

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

## 1-9 慢性毒性および発がん性

### 1-9-1 イヌにおける 52 週間飼料混入試験

(資料 34)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書年：

検体純度： ベンタゾン (バッチ番号 )

供試動物： ビーグル犬 1 群雌雄各 6 匹

開始時 4~7 ヶ月齢、体重範囲 雄 7.1~9.4kg、雌 7.0~9.3kg

投与期間： 52 週間 ( )

投与方法： 検体を 0、100、400 または 1600 ppm の濃度になるよう粉末飼料に混入してペレットを再形成し、1 日 1 回(午前 10 時~午後 1 時)イヌに与えた。混餌は月 2 回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率： 一般状態および生死は毎日観察した。

死亡は認められなかった。

検体投与の影響として、1600 ppm 群の雄 3 例および雌 1 例に一般状態の異常として、脱水状態、下痢、潜血便および口腔粘膜の蒼白化が認められた。一過性の皮膚の損傷(充血/脱毛)が認められたが、皮膚の損傷は一時的であり対照群にも認められることより、検体投与に関連はないと考えられた。

体重変化： 毎週 1 回、全ての動物の体重を測定した。

試験期間中の体重の変化を次頁の図 1 および 2 に示す。

図1. 雄の体重変化

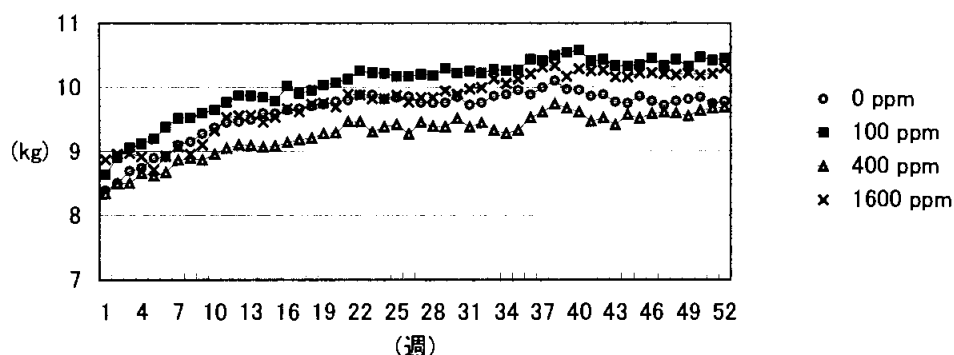
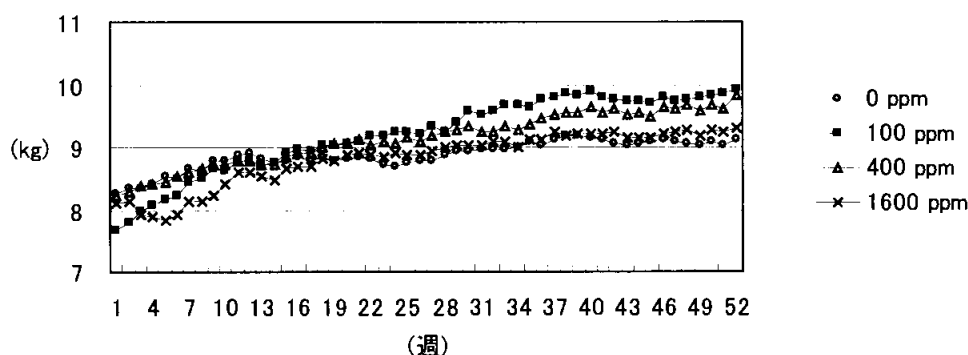


図2. 雌の体重変化



検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量； 摂餌量は個体別に毎日測定した。

雌の 1600 ppm 群の 1 例に投与第 3～7 週にかけて摂餌量の明らかな低下が認められたが、これは胃腸炎のためと考えられ、抗生物質投与により 8 週目以降は正常な摂餌量となった。したがって、検体投与による影響ではなかった。

検体摂取量； 投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量は以下のとおりである。

表 1. 検体摂取量 (mg/kg/日)

投与量 (ppm)	100	400	1600
雄	3.04	13.07	49.72
雌	3.29	13.20	54.83

血液学的検査； 全動物を対象に、試験 3 日前、試験 13、26 および 52 週に給餌前に頸静脈から採血し、以下の項目を検査した。さらに、雄は 7 および 8 週時にも採血した。

赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

平均赤血球血色素濃度、血小板数、網状赤血球数、有核赤血球-正赤芽球、総白血球数、白血球百分比(塗抹標本-Wright エオジンメチレンブルー染色)、赤血球形態、トロンボプラスチン時間、部分トロンボプラスチン時間

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を表 2 に示す。

表 2. 血液学的検査

検査項目	検査 時期(週)	雄			雌		
		100	400	1600	100	400	1600
平均赤血球血色素量	13						94↓
網状赤血球数	13	200↑				25↓	
好酸性球+	26		700↑			350↑	
部分トロンボプラスチン時間	13			118↑			116↑

統計学的方法：無印は Dunnett-test；+印は Steel-test    ↑↓； $p \leq 0.05$ 。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

1600 ppm 群の部分トロンボプラスチン時間の延長は、雄で削瘦あるいは下痢等で一般状態の悪化した 2 例が他の 4 例と比べて高い値を示した。うち、1 例は投与開始前より値が高く、試験終了まで延長傾向であったが、残りの 1 例は 26 週以降、正常値へ戻った。これらの 2 例のトロンボプラスチン時間も延長が見られた。雌では、出血を伴うと考えられる胃腸炎の 1 例を含む 3 例が、他の 3 例より高い値を示したが、これら 3 例は 26 週以降、正常値へ戻った。

有意差の認められた項目は、いずれも用量関連性のある変動を示していない、また継続的でなかったことより、検体投与に明らかに起因するとは考えられない。

血液生化学的検査； 血液学的検査と同時に採取した血液試料を用い、その血漿について以下の項目を検査した。

グルコース、尿素、クレアチニン、総ビリルビン、総コレステロール、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (GPT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (GOT)、乳酸デヒドロゲナーゼ、クレアチンキナーゼ、アルカリホスファターゼ (ALP)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ、オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム、塩素、総タンパク、タンパク分画

以下に統計学的有意差の認められた項目を示す。

いずれもの変動も用量関連性または継続性が認められないことより、検体投与による影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

ALP 活性は 1600 ppm 群の雌雄共に投与開始前でも対照群と比較して低値(雄 80%、雌 81%)を示していたが、13 週以降有意な低下あるいは低下傾向を示していた。低値であり、毒性学的な意義はないと考えられた。

表 3. 血液生化学検査

項目	検査 時期(週)	雄			雌		
		100	400	1600	100	400	1600
グルコース	26					92 ↓	
クレアチニン	13						85 ↓
総ビリルビン	13						55 ↓
	26			54 ↓			
	52			62 ↓			
GOT	13		121 ↑				
	26			85 ↓			
GPT	13					81 ↓	
ALP	13			68	76 ↓		69 ↓
	26			75			59 ↓
	52			72			55 ↓
総タンパク	13	108 ↑					
	52	118 ↑	112 ↑				
アルブミン(相対値)	13			93 ↓			
α1-グロブリン(相対値)	13						141 ↑
	52			73 ↓			
γ-グロブリン(相対値)	13			132 ↑			
アルブミン/グロブリン比(相対値)	13			86 ↓			
α1-グロブリン(絶対値)	13						5.6 ↑
β-グロブリン計(絶対値)	52	119 ↑					
γ-グロブリン(絶対値)	13			136 ↑			

統計学的方法 : Dunnett-検定 ↑ ↓ p ≤ 0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

尿検査 : 血液学的検査用血液の採取と同時にカテーテルを用いて全動物より尿を採取し、以下の項目を検査した。

比重、色、外観、pH、タンパク、グルコース、ケトン、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣

表 4. に統計学的有意差の認められた項目を示す。

表 4. 尿検査

項目	検査 時期(週)	雄				雌			
		0	100	400	1600	0	100	400	1600
尿比重	26	1.017	1.024	1.029 ↑	1.022				
	52	1.017	1.016	1.023	1.019	1.020	1.020	1.020	1.013 ↓

統計学的方法 : Dunnett-検定 ↑ ↓ p ≤ 0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

尿比重に統計学的有意差が認められたが、雄 400 ppm 群の増加は用量関連性や継続性がなく、雌の 1600 ppm 群の低下は個々の値の範囲が対照群の値の範囲内であったことより、検体投与によるものとは考えられず、尿検査において毒性学的に意義のある所見は認められなかった。

眼科学的検査； 投与開始 4 日前、試験 13、26 および 52 週時に全動物を対象にして、検眼鏡を用いて検査した。

一般的に認められる自然発生的な所見以外に、検体投与に関連性のある所見は認められなかった。

聴覚検査； 投与開始 4 日前および試験 52 週時に全動物を対象にして、検査した。

検体投与に関連した聴覚機能の異常は認められなかった。

潜血； 投与 14 週目に対照群および 1600 ppm 群の全動物を対象にして、糞中の潜血の有無を検査した。

検査したすべての動物の糞便中に潜血は認められなかった。

臓器重量； 試験終了時の全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比および対脳重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、甲状腺および上皮小体、前立腺、腎臓、副腎、精巣、卵巣

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

表 5. 臓器重量

項目	雄			雌		
	100	400	1600	100	400	1600
最終体重				107	105	101
脳重量					113 ↑	
肝臓対脳重比					79 ↓	

統計学的方法：Dunnett-検定 矢印のないものは有意差なし。

雌の 400ppm 群において、脳重量の増加および肝臓対脳重比の低下に統計学的有意差がみられたが、用量関連性がないので偶発的なもので、検体投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査； 試験終了時の全生存動物を対象にして剖検を行った。

検体投与に関連した肉眼的変化は認められなかった。

病理組織学的検査； 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製し、光学顕微鏡で全例検査した。

副腎、大動脈、(骨 - 大腿骨および骨髄)、骨髄 - 胸骨、脳 - 大脳、小脳、延髄／橋、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節 - 咽頭後方、腸間膜、乳腺領域 - 雌、(卵巣)、睪臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺 - 下顎、耳下腺、舌下、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄 - 頸部、胸郭中部、腰椎、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺および上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮および全ての肉眼的病変

認められた主な所見の発現率を表 6 に示す。

表 6. 主要な病理所見の発現率

所見 \ 用量群 (ppm)	雄				雌			
	0	100	400	1600	0	100	400	1600
乳腺**/ 腺増殖	—	—	—	—	1/6 [3]	1/5 [2]	1/5 [2]	4/4 [2.7]
子宮/ 未成熟 腺増殖	—	—	—	—	0/6 5/6	0/6 5/6	0/6 2/6	1/6 4/6
精巣*/ 巨細胞 精子形成減少	0/12 0/12 (0/6)	0/12 1/12 (1/6)	2/12 0/12 (0/6)	1/12 3/12 (2/6)	—	—	—	—
精細管変性	0/12	0/12	0/12	1/12				

\* : 臓器数単位の発現率。( ) 内は個体単位の発現率。

\*\* : [ ] 内は所見のグレードの平均値

子宮に認められた腺増殖発現率は 0、100、400 および 1600 ppm 群で、それぞれ 5/6、5/6、2/6 および 4/6 であり、検体投与の影響は認められなかった。

乳腺の腺増殖が 1600 ppm 群で 4 例、検査した全ての個体で認められた。腺増殖の背景対照データ(次表)の平均値は 14.2% であるが、その範囲は 0~75% (1983~1992 年) で、高発現率であること、乳腺と同様にホルモン感受器である子宮に影響がないことより、検体がホルモンバランスに影響を与えて腺増殖が起こったとは考えづらく、本所見は自然発生的なものと考えられた。

乳腺/腺増殖	発現率	グレード
1600 ppm 雌	4/4 例	平均 ; 2.7 (範囲 2~4)
背景対照データ	平均 14.2% 範囲 0~75%	—

精巣において、この齢の動物で典型的に見られる自然発生的な変化である軽微な精子形成の減少が投与群に認められた。この精子形成減少の用語は 年 に分類法が改訂され、精細管変性および精子形成の低下を精細管萎縮としている。よって背景データと比較するのは困難であるが、精子形成減少は精細管萎縮または精細管変性の結果である。

精細管萎縮の背景データは平均 5% ( 年 ) で、その範囲は 0~33% であり、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

本試験における発現率 2/6 (33%) がその範囲内であることより、検体投与の影響とは考えにくい。

その他の記録された病変は、この齢および系統のイヌに共通して認められる自然発生的なものであり、検体投与に起因する異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤のイヌを用いた 52 週間混餌投与慢性毒性試験における影響として、1600 ppm 群に消化管出血を伴う下痢、および関連した貧血、プロトロンビンおよび部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。400 ppm 群には投与に関連した変化が認められなかったことより、本試験条件下において、無毒性量は 400 ppm (雄 ; 13.07 mg/kg 日、雌 13.20 mg/kg/日) であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-9-2 ラットにおける慢性毒性試験（評価対象から除外するデータ）

（資料 35）

試験機関：

報告書作成年：

評価対象からの除外理由：本試験において、死亡例の病理検査が実施されていないが、腫瘍発生については供試全例を検査した表がある。しかし、個体別表がないので、評価に耐えない。したがって、再試験を実施されているので、この結果（資料 36）を基に評価をお願いしたい。再試験成績の抄録はこの抄録の後に添付している。

検体の純度：ベンタゾン

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各50匹、開始時平均体重：雄70.5～73.3g、雌61.6～62.3g

試験期間：24ヶ月間（ ）

投与方法：検体を粉碎した飼料に100、350、1600 ppmの濃度で混合し、固形飼料として18ヶ月間摂食させた。混餌は毎月調製した。

試験項目および試験結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

全群の雌雄共に一般状態に特記すべき異常は認められなかった。

試験終了時（24ヶ月時）の累積死亡率（%）は次表のとおりで、検体投与による影響は認められなかった。

性	投与群 (ppm)			
	0	100	350	1600
雄	71.1	73.3	60.0	66.7
雌	64.4	55.6	73.3	53.3

体重変化：試験8週までは毎週、その後は毎月測定した。

次表のように、投与18および24ヶ月時で1600 ppm群の雄に増加抑制がみられ、雌では投与24ヶ月時に増加抑制が認められた。

累積体重増加	雄				雌			
	0	100	350	1600	0	100	350	1600
試験18ヶ月				90↓			90↓	96
試験24ヶ月				88↓				90↓

統計学的手法：Duncan 多重範囲検定：↑↓； $p \leq 0.01$  矢印のない数値は有意差なし。

摂餌量：試験8週までは毎週、その後は2週ごとに測定した。

次表のように、1600 ppm群の雌雄に投与18および24ヶ月時に減少がみられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

摂餌量	雄				雌			
	0	100	350	1600	0	100	350	1600
試験 18 ヶ月				95				95↓
試験 24 ヶ月				88↓				89↓

統計学的手法：Duncan 多重範囲検定：↑↓：p≤0.01 矢印のない数値は有意差なし。

検体摂取量：平均摂餌量、平均体重および投与濃度から申請者が算出した。

1日当たりの平均検体摂取量 (mg/kg/日) は次のとおりであった。

投与群 (ppm)		100	350	1600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.6	14.9	69.0
	雌	5.3	18.4	82.6

血液学的検査：投与 3、6、9 および 12 ヶ月時に全群の雌雄各 5 匹、18 および 24 ヶ月時に雌雄各 10 匹を対象として、一晚絶食後に眼窩洞より採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数および白血球分画、血小板凝集\*、網状赤血球\*

\* 12 ヶ月以降検査

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	投与後経過期間	雄			雌		
		100	350	1600	100	350	1600
ヘモグロビン濃度	3 ヶ月					108↑	109↑
	18 ヶ月	108↑	110↑	108↑			
ヘマトクリット値	18 ヶ月		109↑	110↑			
赤血球数	6 ヶ月						86↓
	18 ヶ月	129↑	113↑	114↑		96↓	94↓
白血球数	18 ヶ月				75↓	67↓	70↓
リンパ球%	3 ヶ月				117↑	118↑	117↑
	18 ヶ月		91↓	73↓		81↓	75↓
好中球%	18 ヶ月		143↑	176↑		243↑	280↑
	24 ヶ月	54↓					

統計学的手法：Wilcoxon または Duncan 多重範囲検定：↑↓：p≤0.05 ↑↓：p≤0.01

全投与群の雌雄共、表のような変動が認められたが、何れの検査項目についても用量関連性も、一貫した有意差も認めなかったため、検体投与による影響とは考えられなかった。

血清生化学的検査：血液学的検査用採血と同時に採血した血液を用いて、以下の項目について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

グルコース、尿素窒素、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総蛋白\*、総コレステロール\*

\* 12ヶ月以降検査

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

全投与群雌雄共、何れの検査項目についても一貫した有意差を認めなかったため、検体投与による影響とは考えられなかった。

検査項目	投与後 経過期間	雄			雌		
		100	350	1600	100	350	1600
グルコース	3ヶ月		131↑	134↑			
	12ヶ月			68↓			
	18ヶ月		95↓	82↓			
	24ヶ月		119↑	120↑			
尿素窒素	3ヶ月		86	80		81↓	81↓
	12ヶ月				81		82↓
アルカリホスファターゼ*	3ヶ月						85↓
	12ヶ月				65↓	79↓	64↓
	18ヶ月	134↑	139↑	132↑			
アラニンアミノトランスフェラーゼ*	6ヶ月	205↑	192↑	177↑	157↑	161↑	
	12ヶ月			122↑			
	18ヶ月			123↑			
	24ヶ月					70↓	74↓
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ*	3ヶ月			122↑			131↑
	6ヶ月				144↑	146↑	

統計学的手法：Wilcoxon または Duncan 多重範囲検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$

尿検査：血液学的検査と同時期に一夜尿を採取して以下の項目について検査した。

色調、尿量、比重、pH、アルブミン、ビリルビン、グルコース、潜血

全群雌雄共に異常はなかった。

眼科学的検査：投与開始前、6、9、12、18 および 24 ヶ月時に全生存例を対象として、眼附属器、結膜、角膜、前眼房、虹彩、硝子体、網膜、視神経を観察した。

投与 12 ヶ月時以前においては、全群の雌雄共に異常はなかった。

1600 ppm 群雄で白内障(3例)および角膜混濁(2例)が認められたが、これらは加齢による自然発生性病変で、検体投与に伴うものとは考えられなかった。

臓器重量：試験 24 ヶ月時の全生存例を対象として剖検後、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、脳

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

1600 ppm 群の雌雄で肝臓および腎臓、ならびに雌で脳および心臓の重量および対体重比の増加が認められた。、その他の対体重比の増加は体重が抑制されたことによる影響と考えられた。

項目		雄			雌		
		100	350	1600	100	350	1600
腎臓	重量			127↑			110↑
	対体重比			143↑			121↑
脳	重量						108↑
	対体重比			110↑			119↑
心臓	重量						112↑
	対体重比			120↑			123↑
肝臓	重量			144↑			130↑
	対体重比			157↑			143↑
脾臓	重量						
	対体重比			128↑			123↑

統計学的手法：Duncan 多重範囲または Wilcoxon 順位和検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$   
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

肉眼的病理検査；試験 12 ヶ月時に全群から雌雄各 5 匹、また試験終了時（24 ヶ月時）に対照群および 1600 ppm 群の全生存例（対照群雄 13 匹、雌 16 匹；1600 ppm 群雄 15 匹、雌 21 匹）、100 および 350 ppm 群の生存例のうち雌雄各 10 匹を対象として、剖検し、肉眼的病理検査を実施した。

試験 12 ヶ月時の中間屠殺で、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

主たる病変は対照群を含めて散見される肺の充血、腎の色調変化で、ベンタゾン投与に伴うものとは考えられなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した試験 12 ヶ月後に屠殺剖検した 5 例の動物のうち、対照群および 1600 ppm 群は雌雄全例を、100 および 350 ppm 群は雌雄各 2 例を対象にして、また、試験終了時に屠殺した動物のうち、100 および 350 ppm 群は雌雄各 10 例を、対照群および 1600 ppm 群は雌雄生存全例（対照群雄 13 匹、雌 16 匹；1600 ppm 群雄 15 匹、雌 21 匹）を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製し、検鏡した。

心臓、肝臓、腎臓、副腎、甲状腺、脾臓、膵臓、リンパ節、胸腺、唾液腺、精巣／卵巣、消化管、膀胱、肺、脳、骨髄、眼、下垂体、筋肉、皮膚、腫瘍の可能性のある組織

非腫瘍性病変

主な病変は肝細胞空胞化、腎臓のリンパ細胞浸潤および慢性腎炎、膀胱の粘液栓、肺炎、慢性気管支炎であったが、頻度は各群間で同程度であり用量相関性はなく、検体投与に起因する所見は認められなかった。

腫瘍性病変

認められた腫瘍性病変を次表にまとめた。

主たる腫瘍は下垂体、腎臓、副腎、甲状腺、乳腺の腺腫、肝細胞腫瘍、精巣間質細胞腫瘍、子宮腫瘍ならびに皮膚および皮下における腫瘍であったが腫瘍発生頻度は全群雌雄とも同程度であり、用量関連性はなく、検体投与に伴うものとは考えられない。

項目		雄				雌			
		0	100	350	1600	0	100	350	1600
検査動物数*		50	50	50	50	50	50	50	50
膵臓	島細胞腺腫	1			3	2			2
下垂体	色素嫌性腺腫	3	1		2	2	5	7	7
	腺腫					1			
甲状腺	明細胞腺腫	1			2				
	濾胞腺腫	1		1		1		1	
副腎	髓質腺腫			1					
	皮質癌 M					1			1
腎臓	腺腫	1		1					
	皮質尿細管腺腫					1		1	
肝臓	細網肉腫 M					1		1	
	肝癌 M								1
精巣	間細胞腺腫			1					
子宮	腫瘍					1			1
乳腺、皮膚、皮下腫瘍		1	2	1		7	7	4	8
腫瘍総数		8	3	5	7	17	12	14	20
胆腫瘍動物数		7	3	3	7	15	11	14	16

M: 悪性腫瘍、その他は良性腫瘍

\*: 12ヶ月中間屠殺の各5例(腫瘍発生なし)を含む。

以上の結果から、検体のラットに対する24ヵ月間飼料混入投与による慢性毒性/発がん性試験における結論として、1600 ppm 群雌雄における体重増加抑制、摂餌量減少および雌雄における肝臓および腎臓重量、雌の心臓重量に増加が認められたことから、無毒性量は 350 ppm (雄: 14.9 mg/kg/日、雌: 18.4 mg/kg/日) であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-9-3 ラットにおける 24 ヶ月間慢性毒性/発がん性試験

(資料 36)

試験機関：

報告書作成年：

眼に関する追加報告書( )：

検体の純度：ベンタゾン原体

試験動物：Fischer 344 系ラット、1 群雌雄各 70 匹(主群：雌雄各 50 匹、衛星群：26 および 52 週後屠殺用に雌雄各 10 匹)、開始時 5 週齢、開始時体重：雄 77~108g、雌 70~89g

試験期間：24 ヶ月間 ( )

投与方法：検体を粉碎した飼料に 200、800、4000 ppm の濃度(純度で補正した)で直接混合し、24 ヶ月間摂食させた。なお、衛星群は雌雄各 10 匹ずつ試験 26 および 52 週後に中間屠殺した。検体を混入した飼料は 4 週毎に 1 回調製した。

用量設定根拠：

試験項目および試験結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。触診を週 1 回行なった。

全試験を通じて、一般状態に、検体投与に伴う異常所見は認められなかった。

死亡率；衛星群における死亡は認められなかった。主群における試験終了時(24 ヶ月時)の累積死亡率(%)は次表のとおりであり、投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

主群の死亡率%

群(ppm)	0	200	800	4000
雄	40	44	18	30
雌	38	42	30	46

死亡例における主要病変は、雄では下垂体腫瘍、脾臓および肝臓の腫大、皮下腫瘍、削瘦、化膿性肺炎であった。雌では削瘦および化膿性肺炎が最も多く、ついで、下垂体腫瘍、脾臓および肝臓の腫大、非定型的単核性白血病等が認められた。

体重変化；試験 1 日およびその後、毎週 1 回測定した。

試験開始 26、53 および 104 週時の体重の対照群に対する比率%を次表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

4000 ppm 群雌雄の 5~6 週以降の多くの週で、また 800 ppm 群雄の 19~36 週に、体重増加の抑制が認められた。

試験開始後 (週)	雄			雌		
	200	800	4,000	200	800	4,000
26 週	100	98↓	94↓	99	100	95↓
53 週		99	92↓		99	90↓
104 週		102	96		104	94

統計学的手法：Student t-検定：↓； $p \leq 0.05$  ↓； $p \leq 0.001$

矢印のない数値は有意差なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

摂餌量および食餌効率：試験 27 週までは発がん性試験群の雌雄各 10 匹、28 週以降は雌雄各 20 匹を対象にして、毎週 1 回測定し、食餌効率を算出した。

800 および 4000 ppm 群の雄の摂餌量は減少傾向を示したが、雌では対照群に近似していた。各投与群雌雄における総平均食餌効率には対照群との間に有意差は認められなかった。

検体摂取量：各試験群の試験の摂餌量、体重および投与濃度から算出した 1 日当たりの平均検体摂取量 (mg/kg/日) は次のとおりであった。

試験開始後(週)	雄			雌		
	200	800	4000	200	800	4000
26 週中間屠殺群	12	47	233	14	55	274
53 週中間屠殺群	9	39	197	12	48	249
主群(104 週)	9	35	180	11	45	244

飲水量：摂餌量と同様に、毎週 1 回測定した。

4000 ppm 群雄 (6 週以降) および雌 (17 週以降)、また 800 ppm 群の雄 (29 週以降) および雌 (29~90 週) に多くの週で飲水量の増加が認められた。

血液学的検査：投与 6 および 12 ヶ月時の中間屠殺例雌雄各 9~10 匹と 24 ヶ月時の雌雄各 17 匹を対象として、腹大動脈より採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、白血球分画、プロトロンビン時間および部分トロンボプラスチン時間

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

血小板数の減少が 26 週時の 800 ppm 群の雄および 4000 ppm 群の雌雄に認められた。血液凝固系の検査で、部分トロンボプラスチン時間の延長が 4000 ppm 群の雄で全検査時点で認められ、さらにプロトロンビン時間の延長も 26 および 52 週時の検査で

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

認められた。同群の雌では 52 週時に部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。これらの延長は出血性素因を示し、検体投与の影響と判断された。104 週時に認められた 800 ppm 群のプロトロンビン時間の延長および部分トロンボプラスチン時間の短縮には用量関連性もなく、検体投与の影響とは考えられなかった。

その他の赤血球関連項目に増加あるいは減少がみられたものの、用量関連性も、また一貫した変動もなく、これらは生理的変動の範囲内にあるものと判断された。

検査 時期	項目	雄			雌		
		200	800	4,000	200	800	4,000
26 週	ヘモグロビン濃度		103↑	103↑	103↑	103↑	
	平均赤血球容積		103↑		105↑		
	平均赤血球血色素量	107↑	107↑	106↑	106↑	106↑	
	平均赤血球血色素濃度		101↑	102↑	102↑	102↑	102↑
	白血球数	119↑	119↑				
	リンパ球%				95↓		
	単球%			300↑			
	血小板数		93↓	88↓			88↓
	プロトロンビン時間			118↑			
	部分トロンボプラスチン時間			121↑			
52 週	ヘモグロビン濃度			103↑			126↑
	ヘマトクリット値			102↑			
	平均赤血球血色素濃度				102↑		102↑
	桿状核球%		300↑	400↑			
	分葉核球%				127↑		
	リンパ球%				93↓		
	単球%	400↑		500↑			
	好塩基球%			400↑			
	プロトロンビン時間			123↑			
	部分トロンボプラスチン時間		113↑	126↑		104↑	108↑
104 週	平均赤血球血色素量		85↑				
	平均赤血球血色素濃度				97↓	97↓	98↓
	桿状核球%	33↓			217↑		
	分葉核球%					63↓	67↓
	リンパ球%	130↑		125↑	133↑	129↑	
	血小板数			122↑			
	プロトロンビン時間					104↑	
	部分トロンボプラスチン時間			118↑		92↓	

統計学的手法：Student t-検定：↑↓：p≤0.05 ↑↓：p≤0.01 \*\*：p≤0.001

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

血清生化学的検査；血液学的検査用採血と同時に採血した血液を用いて、以下の項目について検査した。なお、24 ヶ月時は雌雄各 10 匹を対象として採血し、以下の項目について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

グルコース、総蛋白、アルブミン/グロブリン比、総コレステロール、ビリルビン、クレアチニン、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酵素、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査 時期	項目	雄			雌		
		200	800	4000	200	800	4000
26 週	グルコース	93↓	90↓	92			94
	アルブミン/グロブリン比			106↑			
	総コレステロール			91↓			
	尿素窒素	112*	116*	117*		105	120↑
	乳酸脱水素酵素		63↓				
	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ						75↓
	ナトリウム		99↓				
52 週	グルコース			93↓			98
	アルブミン/グロブリン比	90↓					109↑
	ビリルビン						55↓
	クレアチニン						108↑
	尿素窒素					114↑	112↑
	アラニンアミノトランスフェラーゼ			87↓			
	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ					82↓	
	ナトリウム			99↓			
104 週	グルコース	82↓		83↓	80↓		81↓
	アルブミン					109↑	
	総コレステロール			75↓			
	ビリルビン						60↓
	乳酸脱水素酵素					46↓	46↓
	カリウム				110↑		

統計学的手法：Student t-検定：1↓；p≤0.05    2↓；p≤0.01    \*；p≤0.001

矢印のない数値は有意差なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

26 週時では 4000 ppm 群の雄にアルブミン/グロブリン比の増加、総コレステロールの減少、グルコースの減少傾向、800 ppm 以上の投与群雌雄に尿素窒素の増加が認められた。なお 200 ppm 群雄にみられた尿素窒素の増加は一過性のものに過ぎないと判断された。

52 週時では 4000 ppm 群の雄でグルコースの減少が認められ、雌ではアルブミン/グロブリン比、クレアチニンの増加が、800 ppm 以上の投与群雌に尿素窒素の増加が認められた。

104 週時の 4000 ppm 群の雌雄にグルコースの減少および雄に総コレステロールの減少が認められた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

その他の変動は用量関連性がない、あるいは試験を通して一貫性もなく、生理的変動の範囲内で、検体投与に起因する変動ではないと考えられた。

尿検査; 投与 6 および 12 ヶ月時の生存風乾屠殺例および 24 ヶ月時の雌雄 10 匹を対象として、屠殺前 1 週以内に新鮮尿および 24 時間尿を採取して以下の項目について検査した。

色調、尿量、比重、pH、蛋白、ケトン体、ビリルビン、グルコース、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査時期(週)	検査項目	雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
26 週	尿量 <sup>a</sup>			111↑	211*			129↑	229*
	比重 <sup>b</sup>	1.072	1.062	1.047↓	1.033↓	1.062	1.047↓	1.037↓	1.032↓
	蛋白 <sup>c</sup>	2.8	2.1	1.3	0.75	1.6	0.65	0.65	5.5
52 週	尿量 <sup>a</sup>				192*				250*
	比重 <sup>b</sup>	1.059	1.045↓	1.036*	1.032↓	1.051	1.041	1.046	1.028↓
	蛋白 <sup>c</sup>	3.4	3.2	2.9	0.7	1.4	1.1	0.9	0.6
104 週	尿量 <sup>a</sup>			182*			76↓		53↓
	比重 <sup>b</sup>	1.039	1.048	1.038	1.026↓	1.047	1.040	1.031↓	1.027↓
	蛋白 <sup>c</sup>	3.7	3.2	3.4	3.2	3.1	3.25	2.55	2.8

統計学的手法: Student t-検定: ↓; p ≤ 0.05 ↑; p ≤ 0.01 \*; p ≤ 0.001

<sup>a</sup>: 尿量は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

<sup>b</sup>: 比重は実数を示した。

<sup>c</sup>: 蛋白は tr、+、++、+++ および++++ をそれぞれ 0.5、1、2、3 および 4 として評点し、平均値を示した。

4000 ppm 群では雌雄とも全試験を通して比重の低下、26 および 52 週時で尿量の増加および尿蛋白の減少、雌で 104 週時に尿量の減少が認められた。800 ppm 群では尿比重の低下が、26 週では雌雄、52 週時では雄、104 週時では雌に認められた。また、尿量の増加が 26 週時では雌雄に、104 週時に雄で認められた。これらの変化は飲水量の増加に伴う尿量の増加に起因しているものと考えられる。

200 ppm 群雌雄に一過性のわずかな比重の低下が認められたが、尿量の増加を伴わず、検体投与と関連するものとは判断できない。

眼科学的検査; 投与 6 および 12 ヶ月時の中間屠殺例と 24 ヶ月時の全生存例を対象として眼科学的検査を実施した。角膜、前眼房および水晶体の変化は毎日観察した。

衛星群では、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

投与 24 ヶ月時に 4000 ppm 群雄において、白内障の有意な増加が認められたが、ほとんどは一側性であった。対照群を含めた白内障の出現率には、用量との間に明らか

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

な反応性が見られなかった。従って、この一側性の白内障出現が、検体投与に起因するとは考えられなかった。次表に発生例数を示す。

所見	雄				雌			
	0	200	800	4000	0	200	800	4000
白内障	7/30	1/28	4/41	18/35↑	1/31	2/29	2/35	5/28

統計学的手法：Student t-検定：↑； $p \leq 0.05$

臓器重量：投与6および12ヶ月時の中間屠殺例、24ヶ月時の全生存例を対象として剖検後、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を雌雄別に次表に示す。

肝、脾、腎、心、肺、副腎、胸腺(24ヶ月時は測定せず)、甲状腺、下垂体、精巣／卵巣および脳

雄

項目		6ヶ月中間屠殺群			12ヶ月中間屠殺群			24ヶ月中間屠殺群		
		200	800	4000	200	800	4000	200	800	4000
最終体重				95			93↓			94
肝臓	重量			93↓			93↓		91↓	85↓
	対体重比						104↑		89↓	90↓
脾臓	重量			91↓	107↑		91↓			59↓
	対体重比			96↓						60↓
腎臓	左	重量		108↑			104↑		93↓	
		対体重比			114↑			113↑		91↓
	右	重量		107↑					92↓	
		対体重比			113↑			112↑		90↓
	計	重量		108↑					93↓	
		対体重比			113↑			113↑		90↓
心臓	重量		94↓	94↓			92↓		93↓	
肺	重量						94			
甲状腺	重量		83↓	78↓		75↓	74↓			
	対体重比		84↓	83↓		75↓	80↓			
下垂体	重量	90↓	84↓	88↓	116↑					
	対体重比	93↓	85↓	93↓	112↑					
精巣	左	重量		106↑						
		対体重比								
	右	重量							116↑	
		対体重比							122↑	
計	対体重比							115↑		
脳	重量								99↓	
	対体重比						107↑			

統計学的手法：Student t-検定：↓↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  ↑↑； $p \leq 0.001$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものである。

雌

項目		6ヶ月中間屠殺群			12ヶ月中間屠殺群			24ヶ月中間屠殺群		
		200	800	4000	200	800	4000	200	800	4000
最終体重				94↓		97	97			92↓
肝臓	重量			93↓						
腎臓	左	重量					113↑			
		対体重比			115*			116*		113*
	右	重量			111↑		94↓	108↑		
		対体重比		105↑	119*			111↑		115↑
	計	重量			109↑			110↑		
		対体重比			117*			113↑		114↑
肺	対体重比			107↑						
胸腺	重量			76↓						
	対体重比			80↓						
甲状腺	重量						96↓			
副腎	左	重量						112↑	113↑	116↑
		対体重比								126↑
卵巣	右	重量						120↑		
	計	重量						117↑	113↑	
脳	重量				98↓	96*	98↓			
	対体重比			107*						

統計学的手法：Student t-検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  ↑↑； $p \leq 0.001$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものである。

6ヶ月中間屠殺群では4000 ppm群雌雄の腎臓重量および対体重比が増加、雄では脾臓および甲状腺、ならびに雌では胸腺の重量および対体重比が減少した。800ppm群では雄の甲状腺の重量および対体重比が減少した。雄の下垂体は投与群で減少が見られたが、用量関連性も明確でなく、若齢ラットでは、しばしば僅かな重量の差異によって有意差が見られることから、この減少は検体投与の影響とするより偶発的な結果であると考えられる。その他の変化は重量のみあるいは対体重比のみであり、偶発的な変動と考えられた。

12ヶ月中間屠殺群では4000 ppm群雌雄の腎臓重量および対体重比が増加、雄では甲状腺の重量および対体重比が800および4000 ppm群で減少した。その他の変化は重量のみあるいは対体重比のみであり、偶発的な変動と考えられた。

24ヶ月最終屠殺では、800 ppm以上の投与群雄に肝臓の重量および対体重比の減少、4000 ppm群雄に脾臓の重量および対体重比の減少が認められ、雌では腎臓の対体重比の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

増加が認められた。投与群雌で左副腎の重量の増加、4000 ppm 群雌に体重比の増加が認められたが、副腎重量の左右合計で有意差がないことから、検体投与の影響ではないと考えられる。その他の変化は重量または対体重比のみであり、あるいは、用量関連性もないので、偶発的な変動と考えられた。

肉眼的病理検査：投与 6 および 12 ヶ月時の中間屠殺例、24 ヶ月時の全生存例および途中死亡例を対象として、肉眼的病理検査を実施した。

衛星群(6 および 12 ヶ月中間屠殺)：検体の投与に起因する異常所見は認められなかった。

主群(24 ヶ月最終屠殺)：主群で有意差の認められた所見を次表に示す。

投与 24 ヶ月最終屠殺時の 4000 ppm 群雄で眼球混濁および視神経萎縮が認められた。

その他には検体の投与に起因する異常所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

所見			雄				雌			
			0	200	800	4000	0	200	800	4000
死亡/ 切迫殺	眼瞼	汚染まつげ					4	7	1	
	胸腺	萎縮	11	9	5	10	11	17	10	13
	肝臓	過剰小葉	3			1	4	0↓	1	2
		褐色	5	6	4	2	5	5	1	5
	腎臓	緑褐色	8	8	5	4	12	5↓	2↓	4↓
		顆粒状	15	10	7	9	6	4	3	1↓
	脳	圧迫	1	4	2	1	5	5	1	0↓
	下垂体	赤色	1	5	2	2	7	6	3	0↓
腫脹		1	5	1	1	6	5	1	0↓	
最終 屠殺	眼球	片側性混濁	2	1		13↑				
		両側性混濁				1				
	眼瞼	汚染まつげ					1	7↑	2	
	胸腺	萎縮	22	12↓	25	24	27	10↓	13↓	20
	肝臓	過剰小葉	4	2	1	1	2	3	4	1
		褐色	4	5	1	6	1		2	6↑
	腎臓	緑褐色	14	18	24	16	5	8	5	7
		顆粒状	24	23	35	29	8	13	6	10
	脳	片側性視神経萎縮		1		8↑		1	2	1
		両側性視神経萎縮				1				
		圧迫	2		4	4	1	4	2	5
	下垂体	赤色	6	3	6	5	7	10	11	7
		腫脹	4	2	4	5	4	10↑	7	4
全動物	眼球	片側性混濁	2	1		13				
		両側性混濁				1				
	眼瞼	汚染まつげ					5	14	3	
	胸腺	萎縮	33	21	30	34	38	27	23	33
	肝臓	過剰小葉	7	2	1	2	6	3	5	3
		褐色	9	11	5	8	6	5	3	11
	腎臓	緑褐色	22	26	29	20	17	13	7	11
		顆粒状	39	33	42	38	14	17	9	11
	脳	片側性視神経萎縮		1		8		1	2	1
		両側性視神経萎縮				1				
		圧迫	3	4	6	5	6	9	3	5
	下垂体	赤色	7	8	8	7	14	16	12	7
		腫脹	5	7	5	6	10	15	8	4

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  \*\*； $p \leq 0.001$   
空欄は発生なし。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製した。検鏡は全群について行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

肝、脾、腎、心、肺、副腎、胸腺、腸間膜リンパ節、骨髄、脳、下垂体、甲状腺、精巢／卵巣、精嚢、精巢上体、前立腺／子宮、子宮頸部、膀胱、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、脾、脊髄、気管、横隔膜、大腿骨、骨格筋、坐骨神経、皮膚、眼球、胸大動脈、肉眼的異常病変

6ヶ月中間屠殺：検体の投与に起因する非腫瘍性および腫瘍性の異常所見は認められなかった。

12ヶ月中間屠殺：対照群に比し有意差の認められた病変を次表にまとめた。

所見		雄				雌				
		0	200	800	4000	0	200	800	4000	
非腫瘍	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
	腎臓	蛋白円柱	6	7	10↑	7	3	3	3	4
		慢性腎症	4	3	1	0↓				
	肺	肺動脈中膜石灰化	2	7↑	4	4		2	2	3
腫瘍	膀胱	移行性上皮乳頭腫			1					
	精巢	ライディヒ細胞腺腫				2				
	胸腔	間葉腫瘍						1		

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  \*\*； $p \leq 0.001$   
空欄は発生なし。

検体の投与に起因する非腫瘍性および腫瘍性の異常所見は認められなかった。

主群(24ヶ月最終屠殺)：

非腫瘍性病変：主群で有意差の認められた所見を次表に示す。

4000 ppm 群において、雄では死亡例で肺動脈中膜石灰化、最終屠殺例で網膜変性、角膜炎および白内障の発生率の増加が認められ、全動物では肺動脈中膜石灰化、眼球の病変が多く認められた。また雌では死亡例で胆管過形成、肺の限局性線維症および化膿性肺炎、下垂体嚢胞形成が認められ、全動物では肺の限局性線維症および化膿性肺炎、下垂体嚢胞形成が多く認められた。雄ラットの網膜変性は使用した系統の加齢性の変化としても知られており、白内障に付随した変化と考えられた。化膿性肺炎は病巣に植物繊維が多く認められるので、粉末飼料の吸入によるものと考えられた。

肝臓、腎臓、心臓、肺、副腎、胃、脳、下垂体および子宮等の病変は主として加齢性の変化であり、検体投与の影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

腫瘍性病変：認められたすべての腫瘍性病変を次頁以降の表にまとめた。

腫瘍は精巣、副腎、甲状腺、皮膚および乳腺、下垂体、子宮に多く認められた。その他に、非定型的単核性白血病を認めた。これらの発現に検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、検体のラットに対する 24 ヶ月間飼料混入投与による慢性毒性/発がん性試験における結論として、800ppm 群雄及び 4000 ppm 群雌雄における体重増加の抑制、摂餌量の減少、800 ppm 以上の投与群雄における飲水量の増加およびそれに伴う尿比重の低下、蛋白の減少、プロトロンビン時間および部分トロンボプラスチン時間の延長、尿素窒素の増加、腎臓重量の増加が認められた。さらに、雄では摂餌量の減少傾向、甲状腺重量の減少が認められた。

800 ppm 群においても、雌雄で飲水量の増加およびそれに伴う尿比重の低下、蛋白の減少、部分トロンボプラスチン時間の延長、さらに雄で甲状腺重量の減少が認められた。

これらの結果から、無毒性量は 200 ppm (雄：9 mg/kg/日、雌：11 mg/kg/日) であると判断する。試験した最高用量の 4000ppm で催腫瘍性は認められなかった。

途中死亡/切迫殺動物の非腫瘍性病変

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
検査動物数		20	22	9	16	19	21	15	23
肝臓	鬱血	8	2↓	2	4	5	5	6	11
	肝細胞好塩基性変化	3		1	1	2	1	1	
	肝細胞壊死	1	1	1		4	0↓		0↓
	肝細胞索瀰漫性萎縮	1	5	1	5↑	3		2	1
	クッパ <sup>+</sup> 細胞黄色色素沈着			3↑	1		3		2
	胆管過形成	18	16	9	9		4	4↑	5↑
	組織リ <sup>+</sup> ハ <sup>+</sup> 球集簇	3	1	1		1	4	2	1
脾臓	鬱血	3	5	1	5	3	5	3	1
	線維症		2	1	1		1	1	1
腎臓	慢性腎症+	5	11	4	0↓	3		3	1
	慢性腎症++	6	0↓	2	4	1	3		
	慢性腎症+++	3	6	1	1	2	1		
	慢性腎症++++	1	1	2	1				
心臓	組織リ <sup>+</sup> ハ <sup>+</sup> 球集簇				1				1
肺	肺動脈中膜石灰化	3	5	4	13*	3	4	2	7
	限局性線維症	1	2	2	3	2	7	5	9↑
	化膿性肺炎	1	3	2	1	6	1↓	8	12
脳	出血	7	7	0↓	5	3	1	2	1
	白質空胞化	2	3	3	3	11	10	6	9
副腎	鬱血	7	1↓	0↓	7	7	8	7	13
	出血	1		1	1	3	1	8↑	10
	髓質好塩基性変化	8	8	6	3	8	2↓	2	2↓
下垂体	出血	3	7	2	3	7	7	5	2↓
	嚢胞形成		2		2		9	8	18↑
腸間膜リ <sup>+</sup> ハ <sup>+</sup> 節	洞カタル	4	0↓		1	1	1		3
眼球	強膜限局性変性				2	1		1	
	強膜石灰化	8	7	6	6	4	7	5	2
	網膜萎縮		2	1	1	2		1	
	限局性網膜萎縮	2					1		
	網膜変性		2	1	1				
	角膜炎		1						
子宮	子宮内膜嚢胞性過形成						5↑	3	3
腹部脂肪	限局性壊死		1	3↑	3	1			1

統計学的手法：Fisher 直接確率検定： ↓：p≤0.05 ↑↓：p≤0.01 \*\*：p≤0.001  
 空欄は発生なし。



最終屠殺動物の非腫瘍性病変

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
検査動物数		30	28	41	34	31	29	35	27
肝臓	肝細胞好塩基性変化	11	20 <sup>↑</sup>	19	15	5	7	14 <sup>↑</sup>	8
	肝細胞壊死	1	1	1					
	肝細胞索瀰漫性萎縮	2	2	3			3		
	クッパ <sup>+</sup> 細胞黄色色素沈着	1			2	2			
	胆管過形成	30	28	41	29 <sup>↓</sup>	9	12	22 <sup>↑</sup>	11
	組織リッパ <sup>+</sup> 球集簇	18	14	18	6 <sup>+</sup>	23	14	21	16
脾臓	鬱血	13	6	5 <sup>↓</sup>	4 <sup>↓</sup>		4 <sup>↑</sup>	3	2
	線維症	1	8 <sup>↑</sup>	4	1			2	1
腎臓	慢性腎症+	1	6 <sup>↑</sup>	3	5	11	10	18	16
	慢性腎症++	9	9	27 <sup>↑</sup>	12	6	6	3	1
	慢性腎症+++	15	10	10 <sup>↓</sup>	16	1	2	1	1
	慢性腎症++++	5	3	1 <sup>↓</sup>	0 <sup>↓</sup>				
心臓	組織リッパ <sup>+</sup> 球集簇	5	0 <sup>↓</sup>	1 <sup>↓</sup>	2	2	3	6	3
肺	肺動脈中膜石灰化	14	12	17	15	6	3	6	7
	限局性線維症	3	3	6	5	2		1	2
	化膿性肺炎		1						
脳	出血	1	1	2	1				1
	白質空胞化	7	9	11	9	20	8 <sup>↓</sup>	21	12
副腎	鬱血	3	1	2	10	6	3	4	1
	出血	3	2	1		4	1	2	3
	髄質好塩基性変化	22	23	30	24	14	13	12	17
下垂体	出血	5	5	7	12	10	15	14	11
	嚢胞形成	2	3	4	4	7	7	8	10
腸間膜リッパ <sup>+</sup> 節	洞カタル	3		2		1	4	1	1
眼球	強膜限局性変性	4	5	14 <sup>↑</sup>	3	3	4	5	
	強膜石灰化	7	6	3	2 <sup>↓</sup>			1	
	網膜萎縮	10	2 <sup>↓</sup>	4 <sup>↓</sup>	7	3	2	1	1
	限局性網膜萎縮	6	5	4	0 <sup>↓</sup>	5	12 <sup>↑</sup>	14 <sup>↑</sup>	9
	網膜変性	6	7	4	19 <sup>↑</sup>	3	2	4	5
	角膜炎				8 <sup>↑</sup>				
	白内障	1	1		14 <sup>+</sup>		1	2	1
子宮	子宮内膜嚢胞性過形成					6	10	10	5
腹部脂肪	限局性壊死	5	5	3	5	1	2		2

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：↑↓；p≤0.05    ↑↓；p≤0.01    +；p≤0.001

空欄は発生なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

全動物(途中死亡/切迫殺+最終屠殺)の非腫瘍性病変

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肝臓	鬱血	8	2	2	4	5	5	6	11
	肝細胞好塩基性変化	14	20	20	16	7	8	15	8
	肝細胞壊死	2	2	2		4			
	肝細胞索瀰漫性萎縮	3	7	4	5	3		5	1
	クッパ <sup>o</sup> -細胞黄色色素沈着	1		3	3	2	3		2
	胆管過形成	48	44	50	38	9	16	26	16
	組織リンパ <sup>o</sup> 球集簇	21	15	19	6	24	18	23	17
脾臓	鬱血	16	11	6	9	3	5	6	3
	線維症	1	10	5	2		1	3	2
腎臓	慢性腎症+	6	17	7	5	14	10	21	17
	慢性腎症++	15	9	29	16	7	9	3	1
	慢性腎症+++	18	16	11	17	3	3	1	1
	慢性腎症++++	6	4	3	1				
心臓	組織リンパ <sup>o</sup> 球集簇	5	0a	1a	3	2	3	6	4
肺	肺動脈中膜石灰化	17	17	21	28	9	7	8	14
	限局性線維症	4	5	8	8	4	7	6	11
	化膿性肺炎	2	7	4	2	6	1	8	12
脳	出血	8	8	2	6	3	1	2	1
	白質空胞化	9	12	14	12	31	18	27	21
副腎	鬱血	10	2	2	17	13	11	11	14
	出血	4	2	2	1	7	2	10	13
	髓質好塩基性変化	30	31	36	27	22	15	14	19
下垂体	出血	8	12	9	15	17	22	19	13
	嚢胞形成	2	5	4	6	7	16	16	28
腸間膜リンパ <sup>o</sup> 節	洞カタル	7		2	1	2	5	1	4
眼球	強膜限局性変性	4	5	14a	5	4	4	6	
	強膜石灰化	15	13	9	8	4	7	5	2
	網膜萎縮	10	4	5	8	5	2	2	1
	限局性網膜萎縮	8	5	4		5	13	14	9
	網膜変性	6	9	5	20	3	2	4	5
	角膜炎		1		8				
	白内障	1	1		14		1	2	1
子宮	子宮内膜嚢胞性過形成					6	15	13	8
腹部脂肪	限局性壊死	5	6	6	8	2	2		3

統計学的手法: Fisher 直接確率検定: †↓: p≤0.05 †↓↓: p≤0.01 \*\*†: p≤0.001  
空欄は発生なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

途中死亡/切迫殺動物の腫瘍性病変

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
検査動物数		20	22	9	16	19	21	15	23
肝臓	肝細胞腺腫	1							
腎臓	脂肪腫	1							
心臓	軟性線維腫	1							
肺	細気管支腺腫	1							1
盲腸	線維肉腫 M		1						
脳	髄膜腫	1			1				
	星状細胞腫 M	2							
副腎	皮質腺腫				1				
	褐色細胞腫	2	1	3	1			1	1
	混合腫瘍		1						
下垂体	色素嫌性細胞腺腫	6	6	4	2	7	6	4	2
	色素嫌性細胞癌 M					1		1	
甲状腺	C-細胞腺腫	2	3	1	2	1			1
上皮小体	主細胞腺腫				1				
皮膚/皮下	扁平上皮癌 M	2	1						1
	聴覚皮脂腺癌 M					1			
	線維腫	2			1				
	線維肉腫 M			1					
	血管肉腫 M		1						
	包皮腺腺腫			1	2				
	陰核腺腺腫					2		1	
	脂肪肉腫 M					1			
乳腺	腺腫							1	
	線維腺腫						1		
	線維腫		1						
骨	骨肉腫 M		2				1		
膀胱	移行細胞乳頭腫	1							
精巣	ライディット細胞腺腫	17	16	9	14				
卵巣	顆粒膜細胞腫					1			
子宮	腺腫					1			
	平滑筋肉腫 M						2		
	子宮内膜乳頭腫					2	2	4	4
腹腔	中皮腫	2			1	1			
	未分化肉腫 M	1					1		
造血系	非定型的単核性白血病 M	5	3	4	3	3	1	1	2
	細網細胞肉腫 M								
	リンパ肉腫 M		2			1			

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：↑↓：p≤0.05 ↑↓↓：p≤0.01 \*\*：p≤0.001

空欄は発生なし。

M：悪性腫瘍。そのほかは良性腫瘍。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

最終屠殺動物の腫瘍性病変

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
検査動物数		30	28	41	34	31	29	35	27
肝臓	肝細胞腺腫		1	1	1		2	1	
	肝細胞癌 M			1					
腎臓	脂肪腫	1			1				
心臓	軟性線維腫	1	2	1					2
肺	細気管支腺腫		1	1	2			1	
	細気管支癌 M				1				
盲腸	線維肉腫 M								
	平滑筋肉腫 M		1						
脾臓	島細胞腺腫		1	1	1	1			
	島細胞癌 M		1						
脳	髄膜腫				1				
	星状細胞腫 M								
	松果体腫			1					
副腎	皮質腺腫								
	皮質癌 M					1			
	褐色細胞腫	4	8	8	8		2	2	3
	混合腫瘍				1	1			

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  \*\*； $p \leq 0.001$

空欄は発生なし。

M：悪性腫瘍。そのほかは良性腫瘍。

最終屠殺動物の腫瘍性病変(つづき)

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
検査動物数		20	22	9	16	19	21	15	23
下垂体	色素嫌性細胞腺腫	7	5	11	11	11	18†	15	9
	色素嫌性細胞癌 M	1							1
甲状腺	濾胞細胞腺腫	1							
	濾胞細胞癌 M			1	1				
	C-細胞腺腫	3	4	4	5	2	2	3	1
	C-細胞癌 M		1	1					
皮膚/皮下	扁平上皮乳頭腫			2					1
	扁平上皮癌 M		1	1	1				
	基底細胞腫	1		1					
	皮脂腺腺腫	1							
	線維腫	3	5	3	4	1			
	線維肉腫 M	1	1						
	血管肉腫 M							1	
	悪性線維性組織球腫				1				
	包皮腺腺腫	3	3	2	2				
	陰核腺腺腫							2	
	脂肪腫				1		1		
	角化棘細胞腫	1							
乳腺	腺癌 M				2		2	2	
	腺腫					4	3	3	1
	線維腺腫	1	1	2	1	3		2	
	線維腫	1				1			1
骨	骨肉腫 M						1		
膀胱	移行細胞乳頭腫								1
	移行細胞癌 M	1							
精巣	ライディット細胞腺腫	30	28	38	32				
子宮	腺腫					1			
	平滑筋肉腫 M								1
	子宮内膜乳頭腫					8	7	14	8
舌	扁平上皮乳頭腫	1							
腹腔	中皮腫	1		3					
造血系	非定型的単核性白血病 M	1	4	5	1	3	3	3	1
	細網細胞肉腫 M				1				
	リンパ肉腫 M	1					1		

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：††：p≤0.05 †‡：p≤0.01 ‡‡：p≤0.001

空欄は発生なし。

M：悪性腫瘍。そのほかは良性腫瘍。

全動物(途中死亡/切迫殺+最終屠殺)の腫瘍性病変

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肝臓	肝細胞腺腫	1	1	1	1		2	1	
	肝細胞癌 M			1					
腎臓	脂肪腫	2			1				
心臓	軟性線維腫	2	2	1					2
肺	細気管支腺腫	1	1	1	2			1	1
	細気管支癌 M				1				
盲腸	線維肉腫 M		1						
	平滑筋肉腫 M		1						
膵臓	島細胞腺腫		1	1	1	1			
	島細胞癌 M		1						
脳	髄膜腫	1			2				
	星状細胞腫 M	2							
	松果体腫			1					
副腎	皮質腺腫					1			
	皮質癌 M					1			
	褐色細胞腫	6	9	11	9		2	3	4
	混合腫瘍		1		1	1			
下垂体	色素嫌性細胞腺腫	13	11	15	13	18	24	19	11
	色素嫌性細胞癌 M	1				1		1	1
甲状腺	濾胞細胞腺腫	1							
	濾胞細胞癌 M			1	1				
	C-細胞腺腫	5	7	5	7	3	2	3	2
	C-細胞癌 M		1	1					
上皮小体	主細胞腺腫				1				
皮膚/皮下	扁平上皮乳頭腫			2					1
	扁平上皮癌 M	2	2	1	1				1
	基底細胞腫瘍	1		1					
	皮脂腺腺腫	1							
	聴覚皮脂腺癌 M					1			
	線維腫	5	5	3	5	1			
	線維肉腫 M	1	1	1					
	血管肉腫 M		1					1	
	悪性線維性組織球腫				1				
	包皮腺腺腫	3	3	3	4				
	陰核腺腺腫					2		3	
	脂肪腫				1		1		
	脂肪肉腫 M					1			
	角化棘細胞腫	1							

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  ↑↑； $p \leq 0.001$

空欄は発生なし。

M：悪性腫瘍。そのほかは良性腫瘍。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

全動物(途中死亡/切迫殺+最終屠殺)の腫瘍性病変(つづき)

所見		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
乳腺	腺癌 M				2		2	2	
	腺腫					4	3	4	1
	線維腺腫	1	1	2	1	3	1	2	
	線維腫	1	1			1			1
骨	骨肉腫 M		2				2		
膀胱	移行細胞乳頭腫	1							1
	移行細胞癌 M	1							
精巣	ライディット細胞腺腫	47	44	47	46				
卵巣	顆粒膜細胞腫					1			
	腺腫					2			
	平滑筋肉腫 M						2		1
子宮	子宮内膜乳頭腫					10	9	18	12
	扁平上皮乳頭腫	1							
腹腔	中皮腫	3		3	1	1			
	未分化肉腫 M	1					1		
造血系	非定型的単核性白血病 M	6	7	9	4	6	4	4	3
	細網細胞肉腫 M				1				
	リンパ肉腫 M	1	2			1	1		
総腫瘍数		113	107	111	108	59	56	62	42
胆腫瘍動物数		49	49	50	49	36	37	37	29

統計学的手法: Fisher 直接確率検定: ††:  $p \leq 0.05$  †‡:  $p \leq 0.01$  †††:  $p \leq 0.001$

空欄は発生なし。

M: 悪性腫瘍。そのほかは良性腫瘍。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-9-4 マウスにおける慢性毒性試験（評価対象から除外するデータ）

（資料 37）

試験機関：

報告書作成年：

評価対象からの除外理由：本試験において、死亡例の病理検査が実施されていないが、腫瘍発生については供試全例を検査した表がある。しかし、個体別表がないので、評価に耐えない。したがって、再試験を実施されているので、この結果（資料 38, 39）を基に評価をお願いしたい。再試験成績の抄録はこの抄録の後に添付している。

検体の純度：ペンタゾン

試験動物：Swiss Webster 系マウス、1 群雌雄各 50 匹、開始時平均体重：雄 33.7~7.2g、雌 23.6~29.3g

試験期間：18 ヶ月間（ ）

投与方法：検体を粉碎した飼料に 100、350、1600 ppm の濃度で混合し、固形飼料として 18 ヶ月間摂食させた。混餌は毎月調製した。

試験項目および試験結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

全群の雌雄共に異常は認められなかった。

試験終了時（18 ヶ月時）の累積死亡率（%）は次表のとおりで、検体投与による影響は認められなかった。

性	投与群 (ppm)			
	0	100	350	1600
雄	64.4	57.8	57.8	62.2
雌	64.4	51.1	51.1	46.7

体重変化；試験 8 週までは毎週、その後は毎月測定した。

	雄				雌			
	0	100	350	1600	0	100	350	1600
72 週時体重 (g)	48.1	48.1	48.1	42.8	39.7	39.9	40.0	35.1
累積体重増加 (g)	10.9	12.6	14.4↑	8.3	10.4	11.9↑	11.9↑	11.5

統計学的手法：Duncan 多重範囲検定：↓； $p \leq 0.05$  ↑； $p \leq 0.01$

1600 ppm 群において、体重は雌雄とも対照群より低い傾向にあった。雄では投与 18 ヶ月時に体重増加抑制がみられた（対対照比 81%）。

摂餌量；試験期間中毎週測定した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1600 ppm 群の雌は投与約 12 ヶ月以降、一貫して摂餌量の減少がみられた。その他には異常は認められなかった。

検体摂取量：平均摂餌量、平均体重および投与濃度から算出した。

1 日当たりの平均検体摂取量 (mg/kg/日) は次のとおりであった。

投与群 (ppm)		100	350	1600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	13.3	46.4	211.3
	雌	16.0	56.6	260.4

眼科学的検査：試験開始前、試験 6、9、12 および 18 ヶ月時に全生存例を対象として、眼附属器、結膜、角膜、前眼房、虹彩および水晶体を観察した。

投与 12 ヶ月時以前においては、全群の雌雄共に異常はなかった。

投与 18 ヶ月時に角膜白内障が対照群雄 (1 例)、1600 ppm 群雌 (1 例)、350 ppm 群雌雄 (各 1 例) に認められたが、検体投与に起因する影響は認められなかった。

臓器重量：試験 18 ヶ月時の全生存例を対象として剖検後、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、脳

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

項目		雄			雌		
		100	350	1600	100	350	1600
腎臓	対体重比						125↑
	重量						119↑
脳	対体重比			117↑			135↑
	重量						111↑
心臓	対体重比						123↑
	重量						111↑
脾臓	対体重比			116↑			127↑
	重量			55↓			
脾臓	対体重比			64↓			

統計学的手法：Duncan 多重範囲または Wilcoxon 順位和検定：↑↓； $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

1600 ppm 群雄で肝臓および脳の対体重比の増加、また脾臓の重量および対体重比の減少が認められ、同群雌においては、腎臓、心臓の対体重比の増加、また肝臓および脳の重量および対体重比の増加が認められた。しかし、腎臓および心臓(雌)ならびに脳および肝臓(雄)における対体重比の増加は体重が対照群より低いことによる影響と考えられる。

肉眼的病理検査：試験 12 ヶ月時に全群から雌雄各 5 匹、また試験終了時 (18 ヶ月時) に全

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

生存例(対照群雄 17 匹、雌 24 匹; 1600ppm 群雄および雌各 16 匹)、100 および 350ppm 群の生存例のうち雌雄各 10 匹)を対象として、剖検し、肉眼的病理検査を実施した。

試験 12 ヶ月時の中間屠殺で、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

主たる病変は、対照群を含め散見された肺の充血、肝臓および腎臓の変色であったが、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査:肉眼的病理検査を実施した試験 12 ヶ月後に屠殺剖検した 5 例の動物のうち、対照群および 1600 ppm 群は雌雄全例を、100 および 350 ppm 群は雌雄各 2 例を対象にして、また、試験終了時に屠殺した動物のうち、100 および 350 ppm 群は雌雄各 10 例を、対照群および 1600 ppm 群は雌雄の全生存例(対照群雄 17 匹、雌 24 匹; 1600ppm 群雄および雌各 16 匹)を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製し、検鏡した。

心臓、肝臓、腎臓、副腎、甲状腺、脾臓、膵臓、リンパ節、胸腺、唾液腺、精巣／卵巣、消化管、膀胱、肺、気管、脳、骨髄、眼、下垂体、筋肉、皮膚、腫瘍の可能性のある組織

#### 非腫瘍性病変

主な病変は肝細胞空胞形成、慢性腎症、慢性肺炎、気管炎等であったが、用量関連性もなく、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

#### 腫瘍性病変

腫瘍性病変を次表にまとめた。

所見	雄				雌			
	0	100	350	1600	0	100	350	1600
検査動物数*	50	50	50	50	50	50	50	50
肝臓	肝癌 M							1
	細網肉腫 M						1	
腎臓	線腫	1		1				1
	皮質尿細管線腫						1	
膵臓	島細胞腺腫	1	1	1	1			
	島細胞腫瘍					1		2
副腎	皮質癌 M					1		
下垂体	色素嫌性細胞腺腫	2	1	1		2	3	4
	腺腫					1		
甲状腺	濾胞細胞腺腫	1		1			1	
	明細胞腺腫	1			2			
乳腺/皮膚	皮下腫瘍	1	2	1		7	4	2
子宮	腫瘍					1		1
腫瘍総数		7	4	5	3	12	8	9
胆腫瘍動物数		7	3	5	3	9	8	7

\*: 12 ヶ月中間屠殺動物各 5 例を含む。

空欄は発生なし。

M: 悪性腫瘍。そのほかは良性腫瘍。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

主たる腫瘍は下垂体、膵臓、腎臓、副腎、甲状腺の腺腫、肝の細網肉腫、子宮腫瘍ならびに皮膚、皮下、乳線の腫瘍であったが、腫瘍発生頻度は全群の雌雄ともに同程度で、かつ用量相関性もなく、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

以上の結果から、検体のマウスに対する 18 ヶ月間飼料混入投与による発がん性試験における影響として、1600 ppm 群の雌雄における体重の低下傾向、雄における体重増加の抑制および脾臓重量の減少、雌における摂餌量の減少、脳および肝臓重量の増加が認められた。350 ppm 群では特記すべき投与の影響が認められないことから、無毒性量は 350 ppm (雄: 46.4 mg/kg/日、雌: 56.6 mg/kg/日) であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-9-5 マウスにおける発がん性試験

(資料 38)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：ベンタゾン（ ）

試験動物：Swiss系 C57BL/6系マウス、1群雌雄各40匹、開始時4週齢、開始時平均体重：雄20g、雌19g

試験期間：82～95週間（ ）

本試験は以下の原則に基づいて、投与を終了した。

- (1) 雌雄別々に取り扱う。
- (2) 対照群もしくは投与群のいずれかの群の生存率が約25%となった時、25%となった全群を屠殺する。
- (3) 高用量群が最初に生存率25%に達した時、25%に達した群のみ屠殺し、残りの群は上記(2)のとおり処置する。

したがって、実際の投与期間(週)は以下のとおりであった。

性	投与群 (ppm)			
	0	100	350	1600
雄	88	88	88	82
雌	95	95	95	95

投与方法：検体を粉末飼料に100、350、1600 ppmの濃度で混合し、いずれかの群の生存率が25%に達するまで投与した。混餌試料は毎週調製した。

投与量設定根拠：

試験項目および試験結果：

一般状態および死亡率：一般状態および生死を毎日観察した。

全群の雌雄共、一般状態に検体投与に起因する特記すべき異常は認められなかった。

投与終了時の累積死亡率(%)は次表のとおりで、1600 ppm群で79～82週に死亡率の増加を認めた。しかし、病理学的検査で所見は全群で共通しているため、死亡に検体投与の影響はなかったと考えられた。

性	投与群 (ppm)			
	0	100	350	1600
雄	50.0	65.0	75.0	75.0 <sup>↑</sup>
雌	62.5	70.0	70.0	72.5

統計学的手法：層化分割表：<sup>↑↓</sup>； $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

体重変化；最初の 12 週間は週毎、それ以後は隔週に測定した。

検体投与に伴う顕著な変化は認められなかった。

摂餌量および食餌効率；試験終了まで毎週測定し、食餌効率は投与 26 週までの平均食餌効率を算出した。

投与に関連した摂餌量および食餌効率の顕著な変動はみられなかった。

検体摂取量；平均摂餌量、平均体重および投与濃度から申請者が算出した。

1 日当たりの平均検体摂取量 (mg/kg/日) は次表のとおりであった。

投与群 (ppm)		100	350	1600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	8.4	29.7	138.4
	雌	9.5	34.3	152.9

飲水量；給水瓶をチェックして飲水量を判定した。

投与に関連した影響はみられなかった。

肉眼的病理検査；投与期間終了時の全生存例および途中死亡例を対象として、体表組織のすべてを検索し、変形、腫脹、その他腫瘍形成を示唆する徴候の有無を触診により検査した。ついて、鼻孔、口腔、舌、咽頭、聴覚器領域、脳、下垂体、脳神経、皮膚組織のリンパ節、乳腺、唾液腺、腹部内臓(摘出前後)、膀胱、胃と盲腸の粘膜、胸部臓器、心臓、食道、腸、子宮の粘膜、肺(全胸膜表面、肺癌と思われるものとその隣接組織)、肝臓と腎臓(2~3mm の切片として)、性腺、副腎、甲状腺、腹腔内リンパ節、副生殖器ついて、肉眼的病理検査を実施した。

各投与群雌雄共に検体投与に起因する肉眼的所見は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製し、全群について検鏡した。

心臓、心血管、肺、肝臓、胆嚢、リンパ節、脾臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、精囊、卵巣、子宮、包皮腺、凝固腺、副腎、下垂体、睪腺、甲状腺、胃腸管、脂肪、皮膚、乳腺、ハーダー腺、眼、腸間膜、皮下組織、結合組織、腹膜、腹部筋肉、縦隔、陰囊、皮脂腺、すべての肉眼的異常組織、血液塗抹標本(異常を認められた場合は、骨髓切片検査)

#### 非腫瘍性病変

認められた所見は使用した系統の動物に一般的に認められるもので、検査したいずれの組織および臓器ともに、検体投与に起因する肉眼的所見は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

#### 腫瘍性病変

腫瘍性病変を次表にまとめた。

認められたいずれの腫瘍ともに、検体投与に起因する増加は認められなかった。

良性／悪性腫瘍の発生総数、胆腫瘍動物数にも、検体投与に起因する増加は認められなかった。

以上の結果から、検体のマウスに対する 82～95 週間飼料混入投与による発がん性試験において、1600 ppm (雄 138.4 mg/kg/日、雌 152.9 mg/kg/日) を最高用量とするすべての投与群雌雄において、試験期間中、検体投与に起因すると考えられる変化が認められなかったことから、本検体には発がん性はないと判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

腫瘍性病変の発生頻度

所見	雄				雌			
	0	100	350	1600	0	200	800	4000

死亡/切迫殺動物

検査動物数		20	26	30	29	25	28	28	27
肝臓	良性肝細胞腫瘍(1個)	1	2	4	3	1		1	
	良性肝細胞腫瘍(複数)			1	1			2	
	悪性肝細胞腫瘍(1個)	6	1	8	4		2	1	
	悪性肝細胞腫瘍(複数)		3	2	1			1	
	胆肝細胞腫瘍動物数	7	6	12	8	1	2	4	
	血管肉腫							1	
	血管腫		1						
下垂体	線腫							1	1
甲状腺	濾胞嚢胞線腫							1	
リンパ系	骨髄性白血病		1						
	リンパ肉腫 M	4	5	2	4	9	5	3	7
	細網細胞肉腫 M	2		1		2	2	6	1
腎臓	腺腫			1					
精巣	間細胞線腫	1							
前立腺	平滑筋肉腫 M			1					
卵巣	顆粒膜細胞腫							2	
子宮	平滑筋肉腫 M							1	
肺	肺腺種(程度1)	4(5)	4	3	1	2		1	1
	肺腺種(程度2)		2	4(5)			1	1(2)	3
	肺腺癌(程度3)		2	1	1		2		
	肺腺癌(程度4)		1	2		1	5	2	1
	胆肺腫瘍動物数	4	9	10	2	3	8	4	5
皮膚	角化棘細胞腫								1
	扁平上皮細胞癌 M						1	1	
	皮脂腺基底細胞癌		1						
	皮脂腺腺腫							1	
	扁平上皮乳頭腫								1
その他	血管肉腫		1				1		
	骨腫		1						
	骨肉腫 M							1	
	ハダカ腺線腫			1					
	平滑筋肉腫				1				
	腹部血管腫							1	
胆腫瘍動物数		14	18	20	14	14	16	19	16
異なる複数腫瘍を有する動物数		4	6	8	3	1	1	9	1
胆悪性腫瘍動物数		12	13	16	10	12	15	15	9

( )内の数値は腫瘍総数を示す。統計処理は実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

腫瘍性病変の発生頻度 (つづき)

所見	雄				雌				
	0	100	350	1600	0	200	800	4000	
<b>最終屠殺動物</b>									
検査動物数	20	14	10	10	15	12	12	11	
肝臓	良性肝細胞腫瘍(1個)	1	3	1	1	1	1		
	良性肝細胞腫瘍(複数)	3	4	1	1	1	1		
	悪性肝細胞腫瘍(1個)	7	2	1	2	1	3		
	悪性肝細胞腫瘍(複数)	1	1	1					
	胆肝細胞腫瘍動物数	11	8	3	4	2	3	2	1
	血管腫					1		1	
下垂体	線腫						1		
甲状腺	線腫	1							
リンパ系	リンパ肉腫 M	1					1	1	
	細網細胞肉腫 M	1				2			
	リンパ節血管腫						1		
腎臓	腺癌			1					
精巣	間細胞線腫	3							
卵巣	卵巣線腫							1	
	管状腺腫							1	
子宮	線維肉腫 M					1	1		
肺	肺腺種(程度1)	2(3)	1	2	1		1	1	
	肺腺種(程度2)	1	1	1		1		1	
	肺腺癌(程度3)	3	2		1	1		1	
	肺腺癌(程度4)			1				1	
	胆肺腫瘍動物数	4	3	4	2	2	1	3	1
その他	ハダゲ腺線腫			1					
胆腫瘍動物数		15	9	7	5	6	4	7	3
異なる複数腫瘍を有する動物数		5	3	1	1	1	3	3	
胆悪性腫瘍動物数		11	4	4	2	5	3	3	1

全動物(死亡/切迫殺+最終屠殺)動物

検査動物数	40	40	40	39	40	40	40	38	
肝臓	良性肝細胞腫瘍(1個)	2	5	5	4	2	1	2	1
	良性肝細胞腫瘍(複数)	3	4	2	2	1		3	
	悪性肝細胞腫瘍(1個)	13	3	9	6	1	5	1	
	悪性肝細胞腫瘍(複数)	1	4	3	1			1	
	胆肝細胞腫瘍動物数	18	14	15	12	3	5	6	1
	血管肉腫							1	
	血管腫		1			1		1	
下垂体	線腫							2	1
甲状腺	線腫	1							
	濾胞嚢胞腺腫							1	

( )内の数値は腫瘍総数を示す。統計処理は実施していない。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

所見	雄				雌			
	0	100	350	1600	0	200	800	4000

全動物(死亡/切迫殺+最終屠殺)動物 (つづき)

リンパ系	骨髄性白血病		1						
	リンパ肉腫 M	5	5	2	4	9	5	4	8
	細網細胞肉腫 M	3		1		4	2	6	1
	胸腺腫						1		1
	リンパ節血管腫						1		
腎臓	腺腫			1					
	腺癌			1					
精巣	間細胞線腫	4							
前立腺	平滑筋肉腫 M			1					
卵巣	卵巣線腫							1	
	管状腺腫							1	
	顆粒膜細胞腫							2	
子宮	線維肉腫 M					1	1		
	平滑筋肉腫 M							1	
肺	肺腺腫(程度 1)	6(8)	5	5	2	2	1	2	2
	肺腺腫(程度 2)	1	3	5(6)		1	1	2(3)	3
	肺腺癌(程度 3)	3	4	1	2	1	2	1	
	肺腺癌(程度 4)		1	3		1	5	3	1
	胆肺腫瘍動物数	8	12	14	4	5	9	7	6
皮膚	角化棘細胞腫								1
	扁平上皮細胞癌 M						1	1	
	皮脂腺基底細胞癌		1						
	皮脂腺腺腫							1	
	扁平上皮乳頭腫								1
その他	血管肉腫		1				1		
	骨腫		1						
	骨肉腫 M							1	
	ハダカ腺線腫			2					
	平滑筋肉腫				1				
	腹部血管腫								1
胆腫瘍動物数		29	27	27	19	20	20	26	19
異なる複数腫瘍を有する動物数		9	9	9	4	2	4	12	1
胆悪性腫瘍動物数		23	17	20	12	17	18	18	10

( )内の数値は腫瘍総数を示す。統計処理は実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-9-6 マウスにおける慢性毒性試験

(資料 39)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン

試験動物: B6C3F1/Crj系マウス、1群雌雄各70匹(主群: 雌雄各50匹、衛星群: 26および52週後中間屠殺用に雌雄各10匹)、開始時5週齢、体重: 雄17.6~25.6g、雌14.3~20.2g

試験期間: 24ヶ月間 ( )

投与方法: 検体を粉碎した飼料に100、400、2000 ppmの濃度(純度で補正した)で直接混合し、24ヶ月間摂食させた。なお、衛星群は雌雄各10匹ずつ試験26および52週後に中間屠殺した。検体を混入した飼料は4週毎に1回調製した。

用量設定根拠:

試験項目および試験結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日観察した。触診を週1回行なった。

6ヶ月中間屠殺: 全群とも異常所見は認められなかった。

12ヶ月中間屠殺: 対照群を含む死亡例に皮温低下、四肢の脱毛および蒼白、削瘦、呼吸速迫等が認められたが、検体投与に伴う異常所見は認められなかった。生存例では全群とも異常所見は認められなかった。

主群(24ヶ月時): 生存例の2000 ppm群雌で腹部膨満の増加(対照群0/40例に対し、6/35例)が認められた。その他に死亡例および計画殺例とも各群に削瘦、腹部腫瘤、元気消失、皮温低下、耳介および四肢の蒼白等が認められたが、検体投与に伴う異常所見は認められなかった。

死亡率: 各群の累積死亡率%は次表のとおりであるが、投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

群(屠殺時期)		雄				雌			
		0	100	400	2000	0	100	400	2000
衛星群	6ヶ月	10	0	0	0	0	0	0	0
	12ヶ月	10	0	0	10	0	10	20	10
主群	24ヶ月	28	28	30	40	20	18	26	30

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

体重変化：試験 1 日およびその後毎週 1 回測定した。

2000 ppm 群雄における一過性の体重増加の抑制（7～23 週までの多くの時点、69 および 73 週で有意に抑制）が認められた以外に検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量および食餌効率：試験 40 週までは発がん性試験群の雌雄各 10 匹、41 週以降は雌雄各 20 匹を対象として、毎週 1 回測定し、食餌効率を算出した。

摂餌量および食餌効率ともに、一過性の有意な増加または減少が全投与群の雌雄で散見されたが、検体投与に伴う変化は認められなかった。

検体摂取量：24 ヶ月間の試験の摂餌量、体重および投与濃度から算出した 1 日当たりの平均検体摂取量 (mg/kg/日) は次のとおりであった。

投与群 (ppm)		100	400	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	12	47	242
	雌	12	48	275

飲水量：摂餌量と同様に毎週 1 回測定した。

全投与群雌雄共に、検体の投与に伴う変化はなかった。

血液学的検査：投与 6 および 12 ヶ月時の中間屠殺例と 24 ヶ月時の雌雄各 17 匹を対象として、16～17 時間絶食後に左心室より採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、白血球数および白血球分画、血小板数、プロトロンビン時間および部分トロンボプラスチン時間 (24 ヶ月時のみ)

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

24 ヶ月時の 400 ppm 以上の投与群雄でプロトロンビン時間の延長が認められた。この延長は予備試験の 5000 ppm 以上で高度の出血性病変が観察されていることから、検体投与の影響と考えられた。

その他に、次表のように有意差のある検査項目が認められたが、いずれも検査時期で一定の傾向を示すものではなく、生理的変動の範囲内に入るものと推察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

検査時期	項目	雄			雌		
		100	400	2000	100	400	2000
6ヶ月	赤血球		92↓		92↓	92↓	89*
	ヘマトクリット値		96↓				
	平均赤血球容積				107↑	112↑	117↑
	平均赤血球血色素量		107↑		108↑	110↑	114↑
	平均赤血球血色素濃度	103↑		102↑			
	分葉核球		250↑	138↑			
	リンパ球		54↓	87↓			
12ヶ月	白血球	52↓	70↓		56↓	47↓	63↓
	桿状核球					176↑	167↑
	分葉核球	136↑		216↑			
	リンパ球	88↓	93↓	68↓			
24ヶ月	ヘモグロビン濃度			117↑			
	ヘマトクリット値			116↑			
	平均赤血球血色素濃度					97↓	
	プロトロンビン時間		113↑	159↑			

統計学的手法：Student t-検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  \*↓； $p \leq 0.001$   
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものである。

血清生化学的検査：血液学的検査用採血と同時に採血した血液を用いて、以下の項目について検査した。なお、24ヶ月時は雌雄各10匹を対象として採血し、同様に検査した。

総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、総コレステロール、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、尿素窒素

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査時期	項目	雄			雌		
		100	400	2000	100	400	2000
6ヶ月	総コレステロール	89↓					131↑
	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ		128↑				
12ヶ月	総コレステロール			81↓			
	尿素窒素			112			
24ヶ月	アルブミン/グロブリン比			170			
	総コレステロール			150↑			

統計学的手法：Student t-検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$  \*↓； $p \leq 0.001$   
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものである。

表のように有意差のある検査項目が認められたが、いずれも検査時期で一定の傾向を示すものはなく、生理的変動の範囲内に入るものと推察された。

尿検査：投与6および12ヶ月時の中間屠殺例と24ヶ月時の雌雄10匹を対象として、屠殺前1週以内に強制排尿させ、採尿して以下の項目について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

尿比重、pH、色調、濁度、蛋白、ケトン体、ビリルビン、グルコース、潜血およびウロビリノーゲン

投与 12 ヶ月時に 400 および 2000 ppm 群の雄で、尿比重の増加が認められた(対照群の 1.076 に対し、それぞれ 1.089 および 1.091)。その他に異常は認められなかった。

眼科学的検査：投与 6 および 12 ヶ月時の中間屠殺例と 24 ヶ月時の全生存例を対象として、眼科学的検査を実施した。角膜、前眼房および水晶体の変化は毎日観察した。

全投与群雌雄共に、検体投与に起因する異常は認められなかった。

臓器重量：投与 6 および 12 ヶ月時の中間屠殺例と 24 ヶ月時の全生存例を対象として剖検後、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、副腎、胸腺、甲状腺、下垂体、精巣/卵巣、脳

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査時期	項目		雄			雌			
			100	400	2000	100	400	2000	
6 ヶ月	下垂体	重量			138†				
		対体重比			134†				
12 ヶ月	肝臓				93↓				
	精巣左			106†					
	副腎	左	重量				79↓		
			対体重比					77↓	
	副腎	左右計	重量				84↓		
			対体重比					82↓	
	肺							109†	
	脳						105↑	104†	
24 ヶ月	肝臓						122†		
	肝臓						128†		
	腎臓	左	重量			106†			
			対体重比		107↑	108↑			
		右	対体重比		109↑	108↑			
			左右計	重量			106†		
	左右計		対体重比		108↑	108↑			
	副腎	左	重量		118†				
			対体重比						
		左右計	重量		116†				
			対体重比		118†				
	心臓							113†	
	甲状腺	重量		119↑					
		対体重比	116†	122†					
	下垂体	重量		118↑	112†				
		対体重比		126†	118↑				
脳				102†					

統計学的手法：Student t-検定：†↓； $p \leq 0.05$  †↑； $p \leq 0.01$  †↑↓； $p \leq 0.001$  †↑↓  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

表のように種々の臓器の重量または対体重比の有意な増加あるいは減少が認められたが、用量関連性がない、検査時期を通して一定の傾向がない、あるいは病理組織学的に臓器重量の増減に結びつく所見がないので、これらの変動は検体の投与に起因するものではないと考えられる。

肉眼的病理検査：投与 6 および 12 ヶ月時の中間屠殺例、24 ヶ月時の全生存例および途中死亡例を対象として剖検、肉眼的病理検査を実施した。

6 および 12 ヶ月中間屠殺：有意差の認められた所見はなかった。

24 ヶ月最終屠殺：最終屠殺で有意差の認められた肉眼的所見を次表に示す。

	臓器/所見		雄				雌			
			0	100	400	2000	0	100	400	2000
死亡/ 切迫殺	検査動物数		14	14	15	21	10	9	13	15
	腹腔	血液の貯留		5↑	1	7↑	3	2	4	4
	肝臓	退色				5↑	1	6↑	7↑	4
		灰色巣 結節	1	1	5	1			1	1
	脾臓	濾胞明瞭	5	4	5	8	5	2	1↓	2
	胸腺	萎縮	1	2	2		1	2	1	2
	肺	萎縮	5	7	11↑	12	4	2	5	6
赤色無気肺		2		2		5	0↓	3	2	
最終 屠殺	検査動物数		36	36	35	29	40	41	37	35
	肝臓	退色		1			2	1	1	
		灰色巣 結節	1	3	4	3		1		4↑
	脾臓	濾胞明瞭	16	21	17	17	6	5	10	5
	胸腺	萎縮		1	7↑	1	8	8	7	6
	肺	萎縮	8	9	2↓	7	3	3	4	1
赤色無気肺			1	1						

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：↑↓； $p \leq 0.05$  ↑↓； $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

各投与群雌雄に変化が認められたものの多くは、肝臓、肺および造血組織の自然発生腫瘍による二次的病変および老齢化によるものと考えられ、検体の投与に起因すると考えられる所見はなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製した。検鏡は全群について行った。

肝、腎、心、肺、脾、脳、気管、精巣/卵巣、精巣上体、前立腺/子宮、子宮頸部、精囊、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、坐骨神経、下垂体、食道、胃、胆嚢、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、痔、腸間膜リンパ節、膀胱、骨髄、脊髄、右大腿骨、皮膚、骨格筋、胸大動脈、眼球、横隔膜、肉眼的病変部

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

なお、発がん性群の唾液腺および乳腺(雌雄)については当初未検査であったが、  
の要求により検査された、主要な病変について抄録に記載した。また、  
の要求により肝臓の増殖性病変について、下記の 3  
者による再検査が 年を実施された。

Dr.

Dr.

Dr.

#### 非腫瘍性病変

衛星群および発がん性群の主要な非腫瘍性病変を次表にまとめた。

衛星群で認められた所見はほとんど生理的かつ加齢による変化であった。

#### 衛星群の非腫瘍性病変 (空欄は所見の発生なし)

検査 時期	臓器/所見		雄				雌			
			0	100	400	2000	0	100	400	2000
	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
6ヶ月	子宮	子宮内膜嚢胞	-	-	-	-	6	7	8	10†
12ヶ月	子宮	子宮内膜嚢胞	-	-	-	-	10	9	8	8

発がん性群において、対照群に比し有意で主要な所見は 400 および 2000 ppm 群雄マウスの睪臓ラ氏島過形成および精巣の石灰沈着であった。ラ氏島過形成は B6C3F1 の親である C3H マウスに好発することが知られており、系統特有の偶発性病変と考えられた。精巣の石灰沈着は衛星群では認められず、その病理発生は不明であるか、用量相関性を示したところから検体投与の影響を示唆する所見であろう。石灰沈着の認められた精巣の精子形成は正常であった。これらの病変の他にも、表のように各投与群において、対照群に比し有意に増減した病変が認められたが、いずれも腫瘍により二次的に発生したか、あるいは検体の投与とは関連のない加齢性病変であった。

#### 申請者注：

精巣の石灰沈着について：この病変は本試験に用いた系統を含め加齢マウスによく見られる所見である。他に悪影響が認められず、また繁殖試験において、雄の繁殖能に悪影響も認められていない。さらに、この試験以前に実施した長期毒性試験においてもこの病変は認められていないことから、この病変は投与に関連がないものと判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

発がん性群の非腫瘍性病変－死亡/切迫殺動物（空欄は所見の発生なし）

検査時期	臓器/所見		雄				雌			
			0	100	400	2000	0	100	400	2000
死亡/ 切迫殺	検査動物数		14	14	15	21	10	9	13	15
	肝臓	出血	1	3	2	10†	2	3	4	1
	脾臓	髓外造血		5†	1	2	4	3	2	0↓
	腎臓	局所リンパ球浸潤	3	4	2	4	1	2	2	1
	心臓	出血				6†				1
	肺	出血	2	1		1			5†	1
	膵臓	島細胞過形成	2	3	4	10†				
	脳	白質空胞化		1			2			2
	唾液腺	リンパ球集簇	6	5	7	17†	3	1	0	8
	腸間膜リンパ節	赤血球浸潤	1	2					1	
	精巣	石灰沈着		1		11*	-	-	-	-
	前立腺	局所リンパ球浸潤	2	3	2	2	-	-	-	-
最終 屠殺	検査動物数		36	36	35	29	10	9	13	15
	肝臓	出血	1		2			1		1
	脾臓	髓外造血	1			1	2	2		
	腎臓	局所リンパ球浸潤	17	16	18	16	21	13↓	16	6↓
	肺	出血	1	2	1	5		1	1	1
	膵臓	島細胞過形成	7	8	15†	12†		4	3	1
	脳	白質空胞化	1	32↑	2	2	12	11	9	9
	唾液腺	リンパ球集簇	24	22	20	21	23	25	27	23
	腸間膜リンパ節	赤血球浸潤	11	2↓	5	1↓			5†	
	精巣	石灰沈着	2	5	12↑	24*	-	-	-	-
	前立腺	局所リンパ球浸潤	18	10↓	10	12	-	-	-	-
	全動 物	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50
肝臓		出血	2	3	4	10	2	4	4	2
脾臓		髓外造血	1	5	1	2	6	5	2	
腎臓		局所リンパ球浸潤	20	20	20	20	22	15	18	7
心臓		出血				6				1
肺		出血	3	3	1	6		1	6	2
膵臓		島細胞過形成	9	11	19	22		4	3	1
脳		白質空胞化	1	33	2	2	14	11	9	11
唾液腺		リンパ球集簇	30	27	27	38	26	26	27	31
腸間膜リンパ節		赤血球浸潤	12	4	5	1			6	
精巣		石灰沈着	2	6	12↑	35*	-	-	-	-
前立腺		局所リンパ球浸潤	20	13	12	14	-	-	-	-

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：††：p≤0.05 †‡：p≤0.01 \*：p≤0.001



### 腫瘍性病変

腫瘍性病変を次頁以降の表にまとめた。

腫瘍性病変については、計画殺もしくは死亡例において対照群との間に有意差の認められたのは肝臓の腫瘍のみであり、2000 ppm 群雄の死亡例で腫瘍性結節が有意に減少し、400 ppm 以上の投与群雄の死亡例で肝癌が有意に増加した。しかし、肝細胞原発の腫瘍性結節および肝癌の合計では投与群と対照群との間に有意差を認めなかった。発がん性試験の各群におけるこれら肝腫瘍の発生率は、雄マウスで 52~70%、雌マウスで 10~25%であった。しかし、本試験に用いた B6C3F1 系統は自然発生性肝腫瘍が高率に発生することが知られており、当研究所の過去の自然発生率においても雄マウスでほぼ 80%、雌マウスでほぼ 13%であり、雄マウスで高頻度の発生を観察している。したがって今回の肝腫瘍の発生率はこれらの範囲内に入るものであった。

また、6 および 12 ヶ月試験においても、2000 ppm 群に肝細胞の腫大、変性巣あるいは肝細胞腫瘍の好発は認められなかったことから、24 ヶ月試験における 2000 ppm 群雄マウスの肝癌発生が高かったのは偶発的なものと推察される。

総腫瘍数および担腫瘍動物数についても、各投与群の雌雄共に対照群との間に有意差を認めなかった。

肝臓の再検査： 3 者による再検査結果を次表に示す。

#### 肝臓組織の 3 者による増殖性病変の再検査結果

臓器/所見	検査担当者	雄				雌			
		0	100	400	2000	0	100	400	2000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
結節性過形成		14	19	21	10	1	5	8	10
		12	19	21	11	1	5	7	10
		13	18	19	11	2	5	7	12
腺腫		4	3	6	11	2	0	0	1
		4	3	6	12	2	0	0	2
		4	4	8	11	2	0	0	0
良性増殖性病変発生動物数	平均	16	21	27	21	2	4	6	11 <sup>△</sup>
癌		8	7	10	11	3	1	6	1
		10	7	10	10	3	1	6	1
		9	7	10	11	3	1	6	1
	平均	9	7	10	10	4	1	6	1
増殖性病変発生動物数	平均	25	28	37	31	6	5	12	12

統計学的手法：Fisher 直接確率検定 (片側)：†↓：p≤0.05 †△：p≤0.01 ††：p≤0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

表のように担当者間で診断に若干の差はあるものの、非常に良く一致しており、雌において、2000 ppm 群で結節性過形成および腺腫の合計に有意な増加が認められたが、肝癌の増加は認められなかった。雄ではこのような有意な増加は認められなかった。したがって、良性の増殖性病変が雌でのみ増加はするものの、発がん性の危険性はないと結論された。

以上の結果から、本剤の 24 ヶ月間混餌投与慢性毒性試験における影響として、2000 ppm 群において、雄では軽度の一過性の体重増加の抑制、プロトロンビン時間の延長が観察された。雌では検体投与の影響は観察されなかった。400 ppm 群の雄でもプロトロンビン時間の延長が観察された。したがって、無毒性量は雄で 100 ppm (12 mg/kg/日)、雌で 400 ppm (48 mg/kg/日) (注)と判断された。発がん性は 2000 ppm でもないものと判断された。

申請者注：

雌の無毒性量：報告書では雌の無毒性量を 2000 ppm と判断しているが、再検査結果により肝臓の良性の増殖性病変が 2000 ppm 群の雌でのみ増加するとの考察であることから、雌の無毒性量を 400 ppm とした。

**衛星群の腫瘍性病変** (空欄は腫瘍の発生なし)

屠殺時期	臓器/所見		雄				雌			
			0	100	400	2000	0	100	400	2000
6 ヶ月	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	子宮	奇形腫						1		
12 ヶ月	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	肝臓	腫瘍性結節	1	1	1	1				1
	肺	呼吸細気管支腫瘍	1	1						1
	皮膚/皮下	脂肪腫					1			
	子宮	子宮内膜肉腫						1		
	腫瘍総数		2	2	1	1	1	1		2
	胆腫瘍動物数		1	1	1	1	1	1		1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

発がん性群の腫瘍性病変—死亡/切迫殺動物 (空欄は腫瘍の発生なし)

臓器/所見		雄				雌			
		0	100	400	2000	0	100	400	2000
検査動物数		14	14	15	21	10	9	13	15
肝臓	腫瘍性結節	4	3	6	0↓				1
	肝細胞癌 M	1	2	6†	15†	4	1	2	1
	血管腫		2		1	2	1		1
	血管肉腫 M	2	1	1					
脾臓	血管腫	1							
	血管肉腫 M	2	2	2	2		1	1	1
腎臓	皮質腺腫				1				
肺	呼吸細気管支腫瘍 well	1		3					
	呼吸細気管支腫瘍 moderate	3		1			1		
	呼吸細気管支腫瘍 poorly		1						
膵臓	島細胞腺腫		1						
下垂体	色素嫌性細胞腺腫								1
	色素嫌性細胞腺癌 M					1			
骨髄	血管腫							1	1
	血管肉腫 M	1		2	1		1		
皮膚/皮下	血管腫								1
	血管肉腫 M						2	1	1
	陰核腺腺腫								1
ハダゲ腺	腺腫							1	1
	腺癌 M								2
子宮	血管腫							1	
腹腔	血管肉腫 M			1					
造血系	リンパ球性悪性リンパ腫 M	3	2	2			2	5†	1
	混合細胞型悪性リンパ腫 M	1		1	2	4		3	3
	組織球性悪性リンパ腫 M	1	2	1	2	2	2		2

統計学的手法: Fisher 直接確率検定: †↓; p≤0.05 †↓↓; p≤0.01 ††; p≤0.001

M: 悪性腫瘍、M 印のない腫瘍は陽性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Beritazone

発がん性群の腫瘍性病変—最終屠殺動物 (空欄は腫瘍の発生なし)

臓器/所見		雄				雌			
		0	100	400	2000	0	100	400	2000
検査動物数		36	36	35	29	40	41	37	35
肝臓	腫瘍性結節	16	15	16	8	3	4	4	10†
	肝細胞癌 M	5	8	7	6			7	
	肝芽腫	1		1					
	血管腫	3	1	1	2	1			
	血管肉腫 M							1	
脾臓	血管腫	3			1	2		1	1
	血管肉腫 M		3	2		1	1	1	2
腎臓	皮質腺腫			2					
	未分化癌 M								1
肺	呼吸細気管支腫瘍 well	12	6	12	7	1	3	3	3
	呼吸細気管支腫瘍 moderate		3	1		1	1		4
	呼吸細気管支腫瘍 poorly								
膵臓	島細胞腺腫		1						
下垂体	色素嫌性細胞腺腫						1	1	2
	色素嫌性細胞腺癌 M						1		
副腎	紡錘細胞腫瘍		1			1			
	褐色細胞腫		1						1
骨髄	血管腫					2		2	2
	血管肉腫 M		2						
甲状腺	濾胞細胞腺腫	1			2		1	2	
皮膚/皮下	平滑筋肉腫 M			1					
	血管腫			1		1		2	
	血管肉腫 M							1	
	扁平上皮乳頭腫	1				1			
乳腺	腺癌 M							1	
ハダゲ腺	腺腫	2	2	1	2	1	2	1	
卵巣	顆粒膜細胞腫瘍						1		
子宮	線維腫							1	
	内膜肉腫 M								1
	平滑筋肉腫 M							1	
	血管腫								1
	血管肉腫 M								1
精囊	線維腫		2						
腹腔	血管腫		1	1				2	
	血管肉腫 M		1					1	
造血系	リンパ球性悪性リンパ腫 M			1		2	3	3	5
	混合細胞型悪性リンパ腫 M		4	3	3	6	1	7	4
	組織球性悪性リンパ腫 M			3			3	1	1

統計学的手法：Fisher 直接確率検定：††； $p \leq 0.05$  †††； $p \leq 0.01$  ††††； $p \leq 0.001$

M：悪性腫瘍、M 印のない腫瘍は陽性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

発がん性群の腫瘍性病変—全動物 (空欄は腫瘍の発生なし)

臓器/所見		雄				雌			
		0	100	400	2000	0	100	400	2000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肝臓	腫瘍性結節	20	18	22	8	3	4	4	11
	肝細胞癌 M	6	10	13	21	4	1	9	1
	肝芽腫	1		1					
	血管腫	3	3	1	3	3	1		1
	血管肉腫 M	2	1	1				1	
脾臓	血管腫	4			1	2		1	1
	血管肉腫 M	2	5	4	2	1	2	2	3
腎臓	皮質腺腫			2	1				
	未分化癌 M								1
肺	呼吸細気管支腫瘍 well	13	15	5	7	1	3	3	3
	呼吸細気管支腫瘍 moderate	3	3	2		1	2		4
	呼吸細気管支腫瘍 poorly		1						
膵臓	島細胞腺腫		2						
下垂体	色素嫌性細胞腺腫						1	1	3
	色素嫌性細胞腺癌 M					1	1		
副腎	紡錘細胞腫瘍		1			1			
	褐色細胞腫		1						1
骨髓	血管腫					2		3	3
	血管肉腫 M	1	2	2	1		1		
甲状腺	濾胞細胞腺腫	1			2		1	2	
皮膚/皮下	平滑筋肉腫 M			1					
	血管腫			1		1		2	1
	血管肉腫 M						2	2	1
	扁平上皮乳頭腫	1				1			
	陰核腺腺腫								1
乳腺	腺癌 A 型 M							1	
ハダ腺	腺腫	2	2	1	2	1	2	2	1
	腺癌 M								2
卵巣	顆粒膜細胞腫瘍						1		
子宮	線維腫							1	
	内膜肉腫 M								1
	平滑筋肉腫 M							1	
	血管腫							1	1
	血管肉腫 M								1
精囊	線維腫		2						
腹腔	血管腫		1	1				2	
	血管肉腫 M		1	1				1	
造血系	リンパ球性悪性リンパ腫 M	3	2	3		2	5	8	6
	混合細胞型悪性リンパ腫 M	1	4	4	5	10	1	10	7
	組織球性悪性リンパ腫 M	1	2	4	2	2	5	1	3
腫瘍総数		64	67	79	55	36	33	58	57
胆腫瘍動物数		40	40	46	38	25	26	39	39

統計学的手法: Fisher 直接確率検定: †↓: p≤0.05 †↓↓: p≤0.01 ††: p≤0.001

M: 悪性腫瘍、M 印のない腫瘍は陽性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

## 1-10 繁殖毒性および催奇形性試験

1-10-1 ラットにおける3世代繁殖試験（評価対象から除外するデータ）（資料40）

試験機関：

報告書作成年：

評価対象からの除外理由：本試験において、最高用量の180 ppmでも全く投与の影響が認められなかったことから、投与用量を200、800および3200 ppmに増量して再試験を実施されたので、この結果（資料40）を基に評価をお願いしたい。再試験成績の抄録はこの抄録の後に添付している。

検体純度：ベンタゾン

試験動物：Sprague-Dawley系ラット、1群雄各20匹、開始時39～42日齢

投与期間：F<sub>0</sub>世代：F<sub>0</sub>親動物への投与開始からF<sub>1b</sub>児離乳時までの29週間

F<sub>1</sub>世代：F<sub>1</sub>児離乳時からF<sub>2b</sub>児離乳時までの30週間

F<sub>2</sub>世代：F<sub>2b</sub>児離乳時からF<sub>3b</sub>児離乳29週間

F<sub>3</sub>世代：F<sub>2b</sub>児離乳時から5週間

( )

投与方法：検体を0、20、60および180 ppmの濃度で混合した粉末飼料を自由に摂取させた。

投与量設定根拠：

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を次頁にまとめた。

表 1 試験の概要

世代	期間	作業手順	観察/検査項目
F0	生育(8週)	1群雌雄20匹で開始。	一般状態・生死：毎日観察。 体重：週1回測定。 摂餌量/飲水量：毎日測定。 交配状況の観察。
	交配(1週間ずつ4回) 妊娠(3週間)	雌雄 1:1 で交配。交配は膣垢検査で精子または膣栓の有無を確認(妊娠0日)。	
F1a	出産	(出産日を哺育0日)	出産状況の観察。 新生児数、死産児数、外表異常、性別 児動物：生存児数、離乳時性別 体重/外表検査：出生時、以降は毎週。
	哺育(4週間) F1a 離乳	離乳児屠殺、廃棄	
F0	休息 交配(生後24週齢で開始：1週間ずつ4回) 妊娠(3週間)	(1回目交配に準ずる) (1回目交配に準ずる)	(1回目交配に準ずる) (1回目交配に準ずる) (1回目交配に準ずる)
	出産	(出産日を哺育0日)	
F1b	哺育(4週間)	(1回目交配に準ずる)	(1回目交配に準ずる)
	F1b 離乳	児動物：継代用の雌雄各20匹を選抜。 親動物：離乳後に屠殺	児動物：未選抜児の肉眼的病理検査 親動物：屠殺前に眼/聴覚/歯の検査、 屠殺後に肉眼的病理検査
F2a	生育(14週) 交配(1週間ずつ4回) 妊娠(3週間)	(P世代に準ずる)	
	出産		
F1	哺育(4週間) F2a 離乳	(F1aに準ずる)	(P世代に準ずる)
	F2b	(P世代に準ずる)	
F3a	生育(14週) 交配(1週間ずつ4回) 妊娠(3週間)	(P世代に準ずる)	
	出産		
F2	哺育(4週間) F3a 離乳		(P世代に準ずる)
	F3	(P世代に準ずる)	
F3	休息 交配(生後28週齢で開始：1週間ずつ4回) 妊娠(3週間)	(P世代に準ずる)	
	哺育(4週間) F3b 離乳		
F3	生育(5週)	生育終了時、屠殺剖検/組織学的検査。	臓器重量：各群雌雄各例について測定。 組織学的検査：剖検した動物のうち、雌雄各10例について検査。

## 親動物

一般状態および生死：全投与期間を通して全動物の一般状態および生死を毎日観察した。

体重：毎週1回測定した。

摂餌量/飲水量：摂餌量は毎日、飲水量も調べた。

検体摂取量：試験期間中の体重、摂餌量および飼料中の設定検体濃度から検体摂取量 (mg/kg/日) を算出した。

交配および妊娠の確認：交配は7日間、夜に雌雄1:1で同居させ、翌日、精子または膣栓により交尾を確認し、確認日を妊娠0日とした。1回目の交配で交尾を確認できなかった雌は、7日毎に交配相手を替えて最大4週間交配を繰り返した。各世代で、2産目(a、b)を得たが、2産目(b)を次世代とした。

繁殖性に関する指標：交配、妊娠の観察に基づき、以下の指標を算出した。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{仔を出産した動物数}}{\text{同居回数}} \times 100$$

$$\text{出産率} = \frac{\text{仔を出産した動物数}}{\text{交尾した動物数}} \times 100$$

病理学的検査：2産目の離乳時の屠殺前に眼、聴覚(スナップ音に対する反応)および歯の検査を行い、また屠殺後、肉眼的病理検査を行った。

## 児動物

一般状態および生死：全動物の全検査期間に、一般状態および生死を毎日観察した。外表異常について、出生時およびその後毎週観察した。

出産時に新生児数、生存児数、死産児数、性別を調べた。生存児に関し、以下の指標を算出した。

$$\text{哺育7日の哺育率} = \frac{\text{哺育7日の生存仔数}}{\text{出生時の同腹仔数}} \times 100$$

$$\text{離乳率} = \frac{\text{哺育28日の生存仔数}}{\text{出生時の同腹仔数}} \times 100$$

体重：出生時、その後は週1回測定した。

臓器重量：F3世代の離乳後から5週間投与後(生後9週齢)、屠殺して以下の臓器重量を測定した。

心臓、肺臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、生殖腺、甲状腺、脳



病理学的検査：1 産目は屠殺、廃棄した。次世代として選抜しなかった児動物は離乳時に屠殺し、肉眼的病理検査を行った。また、F3b 児から離乳時に選抜した児動物(雌雄各 20 匹)は 5 週間生育させた後、屠殺して、肉眼的病理検査を行ない、このうち半数について、以下の組織の標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理組織学的検査を行った。さらに、心臓、肝臓および腎臓についてはスダン染色も行った。

心臓、肺臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、下垂体、生殖腺、甲状腺、脳、前立腺/子宮、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、眼、耳下腺、膀胱、骨髄、気管、大動脈、食道、臍、リンパ節、末梢神経、骨格筋

## 試験結果

### 親動物

すべての投与群の何れの世代においても死亡例は認められず、妊性や繁殖能力に検体投与の影響はなく、行動や外観、糞、摂餌量、飲水量、体重変化、眼、聴力ならびに歯は正常であった。肉眼的病理検査でも、検体の投与に起因する影響は認められなかった。

### 児動物

すべての投与群のいずれの世代においても腹当たり児数、児体重、生存率、離乳率および性比に検体の投与に起因する影響は認められなかった。児動物の肉眼的病理検査ならびに 9 週齢まで育成した F3 世代の臓器重量、肉眼的および病理組織学的所見にも投与に起因する影響は認められなかった。

以上の結果から、ベンタゾンをラットの 3 世代に亘り混餌投与した影響として、試験した最高用量の 180 ppm で親動物および児動物のいずれにも検体投与による影響が認められなかったことから無毒性量は 180 ppm (F0 世代: 雄 15.0 mg/kg、雌 21.9 mg/kg; F1 世代: 雄 14.1 mg/kg、雌 21.5 mg/kg; F2 世代: 雄 14.2 mg/kg、雌 20.5 mg/kg; F3 世代: 雄 19.4 mg/kg、雌 19.8 mg/kg) と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

親動物

世 代		親 : F <sub>0</sub> 、仔 : F <sub>1a</sub> 、F <sub>1b</sub>				親 : F <sub>1</sub> 、仔 : F <sub>2a</sub> 、F <sub>2b</sub>				親 : F <sub>2</sub> 、仔 : F <sub>3a</sub> 、F <sub>3b</sub>			
投 与 量 (ppm)		0	20	60	180	0	20	60	180	0	20	60	180
動 物 数	♂	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	♀	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
死亡率	♂	死亡例なし											
	♀	死亡例なし											
児を有する腹数	a	20	19	18	18	18	19	17	20	19	18	19	20
	b	17	18	18	20	17	17	19	20	18	19	19	19
妊娠率	a	28.6	23.2	19.6	16.4	17.0	19.8	13.7	24.7	19.4	16.1	19.6	26.3
	b	13.1	16.8	17.1	29.9	13.3	12.7	15.7	28.6	15.1	15.4	18.3	20.2
出産率	a	100	95	90	90	90	95	85	100	95	90	95	100
	b	85	90	90	100	85	85	95	100	90	95	95	95
交尾までの日数	a	3.5	4.6	4.9	5.5	5.3	4.8	6.2	4.1	5	5.6	4.9	3.8
	b	6.5	5.4	5.3	3.4	6.4	6.7	3.7	3.5	6	6.2	5.2	4.7
妊娠期間(日)	a	20.4	20.2	20.4	20.1	20.2	20.4	20.3	20.5	20.4	20.5	20.4	20.5
	b	20.1	20.4	20.2	20.4	20.3	20.2	20.2	20.3	20.3	20.7	20.4	20.4
外観/行動	♂	投与に起因する異常なし											
	♀	投与に起因する異常なし											
摂餌量/飲水量	♂	投与に起因する異常なし											
	♀	投与に起因する異常なし											
体重変化	♂	投与に起因する異常なし											
	♀	投与に起因する異常なし											
検体摂取量 (mg/kg)	♂		1.6	4.7	15.0		1.6	4.5	14.1		1.6	4.8	14.2
	♀		2.5	7.3	21.9		2.4	7.2	21.5		2.1	6.6	20.5
F3 世代	♂										2.2	6.4	19.4
	♀										2.0	6.4	19.8
眼/聴覚/歯の検査		投与に起因する異常なし											
肉眼的病理検査		投与に起因する異常なし											

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

児動物

世代		親 : F <sub>0</sub> 、仔 : F <sub>1a</sub> 、F <sub>1b</sub>				親 : F <sub>1</sub> 、仔 : F <sub>2a</sub> 、F <sub>2b</sub>				親 : F <sub>2</sub> 、仔 : F <sub>3a</sub> 、F <sub>3b</sub>			
投与量 (ppm)		0	20	60	180	0	20	60	180	0	20	60	180
動物数	♂	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	♀	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
児を有する腹数	a	20	19	18	18	18	19	17	20	19	18	19	20
	b	17	18	18	20	17	17	19	20	18	19	19	19
外観・行動	♂	投与に起因する異常なし											
	♀												
総出産仔数	a	211	198	196	200	194	198	182	206	196	204	209	215
	b	180	191	203	200	175	169	190	195	192	209	216	218
総死産仔数	a	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	b	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
出生時性比 (雄の%)	a	51	50	48	51	50	47	49	51	49	53	55	50
	b	47	55	53	49	48	50	53	50	55	49	50	55
生後4週時性比 (雄の%)	a	49	49	48	51	51	50	50	50	49	53	53	51
	b	47	52	54	49	48	52	5	47	54	50	51	53
腹当たり児数	a	10.6	10.4	10.3	11.1	10.8	10.4	10.7	10.3	10.3	11.3	11.0	10.8
	b	10.6	10.6	11.3	10.0	10.3	9.9	10.0	9.8	10.7	11.0	11.4	11.5
哺育7日の哺育率	a	96	97	97	98	96	97	99	97	98	99	96	96
	b	97	98	95	96	97	98	95	96	99	99	97	96
離乳率(生後4週)	a	91	92	90	94	95	91	96	92	96	96	96	96
	b	95	94	92	93	94	90	93	94	99	93	96	96
出生時体重(g)	a	5.6	5.5	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.5	5.6	5.5	5.6	5.6
	b	5.5	5.6	5.5	5.6	5.5	5.6	5.6	5.6	5.5	5.6	5.6	5.6
1週間後体重(g)	a	14.1	14.8	12.8	15.4	13.6	15.9	14.7	14.6	13.1	12.1	12.5	11.9
	b	10.8	11.4	12.8	14.6	14.0	12.6	13.3	15.1	12.7	12.9	11.9	10.9
2週間後体重(g)	a	24.6	23.2	19.9	21.8	19.8	21.5	24.8	27.6	24.6	22.8	24.1	21.8
	b	19.6	21.1	19.5	24.2	26.1	25.8	23.1	29.6	24.1	26.1	22.6	21.8
3週間後体重(g)	a	36.7	39.1	34.4	32.6	38.1	39.1	41.1	46.2	37.9	39.4	40.1	36.8
	b	41.2	41.6	38.1	46.1	43.2	42.1	41.7	48.6	40.6	44.6	42.7	39.6
4週間後体重(g)	a	62.8	64.7	60.7	59.6	64.5	58.4	66.6	69.1	65.8	62.8	64.1	61.7
	b	65.7	67.6	62.9	69.7	62.8	66.4	62.9	71.8	63.8	66.8	62.8	62.7
肉眼的病理検査	投与に起因する異常なし												
臓器重量	(検査せず)												
肉眼的/組織学的検査	投与に起因する異常なし												

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-10-2 ラットにおける繁殖毒性試験

(資料 41)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ペンタゾン

試験動物: Wistar/HAN 系 (Kfm:WIST) ラット、開始時 8 週齢、体重: 雄 176~224g、雌: 138~178g、  
1 群雌雄各 25 匹、

投与期間: F<sub>0</sub> 世代: F<sub>0</sub> 親動物への投与開始から F<sub>1</sub> 児離乳時までの 19 週間

F<sub>1</sub> 世代: F<sub>1</sub> 児離乳時から F<sub>2</sub> 児離乳時までの 26 週間

( )

投与方法: 検体を飼料に直接 0、200、800 および 3200 ppm の濃度で混合し、固型にした飼料を自由  
に摂取させた。飼料の調製は 2 週間ごとに行った。

投与量設定根拠:

交配・調整・選抜および観察・検査項目: 概要を次頁にまとめた。

表 1 試験の概要

世代	期間	作業手順	観察/検査項目
P	生育(10週)	雌雄 1:1 で交配。交配は陰垢検査で精子の有無を確認(妊娠 0 日)。	一般状態・生死：毎日観察。 体重：週 1 回測定。 摂餌量：週 1 回測定。 交配状況の観察。
	1 回目交配(3 週間)		
	妊娠(3 週間)		体重：妊娠 0、7、14、20 日に測定。 摂餌量：週 1 回測定。 出産状況の観察。
	出産		
F1	哺育(3 週間)	(哺育 1 日) 哺育 4 日に 1 腹の同腹児数を雄 4 匹、雌 4 匹に調整(不可能なとき、合計 8 匹)。  継代用の各群雌雄各 25 匹を各腹からできる限り 1 匹ずつ無作為に生後 21 日に選抜。	新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹生存児体重測定。 母動物：体重：出産後 1、4、7、14、21 日に測定。 摂餌量：出産後 14 日まで測定。 児動物： 生存児数・体重：生後 1、4、7、14、21 日に測定。 外表異常検査：死亡児、生後 4 日目屠殺の新生児、哺育時死亡児。
	F1a 離乳	次世代として選抜しなかった離乳児の屠殺。 親動物：屠殺(妊性評価後)。	外表/内臓異常検査  親動物の剖検および病理組織学的検査(生殖器官を中心)。
	生育(18 週) 交配(3 週間) 妊娠(3 週間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる)
F2	出産	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	哺育(3 週間) 離乳	(P 世代に準ずる) 児動物：離乳時に屠殺 親動物：屠殺(妊性評価後)	(P 世代に準ずる) (F1 世代に準ずる) (F1a 離乳児に準ずる) (P 世代に準ずる)

親動物

一般状態および生死：全投与期間を通して全動物の一般状態および生死を毎日観察した。

体重：交配前投与期間中および交配期間中、毎週体重を測定した。交尾雌は妊娠 0、7、14、20 および哺育 14 日まで体重を測定した。

摂餌量：交配前投与期間中は週 1 回摂餌量を測定した。妊娠雌は妊娠 0~7、7~14 および 14~21 日ならびに哺育 1~4、4~7 および 7~14 日に測定した。

検体摂取量：雌の生育期間、妊娠期間および哺育期間中の体重、摂餌量および飼料中の設定検体濃度から検体摂取量(mg/kg/日)を算出した。

交配および妊娠の確認：交配は 3 週間を限度として、雌雄 1:1 で同居させ、翌日、精子により交尾を確認し、確認日を妊娠 0 日とした。妊娠は出産および子宮内の着床痕の有無によって確認した。

繁殖性に関する指標：交配、妊娠および哺育期間と剖検時の観察に基づき、以下の指標を算出した。

交尾までの期間＝同居開始から交尾までの日数

交尾率＝(交尾した動物雄数/交配に用いた動物数)×100

受精率＝(妊娠動物数/交配に用いた動物数)×100

妊娠率(%)＝(妊娠動物数/交尾した動物数)×100

出産率＝(出産日に生存児を有する雌数/妊娠した雌数)×100

妊娠期間＝交配日(妊娠0日)から出産日までの期間を日数で表した。

肉眼的病理検査：すべての F0 および F1 生存親動物について児の離乳後、さらに、途中死亡親動物についても剖検を行なった。

病理組織学的検査：対照群と 3200 ppm 群の P および F1 親動物について、精巣および精巣上体、精囊、凝固腺、前立腺、卵巣、頸部を含む子宮、膈、下垂体、標的臓器(肝臓および腎臓)ならびに肉眼的異常部位の病理標本を作製し、検鏡した。

#### 児動物

一般状態および生死：全動物の全検査期間に、一般状態および生死を毎日観察した。

出産時に新生児数、生存児数、死産児数を調べた。

生存児に関し、以下の指標を算出した。

出生時生存児率(%)＝生存児数/総新生児数×100

哺育4日生存率(%)＝哺育4日の生存児数/出産時の生存児数×100

離乳率(%)＝哺育21日の生存児数/哺育4日の調整後児数×100

性比＝雄の児数/総児数×100

体重：生後1、4(調製前および後)、7、14 および 21 日に個体別に測定し、腹および児当たりの平均体重を求めた。

病理学的検査：離乳時に屠殺したすべての児動物について剖検を行なった。

#### 試験結果：

親動物：試験結果を表2および3にまとめた。

一般状態および死亡率：投与関連性の死亡は認められなかったが、3200 ppm 群 F1 世代の雄1例が交配前期間の試験35日に死亡した。病理学的に胸腔の暗赤色体液の貯留、顕著な胸腺の瀰漫性出血および右精巣上体の中等度限局性出血が見られ、これが死因と考えられた。

いずれの世代および投与群とも、投与関連性の中毒または臨床症状も認められなかった。

体重の変化：3200 ppm 群において、P および F1 親世代雌雄とも体重および体重増加は対照群より軽度の抑制傾向にあったが、雌は哺育期間中に体重増加が対照群より多く、体重は回復傾向にあった。

摂餌量：いずれの世代および投与群とも、投与関連性の影響は認められなかった。

繁殖能：平均交尾までの日数、交尾率、妊娠/受精率、出産率、妊娠期間、哺育能に投与の影響はいずれの世代および投与群とも認められなかった。

肉眼的および病理組織学的所見(表 3)：いずれの世代および投与群とも検体投与に起因する異常は認められなかった。

#### 児動物(表 4)

検体投与の影響は体重あるいは体重増加に認められた。F1 児動物において、平均体重は 800 および 3200 ppm 群で生後 1 日に減少が見られたが、明確な用量関連性はなかった。この傾向は哺育期間中にも認められた。F2 児動物において、生後 1 日の体重は、いずれの投与群とも対照群と同程度であったが、哺育期間中に 800 および 3200 ppm 群で用量依存性の軽度抑制が見られた。その他に(産児数、出生時生存児数、生存率、性比、一般状態、発育状態、外表異常、剖検等)に両世代とも対照群との差はいずれの群とも認められなかった。

以上の結果から、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合の毒性影響として、雌雄親動物および児動物において認められた 800 ppm 群での体重および体重増加の抑制を影響量とし、報告書では 200 ppm を無作用量としている。

しかし、申請者は離乳時までの体重に、上記のような抑制傾向が認められたが、F1 親世代の体重に 800ppm 群では対照群と差が認められないが、3200 ppm 群では軽度の抑制が認められたこと。800 ppm 群では腹当たり児数がわずかに多いことから、児動物の体重の軽度抑制に生物学的意義はないものと判断する。したがって、3200 ppm 群で両世代とも体重および体重増加の軽度抑制傾向が認められるが、800 ppm(P 世代：雌 66.9 mg/kg/日；F<sub>1</sub> 世代：雌 64.3 mg/kg/日)は親動物および児動物に対し無毒性量と判断した。繁殖能に対する影響および催奇形性はいずれの群においても認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

表 2 親動物の試験結果

(空欄は発生/異常なし。)

世代		親 : P, 児 : F1				親 : F1, 児 F2				
投与量 (ppm)		対照群	200	800	3200	対照群	200	800	3200	
供試動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25	
	雌	24a	25	24b	25	25	25	25	24a	
死亡/切迫殺数	雄	0	0	0	0	0	0	0	1	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	
交尾雌数		24	25	24	25	25	25	25	24	
未妊娠雌数						1		1	3	
胚吸収雌数		1								
妊娠雌数		23	25	24	25	24	25	24	21	
出産雌数		22	25	24	25	24	25	24	21	
同腹児全例の死亡 出産後 0 日					1					
出産 1 日に生存児を有する雌数		22	25	24	24	24	25	24	21	
同腹児全例の死亡 出産後 4 日				2	1					
離乳時に生存児を有する雌数		22	25	22	23	24	25	24	21	
繁殖能	平均交尾までの日数	3.7	3.0	4.4	3.1	3.9	3.4	3.0	3.4	
	交尾率 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	
	妊娠率 (%)	95.8	100	100	100	96	100	96	87.5	
	受精率 (%)	95.8	100	100	100	96	100	96	87.5	
	出産率 (%)	95.7	100	100	100	95.7	100	100	100	
	妊娠期間 (日)	21.8	21.5	21.7	21.6	21.6	21.5	21.5	21.6	
着床数		274	318	290	283	303	311	305	259	
着床数/腹		12.5	12.7	13.2	12.3	12.6	12.4	12.7	12.3	
着床後損失率%		13.1	8.2	9.7	7.8	17.2	7.4	13.4	12.4	
一般状態		雄 雌	検体投与に起因する異常は認められなかった。							
体重%e	雄	同居開始前 c	96	98	95		99	101	94	
		交尾後 3 週 d	96	99	96		99	101	95	
	雌	同居開始前 c	102	103	97		101	99	95	
		妊娠 0 日	103	104	96		101	99	95	
		妊娠 21 日	102	103	95		101	101	95	
		哺乳 1 日	99	99	93		99	99	92	
哺乳 21 日	99	103	99		100	99	96			
体重増加%e	雄	同居開始前 c	92	95	88		95	102	90	
		交尾後 3 週 d	86	95	64		92	96	104	
	雌	同居開始前 c	105	105	92		96	98	90	
		妊娠 0-21 日 哺乳 1-21 日	100 100	101 128	93 145		100 111	99 111	95 134	
摂餌量		雄生育期 雌生育期 妊娠 0-20 日 哺乳 1-14 日								
検体摂取量 (mg/kg)	雄	生育期 f	-	14.8	58.5	238		13.7	56.9	227
		妊娠時	-	14.7	60.7	276.7		14.3	59.3	238.7
	雌	生育期 f	-	17.0	66.9	268.9		15.9	64.4	261.6
		哺乳時 g	-	29.7	111.0	472.7		29.0	121.3	492.0

a: 25 例で開始したが、閉鎖腔のため交尾できなかったので、評価から除外した。

b: 25 例で開始したが、非常に体重増加が多く、妊娠が疑問で(最終的に不妊)であったので、除外した。

c: P 世代は投与 70 日、F1 世代は投与 123 日の体重

d: P 世代は交尾後 22 日、F1 世代は交尾後 25 日の体重

e: 体重、体重増加量は変動の目安として対照群に対する比率%を示す。

f: 生育期は P 世代は交配前 70 日間、F1 世代は交配前 123 日間の平均値

g: 哺乳期は両世代とも哺乳 14 日までの平均値



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

表 3 親動物の主要な病理組織学的所見 空欄は異常なし。

世代		親 : P, 児 : F1				親 : F1, 児 F2			
投与量 (ppm)		対照群	200	800	3200	対照群	200	800	3200
雄									
腎臓	検査動物数	25			25	25	2	7	25
	硝子滴	25			25	25	1	7	24
	鈣質化	1			3	1		1	6
	腎盂拡張					4	2	5	4
	尿細管好塩基性	1			2	2		1	4
	炎症性単核細胞	5			3	2		1	4
肝臓	検査動物数	25			25	25			25
	小肉芽腫	7			16	19			7
下垂体	検査動物数	25			24	24			25
	嚢胞	6			5	5			2
雌									
腎臓	検査動物数	24	1	1	25	25	2		25
	硝子滴	2			3				
	鈣質化	21		1	18	22	1		20
	腎盂拡張	2	1	1	1	1	1		5
	尿細管好塩基性				1	2			4
	検査動物数	24			25	25			25
肝臓	検査動物数	24			25	25			25
	小肉芽腫	6			6	3			8
下垂体	検査動物数	25			25	25			25
	嚢胞	3			5	2			4
子宮	検査動物数	25	1		25	25	1	2	25
	硬化性変化	11	1		7	13			13
	空胞化巣	10			6	9			9
	腔拡張	6			4	6		2	

表 4 児動物の試験結果 空欄は異常なし。

世代		親 : P, 児 : F1				親 : F1, 児 F2			
投与量 (ppm)		対照群	200	800	3200	対照群	200	800	3200
離乳時に生存児を有する雌数		22	25	22	23	24	25	24	21
産児数	合計	238	292	262	261	257	290	268	227
	生存児数	238	292	262	261	251	288	264	227
	死亡児数	0	0	0	0	6	2	4	0
生存児数/腹	出生時	10.8	11.7	11.9	11.3	10.5	11.5	11.0	10.8
	生後 4 日調整前	10.5	11.6	11.5	11.0	10	11.5	10.8	10.6
	生後 4 日調整後	7.9	8.0	7.8	7.9	7.6	7.6	7.9	7.7
	離乳時	7.7	7.9	7.5	7.6	7.5	7.4	7.8	7.7
生存率 (%)	出生時	100.0	100.0	100.0	100.0	97.7	99.3	98.5	100.0
	生後 4 日調整前	97.5	99.7	96.9	96.9	96.0	99.7	98.5	98.2
	離乳時	98.3	99.0	96.5	95.6	98.9	96.8	99.5	99.4
性比(生後 0 日雄の割合%)		50.4	45.2	49.8	52.6	47.4	51.4	47.0	50.7
一般状態		検体投与に起因する異常は認められなかった							
体重(g)	生後 1 日	5.9	5.7	5.4	5.5	6.0	6.0	5.9	6.1
	生後 21 日	45.3	46.2	43.1	43.5	50.7	50.6	48.9	46.5
外表検査									
尾の裂傷		1(1)							
短尾					1(1)				
発育不良						1(1)			
噛切られた右後肢								1(1)	
重度奇形									1(1)
被毛の不規則/不完全発育			11(1)						11(1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-10-3 ラットにおける催奇形性試験（評価対象から除外するデータ）

（資料 42）

試験機関：

報告書作成年：

評価対象からの除外理由：本試験において、最高用量の 200 mg/kg が NOAEL であったことから、さらに、高用量を用いて再試験を実施されている（資料 42：妊娠期間中混餌投与；資料 43：器官形成期投与）。この抄録の後に添付しているのので、それを評価に使用願いたい。

検体純度：ベンタゾン

試験動物：Sprague-Dawley 系ラット、成熟雌、1 群当り 26～29 匹

雌と雄 (4:1) を一晩同居させ、翌朝、膣垢中の精子の存在を確認したものを妊娠 0 日として試験に用いた。

投与期間：妊娠 6～15 日（ ）

投与方法：検体を 1%カルボキシメチルセルローズ (CMC) 溶液に懸濁し、用量 0、22.2、66.7 および 200 mg/kg で妊娠 6～15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。別に無処置対照群を設けた。投与容量 (5 mL/kg) は妊娠 0 日の個体別体重に基づき算出した。

試験項目：

母動物：一般状態および生死を毎日観察した。体重は妊娠 0、6、11、15 および 28 日、さらに週 3 回 (月、水および金曜日) 測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮重量を測定した後、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児：性別の判定、体重、体長 (耳から尾の先端まで) および胎盤重量の測定および外表、内臓 (胎児の 1/3) および骨格 (胎児の 2/3) 異常の有無を検査した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

母動物：対照群を含むすべての投与群において、死亡例、中毒症状も認められず、体重および着床所見にも投与の影響は認められなかった。剖検で、いずれの群にも異常所見は認められなかった。

胎児動物：CMC 対照群を含め、すべての投与群で胎盤重量が、無処置対照群に比較して増加しないし増加傾向にあったが、いずれの投与群も CMC 対照群と同程度で検体投与の影響は認められなかった。外表、内臓および骨格検査においても、投与に起因する異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットの器官形成期に強制経口投与したとき、母動物および胎児に対して、試験した最高用量の 200 mg/kg/day でも検体投与の影響は認められなかった。また、胎児に対する催奇形性も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

試験結果：

空欄は発生なし

投与量 (mg/kg/day)		無処置 対照群	CMC 対照群	22.2	66.7	200	
1 群当り動物数		27	28	26	29	27	
母動物	死亡動物数						
	流産動物数						
	妊娠動物数	27	28	26	29	27	
	生存胎児を有する腹数	27	28	26	29	27	
	妊娠率%	100	100	100	100	100	
	受胎率%(生存胎児を有する雌数/妊娠雌数)	100	100	100	100	100	
	一般症状	異常症状なし					
	体重変化	有意な変化なし					
	剖検所見	異常所見なし					
	着床所見	黄体数/腹	12.89	13.00	13.23	13.28	13.78
		着床数/腹	10.78	11.18	10.96	11.34	11.04
		着床前損失率(%)	16.37	14.00	17.16	14.61	19.53
		平均死亡・吸収胎児数/腹	0.63	0.79	0.50	0.76	0.44
		生存胎児数/腹	10.15	10.39	10.46	10.59	10.59
		吸収・死亡胎児総数	17	22	13	22	12
		合計早期吸収数	14	18	8	15	11
		合計中期吸収数	2	4	5	6	1
		合計後期吸収数	1			1	
合計死亡胎児数							
着床後損失率(%)	5.36	9.65	4.09	8.75	4.36		
生存胎児数/着床数(%)	94.64	90.35	95.51	91.25	95.64		
胎児動物	胎盤重量(g)	雄	0.64	0.57↓	0.62↓	0.58↓	0.56↓
		雌	0.60	0.56	0.59	0.55↓	0.56↓
		平均	0.62	0.57	0.61	0.56↓	0.56↓
	体重(g)	雄	3.64	3.72	3.65	3.71	3.68
		雌	3.49	3.54	3.51	3.50	3.57
		平均	3.57	3.63	3.58	3.61	3.68
	体長(cm)	雄	3.66	3.67	3.64	3.72	3.69
		雌	3.61	3.56	3.58	3.63	3.65
		平均	3.64	3.62	3.61	3.68	3.67
	外表異常	検査胎児数	274	291	272	307	286
		矮小児	2	1	4	3	2
	内臓異常	検査胎児数	93	99	91	104	94
			異常所見なし				
	骨格異常	検査胎児数	181	192	181	203	192
		異常胎児数(腹数)	11(7)	14(10)	14(11)	7(6)	17(9)
		胸椎二分	6	3	5	3	8
		腰椎二分	1				1
		両側波状肋骨	3	7	5	1	5
		片側波状肋骨	1	5	4	3	2
		変異/遅延胎児数(腹数)	48	45	42	44	44
頭蓋骨不完全骨化		6	8	3	1	10	
胸骨分節欠損		20	20	17	14	9	
胸骨分節部分骨化		19	17	21	25	18	
非対称胸骨分節	2	3	1	2	4		
両側過剰肋骨	2		1	3			
全体の遅延	5	1	6	1	4		

統計学的手法：Fisher 直接確立検定 ↓ : p ≤ 0.05 ↓↓ : p ≤ 0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-10-4 ラットにおける催奇形性試験

(資料 43)

試験機関：

報告書作成年：

検体純度：ベンタゾン

試験動物：CD/CRJ(SD)系妊娠ラット、雌 9 週齢、雄 12 週齢、1 群当り妊娠雌 23 匹

発情前期の雌と雄を一晚同居させ、翌朝膣栓または精子の存在を確認したものを妊娠 0 日として試験に用いた。

投与期間：妊娠 0～21 日 ( )

投与方法：粉碎した検体を直接粉末飼料に 0、2000、4000 および 8000ppm の濃度で添加混合して、妊娠 0～21 日までの 22 日間、反復経口投与し、妊娠 21 日に帝王切開した。混餌試料は投与開始前に 1 回調製した。

投与量設定根拠：

試験項目：

母動物：

一般状態および生死、体重、摂餌量および飲水量について毎日観察した。妊娠 21 日に屠殺し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮重量、胎盤重量を測定した後、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別の判定、体重の測定および外表異常の観察を行った。各同腹児の約半数の胎児について骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

試験結果:

(空欄は異常/対照群との差なし/発生なし)

投与量 (ppm)		0	2000	4000	8000	
検体摂取量 (mg/kg/日)		0	162	324	631	
1 群当り動物数		23	23	23	23	
母動物	死亡率 (%)	0	0	0	0	
	不妊娠動物数	1	2	0	0	
	妊娠動物数	22	21	23	23	
	一般症状				血尿、元氣消失、 皮膚蒼白、立毛	
	平均摂餌量 (%) <sup>a</sup>				96	
	飲水量 (%) <sup>a</sup>			111	113	
	体重 (妊娠 21 日) (%) <sup>a</sup>				93*	
	妊娠子宮重量/胎盤重量					
	羊水重量 (%) <sup>a, b</sup>			133†	132†	
	着床所見 (腹当たり)	黄体数	17.4	17.0	17.3	17.1
着床数		13.9	14.3	13.8	15.0	
着床率 (%)		81.7	86.8	82.6	88.5	
死亡胚/胎児数		1.0	0.7	0.8	1.6	
死亡率 (%)		8.4	5.0	6.0	11.4	
生存胎児数		12.9	13.6	13.0	13.4	
胎児	胎児数/腹	雄	6.1	6.7	5.9	6.8
		雌	6.7	6.9	7.1	6.6
	性比 (雄%)	47.3	49.2	44.9	49.8	
	体重 (g)	雄	5.37	5.41	5.38	5.06
		雌	5.07	5.12	5.03	4.81
	体長 (mm)	雄	40.4	40.7	40.7	39.7
		雌	39.4	39.8	39.7	38.9
	外表異常	検査動物数	283	285	300	308
		合計異常胎児数 (%) <sup>d</sup>	7 (2.2)	5 (1.8)	8 (2.8)	48 (13.6†)
		少指/合指 (%) 低体重児 (%) <sup>c</sup>	5 (1.5) 6 (1.9)	5 (1.8) 5 (1.8)	8 (2.8) 8 (2.8)	48 (13.6†)
	内臓異常	検査動物数	136	136	143	149
		合計異常胎児数 (%) <sup>d</sup>	2 (1.5)	3 (2.2)	5 (3.6)	11 (6.8)
		肝臓出血 皮下浮腫 輸尿管拡張				5 (3.1) 2 (1.1) 2 (1.2)
		口蓋褶走行異常 (変異) <sup>d</sup>	2 (1.5)	3 (2.2)	4 (2.9)	2 (1.2)
	骨格異常	検査動物数	147	149	157	158
		合計異常胎児数 (%) <sup>d</sup>		3 (2.5)	1 (0.6)	2 (1.1)
頸/腰肋骨変異率%		8.7	16.2	5.6	17.5	
化骨頭椎椎体数 (化骨進行度)		4.5	4.8	4.1	3.2↓	

統計学的手法: t-検定: †: p ≤ 0.05 ††: p ≤ 0.01 †††: p ≤ 0.001

<sup>a</sup>: 変動の目安として対照群を 100 とした場合の比率を示す。

<sup>b</sup>: 羊水重量は妊娠子宮重量 - (子宮重量 + 胎児重量 + 胎盤重量)

<sup>c</sup>: 低体重児は対照群の平均体重から標準偏差の 3 倍を減じた体重 (雄で 4.33g、雌で 4.17g) 以下の胎児とした。

<sup>d</sup>: 括弧外の数値は異常を有する胎児数、括弧内はその発生率%。

### 母動物

8000 ppm 群では妊娠末期に血尿、元気消失、皮膚蒼白、立毛を示したが、死亡は認められなかった。妊娠後期の摂餌量の減少を伴い、体重増加の抑制傾向ないし抑制が妊娠期を通じて認められた。剖検で 1 例に消瘦および子宮内出血を認めた。

4000 ppm 以上の投与群で、飲水量および羊水重量の増加を認めた。

### 胎児

8000 ppm 群において、平均体重に有意差は認められなかったが、僅かに低く(対照比:雄 94%、雌 95%)、低体重児(対照群の平均体重から標準偏差の 3 倍を減じた体重を有する胎児)の出現率が増加した。骨格検査で、化骨頸椎椎体数の有意な減少が認められた。

上記以外に下記のような異常あるいは変異が認められたが、いずれも投与群と対照群の間に有意差はなく、投与に起因する異常は認められなかった。

内臓検査では、各群で口蓋褶の走行異常(3~6 胎児)および輸尿管の彎曲を伴う拡張がみられ、4000 ppm 群では舌背における穿孔形成(円錐状の舌筋欠損)および左側腎臓における腎洞拡張が各々 1 胎児に認められた。8000 ppm 群では側脳室拡張、頭部浮腫、腰背部浮腫、メッケル憩室残存がそれぞれ 1 胎児にみられ、さらに同群の 2 母動物に由来する 5 胎児に肝臓の斑状出血が認められた。骨格検査では、8000 ppm 群で腰肋骨が高率に、4000 ppm 以上の投与群で頸肋骨が低率に出現した。さらに、各投与群において、左側腸骨における腸骨翼の低形成および第一仙椎骨の腰椎化が認められた。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに妊娠期間を通して混餌経口投与したとき、母動物に対し、8000 ppm 群では妊娠後期の摂餌量の減少を伴う体重増加の抑制傾向ないし抑制、飲水量の増加、羊水重量の増加が認められた。4000 ppm 群では、飲水量および羊水重量の増加が認められた。

胎児に対し、8000 ppm 群では、平均体重の軽度減少、低体重児出現率の増加、骨格検査で、化骨頸椎椎体数の減少が認められた。

2000 ppm では検体投与の影響は認められなかった。したがって、無毒性量は親動物に対して 2000 ppm(162 mg/kg/日)、胎児に対して 4000 ppm(324 mg/kg/日)であると判断された。催奇形性は最高用量の 8000 ppm でも認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-10-5 ラットにおける催奇形性試験

(資料 44)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：ベンタゾン

試験動物：Wistar/HAN 系妊娠ラット、少なくとも 11 週齢以上、1 群妊娠雌 25 匹

雌と雄 (1:1) を一晩同居させ、翌朝膣栓または精子の存在を確認したものを妊娠 0 日として試験に用いた。

投与期間：妊娠 6～15 日 ( )

投与方法：検体を 4%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁して毎日調製し、0 (対照群)、40、100 および 250 mg/kg の用量で妊娠 6～15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群の動物には、4%CMC 水溶液のみを同様に投与した。投与容量 (10 mL/kg) は投与当日の個体別体重に基づき算出した。

投与量設定根拠：

試験項目：

母動物；一般状態および生死を毎日観察した。妊娠 0～21 日まで体重を毎日測定した。摂餌量は妊娠 6、11、16 および 21 日に測定した。妊娠 21 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行い、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

妊娠 20 日に屠殺し、妊娠子宮重量を測定した後、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別の判定、体重の測定および外表異常の観察を行った。各同腹児の約半数の胎児について骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

試験結果

(空欄は異常/対照群との差なし/発生なし)

投与群 (mg/kg/日)		対照群	40	100	250	
1 群当り動物数		25	25	25	25	
母動物	死亡動物数	0	0	0	0	
	未妊娠動物数	1	3	1	0	
	妊娠動物数	24	22	24	25	
	一般症状	異常なし				
	体重	妊娠 16 日 (g)	257	263	262	265
		妊娠 21 日 (g)	312	312	313	308
		補正体重増加率 (%)	10.3	8.9	7.5	10.6
	摂餌量	妊娠 6~11 日	21.3	21.1	20.6	20.1
		妊娠 11~16 日	22.5	21.9	22.1	21.8
		妊娠 16~21 日	23.0	22.3	22.5	22.1
	腹当たり着床所見	黄体数	13.5	13.5	14.0	13.7
		着床数	11.8	11.5	12.4	12.2
		着床前損失率 (%)	13.0	14.8	11.0	11.1
		吸収胚数	0.9	1.0	1.0	0.9
		吸収胎児数	0.0	0.0	0.0	1.8
胚/胎児吸収数		0.9	1.0	1.1	2.7	
着床後損失率 (%)		7.4	8.3	8.7	22.0	
生存胎児数		10.9	10.5	11.3	9.5	
生存胎児数/着床数 (%)		92.6	10.5	91.3	78.0	
胎児動物	体重 (g)	4.8	4.8	4.9	4.3	
	性比 (雄の%)	50.6	45.3	50.7	44.1	
	外表異常	検査対象動物数	261	232	272	238
			異常なし			
	内臓異常	検査対象動物数	129	117	129	118
		異常なし				
骨格異常	検査対象動物数	132	115	143	120	
	胸骨分節/椎骨骨化遅延 指骨核、踵骨、頸椎の未骨化			1(0.7)	9(7.5) 増加傾向	

\* 補正体重増加量 = 妊娠 21 日の体重 - 妊娠 6 日の体重 - 妊娠 21 日 (剖検時) の子宮重量

親動物：100 mg/kg 投与群における平均補正体重増加量の減少は、この群の腹当たり  
児動物数がわずかに増加したことによるもので、検体投与による影響ではないと考  
えられる。250 mg/kg 群の妊娠 6~11 日 (投与開始後 1~6 日) に平均摂餌量のわず  
かな減少がみられた。また 250 mg/kg 群において、吸収胎児数 (着床後損失率) の  
増加が認められ、その結果生存胎児数が減少した。

胎児動物：250 mg/kg 群の平均体重の減少 (対対照比 90%) が認められた。胎児の骨格検  
査において、250 mg/kg 群で胎児体重の減少からも示されるように胎児の発育が遅  
延し、その結果として、若干の胎児において、胸骨分節および椎骨の未骨化、指骨  
核、踵骨および頸椎の未化骨の増加が認められた。これらの変化はすべて胎児の発  
育遅延によるものと推察され、骨発生に対する検体の特異な作用ではないと考えら  
れる。なお、100 mg/kg 群にみられた第 2 胸骨分節の未化骨 (1/143 例) については、  
自然発生の範囲内であり偶発性のものと推察される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

以上の結果から、本剤を妊娠ラットの器官形成期に強制経口投与したとき、母動物に対して、250 mg/kg 群で投与初期に僅かな摂餌量の減少、吸収胎児数（着床後損失率）の増加、その結果として生存胎児数が減少および胎児体重の減少が認められた。この結果として、発育遅延による未骨化の増加が認められた。100 mg/kg 群では検体投与の影響が認められないことから、無毒性量は母動物および胎児ともに 100 mg/kg と判断された。また、最高投与量の 250 mg/kg でも胎児に対して催奇形性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-10-6 ウサギにおける催奇形性試験（評価対象から除外するデータ）

（資料 45）

試験機関：

報告書作成年：

評価対象からの除外理由：本試験において、最高用量の 150 mg/kg で NOAEL であったことから、さらに、高用量を用いて再試験を実施されている（資料 45）。この抄録の後に添付しているので、それを評価に使用願いたい。

検体純度：ベンタゾン

試験動物：ChBB:HM 系ヒマラヤウサギ（雌）、22～83 週齢、1 群当り 15 匹

投与期間：妊娠 6～18 日（ ）

投与方法：人工授精によって受精させたウサギに検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁し、用量 0、50、100 および 150 mg/kg で妊娠 6～18 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。別に無処置対照群を設けた。投与容量 (10 mL/kg) は妊娠日の個体別体重に基づき算出した。なお、人工授精日を妊娠 0 日とした。

試験項目：

母動物：一般状態および生死を毎日観察した。体重は妊娠 0、6、12、18 および 28 日、さらに週 3 回（月、水および金曜日）にも測定した。摂餌量は毎日測定した。妊娠 28 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮重量を測定した後、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児：性別の判定、体重、体長（耳から尾の先端まで）および胎盤重量の測定および外表、内臓および骨格異常の有無を検査した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

母動物：CMC 対照群を含むすべての投与群において、摂餌量は無処置対照群に比較して投与期間中（妊娠 13 日～18 日）に減少が認められたが、投与群は CMC 対照群と同程度であった。中毒症状も認められず、体重および着床所見にも投与の影響は認められなかった。死亡例が 100 および 150 mg/kg 群で各 1 例認められたが、剖検で異常は認められず検体の投与に関連がないと考えられた。

胎児動物：投与群において、胎盤重量、胎児体重、体長が無処置対照群に比較して増加ないし増加傾向にあったが、いずれも CMC 対照群と同程度で検体投与の影響は認められなかった。外表、内臓および骨格検査においても投与群で異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギの器官形成期に強制経口投与したとき、母動物および胎児に対して、試験した最高用量の 150 mg/kg/day でも検体投与の影響は認められなかった。また、胎児に対する催奇形性も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

試験結果

(空欄は異常/対照群との差なし/発生なし)

投与量 (mg/kg/day)		無処置 対照群	CMC 対照群	50	100	150	
1 群当り動物数		15	15	15	15	15	
母 動物	死亡動物数				1	1	
	流産動物数	1			2	0	
	妊娠動物数	15	15	14	14	14	
	生存胎児を有する腹数	14	15	14	12	14	
	妊娠率%	100	100	93.3	93.3	93.3	
	受胎率% (生存胎児を有する雌数/妊娠雌数)	100	100	93.3	92.3	93.3	
	一般症状：産出血死亡				1	1	
	体重変化	有意な変化なし					
	摂餌量：妊娠 13~18 日 (無処置対照比)	100	71↓	73↓	72↓	81↓	
	剖検所見：脂肪組織消失				2	1	
	着 床 所 見	黄体数/腹	8.64	8.93	8	8.82	8.92
		着床数/腹	7	6.27	5.64	6.82	5.54
		着床前損失率(%)	19.1	29.8	29.5	22.7	37.9
		平均死亡・吸収胎児数/腹	1.14	0.73	1.29	1.55	1
		生存胎児数/腹	5.86	5.53	4.36	5.27	4.54
		吸収・死亡胎児総数	16	11	18	17	13
		合計早期吸収数	7	6	6	7	6
		合計中期吸収数	6	5	9	10	4
合計後期吸収数		2		3		3	
合計死亡胎児数		1					
着床後損失率(%)	16.1	11.3	18.7	18.6	17.8		
生存胎児数/着床数(%)	83.9	88.7	81.3	81.4	82.2		
胎 児 動 物	胎盤重量(g)	雄	5.09	5.71	5.57	5.28	5.86↑
		雌	4.87	5.21	5.30	5.33	5.45
		平均	4.99	5.46	5.44	5.31	5.66↑
	体重(g)	雄	33.67	35.72	36.75↑	36.75↑	36.69↑
		雌	33.64	34.86	35.36	36.62	35.98
		平均	33.66	35.79	36.56	36.69↑	36.34↑
	体長(cm)	雄	8.33	8.55	8.51	8.59↑	8.64↑
		雌	8.23	8.52↑	8.51↑	8.53↑	8.50↑
		平均	8.28	8.53↑	8.51↑	8.56↑	8.57↑
	検査動物数		82	83	61	58	59
	外表 異常	矮小児			1	1	1
		口蓋裂	1				
	内臓 異常	片側腎臓低形成	1				
		網膜膜	2	3			
	骨格 異常	片側過剰肋骨		3	1		2
両側過剰肋骨					15		
胸骨形成不全		32	23	19		9	
胸骨分節癒合		1					
個別胸骨分節の部分的骨化		31	31	23	26	30	
個別胸骨分節の位置異常		1	2		2		

統計学的手法： Fisher 直接確立検定 ↑↓； p ≤ 0.05    ⇕↓； p ≤ 0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

1-10-7 ウサギにおける催奇形性試験

(資料 46)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：ベンタゾン

試験動物：チンチラウサギ、同居開始時 4~7 ヶ月齢、1 群妊娠雌 16 匹

雌と雄 (1:1) を一晩同居させ、翌朝膣栓または精子の存在を確認したものを妊娠 0 日として試験に用いた。

投与期間：妊娠 6~18 日 ( )

投与方法：検体を 4%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁して毎日調製し、0 (対照群)、75、150 および 375mg/kg の用量で妊娠 6~18 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群の動物には、4% CMC 水溶液のみを同様に投与した。投与容量 (10 mL/kg) は投与当日の個体別体重に基づき算出した。投与液は毎日調製した。

投与量設定根拠：

試験項目：

母動物：一般状態および生死を毎日観察した。妊娠 0~28 日まで体重を毎日測定した。摂餌量は妊娠 6、15、19、24 および 28 日に測定した。妊娠 28 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児：性別の判定、体重の測定および外表異常の観察を行った後、内臓異常を観察した。その後、全胎児について骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

試験結果

(空欄は異常/対照群との差なし/発生なし)

投与群 (mg/kg/日)		対照群	75	150	375	
1 群当り動物数		16	16	16	16	
母動物	死亡動物数					
	未妊娠動物数				1	
	妊娠動物数	16	16	16	15	
	全胚吸収				1	
	生存児を有する腹数	16	16	16	14	
	一般症状					
	体重					
	摂餌量 (%) : 妊娠 6~19 日	100	105	102	94	
	腹当たり着床所見 <sup>a</sup>	黄体数	7.8	7.7	8.6	8.9
		着床数	7.7	7.4	8.4	8.4
		着床前損失率 (%)	1.6	3.3	2.2	4.8
		吸収胚数	0.3	0.1	0.3	0.1
		吸収胎児数	0.1	0.2	0.1	0.2
		胚/胎児吸収数	0.3	0.3	0.3	0.3
着床後損失率 (%)		4.1	4.2	3.7	3.4	
生存胎児数		7.4	7.1	8.1	8.1	
生存胎児数/着床数 (%)		95.9	95.8	96.3	96.6	
肉眼的所見						
胎児動物	検査対象動物数	118 (16)	114 (16)	129 (16)	114 (14)	
	体重 (g)	36.8	37.3	36.1	35.3	
	性比 (雄の%)	52.5	50.9	41.9	50.9	
	外表異常					
	内臓異常 内水頭症			1		
	骨格異常	第 5 胸骨分節二分	1 (1)	3 (3)	2 (1)	1 (1)
		第 13 胸椎体/胸椎体弓/肋骨欠如 (脊柱側湾)	1 (1)			
		右側 2 肋骨欠如		1 (1)		
		第 2-5 胸骨分節異常骨化		1 (1)		
		第 2, 3 胸骨分節異常骨化		1 (1)		
過剰胸骨分節/第 5, 6 の間				1 (1)		
第 8 肋骨遠位部拡張					1 (1)	
亜鈴型第 7 胸椎体				1 (1)		

a : 生存児を有する腹当たり着床所見。

( ) : 腹数

統計学的手法 : Wilcoxon 及び Kruskal-Wallis 検定

親動物 :

375mg/kg 群の 1 例は妊娠 22 日にケージ下に 5 胎盤が見られた。妊娠 28 日で生存児はいないで、5 着床痕、2 胚吸収痕が確認された。これは 450mg/kg を用いた予備試験で着床後損失率の増加が見られていることから、検体投与に関連性があると考えられる。その他のすべての母動物の一般症状に特記すべき変化は認められなかった。

全投与群とも体重に投与の影響は認められなかったが、摂餌量は 375mg/kg 群で投与期間中に僅かに減少(対対照比 94%)が認められた。生存児を有する腹当たり着床所見に

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

対照群との差は認められなかった。母動物の剖検で肉眼的に異常は認められなかった。

胎児動物：

胎児の体重および性比は対照群と差は認められなかった。

外表異常は認められなかった。内臓異常として、150mg/kg 群で内水頭症が1例認められたが、偶発的で投与に関連はなかった。骨格異常は表のような奇形がすべての群で認められたが、いずれもこの系統および齢で通常認められる種類および発生頻度であり、投与に関連はなかった。未骨化あるいは不完全骨化のような発育の段階についてもすべての群で同程度であり、検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギの器官形成期に強制経口投与したとき、母動物に対して、375mg/kg 群で投与期間中の摂餌量が軽度減少し、1/15 例の全胚吸収が見られた以外に投与の影響は認められなかった。胎児に対して、試験した最高用量の 375mg/kg で検体投与の影響は認められず、催奇形性も認められなかった。したがって、無毒性量は母動物に対して、150mg/kg/日、胎児動物に対して 375mg/kg/日と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

11020000

## 1-11 変異原性試験

### 1-11-1 遺伝子突然変異

#### 1-11-1-1 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 47)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA100、TA1537、TA1538、TA98 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2*hcr* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下および非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、10~1000  $\mu$ g/プレート の範囲の 5 濃度で実施した。試験は 2 連で行った。

試験結果: 次ページの表に示す。

検体では、いずれの変異株を用いても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、 $\beta$ -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンおよび 2-アミノアントラセン (2-AA) では対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から検体の復帰変異誘発性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Per121110

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 <i>hcr</i> <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)	0	-	24	13	156	3	5	20
			17	7	139	11	15	23
検体	10	-	15	12	137	7	9	20
			20	7	108	5	9	9
	50	-	20	15	169	11	9	27
			30	14	148	5	11	18
	100	-	24	14	114	6	9	23
			26	13	161	11	8	16
	500	-	20	21	137	9	9	16
			15	13	105	6	11	13
	1000	-	18	13	127	9	7	22
			19	12	114	4	8	16
対照 (DMSO)	0	+	16	9	122	9	15	23
			17	8	156	13	20	28
検体	10	+	21	6	121	7	8	28
			17	4	146	6	16	26
	50	+	25	5	126	3	12	15
			26	6	156	6	14	23
	100	+	15	7	123	15	9	21
			13	4	124	7	5	27
	500	+	12	9	131	8	8	22
			16	5	79	8	11	21
	1000	+	21	10	126	5	12	27
			27	2	107	10	15	23
陽性 対照	2-AA	-		15	238	20	15	39
				12	248	21	23	46
	$(\mu\text{g}/\text{プレート})$	-		253	-	258	5088	4808
				290	2114	291	6624	7276
			AF-2 (0.25)	$\beta$ -PL (50)	AF-2 (0.05)	9-AA (200)	2-NF (50)	AF-2 (0.1)
			2100	1056	1384	4704	4528	399
2085	1307	1494	5064	4572	371			

2-AA : 2-アミノアントラセン  
 $\beta$ -PL :  $\beta$ -プロピオラクトン

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド  
 9-AA : 9-アミノアクリジン      2-NF : 2-ニトロフルオレン



1-11-1-2 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 48)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： ベンタゾン

方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1537、TA98 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9)の存在下および非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、3.1~2000 $\mu$ g/プレートの範囲の7濃度で実施した。TA98 株の試験にはエポキシドヒドラターゼ抑制剤を添加した試験も行った。試験は2連で行った。

試験結果：

薬物	濃度 ( $\mu$ g/プレート)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート								
			塩基置換型		フレームシフト型						
			TA100		TA1537		TA98		TA98+TCPO		
対照 (DMSO)	0	-	80	85	7	25	27				
			85	111	10	12	35	37			
検体	3.1	-	97	108	6	13	25	29			
	10	-	79	102	10	12	33	35			
	31	-	100	105	9	11	31	34			
	100	-	87	94	10	13	21	41			
	310	-	91	125	5	13	22	30			
	1000	-	96	108	6	14	34	35			
	2000	-	50	97	4	12	31	32			
対照 (DMSO)	0	+	86	98	26	28	67	75	67	70	
			109	139	44	45	78	84	74	80	
検体	3.1	+	104	134	48	50	63	69	64	79	
	10	+	85	104	40	56	72	74	61	72	
	31	+	102	110	43	52	68	75	68	72	
	100	+	105	106	40	46	53	64	62	80	
	310	+	106	127	40	45	65	70	65	80	
	1000	+	104	148	29	31	66	78	77	79	
	2000	+	103	111	31	41	76	78	68	80	
陽性対照	MC	90	-	2100	2660			1150	1160		
	BP	10	-	555	605	227	226	635	650	832	850
	2-AA	5	-	1000	1080	61	81	633	642		
		10	-	2770	2970	229	234	2000	2700		
	BPO	3.1	+	680	694	350	525	6800	7900		
	MNNG	10	+	9800	11200	315	394	59	71		

2-AA : 2-アミノアントラセン BP : ベンゾ( $\alpha$ )ピレン MC : メチルコラントレン  
 BPO : ベンゾ( $\alpha$ )ピレン 4,5-オキシド MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Benfazein

検体では、いずれの変異株を用いても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたメチルコラントレン、ベンゾ( $\alpha$ )ピレン、2-アミノアントラセン、ベンゾ( $\alpha$ )ピレン-4,5-オキシドおよびN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から検体の復帰変異誘発性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Re: 184-10

1-11-1-3 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 49)

試験機関 :

報告書作成年 :

検体の純度 : ペンタゾン

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA100、TA1537、TA1538、TA98 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9)の存在下および非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、20~5000 $\mu$ g/プレートの範囲の5濃度で実施した。試験1は4プレート、試験2は2プレートを用いて行った。

試験結果 : 結果を次ページの表に示す。

5000 $\mu$ g/プレートではプレートによっては変異コロニー数の軽度減少が認められたが、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株においても対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた4-ニトロ-o-フェニレンジアミン、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび2-アミノアントラセンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果よりペンタゾンの復帰変異誘発性は陰性と考えられる。

申請者注 :

先に実施した細菌を用いる復帰突然変異試験(資料48)において、2000 $\mu$ g/プレートの濃度まで、復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、より高濃度である5000 $\mu$ g/プレートを最高濃度とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

試験 1 (4 プレートの結果を示す)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S9 Mix の有無	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					
			TA1535		TA100		TA98		TA1537		TA1538	
対照 (DMSO)		-	17	16	110	107	28	28	5	7	14	10
			12	15	101	126	34	34	6	5	12	17
検 体	20	-	18	14	105	4	27	26	4	4	12	12
			10	12	110	103	30	33	4	9	14	12
	100	-	10	15	98	95	23	27	6	8	15	17
			15	12	102	112	32	32	6	6	16	12
	500	-	18	14	119	95	34	32	6	3	14	9
			12	15	112	112	22	37	3	3	14	12
	2500	-	12	19	96	85	28	26	7	6	15	13
			18	14	107	110	29	30	5	5	14	17
	5000	-	14	13	90	94	19	31	2	2	8	10
			18	17	74	98	21	30	3		7	18
対照 (DMSO)		+	11	12	105	108	38	38	8	9	21	18
			15	13	103	97	37	42	7	8	28	19
検 体	20	+	14	9	105	112	36	40	6	8	22	20
			12	16	109	93	32	45	10	6	17	20
	100	+	13	13	99	102	33	44	7	11	27	20
			13	11	115	92	41	39	9	8	17	27
	500	+	15	16	106	91	35	40	12	8	26	34
			12	14	116	77	46	43	7	7	16	23
	2500	+	12	11	100	93	38	49	6	5	19	23
			10	10	78	66	48	47	7	9	24	24
	5000	+	7	10	73	62	29	30	6	7	22	11
			8	8	69	45	27	34	5	4	20	25
陽性 対照	2AA 10	+	204	233	1400	2400	1640	1480	197	156	735	731
			164	181	1900	1780	1470	600	195	168	804	782
	MNNG 5	-	2600	2050	2300	1800						
			2300	2150	2100	2500						
AAC 100	-							473	590			
								462	645			
NPD 10	-					519	598			347	336	
						634	576			329	292	

2AA : 2-アミノアントラセン  
AAC : 9-アミノアクリジン

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン  
NPD : 4-ニトロフェニレンジアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

160107-00

試験 2 (2 プレートの結果を示す)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix の有無	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				
			TA1535		TA100		TA98		TA1537		TA1538	
対照 (DMSO)		-	18	22	130	115	34	24	8	10	12	14
検体	20	-	17	19	118	131	29	30	6	6	16	11
	100	-	19	17	107	139	35	23	5	7	16	15
	500	-	10	17	102	126	31		7	4	11	12
	2500	-	17	21	106	103	36	28	8	6	18	10
	5000	-	22	24	97	112	28	32	3	5	12	14
対照 (DMSO)		+	14	18	106	105	42	50	7	8	27	25
検体	20	+	10	13	126	119	52	38	8	8	24	26
	100	+	17	11	106	95	37	48	5	6	25	18
	500	+	16	7	98	103	47	44	7	9	29	28
	2500	+	16	13	125	127		33	8	4	30	24
	5000	+	10	12	80	28	14	15	5	2	19	22
陽性 対照	2AA 10	+	278	310	2100	2050	1340	1510	215	149	1380	1300
	MNNG 5	-	1420	1250	1400	1350						
	AAC 100	-							693	563		
	NPD 10	-					1160	959			335	349

2AA : 2-アミノアントラセン  
AAC : 9-アミノアクリジン

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン  
NPD : 4-ニトロフェニレンジアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

bentazone

1-11-1-4 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 50)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA100、TA1537、TA1538、TA98 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2*hcr* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9)の存在下および非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、25 mg/プレートでは薬剤が析出し、試験管壁に付着するため、1000~10000  $\mu$ g/プレートの範囲の4濃度で実施した。試験は2連で行った。なお、本試験は以前に実施した試験(資料 46)より高濃度で試験した。

試験結果: 結果を次ページの表に示す。

検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株においても対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 2-ニトロフルオレンならびに 2-アミノアントラセンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果よりベンタゾンの復帰変異誘発性は陰性と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bentazone

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有 無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>hcr</i> <sup>-</sup>	TA98	TA1537	TA1538
対 照 (DMSO)		-	113	9	12	19	7	9
			104	7	10	28	5	18
検 体	1000	-	107	7	18	28	5	11
			74	7	10	22	4	12
	2500	-	76	5	12	25	4	16
			96	2	8	27	3	13
	5000	-	78	3	19	19	0	8
			63	4	18	18	0	7
	10000		12	0	18	10	0	4
			15	0	10	5	0	9
対 照 (DMSO)		+	93	12	9	25	6	22
			88	7	12	27	7	16
検 体	1000	+	110	5	14	21	1	16
			108	8	9	31	4	14
	2500	+	68*	0	15	31	0*	16*
			79*	9	10	34	0*	13*
	5000	+	33*	0*	10	34*	0*	12*
			24*	0*	9	6*	0*	18*
	10000	+	*	0*	13	2*	0*	10*
			*	0*	14	*	0*	4*
陽 性 対 照	検体 濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	-	AF-2 0.01	ENNG 10	AF-2 0.04	AF-2 0.1	9-AA 80	2-NF 2
	コロニー数/プレート		398 409	>1000 >1000	160 184	495 596	>1000 >1000	353 337
	検体 濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)		2-AA 10	2-AA 10	2-AA 40	2-AA 10	2-AA 10	2-AA 10
	コロニー数/プレート	+	>2000 >2000	441 482	600 720	>2000 >2000	145 124	>2000 >2000
		-	109 100	12 4	11 12)	30 28	7 3	21 18

\* 菌株の生育阻害を認める。

2-AA : 2-アミノアントラセン

9-AA : 9-アミノアクリジン

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

2-NF : 2-ニトロフルオレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

BASF JAPAN

1-11-1-5 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 51)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ペンタゾン

方 法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA100、TA1537、TA1538、TA98 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 $hcr$  株を用い、を用い、B6C3F1 マウス肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。20~5000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲の 5 濃度で実施した。試験は 3 プレートで、2 回行った。TA98 株については S9 mix の存在下で汚染が見られたので 3 回目の試験を行った。

結 果: 次表に示す。

検体は、代謝活性化系の有無に係らず、いずれの変異株を用いても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 4-ニトロフェニレンジアミンでは、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

申請者注:

先に実施した細菌を用いる復帰突然変異試験(資料 48)において、2000 $\mu\text{g}$ /プレートの濃度まで、復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、より高濃度である 5000 $\mu\text{g}$ /プレートを最高濃度とした。



結果（数値は各試験 3 プレートの平均値）

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2 <i>hcr</i> <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)	0	-	22	20	113	8	14	21	
			14	16	105	10	14	23	
検体	20	-	21	18	136	10	17	22	
			18	16	106	14	13	23	
	100	-	22	18	130	9	14	23	
			20	16	116	15	14	23	
	500	-	27	20	123	10	11	25	
			19	14	107	14	12	32	
	2500	-	22	21	112	8	13	23	
			19	13	106	15	13	27	
	5000	-	25	20	102	8	16	21	
			19	13	74	12	14	19	
対照 (DMSO)	0	+	28	22	109	10	29	*	
			24	16	107	12	30	42	
検体	20	+	23	21	127	9	25	*	
			25	15	120	15	25	46	
	100	+	23	19	111	8	32	*	
			24	12	113	11	28	45	
	500	+	23	15	96	12	38	*	
			25	13	93	15	27	46	
	2500	+	23	16	97	8	43	*	
			25	13	97	14	27	45	
	5000	+	21	14	70	11	34	*	
			18	10	74	9	15	26	
陽性 対照	2AA	10	+	176	158	2583	145	1890	*
				136	148	2400	345	1725*	1723
									2243
	MNNG	5	-	920	834	1627			
				337	1295*	2133			
AAC	100	-				305			
						809			
NPD	10	-					462	681	
							194	582*	
								549	

\* : 陽性対照群は 3 プレートのうち 1 枚が汚染、TA98 株は S9 mix ですべて汚染のため再試験した。

AA : 2-アミノアントラセン

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

AAC : 9-アミノアクリジン

NPD : 4-ニトロフェニレンジアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1-11-1-6

1-11-1-6 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 52)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：ベンタゾン Na 塩

方 法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA100、TA1537、TA1538、TA98 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2hcr 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下および非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、10~1000  $\mu$ g/プレートの範囲の 5 または 6 濃度で実施した。試験は 2 連で行った。

試験結果：

検体では、いずれの変異株を用いても対照群と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、 $\beta$ -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレンおよび 2-アミノアントラセンでは対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から検体の復帰変異誘発性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

10142000

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 <i>hcr</i> <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (水)	0	-	16	9	158	3	12	31
			12	7	145	9	15	29
検体	10	-	24	6	136	10	7	31
			26	6	164	6	11	25
	50	-	31	13	147	5	10	28
			19	12	167	7	7	44
	100	-	14	7	154	3	18	34
			17	8	165	8	22	43
	500	-	18	14	159	5	12	39
24			12	164	4	13	42	
1000	-	23	11	156	5	8	35	
		16	6	158	9	13	51	
3000	-	30	7	151	5	15	47	
		36	7	185	8	14	49	
対照 (水)	0	+	24	12	146	13	14	25
			16	8	154	3	15	18
検体	10	+	22	8	145	17	12	30
			18	7	150	7	17	25
	50	+	13	10	138	13	20	31
			21	9	157	10	23	27
	100	+	15	12	141	3	15	16
			22	11	124	1	17	30
	500	+	21	5	170	9	20	20
26			12	109	6	11	26	
1000	+	22	10	140	5	23	25	
		22	5	158	10	23	25	
陽性 対照	2-AA	-		11	180	20	17	64
				11	183	25	20	58
	10	+		385	6800	290	3700	5000
				378	6800	248	4000	5000
	( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	-	AF-2 (0.25)	$\beta$ -PL (50)	AF-2 (0.05)	9-AA (200)	2-NF (50)	AF-2 (0.1)
			1330	2070	1220	>10000	4400	331
			1680	1950	1000	>10000	3600	335

2-AA : 2-アミノアントラセン  
 $\beta$ -PL :  $\beta$ -プロピオラクトン  
 2-NF : 2-ニトロフルオレン

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド  
 9-AA : 9-アミノアクリジン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Ref:0200

1-11-1-7 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 53)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン Na 塩および 原液

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1538、TA1535、TA100、TA1537、TA98 株) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法 (標準プレート法およびプレインキュベーション法) で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。500~10000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の範囲の 5 濃度で実施した。試験は 3 プレートで行った。

結果:

検体は代謝活性化を含め 10000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 4-ニトロフェニレンジアミンでは、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

申請者注:

先に実施した細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 51) において、2000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の濃度まで、復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、より高濃度である 10000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$  を最高濃度とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Ref: 12-10

薬 物	濃 度 (µg/プレート)	S9Mix の 有無	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		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
純 品	対照(蒸留水)	—	20 20	91 147	9 6	13 8	22 24	
	検 体	500	—	16 16	130 109	9 6	12 10	20 26
		1000	—	9 13	128 123	9 6	13 13	24 22
		2500	—	13 16	108 112	10 8	14 6	21 22
		5000	—	12 15	114 57	6 5	12 14	22 20
		7500	—	15 20	82 44	5 6	11 10	23 15
		10000	—	9 13	18 16	7 5	9 *	17 12
	対照(蒸留水)	+	21 19	159 128	15 10	30 30	45 32	
	検 体	500	+	17 18	131 149	13 13	27 27	10 37
		1000	+	16 18	139 123	9 11	26 22	43 34
		2500	+	18 15	130 117	13 9	28 35	34 38
		5000	+	19 14	113 112	14 11	21 21	37 27
		7500	+	21 19	119 105	13 5	21 25	29 8
		10000	+	16 16	48 28	8 7	18 23	28 7
	陽性対照	2AA 10	+	437 386	1932 2433	266 268	1587 1860	798 1293
		MNNG 5	—	1610 1002	1233 1433			
AAC 100		—			627 734			
NPD 10		—				345 298	581 743	
原 体	対照(蒸留水)	—	20 20	91 147	9 6	13 9	22 22	
	検 体	500	—	18 16	97 162	8 5	14 6	26 27
		1000	—	17 18	89 148	8 5	13 14	24 24
		2500	—	18 18	117* 139	7 4	13 12*	26 19
		5000	—	16 17	87 121	8 5	12 11	23 18
		7500	—	16 16	24 75	7 5	15 6	14 15
		10000	—	13 13	5 9	5 3	11 7	15 11
	対照(蒸留水)	+	21 19	159 128	15 10	30 27	45 37	
	検 体	500	+	24 23	146 127	14 10	28 31	41 30
		1000	+	28 22	144 120	18 8	26 32	45 34
		2500	+	22 18	148 133	17 11	30 23	38 33
		5000	+	21 17	116 137	10 11	29 20	36 27
		7500	+	20 22	42 95	4 9	36 26	35 11
		10000	+	22 14	18 38	7 7	24 50	34 10
	陽性対照	2AA 10	+	437 386	1932 2433	266 268	1587 1747	798 966
		MNNG 5	—	1640 1002	1233 1443			
AAC 100		—			627 734			
NPD 10		—				345 305	581 603	

AA : 2-アミノアントラセン  
AAC : 9-アミノアクリジン

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン  
NPD : 4-ニトロフェニレンジアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Bayer AG

1-11-1-8 細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 96)

試験実施機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

被験物質の純度： ベンタゾン Na 塩 (バッチ番号 )

方 法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA98、TA1535、TA1537 株)、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

被験物質は DMSO に溶解し、標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに 0、33、100、333、1000、2750 および 5500  $\mu\text{g}$ /プレートで試験を実施した。試験はそれぞれ 3 回反復で実施した。

陽性対照として S9mix 存在下では、2-アミノアントラセン(2-AA)を、S9mix 非存在下では、N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)を用いた。

結 果： 標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに、菌種にもよるが概ね 2750  $\mu\text{g}$ /プレート以上の濃度で細胞毒性が認められた。しかし、最高濃度(5500  $\mu\text{g}$ /プレート)まで S9mix の有無に関わらず、いずれの菌株においても復帰コロニー数の増加はみられなかった。溶媒対照は背景データ範囲内であり、陽性対照は明瞭な増加を示した。

以上より、被験物質は復帰突然変異誘発性を有しないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Ref: 2021010

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法

	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	100	19	35	24	8
被験物質	33	-	100	21	31	26	10
	100	-	102	20	31	29	7
	333	-	105	17	33	26	6
	1000	-	94	20	31	26	8
	2750	-	78	11	32	23	7
	5500	-	60	11	22	16	3
陽性対照							
MNNG	5.0	-	730	953			
AAC	100	-					325
NOPD	10	-				530	
4-NQO	5.0	-			672		
溶媒対照 (DMSO)	-	+	111	19	43	33	8
被験物質	33	+	105	17	45	32	8
	100	+	111	17	33	27	9
	333	+	107	16	35	35	10
	1000	+	97	15	32	26	8
	2750	+	91	13	31	17	6
	5500	+	49	10	27	14	3
陽性対照							
2-AA	2.5	+	942	188		826	187
	60	+			212		

表中の数値は3プレートの平均値、空欄は該当なし

2-アミノアントラセン(2-AA)、N-メチルN'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Kontactus

2) プレインキュベーション法

	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	102	17	32	25	8
被験物質	33	-	114	16	42	28	6
	100	-	105	18	34	27	8
	333	-	105	19	29	25	8
	1000	-	116	18	43	28	7
	2750	-	95	16	27	20	5
	5500	-	68	9	17	13	3
陽性対照							
MNNG	5.0	-	1012	645			
AAC	100	-					399
NOPD	10	-				539	
4-NQO	5.0	-			573		
溶媒対照 (DMSO)	-	+	106	18	39	30	8
被験物質	33	+	125	16	42	29	7
	100	+	103	19	38	32	8
	333	+	122	15	47	26	7
	1000	+	106	19	40	33	8
	2750	+	91	13	27	19	6
	5500	+	40	11	21	12	1
陽性対照							
2-AA	2.5	+	822	150		565	126
	60	+			241		

表中の数値は3プレートの平均値、空欄は該当なし

2-アミノアントラセン(2-AA)、N-メチルN'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

10117001

## 1-11-2 動物細胞を用いる復帰突然変異試験

### 1-11-2-1 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた前進突然変異 (HPRT) 試験 (資料 54)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ベンタゾン

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の培養細胞 (CHO-K1-BH4 細胞) のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で、2 回行なった。溶媒として DMSO を用いた。

用量設定根拠:

陽性対照 [S-9 mix の非存在下では 5-ブロモデオキシウリジン (BrdU) 50  $\mu\text{g/mL}$ 、S-9 mix の存在下では 3-メチルコラントレン (3-MCA) 5  $\mu\text{g/mL}$ ] および陰性 (溶媒) 対照も同様に試験した。

自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を播種し ( $4 \times 10^5$  個/フラスコ)、代謝活性化系の非存在下および存在下で、無血清培地中で 4 時間、検体処理を行った。細胞を洗浄後、トリプシン処理して、細胞懸濁液を調整し、 $1.5 \times 10^6$  細胞/シャーレを 2 枚に播種培養し、突然変異発現時間 (7 日) の間に 2 回継代培養した。突然変異発現時間の終了時に、選択培地 (6-チオグアニン 10  $\mu\text{g/mL}$  添加) を含むシャーレに約  $2 \times 10^5$  細胞/シャーレを 12 枚に播種した。また、コロニー形成率を測定のために 200 細胞/シャーレを 3 枚に播種した。培養約 10 日後、固定・染色して変異コロニー数を計測した。

細胞毒性は検体処理後の最初の継代時 (処理 4 時間後) に約 200 細胞/シャーレを 3 枚に播種し 7 日間培養後、細胞数を計測した。

各指標は以下のように算出した。

細胞生存率 = [処理期間後の培養当たり平均コロニー数/陰性対照の平均コロニー数]  $\times 100$

相対増殖率 (%) = [突然変異発現期間にわたる処理培養の増加コロニー数/陰性対照の同期間にわたる増加コロニー数]  $\times 100$

絶対コロニー形成率 (%) = [シャーレ当たり平均生存コロニー数/200]  $\times 100$

突然変異頻度 = 合計変異コロニー数/[シャーレ数  $\times 2 \times 10^5 \times$  絶対コロニー形成率]

試験結果：結果を表 1～3 に示した。

代謝活性化系の非存在下(表 1)：相対増殖率は 125.3～26.3%にわたっていたが、用量関連性がなかった。培養した 3 シャーレ(7.5 mg/mL の 2 枚、15.0 mg/mL の 1 枚)で突然変異頻度が陰性対照に比較して有意に増加していたが、用量関連性は認められなかった。用量関連性のある相対増殖率の低下を示した 2 回目の試験ではいずれの濃度でも合計突然変異コロニー数および突然変異頻度に陰性対照との差は認められなかった。したがって、代謝活性化系の非存在下で突然変異誘発性を有しないものと判断した。

F-344 ラットの S-9 を使用した代謝活性化系の存在下(表 2)：10 mg/mL で中程度、12.5 および 15.0 mg/mL では極めて強い細胞毒性が認められた。培養した 4 シャーレ(1.25 mg/mL、2.5 mg/mL、12.5 mg/mL および 15.0 mg/mL の各 1 枚)で突然変異頻度が陰性対照に比較して有意に増加していたが、用量関連性は認められなかった。2 回目の試験では 7.5 mg/mL 以上では極めて強い細胞毒性が認められ、7.5～12.5 mg/mL では 1 枚しか観察できなかった。観察したいずれの濃度でも合計突然変異コロニー数および突然変異頻度に陰性対照との差は認められなかった。したがって、代謝活性化系の存在下で突然変異誘発性を有しないものと判断した。

B6C3F1 マウスの S-9 を使用した代謝活性化系の存在下(表 3)：5.0 mg/mL までは細胞毒性は認められず、7.5 mg/mL 以上で極めて強い細胞毒性が認められた。培養した 2 枚のシャーレ(10.0 および 12.5 mg/mL の各 1 枚)で突然変異頻度が陰性対照に比較して僅かに有意に増加していたが、用量関連性は認められなかった。2 回目の試験で 2.5 mg/mL でもかなりの細胞毒性が認められ(相対増殖率 20～23%)、7.5 mg/mL 以上では細胞増殖がほとんどなく、極めて強い細胞毒性が認められ、10.0 mg/mL のみ観察できた。観察したいずれの濃度でも合計突然変異コロニー数および突然変異頻度に陰性対照との差は認められなかった。したがって、代謝活性化系の存在下で突然変異誘発性を有しないものと判断した。

陽性対照：一方、陽性対照として用いた 5-ブロモデオキシウリジン(BrdU) および 3-メチルコラントレン(3-MCA)では明らかな突然変異頻度の増加を示した。

以上の結果より、代謝活性化系の有無に係らず本試験の条件下において、用量関連性のある細胞毒性が認められ、用量関連性があり、かつ再現性のある突然変異頻度の増加もないので、検体は遺伝子突然変異誘発性を有しないものと判断される。

表 1. 試験結果-代謝活性化系の非存在下

試験	濃度 (mg/mL)	細胞毒性試験		相対増殖率 (%)	突然変異試験			
		平均コロニー数	細胞生存率 (%)		合計突然変異コロニー数 <sup>a</sup>	絶対コロニー形成率 (%)	突然変異頻度 (10 <sup>-6</sup> 個当り)	
1	溶媒対照 DMSO	198.4	100.0	100.0	6	81.0	3.09	
		185.7			7	80.5	3.95	
	検体	1.25	176.7	93.0	102.4	6	83.3	3.00
			171.3	90.3	77.5	14	88.7	6.54
		2.5	162.3	85.5	82.0	8	76.8	4.38
			141.7	74.7	94.8	8	92.5	3.93
		5.0	145.3	76.6	83.0	0	81.8	0.00
			144.0	75.9	110.7	7	74.8	4.25
		7.5	129.3	68.1	125.3	13	68.0	7.97↑
			132.7	69.9	75.8	14	71.7	8.14↑
10.0	126.7	66.8	54.1	8	66.5	5.01		
	132.0	69.5	82.3	8	70.0	4.76		
12.5	117.3	61.8	61.4	1	73.8	0.62		
	109.7	57.8	82.3	5	65.8	3.17		
15.0	38.0	20.0	26.3	4	73.3	2.27		
	105.3	55.5	60.6	21	80.8	10.83↑		
陽性対照 BrdU 50 μg/mL		164.0	86.4	89.8	50	69.0	36.23↑	
		162.7	85.7	69.2	70	105.3	30.22↑	
2	溶媒対照 DMSO	189.0	100.0	100.0	10	83.3	5.00	
		164.7			8	62.3	5.35	
	検体	1.25	151.3	85.6	132.6	7	84.3	3.46
			123.3	69.7	145.8	7	81.8	3.57
		2.5	127.7	72.2	102.1	14	79.5	7.34
			139.3	78.8	117.1	11	82.7	5.54
		5.0	113.0	63.9	113.9	16	93.2	7.15
			119.0	67.3	122.4	9	84.0	4.46
		7.5	109.7	62.0	84.8	8	95.3	3.50
			95.7	54.1	50.8	9	102.8	3.65
10.0	98.3	55.6	52.4	9	104.5	3.59		
	34.3	19.4	17.6	2	69.8	1.19		
12.5	41.3	23.4	20.8	9	66.8	5.61		
	41.3	23.4	17.4	7	70.7	4.13		
15.0	14.3	8.1	2.5	6	59.8	4.18		
	17.7	10.0	3.1	3	67.0	1.87		
陽性対照 BrdU 50 μg/mL		146.0	82.6	44.5	31	71.8	17.99	
		140.7	79.5	50.2	38	70.8	22.36	

BrdU: 5-ブROMODEOキシウリジン 3-MCA: 3-メチルコラントレン

<sup>a</sup>: 検査した 12 シャーレの合計数

統計学的方法: Kastenbaum-Bowman の検定 ↑ p<0.05 † p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Reference

表 2. 試験結果-F-344 ラットの S-9 代謝活性化系の存在下

試験	濃度 (mg/mL)	細胞毒性試験		相対増殖率 (%)	突然変異試験			
		平均コロニー数	細胞生存率		合計突然変異コロニー数 <sup>a</sup>	絶対コロニー形成率 (%)	平均コロニー数	
1	溶媒対照 DMSO	177.7	100.0	100.0	10	57.8	7.21	
		168.7			10	65.2	6.39	
	検体	1.25	144.7	83.5	61.6	26	85.5	12.67 ↑
			149.3	86.2	54.5	13	81.0	6.69
		2.5	136.3	78.7	69.5	25	62.7	16.61 ↑
			173.3	100.1	72.6	14	61.2	9.53
		5.0	140.0	80.8	67.8	9	63.3	5.92
			146.0	84.3	62.2	9	70.8	5.78
		7.5	139.3	80.5	56.0	7	87.0	3.35
	145.7		84.1	46.7	6	97.0	2.58	
10.0	116.0	67.0	42.1	17	73.2	9.68		
	143.0	82.6	71.6	15	64.0	10.65		
陽性対照 3-MCA 5 μg/mL	132.5	76.5	36.9	1149	65.0	736.54 ↑		
	127.7	73.7	33.8	1034	52.7	817.52 ↑		
2	溶媒対照 DMSO	141.7	100.0	100.0	11	92.2	4.97	
		162.0			9	89.2	4.20	
	検体	2.5	141.3	93.1	87.7	2	79.8	1.04
			161.0	106.0	100.8	12	82.0	6.10
		5.0	79.0	52.0	26.5	15	80.8	7.74
			96.3	63.4	45.7	10	68.0	6.13
		7.5	7.3	4.8	0.4	10	60.0	6.94
			1.7	1.1			コロニー形成なし	
		10.0	9.0	5.9	0.9	8	57.2	5.83
	0.0		0.0			コロニー形成なし		
12.5	9.3	6.1	3.6	11	64.8	7.07		
	0.7	0.4			コロニー形成なし			
15.0	0.0	0.0			コロニー形成なし			
	0.0	0.0			コロニー形成なし			
陽性対照 3-MCA 5 μg/mL	81.3	53.6	26.3	1004	99.0	422.56		
	94.3	62.1	35.7	1173	79.7	613.24		

BrdU: 5-ブロモデオキシウリジン      3-MCA: 3-メチルコラントレン

<sup>a</sup>: 検査した 12 シャーレの合計数

統計学的方法: Kstenbaum-Bowman の検定    ↑ p<0.05    † p<0.01

表 3. 試験結果-B6C3F1 マウスの S-9 代謝活性化系の存在下

試験	濃度 (mg/mL)	細胞毒性試験		相対増殖率 (%)	突然変異試験			
		平均コロニー数	細胞生存率		合計突然変異コロニー数 <sup>a</sup>	絶対コロニー形成率 (%)	平均コロニー数	
1	溶媒対照 DMSO	129.3 118.0	100.0	100.0	2 6	95.0 74.8	0.88 3.34	
	検体	1.25	113.0 104.3	91.4 84.4	103.5 107.7	1 2	57.8 49.8	0.72 1.67
			112.0 120.7	90.6 97.6	110.8 109.6	7 4	64.7 57.0	4.51 2.92
		5.0	106.0 146.0	85.7 118.1	121.2 100.6	4 1	58.5 74.7	2.85 0.56
			3.7 5.7	3.0 4.6	3.2 3.1	0 0	46.5 61.5	0.00 0.00
		10.0	9.7 11.0	7.8 8.9	6.2 5.2	0 8	87.2 58.3	0.00 5.72↑
			22.0 14.3	17.8 11.6	24.3 14.9	8 5	58.3 65.7	5.72↑ 3.17
		15.0	15.3 24.0	12.4 19.4	6.8 16.8	4 3	70.2 66.3	2.59 2.83
			陽性対照 3-MCA 5 μg/mL	105.7 114.0	85.4 92.2	37.7 32.1	1073 929	72.8 66.8
	2	溶媒対照 DMSO	237.0 234.7	100.0	100.0	9 14	87.2 112.5	4.30 5.19
検体		1.25	206.7 216.0	87.7 91.7	49.0 54.9	12 13	123.8 146.5	4.04 3.70
			227.7 228.7	96.6 97.1	51.2 59.2	10 13	104.0 115.2	4.01 4.70
		5.0	53.3 47.0	22.6 19.9	9.9 13.4	13 9	85.3 71.7	6.35 5.23
			0.0 0.0	0.0 0.0			コロニー形成なし コロニー形成なし	
		10.0	0.3 0.3	0.1 0.1	0.3 0.4	2 3	36.7 48.8	2.27 2.56
			0.0 0.0	0.0 0.0			コロニー形成なし コロニー形成なし	
		15.0	0.0 0.0	0.0 0.0			コロニー形成なし	
			陽性対照 3-MCA 5 μg/mL	139.7 137.0	59.3 58.1	22.8 22.8	992 1006	102.5 76.2

BrdU: 5-プロモデオキシウリジン      3-MCA: 3-メチルコラントレン

<sup>a</sup>: 検査した 12 シャーレの合計数

統計学的方法: Kastenbaum-Bowman の検定    ↑ p<0.05    † p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Benzocinc

1-11-2-2 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた前進突然変異 (HPRT) 試験 (資料 55)

試験機関:

報告書作成年:

検体純度: ベンタゾン

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の培養細胞 (CHO-K1 細胞) のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (B6C3F1 マウスおよび Sprague-Dawley ラットの S-9 mix) の存在下および非存在下で、2 反復で 2 回行った。溶媒として DMSO を用いた。

用量設定のために、コロニー形成率について mg/mL の範囲で 16 時間暴露して実験を行った結果から以下の用量を選定した。

試験 1 (±S-9 mix): 0, 0.1, 0.464, 1.0, 4.64, 10.0 mg/mL (B6C3F1 の S-9)

試験 2 (+S-9 mix): 0, 0.1, 0.464, 1.0, 2.15, 4.64 mg/mL (B6C3F1 の S-9)

試験 3 (±S-9 mix): 0, 0.1, 0.464, 1.0, 2.15, 4.64 mg/mL (Sprague-Dawley の S-9)

陽性対照 [S-9 mix の非存在下ではエチルメタンサルホネート 0.3 mg/mL、S-9 mix の存在下では 3-メチルコラントレン 0.01 mg/mL] および陰性 (溶媒) 対照も同様に試験した。

自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を播種し ( $1 \times 10^5$  個/フラスコ)、24 時間培養後、代謝活性化系の非存在下および存在下で、無血清培地中で 4 時間、検体処理を行った。細胞を洗浄後、Ham's F12 血清含有培地を加え培養を続けた。突然変異発現時間 (9 日間) の間に 4 回継代培養した。4 回目の継代培養時に、選択培地 (6-チオグアニン  $10 \mu\text{g/mL}$  添加) を含むシャーレに約  $3 \times 10^5$  細胞/フラスコを播種した。また、コロニー形成率を測定のために 200 細胞/シャーレを播種した。培養 1 週間後、固定・染色して変異コロニー数を計測した。

細胞毒性は検体処理後の最初の継代時 (処理 20 時間後) および発現時間後の再播種時に約 200 細胞/フラスコを播種し、Ham's F12 培地を加え、1 週間培養後、固定・染色して変異コロニー数を計測した。

試験結果: 結果を表 1~3 に示した。

代謝活性化系の非存在下 (表 1 および 3): 4.64 mg/mL 以上では細胞増殖が認められなかった。2 回の繰り返し実験において、いずれの濃度でも突然変異コロニー数および突然変異頻度に陰性対照との差は認められなかった。したがって、代謝活性化系の非存在下で突然変異誘発性を有しないものと判断した。

B6C3F1 マウスの S-9 を使用した代謝活性化系の存在下 (表 1 および 2): 1 回目の試験では

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

bayer

4.64 mg/mL 以上では細胞増殖が認められなかった。0.464 および 1.0 mg/mL ではコロニー形成率が対照の半分以下 (48%) に抑制され、1.0 mg/mL で弱い突然変異頻度の増加 (変異頻度 21.3/10<sup>6</sup>細胞) が認められた。これは、背景データのボーダーライン 15 個/10<sup>6</sup>細胞より僅かに高い程度で、次の低用量 (0.464 mg/mL) では対照群と同等で、用量反応が見られなかった。2 回目の試験では細胞の増殖がよく、最高用量 (4.64 mg/ml) で対照の半分以下 (41%) に抑制され、この用量で突然変異頻度の増加が認められた。2.15 mg/mL 以下の用量では細胞毒性もほとんどなく、突然変異頻度の増加も認められなかった。したがって、細胞毒性のある用量でのみ弱い突然変異誘発性が認められた。

F-344 ラットの S-9 を使用した代謝活性化系の存在下 (表 3) : 4.64 mg/mL では極めて強い細胞毒性が認められた。2.15 mg/mL まで、いずれの濃度でも突然変異コロニー数および突然変異頻度に陰性対照との差は認められなかった。

陽性対照 : 陽性対照として用いた 3-メチルコラントレンおよびエチルメタンサルホネートでは明らかな突然変異頻度の増加を示した。

以上の結果より、本試験の条件下において、代謝活性化系の非存在下では突然変異頻度の増加は認められなかった。また、代謝活性化系の存在下において、Sprague-Dawley 系ラットから調製した S-9 の存在下でも突然変異頻度の増加は認められなかったが、B6C3F1 マウスの S-9 の存在下では細胞毒性のある濃度でのみ軽度の突然変異頻度の増加が認められた。

表 1. 試験結果-試験 1 (S-9 は B6C3F1 マウス由来)

S-9 mix	濃度 (mg/mL)	細胞毒性試験		突然変異試験			
		コロニー数	播種細胞に対するコロニー数の比率%	合計突然変異コロニー数/5 フラスコ	突然変異頻度 (10 <sup>6</sup> 個当り)		
無	溶媒対照 (DMSO)	212	192	101.0	8	5.3	
	検体	0.1	185	158	85.7	0	0
		0.464	153	142	73.7	3	2.0
		1.0	99	108	51.7	0	0
		4.64	0	0	0		
		10.0	0	0	0		
陽性対照 EMS 0.3	22	30	13.0	408	272		
有	溶媒対照 (DMSO)	139	142	70.2	0	0	
	検体	0.1	138	139	69.2	2	1.3
		0.464	100	92	48.0	4	2.7
		1.0	94	96	47.5	32	21.3
		4.64	0	0	0		
		10.0	0	0	0		
陽性対照 MCA 0.01	94	47		729	486		

EMS : エチルメタンサルホネート、MCA : 3-メチルコラントレン  
統計処理は実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

16-52000-00

表 2. 試験結果-試験 2 (S-9 は B6C3F1 マウス由来)

S-9 mix	濃度 (mg/mL)	細胞毒性試験		突然変異試験		
		コロニー数	播種細胞に対するコロニー数の比率%	合計突然変異コロニー数/5 フラスコ	突然変異頻度 (10 <sup>6</sup> 個当り)	
有	溶媒対照 (DMSO)	218 203	105.25	4	2.7	
	検体	0.1	210 208	104.5	0	0
		0.464	202 195	99.25	0	0
		1.0	165 157	80.5	2	1.3
		2.15	160 130	72.5	10	6.7
		4.64	78 84	40.5	59	39.3
陽性対照 MCA 0.01	132 103	58.75	850	566.7		

MCA : 3-メチルコラントレン

表 3. 試験結果-試験 3 (S-9 は Sprague-Dawley ラット由来)

S-9 mix	濃度 (mg/mL)	細胞毒性試験		突然変異試験		
		コロニー数	播種細胞に対するコロニー数の比率%	合計突然変異コロニー数/5 フラスコ	突然変異頻度 (10 <sup>6</sup> 個当り)	
無	溶媒対照 (DMSO)	243 238	120.25	4	2.7	
	検体	0.1	269 246	128.75	5	3.3
		0.464	249 255	126.0	0	0
		1.0	230 214	111.0	0	0
		2.15	213 216	107.25	1	0.7
		4.64				
陽性対照 EMS 0.3	219 228	111.75	363	242.0		
有	溶媒対照 (DMSO)	227 202	107.25	4	2.7	
	検体	0.1	239 218	114.25	0	0
		0.464	225 191	104.0	10	6.7
		1.0	237 205	110.5	0	0
		2.15	204 193	99.25	0	0
		4.64	22 19	10.25		
陽性対照 MCA 0.01	79 115	48.5	725	486.0		

EMS : エチルメタンサルホネート、MCA : 3-メチルコラントレン



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Boehringer

1-11-2-3 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた前進突然変異 (HPRT) 試験 (資料 56)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ベンタゾン

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の培養細胞 (CHO-K1 細胞) のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (B6C3F1 マウスおよび Sprague-Dawley ラットの S-9 mix) の存在下および非存在下で、2 反復で 2 回行なった。溶媒として DMSO を用いた。

既実施のデータを参考にして、用量設定は実施せず、0.10~5 mg/mL の範囲の 6 濃度で試験した。

陽性対照 [S-9 mix の非存在下ではエチルメタンスルホネート 0.6 mg/mL、S-9 mix の存在下では 7,12-ジメチルベンゾ ( $\alpha$ ) アントラセン 7.7  $\mu$ g/mL] および陰性 (無処置および溶媒) 対照も同様に試験した。

自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を播種し ( $2 \times 10^6$  細胞/フラスコ)、24 時間培養後、代謝活性化系の非存在下および存在下で、無血清培地中で 4 時間、検体処理を行った。細胞を洗浄後、完全培地を加え 3 または 4 日間培養した後、1 回継代培養し、3 または 4 日後に選択培地 (6-チオグアニン 11  $\mu$ g/mL 添加) を含む培地に  $3 \sim 5 \times 10^6$  細胞/フラスコを播種して継代培養した。また、コロニー形成率を測定のために 500 細胞/フラスコを播種した。培養約 1 週間後、固定・染色して変異コロニー数を計測した。

細胞毒性は 500 細胞/フラスコを播種後、検体を同様に処理後、1 週間培養して固定・染色してコロニー数を計測した。

試験結果: 2 回行った試験結果を表 1 および 2 に示した。

両試験において、代謝活性化系の非存在下および存在下で 5000  $\mu$ g/mL では顕著な細胞毒性が認められた。初回継代時の細胞密度は、代謝活性化系の非存在下における試験 2 の 3000  $\mu$ g/mL では陰性対照の約半分であったが、その他の濃度では陰性対照との差はほとんど認められなかった。

検体処理区のすべての突然変異頻度 ( $10^6$  細胞当り) は、代謝活性化系の非存在下および存在下の両試験で 0.0~14.1 個/ $10^6$  細胞の範囲で、陰性および溶媒対照 (0~5.6 個/ $10^6$  細胞) の範囲より僅かに多かったが、背景データの範囲内 (1~32 個/ $10^6$  細胞) に入り、生物学的に意義のある突然変異頻度の増加はないものと考えられる。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンスルホネートおよび 7,12-ジメチルベンゾ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Reference

( $\alpha$ )アントラセンでは明らかな突然変異頻度の増加を示した。

以上の結果より、本試験の条件下において、代謝活性化系の非存在下および存在下において、突然変異頻度の増加は認められなかった。したがって、突然変異誘発性はないものと判断される。

表 1. 突然変異試験結果—試験 1

S-9 mix	濃度 (mg/mL)	細胞毒性		突然変異試験			
		播種細胞に対するコロニー数の比率 %a	陰性対照コロニー数の比率	播種細胞に対するコロニー数の比率 %a	突然変異コロニー数/フラスコ b	突然変異頻度 (10 <sup>6</sup> 個当り)	
無	陰性対照 (無処置)	84.6	100.0	59	1.2	5.5	
	溶媒対照 (DMSO)	56.0	100.0	53	0.2	0.8	
	検体	0.10	52.9	94.6	51	0.4	1.8
		0.30	49.4	88.3	培養を継続せず		
		0.60	42.9	76.7	47	1.6	7.0
		1.20	45.4	81.0	44	2.8	14.1
		2.50	40.0	71.5	45	0.6	3.5
		5.00	0.0	0.0	顕著な毒性あり		
	陽性対照 EMS 0.6	43.0	50.8	39	34.0	228.8	
	有	陰性対照 (無処置)	54.4	100.0	63	0.4	1.4
溶媒対照 (DMSO)		48.5	100.0	65	0.2	0.8	
検体		0.10	41.6	85.8	69	3.8	12.9
		0.30	40.7	84.0	培養を継続せず		
		0.60	43.8	90.4	76	1.6	5.4
		1.20	41.0	84.6	65	1.4	4.9
		2.50	32.5	67.1	63	0.8	2.6
		5.00	22.3	46.0	顕著な毒性あり		
陽性対照 DMBA 7.7 $\mu$ g		35.7	73.5	64	39.2	143.8	

a: 処理後、7日間培養後に2フラスコの平均値

b: 選択培地播種8日後の5フラスコの平均値

EMS: エチルメタンサルホネート、DMBA: 7,12-ジメチルベンゾ( $\alpha$ )アントラセン

表 2. 突然変異試験結果—試験 2

S-9 mix	濃度 (mg/mL)	細胞毒性		突然変異試験			
		播種細胞 に対する コロニー 数の比 率%a	陰性対照 コロニー数の 比率	播種細胞 に対する コロニー 数の比 率%a	突然変 異コロニー 数/フラスコ b	突然変 異頻度 (10 <sup>6</sup> 個 当り)	
無	陰性対照(無処置)	44.9	100.0	55	1.0	4.8	
	溶媒対照(DMSO)	50.4	100.0	58	1.2	5.6	
	検体	0.10	58.6	116.2	57	1.6	7.0
		0.30	48.3	95.8	培養を継続せず		
		0.60	44.0	87.4	50	0.0	0.0
		1.20	48.8	96.8	53	0.6	3.2
		2.50	38.4	76.2	57	1.38	9.4
		5.00	38.6	76.6	顕著な毒性あり		
	陽性対照 EMS 0.6	2.8	6.3	28	39.8	473.8	
	有	陰性対照(無処置)	57.2	100.0	44	0.0	0.0
溶媒対照(DMSO)		58.3	100.0	51	0.6	3.0	
検体		0.10	52.4	89.9	58	1.8	8.3
		0.30	56.8	97.4	培養を継続せず		
		0.60	56.6	97.1	64	0.2	0.8
		1.20	47.2	80.9	26	0.0	0.0
		2.50	20.7	35.5	43	1.0	5.9
		5.00	50.2	86.1	顕著な毒性あり		
陽性対照 DMBA 7.7 μg		53.4	91.7	50	29.6	155.4	

a : 処理後、7日間培養後に2フラスコの平均値

b : 選択培地播種8日後の5フラスコの平均値

EMS : エチルメタンサルホネート、DMBA : 7,12-ジメチルベンゾ(α)アントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Patent

1-11-2-4 チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用いた

*in vitro* 遺伝子突然変異試験 (HPRT 遺伝子突然変異試験)

(資料 97)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質の純度: ペンタゾン Na 塩

(バッチ番号 )

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を、フェノバルビタールと  $\beta$  ナフトフラボンで誘導したラット肝臓 S9mix の存在下及び非存在下で、2 回の独立した試験を実施した。

自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞をフラスコに播種し (0.5ml/25cm<sup>2</sup>)、20~24 時間培養した。1 回目の試験では、代謝活性化系 (S9mix) 非存在下及び存在下で 4 時間、2 回目の試験では存在下で 4 時間および非存在下で 24 時間、所定量の被験物質に暴露させた。細胞を HBSS バッファーで数回洗浄した後、10%FCS を含む培地を添加して再び培養した。途中で 1 度継代を挟み、被験物質処理開始から合計 7~9 日の発現期間を経た後に、6-チオグアニンを含む選択培地に播種・継代した。さらに選択培地で 6~8 日間培養して突然変異細胞コロニーを形成させ、最後に培地を除去し、コロニーをメタノールで固定、ギムザ染色して計数した。これと並行し、被験物質暴露終了後 (CE1)、および選択培地への継代直前 (CE2) に、細胞の一部を 10%FCS を含む培地に移し、5~8 日培養して、それぞれコロニー形成率を測定し、細胞毒性の判定に用いた。試験は全試験 2 回反復で実施した。

用量設定試験: 3000  $\mu$ g/mL (約 10 mM) までの濃度で、本試験と同じ方法を用いて S9 mix の存在下および非存在下の両方の条件下で 4 時間の暴露を、S9 mix の非存在下で 24 時間の暴露を行った。その結果、4 時間暴露群では濃度によらず S9mix 非存在下および存在下ともに細胞毒性は認められなかった。一方、S9 mix の非存在下 24 時間暴露群では、最大濃度の 3000  $\mu$ g/mL において細胞毒性が認められた。また、最大濃度まで沈殿は認められなかった。以上の結果から以下のとおり 1 回目の濃度を設定し、2 回目は 1 回目の結果を加味して濃度を設定した。

- ・ 1 回目： S9 mix 非存在下および存在下 (4 時間暴露)

0; 187.5, 375, 750, 1500, 3000  $\mu\text{g/mL}$

- ・ 2 回目： S9 mix 非存在下 (24 時間暴露)

0; 187.5, 375, 750, 1500, 3000  $\mu\text{g/mL}$

および S9 mix 存在下 (4 時間暴露)

0; 536, 1071, 2143, 3000  $\mu\text{g/mL}$

陽性対照として、S9mix 非存在下にはエチルメタンサルホネート (EMS) 300  $\mu\text{g/mL}$  を、および S9mix 存在下ではメチルコラントレン (MCA) 20  $\mu\text{g/mL}$  を用いた。陰性対照として被験物質を添加せず、その他被験物質処理群と同様の処理したものを用いた。

結 果： 結果を表 1 および 2 に示した。

最高濃度まで細胞毒性や被験物質の沈殿は認められず、細胞の形態にも異常はなかった。

本被験物質は独立した 2 回の試験 (4 および 24 時間の被験物質への暴露) において、S9mix の有無にかかわらず、突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。一方、陽性対照として用いた EMS 及び MCA 処理群では突然変異発現頻度が明らかに増加し、陰性対照群の突然変異発現頻度は背景データの範囲にあり、試験の妥当性に問題はなかった。

以上の結果より、本被験物質は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。従って、本実験条件下において、被験物質は CHO 細胞を用いた *in vitro* HPRT 遺伝子突然変異試験において突然変異誘発性を有しないと結論する。

表 1 結果 (1 回目の試験)

群/用量		暴露時間 [hr]	S9 Mix	沈殿の有無	細胞毒性 CE1 (%)		細胞毒性 CE2 (%)		突然変異頻度 (/10 <sup>6</sup> 細胞)	
					絶対	相対	絶対	相対	絶対	補正
陰性対照		4	-	-	80.3	100.0	86.8	100.0	0.83	1.03
被験物質 ( $\mu\text{g/mL}$ )	187.5			-	89.1	111.1	-	-	-	-
	375.0			-	91.5	114.0	86.8	100.0	1.39	1.59
	750.0			-	91.8	114.3	81.9	94.4	1.11	1.35
	1500.0			-	85.3	106.2	88.4	101.9	0.83	0.85
	3000.0			-	76.8	95.6	89.8	103.5	0.83	0.95
陽性対照 (EMS) 300.0 $\mu\text{g/mL}$				-	81.5	101.6	89.5	103.2	68.33	76.44
陰性対照		4	+	-	88.9	100.0	87.0	100.0	2.50	2.88
被験物質 ( $\mu\text{g/mL}$ )	187.5			-	90.8	102.1	-	-	-	-
	375.0			-	90.5	101.8	85.9	98.7	1.39	1.73
	750.0			-	99.0	111.4	87.1	100.1	1.94	2.46
	1500.0			-	92.5	104.1	90.1	103.6	1.94	2.09
	3000.0			-	95.8	107.7	89.0	102.3	0.00	0.00
陽性対照 (MCA) 20 $\mu\text{g/mL}$				-	93.1	104.8	79.4	79.4	42.22	53.15

表中の数値は 2 回反復の平均値

絶対：コロニー形成数/播種した細胞数、相対：陰性対照群を 100 とした場合の相対値

CE1：被験物質暴露後のコロニー形成率

CE2：被験物質暴露後、選択培地への継代直前のコロニー形成率

補正：CE2 (絶対) を基に補正した値

表 2 結果 (2 回目の試験)

群/用量		暴露時間 [hr]	S9 Mix	沈殿の有無	細胞毒性 CE1 (%)		細胞毒性 CE2 (%)		突然変異頻度 (/10 <sup>6</sup> 細胞)	
					絶対	相対	絶対	相対	絶対	補正
陰性対照		24	-	-	76.8	100.0	78.0	100.0	2.78	3.57
被験物質 ( $\mu\text{g/mL}$ )	187.5			-	69.3	90.2	-	-	-	-
	375.0			-	84.9	110.6	78.3	100.3	6.39	8.17
	750.0			-	67.8	88.3	72.1	92.5	2.78	3.92
	1500.0			-	54.6	71.2	68.1	87.3	0.83	1.21
	3000.0			-	37.4	48.7	80.3	102.9	1.94	2.48
陽性対照 (EMS) 300.0 $\mu\text{g/mL}$				-	62.1	80.9	66.1	84.8	233.89	352.70
陰性対照		4	+	-	78.0	100.0	83.8	100.0	1.94	2.31
被験物質 ( $\mu\text{g/mL}$ )	536.0			-	90.3	115.7	75.9	90.6	6.11	8.14
	1071.0			-	92.6	118.8	85.6	102.2	1.39	1.60
	2143.0			-	89.3	114.4	73.9	88.2	3.33	4.51
	3000.0			-	83.8	107.4	78.4	93.6	3.06	3.75
陽性対照 (MCA) 20 $\mu\text{g/mL}$				-	92.3	118.3	74.0	88.4	64.44	87.14

表中の数値は 2 回反復の平均値

絶対：コロニー形成数/播種した細胞数、相対：陰性対照群を 100 とした場合の相対値

CE1：被験物質暴露後のコロニー形成率

CE2：被験物質暴露後、選択培地への継代直前のコロニー形成率

補正：CE2 (絶対) を基に補正した値