

但し、明確な用量依存性が認められない場合においても、陽性値を示す試験結果に再現性が認められれば陽性と判定する。

結 果

試験を2回実施した結果（表 2-1-1、2-1-2、2-2、3-1-1、3-1-2、3-2 および図 1-1、1-2、1-3、1-4、1-5、2-1、2-2、2-3、2-4、2-5）、直接法および代謝活性化法のいずれの場合も、供試したすべての菌株において復帰変異コロニー数は、陰性対照値の2倍を超えることはなかった。菌の生育阻害については、直接法では、TA1535の1000 μ g/プレート以上、TA98、TA100 および TA1537の2000 μ g/プレート、代謝活性化法においては、試験1回目ではTA1535の1000 μ g/プレート以上、TA100の5000 μ g/プレート、試験2回目ではTA1535の1000 μ g/プレート以上の用量で認められた。

陰性対照群では背景データ（添付資料）の範囲内の復帰変異コロニー数が認められた。陽性対照群においては明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められ、その程度は、それぞれ背景データ（添付資料）の範囲内またはその近くの陽性値を示すものであった。また、試験に用いた菌液、溶媒、被験物質の供試液およびS9 mixなどには、雑菌の混入は認められなかった。その他、実験中被験物質の析出等、特記すべき変化は認められなかった。

結 論

ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数5モル）について遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、全ての指標菌株で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

試験の有効性については、2回にわたる本試験ともに有効であることが確認された。

したがって、本実験条件下ではビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数5モル）の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

ビスフェノール A の変異原性については、*S. typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA102、TA1535 または *E. coli* WP2uvrA を用いた復帰突然変異試験^{3,4,5)} で陰性との報告がある。また、CHO 細胞を用いた染色体異常試験で陽性⁶⁾ および陰性⁷⁾、V-79 細胞を用いた細胞遺伝子突然変異試験で陰性⁸⁾ との報告がある。

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
用量設定試験結果[直接法]

用 量 [μ g/プレート]	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照 [局方精製水]	153	14	19	29	14
20	121	10	18	28	9
50	107	5	18	38	16
100	104	13	30	34	14
200	108	8	21	32	10
500	123	10	24	26	15
1000	93	5	21	45	14
2000	90 *	6 *	18	34 *	6 *
5000	109 *	6 *	13	33 *	6 *
陽性対照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復帰変異コロニー数 /プレート	759	384	771	369	388

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 1-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
用量設定試験結果[代謝活性化法]

用 量 [μ g/プレート]	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照 [局方精製水]	86	9	29	37	13
20	88	7	36	31	13
50	105	6	14	27	13
100	102	8	33	26	8
200	79	10	20	27	12
500	101	6	19	28	10
1000	83	3	23	26	19
2000	107	5	27	19	16
5000	103 *	5 *	19	24	3 *
陽性対照	2- AA	2- AA	2- AA	2- AA	2- AA
μ g/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異コロニー数 /プレート	603	302	505	369	138

* : 菌の生育阻害が認められた。
2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果〔本試験1回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照	117	10	--	28	13
[局方精製水]	114	6	--	28	6
	110	4	--	16	13
	(114 \pm 4)	(7 \pm 3)	--	(24 \pm 7)	(11 \pm 4)
62.5	99	14	--	31	11
	107	10	--	18	11
	112	6	--	28	12
	(106 \pm 7)	(10 \pm 4)	--	(26 \pm 7)	(11 \pm 1)
125	95	9	--	23	10
	118	6	--	21	10
	111	8	--	17	9
	(108 \pm 12)	(8 \pm 2)	--	(20 \pm 3)	(10 \pm 1)
250	108	5	--	19	6
	118	9	--	17	5
	96	4	--	24	8
	(107 \pm 11)	(6 \pm 3)	--	(20 \pm 4)	(6 \pm 2)
500	93	9	--	25	12
	107	6	--	21	11
	111	5	--	22	4
	(104 \pm 9)	(7 \pm 2)	--	(23 \pm 2)	(9 \pm 4)
1000	91	12*	--	27	10
	95	6*	--	17	11
	126	6*	--	15	11
	(104 \pm 19)	(8 \pm 3)	--	(20 \pm 6)	(11 \pm 1)
2000	84*	0*	--	18*	2*
	104*	0*	--	14*	3*
	96*	0*	--	18*	4*
	(95 \pm 10)	(0 \pm 0)	--	(17 \pm 2)	(3 \pm 1)
陽性対照	AF-2	SA	--	AF-2	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	--	0.1	80
復帰変異	828	420	--	499	334
コロニー数	845	474	--	530	472
/プレート	892	454	--	525	432
	(855 \pm 33)	(449 \pm 27)	--	(518 \pm 17)	(413 \pm 71)

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 2-1-2 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果[本試験1回目-直接法]

用 量 [μ g/プレート]	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰性対照	--	--	20	--	--
[局方精製水]	--	--	23	--	--
	--	--	15	--	--
	--	--	(19 \pm 4)	--	--
156	--	--	25	--	--
	--	--	15	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	(19 \pm 5)	--	--
313	--	--	19	--	--
	--	--	19	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	(19 \pm 1)	--	--
625	--	--	31	--	--
	--	--	17	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	(22 \pm 8)	--	--
1250	--	--	26	--	--
	--	--	26	--	--
	--	--	16	--	--
	--	--	(23 \pm 6)	--	--
2500	--	--	22	--	--
	--	--	26	--	--
	--	--	21	--	--
	--	--	(23 \pm 3)	--	--
5000	--	--	18	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	20	--	--
	--	--	(19 \pm 1)	--	--
陽性対照	--	--	AF-2	--	--
μ g/プレート	--	--	0.04	--	--
復帰変異	--	--	988	--	--
コロニー数	--	--	1005	--	--
/プレート	--	--	941	--	--
	--	--	(978 \pm 33)	--	--

(): 平均値 \pm 標準偏差

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

表 2-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果[本試験1回目-代謝活性化法]

用 量 [μ g/プレート]	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照	100	8	28	24	9
[局方精製水]	121	6	29	19	9
	109	11	17	26	14
	(110 \pm 11)	(8 \pm 3)	(25 \pm 7)	(23 \pm 4)	(11 \pm 3)
156	88	9	20	30	14
	102	8	21	32	14
	88	6	21	33	6
	(93 \pm 8)	(8 \pm 2)	(21 \pm 1)	(32 \pm 2)	(11 \pm 5)
313	111	2	19	21	13
	109	10	23	33	14
	96	10	25	35	12
	(105 \pm 8)	(7 \pm 5)	(22 \pm 3)	(30 \pm 8)	(13 \pm 1)
625	95	8	17	27	10
	104	3	26	47	18
	100	9	27	37	11
	(100 \pm 5)	(7 \pm 3)	(23 \pm 6)	(37 \pm 10)	(13 \pm 4)
1250	106	3	21	18	4
	96	7	34	24	13
	81	7	42	26	18
	(94 \pm 13)	(6 \pm 2)	(32 \pm 11)	(23 \pm 4)	(12 \pm 7)
2500	81	9*	31	30	5
	96	6*	29	34	10
	88	10*	18	24	15
	(88 \pm 8)	(8 \pm 2)	(26 \pm 7)	(29 \pm 5)	(10 \pm 5)
5000	86*	9*	31	28	11
	108*	7*	28	18	8
	106*	6*	23	35	7
	(100 \pm 12)	(7 \pm 2)	(27 \pm 4)	(27 \pm 9)	(9 \pm 2)
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μ g/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異	577	226	664	332	108
コロニー数	503	176	624	313	112
/プレート	496	187	577	333	106
	(525 \pm 45)	(196 \pm 26)	(622 \pm 44)	(326 \pm 11)	(109 \pm 3)

* : 菌の生育阻害が認められた。

(): 平均値 \pm 標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果 [本試験2回目 - 直接法]

用 量 [μ g/プレート]	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照	122	9	--	21	5
[局方精製水]	113	10	--	17	9
	96	7	--	25	5
	(110 \pm 13)	(9 \pm 2)	--	(21 \pm 4)	(6 \pm 2)
62.5	117	5	--	22	7
	122	13	--	22	6
	137	7	--	24	7
	(125 \pm 10)	(8 \pm 4)	--	(23 \pm 1)	(7 \pm 1)
125	116	9	--	20	4
	115	9	--	27	7
	109	10	--	25	5
	(113 \pm 4)	(9 \pm 1)	--	(24 \pm 4)	(5 \pm 2)
250	111	5	--	24	6
	109	7	--	12	9
	123	12	--	33	4
	(114 \pm 8)	(8 \pm 4)	--	(23 \pm 11)	(6 \pm 3)
500	101	13	--	20	9
	109	6	--	20	6
	109	7	--	24	6
	(106 \pm 5)	(9 \pm 4)	--	(21 \pm 2)	(7 \pm 2)
1000	100	8*	--	20	5
	102	6*	--	21	2
	90	8*	--	22	11
	(97 \pm 6)	(7 \pm 1)	--	(21 \pm 1)	(6 \pm 5)
2000	96*	0*	--	16*	5*
	68*	0*	--	27*	6*
	74*	0*	--	24*	4*
	(79 \pm 15)	(0 \pm 0)	--	(22 \pm 6)	(5 \pm 1)
陽性対照	AF-2	SA	--	AF-2	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	--	0.1	80
復帰変異	928	491	--	461	747
コロニー数	892	469	--	482	953
/プレート	882	457	--	459	837
	(901 \pm 24)	(472 \pm 17)	--	(467 \pm 13)	(846 \pm 103)

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 3-1-2 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果〔本試験2回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照 〔局方精製水〕	---	---	13	---	---
	---	---	19	---	---
	---	---	16	---	---
	---	---	(16 \pm 3)	---	---
156	---	---	22	---	---
	---	---	26	---	---
	---	---	17	---	---
	---	---	(22 \pm 5)	---	---
313	---	---	14	---	---
	---	---	13	---	---
	---	---	21	---	---
	---	---	(16 \pm 4)	---	---
625	---	---	30	---	---
	---	---	19	---	---
	---	---	24	---	---
	---	---	(24 \pm 6)	---	---
1250	---	---	16	---	---
	---	---	16	---	---
	---	---	17	---	---
	---	---	(16 \pm 1)	---	---
2500	---	---	23	---	---
	---	---	21	---	---
	---	---	25	---	---
	---	---	(23 \pm 2)	---	---
5000	---	---	22	---	---
	---	---	12	---	---
	---	---	13	---	---
	---	---	(16 \pm 6)	---	---
陽性対照	---	---	AF-2	---	---
μ g/プレート	---	---	0.04	---	---
復帰変異 コロニー数 /プレート	---	---	1264	---	---
	---	---	1235	---	---
	---	---	1220	---	---
	---	---	(1240 \pm 22)	---	---

(): 平均値 \pm 標準偏差

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

表 3-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果[本試験2回目-代謝活性化法]

用 量 〔μg/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 _{uvrA}	TA98	TA1537
陰性対照 〔局方精製水〕	88 99 91 (93 ± 6)	6 7 6 (6 ± 1)	21 20 22 (21 ± 1)	34 18 23 (25 ± 8)	10 16 2 (9 ± 7)
156	103 114 91 (103 ± 12)	10 10 6 (9 ± 2)	22 25 20 (22 ± 3)	34 30 25 (30 ± 5)	17 10 16 (14 ± 4)
313	88 86 111 (95 ± 14)	12 5 8 (8 ± 4)	33 18 32 (28 ± 8)	22 31 21 (25 ± 6)	7 12 7 (9 ± 3)
625	81 98 92 (90 ± 9)	11 4 6 (7 ± 4)	20 20 32 (24 ± 7)	33 23 33 (30 ± 6)	8 15 9 (11 ± 4)
1250	111 69 85 (88 ± 21)	9 10 6 (8 ± 2)	23 22 19 (21 ± 2)	27 31 26 (28 ± 3)	14 9 13 (12 ± 3)
2500	95 92 92 (93 ± 2)	8* 4* 12* (8 ± 4)	17 16 21 (18 ± 3)	26 30 27 (28 ± 2)	12 11 15 (13 ± 2)
5000	91 88 72 (84 ± 10)	9* 2* 0* (4 ± 5)	17 25 15 (19 ± 5)	25 35 28 (29 ± 5)	12 2 5 (6 ± 5)
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μg/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異 コロニー数 /プレート	483 438 612 (511 ± 90)	204 196 199 (200 ± 4)	462 458 453 (458 ± 5)	244 254 210 (236 ± 23)	112 103 105 (107 ± 5)

* : 菌の生育阻害が認められた。
 (): 平均値±標準偏差
 2-AA: 2-アミノアントラセン

要 約

ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）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、46.88～3000 μ g/mL の範囲で細胞増殖抑制試験を行った。その結果、短時間処理法の S9 mix 非存在および存在下ともに、750 μ g/mL 以上の用量で 50% を上回る細胞増殖抑制が認められた。連続処理法 24 時間処理では、375 μ g/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では 100、200、400、600 および 800 μ g/mL、連続処理法の場合は 50、100、200、300 および 400 μ g/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 400 μ g/mL でのみ染色体構造異常細胞の増加が認められた。連続処理法 24 時間では染色体異常細胞の増加は認められなかった。なお、短時間処理法 S9 mix 非存在および存在下の 600 μ g/mL 以上、また、連続処理法 24 時間の 300 μ g/mL 以上では、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。

短時間処理法 S9 mix 非存在および存在下ともに 1 用量のみで染色体異常細胞の増加が認められたことから、いずれの条件の場合も 300、400 および 500 μ g/mL 用量を設定して確認試験を行った。その結果、S9 mix 非存在下では 300 および 400 μ g/mL で、また、S9 mix 存在下では 400 μ g/mL で染色体構造異常細胞の増加が認められ、試験結果の再現性が確認された。なお、S9 mix 非存在および存在下ともに 500 μ g/mL では、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。

以上の成績から、本実験条件下では、ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陽性と判定した。

試験目的

この試験は、ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）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 : ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）

（英名 : 4,4'-isopropylidenediphenol ethoxylated）

CAS 番号 : 32492-61-8

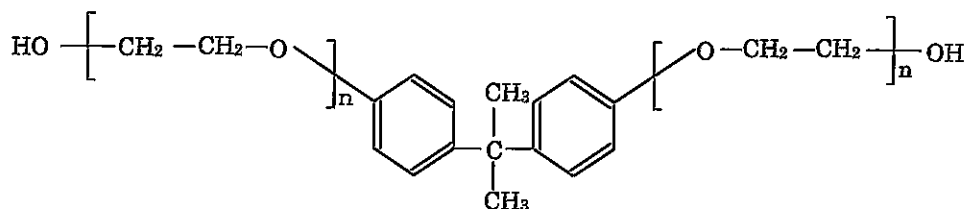
ロット番号 : L3-6S004-A

純 度 : 99%以上（水分 : 0.04%）

付加モル分布 : 1 モル : 0.0%、2 モル : 5.6%、3 モル : 16.9%、4 モル : 23.3%、
5 モル : 21.1%、6 モル : 15.8%、7 モル : 8.2%、8 モル : 4.0%
9 モル以上 : 5.1%（分析日 : 平成 18 年 10 月 19 日）

示 性 式 : $(C_2H_4O)_n(C_2H_4O)_nC_{15}H_{16}O_2$

構 造 式 :



入 手 先 : 三洋化成工業株式会社（京都府京都市東山区一橋野本町 11-1）

入手日・量 : 平成 19 年 3 月 14 日・25 g

物 性 等 :

化学名 : ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）

分子量 : 432（付加モル数 5 モルと仮定した場合）

性状(常温) : 無色透明液体

酸価 : 0.013 mgKOH/g

水酸基価 : 239 mgKOH/g

[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： 213~247 g (CAM-561)、194~235 g (CAM-578)

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 日目：PB 60 mg/kg
 - 3 日目：PB 60 mg/kg + BF 80 mg/kg、 4 日目：PB 60 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、46.88、93.75、187.5、375、750、1500 および 3000 μg/mL（溶媒に溶解可能な上限量）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。なお、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。なお、短時間処理法および連続処理法ともに 1500 μ g/mL 以上の用量ではその供試液を培養液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。

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、10 vol% 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、0.1 w/v% クリスト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。

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、短時間処理法の場合、S9 mix 非存在および存在下ともに 750 μ g/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 375~750 μ g/mL 用量域にあるものと判断された。連続処理法の場合は、24 時間処理では 375 μ g/mL 以上で 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 187.5~375 μ g/mL 用量域にあるものと判断され、48 時間処理では 375 μ g/mL 以上で 50% を上回る細胞増殖抑制が認められ、187.5 μ g/mL で 50%細胞増殖抑制を示した。

〔短時間処理法〕

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	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]
46.88	96	100	[92.0]	105	95	[100.0]
93.75	87	91	[89.0]	103	93	[98.0]
187.5	87	91	[89.0]	101	92	[95.5]
375	57	58	[57.5]	69	60	[64.5]
750	15	12	[13.5]	11	12	[11.5]
1500	15	12	[13.5]	13	11	[12.0]
3000	21	13	[17.0]	17	16	[16.5]

[] : 平均値

〔連続処理法〕

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	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]
46.88	95	97	[96.0]	95	95	[95.0]
93.75	88	81	[84.5]	83	80	[81.5]
187.5	68	62	[65.0]	49	51	[50.0]
375	14	11	[12.5]	13	10	[11.5]
750	17	12	[14.5]	14	14	[14.0]
1500	12	10	[11.0]	11	13	[12.0]
3000	13	9	[11.0]	10	11	[10.5]

[] : 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、短時間処理法の場合、S9 mix 非存在および存在下ともに 800 $\mu\text{g/mL}$ を最高用量とし、以下公比 2 で 400、200 および 100 $\mu\text{g/mL}$ の 4 用量および細胞増殖抑制試験で 375~750 $\mu\text{g/mL}$ 間で細胞増殖率の急激な変化が認められたことから、400 $\mu\text{g/mL}$ と 800 $\mu\text{g/mL}$ の中間量の 600 $\mu\text{g/mL}$ を加えた計 5 用量を、また、連続処理法 24 時間では、最高用量を 400 $\mu\text{g/mL}$ とし、以下公比 2 で 200、100 および 50 $\mu\text{g/mL}$ の 4 用量および細胞増殖抑制試験で 187.5~375 $\mu\text{g/mL}$ 間で細胞増殖率の急激な変化が認められたことから、200 $\mu\text{g/mL}$ と 400 $\mu\text{g/mL}$ の中間量の 300 $\mu\text{g/mL}$ を加えたの計 5 用量を設定した。陽性対照物質の MNNG は 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 、B[a]P は 10 $\mu\text{g/mL}$ 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（原液）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

4×10³ 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 の供試液を各シャーレに 0.015 mL ずつ添加して培養した。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 の供試液を各シャーレに 0.015 mL ずつ添加して培養した。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、新しい培養液 5 mL を加え、さらに 18 時間培養した。

連続処理法の場合は、DMSO、被験物質供試液および MNNG の供試液を各シャーレに 0.025 mL ずつ加え、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：S9 mix 非存在下]

用量(μ g/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
100		4	4
200		4	4
400		4	4
600		4	4
800		4	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 : 52

[連続処理法]

用量(μ g/mL)		使用シャーレ数
		24 時間処理
0	(陰性対照) ^a	4
50		4
100		4
200		4
300		4
400		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 1335046)を最終濃度として0.2 μ g/mLとなるように添加した。培養終了後、培養液を取り除き、0.2 w/v%トリプシン水溶液2 mL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、1000 rpm、5分間遠心分離した。上清を捨て、細胞沈渣に低張液の75 mM塩化カリウム水溶液4 mLを加えて懸濁し、37°C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)1 mLを添加して固定した。1000 rpm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4 mL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、スライドガラスの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、S ϕ rensen 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、10 vol%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、0.1 w/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倍で鏡検した。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、単一用量のみで陽性値を示した場合には、それに近い用量を用いて再実験を行い、その結果、再現性が認められる場合には、染色体異常誘発性は陽性と判定した。

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 に示す。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 100、200 および 400 $\mu\text{g/mL}$ でそれぞれ 1.5、3.5 および 40.0%の出現頻度で認められ、400 $\mu\text{g/mL}$ で有意な増加が認められた。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 96.5%であり、顕著な染色体異常誘発が確認された。

数的異常を示す倍数体は、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、200 $\mu\text{g/mL}$ でのみ 0.5%の低い出現頻度で認められた。

なお、600 および 800 $\mu\text{g/mL}$ では、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。

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 に示す。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 0.5%と低値であった。100、200 および 400 $\mu\text{g/mL}$ でそれぞれ 0.5、0.5 および 12.5%の出現頻度で認められ、400 $\mu\text{g/mL}$ で有意な増加が認められた。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 82.0%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 1.0%の低い出現頻度で認められた。被験物質群では、0 または 0.5%の出現頻度で認められた。陽性対照群では認められなかった。

なお、600 および 800 $\mu\text{g/mL}$ では、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。

3. 染色体異常試験（連続処理法：24 時間処理）

結果は表 2 に示す。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 2.0%と低値であった。被験物質群では 0~2.0%の出現頻度であり、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 94.5% 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、被験物質群および陽性対照群のいずれにも認められなかった。

なお、300 および 400 $\mu\text{g/mL}$ では、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。

4. 染色体異常試験：確認試験（短時間処理法：S9 mix 非存在下）

400 $\mu\text{g/mL}$ でのみ染色体構造異常細胞の有意な増加が認められたことから、結果の再現性を確認するため、300、400 および 500 $\mu\text{g/mL}$ 用量を設定し、確認試験を行った。その結果は表 3-1 に示す。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 300 および 400 $\mu\text{g/mL}$ でそれぞれ 16.0 および 46.0% の出現頻度で認められ、300 および 400 $\mu\text{g/mL}$ で有意な増加が認められた。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 89.0% 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、400 $\mu\text{g/mL}$ でのみ 0.5% の出現頻度で認められた。陽性対照群では認められなかった。

なお、500 $\mu\text{g/mL}$ では、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。

5. 染色体異常試験：確認試験（短時間処理法：S9 mix 存在下）

400 $\mu\text{g/mL}$ でのみ染色体構造異常細胞の有意な増加が認められたことから、結果の再現性を確認するため、300、400 および 500 $\mu\text{g/mL}$ 用量を設定し、確認試験を行った。その結果は表 3-2 に示す。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 0.5% と低値であった。被験物質群では 300 および 400 $\mu\text{g/mL}$ でそれぞれ 2.0 および 19.0% の出現頻度で認められ、400 $\mu\text{g/mL}$ で有意な増加が認められた。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 72.0% 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、陰性対照群では認められなかった。被験物質群および陽性対

照群では、いずれも 0.5%の低い出現頻度で認められた。

なお、500 μ g/mL では、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。

6. D₂₀ 値⁴⁾

短時間処理法において、陽性値を示す染色体構造異常細胞の増加が認められたため、D₂₀ 値〔分裂中期像の 20%に異常を誘発させるために必要な被験物質の推定用量 (mg/mL)〕を算出した。

その結果は下表に示すとおりであり、S9 mix 非存在および存在下の構造異常に関する D₂₀ 値は、それぞれ S 値が小さい 0.23 および 0.71 mg/mL を採用した。なお、確認試験については、被験物質群で 3 用量以上のデータが得られなかったため、D₂₀ 値は採用対象外とした。

短時間処理法	回帰曲線	D ₂₀ 値 (μ g/mL)	S 値 $\left[S = \frac{D_{20}}{r} \times \frac{1}{n^2} \right]$
S9 mix 非存在下	$y = 0.100571x - 6.10001$ ($r = 0.902534$)	259.517	17.9714
	$y = 39.5311x - 73.5122$ ($r = 0.807268$)	<u>232.024</u>	<u>17.9637</u>
S9 mix 存在下	$y = 0.0308572x - 1.9$ ($r = 0.87831$)	<u>709.722</u>	<u>50.5034</u>
	$y = 11.959x - 22.218$ ($r = 0.774597$)	3390.22	273.547

S 値：対象となった D₂₀ 値のうち、相関係数 r が大きく、陰性対照群を含む群数 n が多いものほどより妥当性が高いとする考えに基づく指標。

結 論

ビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加モル数 5 モル) 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において染色体構造異常細胞の増加が認められた。

したがって、本実験条件下では、ビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加モル数 5 モル) の CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性は陽性と判定した。本被験物質の染色体の構造異常誘発に関する D₂₀ 値は、S9 mix 非存在下で 0.23 mg/mL、S9 mix 存在

下で 0.71 mg/mL であった。本試験結果は、CHL/TU 細胞において染色体異常を有する細胞の出現頻度が 10%以上を陽性とする生物学的判断基準⁵⁾からみても陽性と判断されるものであった。

ビスフェノール A の変異原性については、*S. typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA102、TA1535 または *E. coli* WP2uvrA を用いた復帰突然変異試験^{6,7,8)}で陰性との報告がある。また、CHO 細胞を用いた染色体異常試験で陽性⁹⁾ および陰性¹⁰⁾、V-79 細胞を用いた細胞遺伝子突然変異試験で陰性⁶⁾ との報告がある。

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.
- 4) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室 監修、“化審法毒性試験法の解説改訂版”、化学工業日報社、東京、1992、pp. 51-52.
- 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.
- 5) 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.
- 6) Schweickl, H, et., al. The mutagenic activity of unpolymerized resin monomers in *salmonella typhimurium* and V79 cells. *Mutation Research*, 415(1-2):119-130, 1998.
- 7) Japan chemical industry ecology- toxicology and information center, Japan; Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation of the industrial safety and health law, 1996.
- 8) Masuda, et., al. Changes in the mutagenic and estrogenic activities of bisphenol A upon treatment with nitrite. *Mutation Research*, 585(1-2):137-1146, 2005.
- 9) Hilliard, CA, et., al. Chromosome aberration *in vitro* related to cytotoxicity of

表 1-1 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix非存在下)

検体の用量 ($\mu\text{g/mL}$)	染色体構造異常の細胞数(%)							ギャップの細胞 出現数 (%)	細胞 増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(%)			
	観察 細胞数	染色分体		染色体		その他	総異常 細胞数			観察 細胞数	倍数体	その他	総異常 細胞数
		切断	交換	切断	交換								
陰性対照	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	0	0	0
0	100	0	2	0	0	0	2	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)	(0)
100	100	2	0	0	0	0	2	0	99.0	100	0	0	0
	100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0
	200	2	1	0	0	0	3	0		200	0	0	0
		(1.0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(1.5)	(0)		(0)	(0)	(0)	
200	100	2	3	0	0	0	5	0	92.0	100	0	0	0
	100	1	1	0	0	0	2	0		100	1	0	1
	200	3	4	0	0	0	7	0		200	1	0	1
		(1.5)	(2.0)	(0)	(0)	(0)	(3.5)	(0)		(0.5)	(0)	(0.5)	
400	100	26	29	1	0	0	35	0	58.0	100	0	0	0
	100	19	41	0	0	0	45	1		100	0	0	0
	200	45	70	1	0	0	80	1		200	0	0	0
		(22.5)	(35)	(0.5)	(0)	(0)	(40.0)**	(0.5)		(0)	(0)	(0)	
600 #	--	--	--	--	--	--	--	--	37.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
800 #	--	--	--	--	--	--	--	--	25.0	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
陽性対照	100	47	95	0	0	0	97	0	--	100	0	0	0
2.5	100	42	90	2	0	0	96	0	--	100	0	0	0
	200	89	185	2	0	0	193	0	--	200	0	0	0
		(44.5)	(92.5)	(1.0)	(0)	(0)	(96.5)**	(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 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix存在下)

検体 の用量 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)							ギャップの細胞		染色体の数的異常の細胞数(%)			
	観察 細胞数	染色分体		染色体		その他	総異常 細胞数	出現数 (%)	増殖率 (%)	観察 細胞数	倍数体	その他	総異常 細胞数
		切断	交換	切断	交換								
陰性対照	100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	0	1
0	100	0	0	0	1	0	1	0	100.0	100	1	0	1
	200	0	0	0	1	0	1	0		200	2	0	2
		(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)		(1.0)	(0)	(1.0)	
100	100	0	0	0	1	0	1	0	92.0	100	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0		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)	
200	100	0	1	0	0	0	1	0	89.0	100	1	0	1
	100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
	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)	
400	100	3	12	0	0	0	12	0	74.0	100	0	0	0
	100	6	12	0	0	0	13	0		100	1	0	1
	200	9	24	0	0	0	25	0		200	1	0	1
		(4.5)	(12.0)	(0)	(0)	(0)	(12.5)**	(0)		(0.5)	(0)	(0.5)	
600 #	--	--	--	--	--	--	--	--	18.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
800 #	--	--	--	--	--	--	--	--	13.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
陽性対照	100	29	79	0	1	0	80	0		100	0	0	0
10	100	15	83	1	0	0	84	0	--	100	0	0	0
	200	44	162	1	1	0	164	0		200	0	0	0
		(22.0)	(81.0)	(0.5)	(0.5)	(0)	(82.0)**	(0)		(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.

**: $p < 0.01$.

#: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 2 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(連続処理法:24時間処理)

検体の用量 ($\mu\text{g/mL}$)	染色体構造異常の細胞数(%)							ギャップの細胞 出現数 (%)	細胞 増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(%)				
	観察 細胞数	染色分体		染色体		その他	総異常 細胞数			観察 細胞数	倍数体	その他	総異常 細胞数	
		切断	交換	切断	交換									
陰性対照	100	1	1	0	0	0	2	0		100	0	0	0	
0	100	1	2	0	0	0	2	0	100.0	100	0	0	0	
	200	2	3	0	0	0	4	0		200	0	0	0	
		(1.0)	(1.5)	(0)	(0)	(0)	(2.0)	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
50	100	0	2	0	0	0	2	0	92.0	100	0	0	0	
	100	1	1	0	1	0	2	0		100	0	0	0	
	200	1	3	0	1	0	4	0		200	0	0	0	
		(0.5)	(1.5)	(0)	(0.5)	(0)	(2.0)	(0)		(0)	(0)	(0)	(0)	
100	100	0	0	0	0	0	0	0	80.5	100	0	0	0	
	100	0	0	0	0	0	0	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)	(0)	
200	100	0	0	0	0	0	0	0	68.5	100	0	0	0	
	100	0	0	0	0	0	0	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)	(0)	
300 #	--	--	--	--	--	--	--	--	42.0	--	--	--	--	
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)
400 #	--	--	--	--	--	--	--	--	20.0	--	--	--	--	
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)
陽性対照	100	37	91	1	0	0	94	0		100	0	0	0	
2.5	100	40	91	1	0	0	95	0	--	100	0	0	0	
	200	77	182	2	0	0	189	0		200	0	0	0	
		(38.5)	(91.0)	(1.0)	(0)	(0)	(94.5)**	(0)		(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 3-1 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の染色体異常試験結果(短時間処理法:S9mix非存在下)-確認試験

検体の用量 (μ g/mL)	染色体構造異常の細胞数(%)						ギャップの細胞 出現数 (%)	細胞 増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(%)				
	観察 細胞数	染色分体		染色体		その他			総異常 細胞数	観察 細胞数	倍数体	その他	総異常 細胞数
		切断	交換	切断	交換								
陰性対照	100	2	1	0	1	0	3	0		100	0	0	0
0	100	0	0	0	0	0	0	0	100.0	100	1	0	1
	200	2	1	0	1	0	3	0		200	1	0	1
		(1.0)	(0.5)	(0)	(0.5)	(0)	(1.5)	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
300	100	5	7	0	0	0	12	0	90.0	100	0	0	0
	100	12	13	0	0	0	20	0		100	0	0	0
	200	17	20	0	0	0	32	0		200	0	0	0
		(8.5)	(10.0)	(0)	(0)	(0)	(16.0)**	(0)			(0)	(0)	(0)
400	100	47	50	3	0	0	58	0	54.5	100	1	0	1
	100	19	29	0	0	0	34	0		100	0	0	0
	200	66	79	3	0	0	92	0		200	1	0	1
		(33.0)	(39.5)	(1.5)	(0)	(0)	(46.0)**	(0)			(0.5)	(0)	(0.5)
500 #	--	--	--	--	--	--	--	--	29.5	--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
	--	--	--	--	--	--	--	--		--	--	--	--
		(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)	(--)			(--)	(--)	(--)
陽性対照	100	51	87	3	0	0	91	0		100	0	0	0
2.5	100	45	79	1	0	0	87	0	--	100	0	0	0
	200	96	166	4	0	0	178	0		200	0	0	0
		(48.0)	(83.0)	(2.0)	(0)	(0)	(89.0)**	(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。