

『p-(アセチルアミノ)ベンゼン誘導体のチャイニーズ・ハムスター
培養細胞を用いる染色体異常試験』

PROJECT No. H-00359

平成 13 年 3 月 30 日

群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸 3303-58

株式会社 実医研

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	p-(アセチルアミノ)ベンゼンスルホニルクロリド					
別 名						
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)	$\text{CH}_3\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2\text{Cl}$ $\text{C}_8\text{H}_8\text{ClNO}_2\text{S}$					
試験に供した新規化学物質の純度	99.7%	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						
C A S 番 号	121-60-8	蒸 気 圧				
分 子 量	233.67	分 配 係 数				
融 点	145~148℃	常温における性状	白色の粉末			
沸 点						
安 定 性						
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	溶解	不安定	DMSO	溶解	不安定
	エタノール			その他 ()		

2. 細胞の種類

細胞 名	CHL/IU	入 手 先	国立医薬品食品衛生研究所 (旧名：国立衛生試験所)		
種	チャイニーズ・ハムスター	入 手 年 月 日	1991 年 10 月 31 日		
培 養 液	Eagle MEM	製 造 元	Gibco		
血清の種類と添加量	仔ウシ血清 10%	製造元 (Lot No.)	Gibco(1023609)		
細胞 周 期	約 15h	凍 結 条 件	液体窒素 (-196℃)		
継 代 数	11 継代 (細胞増殖抑制試験) 17 継代 (染色体異常試験) 21 継代 (確認試験)	培養条件	25cm ² 細胞培養用フラスコ		
染 色 体 数 (モ ー ド)	25 本			温 度	37℃
				CO ₂ 濃 度	5%
備 考					

3.S9 mix

(1) S9 の入手方法等

自製・購入の別	1.自製 ②.購入（製造年月日：キッコーマン株式会社）
製造年月日	2000 年 12 月 1 日
購入の場合の Lot No.	RAA-436
保存温度	-80℃以下（設定温度：-85℃）

(2) S9 の調製方法

使用動物		誘導物質	
種・系統	ラット・SD 系	名 称	PB および 5,6-BF
性	雄	投与方法	腹腔内投与
週 令	7 週	投与期間及び投与量 (g/kg 体重)	PB 0.03g/kg 1 回
体 重	210~245g		PB 0.06g/kg 3 回
			5,6-BF 0.08g/kg 1 回

(3) S9mix の組成

成 分	S9mix 1mL 中の量	成 分	S9mix 1mL 中の量
S9	0.3 mL	NADP	4 μ mol
MgCl ₂	5 μ mol	HEPES 緩衝液*	4 μ mol
KCl	33 μ mol	その他 ()	—
グルコース-6-リン酸	5 μ mol	—	—

(4) S9mix の処理条件

* PH 7.2

①.プレート法 2.細胞浮遊法 3.その他 ()	
S9 量 (最終濃度)	5%
S9 蛋白量 (最終濃度)	1.29mg/mL
処 理 時 間	6h
回 復 時 間	18h
備 考	—

4.被験物質溶液の調製

使用溶媒	名称	製造元	Lot No.	プレート	純度 (%)
	1%CMC-Na	和光純薬工業株式会社	LEM0609	—	—
溶媒選択の理由	事前に目視により確認した結果、DMSO およびエタノールには溶解するが不安定であり、水には不溶である。このことから 1 %CMC-Na 溶液を選択した。				
被験物質溶液の性状	溶解 <u>懸濁</u> その他 ()				
被験物質が難溶性の場合における懸濁の方法	—				
溶液の調製から使用までの保存時間と温度	0 時間 00 分 (用時調製) 室温				
純度換算の有無	有 <u>無</u>				

5.短時間処理法における試験

(1) 細胞増殖抑制試験の条件

		代謝活性化によらない場合	代謝活性化による場合
試験実施期間		2000年12月22日から 2000年12月28日	2000年12月22日から 2000年12月28日
培養器	形状	細胞培養用シャーレ	細胞培養用シャーレ
	大きさ	φ 35mm	φ 35mm
	培養液量	2 mL/培養器	2 mL/培養器
	用量当たりの培養器数	2 枚	2 枚
細胞	播種細胞数	約 1×10 ⁴ 個/mL	約 1×10 ⁴ 個/mL
	前培養日数	3 日間	3 日間
処理条件	被験物質溶液添加量	0.2 mL/培養器	0.2 mL/培養器
	S9 mix の添加量	—	0.37 mL/培養器
	S9 の最終濃度	—	5 %
	S9 蛋白の最終濃度	—	2.84 mg/培養器
	処理時間	6 h	6 h
	回復時間	18 h	18 h
細胞増殖抑制 測定法		10%ホルマリン水溶液で固定 0.1%クリスタル・バイオレットで染色 モノセレーターで計測	
備考		—	

(2) 細胞増殖抑制試験結果

代謝活性化によらない場合 (6-18h)		代謝活性化による場合 (6-18h)	
用量 (mg/mL)	細胞増殖率 (%)	用量 (mg/mL)	細胞増殖率 (%)
0	100	0	100
0.003	104	0.003	96
0.010	100	0.010	93
0.029	104	0.029	98
0.087	84	0.087	79
0.260	35	0.260	30
0.779	10	0.779	9
2.337	12	2.337	8

(3) 染色体異常試験の条件

試験実施期間		代謝活性化によらない場合	代謝活性化による場合
		2001 年 1 月 19 日から 2001 年 1 月 25 日	2001 年 1 月 19 日から 2001 年 1 月 25 日
培 養 器	形 状	細胞培養用シャーレ	細胞培養用シャーレ
	大 き さ	φ 60mm	φ 60mm
	培 養 液 量	5 mL/培養器	5 mL/培養器
	用量当たりの培養器数	2 枚	2 枚
細 胞	播 種 細 胞 数	約 1×10^4 個/mL	約 1×10^4 個/mL
	前 培 養 日 数	3 日間	3 日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.5 mL/培養器	0.5 mL/培養器
	S9 mix の添加量	—	0.92 mL/培養器
	S9 の最終濃度	—	5 %
	S9 蛋白の最終濃度	—	7.10 mg/培養器
	処 理 時 間	6 h	6 h
	回 復 時 間	18 h	18 h
備 考		—	—

(4) 染色体異常試験結果 (別表 1 による)

(5) 確認試験試験の条件

試験実施期間		代謝活性化によらない場合	代謝活性化による場合
		—	2001 年 2 月 10 日から 2001 年 2 月 15 日
培 養 器	形 状	—	細胞培養用シャーレ
	大 き さ	—	φ 60mm
	培 養 液 量	—	5 mL/培養器
	用量当たりの培養器数	—	2 枚
細 胞	播 種 細 胞 数	—	約 1×10^4 個/mL
	前 培 養 日 数	—	3 日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	—	0.5 mL/培養器
	S9 mix の添加量	—	0.92 mL/培養器
	S9 の最終濃度	—	5 %
	S9 蛋白の最終濃度	—	7.10 mg/培養器
	処 理 時 間	—	6 h
	回 復 時 間	—	18 h
備 考		—	—

(6) 確認試験結果 (別表 3 による)

6. 連続処理法による試験

(1) 細胞増殖抑制試験の条件

試験実施期間		2000 年 12 月 22 日から 2000 年 12 月 28 日	2000 年 12 月 22 日から 2000 年 12 月 28 日
培 養 器	形 状	細胞培養用シャーレ	細胞培養用シャーレ
	大 き さ	φ 35mm	φ 35mm
	培 養 液 量	2 mL/培養器	2 mL/培養器
	用量当たりの培養器数	2 枚	2 枚
細 胞	播 種 細 胞 数	約 1×10^4 個/mL	約 1×10^4 個/mL
	前 培 養 日 数	3 日間	3 日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.2 mL/培養器	0.2 mL/培養器
	処 理 時 間	24 h	48 h
	回 復 時 間	0 h	0 h
細胞増殖抑制 測定法	10%ホルマリン水溶液で固定 0.1%クリスタル・バイオレットで染色 モノセレーターで計測		
備 考			

(2) 細胞増殖抑制試験結果

24h 処理による場合		48h 処理による場合	
用量 (mg/mL)	細胞増殖率 (%)	用量 (mg/mL)	細胞増殖率 (%)
0	100	0	100
0.003	101	0.003	95
0.010	91	0.010	94
0.029	92	0.029	100
0.087	91	0.087	102
0.260	36	0.260	39
0.779	12	0.779	13
2.337	15	2.337	14

(3) 染色体異常試験の条件

試験実施期間		2001 年 1 月 19 日から 2001 年 1 月 25 日	2001 年 1 月 19 日から 2001 年 1 月 25 日
培 養 器	形 状	細胞培養用シャーレ	細胞培養用シャーレ
	大 き さ	φ 60mm	φ 60mm
	培 養 液 量	5 mL/培養器	5 mL/培養器
	用量当たりの培養器数	2 枚	2 枚
細 胞	播 種 細 胞 数	約 1×10^4 個/mL	約 1×10^4 個/mL
	前 培 養 日 数	3 日間	3 日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.5 mL/培養器	0.5 mL/培養器
	処 理 時 間	24 h	48 h
	回 復 時 間	0 h	0 h
細胞増殖抑制 測定法	10%ホルマリン水溶液で固定 0.1%クリスタル・バイオレットで染色 モノセレーターで計測		
備 考			

(4) 染色体異常試験結果 (別表 2 による)

7. 結果の判定及び参考事項

(1) 結果の判定

判 定 (いずれかを○で囲むこと)		陽性		陰性	
判定の理由					
被験物質群では、短時間処理法、連続処理法のいずれの培養系列においても、切断、交換等の構造異常を有する細胞の出現頻度は0～1.0%、数的異常を有する細胞の出現頻度は0～0.5%であり、陰性対照群と比較して差はなかった。また、ギャップの出現数に関しても1用量につき0～2個であり、陰性対照群とほぼ同程度であった。					
一方、各陽性対照群では、それぞれ染色体の構造異常を有する細胞の顕著な増加が認められた。すなわち、構造異常の出現率はS9無添加および添加培養系列では各々15.0 および 47.0%であった。また、24 および 48 時間培養系列では、各々41.5 および 62.5%であった。数的異常の出現率については、いずれの培養系列も0～0.5%であった。					
以上の結果より、当該試験条件下における p-(7-ethyl-7-methyl-2-naphthyl)-N-methyl-2-pyrrolidone の染色体異常誘発作用は陰性と判断された。					
結果の評価に統計学的手法は用いない。					
その他、試験の信頼性に影響を及ぼした要因はない。					
D ₂₀ 値	構造異常	短時間処理法	-S9mix	- h 処理	mg/mL
			+S9mix	- h 処理	mg/mL
		連続処理法	——	- h 処理	mg/mL
			——	- h 処理	mg/mL
	数的異常	短時間処理法	-S9mix	- h 処理	mg/mL
			+S9mix	- h 処理	mg/mL
		連続処理法	——	- h 処理	mg/mL
			——	- h 処理	mg/mL

(2) 参考事項

50%細胞増殖抑制濃度を求めるために0.003、0.010、0.029、0.087、0.260、0.779 および2.337mg/mLの濃度で細胞増殖抑制試験を行った。その結果、50%細胞増殖抑制濃度は全ての培養系列について約0.2mg/mLであった。このことから、染色体異常試験の最高用量を全ての培養系列について50%細胞増殖抑制濃度を明らかに上回る濃度である0.260mg/mLに設定し、以下公比2で0.130、0.065mg/mLのそれぞれ計3用量とした。

染色体異常試験の0.065、0.130 および0.260mg/mLで測定した細胞増殖率はS9 無添加およびS9 添加培養系列の場合はそれぞれ88、72、38%および94、69、41%であり、24 および48 時間培養系列の場合はそれぞれ89、73、32%および89、64、36%であった。

染色体異常試験の結果、全培養系列において、構造異常あるいは数的異常(倍数体)を有する細胞の出現頻度は陰性対照群と比較して差は認められなかったことから、結果を陰性と判定した。結果が陰性であった場合には短時間処理法のS9 添加培養系列について確認試験を実施しなければならないことから回復時間を18 時間から24 時間に延長した確認試験を実施した。その結果、染色体異常試験とほぼ同様な結果が得られ、被験物質による染色体異常誘発性は細胞周期の遅延に左右されないことが確認された。

各陽性対照群では、構造異常を有する細胞の出現頻度が顕著に増加し、陰性および陽性各対照群では、共にバックグラウンドデータ(添付資料 1)の近似値であったことから、当該試験が適正な条件下で実施されたことが確認された。

8.その他

試験実施施設	名称	株式会社 実医研 榛名試験所
	所在地	群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸 3303-58 電話 0279 (69) 2216
試験責任者	職氏名	
	経験年数	
試験期間	平成 12 年 12 月 12 日 より 平成 13 年 3 月 30 日	
試験番号	H-00359	

別表1 染色体異常試験の結果(短時間処理法)

被験物質の名称: p-(7-チルミ)ベンゼンジニトリド

処理時間 (h)	S9 mix	被験物質 の用量 (mg/mL)	染色体構造異常の細胞数 (出現頻度 %)							ギャップ 0	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数 (出現頻度 %)			
			観察細胞数	染色体切断	染色体交換	染色体切断	染色体交換	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 (%)
6-18	-	陰性対照 (CMC-Na)	100	1	0	0	0	0	1	0	100	100	0	0	0
			100	0	1	0	0	0	1	0		100	0	0	0
			200	1	1	0	0	0	2 (1.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	-	0.065	100	0	1	0	0	0	1	0	88	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
			200	0	1	0	0	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	-	0.130	100	0	0	0	0	0	0	1	72	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	1		100	0	0	0
			200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	2		200	0	0	0 (0.0)
6-18	-	0.260	100	0	0	0	0	0	0	0	38	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
			200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	-	陽性対照 (MMC) 0.0001	100	6	10	1	2	0	17	1		100	1	0	1
			100	7	7	0	1	0	13	3		100	0	0	0
			200	13	17	1	3	0	30 (15.0)	4		200	1	0	1 (0.5)
6-18	+	陰性対照 (CMC-Na)	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
			200	1	0	0	0	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	+	0.065	100	0	0	0	0	0	0	0	94	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
			200	1	0	0	0	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	+	0.130	100	1	0	0	0	0	1	0	69	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
			200	2	0	0	0	0	2 (1.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	+	0.260	100	1	0	0	0	0	1	0	41	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	0	1
			200	1	0	0	0	0	1 (0.5)	0		200	1	0	1 (0.5)
6-18	+	陽性対照 (B[a]P) 0.02	100	15	34	0	4	0	44	5		100	0	0	0
			100	17	40	1	4	0	50	4		100	1	0	1
			200	32	74	1	8	0	94 (47.0)	9		200	1	0	1 (0.5)

[備考]

1. 処理時間の欄には、処理時間-回復時間の順に記入する。
2. 被験物質の用量は、低い方から順に記入する。
3. 陰性、陽性対照物質を括弧内に記入する。物質名を略称で記入した場合には、欄外にその名称を記入する。

4. 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に記入する。

陰性対照: 1% Carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC-Na)

陽性対照: Mitomycin C (MMC), Benzo [a] Pyrene (B[a]P)

PROJECT No. H-00359

別表2 染色体異常試験の結果(連続処理法)

被験物質の名称: p-(7セチルフェニル)ベンゾニルホスホン酸ナトリウム

処理時間 (h)	被験物質 の用量 (mg/mL)	染色体構造異常の細胞数 (出現頻度 %)							ギャップ の出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数 (出現頻度 %)			
		観察細胞数	染色体分体切断	染色体分体交換	染色体切断	染色体交換	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 (%)
24	陰性対照 (CMC-Na)	100	0	0	0	0	0	0	1	100	100	0	0	0
		100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
		200	1	0	0	0	0	1 (0.5)	1		200	0	0	0 (0.0)
24	0.065	100	0	0	0	0	0	0	1	89	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
		200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	1		200	0	0	0 (0.0)
24	0.130	100	0	0	0	0	0	0	0	73	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
		200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
24	0.260	100	1	0	0	0	0	1	0	32	100	0	0	0
		100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
		200	2	0	0	0	0	2 (1.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
24	陽性対照 (MMC) 0.0001	100	14	31	0	3	0	46	3		100	0	0	0
		100	16	23	1	3	0	37	7		100	1	0	1
		200	30	54	1	6	0	83 (41.5)	10		200	1	0	1 (0.5)
48	陰性対照 (CMC-Na)	100	0	0	0	1	0	1	0	100	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
		200	0	0	0	1	0	1 (0.5)	0		200	0	0	0 (0.0)
48	0.065	100	0	0	0	0	0	0	0	89	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
		200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
48	0.130	100	0	0	0	0	0	0	1	64	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
		200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	1		200	0	0	0 (0.0)
48	0.260	100	0	0	0	1	0	1	0	36	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	1		100	0	0	0
		200	0	0	0	1	0	1 (0.5)	1		200	0	0	0 (0.0)
48	陽性対照 (MMC) 0.0001	100	26	41	0	4	1	57	6		100	1	0	1
		100	29	52	1	3	2	68	6		100	1	0	1
		200	55	93	1	7	3	125 (62.5)	12		200	2	0	2 (1.0)

〔備考〕

1. 被験物質の用量は、低い方から順に記入する。
2. 陰性、陽性対照物質を括弧内に記入する。物質名を略称で記入した場合には、欄外にその名称を記入する。

3. 各群のプレートごとのデーターを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に記入する。

陰性対照: 1% Carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC-Na)

陽性対照: Mitomycin C (MMC)

PROJECT No. H-00359

試験結果報告書の内容に関するお問い合わせには応じかねますので御了承下さい。

別表3 染色体異常試験の結果(短時間処理法, 確認試験)

被験物質の名称: p-(7-tert-Bu-2-naphthyl)phenol

処理時間 (h)	S9 mix	被験物質 の用量 (mg/mL)	染色体構造異常の細胞数 (出現頻度 %)							ギャップ 0	細胞増殖率 (%)	染色体の致死的異常の細胞数 (出現頻度 %)			
			観察細胞数	染色体分体切断	染色体分体交換	染色体切断	染色体交換	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 (%)
6-18	+	陰性対照 (CMC-Na)	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
			200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	+	0.065	100	0	0	0	0	0	0	0	95	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0	0
			200	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0		200	0	0	0 (0.0)
6-18	+	0.130	100	0	0	0	1	0	1	0	77	100	0	0	0
			100	0	1	0	0	0	1	0		100	1	0	1
			200	0	1	0	1	0	2 (1.0)	0		200	1	0	1 (0.5)
6-18	+	0.260	100	0	0	0	0	0	0	1	35	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	0	0
			200	1	0	0	0	0	1 (0.5)	1		200	0	0	0 (0.0)
6-18	+	陽性対照 (B[a]P) 0.02	100	16	39	1	5	0	52	6		100	1	0	1
			100	19	29	1	5	0	45	4		100	0	0	0
			200	35	68	2	10	0	97 (48.5)	10		200	1	0	1 (0.5)

【備考】

1. 処理時間の欄には、処理時間一回復時間の順に記入する。
2. 被験物質の用量は、低い方から順に記入する。
3. 陰性、陽性対照物質を括弧内に記入する。物質名を略称で記入した場合には、欄外にその名称を記入する。

4. 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に記入する。

陰性対照: 1% Carboxymethyl cellulose sodium salt (CMC-Na)

陽性対照: Mitomycin C (MMC)

PROJECT No. H-00359

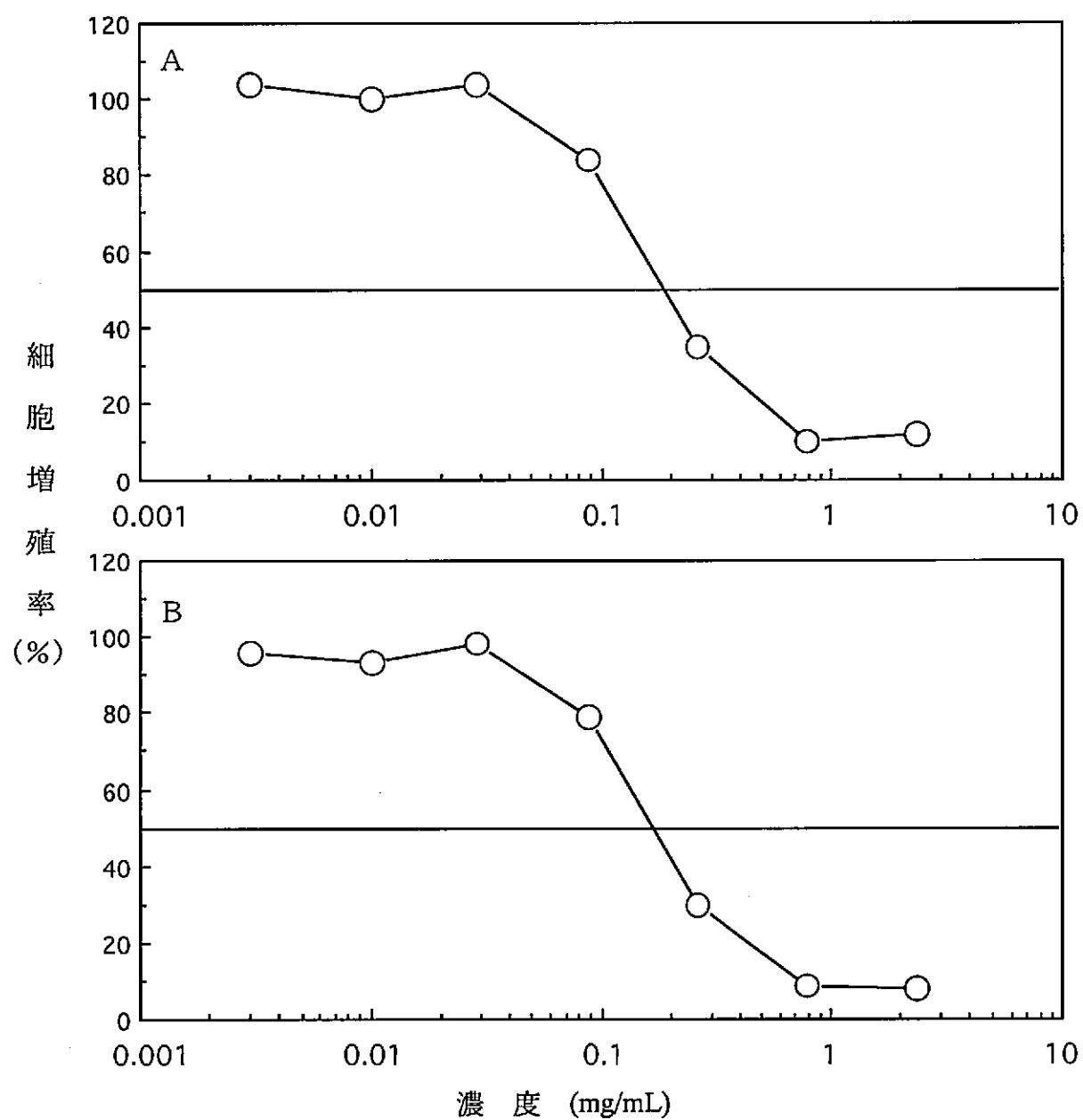


図 1-1. p-(アセチルアミノ)ベンゼンシルクロリドがCHL/IU細胞の増殖に及ぼす影響
(短時間処理法)

A : 代謝活性化によらない場合 (-S9)

B : 代謝活性化による場合 (+S9)

PROJECT No. H-00359

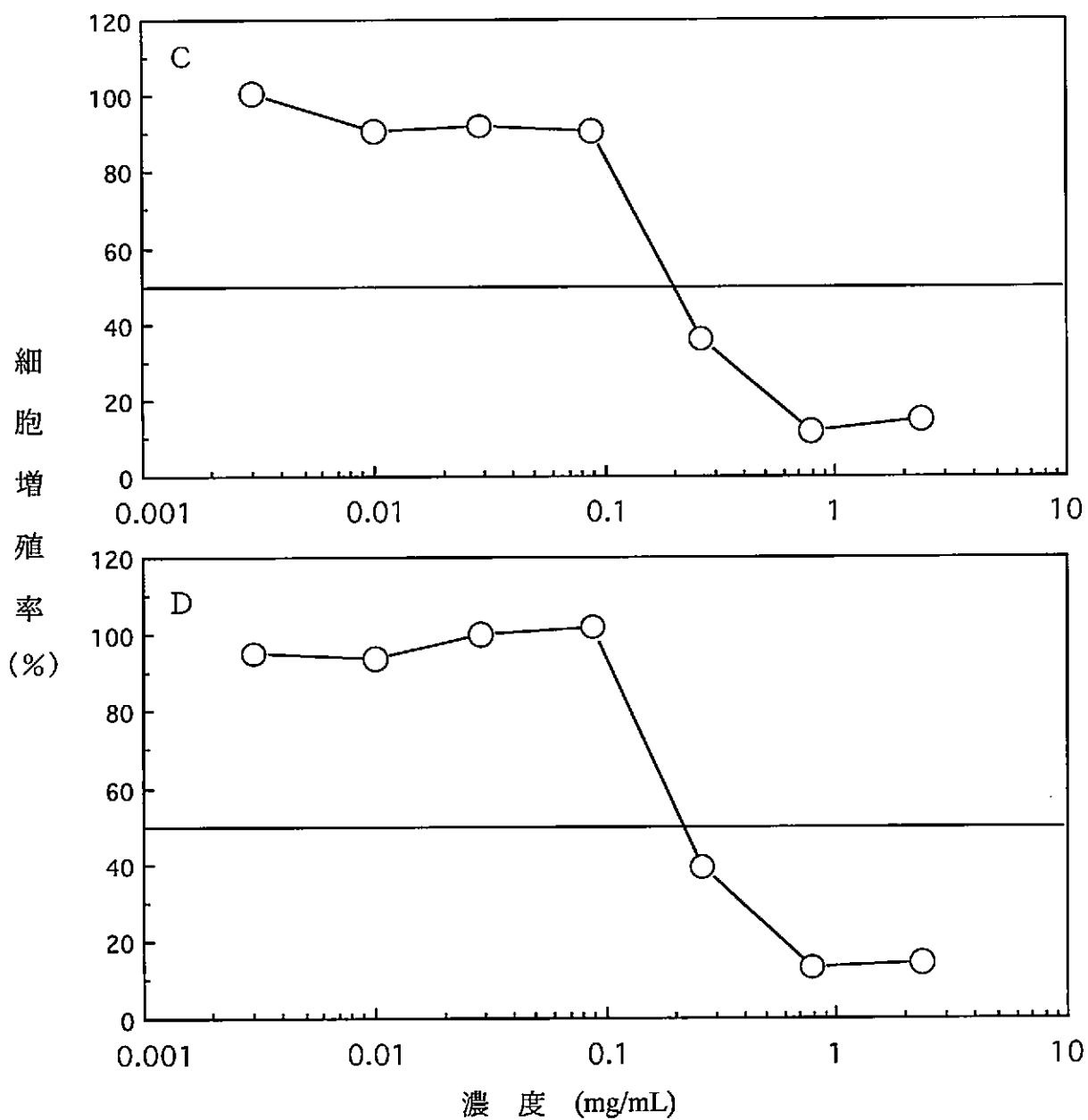


図 1-2. p-(アセチルアミノ)ベンゼンジクロリドがCHL/IU細胞の増殖に及ぼす影響
(連続処理法)

C : 24 h 処理

D : 48 h 処理

PROJECT No. H-00359

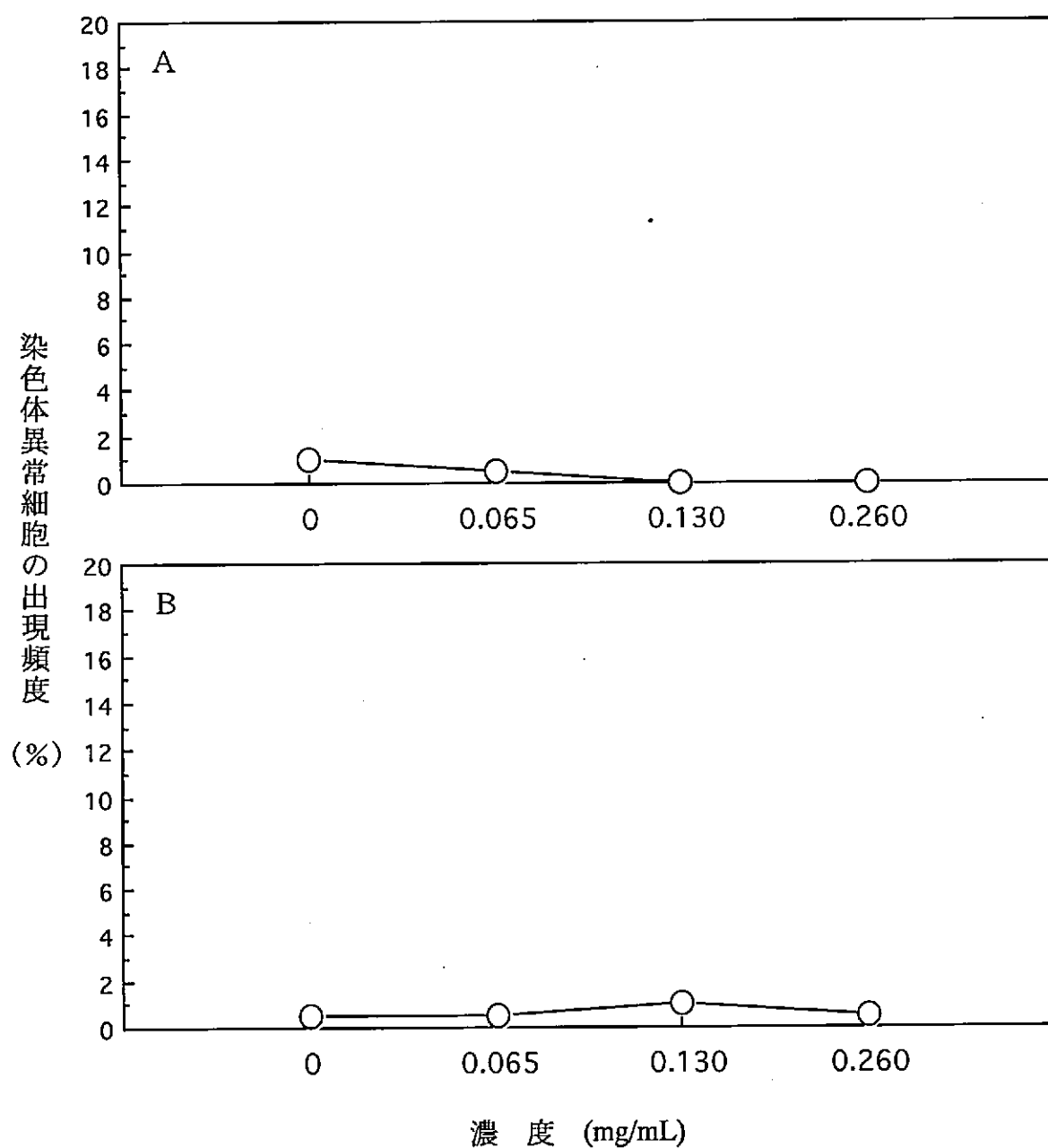


図 2-1. p-(アセチルアミノ)ベンゼンスルホニルクロリドの染色体異常誘発性、用量-反応曲線
(短時間処理法, 染色体異常試験)

A : 代謝活性化によらない場合 (-S9)

B : 代謝活性化による場合 (+S9)

PROJECT No. H-00359

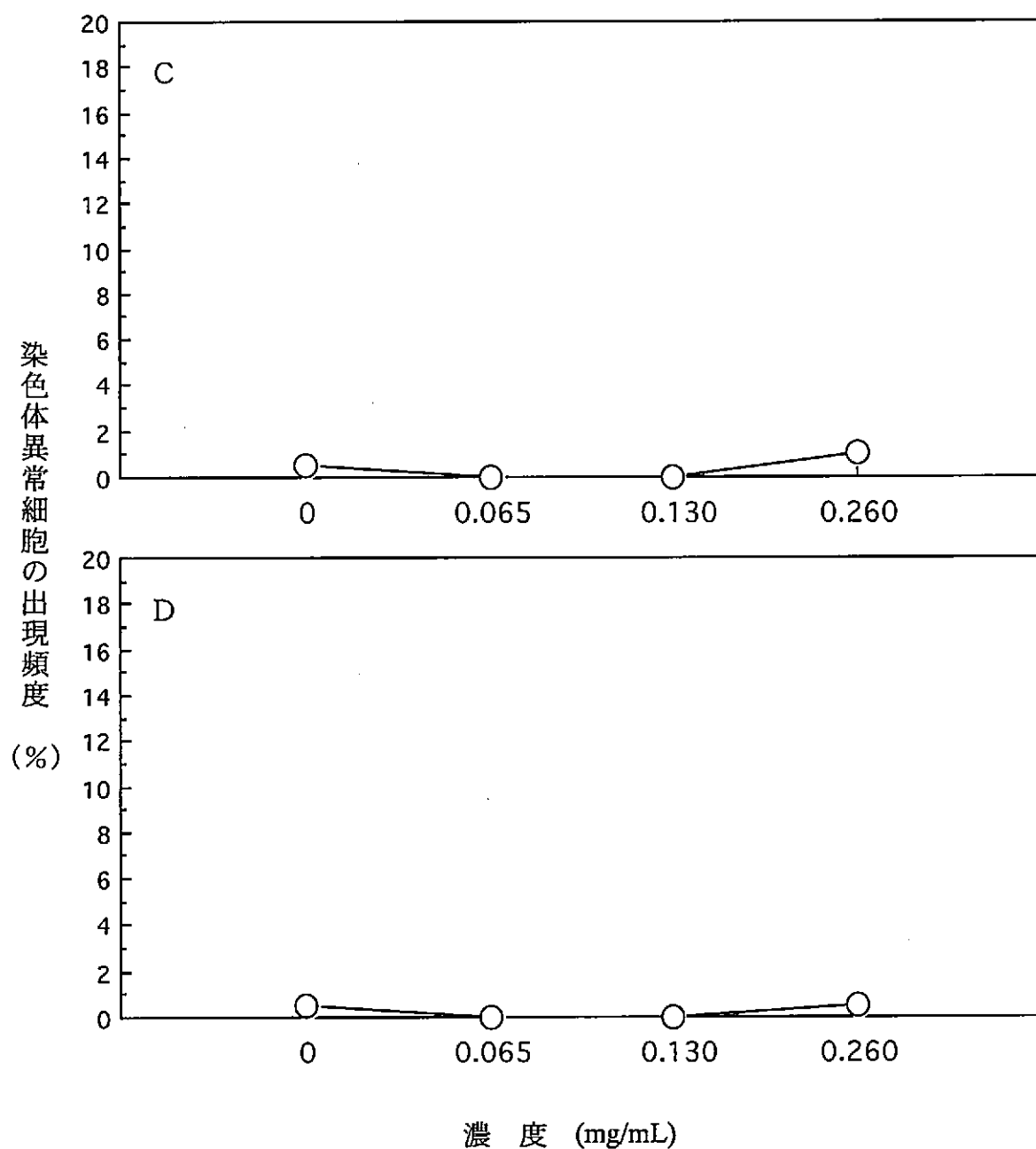


図 2-2. p-(アセチルアミノ)ピリジンにクロロドの染色体異常誘発性、用量-反応曲線
(連続処理法, 染色体異常試験)

C : 24 h 処理
D : 48 h 処理

PROJECT No. H-00359

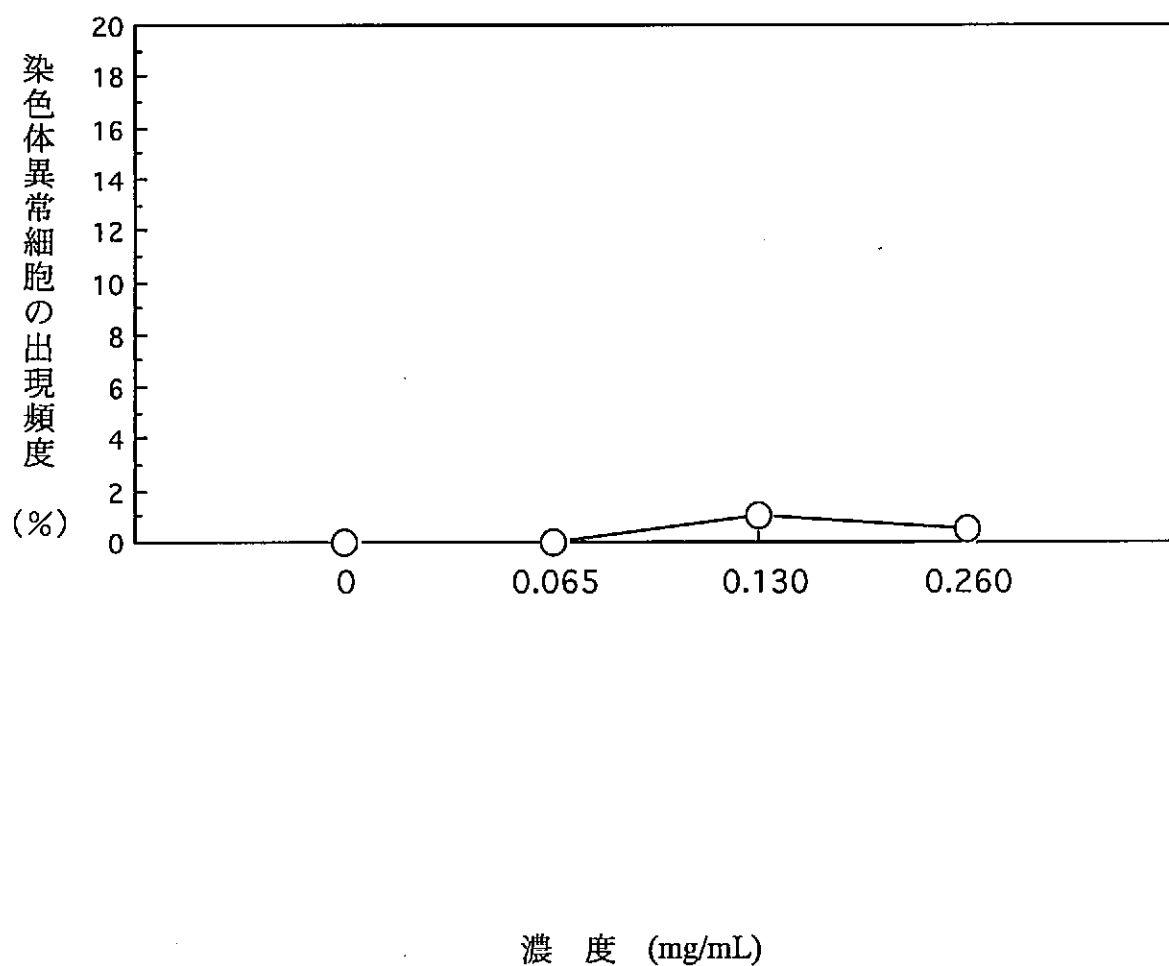


図 3. p-(アセチルアミノ)ベンゼンジスルホニルクロリドの染色体異常誘発性、用量-反応曲線
(短時間処理法, 確認試験)

代謝活性化による場合 (+ S 9)

PROJECT No. H-00359

添付資料 1

背景データ (Mean±S.D.)

S9mix	処理時間	処 理	観察細胞数	倍数体	構造異常細胞の出現頻度 (%)							
					ギャップ g	染色分体型 ctb cte		染色体型 csb cse		その他	合 計 - g + g	
-	6-18	陰性対照										
		CMC	700	0.0 ± 0.00	0.7 ± 0.49	0.4 ± 0.53	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.4 ± 0.53	1.1 ± 0.69
		陽性対照										
		MMC	3600	0.3 ± 0.44	1.7 ± 1.10	5.8 ± 1.94	14.2 ± 2.97	0.2 ± 0.40	1.6 ± 0.93	0.0 ± 0.00	19.5 ± 2.80	20.7 ± 2.94
+	6-18	陰性対照										
		CMC	700	0.0 ± 0.00	0.4 ± 0.53	0.1 ± 0.38	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.1 ± 0.38	0.0 ± 0.00	0.3 ± 0.49	0.7 ± 0.49
		陽性対照										
		B [a] P	3600	0.3 ± 0.50	3.4 ± 1.98	13.7 ± 2.88	32.4 ± 4.98	0.5 ± 0.51	4.0 ± 1.38	0.0 ± 0.00	43.6 ± 3.67	44.9 ± 3.52
-	24	陰性対照										
		CMC	800	0.0 ± 0.00	0.4 ± 0.52	0.0 ± 0.00	0.4 ± 0.52	0.1 ± 0.35	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00	0.5 ± 0.53	0.9 ± 0.64
		陽性対照										
		MMC	3000	0.7 ± 0.48	4.2 ± 1.68	15.1 ± 3.35	30.7 ± 3.85	0.3 ± 0.47	3.1 ± 1.06	0.1 ± 0.25	42.1 ± 3.28	43.3 ± 3.25
-	48	陰性対照										
		CMC	800	0.4 ± 0.52	0.1 ± 0.35	0.3 ± 0.46	0.1 ± 0.35	0.0 ± 0.00	0.3 ± 0.46	0.0 ± 0.00	0.6 ± 0.52	0.6 ± 0.52
		陽性対照										
		MMC	3200	0.9 ± 0.30	4.8 ± 1.93	26.5 ± 3.53	47.9 ± 4.75	0.8 ± 0.45	4.0 ± 1.08	1.5 ± 0.67	62.8 ± 3.97	63.2 ± 3.76

CMC : 1% Carboxymethyl cellulose sodium salt , MMC : Mitomycin C , B [a]P : Benzo [a] pyrene

収集期間 : 1999年8月1日～2001年1月31日

PROJECT No. H-00359

GENETIC TOXICITY IN VITRO (NON-BACTERIAL IN VITRO TEST)

TEST SUBSTANCE

- Identity: p-Acetylsulfanil chloride (CAS No. 121-60-8)
- Remarks (source): XXXXXXXXXX Lot No. XXXXXX
Purity: 99.7%
Stored at 4°C in dark until use. Stability during the period of use was confirmed by HPLC.

METHOD

- Method/guideline: OECD #473
- Type of test: Chromosomal aberration test
- GLP: Yes
- Year (study performed): December 19, 2000 ~ February 28, 2001
- Species/Strain: CHL/IU
- Metabolic activation:
Species and cell type:
Sprague-Dawley male rat liver homogenates (S9)
Quantity: A volume of 0.92mL/5.5 mL (final concentration: 5%).
Induced or not induced:
Induced with phenobarbital and 5,6-benzoflavone.
- Concentrations tested:
- S9: 0, 0.065, 0.130, 0.260 μ g/mL (short term treatment)
+ S9: 0, 0.065, 0.130, 0.260 μ g/mL (short term treatment)
24 hr: 0, 0.065, 0.130, 0.260 μ g/mL (continuous treatment)
48 hr: 0, 0.065, 0.130, 0.260 μ g/mL (continuous treatment)
- Statistical methods: No statistical method was followed.

Remarks field for Test Conditions

Test Design:

Procedure

In the case of short term treatment without (-S9) and with (+S9), the cells were treated for 6 hrs without and with S9 and cultivated with fresh medium for 18 hrs. In the case of continuous treatment, the cells were treated for 24 and 48 hrs without S9.

In the case of confirmation test, the cells were treated for 6 hrs with S9 and cultivated with fresh medium for 24 hrs

Frequency of dosing: One time

Plates/dose: 2

Negative control:

A solution of 1%carboxymethyl cellulose sodium salt was used

Positive controls:

Mitomycin C was used in continuous treatment for 24 hrs and 48 hrs and also in short term treatment without S9.

B(a)P was used in short term treatment with S9.

Description of confirmation study:

A confirmation test was carried out in short-term treatment with S9 with the recovery period of 24 hr instead of 18 hr to asses whether the test substance in the presence of S9 increased the chromosomally aberrant cells by changing the cell proliferation time.

Number of metaphases analyzed: 100 metaphases/plate or specimen

Criteria for evaluating results:

The test substance was judged positive (+) when the incidence of cells with chromosomally aberration increased dose-dependently as compared with those of concurrent negative controls or a reproducible increase in the incidence of cells with chromosomally aberration at one or more concentrations and the others were judged negative (-).

RESULTS

- Cytotoxic concentration:

Short term treatment with and without metabolic activation:

The dose of 0.2mg/mL caused to decrease the cell growth to 50% or more.

Continuous treatment for 24 hrs and 48 hrs:

The dose of 0.2mg/mL caused to decrease the cell growth to 50% or more.

- Genotoxic effects:

- Short term treatment without metabolic activation (-S9)
- Short term treatment with metabolic activation (+S9)
- Continuous treatment for 24 hrs and 48 hrs

- Statistical analysis:

Statistical analysis was not done.

CONCLUSION

Chromosomal aberration in CHL/IU cells is negative either in short term treatment without metabolic activation (-S9) and with metabolic activation (+S9) or in continuous treatment for 24 hrs and 48 hrs.

DATA QUALITY

- Reliabilities: Valid without restriction

Remarks field for Data Reliability

Well conducted study, carried out by Nippon Experimental Medical Research Institute Co. Ltd.,
Gunma, Japan.

REFERENCES

None

GENERAL REMARKS

In this study, the tested doses were selected to cover the dose-range of toxic (more than 50% growth inhibition) to non-toxic or little toxic.