最終報告書

テトラヒドロフルフリルアルコールのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

（試験番号：B020080）

2004年6月16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. 被験物質および対照物質 …… 6
2. 細胞 …… 7
3. 培地 …… 7
4. S9 mix …… 8
5. 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製 …… 8
6. 細胞増殖抑制試験 …… 9
7. 染色体異常試験 …… 10
8. 結果のまとめ …… 12
結果 …… 13
考察および結論 …… 14
参考文献 …… 15

表 1 染色体異常試験の結果（短時間処理法） …… 17
表 2 染色体異常試験の結果（連続処理法） …… 18
図 1 テトラヒドロフルフリルアルコールの細胞毒性（短時間処理法・－S9 mix） …… 19
図 2 テトラヒドロフルフリルアルコールの細胞毒性（短時間処理法・＋S9 mix） …… 19
図 3 テトラヒドロフルフリルアルコールの細胞毒性（連続処理法） …… 20
図 4 テトラヒドロフルフリルアルコールの構造異常細胞出現頻度（短時間処理法） …… 21
図 5 テトラヒドロフルフリルアルコールの数的異常細胞出現頻度（短時間処理法） …… 21
図 6 テトラヒドロフルフリルアルコールの構造異常細胞出現頻度（連続処理法） …… 22
図 7 テトラヒドロフルフリルアルコールの数的異常細胞出現頻度（連続処理法） …… 22

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，テトラヒドロフルフリルアルコールの *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），ならびに連続処理法の 24 時間処理（以下 24 時間処理）で同じく 64.4，128.8，257.5，515，1030 μg/mL を設定した．

その結果，いずれの処理条件においても，被験物質による 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（短時間処理法）は，－S9 mix および＋S9 mix において 257.5，515，1030 μg/mL を設定した．

染色体異常試験（短時間処理法）の標本観察の結果，染色体構造異常および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．よって，引き続き染色体異常試験（連続処理法）を実施した．染色体異常試験（連続処理法）の用量は 257.5，515，1030 μg/mL を設定した．

染色体異常試験（連続処理法）の標本観察の結果，染色体構造異常および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．

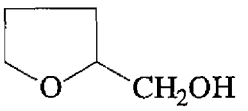
以上の結果より，テトラヒドロフルフリルアルコールは，本試験条件下において CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性を有さないと結論した．

材料および方法

1. 被験物質および対照物質

1.1 被験物質

から提供されたテトラヒドロフルフリルアルコールを室温で保存し，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)	2-Furanmethanol, tetrahydro-		
別　　名	テトラヒドロフルフリルアルコール		
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)			
試験に供した新規化学物質の純度	99.5%	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	5-メチルテトラヒドロフルフリールアルコール		
CAS 番号	97-99-4	蒸　気　圧	230Pa (40℃)
分　　子　　量	102.13	分配係数	水に完溶
融　　点	－	常温における性状	液体
沸　　点	178℃		
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	易溶	－
	生食	50 mg/mL で溶解*1	*2
	DMSO	－	－
	ｱｾﾄﾝ	易溶	－
	その他	－	－

生食：生理食塩液，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：溶解時に発熱，発泡，変色は認められなかった．

1.2 陰性対照物質（被験物質の溶媒）

生理食塩液（以下生食，㈱大塚製薬工場，ロット番号 K2A79）

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㈱，ロット番号 342AJH，含量 103％）

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. 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．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 7 月 17 日に大日本製薬㈱から購入し（購入時継代数：14），細胞懸濁液に対し最終 10 v/v％の割合で DMSO（関東化学㈱，ロット番号 210G1441）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（凍結時継代数：17）．この凍結ロットの細胞について特性検査を実施し，染色体数は 25 本，細胞周期は 12.5 時間，マイコプラズマ陰性であることが確認された．試験には，同凍結ロットの細胞を融解して培養し，融解後 4 週間以内（継代数：18～24）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℃に設定，加湿，NAPCO 社, 7300 型または 6301C 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㈱，ロット番号 460201）約 8.3 g を精製水 880 mL に溶解し，オートクレーブ滅菌（121℃，20 分間）後，別に滅菌処理した 2.92 w/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 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℃, 30 分間加熱処理）した仔牛血清（GIBCO BRL，ロット番号 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（7 週齢，体重 214～239g）肝由来 S9 を事前（2002 年 3 月 5 日）にキッコーマン㈱から購入したものを使用した. 試験にはロット番号 RAA-459（2002 年 2 月 22 日製造，最終蛋白濃度：1.26 mg/mL）を使用した．購入した S9 は使用時まで－80℃以下（実測値；－84～－82℃）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 μmol
β-$NADP^+$	4 μmol
HEPES（pH 7.2）	4 μmol
塩化マグネシウム	5 μmol
塩化カリウム	33 μmol
精製水	残量

5. 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製

5.1 被験物質溶液の調製

溶媒検討の結果，本被験物質は，生食に 50 mg/mL で溶解し，発熱，発泡，変色は認められなかった．これらの結果から，本被験物質の溶媒には生食を用いた.

被験物質を予定量秤量し，生食を添加し，振盪撹拌により溶解させた．これを最高濃度溶液とした.

最高濃度溶液を生食で段階希釈し, 各処理用量の 10 倍濃度の被験物質溶液を調製した. 被験物質溶液は用時調製し，被験物質の秤量，希釈，分注および調製後の保存は黄色灯下で行った．また，処理までの保存時間は，細胞増殖抑制試験では 10～20 分，染色体異常試験（短時間処理法）では 5～15 分，染色体異常試験（連続処理法）では 5 分であった.

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（㈱大塚製薬工場，ロット番号 K2A84）5 mL に用時溶解した（400 μg/mL 溶液）．これを生食（㈱大塚製薬工場，ロット番号 K2A79）で段階希釈し，各処理条件における処理用量の 10 倍濃度の溶液（短時間処理法：1 μg/mL，連続処理法：0.5 μg/mL）を調製した．

BP は，処理用量の 200 倍濃度の溶液を調製（DMSO［関東化学㈱，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 時間処理において予備試験を実施した．予備試験（用量：10.3，103，1030 μg/mL [0.1，1，10 mmol/L 相当]）は 1 用量あたり 1 枚のプレートを用いて実施した．処理終了後のプレートを位相差倒立顕微鏡下で観察し，陰性対照を 100％として相対的な細胞密度を判断した．

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．

処理条件＼用量（μg/mL）	10.3	103	1030
－S9 mix	100％	100％	100％
＋S9 mix	100％	100％	100％
24 時間処理	100％	100％	100％

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．

－S9 mix：64.4，128.8，257.5，515，1030 μg/mL

＋S9 mix：64.4，128.8，257.5，515，1030 μg/mL

24 時間処理：64.4，128.8，257.5，515，1030 μg/mL

6.2 細胞処理

4×10^3 個/mL に調製した細胞浮遊液を 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時間処理後，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被験物質の溶媒を用い，下記条件で同様に処理した．

	被験物質溶液 または陰性対照物質	S9 mix	MEM培地
−S9 mix	0.3 mL	−	2.7 mL
+S9 mix	0.3 mL	0.5 mL	2.2 mL
24時間処理	0.5 mL	−	4.5 mL

6.3 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㈱）で洗浄後，メタノールで10分間固定し，3 v/v%ギムザ液で10分間染色した後，軽く水洗し乾燥した．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．

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た．いずれの処理条件においても，50%以上の細胞増殖抑制が認められなかったため，被験物質の50%細胞増殖抑制用量（IC_{50}）は算出出来なかった．

7. 染色体異常試験

染色体異常試験は，まず短時間処理法のみを実施した．

短時間処理法の結果，陰性と判定されたため，引き続き連続処理法を実施した．

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に基づき，染色体異常試験は下記の用量を設定した．いずれの処理条件，いずれの被験物質処理群においても，被験物質処理時に析出，沈殿は認められなかった．

−S9 mix：257.5，515，1030 μg/mL

+S9 mix：257.5，515，1030 μg/mL

24時間処理：257.5，515，1030 μg/mL

陽性対照物質の用量は，−S9 mixではMMCを0.1 μg/mL，24時間処理ではMMCを0.05 μg/mLとした．+S9 mixではBPを20 μg/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
24 時間処理	0.5 mL	−	−	4.5 mL

陰性対照群および被験物質処理群については，各処理条件あたり 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．陽性対照群については，細胞増殖率測定を実施しないので，各処理条件あたり 2 枚のプレートを用いた.

7.3 標本作製

標本作製用のプレートに，標本作製の 2 時間前にコルセミドを最終用量が 0.1 μg/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，冷却した固定液（メタノール・酢酸 [3：1〈v/v〉] 混合液，以下同様）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再浮遊させ，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 枚ずつ作製した.

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．細胞増殖率測定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．陽性対照群については測定を実施しなかった.

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い，各プレートから作製した2枚の標本で合わせて50個以上の分裂中期細胞が得られた場合，そのプレートの標本を観察の対象とした．また，陰性対照群および陽性対照群については，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[1]に従って観察した．ただし，動原体数が25±2または35以上でない細胞は除外した．

染色分体型切断
染色分体型交換
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構造異常細胞として集計した．なお，観察可能な分裂中期細胞数がプレートあたり50個未満の標本のデータは集計から除外した．

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．

結果の評価に統計学的手法は用いなかった．

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．また，細胞増殖抑制試験および染色体異常試験の結果を図示した．

結果

細胞増殖抑制試験の結果，いずれの処理条件においても，被験物質は 50％以上の細胞増殖抑制は認められなかった（図 1～3）．

染色体異常試験の予備鏡検の結果，いずれの処理条件，いずれの用量においても，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，すべてのプレートの標本を観察の対象とした．

染色体異常試験の標本観察の結果，いずれの用量においても，染色体構造異常および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 4～7）．

すべての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 4～7）．また，すべての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）．

考察および結論

テトラヒドロフルフリルアルコール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.

短時間処理法，連続処理法のいずれの処理条件においても，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.

また，すべての陰性対照群では，染色体構造異常細胞および数的異常細胞の出現頻度は5%未満であり，すべての陽性対照群では，染色体構造異常細胞の出現頻度は10%以上であったことから，当試験が技術的に成立していることが示された.

従って，テトラヒドロフルフリルアルコールは本試験条件下においてCHL/IU細胞に対する染色体構造異常誘発性を有さないと結論した.

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

表 1　染色体異常試験の結果(短時間処理法)

被験物質の名称　テトラヒドロフルフリルアルコール

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	染色分体型切断	染色分体型交換	染色体型切断	染色体型交換	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 (生食)	100	0	0	0	0	0	0	0	101	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	0	99	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	257.5	100	1	0	0	0	1	2	0	107	100	0	0	0
			100	1	0	0	1	0	2	0	103	100	0	0	0
			200	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	4 (2.0)	0	105	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	515	100	1	0	0	0	0	1	0	105	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	103	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	104	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	1030	100	0	1	1	0	0	1	0	105	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	0	107	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	106	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	−	陽性対照 (MMC 0.1)	100	15	23	0	0	0	36	0		100	0	0	0
			100	19	28	0	0	0	46	0		100	0	0	0
			200	34 (17.0)	51 (25.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	82 (41.0)	0		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	陰性対照 (生食)	100	0	0	1	0	0	1	0	111	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	1	89	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	257.5	100	0	1	1	0	0	2	0	111	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	105	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	108	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	515	100	0	1	0	0	0	1	0	106	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	108	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	107	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	1030	100	0	0	0	0	0	0	0	109	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	114	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	112	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 − 18	+	陽性対照 (BP 20)	100	15	78	1	0	0	81	0		100	0	0	0
			100	9	79	1	0	0	82	1		100	0	0	0
			200	24 (12.0)	157 (78.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	163 (81.5)	1		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

生食:生理食塩液

MMC:マイトマイシンC

BP:ベンゾ[a]ピレン

B020080

表 2　染色体異常試験の結果(連続処理法)

被験物質の名称　テトラヒドロフルフリルアルコール

処理-回復時間(h)	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	染色分体型切断	染色分体型交換	染色体型切断	染色体型交換	断片化	総異常細胞数(%)	ギャップの出現数	細胞増殖率 (%)	染色体数的異常の細胞数(出現頻度%) 観察細胞数	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
24 − 0	陰性対照 (生食)	100	0	0	0	0	0	0	1	106	100	0	0	0
		100	1	0	1	0	0	2	0	94	100	0	0	0
		200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	1	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 − 0	257.5	100	0	1	1	1	0	3	0	104	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0	102	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	103	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 − 0	515	100	0	0	0	0	0	0	0	108	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0	96	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	102	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 − 0	1030	100	0	2	0	0	0	2	0	101	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0	101	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	101	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 − 0	陽性対照 (MMC 0.05)	100	14	18	0	0	0	30	0		100	0	0	0
		100	7	15	1	0	0	23	0		100	0	0	0
		200	21 (10.5)	33 (16.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	53 (26.5)	0		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

生食:生理食塩液

MMC:マイトマイシンC

B020080

図1　テトラヒドロフルフリルアルコールの細胞毒性
（短時間処理法・－S9 mix）

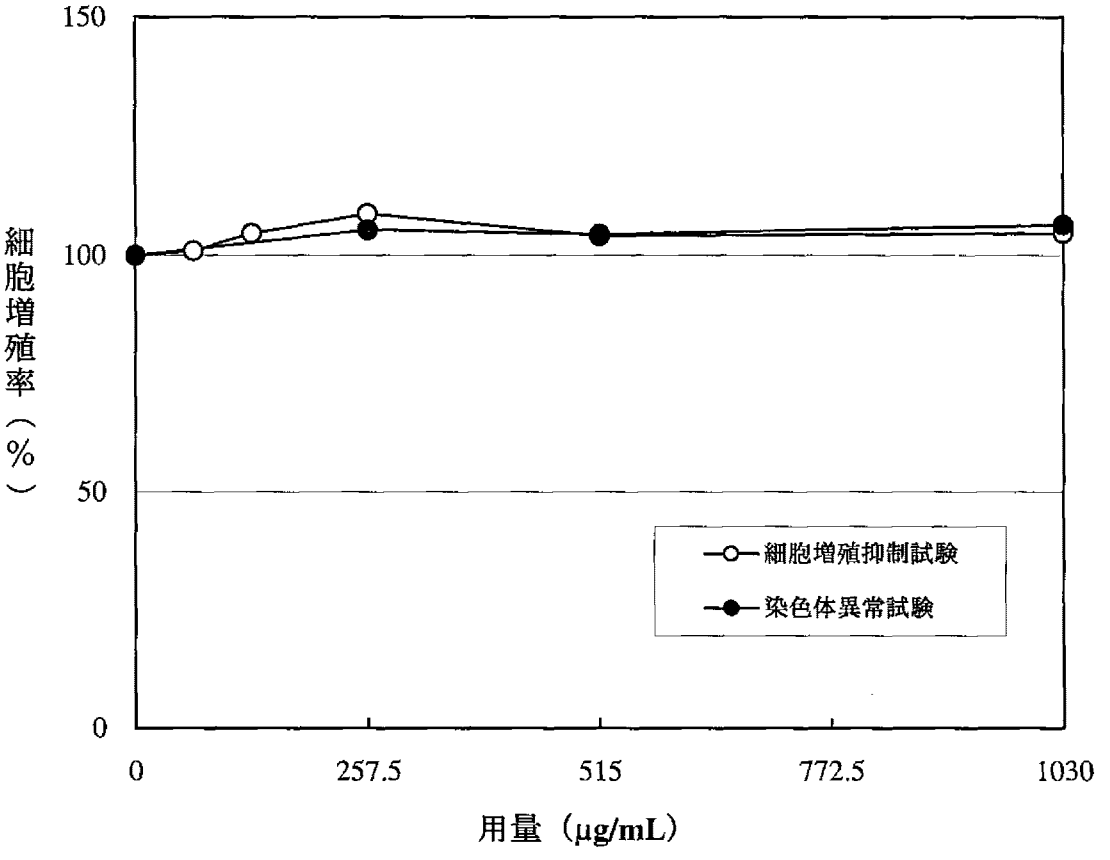


図2　テトラヒドロフルフリルアルコールの細胞毒性
（短時間処理法・＋S9 mix）

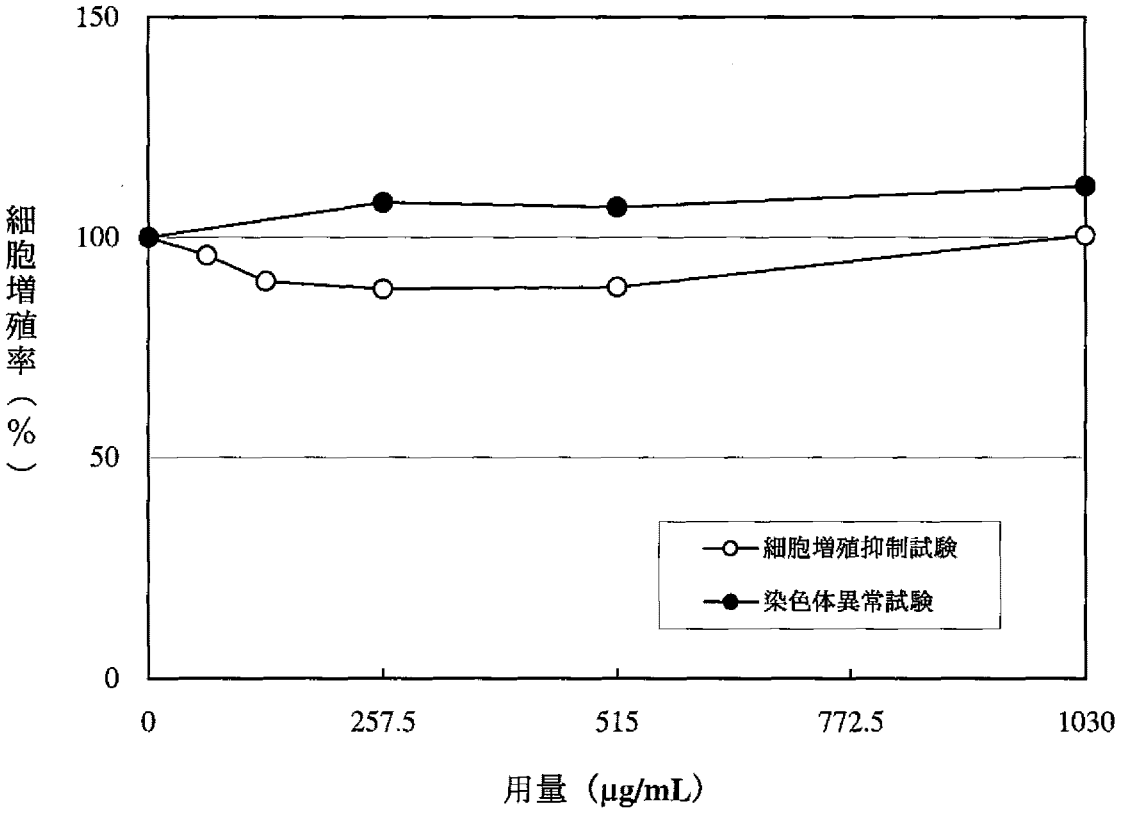


図3　テトラヒドロフルフリルアルコールの細胞毒性
（連続処理法・24時間処理）

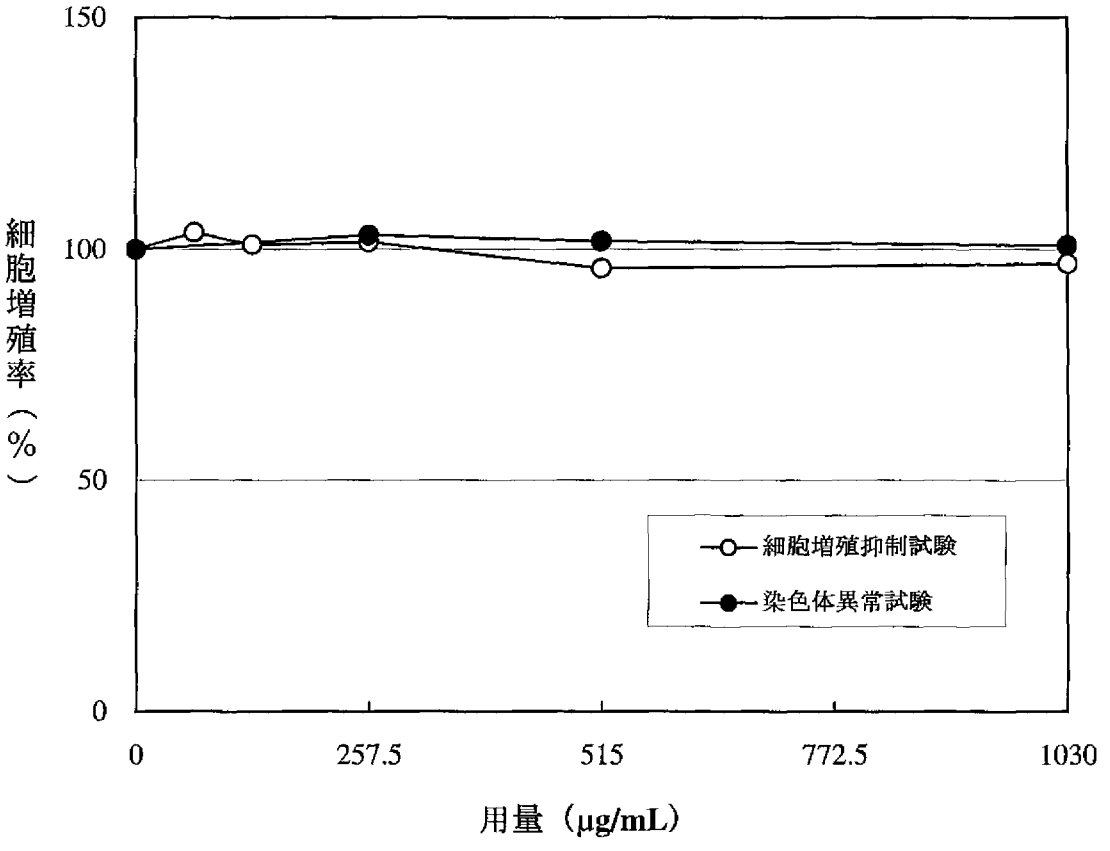


図4　テトラヒドロフルフリルアルコールの
構造異常細胞出現頻度（短時間処理法）

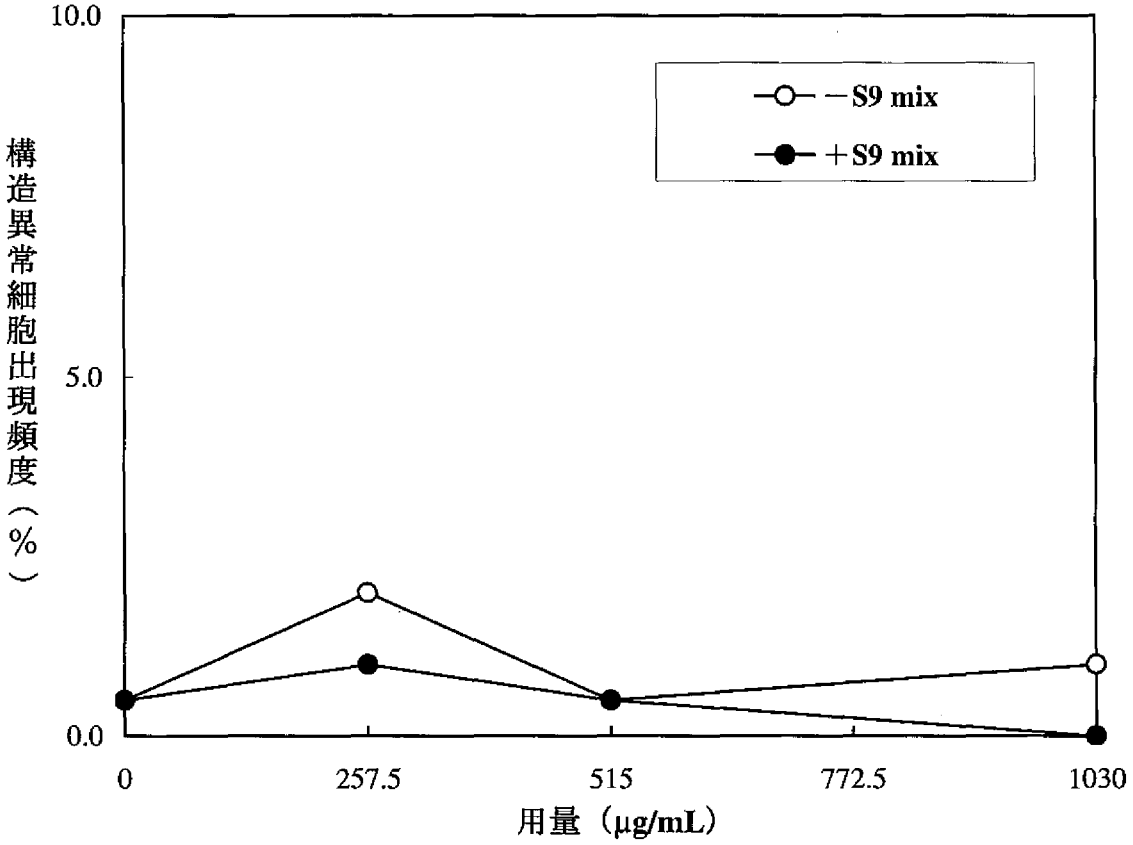


図5　テトラヒドロフルフリルアルコールの
数的異常細胞出現頻度（短時間処理法）

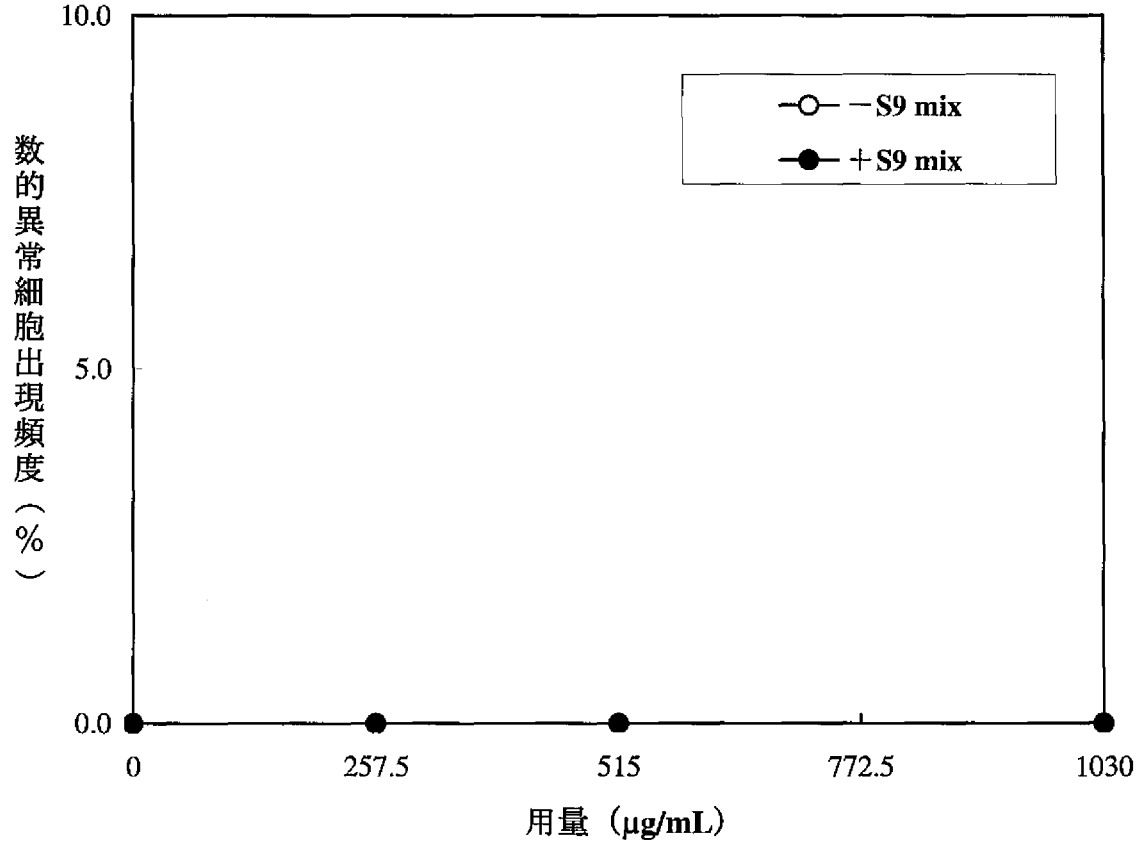


図6　テトラヒドロフルフリルアルコールの
構造異常細胞出現頻度（連続処理法）

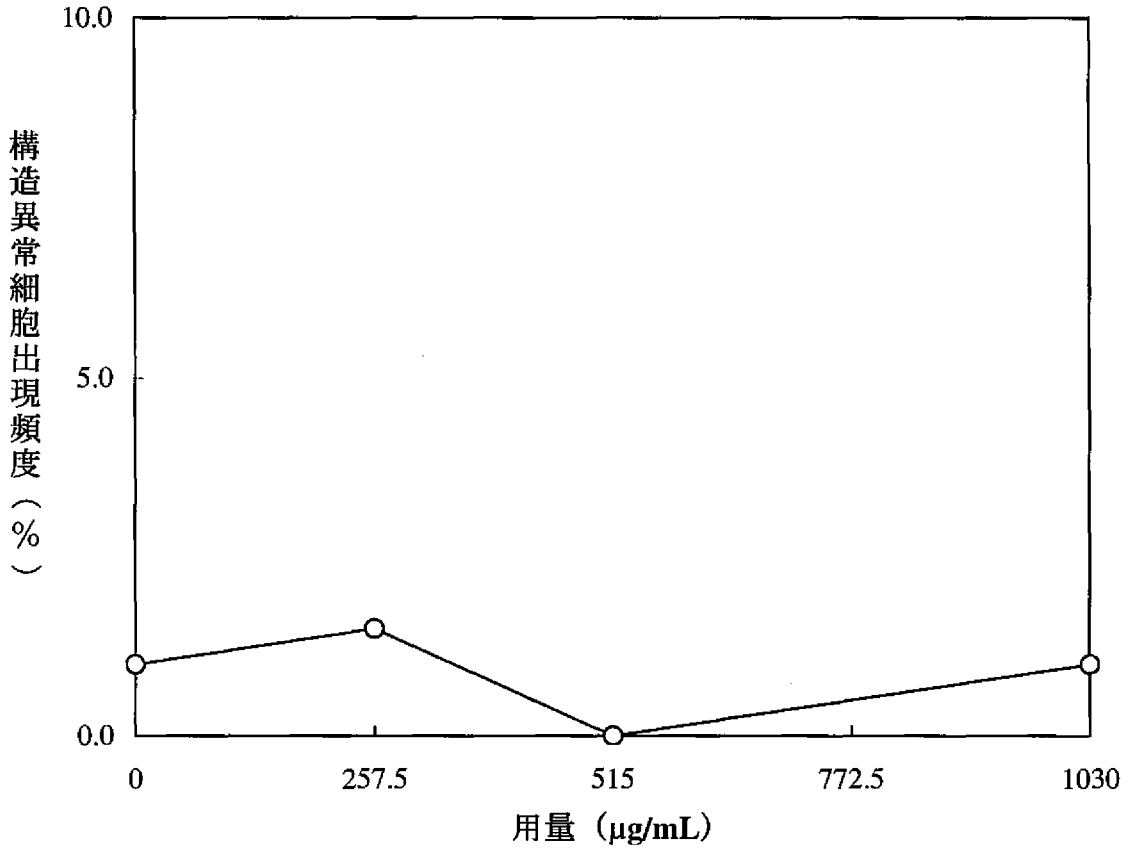
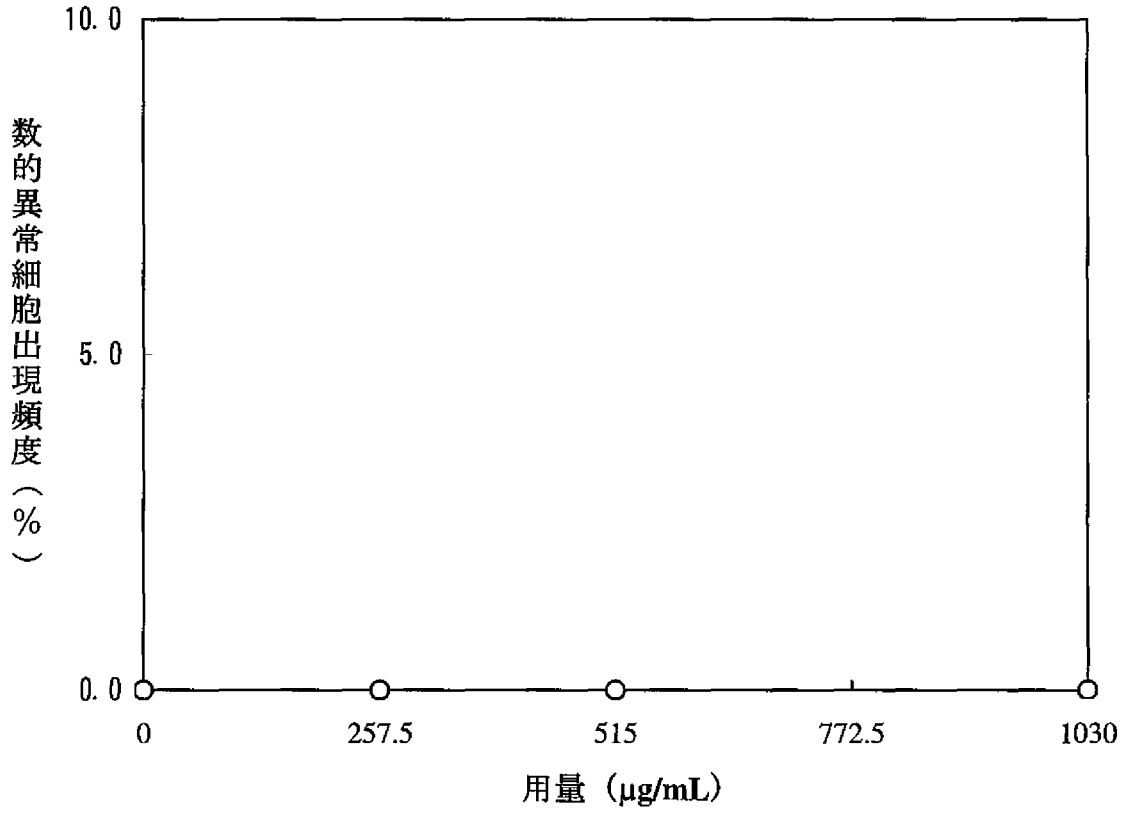



図7　テトラヒドロフルフリルアルコールの
数的異常細胞出現頻度（連続処理法）