

- ・染色体異常試験において、1枚のプレートあたり500個、すなわち各用量あたり1000個の細胞について、分裂中期細胞を数え、下式により分裂指数(%)を算出した。

$$\text{分裂指数 (\%)} = \text{分裂中期細胞数} / \text{観察細胞数} \times 100$$

またこれをもとに、各処理用量について、陰性対照値を100%として下式により相対分裂指数(%)を算出した。

$$\text{相対分裂指数 (\%)} = \text{被験物質処理群の分裂指数} / \text{陰性対照群の分裂指数} \times 100$$

- ・本試験および確認試験の分裂指数測定の結果、細胞増殖率を指標とした場合に比べて顕著な分裂抑制が認められなかったことから、被験物質の細胞周期に対する著しい影響は無いものと考えられた(別表1, 2)。

- ・短時間処理法の結果、陽性と判定されたため、連続処理法については染色体異常試験を実施しなかった。

- ・陽性対照物質に関する情報は以下の通りである。

マイトマイシンC(協和発酵工業株式会社, ロット番号 435ADB, 含量 99%)

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

- ・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. 祖父尼俊雄監修「染色体異常試験データ集・改訂 1998 年版」株式会社エル・アイ・シー, 東京, 1999

別表 1 分裂指数測定結果（本試験）

処理	S9 mix の有無	処理濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	分裂中期 細胞数	分裂指数 (%)	相対分裂指数 (%)
陰性対照 (生理食塩液)	—	0	1000	49	4.9	100
1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン	—	200	1000	37	3.7	76
	—	250	1000	50	5.0	102
	—	300	1000	45	4.5	92
	—	350	1000	40	4.0	82
	—	400	1000	13	1.3	27
	—	450	1000	7	0.7	14
	—	500	1000	20	2.0	41
陰性対照 (生理食塩液)	+	0	1000	85	8.5	100
1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン	+	250	1000	94	9.4	111
	+	300	1000	97	9.7	114
	+	350	1000	90	9.0	106
	+	400	1000	47	4.7	55
	+	450	1000	39	3.9	46
	+	500	1000	34	3.4	40

別表 2 分裂指数測定結果（確認試験）

処理	S9 mix の有無	処理濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	観察 細胞数	分裂中期 細胞数	分裂指数 (%)	相対分裂指数 (%)
陰性対照 (生理食塩液)	+	0	1000	95	9.5	100
1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン	+	400	1000	104	10.4	109
	+	450	1000	76	7.6	80
	+	500	1000	50	5.0	53

別表 3 染色体異常試験の結果（本試験）

被験物質の名称 1,3-ビス(アミノメチル)シクロヘキサン

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%)							ギャップ の出現数	細胞増殖率 (%)	染色体数の異常細胞数(出現頻度%)			
			観察細胞数	染色体型切斷	染色体型交換	染色体型切斷	染色体型交換	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 (生理食塩液)	100	1	0	0	0	0	1	0	99	100	0	0	0
			100	0	1	0	0	0	1	0	101	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	200	100	0	0	0	0	0	0	0	95	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	90	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	92	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	250	100	0	0	0	0	0	0	0	87	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	0	92	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	89	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	300	100	0	0	0	0	0	0	0	84	100	0	0	0
			100	0	0	0	1	0	1	0	85	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	85	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	350	100	0	0	0	0	0	0	0	36	100	0	0	0
			100	0	1	1	0	0	2	0	42	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	39	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	400	100	0	6	0	0	0	6	0	10	100	0	0	0
			100	5	7	0	0	0	11	2	14	100	0	0	0
			200	5 (2.5)	13 (6.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	17 (8.5)	2	12	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	450	82	6	10	0	1	0	16	0	8	82	2	0	2
			73	4	6	2	0	0	10	1	5	73	0	0	0
			155	10 (6.5)	16 (10.3)	2 (1.3)	1 (0.6)	0 (0.0)	26 (16.8)	1	7	155	2 (1.3)	0 (0.0)	2 (1.3)
6－18	－	500	100	4	12	0	0	0	15	1	5	100	0	0	0
			100	4	15	0	0	0	18	1	6	100	0	0	0
			200	8 (4.0)	27 (13.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	33 (16.5)	2	5	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	陽性対照 (MMC 0.1)	100	12	27	0	0	0	34	0		100	0	0	0
			100	13	32	0	0	0	43	1		100	0	0	0
			200	25 (12.5)	59 (29.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	77 (38.5)	1		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	陰性対照 (生理食塩液)	100	1	1	0	0	0	1	0	103	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	97	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	1 (0.5)	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	＋	250	100	1	0	0	0	0	1	0	94	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	0	95	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	95	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	300	100	0	0	0	0	0	0	0	91	100	0	0	0
			100	1	2	0	1	0	3	0	94	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	92	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	350	100	0	0	0	0	0	0	0	95	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	1	98	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1	97	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	400	100	0	0	0	0	0	0	0	77	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	84	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	80	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	450	100	2	1	0	0	0	3	2	45	100	1	0	1
			100	0	1	0	0	0	1	0	46	100	0	0	0
			200	2 (1.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	2	45	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
6－18	＋	500	100	2	3	2	0	0	7	0	28	100	0	0	0
			100	2	2	1	0	0	4	0	25	100	0	0	0
			200	4 (2.0)	5 (2.5)	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (5.5)	0	27	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	陽性対照 (BP20)	100	11	70	0	0	0	70	0		100	0	0	0
			100	24	77	0	0	0	78	0		100	0	0	0
			200	35 (17.5)	147 (73.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	148 (74.0)	0		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

MMC : マイトマイシンC, BP : ペンゾ [a] ピレン

別表 4 染色体異常試験の結果（確認試験）

被験物質の名称 1,3-ビス(アミノメチル)シクロヘキサン

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%)							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	染色体分体型切断	染色体分体型交換	染色体型切断	染色体型交換	断片化	総異常細胞数(%)			観察細胞数	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
6 - 18	+	陰性対照 (生理食塩液)	100	0	0	1	0	0	1	0	97	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	0	103	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 - 18	+	400	100	0	0	0	0	0	0	0	90	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	85	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	87	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 - 18	+	450	100	0	0	0	0	0	0	0	56	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	59	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	57	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 - 18	+	500	100	1	3	0	0	0	3	0	28	100	0	0	0
			100	1	1	0	0	0	2	0	43	100	0	0	0
			200	2 (1.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	0	36	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6 - 18	+	陽性対照 (BP20)	100	4	79	0	0	0	79	0		100	0	0	0
			100	12	72	0	0	0	76	0		100	0	0	0
			200	16 (8.0)	151 (75.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	155 (77.5)	0		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

BP : ベンゾ [a] ピレン

18/37

図1 1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン
処理における細胞毒性 (短時間処理法・-S9 mix)

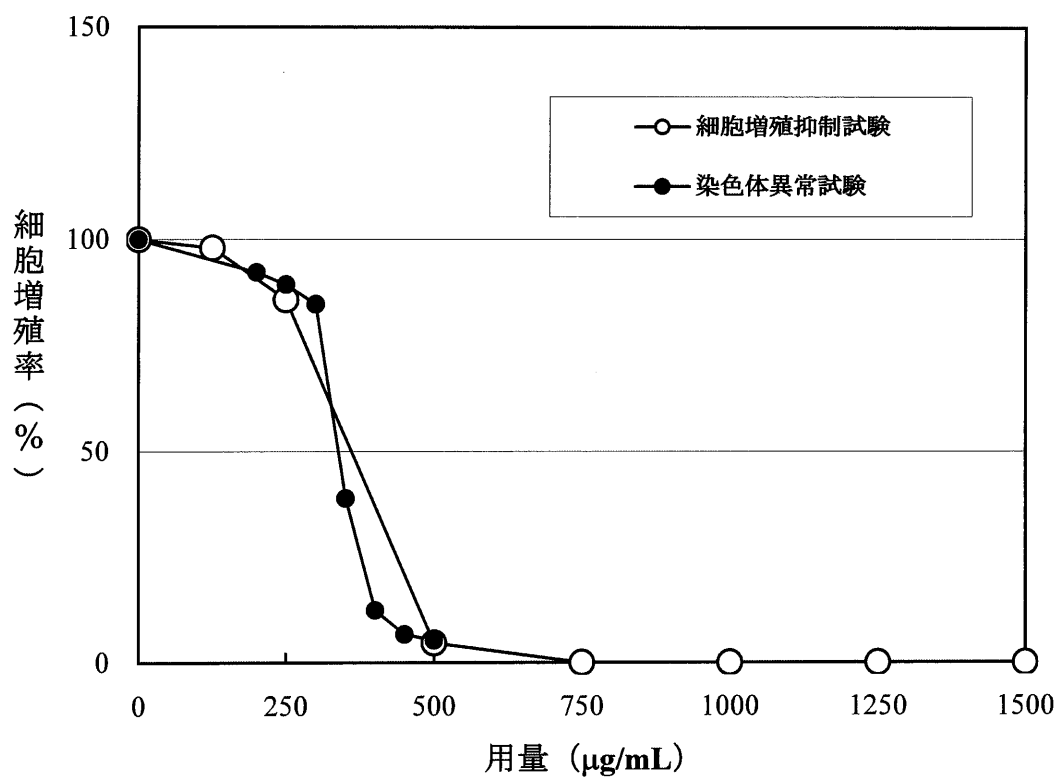


図2 1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン
処理における細胞毒性 (短時間処理法・+S9 mix)

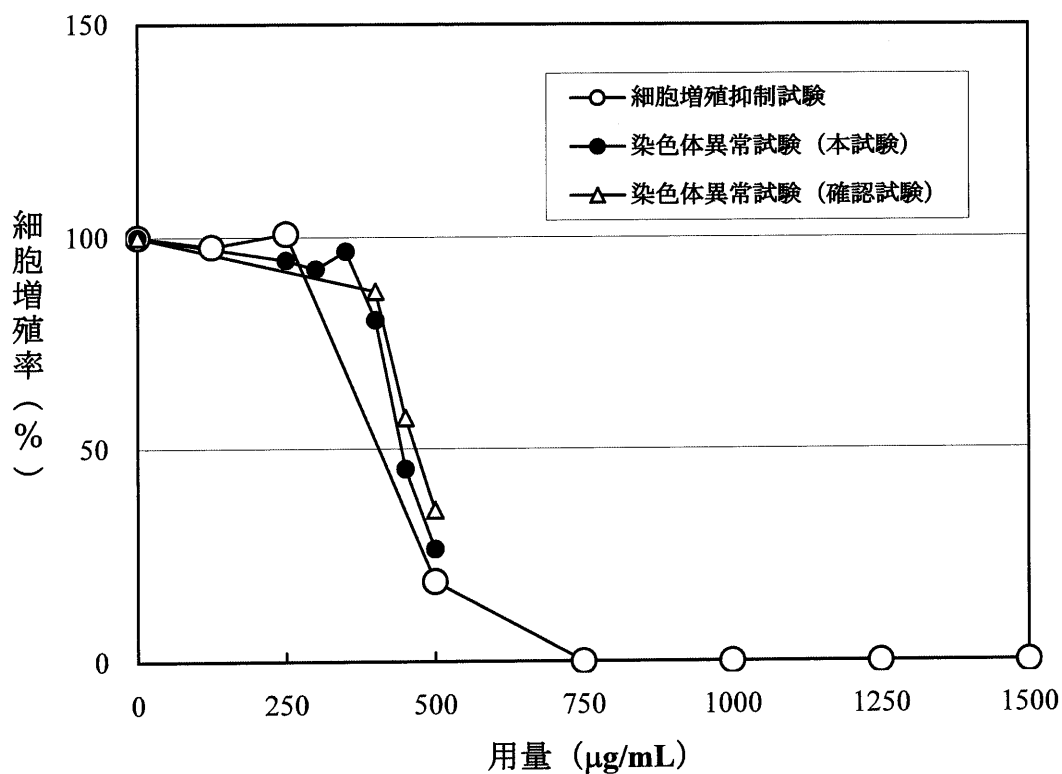


図3 1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン
処理における細胞毒性 (連続処理法)

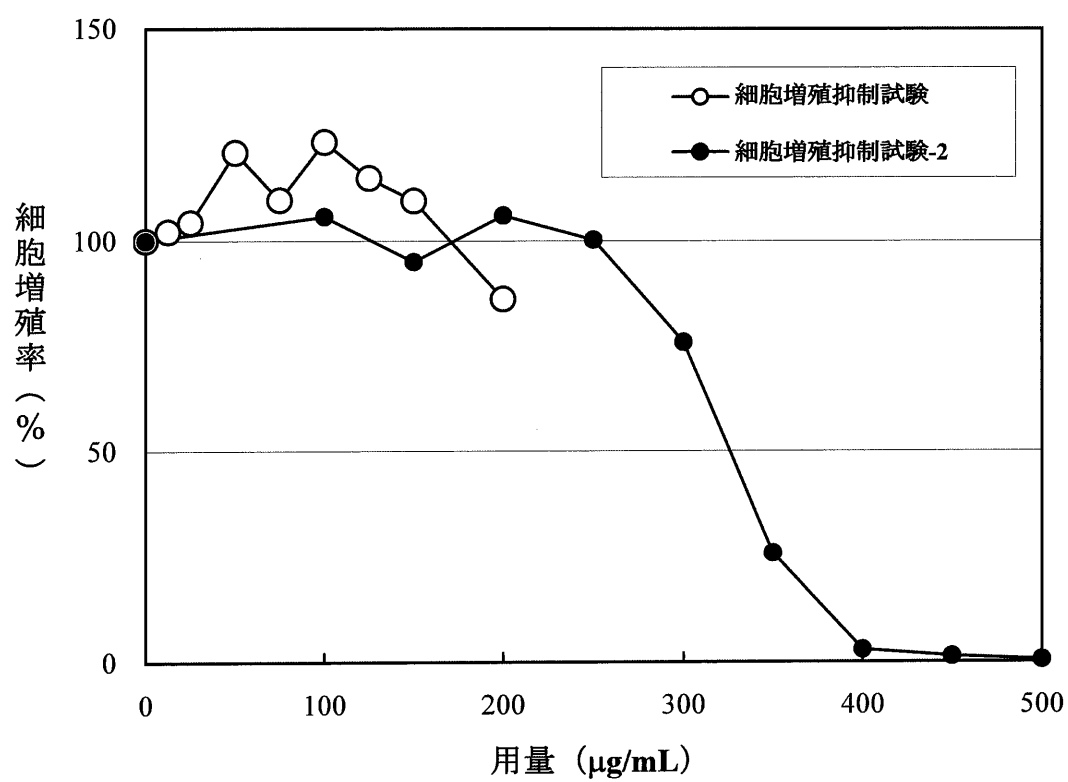


図4 1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン
処理における構造異常細胞出現頻度

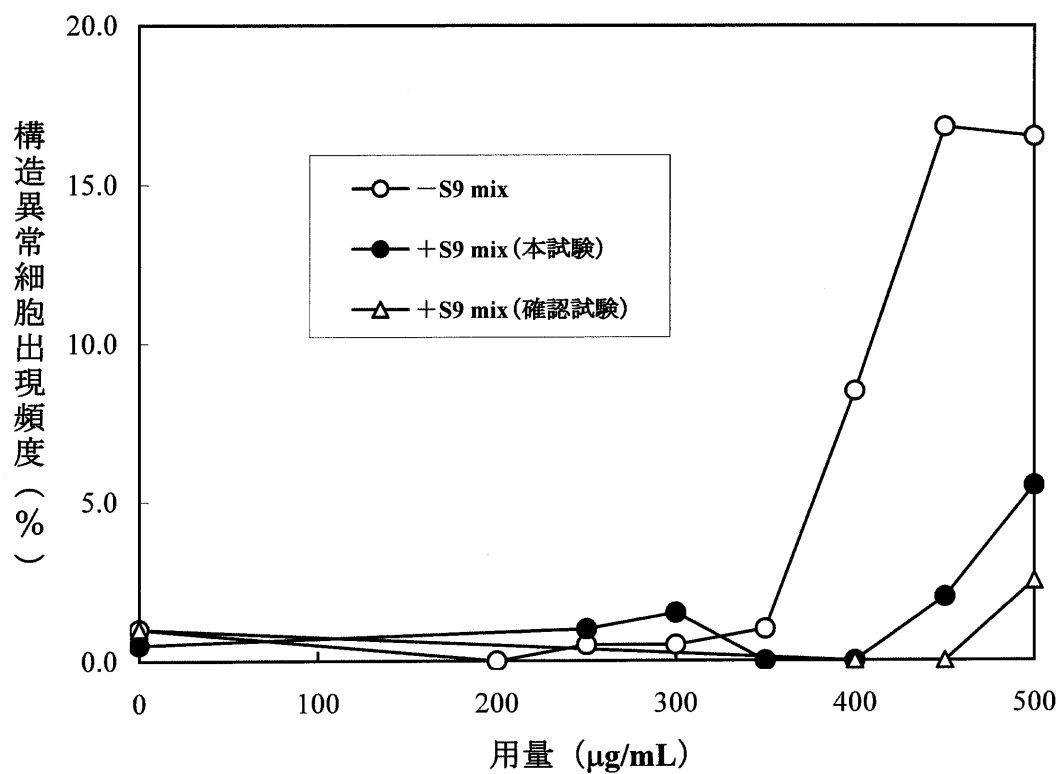
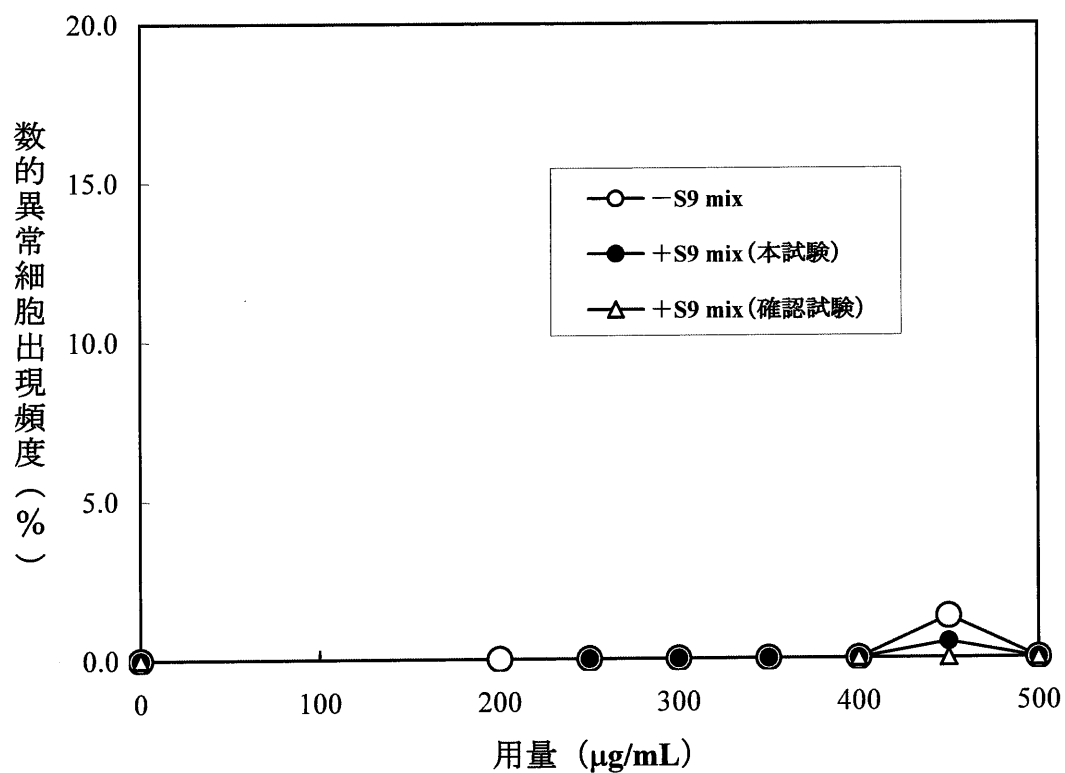


図5 1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン
処理における数的異常細胞出現頻度



3. 試験実施概要

3.1 表題

1,3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

3.2 試験番号

B041800

3.3 試験目的

1,3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサンのほ乳類培養細胞に対する染色体異常誘発性を検討する。

3.4 適用ガイドライン

(1) 新規化学物質等に係る試験の方法について

（平成 15 年 11 月 21 日 薬食発第 1121002 号 厚生労働省医薬食品局長，平成 15・11・13 製局第 2 号 経済産業省製造産業局長，環境企発第 031121002 号 環境省総合環境政策局長連名通知）

(2) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (No. 473, 1997)

3.5 適用 GLP

(1) 新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について

（厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名基準，薬食発第 1121003 号，平成 15・11・17 製局第 3 号，環境企発第 031121004 号，平成 15 年 11 月 21 日）

(2) OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)

3.6 試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
東京都千代田区霞ヶ関一丁目 2 番 2 号

3.7 試験受託者

株式会社三菱化学安全科学研究所
東京都港区芝二丁目 1 番 30 号

3.8 試験施設

株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所