

表2-1. 被験物質についての2回投与による50%致死量 (LD₅₀²)

品目	1回あたりの投与量 (mg/kg)	投与回数	生存数/投与数 (二週間)	推定LD ₅₀ ²
アマシードガム	1500	×2	3/3	
	2000	×2	3/3	>2000mg/kg

表2-2. 小核試験成績

被験物質	投与量 mg/kg/day	投与方法	投与回数	投与間隔	サンプリング 時間 ^{a)}	動物 数	幼若赤 血球観 察数	小核含有幼若赤血球		
								数	検定 ^{c)} %	SD (Min / Max)
アマシードガム (olive oil)	0	I.g.	×2	18h	30	5	10000	25	—	0.18 ± 0.10 (0.05 / 0.30)
	500	I.g.	×2	18h	30	5	10000	20	N.S.	0.20 ± 0.09 (0.10 / 0.35)
	1000	I.g.	×2	18h	30	5	10000	20	N.S.	0.20 ± 0.08 (0.10 / 0.30)
	2000	I.g.	×2	18h	30	5	10000	35	N.S.	0.35 ± 0.16 (0.20 / 0.60)
cyclophosphamide (saline)	100	I.g.	×2	18h	30	5	5349	585	**	11.07 ± 1.75 (8.80 / 13.43)

^{a)}: 最終投与後のサンプリング時間

^{b)}: Kastenbaum-Bowman法による検定

N.S.: Not significantly different from the vehicle control. (p > 0.05)

** p < 0.01

表2-3

検体名 : アマシードガム
 機関名 : 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部
 動物 : マウス/ddY /雄/7週齢/経口投与
 備考 : 溶媒対照;オリーブオイル、陽性対照;シクロフォスファミド

mg/kg/day	SCHEDULE	MOUSE	Observer-1		Observer-2		MNRET : %	BW : g	Statistical Analysis
			No. of RET	MNRET	No. of RET	MNRET			
0 Vehicle (Olive Oil)	×2, 30hr (18h間隔)	11	1000	1	1000	2	0.15	34.7	
		12	1000	0	1000	1	0.05	36.3	
		13	1000	2	1000	1	0.15	36.2	
		14	1000	1	1000	4	0.25	35.8	
		15	1000	5	1000	1	0.30	38.2	
	Mean		1.80		1.80	0.18	36.2		
	Std		1.92		1.30	0.10	1.3		
	Min		0		1	0.05	34.7		
Max		5.00		4.00	0.30	38.2			
500	×2, 30hr (18h間隔)	21	1000	2	1000	2	0.20	34.8	
		22	1000	3	1000	1	0.20	37.4	
		23	1000	2	1000	1	0.15	37.0	
		24	1000	3	1000	4	0.35	36.5	
		25	1000	1	1000	1	0.10	38.1	
	Mean		2.20		1.80	0.20	36.8		
	Std		0.84		1.30	0.09	1.2		
	Min		1		1	0.1	34.8		
Max		3.00		4.00	0.35	38.1			
1000	×2, 30hr (18h間隔)	31	1000	1	1000	3	0.20	36.5	
		32	1000	3	1000	2	0.25	36.8	
		33	1000	2	1000	4	0.30	37.2	
		34	1000	0	1000	2	0.10	37.1	
		35	1000	2	1000	1	0.15	38.4	
	Mean		1.60		2.40	0.20	37.2		
	Std		1.14		1.14	0.08	0.7		
	Min		0		1	0.1	36.5		
Max		3.00		4.00	0.30	38.4			
2000	×2, 30hr (18h間隔)	41	1000	1	1000	3	0.20	34.8	
		42	1000	5	1000	3	0.40	35.3	
		43	1000	10	1000	2	0.60	37.3	
		44	1000	2	1000	4	0.30	37.3	
		45	1000	1	1000	4	0.25	35.1	
	Mean		3.80		3.20	0.35	36.0		
	Std		3.83		0.84	0.16	1.2		
	Min		1		2	0.2	34.8		
Max		10.00		4.00	0.60	37.3			
Cyclophosphamide 100 mg/kg	×2, 30hr (18h間隔)	41	500	49	500	59	10.80	35.5	
		42	420	57	429	57	13.43	37.0	
		43	500	47	500	41	8.80	37.3	
		44	500	78	500	42	12.00	39.7	
		45	1000	110	500	45	10.33	40.0	
	Mean					11.07	37.9		
	Std					1.75	1.9		
	Min					8.8	35.5		
Max					13.43	40.0			

B.W. : Body weight at the 1st day of dosing.
 MNRET : micronucleated reticulocytes

表3-1 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

被験物質名	S9 mix	時間* (h)	溶媒**	濃度	観察細胞数	倍数体 (%)	染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度***						total	判定	
							ctg	ctb	cte	frg	csb	cse			
コメヌカ抽出物	-	6-18	CMC	0(CMC)	200	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5		
				2.0 mg/ml	200	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
				3.0	200	0.5	-	0.5	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	2.0	-
				4.0	200	0.0	-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	-
				5.0	200	0.5	-	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	1.0	-
	+	6-18	CMC	0(CMC)	200	0.5	0.0	0.5	1.5	0.0	0.0	0.0	1.5		
				2.0 mg/ml	200	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
				3.0	200	0.0	-	0.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	-
				4.0	200	0.5	-	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	-
				5.0	200	0.5	-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	-
	-	24-0	CMC	0(CMC)	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
				2.0 mg/ml	200	0.0	-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	-
				3.0	200	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.5	-
				4.0	200	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	-
				5.0	200	0.5	-	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	-
	-	48-0	CMC	0(CMC)	200	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5		
				2.0 mg/ml	200	0.0	-	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
				3.0	200	0.5	-	0.5	1.5	1.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-
				4.0	200	0.5	-	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-
				5.0	200	0.0	-	0.0	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.5	-

*処理時間-回復時間, **Medium: MEM+10%CSに、検体を直接懸濁。培地置換処理。

CMC: 1%カルボキシメチルセルローズ・ナトリウム塩。

***ctg: 染色分体ギャップ(染色体ギャップを含める), ctb: 染色分体切断, cte: 染色分体交換, frg: 断片化, csb: 染色体切断, cse: 染色体交換

表 3 - 2 . 小核試験成績

被験物質	投与量 mg/kg/day	投与方法	投与回数	投与間隔	サンプル リング 時間 ^{a)}	動物 数	幼若赤 血球 数	小核含有幼若赤血球		
								数	検定 ^{b)} %	± SD (Min / Max)
コメヌカ油抽出物 (olive oil)	0	l.g.	×2	24h	24	5	10000	14	—	0.14 ± 0.05 (0.10 / 0.20)
	500	l.g.	×2	24h	24	5	10000	14	N.S.	0.14 ± 0.11 (0.00 / 0.25)
	1000	l.g.	×2	24h	24	5	10000	16	N.S.	0.16 ± 0.04 (0.10 / 0.20)
	2000	l.g.	×2	24h	24	5	10000	12	N.S.	0.12 ± 0.10 (0.05 / 0.30)
MitomycinC	1	l.p.	×2	24h	24	5	10000	185	**	1.85 ± 0.52 (1.35 / 2.55)

^{a)} : 最終投与後のサンプルリング時間

^{b)} : Kastenbaum-Bowman法による検定

N.S. : Not significantly different from the vehicle control. (p > 0.05)

** p < 0.01

表3-3

検体名 : コメヌカ油抽出物
 機関名 : 富山県衛生研究所
 動物 : マウスddY/雄/5週齢/経口投与
 備考 : MMC腹腔内投与

mg/kg/day	SCHEDULE	MOUSE	MNRET : %	RET/(RET+PCE+NCE) : %	BW:g	Statistical Analysis
0 Vehicle (Olive oil)	×2, 24hr	1	0.20	11.0	29.0	
		2	0.10	12.5	27.5	
		3	0.10	13.1	29.5	
		4	0.20	8.8	27.5	
		5	0.10	11.2	27.5	
	Mean	0.14	11.3	28.2		
	Std	0.05	1.7	1.0		
	Min	0.1	8.8	27.5		
	Max	0.20	13.1	29.5		
	Total No.	14				
500	×2, 24hr	1	0.10	13.5	26.5	
		2	0.25	11.0	27.0	
		3	0.25	9.9	27.5	
		4	0.00	12.3	28.0	
		5	0.10	13.8	27.0	
	Mean	0.14	12.1	27.2		
	Std	0.11	1.7	0.6		
	Min	0	9.9	26.5		
	Max	0.25	13.8	28.0		
	Total No.	14				
1000	×2, 24hr	1	0.15	5.2	27.0	
		2	0.10	7.1	26.5	
		3	0.20	16.0	28.0	
		4	0.15	12.6	26.0	
		5	0.20	12.2	27.5	
	Mean	0.16	10.6	27.0		
	Std	0.04	4.4	0.8		
	Min	0.1	5.2	26		
	Max	0.20	16.0	28.0		
	Total No.	16				
2000	×2, 24hr	1	0.10	15.3	27.0	
		2	0.05	12.4	27.5	
		3	0.10	6.7	28.5	
		4	0.30	12.2	27.0	
		5	0.05	9.5	26.5	
	Mean	0.12	11.2	27.3		
	Std	0.10	3.3	0.8		
	Min	0.05	6.7	26.5		
	Max	0.30	15.3	28.5		
	Total No.	12				
MMC 1.0	×2, 24hr	1	2.55	11.6	27.0	
		2	1.35	9.9	28.5	
		3	1.85	8.5	29.5	
		4	2.15	5.6	27.5	
		5	1.35	7.5	28.0	
	Mean	1.85	8.6	28.1		
	Std	0.52	2.3	1.0		
	Min	1.35	5.6	27		
	Max	2.55	11.6	29.5		
	Total No.	185				

B.W. : Body weight at the 1st day of dosing.

MNRET : Frequency of micronucleated reticulocytes.

RET/(RET+NCE) : Ratio of reticulocytes to total erythrocytes.

MMC : Mitomycin C

表4-1 *lacZ* 遺伝子突然変異頻度解析結果 (1回目)

Treatment	Dose (mg/kg)	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Plating			Average \pm SD
				Total Plaques /4 plate	Titer (Total Population sum)	Total Mutants sum	Mutant Frequency ($\times 10^{-5}$)			
Control		11/Colon	1250	1580	1975000	308	155.9			
Control		12/Colon	1250	1168	1460000	66	45.2			
Control		13/Colon	1250	1458	1822500	89	48.8			
Control		14/Colon	1250	1578	1972500	82	41.6			
Control		14/Colon	1250	1424	1780000	78	43.8	88.6	67.1 \pm 44.5	
Amaranth	500	41/Colon	1250	274	342500	14	40.9			
Amaranth	500	42/Colon	1250	456	570000	22	38.6			
Amaranth	500	43/Colon	1250	1544	1930000	63	32.6			
Amaranth	500	44/Colon	1250	1136	1420000	48	33.8			
Amaranth	500	45/Colon	1250	1568	1960000	76	38.8	35.8	36.9 \pm 3.16	
Amaranth	1000	31/Colon	1250	1238	1547500	94	60.7		40.5 \pm 4.91 *	
Amaranth	1000	32/Colon	1250	2154	2692500	81	30.1			
Amaranth	1000	33/Colon	1250	1222	1527500	106	69.4			
Amaranth	1000	34/Colon	1250	1330	1662500	76	45.7			
Amaranth	1000	35/Colon	1250	484	605000	16	26.4	46.4	46.5 \pm 16.7	
Amaranth	2000	21/Colon	1250	1368	1710000	61	35.7			
Amaranth	2000	22/Colon	1250	1844	2305000	115	49.9			
Amaranth	2000	23/Colon	1250	1152	1440000	86	59.7			
Amaranth	2000	24/Colon	1250	1428	1785000	106	59.4			
Amaranth	2000	25/Colon	1250	2152	2690000	136	50.6	50.8	51.0 \pm 8.7	
Streptozotosin	100	71/Colon	1250	2290	2862500	95	33.2			
Streptozotosin	100	72/Colon	1250	1052	1315000	177	134.6	65.1	83.9 \pm 50.7	

* No.11 のマウスを除いた値

表4-2 *cld* 遺伝子突然変異頻度解析結果 (1回目)

Treatment	Dose (mg/kg)	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating		Selective Plating		Total Mutants sum	Mutant Frequency (x 10 ⁻⁶)	sum	Mean ± SD	independent mutants sequenced	Corrected	
				Total Plaques /2 plate	Titer (Total Populator)	Total Mutants sum	Mutant Frequency						Mutant Frequency	Mean ± SD
Control		11/Colon	750	2156	1817000	43	26.6					8	10	21.3
Control		12/Colon	750	2412	1809000	57	31.5					9	10	28.4
Control		13/Colon	750	3660	2745000	54	19.7					10	10	19.7
Control		14/Colon	750	3288	2466000	60	24.3					9	10	21.9
Control		15/Colon	750	3292	2469000	62	27.6	11,106,000	25.1	24.9	25.4 ± 3.8	8	10	20.1
Amaranth	500	41/Colon	750	626	469500	6	12.8							
Amaranth	500	42/Colon	750	920	690000	12	17.4							
Amaranth	500	43/Colon	750	2168	1626000	36	22.1							
Amaranth	500	44/Colon	750	1194	895500	39	43.6							
Amaranth	500	45/Colon	750	2204	1653000	25	15.1	5,334,000	22.1	22.2 ± 11.1		NT	NT	NT
Amaranth	1000	31/Colon	750	2744	2058000	83	40.3							
Amaranth	1000	32/Colon	750	3544	2658000	56	21.1							
Amaranth	1000	33/Colon	750	2640	1980000	32	16.2							
Amaranth	1000	34/Colon	750	3064	2298000	64	27.9							
Amaranth	1000	35/Colon	750	672	504000	8	24.3	9,498,000	15.9	25.6	24.3 ± 9.1	NT	NT	NT
Amaranth	2000	21/Colon	750	2604	1953000	167	85.5					3	10	25.7
Amaranth	2000	22/Colon	750	4488	3366000	96	28.5					10	10	28.5
Amaranth	2000	23/Colon	750	3364	2523000	101	40.0					7	9	31.1
Amaranth	2000	24/Colon	750	2824	2118000	60	28.3					4	7	16.2
Amaranth	2000	25/Colon	750	3056	2292000	85	50.9	12,252,000	37.1	41.5	43.9 ± 21.3	8	9	33.0
Streptozotisin	100	71/Colon	750	2516	1887000	84	44.5					11	14	35.0
Streptozotisin	100	71/Colon	750	2288	1716000	81	47.2	3,603,000	47.2	45.8	45.9 ± 1.3	17	20	40.1

NT: not tested

表4-3 *lacZ* 遺伝子突然変異頻度解析結果 (2回目)

Treatment	Dose (mg/kg)	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Platin			Mean \pm SD
				Total Plaques /4 plate	Titer (Total Population sum)	Total Mutants sum	Mutant Frequency ($\times 10^{-6}$)	sum		
Control		11/Colon	1250	1488	1860000	825	443.5			
Control		12/Colon	1250	766	957500	78	81.5			
Control		13/Colon	1250	1352	1690000	93	55.0			
Control		14/Colon	1250	1780	2225000	103	46.3			
Control		14/Colon	1250	950	1187500	84	70.7	195.2	139.4 \pm 153	
Amaranth	2000	21/Colon	1250	1390	1737500	61	35.1		63.4 \pm 13.6 *	
Amaranth	2000	22/Colon	1250	2616	3270000	72	22.0			
Amaranth	2000	23/Colon	1250	1356	1695000	97	57.2			
Amaranth	2000	24/Colon	1250	2016	2520000	187	74.2			
Amaranth	2000	25/Colon	1250	1092	1365000	81	59.3	47.0	49.6 \pm 18.6	

* No.11 のマウスを除いた値

表4-4 *cII* 遺伝子突然変異頻度解析結果 (2回目)

Treatment	Dose (mg/kg)	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating		Selective Plating		Mean \pm SD	independent mutants sequenced	Total mutant
				Total Plaques /2 plate	Titer (Total Population)	Total Mutants	Mutant Frequency ($\times 10^{-6}$)			
Control		11/Colon	750	3384	2538000	89	35.1		7	9
Control		12/Colon	750	1948	1461000	33	22.6		7	8
Control		13/Colon	750	2880	2160000	72	33.3		8	10
Control		14/Colon	750	2732	2049000	80	39.0		9	10
Control		15/Colon	750	2288	1716000	45	26.2	31.3 \pm 6.0	10	10
Amaranth	2000	21/Colon	750	2576	1932000	194	100.4		3	10
Amaranth	2000	22/Colon	750	2724	2043000	95	46.5		8	9
Amaranth	2000	23/Colon	750	2668	2001000	120	60.0		9	9
Amaranth	2000	24/Colon	750	2968	2226000	91	40.9		5	8
Amaranth	2000	25/Colon	750	1516	1137000	47	41.3	57.8 \pm 22.4	7	10
					9,924,000	319	32.1			
					9,339,000	547	58.6			

表4-5 cll遺伝子突然変異体の変異スペクトル

Mutation Class	control	'CpG' (%)	Amaranth	'CpG' (%)	Streptozotosin	'CpG' (%)
Total	84	100	63	100	28	100
Base Substitution	76	90	52	83	26	93
Transitions	45	54	37	59	20	71
GC → AT	38	(34) 45	33	(28) 52	18	(8) 64
AT → GC	7	8	4	6	2	7
Transversions	31	37	15	24	6	21
AT → TA	5	6	4	6	3	11
AT → CG	6	7	0	0	1	4
GC → TA	17	20	10	16	2	7
GC → CG	3	4	1	2	0	0
-1 frameshifts	4	5	4	6	1	4
+1 frameshifts	3	4	6	10	1	4
Deletion	0	0	1	2	0	0
Insertion	0	0	0	0	0	0
Complex	1	1	0	0	0	0

表4-6 その他の臓器における*lacZ*遺伝子突然変異頻度解析結果

前胃

Date/Treatment	No./Tissue **	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Platin		Mutant		Mean ± SD
			Total Plaques /4 plate	Titer (Total Populatio	sum	Total Mutants sum	Frequency (x 10 ⁻⁶) sum			
020510/Control	11/Forestomach	1250	1089	1361250		1158		850.7		
020510/Control	12/Forestomach	1250	1106	1382500		47		34.0		
020510/Control	13/Forestomach	1250	1587	1983750		69		34.8		
020510/Control	14/Forestomach	1250	1716	2145000	6872500	97	1371	45.2	199.5	241.2 ± 352 38.0 ± 5.12 *
020510/Amaranth2000	21/Forestomach	1250	758	947500		28		29.6		
020510/Amaranth2000	24/Forestomach	1250	1253	1566250		42		26.8		
020510/Amaranth2000	25/Forestomach	1250	2078	2597500	5111250	102	172	39.3	33.7	31.9 ± 5.3
020510/Streptozotocin	71/Forestomach	1250	1057	1321250		83		62.8		
020510/Streptozotocin	72/Forestomach	1250	1687	2108750	3430000	126	209	59.8	60.9	61.3 ± 1.5

* No.11 のマウスを除いた値

** No.15, 22, 23はDNAが回収できず

膵臓

Date/Treatment	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Platin		Mutant		Mean ± SD
			Total Plaques /4 plate	Titer (Total Populatio	sum	Total Mutants sum	Frequency (x 10 ⁻⁶) sum			
020502/Control	11/GS	1250	3472	4340000		1384		318.9		
020502/Control	12/GS	1250	2272	2840000		124		43.7		
020502/Control	13/GS	1250	2604	3255000		66		20.3		
020502/Control	14/GS	1250	2056	2570000		146		56.8		
020502/Control	15/GS	1250	2822	3527500	16532500	95	1815	28.9	109.8	93.3 ± 114 36.9 ± 14.3 *
020502/Amaranth2000	21/GS	1250	2556	3195000		96		30.0		
020502/Amaranth2000	22/GS	1250	3594	4492500		133		29.6		
020502/Amaranth2000	23/GS	1250	2700	3375000		76		22.5		
020502/Amaranth2000	24/GS	1250	2692	3365000		77		22.9		
020502/Amaranth2000	25/GS	1250	3116	3895000	18322500	74	456	19.0	24.9	24.8 ± 4.3
020502/Streptozotocin	71/GS	1250	2758	3447500		74	74	21.5		
020510/Streptozotocin	72/GS	1250	1982	2477500	5925000	63	63	25.4	10.6	23.4 ± 1.98

肝臓

Date/Treatment	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Platin		Mutant		Mean ± SD
			Total Plaques /4 plate	Titer (Total Populatio	sum	Total Mutants sum	Frequency (x 10 ⁻⁶) sum			
020320/Control	11/Liver	937.5	1244	1166250		502		430.4		
020320/Control	12/Liver	1250	2080	2600000		80		30.8		
020320/Control	13/Liver	1250	1642	2052500		75		36.5		
020320/Control	14/Liver	1250	2996	3745000	9563750	85	742	22.7	77.6	130.1 ± 173 30.0 ± 5.68 *
020320/Amaranth2000	21/Liver	1250	2060	2575000		115		44.7		
020320/Amaranth2000	22/Liver	1250	3288	4110000		117		28.5		
020320/Amaranth2000	23/Liver	1250	1238	1547500		66		42.6		
020320/Amaranth2000	24/Liver	937.5	1680	1575000		89		56.5		
020320/Amaranth2000	25/Liver	937.5	2092	1961250	11768750	45	432	22.9	36.7	39.0 ± 12.0
020327/Streptozotocin	71/Liver	1250	1336	1670000		358		214.4		
020327/Streptozotocin	72/Liver	1250	1588	1985000	3655000	641	999	322.9	273.3	268.6 ± 54.3

肺

Date/Treatment	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Platin		Mutant		Mean ± SD
			Total Plaques /4 plate	Titer (Total Populatio	sum	Total Mutants sum	Frequency (x 10 ⁻⁶) sum			
020320/Control	11/Lung	1250	1592	1990000		1381		694.0		
020320/Control	12/Lung	1250	1184	1480000		102		68.9		
020320/Control	13/Lung	1250	2476	3095000		93		30.0		
020320/Control	14/Lung	1250	1548	1935000		41		21.2		
020320/Control	15/Lung	1250	249	311250	8811250	15	1632	48.2	185.2	172.5 ± 261 42.1 ± 11.2 *
020320/Amaranth2000	21/Lung	625	1816	1135000		54		47.6		
020320/Amaranth2000	22/Lung	937.5	1804	1891250		116		68.6		
020320/Amaranth2000	23/Lung	937.5	3136	2940000		181		61.6		
020320/Amaranth2000	24/Lung	1250	95	118750		4		33.7		
020320/Amaranth2000	25/Lung	937.5	26	24375	5909375	0	355	0.0	60.1	42.3 ± 24.3

表4-7 その他の臓器におけるcが遺伝子突然変異頻度解析結果

前胃

Date/Treatment	No./Tissue *	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Plating		Mutant Frequency (x 10 ⁻⁶)	sum	Mean ± SD
			Total Plaques /2 plate	Titer (Total Population)	sum	Total Mutant: sum				
020510/Control	11/Forestomac	750	2592	1944000		27	13.9			
020510/Control	12/Forestomac	750	1576	1182000		19	16.1			
020510/Control	13/Forestomac	750	2580	1935000		26	13.4			
020510/Control	14/Forestomac	750	3176	2382000	7,443,000	34	14.3	14.2	14.4 ± 1.0	
020510/Amaranth2000	21/Forestomac	750	1362	1021500		13	12.7			
020510/Amaranth2000	24/Forestomac	750	1608	1206000		20	16.6			
020510/Amaranth2000	25/Forestomac	750	2224	1668000	3,895,500	41	24.6	19.0	18.0 ± 4.9	
020510/Streptzotocin	71/Forestomac	750	1416	1062000		31	29.2			
020510/Streptzotocin	72/Forestomac	750	1616	1212000	2,274,000	96	79.2	55.8	54.2 ± 25.0	

* No.15, 22, 23はDNAが回収できず

腺胃

Date/Treatment	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Plating		Mutant Frequency (x 10 ⁻⁶)	sum	Mean ± SD
			Total Plaques /2 plate	Titer (Total Population)	sum	Total Mutant: sum				
020507/Control	11/GS	750	1696	1272000		103	81.0			
020507/Control	12/GS	750	2208	1656000		80	48.3			
020507/Control	13/GS	750	2304	1728000		122	70.6			
020507/Control	14/GS	750	1752	1314000		122	92.8			
020507/Control	15/GS	750	2520	1890000	7860000	71	37.6	63.4	66.1 ± 20.4	
020507/Amaranth2000	21/GS	750	1984	1488000		97	65.2			
020507/Amaranth2000	22/GS	750	2640	1980000		106	53.5			
020507/Amaranth2000	23/GS	750	1984	1488000		78	52.4			
020507/Amaranth2000	24/GS	750	1508	1131000		43	38.0			
020507/Amaranth2000	25/GS	750	1888	1416000	7503000	66	46.6	52.0	51.2 ± 8.9	
020507/Streptzotocin	71/GS	750	1776	1332000		65	48.8			
020507/Streptzotocin	72/GS	750	1120	840000	2172000	52	61.9	53.9	55.4 ± 6.6	
020510/Streptzotocin	72/GS	750	956	717000	2889000	25	34.9	49.2	48.5 ± 11.0	

肝臓

Date/Treatment	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Plating		Mutant Frequency (x 10 ⁻⁶)	sum	Mean ± SD
			Total Plaques /2 plate	Titer (Total Population)	sum	Total Mutant: sum				
020321/Control	11/Liver	750	4652	3489000		71	20.3			
020321/Control	12/Liver	750	4788	3591000		66	18.4			
020321/Control	13/Liver	750	3256	2442000		75	30.7			
020321/Control	14/Liver	562.5	5020	2823750	12345750	119	42.1	26.8	49.9 ± 9.5	
020321/Amaranth2000	21/Liver	750	2800	2100000		58	27.6			
020321/Amaranth2000	22/Liver	750	4032	3024000		58	19.2			
020321/Amaranth2000	23/Liver	750	2588	1941000		41	21.1			
020321/Amaranth2000	24/Liver	750	3472	2604000		47	18.0			
020321/Amaranth2000	24/Liver	750	2908	2181000	11850000	24	11.0	19.2	19.4 ± 5.3	
020328/Streptzotocin	71/Liver	750	1176	882000		251	284.6			
020328/Streptzotocin	72/Liver	750	2740	2055000	2937000	526	256.0	264.6	270.3 ± 14.3	

肺

Date/Treatment	No./Tissue	Dilution Factor	Nonselective Plating			Selective Plating		Mutant Frequency (x 10 ⁻⁶)	sum	Mean ± SD
			Total Plaques /2 plate	Titer (Total Population)	sum	Total Mutant: sum				
020321/Control	11/Lung	750	4132	3099000		60	19.4			
020321/Control	12/Lung	750	3524	2643000		54	20.4			
020321/Control	13/Lung	750	3040	2280000		166	72.8			
020321/Control	14/Lung	750	2324	1743000		38	21.8			
020321/Control	15/Lung	750	584	438000	10203000	8	18.3	32.0	30.5 ± 21.2	
020321/Amaranth2000	21/Lung	750	3100	2325000		46	19.8			
020321/Amaranth2000	22/Lung	750	3800	2850000		90	31.6			
020321/Amaranth2000	23/Lung	750	5252	3939000		119	30.2			
020321/Amaranth2000	24/Lung	750	164	123000		3	24.4			
020321/Amaranth2000	25/Lung	750	33	24750	9261750	1	40.4	28.0	29.3 ± 7.0	

表4-8 小核試験成績

被験物質	投与量 mg/kg/day	投与方法 投与回数	サンプリング時間 ^{a)}	動物数	幼若赤 血球観 察数	小核含有幼若赤血球		
						数	%	検定 ^{c)}
赤色2号 (amaranth)	(olive oil)	0 l.g.	48	5	10000	29	—	0.29 ± 0.07 (0.20 / 0.40)
		2000 l.g.	48	5	10000	37	N.S.	0.37 ± 0.09 (0.25 / 0.50)
		1000 l.g.	48	5	10000	39	N.S.	0.39 ± 0.15 (0.15 / 0.60)
		500 l.g.	48	5	10000	29	N.S.	0.29 ± 0.06 (0.20 / 0.35)
Streptozotocin	100 l.p.	×1	48	2	4000	91	**	2.28 ± 1.18 (1.10 / 3.45)

被験物質	投与量 mg/kg/day	投与方法 投与回数	サンプリング時間 ^{a)}	動物数	幼若赤 血球観 察数	小核含有幼若赤血球		
						数	%	検定 ^{c)}
赤色2号 (amaranth)	(olive oil)	0 l.g.	48	5	10000	25	—	0.25 ± 0.10 (0.10 / 0.40)
		2000 l.g.	48	5	10000	32	N.S.	0.32 ± 0.08 (0.20 / 0.40)
		1000 l.g.	48	5	10000	28	N.S.	0.28 ± 0.15 (0.15 / 0.55)
		500 l.g.	48	5	10000	33	N.S.	0.33 ± 0.12 (0.20 / 0.50)
Streptozotocin	100 l.p.	×1	48	2	4000	94	**	2.35 ± 0.35 (2.00 / 2.70)

a) : 投与後のサンプリング時間

b) : Kastenbaum-Bowman法による検定

N.S. : Not significantly different from the vehicle control. (p > 0.05)

** p < 0.01

厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）
分担研究報告書

既存天然添加物等の変異原性を中心とした安全性研究

分担研究者 中嶋 圓（財団法人食品農医薬品安全性評価センター 主席研究員）
協力研究者 益森 勝志（財団法人食品農医薬品安全性評価センター グループ長補佐）
赤星まゆみ（財団法人食品農医薬品安全性評価センター）
永井 美穂（財団法人食品農医薬品安全性評価センター）
菊池 正憲（財団法人食品農医薬品安全性評価センター）
尾崎 伸也（財団法人食品農医薬品安全性評価センター）
田中 仁（財団法人食品農医薬品安全性評価センター）

研究要旨

安全性のデータが不十分であり、現在流通している既存天然添加物 23 品目のうち、サンダラック樹脂およびメバロン酸の変異原性について、遺伝子突然変異誘発性を検討するため、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100、TA98、TA1535 および TA1537 株ならびに大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA* 株を用いた復帰突然変異試験を行った。コメヌカ酵素分解物およびモンタンロウでは染色体異常誘発性を検討するため、チャイニーズ・ハムスター肺線維芽細胞株 (CHL/IU) を用いた *in vitro* 染色体異常試験並びに BDF₁ 系雄マウスを用いた *in vivo* 小核試験を行った。Amaranth (赤色 2 号) については DNA 損傷性を検討するため、ICR 系マウスおよび SD 系ラットを用いた *in vivo* コメットアッセイを行った。

復帰突然変異試験の結果、サンダラック樹脂およびメバロン酸処理において、代謝活性化系非存在下 (-S9 処理) ならびに代謝活性化系存在下 (+S9 処理) のいずれも陰性対照に比べ復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。また、用量設定試験および本試験で再現性が確認された。従って、本試験条件下において、サンダラック樹脂およびメバロン酸には遺伝子突然変異を誘起しないものと判断した。

染色体異常試験の結果、コメヌカ酵素分解物およびモンタンロウ処理群の場合、-S9 処理、+S9 処理ならびに連続処理法 24 時間処理の各用量群とも明確な染色体異常の誘発は認められなかった。従って、本試験条件下の *in vitro* 試験系において、コメヌカ酵素分解物およびモンタンロウは染色体異常を誘起しないものと判断した。

小核試験の結果、コメヌカ酵素分解物およびモンタンロウ投与群における小核多染性赤血球出現頻度は、いずれの群においても陰性対照群と同等の値を示し、統計学的に有意な差は認められなかった。また、骨髄細胞に対する影響を示すような多染性赤血球の割合の減少傾向は観察されなかった。従って、本試験条件下において、コメヌカ酵素分解物およびモンタンロウはマウス骨髄細胞に対して小核赤血球を誘起しないものと判断した。

コメットアッセイの結果、マウスの Amaranth 投与群においては、100 および 1000 mg/kg (3 回連続投与) 投与群の胃において tail length (μm) の統計学的に有意な増加が観察されたが、tail moment で再評価すると、その増加は統計学的に有意ではなかった。なお、佐々木有博士の私信によると、Amaranth のマウスへの 3 回連続投与では陰性結果となっていた。マウスおよびラットへの単回投与の胃ならびに腸管においては、陰性対照と比較して統計学的に有意な増加は観察されなかった。コメットアッセイ自体、動物個体間あるいは施設間によってデー

タに大きなバラツキが認められ、特に今回実施した胃や腸管においては、その傾向が著しいことが知られている。従って、臓器によっては安全性評価に適していない面もあると考えられ、本試験条件下において、AmaranthはDNA損傷を誘起するものと明確に判断できなかった。

キーワード：遺伝毒性試験、復帰突然変異試験、ネズミチフス菌、大腸菌、染色体異常試験、小核試験、コメットアッセイ、サンダラック樹脂、メバロン酸、コメヌカ酵素分解物、モンタンロウ、Amaranth、赤色2号

A. 研究目的

安全性のデータが不十分であり、現在流通している既存天然添加物23品目のうち、サンダラック樹脂およびメバロン酸について復帰突然変異試験【第一章】、コメヌカ酵素分解物およびモンタンロウについて染色体異常誘発試験【第二章】並びにマウス小核試験【第三章】、Tsuda等の試験【Toxicol. Sci. 61, 92-99 (2001)】の再現性を確認するためAmaranth (赤色2号) についてコメットアッセイ【第四章】を実施した。

表1 試験化合物

化合物名	用途
サンダラック樹脂	ガムベース
メバロン酸	製造用剤
コメヌカ酵素分解物	酸化防止剤
モンタンロウ	ガムベース
Amaranth (赤色2号)	着色料

サンダラック樹脂はヒノキ科サンダラック (*Tetraclinis articulata* (VAHL.) MAST.) の分泌液より、室温時エタノールで抽出し、ろ液からエタノールを留去して得られたオレオレジンから得られたものである。主構成成分はサンダラコピマール酸である。主にアルジェリア、モロッコに分布するサンダラック樹の分泌した樹脂を精製したもので、セスキテルペンおよびジテルペン類を主成分とする。用途はガムベースである。黄色～淡褐色の半透明の脆いガラス状物質で、芳香がある。水に不溶、エタノール、アセトン、エーテルおよびアミルアルコールに可溶の物質であり、株式会社岐阜セラック製造所から提供を受けた。

メバロン酸は酵母 (*Saccharomycopsis fibuligera*) によるコーンスチープリカー又は

カゼイン由来のペプトンを主原料とする発酵培養液より、有機溶剤で抽出して得られたものである。動物や植物中に広く含まれている生体物質であり、分子内に不斉炭素を持ち天然にはR(-)体が存在する。本品は酵母菌 *Saccharomycopsis fibuligera* を用いる醗酵法により得られるR(-)-メバロン酸が、還元したラクトン構造をとる。食品の栄養強化や、乳酸菌等の有用腸内細菌の活性化のために使用する。淡黄色～淡褐色の透明な粘性の液で、わずかに特異なにおいがある。水およびエタノールに極めて溶けやすい物質で、旭電化工業株式会社から提供を受けた。

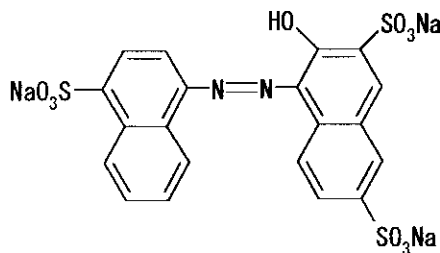
コメヌカ酵素分解物はイネ科イネ (*Oryza sativa* LINNE) の種子から得られる脱脂米ぬかを酵素分解したものより、水で抽出して得られたものである。主成分はペプチド及びフィチン酸である。本品はフィチン酸 (Phytic acid)、 $C_6H_6[OPD(OH)_2]_6$ 、分子量: 660.08 を含有する。加熱によって分解、酸性反応を示し10%水溶液のpHは0.86である。酸化防止剤として使用されている。黄褐色の水溶液または粉末で、わずかに特有のにおいがある。水には溶けやすいが、エタノールには極めて溶けにくい物質で、宝酒造株式会社から提供を受けた。

モンタンロウは褐炭またはリグナイトから得られた、 $C_{20} \sim C_{32}$ の脂肪酸とテトラコシルトリアコンタニルアルコールまたは脂肪酸とヘキサコシルトリアコンタニルアルコールのエステルを主成分とする。ポーランド、ドイツ、北アメリカなどに産する褐炭から溶剤抽出により得られる化石ロウである。主成分は高級脂肪酸と高級アルコールの長鎖エステルで、遊離

後、アルコール、樹脂等も含む。用途はガムベースあるいは光沢剤である。淡黄～黄色の塊状またはフレーク状で、わずかに特有のにおいがある。水に不溶、エタノール、油脂に可溶な物質であり、株式会社加藤洋行から提供を受けた。

Amaranth の構造式および化学名を図 1 に示す。

Amaranth は食用赤色 2 号として使用されており、含量 91.7%、ロット番号 011228 のものを三栄源エフ・エフ・アイ株式会社から提供を受けた。



2, 7-Naphthalenedisulfonic acid, 3-hydroxy-4-[(4-sulfo-1-naphthalenyl)azo]-, trisodium salt

図 1 Amaranth の構造式および化学名

第一章 復帰突然変異試験 (Ames 試験)

A. 研究方法

現在流通している既存天然添加物 23 品目のうち、サンダラック樹脂およびメバロン酸を担当することとした (表 1)。陽性対照物質として、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン塩酸塩および 2-アミノアントラセンを用いた。

試験菌株および培地等の準備：

試験菌株としてネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100、TA98、TA1535 および TA1537 株ならびに大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA* 株を使用した。

最少グルコース寒天平板培地 (プレート) と

してテスメディア AN 培地 (オリエンタル酵母工業株式会社) を試験に使用した。S9 mix については、製造後 6 ヶ月以内の S9 mix (キッコーマン株式会社) を試験に使用した。トップアガー (軟寒天) については、塩化ナトリウム 0.5 w/v% および寒天 (Bacto-agar : Difco Laboratories) 0.6 w/v% を含む水溶液をオートクレーブで滅菌して、ネズミチフス菌を用いる試験の場合、0.5 mmol/L L-ヒスチジン (関東化学株式会社) および 0.5 mmol/L D-ビオチン (関東化学株式会社) 水溶液を寒天溶液 10 容量に対し 1 容量加え、大腸菌を用いる試験の場合、0.5 mmol/L L-トリプトファン (関東化学株式会社) 水溶液を同じく 1 容量加えたものを使用した。

1) 試験菌株の前培養：

内容量 200 mL のバツフル付三角フラスコに 2.5 w/v% ニュートリエントブロス (Nutrient Broth No. 2 : Oxoid Limited) 培養液を 25 mL 分注し、これに融解した菌懸濁液を 50 μ L 接種した。培養開始までの間 4°C に保存し、その後ウォーターバスシェーカーを用い、37°C で 8 時間振盪 (100 回/分) 培養した。試験毎に菌株の培養を実施し、菌懸濁液は培養終了後速やかに使用した。

2) 被験物質等の処理：

試験管に使用溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液を 100 μ L (サンダラック樹脂の場合、使用溶媒がエタノールのため、陽性対照物質溶液以外は 25 μ L)、次いで -S9 処理の場合、0.1 mol/L ナトリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) を 500 μ L、+S9 処理の場合、S9 mix を 500 μ L 分注した。さらに前培養した試験菌株懸濁液 100 μ L を加えた後、ウォーターバスシェーカーを用いて 37°C で 20 分間振盪 (プレインキュベーション) した。振盪終了後、トップアガー 2 mL を添加し、内容物を混合した後プレート上に注いだ。恒温器を用い、各プレートを 37°C で 48 時間培養した。

コロニー数計測

被験物質の生育阻害作用を確認するため、プ

プレート上の試験菌株（背景菌）の生育状態について実体顕微鏡（×60）を用いて観察した。さらに、被験物質の析出状態を肉眼で観察した。次いで、復帰突然変異により生じたコロニー数を計数した。計測に際してはコロニーアナライザー（CA-11；システムサイエンス株式会社）を用い、面積補正ならびに数え落とし補正を実施してコロニー数を算出した。被験物質の析出あるいは生育阻害等により、コロニーアナライザーの使用が不適当な場合、目視で計数した。

B. 研究結果

それぞれの化合物についての用量設定試験と復帰突然変異試験（本試験）の結果を表2～5に示す。

1) サンドラック樹脂（表2および表3）

用量設定試験結果

結果を表2に示した。

サンドラック樹脂処理の場合、代謝活性化系非存在下（-S9処理）ならびに代謝活性化系存在下（+S9処理）の各試験菌株とも復帰突然変異コロニー数の増加傾向は認められなかった。なお、-S9処理および+S9処理のTA100、TA1537の中～高用量処理群で試験菌株に対する生育阻害作用が観察された。一方、陽性対照物質はそれぞれの菌株において、陰性対照の2倍以上の復帰突然変異コロニーを誘発した。コロニー数計測時において被験物質析出が中～高用量処理群で観

察された。

本試験結果

結果を表3に示した。

サンドラック樹脂処理での復帰突然変異コロニー数は、-S9処理および+S9処理とも各試験菌株のいずれの用量においても増加傾向は認められなかった。なお、-S9処理および+S9処理のTA100、TA1537の高用量処理群で試験菌株に対する生育阻害作用が観察された。一方、陽性対照物質はそれぞれの菌株において、陰性対照の2倍以上の復帰突然変異コロニーを誘発した。コロニー数計測時において被験物質析出が中～高用量処理群で観察された。

2) メバロン酸（表4および表5）

用量設定試験結果

結果を表4に示した。

メバロン酸処理の場合、代謝活性化系非存在下（-S9処理）ならびに代謝活性化系存在下（+S9処理）の各試験菌株とも復帰突然変異コロニー数の増加傾向は認められなかった。また、-S9処理および+S9処理のいずれの試験用量においても試験菌株に対する生育阻害作用は観察されなかった。一方、陽性対照物質はそれぞれの菌株において、陰性対照の2倍以上の復帰突然変異コロニーを誘発した。なお、コロニー数計測時において被験物質析出等の特筆すべき変化は観察されなかった。

表2 用量設定試験結果表

被験物質の名称： サンダラック樹脂

試験番号： 6271 (079-119)

試験実施期間		2002年02月19日 より 2002年02月22日				
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異数 (コロニー数/プレート)				
					フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
- S 9 m i x	陰性対照	101 93 (97)	10 14 (12)	28 32 (30)	26 28 (27)	7 6 (7)
	0.305	104 101 (103)	9 13 (11)	29 31 (30)	24 25 (25)	10 10 (10)
	1.22	101 102 (102)	14 12 (13)	39 33 (36)	29 28 (29)	8 11 (10)
	4.88	125 134 (130)	11 9 (10)	41 33 (37)	25 23 (24)	7 7 (7)
	19.5	100 100 (100)	14 12 (13)	30 27 (29)	30 27 (29)	11 11 (11)
	78.1	109 107 (108)	11 10 (11)	28 33 (31)	26 21 (24)	7* 6* (7)
	313 +	87* 80* (84)	11 10 (11)	25 27 (26)	27 25 (26)	7* 6* (7)
	1250 +	61* 60* (61)	3 4 (4)	20 18 (19)	19 17 (18)	4* 1* (3)
	5000 +	75* 57* (66)	4 6 (5)	12 14 (13)	19 18 (19)	2* 2* (2)
	+ S 9 m i x	陰性対照	127 119 (123)	14 17 (16)	29 29 (29)	37 37 (37)
0.305		117 118 (118)	17 20 (19)	32 35 (34)	39 37 (38)	17 15 (16)
1.22		125 120 (123)	12 13 (13)	25 32 (29)	38 41 (40)	17 15 (16)
4.88		126 123 (125)	14 12 (13)	33 34 (34)	43 47 (45)	22 25 (24)
19.5		128 121 (125)	16 18 (17)	36 36 (36)	45 48 (47)	15 16 (16)
78.1		127 124 (126)	12 13 (13)	28 24 (26)	37 35 (36)	15 20 (18)
313		114 113 (114)	9 6 (8)	29 24 (27)	42 40 (41)	15 14 (15)
1250 +		80* 84* (82)	6 7 (7)	21 19 (20)	27 28 (28)	12* 11* (12)
5000 +		71* 65* (68)	4 5 (5)	15 12 (14)	24 20 (22)	3* 4* (4)
陽性対照		名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2
	用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数 /プレート	422 418 (420)	539 579 (559)	180 167 (174)	521 500 (511)	258 289 (274)
	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
S 9 m i x を必要とするもの	用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1	2	10	0.5	2
	コロニー数 /プレート	774 803 (789)	325 329 (327)	814 838 (826)	439 423 (431)	114 129 (122)

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN₃ : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine hydrochloride

2-AA : 2-Aminoanthracene

* : 菌の生育阻害が認められた

+ : 暴露終了時、被験物質の析出が認められた

表3 本試験結果表

被験物質の名称： サンダラック樹脂

試験番号： 6271 (079-119)

試験実施期間		2002年03月04日 より 2002年04月07日					
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 (μg /プレート)	復帰変異数 (コロニー数/プレート)					
					フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
- S 9 m i x	2.44	/	/	/	/	8 6 (7)	
	4.88	124 121 (123)	/	/	/	4 4 (4)	
	9.77	126 121 (124)	/	/	/	6 5 (6)	
	19.5	136 142 (139)	/	/	/	7 5 (6)	
	39.1	128 131 (130)	/	/	/	4* 8* (6)	
	78.1 +	109 121 (115)	16 19 (18)	30 30 (30)	31 31 (31)	6* 8* (7)	
	156 +	121* 113* (117)	14 18 (16)	18 21 (20)	37 33 (35)	4* 4* (4)	
	313 +	83* 89* (86)	15 13 (14)	21 22 (22)	28 29 (29)	/	
	625 +	72* 71* (72)	12 12 (12)	21 21 (21)	31 30 (31)	/	
	1250 +	/	3 5 (4)	19 14 (17)	12 18 (15)	/	
	2500 +	/	6 4 (5)	17 14 (16)	17 12 (15)	/	
	5000 +	/	7 6 (7)	13 12 (13)	12 15 (14)	/	
	+ S 9 m i x	陰性対照	133 130 (132)	15 13 (14)	28 30 (29)	34 37 (36)	15 18 (17)
		39.1	140 139 (140)	/	/	/	17 15 (16)
78.1		154 154 (154)	19 20 (20)	31 35 (33)	32 31 (32)	22 23 (23)	
156		151 150 (151)	14 20 (17)	21 20 (21)	31 34 (33)	19 18 (19)	
313		165 168 (167)	15 17 (16)	22 25 (24)	33 30 (32)	23 26 (25)	
625 +		149 130 (140)	15 13 (14)	23 25 (24)	34 34 (34)	23 22 (23)	
1250 +		88* 82* (85)	12 9 (11)	16 18 (17)	32 24 (28)	5* 8* (7)	
2500 +		70* 80* (75)	12 12 (12)	11 15 (13)	21 19 (20)	5* 4* (5)	
5000 +		/	5 8 (7)	18 15 (17)	17 25 (21)	/	
陽性対照		名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9-AA
	用量(μg /プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80	
	コロニー数 /プレート	617 612 (615)	546 529 (538)	152 167 (160)	675 715 (695)	562 592 (577)	
	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	
	用量(μg /プレート)	1	2	10	0.5	2	
	コロニー数 /プレート	944 981 (963)	404 413 (409)	536 580 (558)	525 519 (522)	177 176 (177)	

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro 2 furyl)acrylamide

NaN₃ : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine hydrochloride

2-AA : 2-Aminoanthracene

* : 菌の生育阻害が認められた

+ : 暴露終了時、被験物質の析出が認められた