最 終 報 告 書

四臭化エタンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

（試験番号：00-259）

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 …… 4
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 …… 6
1）被験物質および陽性対照物質の用量 …… 6
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　四臭化エタンの染色体異常試験結果
（短時間処理法：S9 mix 非存在下）…… 13
表１－２　四臭化エタンの染色体異常試験結果
（短時間処理法：S9 mix 存在下）…… 14
表２　四臭化エタン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

四臭化エタン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 54.1～3460μg/mL の範囲で細胞増殖抑制試験を行った。その結果，短時間処理法および連続処理法ともに 432.5μg/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，短時間処理法の場合は S9 mix 非存在下では 55，110，220，330，440 および 880μg/mL，S9 mix 存在下では 55，110，220，330 および 440μg/mL，連続処理法の場合は 55，110，220，330 および 440μg/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，四臭化エタンの 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，四臭化エタン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：　四臭化エタン，英名　tetrabromoethane（TBE）

別　　名：　acetylene tetrabromide，*sym*-tetrabromoethane，Muthmann's liquid，TBE，tetrabromoacetylene，S-tetrabromoethane

ＣＡＳ番号：　79-27-6

ロット番号：

純　　度：　99.2%（分析日：平成 13 年 3 月 8 日）
不純物：安定剤として，1,2-ブチレンオキサイドを 0.2%添加

入 手 先：

入 手 日：　平成 13 年 3 月 26 日

入 手 量：　250 g

物 性 等：

化学名	1，1，2，2－テトラブロモエタン（1，1，2，2－tetrabromoethane）
示性式	$Br_2(CH)_2Br_2$
分子式	$C_2H_2Br_4$
分子量	345.65
性状(常温)	無色または淡黄色の透明液体で，樟脳に似た臭気を有する。
融点	0℃
沸点	151℃
比重	2.962（20/4℃）
蒸気圧	133 Pa（65℃）
溶解性	油溶性〔水に不溶，ジメチルスルホキシド（DMSO）に 100 mg/mL 以上，エタノール，エーテル，クロロホルム，四塩化炭素，アニリンに可溶〕

安　定　性：安定［実験終了後，(財)畜産生物科学安全研究所において保管した残余被験物質を　　において分析(平成14年1月18日，GC法）した結果，純度は99.2%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DMSO(和光純薬工業株式会社，ロット番号DWP7008，100%）を用いた。陽性対照物質は，連続処理法および短時間処理法S9 mix非存在下では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S9 mix存在下では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

被験物質は水に不溶であり，DMSOに100mg/mL以上可溶であることから，溶媒にはDMSOを用いた。

陽性対照物質のMNNGおよびB[*a*]Pについては，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。

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，細胞懸濁液に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 1084659）を常法に従い調製し，これに非動化（56℃，30分間加熱処理）仔牛血清（Gibco Laboratories，

ロット番号 1092314，1101210）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分画（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(ロット番号:CAM-447，2001年6月29日製造，2001年7月19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あたりの組成は，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：　211～241g

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(9000×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 54.1，108.1，216.3，432.5，865，1730 および 3460 μg/mL（10 mM 相当）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 DMSO に溶解して最高用量の供試液（原液）を調製し，次いで，原液の一部を DMSO 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 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，ＤＭＳＯ（陰性対照）または被験物質の供試液各 0.015 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，ＤＭＳＯまたは被験物質の供試液各 0.015 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，新鮮培養液で細胞表面を 1 回洗浄し，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ＤＭＳＯまたは被験物質の供試液各 0.025 mL をシャーレに加えて 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，10vol%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，0.1w/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。

なお，短時間処理法および連続処理法ともに 865 μg/mL 以上の用量では，被験物質の供試液を培養液中に添加すると直ちに粒状の被験物質の析出が認められ，所定の培養時間終了時まで残存した。

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，短時間処理法および連続処理法のいずれの場合も 432.5μg/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 216.3～432.5μg/mL の用量域にあると判断された。

〔短時間処理法〕

用　量 (μg/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]
54.1	87	75	[81.0]	102	115	[108.5]
108.1	74	62	[68.0]	92	104	[98.0]
216.3	85	87	[86.0]	75	87	[81.0]
432.5	40	41	[40.5]	30	28	[29.0]
865	15	9	[12.0]	20	16	[18.0]
1730	9	11	[10.0]	19	22	[20.5]
3460	42	34	[38.0]	33	22	[27.5]

[　]：平均値

〔連続処理法〕

用　量 (μg/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]
54.1	97	95	[96.0]	105	101	[103.0]
108.1	91	94	[92.5]	97	96	[96.5]
216.3	67	68	[67.5]	96	91	[93.5]
432.5	27	13	[20.0]	13	8	[10.5]
865	14	8	[11.0]	5	5	[5.0]
1730	11	7	[9.0]	6	6	[6.0]
3460	25	13	[19.0]	34	18	[26.0]

[　]：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，S9 mix 非存在下では 880μg/mL を最高用量とし，以下公比 2 で 440，220，110 および 55μg/mL の 5 用量，並びに 216.3μg/mL と 432.5μg/mL 間で細胞増殖率に急激な変化が認められたことを考慮して，ほぼその中間量の 330μg/mL を加えた計 6 用量とした。また，S9 mix 存在下では 440μg/mL を最高用量とし，以下公比 2 で 220，110 および 55μg/mL の 4 用量，

並びにS9 mix非存在下と同様，330μg/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，440μg/mL を最高用量とし，以下公比2で220，110および55μg/mLの4用量，並びに短時間処理法の場合と同様，330μg/mLを加えた計5用量とした。陽性対照物質のMNNGは2.5μg/mL，B[*a*]Pは10μg/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を調製した。次いで，原液の一部をDMSO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用の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，DMSO，被験物質供試液およびMNNGの供試液をそれぞれ0.015 mLずつ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，被験物質供試液およびB[*a*]Pの供試液をそれぞれ0.015 mLずつ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，新鮮培養液で細胞表面を1回洗浄し，新しい培養液5 mLを加え，さらに18時間培養した。なお，S9 mix非存在下の880μg/mLでは，その供試液を培養液中に添加すると直ちに粒状の被験物質の析出が認められ，培養終了時まで残存した。

連続処理法の場合は，DMSO，被験物質供試液およびMNNGの供試液をそれぞれ0.025 mLずつ各シャーレに加え，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(μg/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
55		4	4
110		4	4
220		4	4
330		4	4
440		4	4
880		4	--
2.5	(陽性対照)[b]	2	--
10	(陽性対照)[c]	--	2

a：DMSO，b：MNNG，c：B[*a*]P，使用シャーレ数：56

〔連続処理法〕

用量(μg/mL)		使用シャーレ数
		24 時間処理
0	(陰性対照)[a]	4
55		4
110		4
220		4
330		4
440		4
2.5	(陽性対照)[b]	2

a：DMSO，b：MNNG，使用シャーレ数：26

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 1081687，109755）を最終濃度として0.2μg/mLとなるように添加した。培養終了後，培養液を取り除き，0.2w/v%トリプシン水溶液2mL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，1000rpm，5 分間遠心分離した。上清を捨て，細胞沈渣に低張液の 75mM 塩化カリウム水溶液 4mL 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）1mL を添加して固定した。1000rpm 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4mL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ヶ所に1滴ずつ滴下し，室温で一晩自然乾燥した。乾燥後，Sørensen 緩衝液（pH6.8，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，10vol%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，0.1w/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，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

染色体の観察は 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。構造異常および数的異常の総数は，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，さらに用量依存性が認められた場合，染色体異常誘発性は陽性と判定した。なお，単一用量でのみ有意な増加が認められた場合は，それに近い用量を用いて確認試験を行い，その結果，再現性のある結果が認められた場合には，染色体異常誘発性は陽性とした。

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 1-1 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%と低値であった。被験物質群では 0.5～3.5%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 99.0%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，陰性対照群では 0.5%の低い出現頻度で認められた。被験物質群では 220 および 440 μg/mL でのみ 0.5%の低い出現頻度で認められた。陽性対照群では，倍数体は認められなかった。

2．染色体異常試験（短時間処理法：S9 mix 存在下）

結果は表 1-2 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 1.0%と低値であった。被験物質群では 0.5～2.0%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 61.5%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，陰性対照群および陽性対照群では認められなかった。被験物質群においては，55 および 220 μg/mL でのみ 0.5%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 2 に示した。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 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 99.5%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 0～1.5%の範囲の低い出現頻度で認められた。

結論および参考事項

四臭化エタンの変異原性については *S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験で陽性[4]，また，大腸菌を用いた DNA 修復試験においても陽性[5,6]と報告されている。

今回，四臭化エタン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，四臭化エタンの 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[7]からみても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 tests 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) Strobel, K. and Grummt, T. (1987). Aliphatic and aromatic halocarbons as potential mutagens in drinking water. III. Halogenated ethanes and ethenes., *Toxicoligical and Environmental Chemistry*, **15**, 101-128.

5) Rosenkranz, H. S., Gutter, B. and Speck W. T. (1976). Mutagenicity and DNA-modifying activity : A comparison of two microbial assays, *Mutation Research*, **41**, 61-70.

6) Brem, H. Stein, A. B. and Rosenkranz, H. S. (1974). The mutagenicity and DNA-modifying effect of haloalkanes, *Cancer Research*, **34**, 2576-2579.

7) 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　四臭化エタン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	染色体構造異常の細胞数(%)								ｷﾞｬｯﾌﾟの	細胞	染色体の数的異常の細胞数(%)			
の用量	観察	染色分体		染色体		その他	総異常		出現数	増殖率	観察	倍数体	その他	総異常
(μg/mL)	細胞数	切断	交換	切断	交換		細胞数		(%)	(%)	細胞数			細胞数
陰性対照	100	0	0	0	1	0	1		0		100	0	0	0
0	100	2	0	0	0	0	2		1	100.0	100	1	0	1
	200	2	0	0	1	0	3		1		200	1	0	1
		(1.0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(1.5)		(0.5)			(0.5)	(0)	(0.5)
55	100	0	1	0	0	0	1		0		100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0		0	95.0	100	0	0	0
	200	0	1	0	0	0	1		0		200	0	0	0
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)		(0)			(0)	(0)	(0)
110	100	2	0	0	1	0	3		0		100	0	0	0
	100	2	2	0	1	0	4		0	85.0	100	0	0	0
	200	4	2	0	2	0	7		0		200	0	0	0
		(2.0)	(1.0)	(0)	(1.0)	(0)	(3.5)		(0)			(0)	(0)	(0)
220	100	0	1	0	0	0	1		0		100	0	0	0
	100	1	0	0	1	0	1		1	85.0	100	1	0	1
	200	1	1	0	1	0	2		1		200	1	0	1
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)	(1.0)		(0.5)			(0.5)	(0)	(0.5)
330	100	0	0	0	0	0	0		0		100	0	0	0
	100	1	0	0	0	0	1		0	85.5	100	0	0	0
	200	1	0	0	0	0	1		0		200	0	0	0
		(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0.5)		(0)			(0)	(0)	(0)
440	100	0	0	0	0	0	0		0		100	0	0	0
	100	2	0	0	0	0	2		1	55.5	100	1	0	1
	200	2	0	0	0	0	2		1		200	1	0	1
		(1.0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1.0)		(0.5)			(0.5)	(0)	(0.5)
880 #	100	--	--	--	--	--	--		--		100	--	--	--
	100	--	--	--	--	--	--		--	10.0	100	--	--	--
	200	--	--	--	--	--	--		--		200	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)		(--)			(--)	(--)	(--)
陽性対照	100	48	100	4	1	0	100		2		100	0	0	0
2.5	100	33	98	3	0	0	98		0	--	100	0	0	0
	200	81	198	7	1	0	198		2		200	0	0	0
		(40.5)	(99.0)	(3.5)	(0.5)	(0)	(99.0)**		(1.0)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:ジメチルスルホキシド.

陽性対照: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は認められなかった。

表 1-2　四臭化エタンの染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix存在下)

被験物質	染色体構造異常の細胞数(%)							ｷﾞｬｯﾌﾟの	細胞	染色体の数的異常の細胞数(%)			
の用量	観察	染色分体		染色体		その他	総異常	出現数	増殖率	観察	倍数体	その他	総異常
(μg/mL)	細胞数	切断	交換	切断	交換		細胞数	(%)	(%)	細胞数			細胞数
陰性対照	100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0
0	100	0	1	0	0	0	1	1	100.0	100	0	0	0
	200	0	2	0	0	0	2	1		200	0	0	0
		(0)	(1.0)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0.5)			(0)	(0)	(0)
55	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	100	0	1	0	0	0	1	0	92.0	100	1	0	1
	200	0	1	0	0	0	1	0		200	1	0	1
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
110	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	100	0	1	0	0	0	1	0	84.0	100	0	0	0
	200	0	1	0	0	0	1	0		200	0	0	0
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)			(0)	(0)	(0)
220	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	100	1	1	0	1	0	2	0	59.0	100	1	0	1
	200	1	1	0	1	0	2	0		200	1	0	1
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)	(1.0)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
330	100	0	0	0	1	0	1	0		100	0	0	0
	100	1	1	0	0	0	2	0	61.5	100	0	0	0
	200	1	1	0	1	0	3	0		200	0	0	0
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)	(1.5)	(0)			(0)	(0)	(0)
440	100	2	1	0	1	0	3	0		100	0	0	0
	100	1	0	0	0	0	1	0	45.0	100	0	0	0
	200	3	1	0	1	0	4	0		200	0	0	0
		(1.5)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)	(2.0)	(0)			(0)	(0)	(0)
陽性対照	100	9	63	0	0	0	63	1		100	0	0	0
10	100	9	58	0	1	0	60	2	--	100	0	0	0
	200	18	121	0	1	0	123	3		200	0	0	0
		(9.0)	(60.5)	(0)	(0.5)	(0)	(61.5)**	(1.5)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:ジメチルスルホキシド.

陽性対照:3,4-Benzo[*a*]pyrene.

**:$p<0.01$.

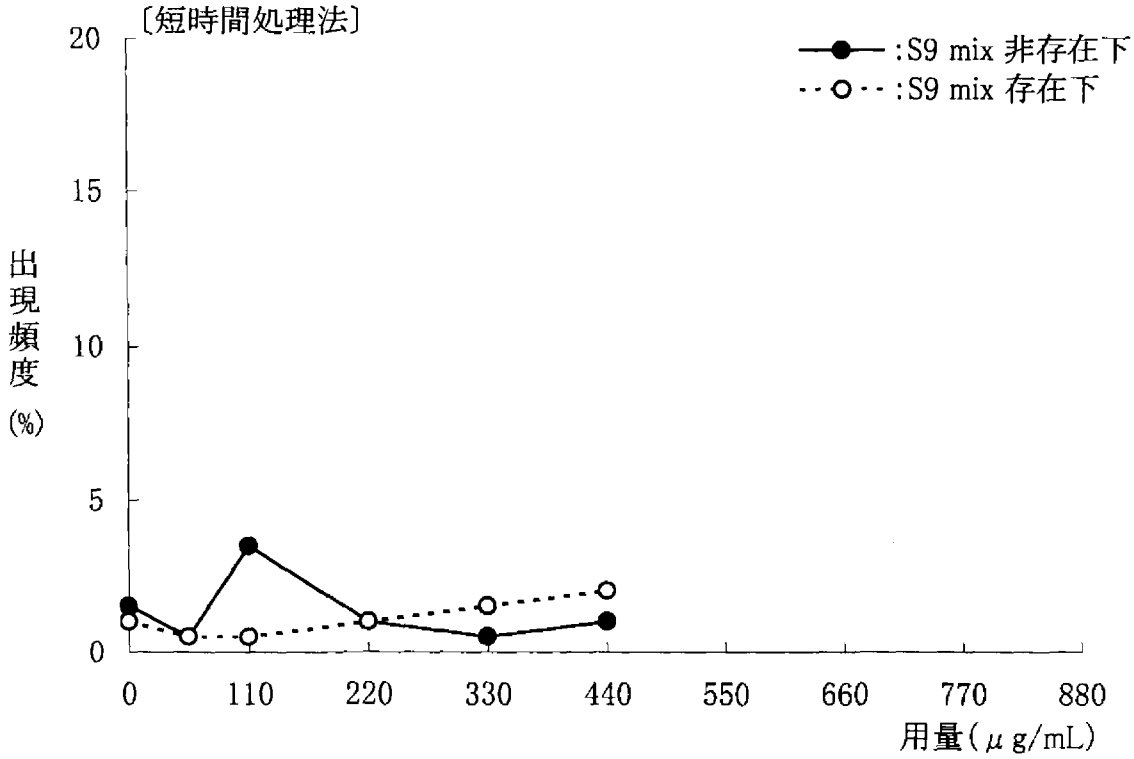
表 2　　四臭化エタンの染色体異常試験結果(連続処理法:24時間処理)

被験物質の用量	染色体構造異常の細胞数(%)							ｷｬｯﾌﾟの出現数	細胞増殖率	染色体の数的異常の細胞数(%)			
	観察	染色分体		染色体		その他	総異常			観察	倍数体	その他	総異常
(μg/mL)	細胞数	切断	交換	切断	交換		細胞数	(%)	(%)	細胞数			細胞数
陰性対照	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
0	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)			(0)	(0)	(0)
55	100	0	1	0	0	0	1	0		100	1	0	1
	100	1	0	0	0	0	1	0	98.5	100	0	0	0
	200	1	1	0	0	0	2	0		200	1	0	1
		(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(1.0)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
110	100	0	0	0	1	0	1	0		100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	96.5	100	0	0	0
	200	0	0	0	1	0	1	0		200	0	0	0
		(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)			(0)	(0)	(0)
220	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	81.5	100	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0		200	0	0	0
		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)			(0)	(0)	(0)
330	100	0	1	0	0	0	1	0		100	2	0	2
	100	0	0	0	0	0	0	0	81.0	100	1	0	1
	200	0	1	0	0	0	1	0		200	3	0	3
		(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)			(1.5)	(0)	(1.5)
440	100	2	1	0	0	0	3	1		100	1	0	1
	100	0	0	0	1	0	1	0	39.5	100	0	0	0
	200	2	1	0	1	0	4	1		200	1	0	1
		(1.0)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)	(2.0)	(0.5)			(0.5)	(0)	(0.5)
陽性対照	100	33	97	0	0	0	100	0		100	0	0	0
2.5	100	65	96	4	0	0	99	3	--	100	0	0	0
	200	98	193	4	0	0	199	3		200	0	0	0
		(49.0)	(96.5)	(2.0)	(0)	(0)	(99.5)**	(1.5)			(0)	(0)	(0)

陰性対照:ジメチルスルホキシド.

陽性対照:1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

**:$p<0.01$.



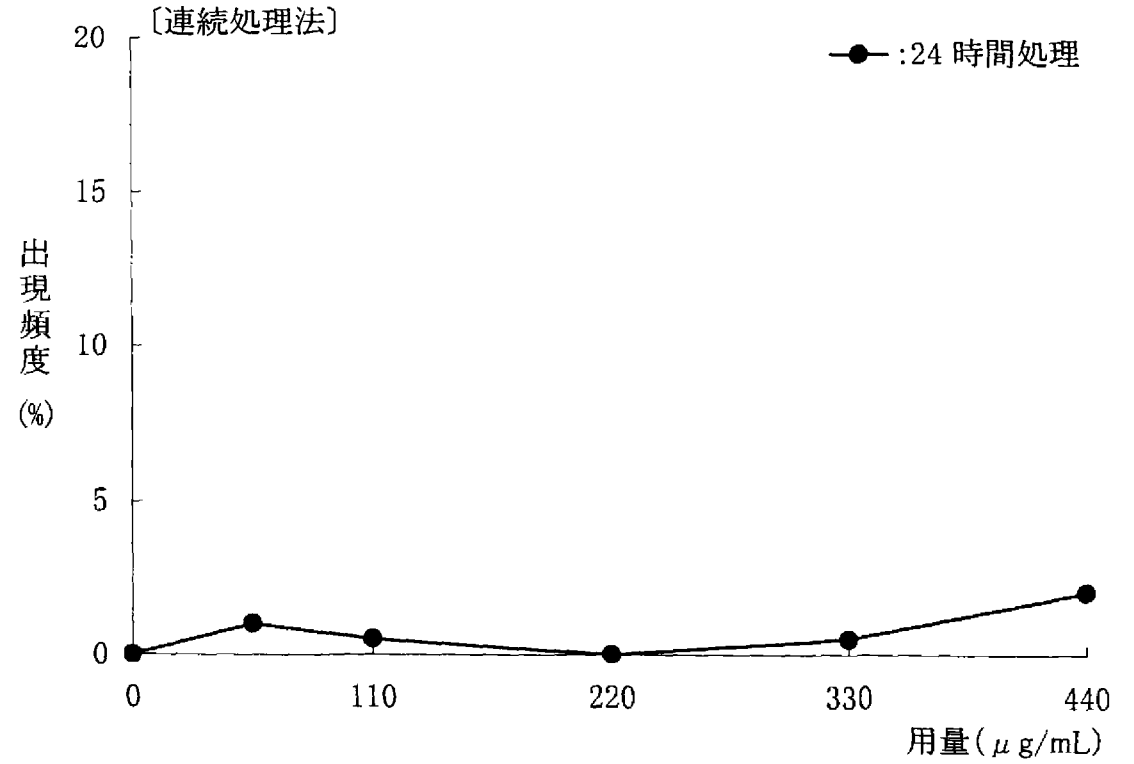
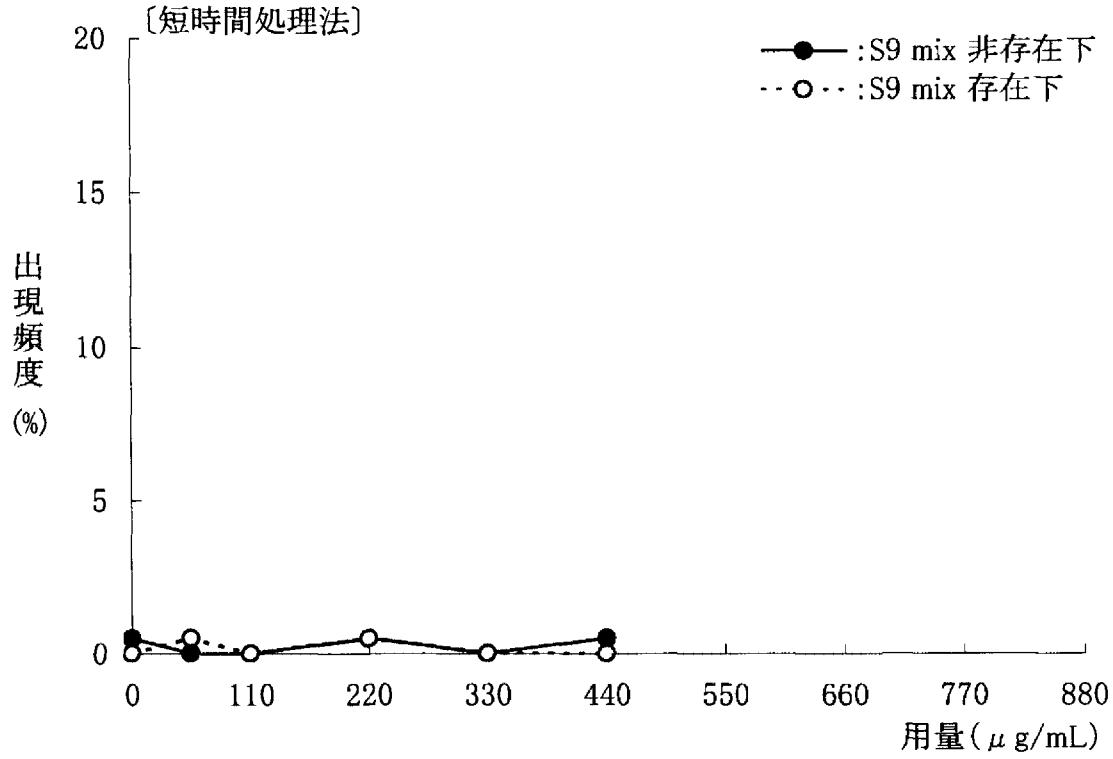


図 1　　構造異常を有する細胞の出現頻度



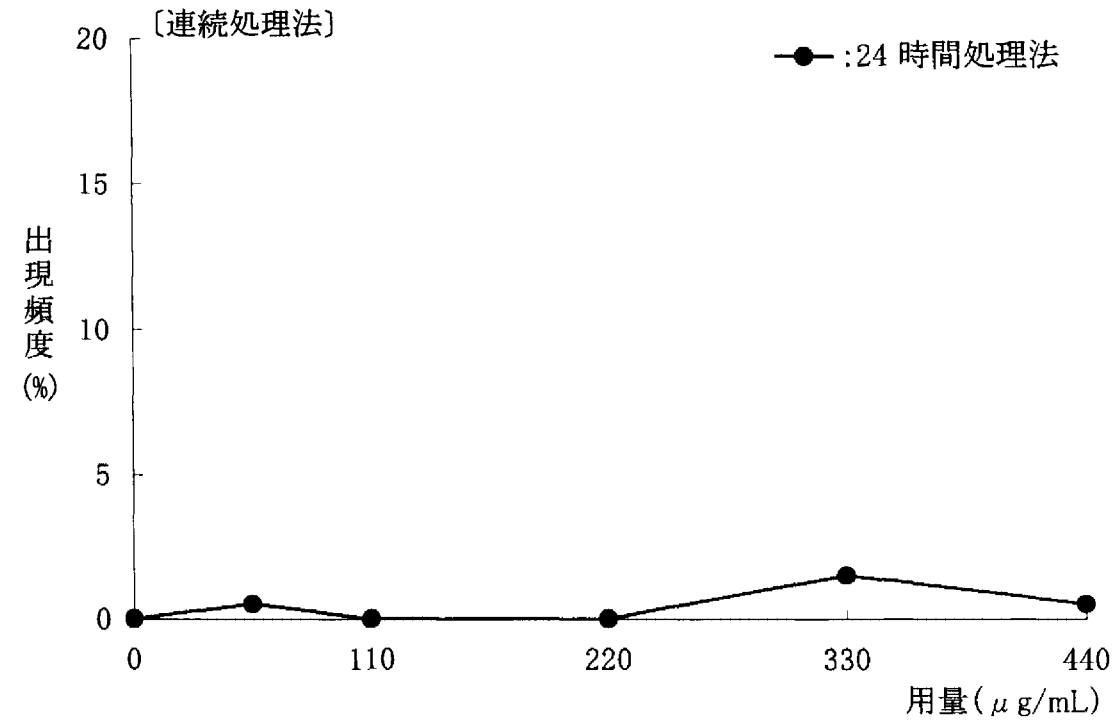


図 2　　数的異常を有する細胞の出現頻度