSO : ジメチルスルホキシド

\*1 : 当研究所での溶媒検討の結果による。

\*2 : 被験物質懸濁液調製時に発熱、発泡、変色は認められなかった。

## 1.2 陰性対照物質（被験物質の懸濁溶媒）

ジメチルスルホキシド（以下 DMSO, 関東化学株, ロット番号 210G1441）

## 1.3 陽性対照物質

マイトマイシン C（以下 MMC, 協和発酵工業株, ロット番号 328AJF, 含量 100%）

ベンゾ [a] ピレン（以下 BP, 東京化成工業株, ロット番号 GG01, 含量 95.6%）

## 2. 細胞

雌チャイニーズハムスター肺由来細胞株 CHL/TU を使用した。この細胞は、染色体数のモードが 25 本と少なく、染色体が比較的大きいため標本観察が容易である等の利点があり、培養細胞を用いる染色体異常試験で広く使用されている。

細胞は 2001 年 2 月 14 日に大日本製薬株から購入し、細胞懸濁液に対し最終 10 v/v% の割合で DMSO（関東化学株, ロット番号 204G1360）を添加したものを 1 mL に小分けし、液体窒素中で凍結保存した。試験には、これを融解して培養し、融解後 4 週間以内のものを使用した。細胞の培養には、プラスチックプレート（直径 6 cm または 10 cm ; Becton Dickinson and Company）を用い、炭酸ガス細胞培養装置内（炭酸ガス 5%, 温度 37°C に設定, 加湿, NAPCO 社, 7300 型）で培養した。

## 3. 培地

### 3.1 MEM

イーグル MEM 培地「ニッスイ」①（日水製薬株, ロット番号 439011, 43910311）約 8.3 g を精製水 880 mL に溶解し、オートクレーブ滅菌（121°C, 15 分間）後、別に滅菌処理した 2.92w/v% L-グルタミン水溶液と 10 w/v% 炭酸水素ナトリウム水溶液をそれぞれを 8.8 mL, 11.2 mL 添加した。以下この溶液を MEM とした。

### 3.2 MEM 培地

MEM 900 mL に、非働化（56°C, 30 分間加熱処理）した仔牛血清（GIBCO BRL, ロット番号 1027934, 296130）を 100 mL 添加した。

## 4. S9 mix

### 4.1 S9

フェノバルビタール（1 日目に 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)と 5, 6-ベンゾフラボン(3 日目に 80 mg/kg を 1 回腹腔内投与)で酵素誘導した SD 系雄ラット肝由来 S9 (キッコーマン(株), ロット番号 RAA-441, 2001 年 3 月 9 日製造)を購入したものを使用した。購入した S9 は使用時まで-80℃以下(実測値; -88~-81℃)に設定した超低温冷凍庫で保存した。

#### 4.2 S9 mix

S9 mix 1 mL あたり以下の組成で用時調製し、使用時まで水中に保存した。

S9	0.3 mL
D グルコース 6-リン酸	5 $\mu$ mol
$\beta$ -NADP <sup>+</sup>	4 $\mu$ mol
HEPES (pH 7.2)	4 $\mu$ mol
塩化マグネシウム六水和物	5 $\mu$ mol
塩化カリウム	33 $\mu$ mol
精製水	残量

### 5. 試験物質溶液および懸濁液の調製

#### 5.1 被験物質懸濁液の調製

溶媒検討の結果、本被験物質は局方生理食塩水(以下生食)には 50 mg/mL, アセトンには 500 mg/mL でそれぞれ不溶であり、均一に懸濁しなかった。DMSO に 500 mg/mL, 1%カルボキシメチルセルロース水溶液(以下 CMC-Na 水溶液)には 50 mg/mL でほぼ均一に懸濁し、いずれも発熱、発泡、変色などは認められなかった。ただし、DMSO の懸濁液のほうが、CMC-Na 水溶液の懸濁液よりも粘性が低く、取り扱いが容易であった。DMSO および CMC-Na 水溶液をそれぞれ懸濁媒体として予備試験を実施した結果、細胞増殖抑制の程度はほぼ同じであった(6.1 項参照)。よって、いずれの懸濁媒体を用いても適切な被験物質処理が可能であると考えられた。これらの結果に基づき、本被験物質の懸濁媒体には懸濁液の取り扱いが容易な DMSO を用いた。

被験物質を純度換算(94.7%)した重量で秤量し、DMSO を加え、振盪攪拌および超音波処理により懸濁させて 500 mg/mL 懸濁液を調製した。これを最高濃度懸濁液とした。細胞毒性により、最高処理用量が 5000  $\mu$ g/mL 未満となった場合は、同様の操作により、最高処理用量の 100 倍濃度の懸濁液を調製して、これを最高濃度懸濁液とした。

最高濃度懸濁液を DMSO で段階希釈し、各処理用量の 100 倍濃度の被験物質懸濁液を調製した。被験物質懸濁液は、用時調製とした。

#### 5.2 陽性対照物質溶液の調製

MMC は、2 mg 入りバイアル瓶の内容物を、注射用水(株)大塚製薬工場、ロット番号

K9I83) 5 mL に用時溶解した (400  $\mu$ g/mL 溶液) . これを生食 (株大塚製薬工場, ロット番号 K0E00) で段階希釈し, 各処理条件で使用する最終用量の 10 倍濃度の溶液を調製した (短時間処理法: 1  $\mu$ g/mL).

BP は, 処理用量の 200 倍濃度の溶液を調製 (DMSO (関東化学株), ロット番号 207G1673) に 4 mg/mL で溶解) した. 使用時まで凍結保存した.

## 6. 細胞増殖抑制試験

### 6.1 被験物質用量

細胞増殖抑制試験に先立ち, -S9 mix および +S9 mix ならびに 24 時間処理において, 50, 500, 5000  $\mu$ g/mL で予備試験 1 を実施した. 懸濁媒体として DMSO を用いた場合と CMC-Na 水溶液を用いた場合のそれぞれについて試験を実施した. この試験では, 1 用量あたり 1 枚のプレートを用いた. 位相差倒立顕微鏡でプレートを観察し, 陰性対照物質処理プレートの細胞密度を 100% として, 被験物質処理プレートの細胞密度を相対的に判断した.

その結果, 被験物質処理プレートの細胞密度は下記の通りであった.

(懸濁媒体: DMSO)

処理群 \ 用量 ( $\mu$ g/mL)	50	500	5000
-S9 mix	100%	50%	0%
+S9 mix	100%	70%	0%
24 時間処理	100%	0%	0%

(懸濁媒体: CMC-Na 水溶液)

処理群 \ 用量 ( $\mu$ g/mL)	50	500	5000
-S9 mix	100%	50%	0%
+S9 mix	100%	70%	0%
24 時間処理	100%	10%	0%

以上の結果から, 細胞増殖抑制試験は下記の用量を設定した. 懸濁媒体は DMSO とした (5.1 項参照) .

-S9 mix : 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu$ g/mL

+S9 mix : 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu$ g/mL

24 時間処理 : 50, 100, 200, 300, 400, 500  $\mu$ g/mL

## 6.2 細胞処理

$4 \times 10^3$  個/mL に調製した細胞懸濁液を 6 cm プレートに 5 mL ずつ播き, 3 日間前培養した。

MEM 培地を除去した後, 下記の組成の細胞処理液を 1 用量あたり 2 枚のプレートに加え, 連続処理法では 24 時間, 短時間処理法では 6 時間細胞を処理した。短時間処理法では 6 時間後, MEM で細胞表面を 1 回洗浄し, 新たに MEM 培地 5 mL を加え, さらに 18 時間培養した。陰性対照物質として溶媒を用い, 下記条件で同様に処理した。

	被験物質懸濁液 または陰性対照物質	S9 mix	MEM培地
-S9 mix	0.03 mL	—	3 mL
+S9 mix	0.03 mL	0.5 mL	2.5 mL
24 時間処理	0.05 mL	—	5 mL

処理終了時に, 短時間処理法については, 染色体異常試験において, pH の影響が認められると考えられる用量で標本作製をする可能性があると考えられた。このため, 短時間処理法の 6 時間処理終了時に, 陰性対照と全処理用量について, 細胞処理液を微量採取し, pH を pH メーター (twin pH B-212, 株堀場製作所) で測定した。

## 6.3 細胞増殖率の測定

細胞表面を  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  フリーのリン酸緩衝液 (以下 PBS(-), ダルベッコ PBS「ニッスイ」, 日水製薬株) で洗浄後, 0.25 w/v% トリプシン処理し, 培養液を加えて細胞を剥離した後, 血球計算盤で細胞を計数した。

## 6.4 50%細胞増殖抑制用量の算出

各処理条件について, 陰性対照値を 100% として生存曲線を作成し, 被験物質の 50% 細胞増殖抑制用量 ( $\text{IC}_{50}$ ) を算出した。なお,  $\text{IC}_{50}$  は, 細胞増殖率が 50% を示す用量を挟む 2 点を結ぶ直線式より算出した。

## 7. 染色体異常試験 (本試験, 確認試験)

染色体異常試験は, まず, 短時間処理法のみを実施した。その結果, 陽性結果が得ら



れたため、連続処理法の染色体異常試験は実施しなかった。

### 7.1 被験物質用量および陽性対照物質用量

細胞増殖抑制試験の結果は図1, 2に示すごとく、 $IC_{50}$ は-S9 mixで55  $\mu$ g/mL, +S9 mixで1251  $\mu$ g/mLであった。

この結果より、染色体異常試験（本試験）は、下記の用量を設定した。

-S9 mix : 6.25, 12.5, 25, 50, 100  $\mu$ g/mL

+S9 mix : 250, 500, 1000, 1500, 2000  $\mu$ g/mL

陽性対照物質の用量は、-S9 mix ではMMCを0.1  $\mu$ g/mL, +S9 mix ではBPを20  $\mu$ g/mLとした。これらは、いずれも染色体異常誘発性が知られている用量である。

### 7.2 細胞処理

細胞増殖抑制試験と同様に細胞を処理した。

陽性対照については、下記の組成の細胞処理液で同様に細胞を処理した。

	MMC 溶液	BP 溶液	S9 mix	MEM 培地
-S9 mix	0.3 mL	—	—	2.7 mL
+S9 mix	—	0.015 mL	0.5 mL	2.5 mL

細胞増殖抑制試験と同様に、細胞処理液のpHを処理開始時と6時間処理終了時に測定した。ただし、-S9 mixは細胞増殖抑制試験の結果、培養液の黄変（pH低下）が認められる用量での処理を行わないことから、pH測定は実施しなかった。また、陽性対照群についてもpH測定を実施しなかった。

### 7.3 標本作製

標本作製の2時間前にコルセミドを最終用量が0.1  $\mu$ g/mLとなるように加え、分裂中期細胞を蓄積した。処理終了後、細胞表面をPBS(-)で洗浄し、0.25 w/v%トリプシン処理にて細胞を剥離した後、遠心管に回収し、遠心分離（1000 rpm, 5分間；以下同様）により細胞を集めた。上清を除去後、各遠心管に0.075 mol/L塩化カリウム溶液4 mLを加えて低張処理（37℃, 15分）を行った。次に、冷却したメタノール・酢酸（3:1）(v/v)混合液（固定液）0.5 mLを加え細胞を半固定した後、遠心分離し、上清を除去した。さらに、同固定液4 mLを加え、同様の操作を2回繰り返した。その後、適量の固定液で細胞を懸濁させ、濡らした手ぬぐいの上に置いたスライドガラスに2箇所滴下して乾燥させた。これを3 v/v%ギムザ溶液で20分間染色し、水洗、乾燥後、封入して染色体標本とした。なお、標本は、各プレートにつき2枚作製した。

## 7.4 細胞増殖率の測定

標本作製と同時期における細胞増殖率の測定を実施した。標本作製時にトリプシン処理にて剥離した細胞の一部を採取し、血球計算盤で細胞を計数した。陽性対照群については実施しなかった。

## 7.5 観察

### (1) 予備鏡検

標本作製後、試験の適否確認のため予備鏡検を行った。その結果、+S9 mix の 2000  $\mu$ g/mL において一方の標本で、プレート 1 枚あたりの分裂中期細胞は 50 個未満であったため、この標本は、観察対象から除外した。また、陰性対照および陽性対照については、構造異常細胞の有無が適切であることを確認した。

### (2) 構造異常および数的異常

標本はすべてコード化し、盲検法で観察した。

プレート 1 枚につき 100 個、すなわち 1 用量 200 個の分裂中期細胞を盲検法で観察した。分裂中期細胞は、染色体がよく拡がった細胞を観察した。

構造異常は以下の分類<sup>1)</sup>に従って観察した。ただし、動原体数が  $25 \pm 2$  または 35 以上でない細胞は除外した。

染色体型切断  
 染色体型交換  
 染色体型切断  
 染色体型交換 (二動原体、環状染色体など)  
 断片化

ギャップは染色体に見られる非染色部分の幅が染色分体の幅よりも狭いものとした。他の異常と区別して記録し、構造異常には含めなかった。

数的異常は動原体数が 35 以上のものとし、核内倍加細胞を含む倍数体細胞を数えた。

## 7.6 試験結果の判定基準

構造異常を 1 個以上もつ細胞を染色体異常細胞として集計した。

被験物質の染色体異常誘発性の判定は、各処理条件において、構造異常細胞および数的異常細胞の出現頻度が共に 5% 未満を陰性 (-)、いずれか一方または両方が 5% 以上 10% 未満を疑陽性 ( $\pm$ )、いずれか一方または両方が 10% 以上を陽性 (+) とした。

## 7.7 確認試験

本試験の標本観察の結果、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は、+S9 mix の

2000  $\mu$ g/mL において 33.0% であり、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度が最高用量のみで急激に増加していた。この結果から、用量依存性を検討するために、下記の用量で確認試験を実施した。

+S9 mix : 1600, 1800, 2000  $\mu$ g/mL

なお、細胞処理、標本作製、細胞増殖率の測定、観察、試験結果の判定基準は、本試験と同様とした。

## 8. 結果のまとめ

染色体構造異常および数的異常をもつ細胞の出現数ならびに合計およびそれぞれの出現頻度 (%) を表示した。染色体異常は種類別に細胞数を表示した。なお、観察可能な分裂中期細胞がプレートあたり 50 個未満の標本の欄は“TOX”と記載した。また、細胞増殖抑制試験および染色体異常試験結果を図示した。

陽性となった試験条件毎に、 $D_{20}$  値 (分裂中期細胞の 20% に異常を誘発させるために必要な用量, mg/mL) を算出した。また、その代表的な染色体異常像の写真を本報告書に添付した。

## 結果

細胞増殖抑制試験の結果、-S9 mix, +S9 mix および 24 時間処理における被験物質の 50% 細胞増殖抑制用量はそれぞれ 55, 1251, 33  $\mu\text{g/mL}$  であった (図 1~3)。

本試験の予備鏡検の結果、+S9 mix の 2000  $\mu\text{g/mL}$  において一方の標本で、プレート 1 枚あたり 50 個以上の分裂中期細胞が得られなかったため、観察の対象から除外し、結果表には“TOX”と記載した (表 1)。

本試験の標本観察の結果、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は、+S9 mix の 2000  $\mu\text{g/mL}$  において 33.0 % であった。染色体異常の分類としては、染色分体切断と染色分体交換の頻度は同程度であった (表 1, 図 5)。

確認試験の予備鏡検の結果、被験物質処理群の標本において、プレート 1 枚あたり 50 個以上の分裂中期細胞が得られたため、全ての染色体標本について観察対象とした。

確認試験の標本観察の結果、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は、+S9 mix の 2000  $\mu\text{g/mL}$  において 11.0% であった。1800  $\mu\text{g/mL}$  でも 4.5% の構造異常誘発が認められ、用量依存的な増加傾向が示された。染色体異常の分類としては、染色分体切断よりも染色分体交換の頻度が若干高かった (表 2, 図 5)。

+S9 mix の結果から算出した  $D_{20}$  値は、以下の通りであった。

本試験 ; 2.00 mg/mL

確認試験 ; 3.14 mg/mL

数的異常を持つ細胞の出現頻度は、いずれの用量においても 5% 未満であった (表 1, 2, 図 5)。

+S9 mix において、すべての被験物質処理群において、被験物質処理終了時に、培養液中に沈殿および浮遊する被験物質が認められた。また、1500  $\mu\text{g/mL}$  以上の処理群において、培養液の黄変が認められた。細胞処理液の pH は、本試験の 2000  $\mu\text{g/mL}$  では 6.2 以下であったが、確認試験の 2000  $\mu\text{g/mL}$  では、6.2 以上であった (添付資料 1)。

陰性対照群における染色体構造異常または数的異常を持つ細胞の出現頻度は 5% 未満であった (表 1, 2, 図 4, 5)。また、陽性対照群における染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は 10% 以上であった (表 1, 2)。

短時間処理法において、陽性結果が得られたため、連続処理法の染色体異常試験は実施しなかった。

## 考察および結論

トリポリリン酸二水素アルミニウムの染色体異常誘発性を検討するため、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施した。

その結果、染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は、+S9 mix において 10%以上であった。本被験物質懸濁液を培養液に添加した際、一部の用量において、培養液の黄変（pH 低下）が認められた。しかし、確認試験で異常の認められた 2000  $\mu\text{g/mL}$  において、細胞処理液の pH は 6.2 以上であった。また、染色分体切断型と同程度またはより高い頻度で、染色分体交換型の異常が認められた。一般的に、pH の影響による染色体異常誘発は、pH6.2 以下で起こり、主に染色分体切断型が多く認められるとされている<sup>2</sup>。よって、この染色体異常誘発は、pH の低下に起因するものではなく、被験物質の染色体異常誘発性によるものと判断した。

一方、陰性対照および陽性対照群では染色体異常細胞の出現頻度は期待通りの値を示し、本試験が技術的に成立していることが示された。

従って、トリポリリン酸二水素アルミニウムは、本試験条件下において CHL/TU 細胞に対する染色体異常誘発性を有すると結論した。

なお、本物質の類似化合物の変異原性に関する情報を添付資料 2 にまとめた。

## 参考文献

1. 日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会 第 3 分科会 遺伝毒性ワーキンググループ編「医薬品のための遺伝毒性試験 Q&A」サイエンティスト社、東京、2000
2. T. Morita et al., “Effects of pH in the in vitro chromosomal aberration test”, Mutation Research, 225 (1989), 55-60

表 1 染色体異常試験の結果(短時間処理法)[本試験]

被験物質の名称 トリポリリン酸二水素アルミニウム

処理-回復 時間(h)	S9 mix	被験物質の用量 ( $\mu$ g/mL)	染色体構造異常細胞数(出現頻度%)							ギャップ の出現数	細胞増殖率 (%)	染色体数的異常細胞数(出現頻度%)				
			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	断片化	総異常細胞数(%)			観察細胞数	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)	
6-18	-	陰性対照 (DMSO)	100	1	0	0	0	0	0	1	0	105	100	0	0	0
			100	2	0	1	0	0	0	3	1	95	100	0	0	0
			200	3 ( 1.5 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	4 ( 2.0 )	1	100	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	-	6.25	100	0	0	0	0	0	0	0	0	81	100	0	0	0
			100	0	0	1	1	0	2	2	0	67	100	0	0	0
			200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	2 ( 1.0 )	0	74	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	-	12.5	100	0	0	0	0	0	0	0	1	76	100	0	0	0
			100	0	1	1	0	0	2	2	0	65	100	0	0	0
			200	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	2 ( 1.0 )	1	70	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	-	25	100	1	0	0	1	0	2	0	86	100	0	0	0	
			100	0	0	1	0	0	1	1	0	66	100	0	0	0
			200	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	3 ( 1.5 )	0	76	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	-	50	100	0	1	0	0	0	1	0	53	100	1	0	1	
			100	0	0	1	0	0	1	1	0	37	100	0	0	0
			200	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	2 ( 1.0 )	0	45	200	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )
6-18	-	100	100	1	0	1	0	0	2	1	18	100	2	0	2	
			100	2	0	1	0	0	3	0	19	100	0	0	0	
			200	3 ( 1.5 )	0 ( 0.0 )	2 ( 1.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	5 ( 2.5 )	1	19	200	2 ( 1.0 )	0 ( 0.0 )	2 ( 1.0 )
6-18	-	陽性対照 (MMC 0.1)	100	30	23	0	0	0	44	0	3	100	0	0	0	
			100	28	29	2	0	0	45	3	3	100	0	0	0	
			200	58 ( 29.0 )	52 ( 26.0 )	2 ( 1.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	89 ( 44.5 )	3	3	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	+	陰性対照 (DMSO)	100	0	0	0	0	0	0	0	1	108	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	1	0	92	100	0	0	0
			200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	1	100	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	+	250 P,S	100	0	0	0	0	0	0	0	0	93	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	1	0	101	100	0	0	0
			200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	0	97	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	+	500 P,S	100	0	0	0	0	0	0	0	0	53	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	55	100	1	0	1
			200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0	54	200	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )
6-18	+	1000 P,S	100	0	0	0	0	0	0	0	0	50	100	0	0	0
			100	0	1	0	0	0	1	1	0	35	100	0	0	0
			200	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )	0	42	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	+	1500 P,S,A	100	1	0	0	0	0	1	0	42	100	0	0	0	
			100	1	0	0	0	0	1	1	0	31	100	1	0	1
			200	2 ( 1.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	2 ( 1.0 )	0	36	200	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	1 ( 0.5 )
6-18	+	2000 P,S,A	100	20	29	1	0	0	33	2	18	100	0	0	0	
			TOX							TOX						
			100	20 ( 20.0 )	29 ( 29.0 )	1 ( 1.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	33 ( 33.0 )	2	10	100	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )
6-18	+	陽性対照 (BP 20)	100	33	86	1	0	0	88	0	2	100	0	0	0	
			100	30	93	0	0	0	93	2	2	100	0	0	0	
			200	63 ( 31.5 )	179 ( 89.5 )	1 ( 0.5 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	181 ( 90.5 )	2	2	200	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )	0 ( 0.0 )

DMSO:ジメチルスルホキシド  
MMC:マイトマイシンC  
BP:ベンゾ[a]ピレン

TOX:細胞毒性のため50個以上の分裂中期細胞が得られなかった。

P:被験物質処理(6時間処理)終了時、培養液中に沈殿している被験物質が認められた。  
S:被験物質処理(6時間処理)終了時、培養液中に浮遊している被験物質が認められた。  
A:被験物質処理(6時間処理)終了時、培養液の黄変が認められた。

表 2 染色体異常試験の結果(短時間処理法)[確認試験]

被験物質の名称 トリポリリン酸二水素アルミニウム

処理-回復 時間(h)	S9 mix	被験物質の用量 ( $\mu$ g/mL)	染色体構造異常細胞数(出現頻度%)							ギャップ の出現数	細胞増殖率 (%)	染色体数的異常細胞数(出現頻度%)			
			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	断片化	総異常細胞数(%)			観察細胞数	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
6-18	+	陰性対照 (DMSO)	100	0	2	1	0	0	3	0	112	100	0	0	0
			100	0	2	1	0	0	3	0	88	100	0	0	0
			200	0 ( 0.0)	4 ( 2.0)	2 ( 1.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	6 ( 3.0)	0	100	200	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)
6-18	+	1600 P,S,A	100	1	0	0	0	0	1	0	67	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	57	100	0	0	0
			200	1 ( 0.5)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	1 ( 0.5)	0	62	200	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)
6-18	+	1800 P,S,A	100	2	6	0	0	0	7	0	43	100	0	0	0
			100	1	2	0	0	0	2	0	36	100	0	0	0
			200	3 ( 1.5)	8 ( 4.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	9 ( 4.5)	0	40	200	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)
6-18	+	2000 P,S,A	100	7	15	0	0	0	16	0	34	100	0	1	1
			100	3	3	0	0	0	6	0	41	100	0	0	0
			200	10 ( 5.0)	18 ( 9.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	22 ( 11.0)	0	38	200	0 ( 0.0)	1 ( 0.5)	1 ( 0.5)
6-18	+	陽性対照 (BP 20)	100	29	83	0	0	0	86	2	/	100	0	0	0
			100	29	82	1	0	0	83	0		100	0	0	0
			200	58 ( 29.0)	165 ( 82.5)	1 ( 0.5)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	169 ( 84.5)	2		200	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)

DMSO:ジメチルスルホキシド

BP:ベンゾ[a]ピレン

P:被験物質処理(6時間処理)終了時,培養液中に沈殿している被験物質が認められた.

S:被験物質処理(6時間処理)終了時,培養液中に浮遊している被験物質が認められた.

A:被験物質処理(6時間処理)終了時,培養液の黄変が認められた.

図1 トリポリリン酸二水素アルミニウムの細胞毒性  
(短時間処理法・-S9 mix)

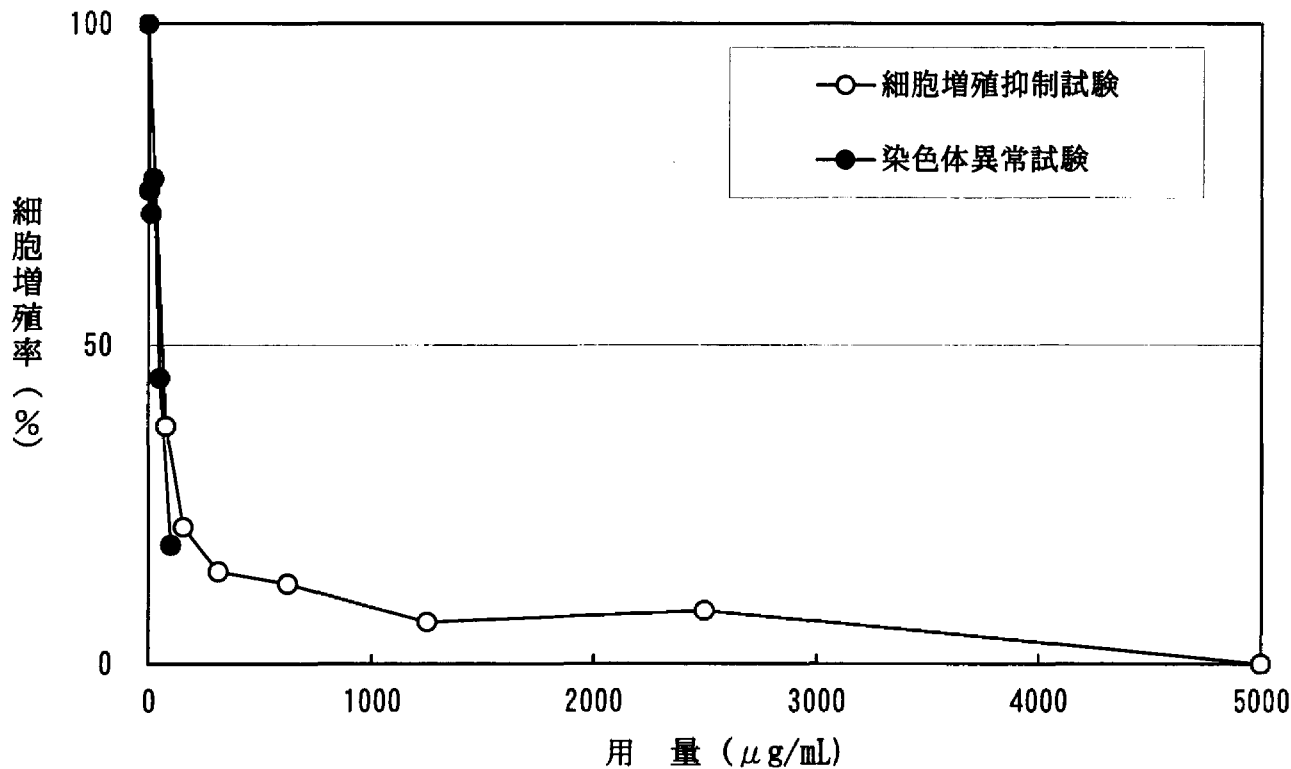


図2 トリポリリン酸二水素アルミニウムの細胞毒性  
(短時間処理法・+S9 mix)

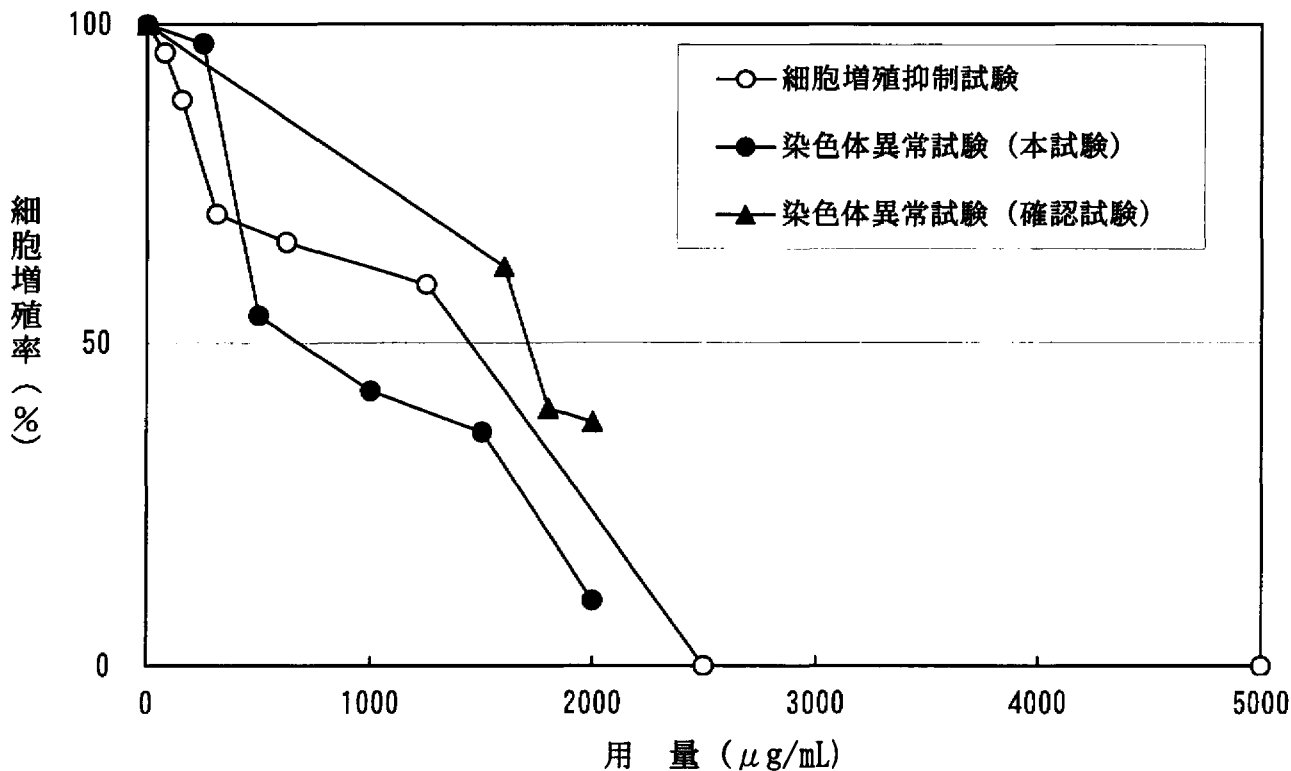




図3 トリポリリン酸二水素アルミニウムの細胞毒性  
(連続処理法)

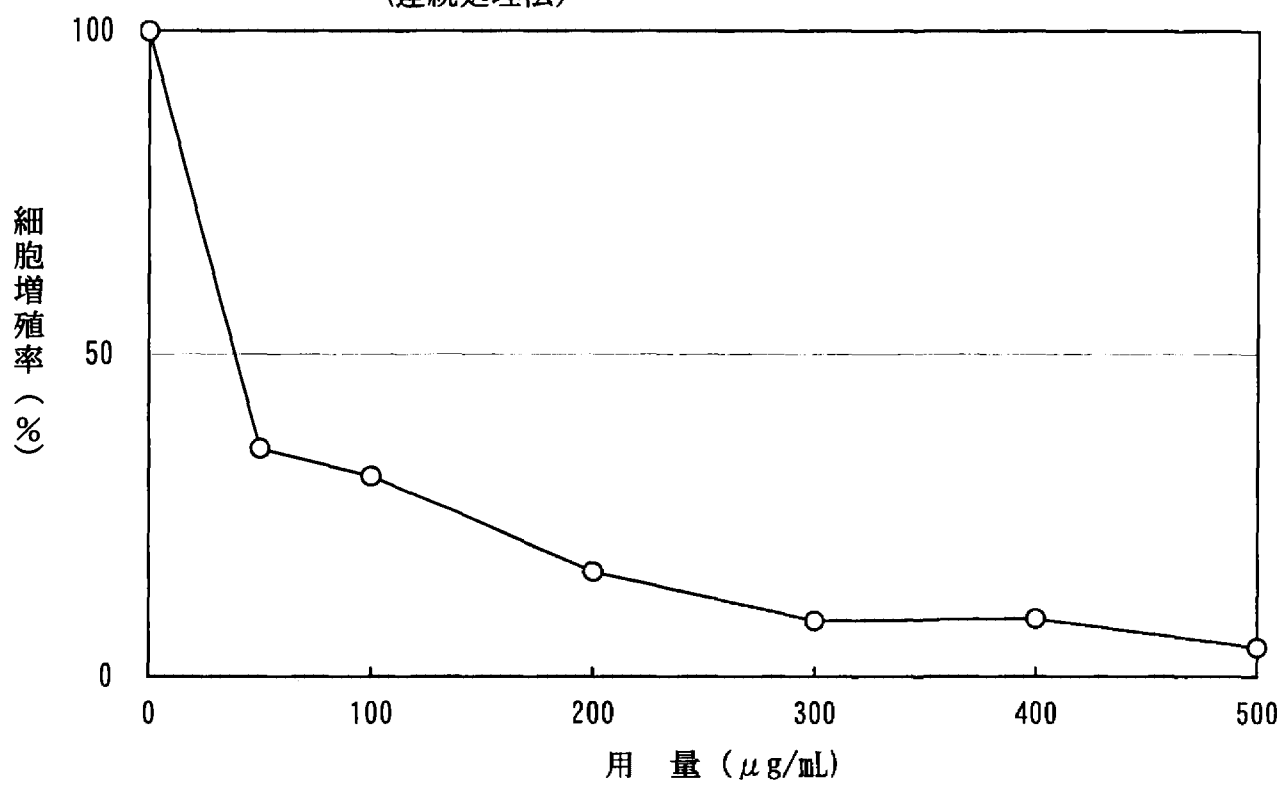


図4 トリポリリン酸二水素アルミニウムによる  
染色体異常細胞出現頻度  
(短時間処理法・-S9 mix)

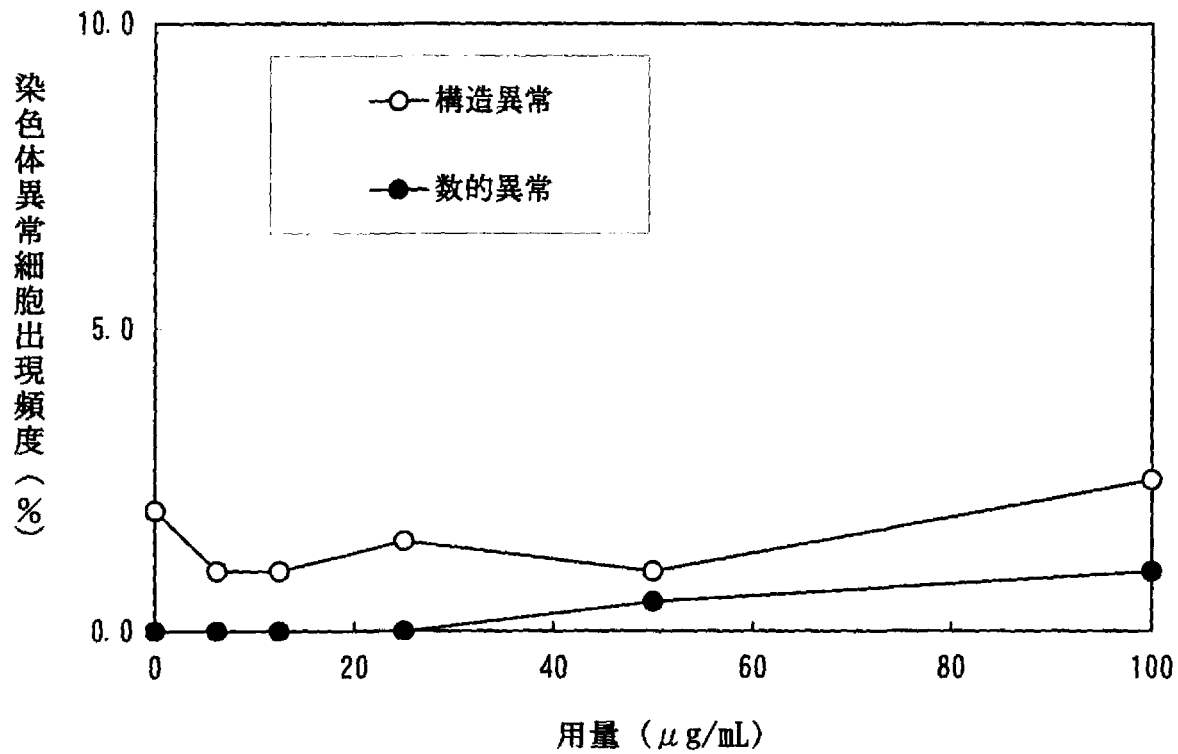


図5 トリポリリン酸二水素アルミニウムによる  
染色体異常細胞出現頻度  
(短時間処理法・+S9 mix)

