厚生省生活衛生局　殿

最 終 報 告 書

ディスパーズイエロー 42 のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

（試験番号：9L776）

2001 年 4 月 24 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目　次

要約 ---------- 7

材料および方法 ---------- 8

1. 試験物質 ---------- 8

2. 細胞 ---------- 9

3. 培地 ---------- 9

4. S9 mix ---------- 10

5. 試験方法 ---------- 10

結果 ---------- 15

考察および結論 ---------- 16

参考文献 ---------- 16

表 ---------- 17

図 ---------- 19

要　約

雌チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 CHL/IU を用い，ディスパーズイエロー 42 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，細胞増殖抑制試験は，短時間処理法の S9 mix 非共存下（－ S9 mix）および S9 mix 共存下（＋ S9 mix）について 10，20，40，80，120，160 μg/ml を設定した．その結果，被験物質の 50 %細胞増殖抑制用量は，－ S9 mix および＋ S9 mix においてそれぞれ 40.1，51 μg/ml であった．

従って，染色体異常試験（本試験 1）は，－ S9 mix および＋ S9 mix で 10，20，40，60，80 μg/ml を設定した．＋ S9 mix については本試験 1 の細胞増殖率測定の結果，いずれの用量においても 50 %以上の細胞増殖抑制が認められなかったため，10，20，40，60，80，100 μg/ml で再試験（本試験 2）を実施した．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 80 μg/ml おいて 32.8 %であったが，プレート間で染色体異常出現頻度に差が認められた．また，＋ S9 mix の 80，100 μg/ml において 23.0，14.0 %であり，用量依存性が認められなかった．この結果に基づき，－ S9 mix では 60，70，80 μg/ml，＋ S9 mix では 70，80，90，100 μg/ml で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，－ S9 mix の 80 μg/ml において 39.0 %，＋ S9 mix の 90 μg/ml において 11.0 %であり，染色体異常誘発の再現性が確認された．一方，数的異常細胞の出現頻度は＋ S9 mix および－ S9 mix のいずれの用量も 5 %未満であった．

以上の結果より，本試験条件下におけるディスパーズイエロー 42 の CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陽性と結論した．

材料および方法

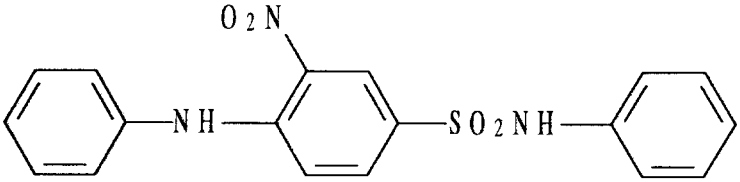
1. 試験物質

1.1 被験物質

1) 被験物質

から提供されたディスパーズイエロー 42 (CAS 番号 5124-25-4，ロット番号　，純度 68 %) を冷蔵・暗所に保存し使用した．被験物質は下記の構造式，分子量および不純物を有する，水に不溶，DMSO およびアセトンに可溶の黄土色湿潤品である．

構造式：



分子量：369.40

不純物：水 32 %

2) 被験物質溶液の調製

溶媒検討の結果，本被験物質は生理食塩液（以下生食）には 34 mg/ml で不溶であった．1 %カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液には 34 mg/ml で均一に懸濁しなかった．ジメチルスルホキシド (以下 DMSO) には 340 mg/ml（添加時最終用量：1700 mg/ml），アセトンには 240 mg/ml（添加時最終用量：2400 mg/ml）でそれぞれ溶解した．予備試験の結果，170 μg/ml（溶媒：DMSO）における細胞生存率が 0 %であった．上記の結果および標準操作手順書で規定した溶媒選択の優先順位に基づき，本被験物質の溶媒には DMSO を用いた．

被験物質を DMSO で所定用量に用時溶解した．これを同じ溶媒で希釈し，所定用量の被験物質溶液を調製した．

なお，被験物質秤量の際に純度換算（68 %）を実施した．

1.2 陰性対照物質

DMSO（関東化学㈱，ロット番号：010G1456，純度：99.7 %）

1.3 陽性対照物質

1) 陽性対照物質

マイトマイシンC

(以下 MMC，協和発酵工業㈱,

ロット番号：283AIG [本試験]，含量 104 %，286AIH [確認試験]，含量 109 %)

ベンゾ〔a〕ピレン

(以下 BP，東京化成工業㈱，ロット番号：GG01，含量 95.6 %)

2) 陽性対照物質の調製

MMC は，生食（㈱大塚製薬工場，ロット番号：K9L78）に 1 μg/ml で用時溶解した．BP は，DMSO（関東化学㈱，ロット番号：104G1307［本試験］，108G2036［確認試験］）に 4 mg/ml で溶解し，使用時まで凍結保存した．

2. 細胞

雌チャイニーズハムスター肺由来細胞株 CHL/IU を使用した．細胞は大日本製薬㈱より 1999 年 8 月 3 日に購入し，細胞懸濁液に対し最終 10 %の割合で DMSO を添加したものを 1 ml に小分けして，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，その後の継代数が 5 代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 ℃，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㈱）約 8.3 g を精製水 880 ml に溶解し，オートクレーブ滅菌（121 ℃，15 分間）後，別に滅菌処理した 2.92 % L- グルタミン水溶液と 10 %炭酸水素ナトリウム水溶液をそれぞれ 8.8 ml，11.2 ml 添加した．この溶液を以下 MEM とする．

3.2 培養液

MEM 900 ml に，非働化（56 ℃, 30 分間加熱処理）した仔牛血清 (GIBCO BRL, ロット番号：1019033）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 30 mg/kg，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㈱，ロット番号：RAA-418，2000 年 1 月 14 日製造［本試験 1，2］，ロット番号：RAA-425，2000 年 5 月 12 日製造［確認試験］）を購入した．購入した S9 は使用時まで -80 ℃ 以下に設定した超低温冷凍庫内で保存した．

4.2 S9 mix

S9 mix 1 ml あたり以下の組成で用時調製し，使用時まで氷中に保存した．

S9	0.3 ml
D- グルコース -6- リン酸	5 μ mol
β -NADP $^{+}$	4 μ mol
HEPES（pH 7.2）	4 μ mol
塩化マグネシウム六水和物	5 μ mol
塩化カリウム	33 μ mol
精製水	残量

5. 試験方法

5.1 短時間処理法

1) 細胞増殖抑制試験

(1) 試験物質用量

細胞増殖抑制試験に先立ち，－ S9 mix および＋ S9 mix で，17，170，1700 μg/ml の 3 用量（溶媒：DMSO）ならびに 24，240，2400 μg/ml の 3 用量（溶媒：アセトン）で予備試験を実施した．この試験では，1 用量あたり 1 枚のプレートを用い，細胞の状態を位相差倒立顕微鏡を用いて観察した．

その結果，陰性対照と比較した細胞生存率は下記の通りであった．

溶媒：DMSO

処理群 ＼ 用量（μg/ml）	17	170	1700
－ S9 mix	100 %	0 %	0 %
＋ S9 mix	100 %	0 %	80 %

溶媒：アセトン

処理群＼用量（μg/ml）	24	240	2400
－ S9 mix	100 %	0 %	80 %
＋ S9 mix	100 %	0 %	50 %

被験物質をプレートに添加した際，高用量処理群（1700 μg/ml [溶媒：DMSO]，2400 μg/ml [溶媒：アセトン]）では，被験物質は培養液表面に膜状および油滴状で浮遊した．一方，中用量処理群（170 μg/ml [溶媒：DMSO]，240 μg/ml [溶媒：アセトン]）では，被験物質の一部は膜状で浮遊したが，大部分は培養液中に分散した．高用量処理群よりも中用量処理群においてより強い細胞増殖抑制が認められたのは，被験物質が分散したことによって，より適切に細胞と接触した結果であると考えられた．

以上の結果から，細胞増殖抑制試験は，溶媒をDMSOとして下記の用量を設定した．

－ S9 mix：10，20，40，80，120，160 μg/ml

＋ S9 mix：10，20，40，80，120，160 μg/ml

(2) 細胞処理

4×10^3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 日間培養した．

培養液を除去した後，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 6 時間細胞を処理した．6 時間後，MEM で細胞表面を 1 回洗浄し，新しい培養液 5 ml でさらに 18 時間処理した．

	被験物質溶液 または陰性対照物質	S9 mix	培養液
－ S9 mix	0.015 ml	―――	3.0 ml
＋ S9 mix	0.015 ml	0.5 ml	2.5 ml

(3) 細胞増殖率の測定

細胞表面を Ca^{2+}，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㈱）で洗浄し，メタノールで 10 分間固定後，3 %ギムザ液で 10 分間染色し，乾燥させた． 染色した各プレートについて単層培養細胞密度計（モノセレーター，オリンパス光学工業㈱）を用いて細胞増殖率を測定した．

(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 (IC_{50}) を算出した．なお 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．

2) 染色体異常試験（本試験）

(1) 試験物質用量

細胞増殖抑制試験の結果は図 1 に示すごとく，IC_{50} は－ S9 mix および＋ S9 mix でそれぞれ 40.1，51 μg/ml であった．この結果より，染色体異常試験（本試験 1）は，下記の用量を設定した．

－ S9 mix：10，20，40，60，80 μg/ml

＋ S9 mix：10，20，40，60，80 μg/ml

本試験の細胞増殖率測定の結果，＋ S9 mix のいずれの用量においても 50 %以上の細胞増殖抑制が認められなかった．このため，＋ S9 mix について，下記の用量で再試験（本試験 2）を実施した．

＋ S9 mix：10，20，40，60，80，100 μg/ml

陽性対照である MMC，BP の用量はそれぞれ，染色体異常誘発性が知られている 0.1，20 μg/ml とした．

(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	培養液
－ S9 mix	0.3 ml	―――	―――	2.7 ml
＋ S9 mix	―――	0.015 ml	0.5 ml	2.5 ml

いずれの処理条件も，各用量あたり 4 枚のプレートを用い，2 枚を標本作製に，2 枚を細胞増殖率の測定に使用した．

(3) 標本作製

標本作製用プレートに処理終了の 2 時間前に最終用量が 0.1 μg/ml となるようにコルセミドを加え，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 %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．上清を除去し，各遠心管に0.075 M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）混合液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，少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箇所滴下して乾燥した．これを3％ギムザ溶液で20分間染色し，水洗，乾燥後，封入して観察標本とした．なお，標本は，各プレートにつき2枚作製した．

(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．細胞増殖率用のプレートを用いて，細胞増殖抑制試験と同様に実施した．

(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い，プレート1枚あたり50個以上の分裂中期細胞が得られる標本を観察の対象とした．なお，本試験1の＋S9 mixについては，細胞増殖率測定結果より再試験を行うこととしたので，予備鏡検および標本観察は実施しなかった．

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

標本はすべてをコード化し，プレート1枚につき100個，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[1]に従って観察した．ただし，構造異常がなく，染色体数が25±2本でない細胞は除外した．

- 染色分体型切断　（ctbと略す）
- 染色分体型交換　（cteと略す）
- 染色体型切断　（csbと略す）
- 染色体型交換　（二動原体，環状染色体など；cseと略す）
- 断片化　（frgと略す）

ギャップは，染色分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，核内倍加細胞を含む倍数体細胞を数えた．

(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，ギャップのみをもつ細胞を除いて集計した．

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（±），いずれか一方または両方が10％以上を陽性（＋）とした．

3) 染色体異常試験（確認試験）

本試験の結果，染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は－S9 mixの80 μg/mlにおいて32.8％であったが，プレート間で染色体異常出現頻度に差が認められた．また，＋S9 mixの80，100 μg/mlにおいて23.0，14.0％であり，用量依存性が認められなかった．この結果に基づき，以下の用量で確認試験を実施した．

－S9 mix：60，70，80 μg/ml

＋S9 mix：70，80，90，100 μg/ml

細胞処理，標本作製および観察は，本試験と同様に実施した．

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．

5.2 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．染色体構造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における用量依存性について図示した．

各試験条件について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．

結　果

結果を表1，2および図1～4に示す．

本試験の予備鏡検の結果，＋S9 mixの100 μg/mlの1枚のプレートから作製した標本において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た．

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80 μg/mlおいて32.8％であったが，プレート間で染色体異常出現頻度に差が認められた．また，＋S9 mixの80，100 μg/mlにおいて23.0，14.0％であり，用量依存性が認められなかった．この結果に基づき，確認試験を実施した．

確認試験の予備鏡検の結果，＋S9 mixの100 μg/ml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なかったため，観察の対象から除外した．

染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は，－S9 mixの80 μg/mlにおいて39.0％，＋S9 mixの90 μg/mlにおいて11.0％であり，染色体異常誘発（陽性）の再現性が確認された．

なお，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著しく増加した．

また，いずれの処理条件においても数的異常を持つ細胞の出現頻度は5％未満であった．

各処理条件で算出したD_{20}値は以下の通りとなった．

－S9 mix：本試験 0.082 mg/ml，確認試験 0.073 mg/ml

＋S9 mix：本試験 0.12 mg/ml，　確認試験 0.14 mg/ml

異常を持たない染色体像を写真1に，代表的な染色体異常像を写真2に示した．

考 察 お よ び 結 論

ディスパーズイエロー 42 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，本試験および確認試験において，－ S9 mix，S9 mix のいずれも，染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は 10 %以上となった.

染色体構造異常は，強い細胞増殖抑制の認められる用量において顕著に認められた．また異常出現頻度に用量依存性が認められるものの，非常に狭い用量範囲で急激に変化した．しかし，－ S9 mix および＋ S9 mix のいずれのおいても，狭い用量段階を設定した確認試験で高い再現性が認められたこと，また確認試験の＋ S9 mix では，細胞増殖率が平均 75 %であった 90 μg/ml でも染色体構造異常が平均 11.0 %誘発されていることから，これらの染色体構造異常誘発は細胞毒性等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考えられた.

一方，いずれの処理条件においても，染色体数的異常を持つ細胞の出現頻度は 5 %未満であった.

一方，陰性対照および陽性対照では染色体構造異常を有する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，ディスパーズイエロー 42 の CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陽性と結論した.

なお，類似化合物の染色体異常誘発性に関する情報は添付資料にまとめた.

参 考 文 献

1. 日本環境変異学会・哺乳動物試験分科会：“化学物質による染色体異常アトラス”
朝倉書店，東京，1988

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　ディスパーズイエロー42

処理-回復時間(h)	S9 mix	被験物質の用量 (μg/ml)	染色体構造異常細胞数(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(%)	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	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
6 − 18	−	陰性対照 (DMSO)	100	2	0	1	0	0	3	0	103	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	0	97	100	0	0	0
			200	2 (1.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	10	100	0	0	0	0	0	0	0	96	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	91	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	94	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	20	100	0	0	0	0	0	0	0	86	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	0	86	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	86	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	40	100	0	0	0	0	0	0	0	72	100	1	0	1
			100	0	0	0	0	0	0	0	57	100	0	2	2
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0:0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	65	200	1 (0.5)	2 (1.0)	3 (1.5)
6 − 18	−	60 F	100	1	0	0	0	0	1	0	56	100	0	1	1
			100	0	1	0	0	0	1	0	27	100	0	1	1
			200	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	41	200	0 (0.0)	2 (1.0)	2 (1.0)
6 − 18	−	80 F	60	13	23	1	0	0	30	1	0	60	0	0	0
			56	4	7	0	0	0	8	0	7	56	0	0	0
			116	17 (14.7)	30 (25.9)	1 (0.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	38 (32.8)	1	4	116	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	陽性対照 (MMC 0.1)	100	19	37	0	0	0	48	3	104	100	0	0	0
			100	13	26	1	0	0	33	0	95	100	0	0	0
			200	32 (16.0)	63 (31.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	81 (40.5)	3	99	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	陰性対照 (DMSO)	100	0	0	0	0	0	0	1	98	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	102	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	10	100	0	0	0	0	0	0	0	102	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	87	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	94	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	20	100	2	0	1	0	0	2	0	92	100	1	0	1
			100	0	0	0	1	0	1	0	100	100	0	0	0
			200	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	96	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
6 − 18	+	40	100	0	1	0	0	0	1	0	102	100	0	0	0
			100	1	1	0	0	0	2	0	102	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	102	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	60	100	0	0	0	0	0	0	0	106	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	1	106	100	1	0	1
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1	106	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
6 − 18	+	80 F	100	11	24	0	0	0	30	2	27	100	0	0	0
			100	7	13	0	0	0	16	0	21	100	0	0	0
			200	18 (9.0)	37 (18.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	46 (23.0)	2	24	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	100 F	100	5	12	1	0	0	14	1	0	100	0	0	0
			TOX								23	TOX			
			100	5 (5.0)	12 (12.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	14 (14.0)	1	11	100	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	陽性対照 (BP 20)	100	17	77	0	0	0	77	2	102	100	0	0	0
			100	18	86	0	0	0	86	1	85	100	0	0	0
			200	35 (17.5)	163 (81.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	163 (81.5)	3	94	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

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

TOX：細胞毒性のため，プレートあたり50個以上の分裂中期像が得られなかった．

F：被験物質処理（6時間処理）終了時に，培養液表面に膜状の被験物質が認められた．

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　ディスパーズイエロー42

処理-回復時間(h)	S9 mix	被験物質の用量(μg/ml)	染色体構造異常細胞数(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(%)	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	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
6 − 18	−	陰性対照（DMSO）	100	1	2	2	0	0	5	1	105	100	1	0	1
			100	2	0	0	0	0	2	0	95	100	0	0	0
			200	3 (1.5)	2 (1.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (3.5)	1	100	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
6 − 18	−	60 F	100	1	0	0	1	0	1	0	59	100	1	0	1
			100	0	0	0	0	0	0	0	47	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	53	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
6 − 18	−	70 F	100	0	0	2	0	0	2	0	21	100	0	0	0
			100	0	1	1	0	0	2	1	20	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	1	20	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	80 F	100	31	36	1	0	0	45	11	2	100	0	0	0
			100	20	23	0	0	0	33	3	5	100	0	0	0
			200	51 (25.5)	59 (29.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	78 (39.0)	14	3	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	陽性対照（MMC 0.1）	100	25	26	3	0	0	42	4	108	100	0	0	0
			100	30	25	2	0	0	48	3	110	100	0	0	0
			200	55 (27.5)	51 (25.5)	5 (2.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	90 (45.0)	7	109	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	110	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	0	90	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	70 F	100	1	2	2	0	0	4	1	123	100	2	0	2
			100	0	0	0	0	0	0	0	138	100	2	0	2
			200	1 (0.5)	2 (1.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	1	130	200	4 (2.0)	0 (0.0)	4 (2.0)
6 − 18	+	80 F	100	0	0	3	0	0	3	0	128	100	2	1	3
			100	1	5	0	0	0	5	0	118	100	1	1	2
			200	1 (0.5)	5 (2.5)	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (4.0)	0	123	200	3 (1.5)	2 (1.0)	5 (2.5)
6 − 18	+	90 F	100	10	10	4	0	0	18	1	100	100	0	0	0
			100	1	4	0	0	0	4	1	50	100	0	0	0
			200	11 (5.5)	14 (7.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	22 (11.0)	2	75	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	100 F	TOX								0	TOX			
											8				
											4				
6 − 18	+	陽性対照（BP 20）	100	16	64	0	0	0	66	1	160	100	1	0	1
			100	12	69	0	0	0	71	1	173	100	0	0	0
			200	28 (14.0)	133 (66.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	137 (68.5)	2	166	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)

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

TOX：細胞毒性のため，プレートあたり50個以上の分裂中期像が得られなかった．

F：被験物質処理（6時間処理）終了時に，培養液表面に膜状の被験物質が認められた．

図１　ディスパーズイエロー42の細胞毒性
(短時間処理法・－S9 mix)

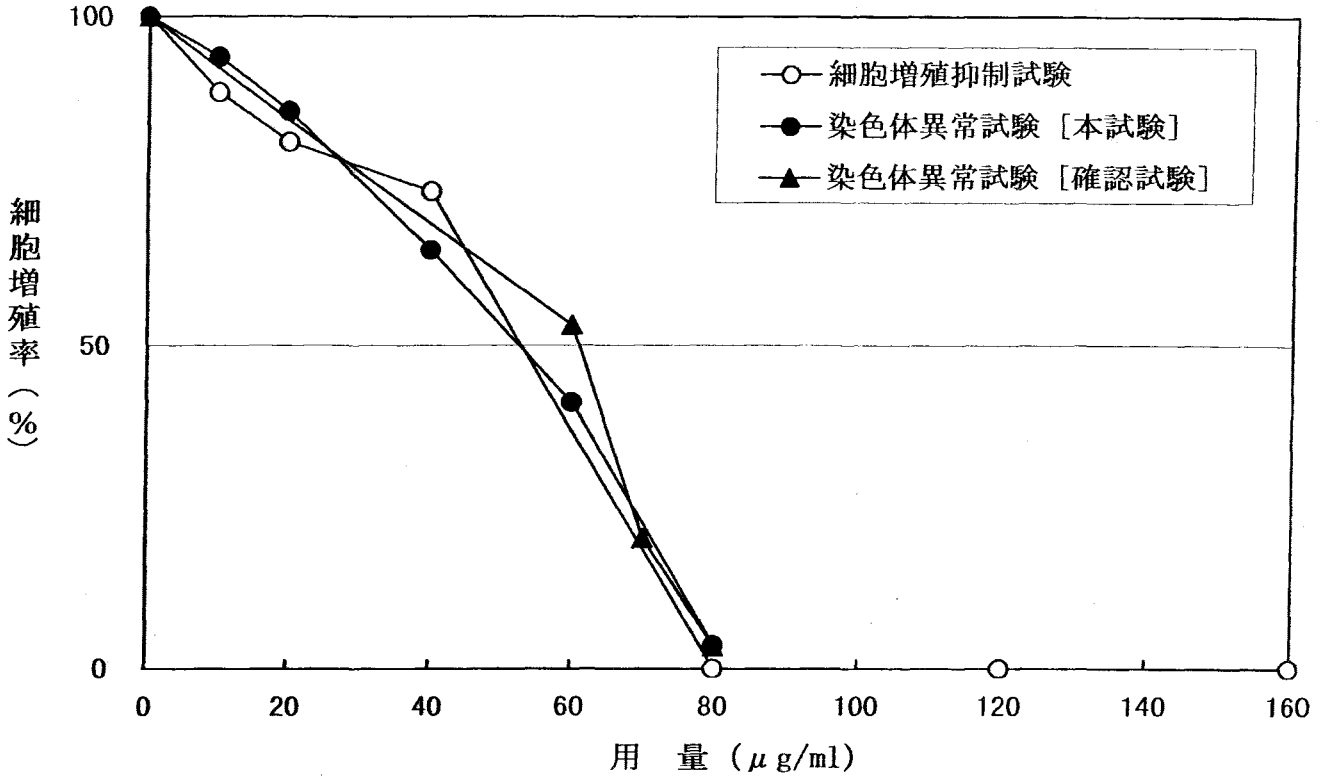


図２　ディスパーズイエロー42の細胞毒性
(短時間処理法・＋S9 mix)

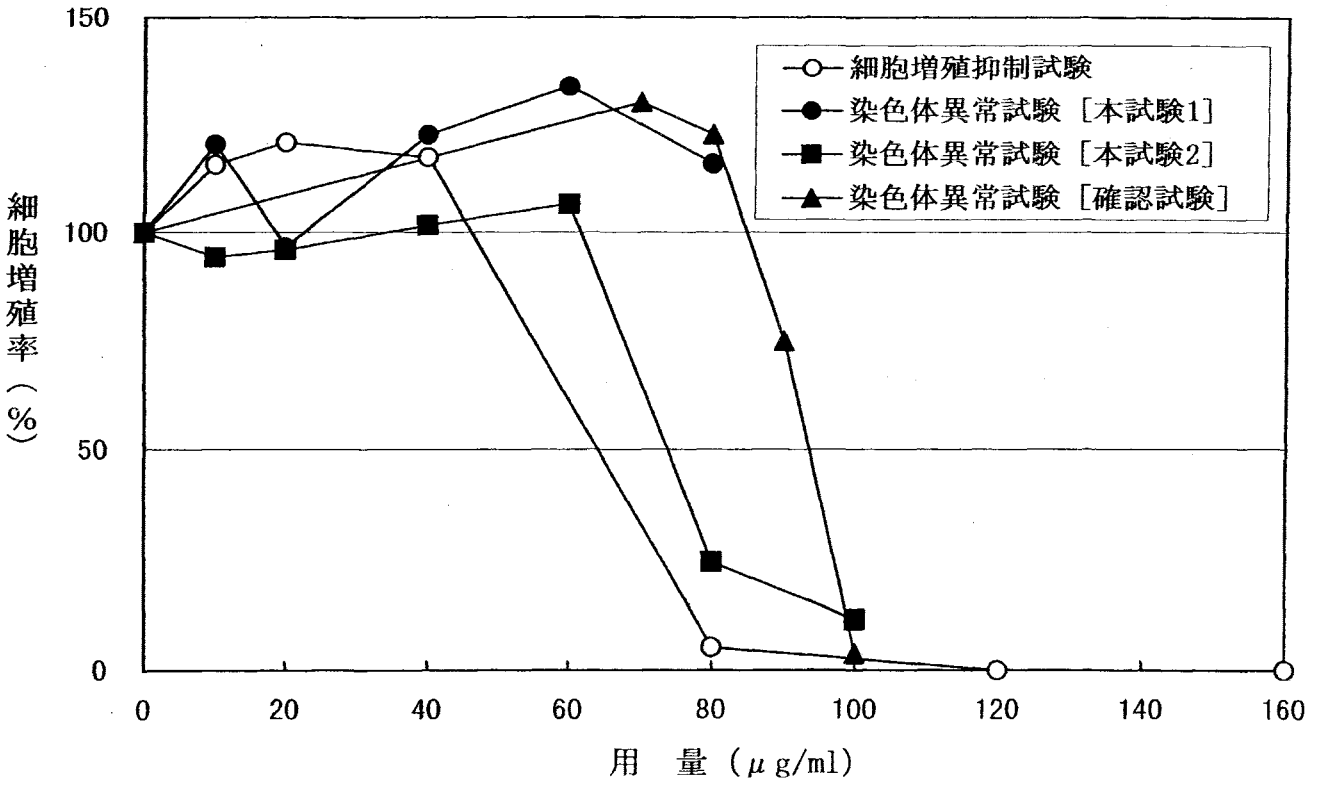


図３　ディスパーズイエロー42 の構造異常細胞出現頻度
(短時間処理法)

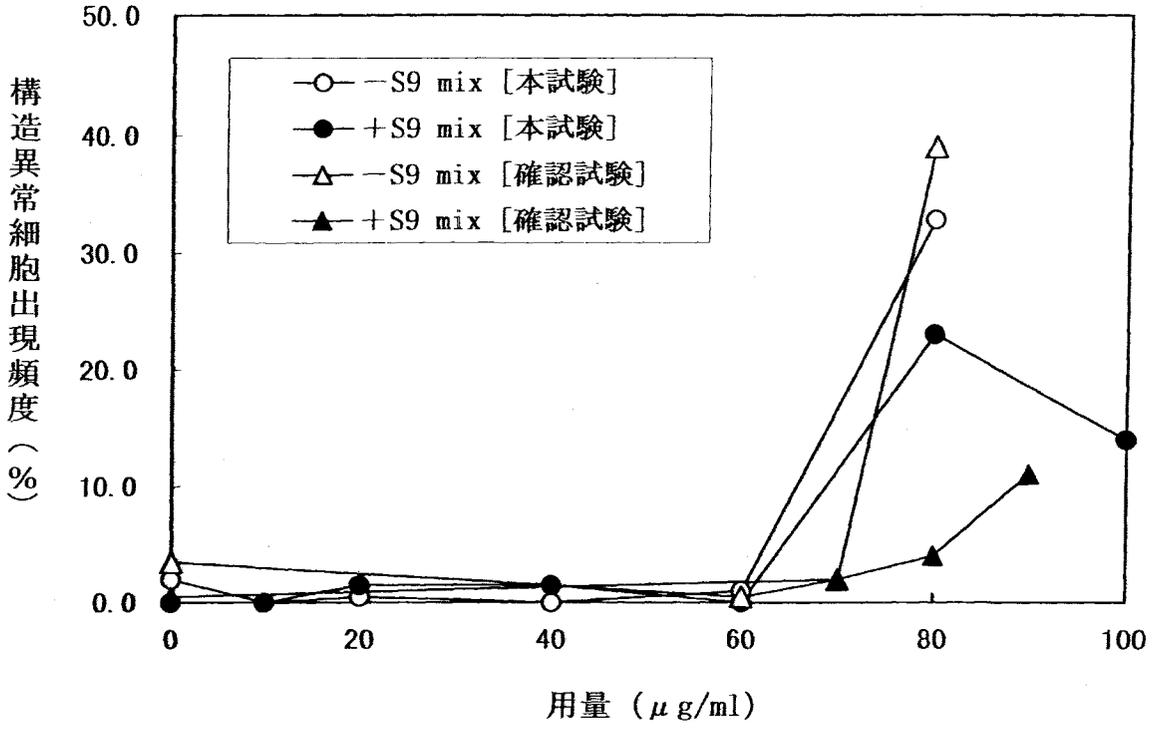
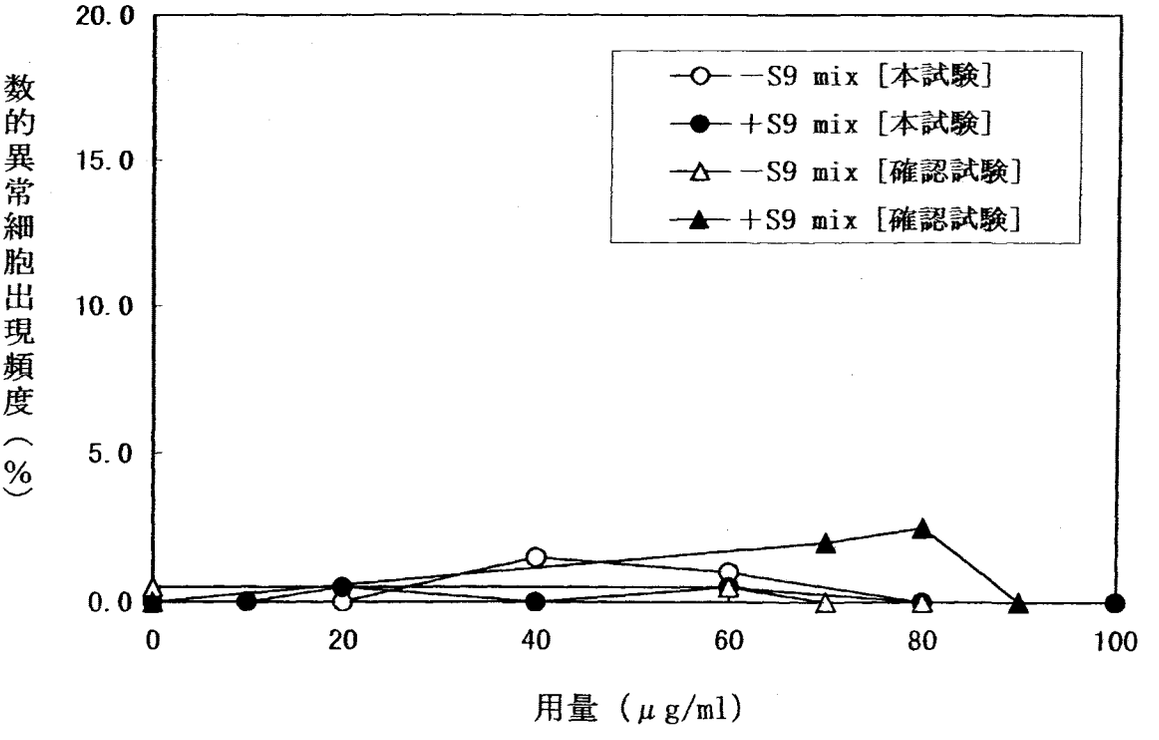



図４　ディスパーズイエロー42 の数的異常細胞出現頻度
(短時間処理法)