

最終報告書

1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム
のは乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

(試験番号: 99-175)

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	3
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	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	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

結論および参考事項	11
参考文献	11

表

表1	1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの 染色体異常試験結果（短時間処理法：S9 mix 非存在下）	13
表2	1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの 染色体異常試験結果（短時間処理法：S9 mix 存在下）	14
表3	1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの 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

1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム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 15.6 ~1000 $\mu\text{g/mL}$ 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 250 $\mu\text{g/mL}$ 以上、連続処理法では 125 $\mu\text{g/mL}$ 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、31.3, 62.5, 125, 187.5 および 250 $\mu\text{g/mL}$ 、連続処理法の場合は 15.6, 31.3, 62.5, 125, 187.5 および 250 $\mu\text{g/mL}$ 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、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陰性と判定した。

試 験 目 的

この試験は、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムのは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)： 1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム (HASM)

別名：ナトリウム α -スルホパルミチン酸メチル

CAS番号： 4016-24-4

ロット番号：

純 度： 97.0 % (平成12年2月3日分析)

不純物； α -スルホパルミチン酸二ナトリウム：0.4 %，メチル硫酸ナトリウム：0.3 %，パルミチン酸メチル：0.1 %，水：2.0 %

入手先(製造元)：

入 手 日： 平成12年3月6日

入 手 量： 250 g

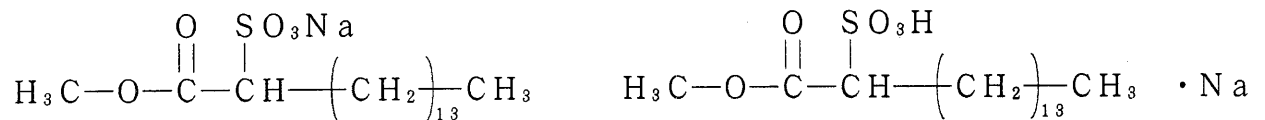
物理化学的性状：

化学名 Hexadecanoic acid, 2-sulfo-, 1-methylester, sodium salt

構造式

①

または ②



分子式 ① $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{O}_5\text{SNa}$ または ② $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{SNa}$

分子量 ①372.49 または ②373.49

性状(常温) 白色粉体

溶解性 水：0.2% (20°C)，10% (50~60°C)；ジメチルスルホキシド (DMSO)：5%

(20℃) ; アセトン : 0.01% (20℃)

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12年10月16日) した結果、純度は1回目測定 : 96.9%、2回目測定 : 97.0%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

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生理食塩液 (株式会社大塚製薬工場, ロット番号 K8H89) 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

予備的検討の結果、被験物質は生理食塩液および DMSO に不溶であった。生理食塩液においては良好な懸濁液を作製することができたため、溶媒には生理食塩液を用いた。

陽性対照物質の MNNG および B[a]P の溶媒については、DMSO (和光純薬工業株式会社, ロット番号 ACH7185, TPE7144, 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/1U) 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8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 1021800) 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 1026098) 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、CO₂インキュベーター (Napco 社) を用い、CO₂濃度 5%、空気 95%、温度 37 °C、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 (細胞増殖抑制試験：ロット番号 CAM-422, 平成12年 3月10日製造, 平成12年 3月28日購入; 染色体異常試験：ロット番号 CAM-424, 平成12年 4月14日製造, 平成12年 5月16日購入) し、-80°C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： 204~236 g (CAM-422), 203~233 g (CAM-424)

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) 投与方法 (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 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 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500 および 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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生理食塩液に懸濁して最高用量の供試液（原液）を調製した。次いで、原液の一部を生理食塩液で順次希釈して所定用量の供試液を調製した。被験物質の供試液の添加量は、各シャーレの培養液量の10 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、生理食塩液（陰性対照）または被験物質の供試液各 0.3 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、生理食塩液または被験物質の供試液各 0.3 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日後に生理食塩液または被験物質の供試液各 0.3 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させた。なお、短時間処理法および連続処理法ともに培養終了時において、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の用量で培養液中に被験物質の残存が認められた。

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は 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 S9 mix 非存在および存在下ともに 125~250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 間にあるものと判断された。連続処理法の場合は 125

$\mu\text{g/mL}$ 以上の用量で 50%を上回る細胞増殖抑制が認められ, 24時間処理では 125 $\mu\text{g/mL}$ でほぼ 50%細胞増殖抑制を示した。48時間処理では 62.5~125 $\mu\text{g/mL}$ 間に 50%細胞増殖抑制用量があるものと判断された。

〔短時間処理法〕

用 量 ($\mu\text{g/mL}$)	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]
15.6	102	94	[98.0]	114 110 [112.0]
31.3	88	97	[92.5]	116 122 [119.0]
62.5	94	96	[95.0]	123 126 [124.5]
125	70	64	[67.0]	105 102 [103.5]
250	5	2	[3.5]	5 4 [4.5]
500	3	2	[2.5]	3 7 [5.0]
1000	4	3	[3.5]	3 6 [4.5]

[] : 平均値

〔連続処理法〕

用 量 ($\mu\text{g/mL}$)	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]
15.6	103	98	[100.5]	101 103 [102.0]
31.3	92	95	[93.5]	92 97 [94.5]
62.5	91	91	[91.0]	82 83 [82.5]
125	48	50	[49.0]	34 36 [35.0]
250	3	6	[4.5]	3 6 [4.5]
500	7	7	[7.0]	0 2 [1.0]
1000	9	7	[8.0]	0 2 [1.0]

[] : 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、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設定した。すなわち、短時間処理法の場合は、最高用量を 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とし、以下公比 2 で 125, 62.5 および 31.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 4 用量、並びに 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 間で細胞増殖率の急激な変化が認められたことを考慮して、その中間量の 187.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を加えた計 5 用量とした。連続処理法 24 時間処理の場合は最高用量を 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とし、以下公比 2 で 125, 62.5, 31.3 および 15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 5 用量、並びに短時間処理法の場合と同様、187.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を加えた計 6 用量とした。陽性対照物質の MNNG は 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、B[a]P は 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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生理食塩液に懸濁して最高用量の供試液（原液）を調製した。次いで、原液の一部を生理食塩液で順次希釈し、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、生理食塩液および被験物質供試液は 0.3 mL、MNNG の供試液は 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、続いて生理食塩液および被験物質供試液は 0.3 mL、B[a]P の供試液は 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。

連続処理法の場合は、生理食塩液および被験物質供試液は 0.5 mL、MNNG の供試液は、0.025 mL を各シャーレに添加し、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 ($\mu\text{g/mL}$)	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
31.3	4	4
62.5	4	4
125	4	4
187.5	4	4
250	4	4
2.5 (陽性対照) ^b	2	--
10 (陽性対照) ^c	--	2

a : 生理食塩液, b : MNNG, c : B[a]P, 使用シャーレ総数 : 52

[連続処理法]

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	使用シャーレ数
0 (陰性対照) ^a	4
15.6	4
31.3	4
62.5	4
125	4
187.5	4
250	4
2.5 (陽性対照) ^b	2

a : 生理食塩液, b : MNNG, 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 1027174) を最終濃度として $0.2 \mu\text{g/mL}$ 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°C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、スライドガラスの2か所に1滴ずつ滴下し、室温で一晩自然乾燥させた。乾燥後、Sørensen 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、水洗後乾燥させた。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2.5%と低値であった。被験物質群では1.0ないし1.5%の範囲の出現頻度であり、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MNNGによる染色体構造異常細胞の出現頻度は97.0%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、62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 用量でのみ1.0%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1.5%と低値であった。被験物質群では、0~3.0%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27.0%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0~1.0%の範囲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3に示した。短時間処理法において染色体異常細胞の増加が認められなかったため、連続処理法24時間処理を行った。その結果、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1.0ないし2.0%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86.0%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、陰性対照および陽性対照群並びに被験物質群のいずれにおいても認められなかった。

結論および参考事項

1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムは、アルファスルホ脂肪酸エステル塩 (α -SF) に属するアニオン系界面活性剤である。本物質について変異原性に関する公表文献は見当たらないが、入手先の社内資料では *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験並びに CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験でいずれも陰性とされている。本物質以外のアニオン系界面活性剤には、アルキルベンゼンスルホン酸塩、ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩、 α -オレフィンスルホン酸塩、アルキル硫酸エステル塩、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、脂肪酸塩などがある。これらについては、広範な文献をレビューした単行本「洗剤の毒性とその評価」⁴⁾ で安全性が評価されており、変異原性に関してはいずれも陰性の結果が報告されている。

今回、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム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、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの 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⁵⁾ からみても明らかな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なわなかった。

参考文献

- 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 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) 厚生省環境衛生局食品化学課編集 “洗剤の毒性とその評価”, 社団法人日本食品衛生協会, 1983.
- 5) 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 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム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 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)							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	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	100	2	1	0	0	0	2	1		100	0	0	0
(生理食塩液)	100	2	0	0	1	0	3	0	100.0	100	0	0	0
0	200	4 (2.0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	5 (2.5)	1 (0.5)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
31.3	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
	100	1	0	0	0	0	1	0	98.0	100	0	0	0
	200	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
62.5	100	1	1	0	1	0	1	0		100	1	0	1
	100	2	1	0	0	0	2	1	94.5	100	1	0	1
	200	3 (1.5)	2 (1.0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	3 (1.5)	1 (0.5)		200	2 (1.0)	0 (0)	2 (1.0)
125	100	0	0	0	3	0	3	0		100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	67.0	100	0	0	0
	200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
187.5 [#]	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--	12.0	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
250 [#]	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--	14.0	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
陽性対照	100	38	96	0	2	0	99	1		100	0	0	0
(MNNG)	100	35	94	0	2	0	95	1	--	100	0	0	0
2.5	200	73 (36.5)	190 (95.0)	0 (0)	4 (2.0)	0 (0)	194 (97.0)**	2 (1.0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)

MNNG: 1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

**: $p < 0.01$.

#:細胞毒性のため、観察可能な分裂中期像認められず。

表2 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム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 ($\mu\text{g/mL}$)	染色体構造異常の細胞数(%)							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	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	100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0
(生理食塩液)	100	0	1	0	1	0	2	0	100.0	100	0	0	0
0	200	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
31.3	100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0
	100	1	1	0	1	0	2	0	95.0	100	0	0	0
	200	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	3 (1.5)	0 (0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
62.5	100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	0	1
	100	0	2	0	0	0	2	0	88.5	100	0	0	0
	200	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)		200	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)
125	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	1	89.0	100	0	0	0
	200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
187.5	100	1	2	0	0	0	3	0		100	1	0	1
	100	1	2	0	1	0	3	1	42.0	100	1	0	1
	200	2 (1.0)	4 (2.0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	6 (3.0)	1 (0.5)		200	2 (1.0)	0 (0)	2 (1.0)
250 #	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--	9.0	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
陽性対照	100	6	24	0	1	0	27	1		100	0	0	0
(B[a]P)	100	4	21	1	3	0	27	1	--	100	0	0	0
10	200	10 (5.0)	45 (22.5)	1 (0.5)	4 (2.0)	0 (0)	54 (27.0)**	2 (1.0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)

B[a]P:3,4-Benzo[a]pyrene.

**: $p < 0.01$.

#:細胞毒性のため、観察可能な分裂中期像認められず。

表3 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム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 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)							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	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	100	0	0	0	0	0	0	1		100	0	0	0
(生理食塩液)	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0
0	200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
15.6	100	1	0	0	0	0	1	1		100	0	0	0
	100	0	1	0	0	0	1	0	95.5	100	0	0	0
	200	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	1 (0.5)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
31.3	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
	100	1	0	0	0	0	1	0	105.0	100	0	0	0
	200	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	0 (0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
62.5	100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
	100	1	0	0	0	0	1	1	100.5	100	0	0	0
	200	2 (1.0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.0)	1 (0.5)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
125	100	1	0	0	1	0	2	0		100	0	0	0
	100	1	1	0	0	0	2	0	71.5	100	0	0	0
	200	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	4 (2.0)	0 (0)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)
187.5 [#]	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--	21.0	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
250 [#]	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--	19.0	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
陽性対照	100	12	79	0	1	0	82	2		100	0	0	0
(MNNG)	100	19	87	0	0	0	90	1	--	100	0	0	0
2.5	200	31 (15.5)	166 (83.0)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	172 (86.0)**	3 (1.5)		200	0 (0)	0 (0)	0 (0)

MNNG:1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

** : p<0.01.

#:細胞毒性のため、観察可能な分裂中期像認められず。

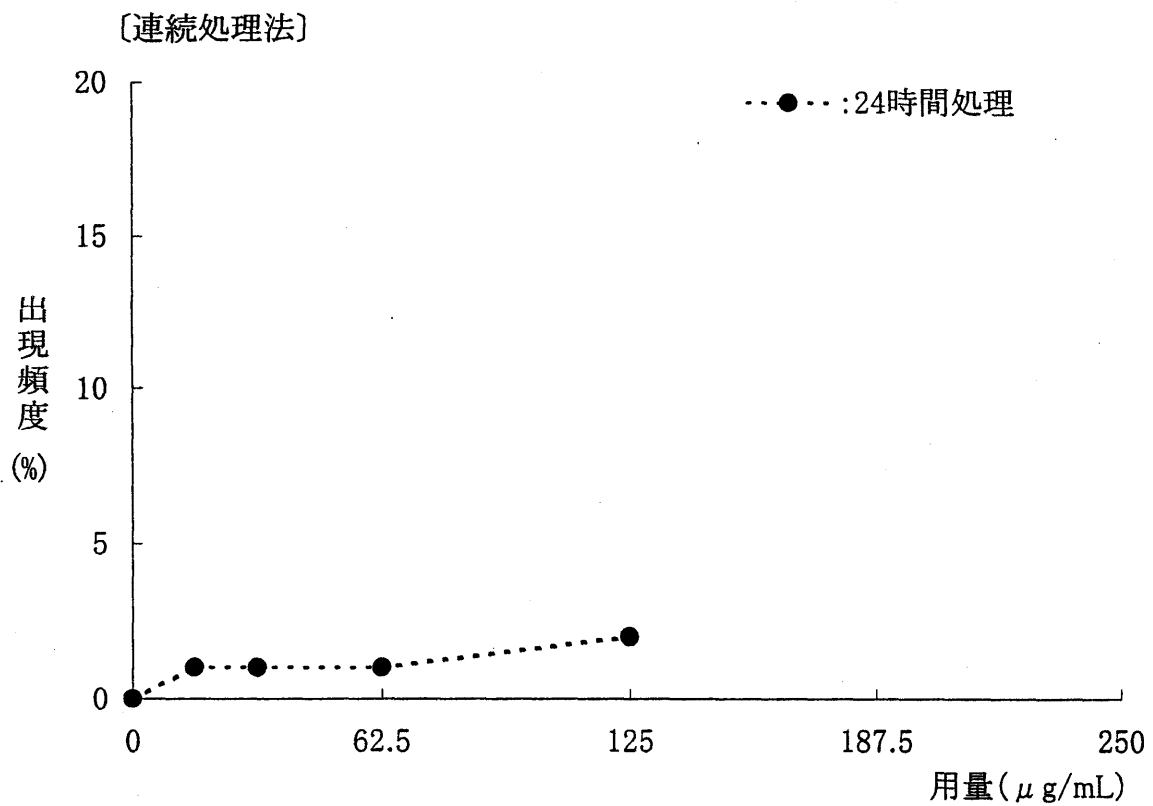
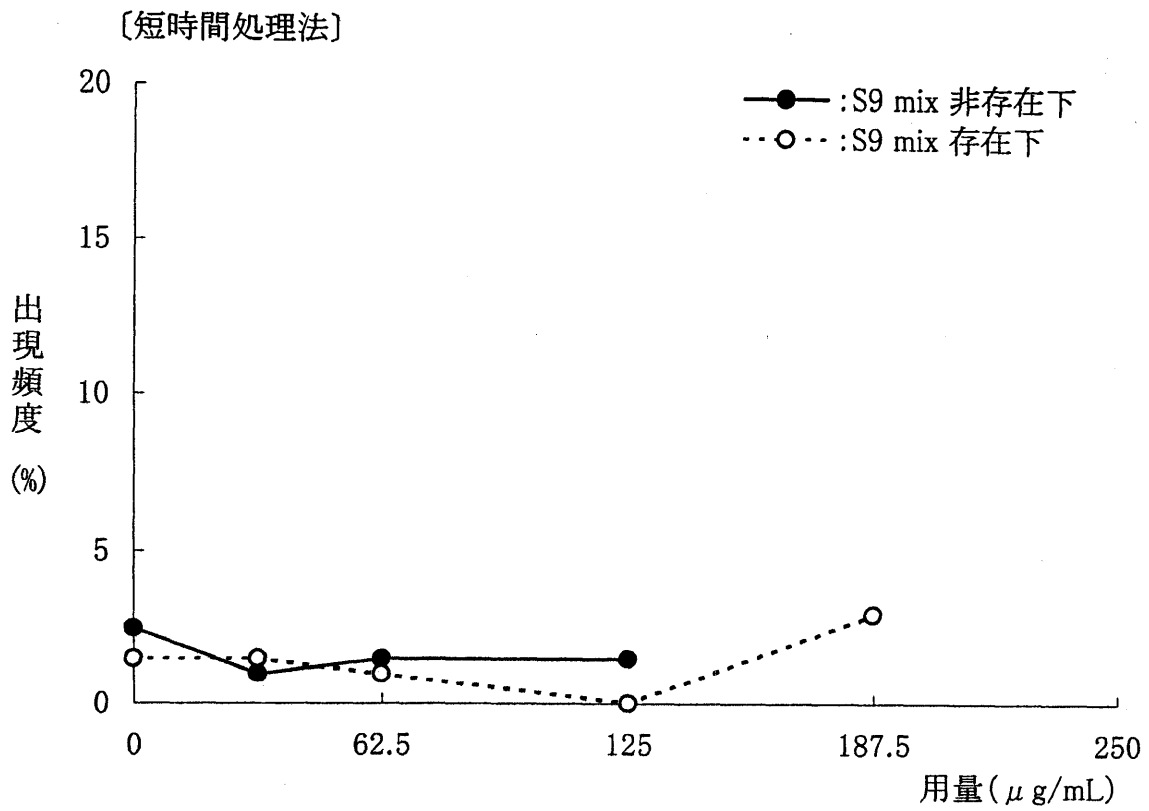


図1 構造異常を有する細胞の出現頻度

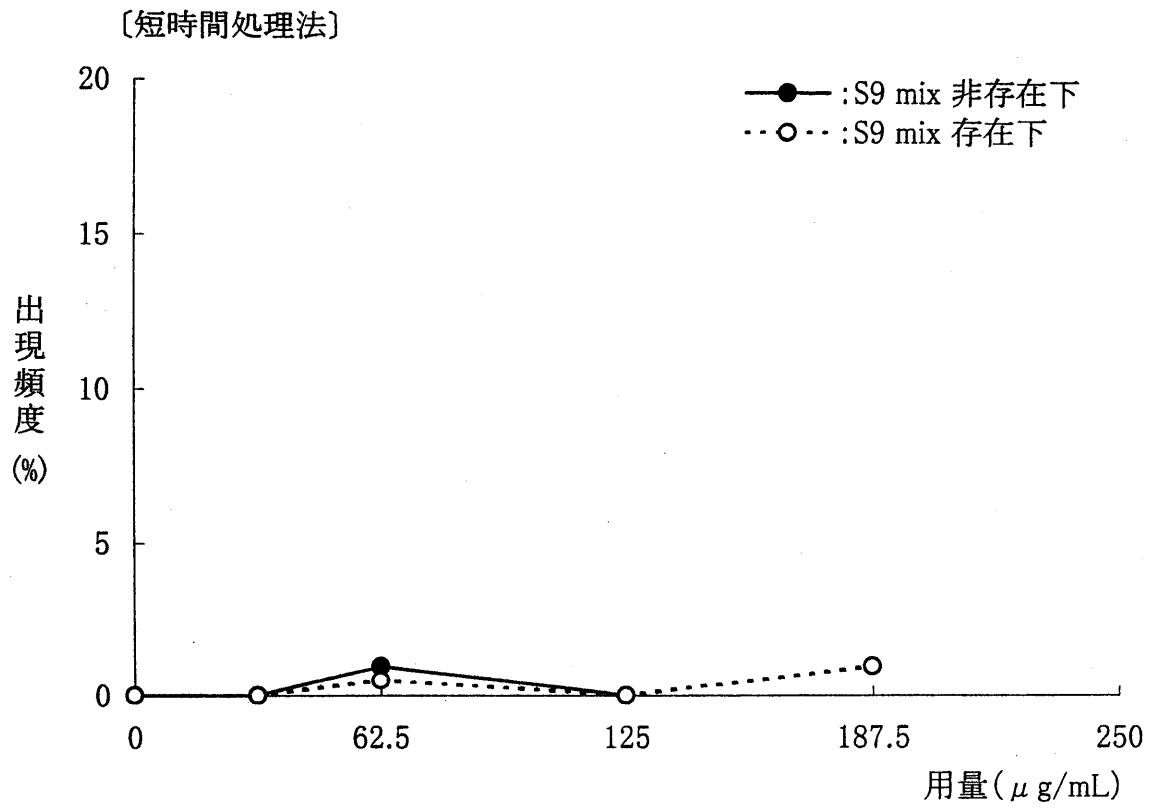


図2 数的異常を有する細胞の出現頻度