

被験物質投与液を 20 mL/kg の投与容量で投与するとき、被験物質濃度が投与用量となるよう調製した。

最高投与用量は、「遺伝毒性試験ガイドライン」で指定されている 2,000 mg/kg とし、以下公比 2 で 3 用量設定した。陽性対照には、MMC を用いた。

被験物質投与液を 1 日 1 回 2 日間強制経口投与し、最終投与 24 時間後に生存している動物を炭酸ガス吸入法で安楽死させた後、大腿骨を摘出し、ウシ胎児血清を用いて骨髓細胞を洗い出した。採取した骨髓細胞を遠心分離し、骨髓塗抹標本を作製した。骨髓塗抹標本は、メタノールで固定した後、アクリジン・オレンジ溶液で染色し、標本観察に供した。

標本の観察は盲検法で行い、1 動物につき 2 枚の標本を用い、1 標本当たり全赤血球 500 個中の幼若赤血球 (PCE) および成熟赤血球 (NCE) と PCE 1,000 個中の小核を有する PCE (MNPCE) を数えた。すなわち、1 動物当たり全赤血球 1,000 個中の PCE と PCE 2,000 個中の MNPCE を数えた。標本の観察結果については、各動物ごとに、全赤血球 (PCE+NCE) 中の PCE の比率 (PCE%) および PCE 中の MNPCE の比率 (MNPCE%) を求めた後、群ごとに集計し、平均値および標準偏差を求めた。PCE% については、陰性対照群 (0.5% MC 水溶液) と各被験物質投与群の 2 群間で等分散の検定を行った後、分散が等しい場合には Student の *t* 検定を、分散が等しくない場合は Welch の検定を行った。有意水準は等分散の検定で両側 5% とし、Student の *t* 検定および Welch の検定で片側 1% とした。MNPCE% については、陰性対照群 (0.5% MC 水溶液) と各被験物質投与群の 2 群間で条件付 2 項検定 (Kastenbaum and Bowman による検定¹²⁾)

を用いて検定を行った。

結果および考察

1. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

短時間処理法による結果を Table 1 に示した。

陰性対照における構造異常を有する細胞の出現率は、-S9 処理および +S9 処理ともに 1.0% であった。また、倍数性異常を有する細胞の出現率は、-S9 処理および +S9 処理ともに 0.0% であった。陽性対照の MMC および B[a]P を処理した細胞では、染色分体型の切断および交換の異常が多数観察され、その出現率は 65.5% および 35.0% と陰性対照と比べて顕著な増加を示した。

GPCR を処理した細胞では、構造異常を有する細胞の出現率が、-S9 処理で 0.5~1.0%、+S9 処理で 0.0~1.5% となり、陰性対照と比較して有意な増加を示さなかった。また、倍数性異常を有する細胞の出現率は、-S9 処理および +S9 処理ともに 0.0% であり、陰性対照と比較して有意な増加を示さなかった。

連続処理法による結果を Table 2 に示した。

陰性対照における構造異常を有する細胞の出現率は、1.0% であった。また、倍数性異常を有する細胞の出現率は、0.0% であった。陽性対照の MMC を処理した細胞では、染色分体型の切断および交換の異常が多数観察され、その出現率は 47.0% と陰性対照と比べて顕著な増加を示した。

GPCR を処理した細胞では、構造異常を有する細胞の出現率が、0.0~1.0% となり、陰性対照と比較して有意な増加を示さなかった。また、倍数性異常を有する細胞の出現率は、0.0% であり、陰性対照と比較して有意な増加を

Table 1. Chromosome Aberration Test of Garcinia Powder CR: Short-term Treatment Method

Substance	Dose (μ g/mL)	Treat- ment time (hr)	Recov- ery time (hr)	S9 mix	Number of analyzed cells	Number of structurally aberrant cells							Number of polyploid cells (%)	Cell prolifera- tion rate (%)
						gap	ctb	cte	csb	cse	frg	Total (%) gap		
Saline	—	6	—	18	—	200	0	2	0	0	0	2 (1.0)	0 (0.0)	100.0
Garcinia Powder CR	125	6	—	18	—	200	0	1	0	0	0	1 (0.5)	0 (0.0)	95.5
	250	6	—	18	—	200	0	2	0	0	0	2 (1.0)	0 (0.0)	98.0
	500	P	6	—	18	—	200	0	0	1	0	1 (0.5)	0 (0.0)	101.5
	1,000	P	6	—	18	—	200	0	1	1	0	2 (1.0)	0 (0.0)	101.9
	2,000	P	6	—	18	—	200	0	1	0	0	1 (0.5)	0 (0.0)	99.8
MMC	0.1	6	—	18	—	200	0	47	101	0	0	131 (65.5)**	0 (0.0)	84.2
Saline	—	6	—	18	+	200	0	1	1	0	0	2 (1.0)	0 (0.0)	100.0
Garcinia Powder CR	250	6	—	18	+	200	0	1	0	0	0	1 (0.5)	0 (0.0)	113.1
	500	6	—	18	+	200	0	2	1	0	0	3 (1.5)	0 (0.0)	118.4
	1,000	P	6	—	18	+	200	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	109.1
	2,000	P	6	—	18	+	200	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	100.4
	4,000	P	6	—	18	+	200	0	1	1	0	1 (0.5)	0 (0.0)	107.9
B[a]P	20	6	—	18	+	200	0	20	63	0	0	70 (35.0)**	0 (0.0)	72.5

ctb, chromatid break; cte, chromatid exchange; csb, chromosome break; cse, chromosome exchange; frg, fragmentation;

MMC, mitomycin C; B[a]P, benzo[a]pyrene

Fisher's exact test: Significant difference from control *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

P, precipitation