

#### 4. 要約

モルダントブラック-7の28日間反復経口投与毒性試験を6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔CrI:CD(SD)、1群雌雄各6又は12匹〕を用いて実施した。投与量は0（注射用水：対照群）、40、200及び1000 mg/kgとし、対照群と1000 mg/kg投与群の一部の個体（1群雌雄各6匹）については投与期間終了後2週間の休薬期間を設けて、毒性変化の可逆性を検討した。

機能検査、握力及び血液学検査に、被験物質投与の影響は認められなかった。

一般状態では、投与期間中に軟便と着色尿が200 mg/kg以上の投与群の雌雄で認められた。

詳細な一般状態の観察では、投与期間中にオープンフィールド内観察における排糞数の高値が1000 mg/kg投与群の雄で認められた。

自発運動量では、投与4週に1000 mg/kg投与群の雌で高値がみられた。

体重及び摂餌量では、投与期間の初期に低値が1000 mg/kg投与群の雄でみられた。

尿検査（摂水量を含む）では、投与4週にビリルビンの陽性例の増加傾向が1000 mg/kg投与群の雌で、摂水量の高値が200 mg/kg以上の投与群の雄と1000 mg/kg投与群の雌で、尿量の低値と浸透圧の高値が1000 mg/kg投与群の雄と40 mg/kg以上の投与群の雌でみられた。

血液化学検査では、投与期間終了時にカリウムの高値が200 mg/kg以上の投与群の雌でみられた。

病理学検査では、腎臓において絶対あるいは相対重量の高値が1000 mg/kg投与群の雌雄で、組織学検査に尿細管上皮細胞の褐色色素が200 mg/kg以上の投与群の雌で、尿細管上皮細胞の好酸性小滴が1000 mg/kg投与群の雄で認められた。更に、盲腸及び結腸の粘膜の過形成が200 mg/kg以上の投与群の雌雄で、直腸の粘膜の過形成が1000 mg/kg投与群の雌雄で認められた。

上述した変化についてはいずれも休薬により、軽減あるいは消失し回復性を示した。

以上の結果、モルダントブラック-7の本試験条件下における無影響量は雄では病理検査における大腸（盲腸と結腸）の粘膜の過形成などから40 mg/kg/dayと推定された。一方、雌では尿検査における尿量の低値と浸透圧の高値から40 mg/kg/dayを下回ると考えられた。

B-6586

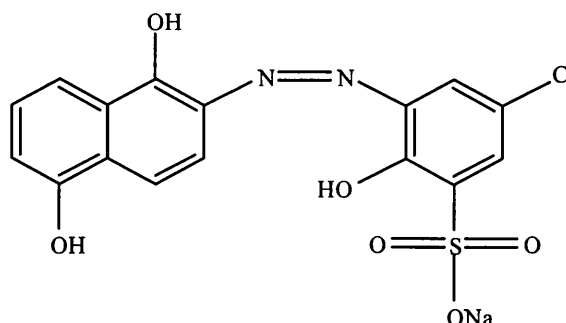
## 6. 試験材料及び方法

### 6.1 被験物質及び媒体

#### 6.1.1 被験物質

被験物質は山田化学工業株式会社より提供された。本試験に使用した被験物質のロット番号、純度等は次の通りである。また、分析チャートを添付資料1に示した。

名称	:	モルダントブラック-7
英名	:	Mordant Black -7
CAS 番号	:	3618-60-8
官報公示整理番号	:	5-2111
分子量	:	416.77
分子式	:	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>2</sub> NaO <sub>6</sub> S
構造式	:	



ロット番号	:	08001
純度	:	92.7 %
不純物	:	7.3 % (うち塩分として塩素イオン 7100 mg/kg、硫酸イオン 1300 mg/kg が含有)
入手量	:	700 g (100g を 7 本)
安定性	:	投与終了後、提供先で安定性を確認した結果、安定であることが確認された (添付資料 2)。
保存方法	:	冷暗所 (実測値 3~8°C)、密閉、吸湿性あり、シリカゲルと同梱
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟被験物質調製室
取扱い上の注意	:	マスク、手袋及び保護眼鏡を着用した。 火気や熱源などの着火源から遠ざけ、酸化剤との接触を避けた。
返却	:	被験物質 1 g を保存試料として保存した。分析用に小分けした被験物質の残量は廃棄した。また、被験物質の残量は提供先に送付し安定性を確認後、すべて廃棄した。

の間投与を行わなかった。

## 6.9 投与方法

投与容量は 5 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いて強制経口投与した（08:01~12:13の間）。対照群には媒体（注射用水）を同様に投与した。個体ごとの投与液量（表示単位：0.1 mL）は最新の体重を基準に算出した。

## 6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

モルダントブラック-7の0（注射用水）、100、300及び1000 mg/kg/dayを1群雌雄各5匹のラットに14日間反復経口投与した結果<sup>1)</sup>、主な変化として、雄は1000 mg/kg投与群の1例に死亡が、雌は1000 mg/kg投与群の器官重量に変化が認められた。従って、本試験における投与量は、1000 mg/kg投与群を高用量とし、公比5で除し、200 mg/kgを中用量に、40 mg/kgを低用量とし、対照群を加え4群構成とした。1群当たりの動物を主群では雌雄各6匹、回復群では対照群及び高用量群で雌雄各6匹とした。群構成表を次の表1に示す。

表 1. 群構成表

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主群		回復群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低用量群	40	8	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	200	40	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	1000	200	5	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112

## 6.11 観察及び検査の方法

それぞれ記載された時期に観察及び検査を実施した。試験日の起算に関しては下記の通りとした。

- 投与1日（day 1 of administration）：投与開始日
- 投与1週（week 1 of administration）：投与1から投与7日
- 回復1日（day 1 of recovery）：回復開始日（投与期間終了の翌日）
- 回復1週（week 1 of recovery）：回復1から回復7日

### 6.11.1 一般状態の観察

全個体について投与期間中は毎日3回、投与前と投与直後及び約2時間後（ただし、休日と詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定を実施する時は投与前と投与直後の2回）、回復期間中は毎日1回、体外表、栄養状態、姿勢、行動及

## 7. 試験結果

### 7.1 一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~10 に示した。

#### 1) 投与期間

軟便が 200 及び 1000 mg/kg 投与群の雌雄で投与 2 日以降に認められた。また、着色尿が 200 mg/kg 投与群の雄で投与 2~14 日と雌で投与 2~9 日に散見され、1000 mg/kg 投与群の雌雄全例で投与 2 日以降より投与期間を通じて認められた。

#### 2) 回復期間

1000 mg/kg 投与群の回復 1 日に軟便が雌雄で散見された。また、着色尿が雌雄全例で認められた。

### 7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

#### 7.2.1 詳細な一般状態

成績を Table 2-1~2-18 及び Appendix 11~70 に示した。

#### 1) 投与期間

オープンフィールド内観察において排糞数の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で投与 1 及び 2 週に認められた。

#### 2) 回復期間

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも 1000 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

#### 7.2.2 機能検査

成績を Table 2-19、2-20 及び Appendix 71~76 に示した。

#### 1) 投与 4 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも各被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

#### 2) 回復 2 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも 1000 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

#### 7.2.3 握力

成績を Table 2-21、2-22 及び Appendix 77~82 に示した。

#### 1) 投与 4 週

雌雄とも各被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

#### 2) 回復 2 週

雌雄とも 1000 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

#### 7.2.4 自発運動量

成績を Fig. 1~4、Table 2-23、2-24 及び Appendix 83~88 に示した。

##### 1) 投与 4 週

有意な高値が 40 mg/kg 投与群の雄の測定開始後 0~10 分の測定値に、1000 mg/kg 投与群の雌に測定開始後 50~60 分の測定値にみられ、更に、測定開始後 0~60 分の合計値にも有意な高値が認められた。

##### 2) 回復 2 週

有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雌の測定開始後 0~10 分と 30~40 分の測定値に認められた。

#### 7.3 体重

成績を Fig.5、Table 3-1、3-2 及び Appendix 89~94 に示した。

##### 1) 投与期間

有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で投与 4、7 及び 10 日に認められた。

##### 2) 回復期間

1000 mg/kg 投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

#### 7.4 摂餌量

成績を Fig.6、Table 4-1、4-2 及び Appendix 95~100 に示した。

##### 1) 投与期間

有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で投与 7 日に、有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で投与 14 日に認められた。

##### 2) 回復期間

雌雄とも 1000 mg/kg 投与群と対照群とほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

#### 7.5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1~5-8 及び Appendix 101~118 に示した。

##### 1) 投与 4 週

色調において淡紫色が 40 mg/kg 投与群の雌 1/6 例と 200 mg/kg 投与群の雌雄各全例で、紫色が 1000 mg/kg 投与群の雌雄各全例でみられた。また、ビリルビンの陽性例が 1000 mg/kg 投与群の雌 3/12 例でみられ、陽性例の増加傾向が認められた。また、摂水量の有意な高値が 200 mg/kg 以上の投与群の雄と 1000 mg/kg 投与群の雌で、尿量の有意な低値と浸透圧の高値が 1000 mg/kg 投与群の雄と 40 mg/kg 以上の投与群の雌で認められた。

##### 2) 回復 2 週

浸透圧の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雌で認められた。

## 7.6 血液学検査

成績を Table 6-1~6-6 及び Appendix 119~136 に示した。

### 1) 投与期間終了時

いずれの検査項目においても、雌雄とも各被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

### 2) 回復期間終了時

平均赤血球色素濃度の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雄で、白血球百分率の実数で好酸球数の有意な低値が 1000 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。

## 7.7 血液化学検査

成績を Table 7-1~7-4 及び Appendix 137~148 に示した。

### 1) 投与期間終了時

カリウムの有意な高値が 200 mg/kg 以上の投与群の雌で、無機リンの有意な低値が 40 mg/kg 投与群の雄で認められた。

### 2) 回復期間終了時

いずれの検査項目においても、雌雄とも 1000 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

## 7.8 器官重量

成績を Table 8-1~8-8 及び Appendix 149~172 に示した。

### 1) 投与期間終了時

腎臓 : 絶対及び相対重量の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で、相対重量の有意な高値が 1000 mg/kg 投与群の雌で認められた。

### 2) 回復期間終了時

いずれの器官においても、雌雄とも 1000 mg/kg 投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

## 7.9 剖検所見

成績を Table 9-1、9-2 及び Appendix 173~244 に示した。

### 1) 投与期間終了時

下垂体	:	のう胞が 40 mg/kg 投与群の雄 1 例で認められた。
胃	:	腺胃の暗赤色巢が 200 mg/kg 投与群の雌 2 例で、前胃の隆起巢が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。
腎臓	:	暗調化が 40 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 5 例、200 mg/kg 以上の投与群の雌雄各全例で認められた。
精巣	:	小型化が 40 及び 1000 mg/kg 投与群の各 1 例で認められた。
精巣上体	:	小型化が 40 及び 1000 mg/kg 投与群の各 1 例で認められた。

### 2) 回復期間終了時

肺	:	暗赤色巢が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例で認められた。
腎臓	:	暗調化が 1000 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 5 例で認められた。
胃	:	漿膜の隆起巢が対照群の雌 1 例で認められた。
腭リンパ節	:	結節が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。

## 7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-5 及び Appendix 173~244 に示した。

### 1) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が盲腸、直腸、結腸及び腎臓で認められた。

盲腸	:	軽微あるいは軽度な粘膜の過形成が対照群の雌雄各 1 例、40 mg/kg 投与群の雌雄各 2 例、200 mg/kg 投与群の雄 5 例と雌 4 例、1000 mg/kg 投与群の雌雄各全例にみられ、200 mg/kg 以上の投与群の雌雄で発現頻度の増加傾向が認められた。
結腸	:	軽微あるいは軽度な粘膜の過形成が 200 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 4 例、1000 mg/kg 投与群の雄全例と雌 5 例に認められた。
直腸	:	軽微あるいは軽度な粘膜の過形成が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 4 例に認められた。
腎臓	:	軽微あるいは軽度な尿細管上皮細胞の好酸性小滴が 1000 mg/kg 投与群の雄 3 例に、軽微な尿細管上皮細胞の褐色色素が 200 mg/kg 投与群の雌 1 例、1000 mg/kg 投与群の雌全例に認められた。

以下に示す所見については、その出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

- 眼球 : 軽微な網膜異形成と結膜の石灰沈着の肉芽腫が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。
- 下垂体 : 軽度な異所性頭蓋咽頭管組織が 40 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。
- 甲状腺 : 軽微な鰓後体のう胞が対照群の雌雄各 1 例、1000 mg/kg 投与群の雌 2 例に認められた。
- 心臓 : 軽微な限局性の心筋炎が対照群の雄 1 例、1000 mg/kg 投与群の雄 2 例に認められた。
- 肺 : 軽微な動脈壁の鉍質沈着が 1000 mg/kg 投与群の雄 2 例に、軽微な肺泡マクロファージの集簇が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例に、軽微な限局性肺炎が対照群の雄 1 例に認められた。
- 胃 : 軽微あるいは軽度の腺胃のびらんが 200 mg/kg 投与群の雌 2 例で、軽度な扁平上皮の限局性過形成が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。
- 盲腸 : 軽微な粘膜の細胞浸潤が対照群の雄 1 例、200 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた。
- 肝臓 : 軽微な微小肉芽腫が対照群の雌雄各 4 例、1000 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 5 例に認められた。
- 腎臓 : 軽微あるいは軽度な再生尿管が対照群の雄 2 例と雌 1 例、40 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 2 例、200 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 1 例、1000 mg/kg 投与群の雄 5 例と雌 1 例に、軽微な間質性の細胞浸潤が対照群の雌 1 例、40 mg/kg 投与群の雌 1 例、200 mg/kg 投与群の雄 1 例、1000 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた。
- 精巢 : 軽度あるいは高度な精細管の萎縮が 40 及び 1000 mg/kg 投与群の各 1 例で認められた。
- 精巢上体 : 軽微な間質性の細胞浸潤が対照群の 1 例、1000 mg/kg 投与群の 2 例に、高度な精子数の減少が 40 mg/kg 投与群の 1 例に、軽微あるいは軽度な管腔の細胞残屑が 40 mg/kg 投与群と 1000 mg/kg 投与群の各 1 例に認められた。
- 前立腺 : 軽微な間質性の細胞浸潤が対照群の 3 例、1000 mg/kg 投与群の 1 例に認められた。
- 大腿部骨格筋 : 軽微な筋線維の変性/壊死が 1000 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例に認められた。



2) 回復期間終了時

以下に示す所見については、その出現状況あるいは病理組織学的性状からいずれも偶発性の変化と判断した。

- |       |   |  |
|-------|---|--|
| 肺     | : | 軽微な限局性肺炎と骨化生が 1000 mg/kg 投与群の雄 1 例で認められた。  |
| 胃     | : | 軽度なのう胞封入が対照群の雌 1 例で認められた。  |
| 盲腸    | : | 軽微な粘膜の細胞浸潤が対照群の雌雄各 1 例に認められた。  |
| 腎臓    | : | 軽微な再生尿細管が対照群の雄 1 例と雌 2 例、1000 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 2 例に、軽微な尿細管の好酸性小滴が対照群の雄 1 例に認められた。 |
| 腭リンパ節 | : | 軽度なリンパ節炎が 1000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。  |

## 8. 考察

モルダントブラック-7の28日間反復経口投与毒性試験を6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔CrI:CD(SD)、1群雌雄各6又は12匹〕を用いて実施した。投与量は0（注射用水：対照群）、40、200及び1000 mg/kgとし、対照群と1000 mg/kg投与群の一部の個体（1群雌雄各6匹）については投与期間終了後2週間の休薬期間を設けて毒性変化の可逆性を検討した。

一般状態では、投与期間中に軟便と着色尿が200 mg/kg以上の投与群の雌雄でみられた。なお、回復期間中については軟便と着色尿が回復1日にみられたが、その後異常は認められなかった。

詳細な一般状態の観察では、投与期間中にオープンフィールド内観察において排糞数の高値が1000 mg/kg投与群の雄でみられたが、他に異常は認められなかった。

機能検査と握力では、投与及び回復期間を通じて異常は認められなかった。

自発運動量では、投与4週に1000 mg/kg投与群の雌の測定開始後50~60分の測定値と測定開始後0~60分の合計値に高値がみられ、中枢及び末梢神経系の病理学検査に異常はみられていないものの、被験物質投与の影響が疑われた。なお、回復2週にも1000 mg/kg投与群の雌で測定開始後0~10分と30~40分の測定値に高値がみられたが、投与期間中に比べて変化の程度は減少し、休薬による回復性が認められた。その他、投与4週に40 mg/kg投与群の雄で測定開始後0~10分の測定値に高値がみられたが、投与量との関連性が認められていないことから偶発性と判断した。

体重及び摂餌量では、投与期間中に低値が1000 mg/kg投与群の雄でみられたが、投与期間初期のみの変化であった。

尿検査（摂水量を含む）では、投与4週にビリルビンの陽性例の増加傾向が1000 mg/kg投与群の雌で、摂水量の高値が200 mg/kg以上の投与群の雄と1000 mg/kg投与群の雌で、尿量の低値と浸透圧の高値が1000 mg/kg投与群の雄と40 mg/kg以上の投与群の雌でみられた。これらの変化は休薬によりいずれも消失し、回復性が認められた。また、色調において淡紫色あるいは紫色が40 mg/kg以上の投与群の雌と200 mg/kg以上の投与群の雄にみられたが、本被験物質の色調（黒~紫色）を反映したものと考えられたことから、毒性学的意義はないと判断した。

血液学検査では、回復期間終了時に平均赤血球血色素濃度の低値が1000 mg/kg投与群の雄でみられたが、ごく軽度であり、赤血球数など関連する項目には変化はないことから偶発性と判断した。また、白血球百分率の実数で好酸球数の低値が1000 mg/kg投与群の雌雄でみられたが、ごく軽度であり、白血球数及び他の白血球百分率には変化がないことから、偶発性と判断した。

血液化学検査では、投与期間終了時にカリウムの高値が200 mg/kg以上の投与群の雌でみられ、被験物質投与による腎臓への影響が疑われた。この変化は休薬により消失し、回復性が認められた。その他、投与期間終了時に無機リンの低値が40 mg/kg投

与群の雄でみられたが、ごく軽度であり、高用量群では同様な変化はみられていないことから、偶発性と判断した。

病理学検査では、投与期間終了時に腎臓の絶対及び相対重量の高値が 1000 mg/kg 投与群の雄で、相対重量の高値が 1000 mg/kg 投与群の雌で認められた。また、組織学検査で腎臓の尿細管上皮細胞の好酸性小滴が 1000 mg/kg 投与群の雄で、尿細管上皮細胞の褐色色素が 200 mg/kg 以上の投与群の雌で、また、盲腸の粘膜の過形成が 200 mg/kg 以上の投与群の雌雄で発現頻度の増加傾向が、結腸の粘膜の過形成が 200 mg/kg 以上の投与群の雌雄で、直腸の粘膜の過形成が 1000 mg/kg 投与群の雌雄でみられ、いずれも被験物質投与の影響が疑われた。これらの変化はいずれも休薬により消失し、回復性が認められた。その他、投与あるいは回復期間終了時に剖検において腎臓の暗調化が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄にみられたが、本被験物質の色調から、被験物質の沈着が示唆されたが、毒性学的意義はないと判断した。更に、下垂体の細胞、腺胃と肺の暗赤色巣、胃において前胃と漿膜の隆起巣、精巣及び精巣上体の小型化及び腓リンパ節の結節がみられたが、いずれの変化もその出現状況などから偶発性と判断した。

以上の結果、モルダントブラック-7の本試験条件下における無影響量は雄では病理検査における大腸(盲腸と結腸)の粘膜の過形成などから 40 mg/kg/day と推定された。一方、雌では尿検査における尿量の低値と浸透圧の高値から 40 mg/kg/day を下回ると考えられた。なお、いずれの変化も休薬による回復性が認められた。

## 要 約

ビスフェノール A・EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の遺伝子突然変異誘発性の有無を検討するため、復帰突然変異試験を指標菌株として *Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA を用い、S9 mix 非存在（直接法）および存在（代謝活性化法）下でプレインキュベーション法により行った。

用量は、用量設定試験（予備試験）の結果、菌の生育阻害が認められる用量または 5000  $\mu$ g/プレート を最高用量とし、直接法においては、TA98、TA100、TA1535 および TA1537 では 62.5~2000  $\mu$ g/プレートの範囲（公比 2）、WP2uvrA では 156~5000  $\mu$ g/プレートの範囲（公比 2）、代謝活性化法では、いずれの菌株とも 156~5000  $\mu$ g/プレートの範囲（公比 2）で設定した。

試験は 2 回実施した。その結果、全ての菌株において代謝活性化の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。菌の生育阻害については、直接法では、TA1535 の 1000  $\mu$ g/プレート以上、TA98、TA100 および TA1537 の 2000  $\mu$ 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  $\mu$ g/プレート以上、TA100 の 5000  $\mu$ g/プレート、試験 2 回目では TA1535 の 1000  $\mu$ g/プレート以上の用量で認められた。

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）の細菌に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

## 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）の細菌に対する遺伝子突然変異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<sup>1, 2)</sup>

### 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

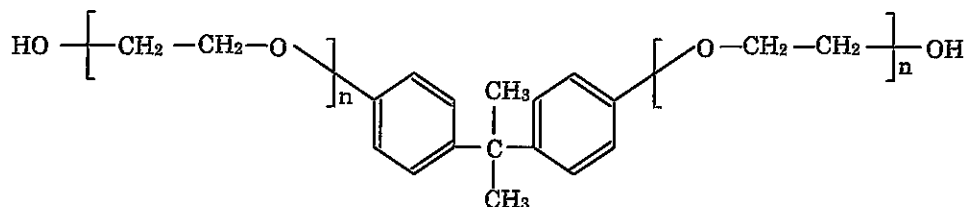
ロット番号：L3-6S004-A

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

指標菌株	直接法 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	代謝活性化法 ( $\mu\text{g}$ /プレート)
TA100	AF-2 (0.01)	2-AA (1)
TA1535	SA (0.5)	2-AA (2)
WP2uvzA	AF-2 (0.04)	2-AA (10)
TA98	AF-2 (0.1)	2-AA (1)
TA1537	9-AA (80)	2-AA (2)

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (和光純薬工業株式会社、98%、ロット番号 PTQ1296)

2-AA : 2-アミノアントラセン (和光純薬工業株式会社、>90%、ロット番号 KCM2259)

SA : アジ化ナトリウム (和光純薬工業株式会社、90%、ロット番号 KCG5232)

9-AA : 9-アミノアクリジン (Aldrich Chemical Company、98%、ロット番号 07721MZ)

#### 8. アミノ酸添加軟寒天培地の調製

0.6w/v%粉末寒天 (Difco Laboratories、ロット番号 5200601) および 0.5w/v% 塩化ナトリウム (和光純薬工業株式会社、ロット番号 8251) の組成の軟寒天を調製した。溶解した軟寒天に、*S. typhimurium* 用には 0.5 mM D-ビオチン (Sigma Chemical Company、ロット番号 AASXB) および 0.5 mM L-ヒスチジン (和光純薬工業株式会社、ロット番号 DLJ5479) 水溶液、*E. coli* 用には 0.5 mM L-トリプトファン (和光純薬工業株式会社、ロット番号 EWP0420) 水溶液を 1/10 容加え、アミノ酸添加軟寒天培地とした。

#### 9. 用量設定試験 (予備試験)

本試験における被験物質の適切な用量を把握するために、20~5000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲で用量を設定し、本試験と同様の実験方法で試験を行った。試験は各用量 1 枚のプレートで行った。

その結果 (表 1-1、1-2)、直接法の場合は、TA 98、TA100、TA1535 および TA1537 では 2000  $\mu\text{g}$ /プレート以上の用量で菌の生育阻害が認められ、WP2uvzA では菌の生育阻害は認められなかった。また、代謝活性化法の場合は、TA100、TA1535 および TA1537 では 5000  $\mu\text{g}$ /プレートで菌の生育阻害が認められ、TA 98 および WP2uvzA では菌の生育阻害は認められなかった。

## 10. 本試験

本試験は、同一菌株、同一用量で2回行った。

### 1) 用量設定

用量設定試験の結果から、被験物質の用量については、直接法の場合、TA 98、TA100、TA1535 および TA1537 では 2000  $\mu\text{g}$ /プレート を最高用量とし、以下公比 2 で 1000、500、250、125 および 62.5  $\mu\text{g}$ /プレート、WP2uvrA では 5000  $\mu\text{g}$ /プレート を最高用量とし、以下公比 2 で 2500、1250、625、313 および 156  $\mu\text{g}$ /プレート、また、代謝活性化法の場合は、いずれの菌株とも 5000  $\mu\text{g}$ /プレート を最高用量とし、以下公比 2 で 2500、1250、625、313 および 156  $\mu\text{g}$ /プレートの各計 6 用量とした。

### 2) 実験方法

#### (1) プレインキュベーション法（直接法）

滅菌小試験管に被験物質の供試液 0.1 mL、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL (和光純薬工業株式会社、リン酸水素二ナトリウム・十二水塩：ロット番号 WAF3531、リン酸二水素ナトリウム・二水塩：ロット番号 CAJ2723) および前培養した懸濁菌液 0.1 mL を分注し、37°C で 20 分間振盪培養後、45°C に保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 mL を加え、最少グルコース寒天平板培地上に広げた。最少グルコース寒天平板培地 (プレート) (テスメディア AN 培地、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号 ANI420FW・2007年6月5日製造・2007年8月10日購入；ロット番号 ANI730IW・2007年9月11日製造・2007年11月12日購入) は、Vogel-Bonner E 培地 (0.2 w/v% クエン酸・一水塩、1w/v% リン酸二カリウム・無水塩、0.192 w/v% リン酸一アンモニウム、0.066 w/v% 水酸化ナトリウム、0.02 w/v% 硫酸マグネシウム・七水塩) に寒天粉末を 1.5 w/v% およびグルコースを 2 w/v% となるように加え、30 mL ずつ分注したものである。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数し、同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰性対照および陽性対照群においては、上記の被験物質の供試液 0.1 mL にかわり、溶媒 (DMSO) 0.1 mL および陽性対照物質溶液 0.1 mL を用いて同様に実施した。試験は各用量 3 枚のプレートで行った。

#### (2) プレインキュベーション法（代謝活性化法）

滅菌小試験管に被験物質の供試液 0.1 mL、S9 mix 0.5 mL および前培養した懸

濁菌液 0.1 mL を分注し、37℃で 20 分間振盪培養後、45℃に保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 mL を加え、最少グルコース寒天平板培地上に広げた。37℃で 48 時間培養後、復帰変異コロニーを計数し、同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰性対照および陽性対照群においては、上記の被験物質の供試液 0.1 mL にかわり、溶媒 (DMSO) 0.1 mL および陽性対照物質溶液 0.1 mL を用いて同様に実施した。試験は各用量 3 枚のプレートで行った。

#### 11. 無菌試験

用量設定試験および本試験において、用いた溶媒、S9 mix および最高用量の被験物質の供試液について、それぞれ 0.1 mL に 0.6 w/v% 軟寒天培地 2 mL を加え、最少グルコース寒天平板培地 (テスメディア AN 培地、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号 ANI730IW) に重層後、37℃で 48 時間培養し、菌の生育の有無を調べた。最少グルコース寒天平板培地は、それぞれ 3 枚ずつ使用した。

#### 12. 試験の有効性

以下の 3 基準を満たす場合に、試験は適切な条件下で実施され、試験は有効であると判定した。

- (1) 試験に用いた菌液、溶媒、被験物質の供試液および S9 mix に雑菌の混入がない。
- (2) 各指標菌株の陰性対照における復帰変異コロニー数が、当研究所における背景データの範囲内の値を示す (自然復帰変異体数)。
- (3) 各指標菌株の陽性対照における復帰変異コロニー数が、当研究所における陽性対照値の背景データの範囲あるいはその近くの値を示す。

#### 13. 結果の判定

結果の判定は、各用量におけるプレートでの復帰変異コロニー数の平均値を基に、原則的に以下の 3 基準を満たす場合を陽性とした。

- (1) 被験物質処理群において陰性対照値の 2 倍以上の復帰変異コロニー数が出現する。
- (2) 被験物質用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する (用量依存性)。
- (3) 2 回にわたる本試験の結果から復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。



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 $\mu$ g/プレート以上、TA98、TA100 および TA1537の2000 $\mu$ 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 $\mu$ g/プレート以上、TA100の5000 $\mu$ g/プレート、試験2回目ではTA1535の1000 $\mu$ 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<sup>3,4,5)</sup> で陰性と報告がある。また、CHO 細胞を用いた染色体異常試験で陽性<sup>6)</sup> および陰性<sup>7)</sup>、V-79 細胞を用いた細胞遺伝子突然変異試験で陰性<sup>8)</sup> 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 [ $\mu\text{g}$ /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
$\mu\text{g}$ /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 〔 $\mu$ 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
$\mu$ 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 [ $\mu$ 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
$\mu$ 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 [ $\mu$ 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	---	---
$\mu$ 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 [ $\mu$ 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
$\mu$ 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 [ $\mu$ 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
$\mu$ 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 〔 $\mu$ 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	---	---	13	---	---
〔局方精製水〕	---	---	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	---	---
$\mu$ g/プレート	---	---	0.04	---	---
復帰変異	---	---	1264	---	---
コロニー数	---	---	1235	---	---
/プレート	---	---	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 〔 $\mu$ 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〕	88 99 91 ( 93 $\pm$ 6 )	6 7 6 ( 6 $\pm$ 1 )	21 20 22 ( 21 $\pm$ 1 )	34 18 23 ( 25 $\pm$ 8 )	10 16 2 ( 9 $\pm$ 7 )
156	103 114 91 ( 103 $\pm$ 12 )	10 10 6 ( 9 $\pm$ 2 )	22 25 20 ( 22 $\pm$ 3 )	34 30 25 ( 30 $\pm$ 5 )	17 10 16 ( 14 $\pm$ 4 )
313	88 86 111 ( 95 $\pm$ 14 )	12 5 8 ( 8 $\pm$ 4 )	33 18 32 ( 28 $\pm$ 8 )	22 31 21 ( 25 $\pm$ 6 )	7 12 7 ( 9 $\pm$ 3 )
625	81 98 92 ( 90 $\pm$ 9 )	11 4 6 ( 7 $\pm$ 4 )	20 20 32 ( 24 $\pm$ 7 )	33 23 33 ( 30 $\pm$ 6 )	8 15 9 ( 11 $\pm$ 4 )
1250	111 69 85 ( 88 $\pm$ 21 )	9 10 6 ( 8 $\pm$ 2 )	23 22 19 ( 21 $\pm$ 2 )	27 31 26 ( 28 $\pm$ 3 )	14 9 13 ( 12 $\pm$ 3 )
2500	95 92 92 ( 93 $\pm$ 2 )	8* 4* 12* ( 8 $\pm$ 4 )	17 16 21 ( 18 $\pm$ 3 )	26 30 27 ( 28 $\pm$ 2 )	12 11 15 ( 13 $\pm$ 2 )
5000	91 88 72 ( 84 $\pm$ 10 )	9* 2* 0* ( 4 $\pm$ 5 )	17 25 15 ( 19 $\pm$ 5 )	25 35 28 ( 29 $\pm$ 5 )	12 2 5 ( 6 $\pm$ 5 )
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
$\mu$ g/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 $\pm$ 90 )	204 196 199 ( 200 $\pm$ 4 )	462 458 453 ( 458 $\pm$ 5 )	244 254 210 ( 236 $\pm$ 23 )	112 103 105 ( 107 $\pm$ 5 )

\* : 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

## 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ g/mL、連続処理法の場合は 50、100、200、300 および 400  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ g/mL 以上、また、連続処理法 24 時間の 300  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ g/mL で、また、S9 mix 存在下では 400  $\mu$ 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  $\mu$ 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。