

5. 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、1,3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサンの *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き、細胞増殖抑制試験は、短時間処理法 S9 mix 非共存下（以下 -S9 mix）および S9 mix 共存下（以下 +S9 mix）、連続処理法 24 時間処理（以下 24 時間処理）で各々下記の用量を設定した。

-S9 mix : 125, 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 $\mu\text{g/mL}$

+S9 mix : 125, 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 $\mu\text{g/mL}$

24 時間処理 : 12.5, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200 $\mu\text{g/mL}$

この結果、50%細胞増殖抑制用量 (IC_{50}) は -S9 mix で 297 $\mu\text{g/mL}$ 、+S9 mix で 353 $\mu\text{g/mL}$ であった。一方、24 時間処理では 50%以上の細胞増殖抑制が認められなかったため、下記の用量を設定して細胞増殖抑制試験-2 を実施した。

24 時間処理 : 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 $\mu\text{g/mL}$

この結果、 IC_{50} は 320 $\mu\text{g/mL}$ であった。

算出した IC_{50} に基づき、染色体異常試験は下記の用量を設定した。

-S9 mix : 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 $\mu\text{g/mL}$

+S9 mix : 250, 300, 350, 400, 450, 500 $\mu\text{g/mL}$

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 400, 450, 500 で各々 8.5, 16.8, 16.5% を示した。一方、+S9 mix では、500 $\mu\text{g/mL}$ において 5.5%（疑陽性：5%以上 10%未満）であったため、400, 450, 500 $\mu\text{g/mL}$ の用量について確認試験を実施した。

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、いずれの処理用量においても 5%未満を示し、染色体構造異常誘発の再現性は認められなかった。

従って、1,3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサンは、当試験条件下（短時間処理法 S9 mix 非共存下）において CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性を有するものと結論した。

表 1 細胞増殖抑制試験の結果（短時間処理法）

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖率 (%)	
	- S9 mix	+ S9 mix
陰性対照 (生理食塩液)	100	100
125	98	96
250	86	99
500	5	19
750	0	0
1000	0	0
1250	0	0
1500	0	0

表2 細胞増殖抑制試験の結果（連続処理法）

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖率 (%)	
	24時間処理	
	細胞増殖抑制試験	細胞増殖抑制試験-2
陰性対照 (生理食塩液)	100	100
12.5	102	
25	104	
50	121	
75	110	
100	123	106
125	115	
150	110	
200	86	106
250		100
300		76
350		26
400		3
450		1
500		1

表 3 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

表 4 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

表 5 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 (%)	染色体数異常細胞数(出現頻度%)			
			観察細胞数	染色体型型切断	染色体型型交換	染色体型型切断	染色体型型交換	断片化	総異常細胞数(%)			観察細胞数	倍染色体	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 : ベンゾ [a] ピレン