都市大気浮遊粒子から抽出された 共通試料の変異原性

— 5 機関・3 年間の共同研究から —

遠藤 治¹⁾, 後藤 純雄²⁾, 松本 寛³⁾, 麻野間正晴⁴⁾,
渡辺 徹志⁵⁾, 世良 暢之⁶⁾, 若林 敬二⁷⁾

¹⁾国立公衆衛生院 (〒108-8638 東京都港区白金台4-6-1)

²⁾国立環境研究所 (〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2)

³⁾北海道環境科学研究センター (〒060-0819 札幌市北区北19条西12丁目)

⁴⁾名古屋市衛生研究所 (〒467-8615 名古屋市瑞穂区萩山町1-11)

⁵⁾京都薬科大学 (〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5)

⁶⁾福岡県保健環境研究所 (〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

⁷⁾国立がんセンター研究所 (〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1)

[平成13年4月10日受理]

Mutagenicity of a Reference Material Extracted from Urban Air Particles — A Collaborative Study with 5 Laboratories through 3 Years —

Osamu ENDO¹⁾, Sumio GOTO²⁾, Yutaka MATSUMOTO³⁾, Masaharu ASANOMA⁴⁾,
Tetsushi WATANABE⁵⁾, Nobuyuki SERA⁶⁾ and Keiji WAKABAYASHI⁷⁾

¹⁾National Institute of Public Health
(4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8638)

²⁾National Institute for Environmental Studies
(16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506)

³⁾Hokkaido Institute of Environmental Sciences
(Kita 19, Nishi 12, Kita-ku, Sapporo 060-0819)

⁴⁾Nagoya City Public Health Research Institute
(1-11 Hagiyama-cho, Mizuho-ku, Nagoya 467-8615)

⁵⁾Kyoto Pharmaceutical University
(5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607-8414)

⁶⁾Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences
(39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135)

⁷⁾National Cancer Center Research Institute
(5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045)

[Received April 10, 2001]

Summary

Mutagenicity of a reference material (RM) was analyzed with *Salmonella* (TA100, TA98 and YG1024) preincubation procedure under the collaboration of 5 laboratories through 3 years in

Japan. The RM was prepared from urban air particle (total 9234.8 mg after the filtration of 10^5 m^3 air). After ultrasonication with methylene chloride, the solvent was exchanged to dimethylsulfoxide. The RM was subdivided into 300 brown ampules (each 0.8 or 1.6 ml) at a central laboratory. Ampules were sent to each laboratories, and were stored at -80°C through the project period (at least 3 years). No significant variations of the mutagenicity were observed during the 3 years. Repeatability (intra-laboratory variance) of results ranged from 1.5 % to 55 % which seemed to depend on the bioassay conditions (tester strain and metabolic activation), whereas reproducibility (inter-laboratory variance) ranged from 27 % to 69 %. The reproducibility was shown to be similar to the repeatability from the results of two level nested analysis of variance in TA100 and TA98 assays.

Key words: Salmonella mutagenicity, reference material, urban air particle, collaborative study

1. はじめに

ディーゼル車から排出される微細粒子，廃棄物焼却施設付近の土壌汚染など，環境汚染問題が再認識されつつある。環境汚染物質の中には多種多様な有害物質が含まれており，発がん性が疑われているものも少なくない。環境汚染を未然に防止するためには継続的な定点観測によるモニタリングが必要である。しかし，このモニタリングには限られた制約（簡便性，経済性など）の中で多数の試料を測定しなければならないことから，有害性が確認された既知物質の中で，モニタリングに適した手法が確立された一部の物質について，主に化学分析手法が適用されているにすぎないのが現状である。このため，未知のものを含めその有害性を包括的に検出できる生物評価試験を用いたモニタリング手法の確立が急務とされてきている。特に，微生物を用いた変異原性試験（エームス法）は比較的簡便で定量性があることから，発がん関連物質に対するモニタリング手法として期待が寄せられている。

モニタリング結果を評価する観点からはできるだけ同じ条件のもとで生物試験を実施することが望ましいが，化学分析と比較して自動化が困難であることなどから，多試料を試験する必要がある場合には，複数の機関で分担しなければならない。複数機関での試験結果を評価する場合共通するデータの精度保証が必要となるが，共通の環境試料に対する複数の機関で得られた試験結果に関する報告は殆ど見あたらない。

そこで本研究では，変異原性モニタリングにおける精度の向上に必要な基礎的資料を得ることを目的として，都市大気浮遊粒子から抽出された変異原性試験用の共通試料を調製し，これを用いて5機関で3年間，複数回にわたって変異原性試験を実施したので，その結果を報告する。

2. 実験方法

2. 1 共通試料の調製

大気浮遊粒子の採取：東京都港区白金台の国立公衆衛生院5階屋上で，1997年11月2日～12月30日まで，2台のハイボリュームエアサンプラーを用いて断続的に粒子を1日24時間ずつ捕集した。粒子は石英繊維フィルター（Pallflex QAST2500）上に捕集し，常法に従って捕集前後のフィルター秤量値の差から粒子重量を求めた後，抽出に供するまで -80°C の超低温槽内に保存した。こうしてのべ55枚のフィルター上の粒子試料を集めた。総粒子重量は9234.8mgであり，総空気吸引量は105,855 m^3 に相当した。

有機成分の抽出：55枚のフィルターを5枚1組として，11組に分け，ジクロロメタン（残留農薬試験用）を抽出溶媒とする超音波抽出を行った。すなわち，5枚のフィルターを，まず捕集面だけ切り出し，これを1～2 cm角に細切し，1ℓのテフロンシールスクリュージャップ付の三角フラスコに移した。これに気泡がつかないようにガラス棒を用いて攪拌しながら，300mlのジクロロメタンを加えたのち，密栓をして超音波を20分間照射し，抽出液をNo.5Cのろ紙（アドバンテック東洋）で全量ろ過した。2回目以降は150mlのジクロロメタンを加えて同様の操作を4回繰り返し，合わせたろ液をロータリーエバポレーターを用いて2～3 mlになるまで減圧濃縮した。この濃縮液を100mlのメスフラスコに移した。11組のフィルター試料を抽出したのち，100 mlに定容し，一部を抽出物の秤量及び変異原性予備実験に供し，残りを再度ナス型フラスコに移し替えて減圧濃縮した。液量が数mlになった時点で一旦中止し，ジメチルスルホオキシド（蛍光分析用ルミナゾール，DMSO）4 mlを加えて再度減圧濃縮に供した。ジクロロメタンがほぼ完全に気化した状態で密栓し， -80°C の超低温槽内に保存した。

分注作業：抽出物の秤量及び変異原性予備実験の結果から、粒子相当量で濃度が20mg/mlとなるようにDMSOを追加し、十分に混合した。これを褐色アンプルに一定量(1.6mlまたは0.8ml)ずつ分注し、窒素気流で余分な空気を追い出したのち、アンプルを封入し、-80℃の超低温槽内に保存した。なお、冷凍アンプルの運搬に際しては、十分量のドライアイスを用いるなどして、温度管理には万全を期した。

2. 2 変異原性試験

サルモネラ菌 TA100, TA98及び YG1024の3菌株を用い、ラット肝 S9による代謝活性化を行った場合と行わない場合の両条件下で、Ames 原法を改良したプレインキュベーション法により試験を実施した。試験を実施するにあたり、統一的なマニュアルを作成し、各機関に配布した。菌株や S9その他の試薬類は各機関ごとに準備調製することとし、同一ロットの配布は行わなかった。被験物質用量：配布したアンプルの DMSO 原液換算で設定し、TA100及び TA98菌株では100, 50, 25, 12.5 μl /プレートとし、YG1024ではその1/4濃度に希釈し、25, 12.5, 6.25, 3.125 μl /プレートとした。

集計：試験結果は単年度ごとに各機関から国立公衆衛生

院に送付した。以後国立公衆衛生院で保管し、3年間分をまとめて集計作業を行った。統計処理は、汎用統計ソフトウェア, Stat Flex Ver.5.0 (アーテック社製)を使用した。

3. 結果

Fig. 1に变異原性試験結果の一例を示す。Fig. 1から、今回使用した共通試料は、TA100, TA98及び YG1024の3菌株に対して、ラット肝 S9による代謝活性化を行った場合と行わない場合のいずれの条件下においても良好な用量-反応関係をもって明瞭な変異原性を示すことが判った。そこで、直線的な用量-反応関係が得られた部分から、最小自乗法による一次回帰式をもとめ、その傾きから共通試料 1 ml 当りの復帰変異コロニー数を算出し、これを変異原比活性とした。

Table 1に、5機関3年間の試験結果を変異原比活性(共通試料 1 ml 当りの復帰変異コロニー数)で示す。Table 1から、菌株、S9mix添加の有無にかかわらず、試験を実施した機関ごとに差異が見られるばかりでなく、同一機関内でも試験日により比活性が異なることが判った。また、同じフレームシフト型の突然変異を検出するタイプの菌株でも TA98より YG1024で強い活性が認めら

Fig. 1 A result for mutagenicity assay of a reference material extracted from urban air particles

—□— TA100, -S9 —△— TA98, -S9 —○— YG1024, -S9
 —■— TA100, +S9 —▲— TA98, +S9 —●— YG1024, +S9

Table 1 Mutagenicity of a reference material extracted from urban air particles

Laboratory	FY	Round	Mutagenic activity (revertants / ml. DMSO solution)					
			TA100-S9	TA100+S9	TA98-S9	TA98+S9	YG1024-S9	YG1024+S9
A	1997	1	9200	9000				
		2			5440	6560		
		3	8190	9990			45800	32600
		4	10200	8730	5170	7280		
	1998	1			5200	4900		
		2	7680	12600				
		3					45800	19200
		4			5120	4790		
		5	7480	9880				
	1999	1					44600	21000
		2			5880	5440		
		3	8600	11200				
B	1997	1	5660	3640	3980	2290		
		2	5750	4740	2850	3580		
		3	7220	7100			27400	27400
		4	6880	6900			22100	48700
		5	10000	7200	8700	3640		
	1998	1	7860	5010	7610	6820		
		2	4850	4520	5860	5030		
		3	10000	5610	4960	3890		
		4	6100	4760	9080	4090		
		5	6540	3720	4740	4060		
		6					30100	15800
	1999	1	2250	1890	3620	2740		
		2	4000	3320	3910	3120		
		3					28100	21200
C	1997	1	5160	12200			30000	33900
		2	7770	13100	4610	5060		
		3	5890	14400	5440	7820		
		4	4940	13200			25800	43300
		5	6000	13400	5620	8410		
		6	4990	13100	5390	8300		
	1998	1			3610	9540		
		2	5380	11300				
		3	6170	8190	3540	9160		
		4	5800	13300	7020	15900		
		5	3190	8540	3610	9540		
		6					52800	54900
		7					57600	61300
		8	5380	11300	3680	9120		
		9	2450	11900	3630	7890		
		10	4630	15200	4100	10300		
		11	5560	11800	3220	9360		
	1999	1	4310	7370	4690	7020		
		2	5360	7880	4260	5020		
		3					19500	22500
		4						16200
D	1997	1	3540	9950	3320	6560		
		2	4930	17900	3920	7210		
		3	5850	17700			34800	51900
		4	4940	13200			25800	43300
		5	4570	16800	4550	10300		
		6	4390	12800	4830	8180		
		7						35800
		8	4650	8830	6700	6350		
	1998	1	3980	11800				
		2					51700	60700
		3					39600	46000
		4					63400	43100
		5	5020	9660	3740	8420		
		6			5240	10400		
		7	6720	13600	4210	12900		
		8	4760	13100	3630	9090		
		9	2350	9180	4420	8380		
		10	5560	11800	3220	9360		
	1999	1	4460	15500	6320	8940		
		2	4200	15500	5920	10700		
		3	3920	10800	5300	7650		
		4					61300	122000
		5					61300	143000
		6					69200	112000
		7						
		8	6920	14800	3730	8150		
E	1997	1	5890	7210	5300	9240		
		2	5750	7150	5500	9100		
		3	5620	7300			18300	27900
	1998	1	6570	8260	5960	8350		
		2					29400	35400
		3	5740	8260	5760	7860		
	1999	1	6130	7850	5690	7530		
		2					26800	38200
		3	6570	8260	5960	8670		

FY: Fiscal year

れた。

4. 考察

サルモネラ菌を用いた変異原性試験は世界中で広く用いられているが、得られた変異原性の強さは物質の違いによっては100万倍近い差があり、変異原性の強弱を文献値と比較すると少なくとも8倍以上の差がなければ有意とは言えないとの指摘もある⁹⁾。このようなことから、変異原性試験結果の研究室内及び研究室間の差異(変動)に関する研究は、比較的早い時期から様々な試行がなされており、当初は主に純物質を用いた検討が行われてきたが、環境試料のような複合物質に関する検討もいくつか行われている²⁻⁹⁾。中でも最大規模のものは、国連環境計画(UNEP)、国際労働機関(ILO)、世界保健機構(WHO)が共同主催する化学物質の安全性に関する国際計画(IPCS)のプロジェクトである。これは、日米欧20機関が参加して、試料調製(抽出方法)や変異原性試験条件(試験菌株の培養条件や代謝活性化など)による試験結果の変動とその要因を明らかにしたもので、試料調製や変異原性試験条件により、研究室間での変動は16~88%、研究室間での変動は33~152%に達し、その主たる要因は研究室間の変動によるもので総変動に対する割合は55~95%であること、このような研究室間変動に対して米国国立標準局(NIST)の標準物質(SRM)のような環境標準試料を導入することが有効であることなどが報告されている^{8,10-12)}。一方、日本国内においても環境庁の主催により浮遊粉じんの変異原性試験方法に関する調査研究班が組織され、この成果をもとに「大気浮遊粉じんの変異原性試験マニュアル」が発表された¹³⁾。一般に変異原性試験の精度管理としては代表的な変異原性物質である単一の化合物を陽性対照として組み込むことで保証されるが、環境試料のような複合物質に対しては必ずしも最適とは言い難いところがある。例えばIPCSのプロジェクトでは、得られた試験結果を標準化するために、陽性対照として用いた1-ニトロピレンの変異原活性を用いて標準化したところ、逆に変動が大きくなってしまったことを報告している。これに対して、大気粒子やディーゼル粒子といった組成の類似した標準試料を用いて標準化した場合には、変動を小さくすることができるとされており、たばこタールや食品などその他の複合試料に対しても、組成の類似した標準試料の開発が重要であると提言している¹²⁾。このような組成の類似した標準試料ほど試験結果の標準化に有効であることは、環境庁の研究班でも実証されており、Matsushitaらは、規格化されたプロトコルと組成の類似した共通標準試料を組み込むことで大幅な改善が可能であることを報告している⁹⁾。

これらの報告の多くは、単一のプロジェクトもしくは

単年度毎の成果であり、共通の標準試料を用いた複数年にわたる報告例はほとんど見当たらない。今回我々は、「環境中の変異原性物質及びリスク推定に関する調査研究」の一環として共通試料を用いて複数年にわたり試験を実施した。

変異原性試験に限らず、一般に化学物質を試料とする測定においては、調製した試料の反応性を考慮して、できるだけ速やかに測定に供することが望ましい。しかしながら長期に亘って試料を保存する場合には、反応性を抑え分解を防ぐために、低温・遮光・酸化防止等の措置を行う必要がある。今回調製した共通試料は、できる限り-80℃の超低温槽内に保存するなど温度管理には万全を期し、容器には褐色アンプルを用い、窒素気流で余分な空気を追い出したのちアンプルを封入することで酸化防止を行った。しかしながら実験期間が3年間という比較的長期間に亘っており、機関間の比較などを行う上で、経年変化が影響を与えていないことを確認する必要があると思われた。

Table 2に各年ごとの集計結果を示す。Table 2から、各年ごとの変異原活性の平均値は、試験条件(菌株、S9mix添加の有無)により、年を経るにしたがって、若干減少傾向を示すもの(TA100±S9)もあれば、反対に上昇傾向を示すもの(YG1024+S9)もあり、また年により上がったたり下がったりする場合もあった。一方、その相対標準偏差は、多くの場合30~40%となり、中には86%以上を示す場合(1999年のYG1024+S9)も認められた。そこで、それぞれの試験条件下で各年ごとの平均値に有意差があるか検定を行った。なお、有意差検定に先立ってF検定を行い、分散性が等しいと判断されたので、Studentのt検定によりt値を求めることとした。その結果、YG1024-S9条件下の1997年と1998年の測定値間に若干の有意差(有意水準 $\alpha < 0.01$)が認められたものの、それ以外はすべて有意水準 $\alpha < 0.001$ で有意差は認められなかった。これらの結果から、経年変化の影響はないものと判断された。また、窒素気流で空気を追い出し酸化をできるだけ防ぎ、褐色アンプルに封入して-80℃に保存しておけば、少なくとも3年間、変異原性は変化しないものと考えられた。

経年変化の影響がないと判断されたので、次に機関間の差をみることにした。Table 3に機関ごとの集計結果を示す。Table 3から、3年間を通じての変異原活性は、平均値も相対標準偏差(変動係数)も、機関ごとに比較的大きなばらつきがあることが判る。平均値のみでみれば、全体的に、いずれの菌株もS9mix添加条件下の方が無添加条件下よりも高い活性を示したが、反対に無添加条件下が高い場合(Lab. AのYG1024, Lab. BのTA100, TA98)もみうけられた。また、相対標準偏差は、良好なところでは3年間を通して数%と一桁台であったが、

50%を超えるところもあり、全体を見回すと20~30%台が多く、これは5機関3年間全体の平均値及び相対標準偏差とはほぼ同等であった。

菌株別にみた場合、TA系よりもYG1024の方が若干変動が大きくなっているが、これはYG株の変異原性検出感度がニトロアレーンや芳香族アミノ化合物に対して高いことや、TA系よりも実験回数が少ないことがその変動を大きくする要因と思われた。

機関別にみると、Lab. Dが比較的高い変異原活性を示すことが多く、特にS9mix添加条件下では3菌株とも平均値で最も高い値を示した。これに対して平均値で最も低い値を示す機関は、試験条件ごとに異なり、特定の傾向はみられなかった。平均値の最大/最小の機関格差をみると、YG1024+S9で最も大きく3.01倍の格差となった。この平均値の最大/最小の機関格差は3菌株ともS9mix添加条件下の方が無添加条件下よりも大きく

Table 2 Yearly mean and relative standard deviation of the mutagenic activities of RM

Fiscal year		TA100-S9	TA100+S9	TA98-S9	TA98+S9	YG1024-S9	YG1024+S9
Whole year	mean	5767	10055	4955	7480	39617	47092
	rsd	30.70	37.83	27.22	35.60	39.66	69.48
	N	58	58	50	50	23	25
1997	mean	6166	10648	5083	6868	28750	38311
	rsd	28.59	37.28	26.78	32.70	29.44	23.13
	N	24	24	16	16	8	9
1998	mean	5642	9708	4833	8224	46300	42050
	rsd	31.06	33.69	31.35	35.44	26.89	41.73
	N	23	23	23	23	8	8
1999	mean	5156	9488	5025	6816	44400	62013
	rsd	34.36	48.55	20.09	36.37	44.87	86.69
	N	11	11	11	11	7	8

rsd: relative standard deviation

Table 3 Laboratory mean and relative standard deviation of mutagenic activities of RM

Laboratory		TA100-S9	TA100+S9	TA98-S9	TA98+S9	YG1024-S9	YG1024+S9
ALL Lab.	mean	5767	10055	4955	7480	39617	47092
	rsd	30.70	37.83	27.22	35.60	39.66	69.48
	N	58	58	50	50	23	25
Lab. A	mean	8558	10233	5362	5794	45400	24267
	rsd	11.89	14.16	5.87	18.76	1.53	29.97
	N	6	6	5	5	3	3
Lab. B	mean	6426	4868	5531	3926	26925	28275
	rsd	34.93	33.56	39.93	32.41	12.68	50.99
	N	12	12	10	10	4	4
Lab. C	mean	5186	11636	4459	8746	37140	38683
	rsd	23.39	20.74	24.17	29.73	45.74	46.04
	N	16	16	14	14	5	6
Lab. D	mean	4751	13113	4603	8839	50888	73089
	rsd	23.33	22.29	23.72	19.51	30.85	55.80
	N	17	17	15	15	8	9
Lab. E	mean	6039	7756	5695	8458	24833	33833
	rsd	6.56	6.75	4.57	8.02	23.38	15.74
	N	7	7	6	6	3	3

rsd: relative standard deviation

なっていることから、機関ごとに調製されたS9mixの酵素活性が結果に影響を及ぼしていることが示唆された。

Table 4は、比較的標本個数が確保 ($N \geq 50$) されているTA100及びTA98両菌株の試験結果に対して、機関ごとにグループ化し、さらに実験年次ごとにサブグループ化した場合の2レベル階層構造分散分析結果を示したものである。Table 4から、唯一TA100+S9の機関間で若干の有意差が認められたものの、それ以外は有意差が認められず、総変動に対する実験年次の影響はいずれの試験条件下においても小さく、Table 2にも示したように、経年変化の影響は小さいことが確認された。また、両菌株に対して、S9mix無添加条件下では機関間の変動が誤差変動と同程度か小さいのに対して、S9mix添加条件下では機関間の変動が誤差変動と比較してかなり大きくなっていることが判る。これらのことは、環境試料の変異原性試験において、機関間の変動は同一機関内での複数試験回の誤差とそれほど変わらないのに対して、代謝活性化酵素系の調製が試験結果に予想以上に大きな変動を与えることを示唆している。

3年間5機関全体を通しての変動は27~69%であり、これはIPCSのプロジェクトや環境庁調査と比較しても遜色がないことが判った。環境庁調査では菌株やS9の使用に際し同一ロットのものを配布して得られた実験結果であったことを考え合わせると、今回の変動は比較的

良好な結果であると思われる。

IPCSのプロジェクトやMatsushitaらの報告からも明らかなように、複数の試験機関が参加して環境試料の変異原性試験を行う場合、精度保証管理上共通試料を加えることが必要不可欠と考えられる。現在のところ環境試料の標準物質としては、IPCSのプロジェクトでも用いられた米国標準局の標準試料 (NIST SRM-1649, SRM-1650など) が国際的に認知されている。これらは粉末状の試料で、幾つかの分析値に保証値が添付されており、市販もされているが決して安価とは言えず、またIPCSのプロジェクトにおいても指摘されているように、元来変異原性試験を目的として作成されたものではないので、試験の規模の大きさによっては量的にも十分とはいえない状況にある。

今回我々はフィルター上に捕集した粒子試料から抽出して調製したため、十分な量の試料を得るためには大量のフィルターを要し、また均一な共通試料として配布するためには粉体ではなく予め溶媒抽出せねばならないなど、サンプリングにも試料調製にも、多大の時間と労力、さらに経費も要した。このように解決すべき問題点は少なくないが、冒頭にも述べたように環境汚染問題に対する関心はますます高まりつつあり、今後多数の機関が参加しての共同研究の機会が多くなると予想され、より精度の高い調査研究が望まれる。今後、安定供給可能

Table 4 Two level nested analysis of variance

Source of variation	DF	Sum of squares	Mean square	F	p
TA100 -S9					
Laboratory	4	75433148	18858287	5.653	0.0121
Yearly	10	33359528	3335953	2.052	0.0508
Error	43	69906601	1625735		
Total	57	178699277			
TA100 +S9					
Laboratory	4	559090000	139770000	14.758	0.0003
Yearly	10	94708571	9470857	2.384	0.0238
Error	43	170830486	3972802		
Total	57	824629057			
TA98 -S9					
Laboratory	4	12736823	3184206	1.666	0.2333
Yearly	10	19107642	1910764	1.167	0.3448
Error	35	57308783	1637394		
Total	49	89153248			
TA98 +S9					
Laboratory	4	196410220	49102555	7.988	0.0037
Yearly	10	61473054	6147305	2.400	0.0272
Error	35	89645026	2561286		
Total	49	347528300			

DF: degrees of freedom

な標準試料の開発と研究支援体制の確立が急務と思われる。

謝 辞

本研究の一部は環境庁「環境中の変異原性物質及びリスク推定に関する調査研究」により賄われた。関係各位に深謝する。

要 約

微生物を用いた変異原性試験による環境汚染モニタリングの手法に関する基礎的資料を得ることを目的として、変異原性試験用の共通試料として都市大気浮遊粒子の溶媒/超音波抽出物を調製し、5機関3年間、複数回にわたって、これを試料とする変異原性試験を実施した。-80℃で試料のDMSO溶液を保存したところ、3年間保存での有意な変異原性の変化は認められなかった。試験菌株、代謝活性化系など試験条件によると思われる機関内変動は1.5%~55%であった。これに対して機関間の変動は27%~69%であった。TA100及びTA98両菌株の結果を用いて統計的解析(2レベル階層構造分散分析)を行ったところ、機関間の変動は同一機関内での複数試験回の誤差と殆ど変わらなかった。

文 献

- 1) McCan, J., Horn, L. and Kaldor, J.: An evaluation of Salmonella (Ames) test data in the published literature: application of statistical procedures and analysis of mutation potency. *Mutation Res.*, **134**, 1-47 (1984)
- 2) Cheli, C., DeFrancesco, D., Petrullo, L.A., McCoy, E.C. and Rosenkrantz, H.S.: The Salmonella mutagenicity assay: reproducibility. *Mutation Res.*, **74**, 145-150 (1980)
- 3) Grafe, A., Mattern, I.E. and Green, M.: A European collaborative study of Ames assay, I. Results and general interpretation. *Mutation Res.*, **85**, 391-410 (1981)
- 4) Agnese, G., Risso, D. and De Flora, S.: Statistical evaluation of inter- and intra-laboratory variations of the Ames test, as related to genetic stability of Salmonella tester strains. *Mutation Res.*, **130**, 27-44 (1984)
- 5) Anderson, D., Green, M.H.L., Mattern, I.E. and Godley, M.J.: An international collaborative study of 'genetic drift' in Salmonella typhimurium strains used in the Ames test. *Mutation Res.*, **130**, 1-10 (1984)
- 6) Margolin, B.H., Risko, K.J., Shelby, M.D. and Zeiger, E.: Sources of variability in Ames Salmonella typhimurium tester strains: analysis of the International Collaborative Study on 'Genetic Drift'. *Mutation Res.*, **130**, 11-25 (1984)
- 7) Myers, L.E., Adams, N.H., Hughes, T.J., Williams, L.R. and Claxton, L.D.: An inter-laboratory study of an EPA/Ames/Salmonella test protocol. *Mutation Res.*, **182**, 121-133 (1987)
- 8) Claxton, L.D., Creason, J., Leroux, B., Agurell, E., Bagley, S., Bryant, D.W., Courtois, Y.A., Douglas, G., Clare, C.B., Goto, S., Quillardet, P., Jagannath, D.R., Kataoka, K., Mohn, G., Nielsen, P.A., Ong, T., Pederson, T.C., Shimizu, H., Nylund, L., Tokiwa, H., Vink, G.J., Wang, Y. and Warshawsky, D.: Results of IPCS collaborative study on complex mixtures. *Mutation Res.*, **276**, 23-32 (1992)
- 9) Matsushita, H., Endo, O., Goto, S., Shimizu, H., Matsumoto, H., Tamakawa, K., Endo, T., Sakabe, Y., Tokiwa, H. and Ando, M.: Collaborative study using the preincubation Salmonella typhimurium mutation assay for airborne particulate matter in Japan. A trial to minimize interlaboratory variation. *Mutation Res.*, **271**, 1-12 (1992)
- 10) Lewtas, J., Claxton, L.D., Rosenkrantz, H.S., Schuetzle, D., Shelby, M., Matsushita, H., Wurgler, F.E., Zimmermann, F.K., Lofroth, G., May, W.E., Krewski, D., Matsushima, T., Ohnishi, Y., Gopalan, H.N.G., Sarin, R. and Becking, G.C.: Design and implementation of a collaborative study of the mutagenicity of complex mixtures in Salmonella typhimurium. *Mutation Res.*, **276**, 3-9 (1992)
- 11) Krewski, D., Leroux, B.G., Creason, J. and Claxton, L.: Sources of variation in the mutagenic potency of complex chemical mixtures based on the Salmonella/microsome assay. *Mutation Res.*, **276**, 33-59 (1992)
- 12) Claxton, L.D., Douglas, G., Krewski, D., Lewtas, J., Matsushita, H. and Rosenkrantz, H.S.: Overview, conclusions and recommendations of the IPCS collaborative study on complex mixtures. *Mutation Res.*, **276**, 61-80 (1992)
- 13) 環境庁：大気浮遊ふんじんの変異原性試験マニュアル，官公庁公害専門資料，**27**，66-79 (1992)