

ビフェニルのラット及びマウスを用いた  
経口投与によるがん原性試験(混餌試験)報告書

試験番号：ラット/0205；マウス/0206

CAS No. 92 - 52 - 4

平成8年6月28日

中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター

ビフェニルのラット及びマウスを用いた  
経口投与によるがん原性試験(混餌試験)報告書

試験番号：ラット/0205；マウス/0206

本 文

要約	1
I 試験材料	
I - 1 被験物質	
I - 1 - 1 名称と別名	2
I - 1 - 2 構造式、分子量	2
I - 1 - 3 物理化学的性状等	2
I - 2 被験物質の使用ロット等	2
I - 3 被験物質の同一性・安定性	
I - 3 - 1 同一性	3
I - 3 - 2 安定性	3
I - 4 試験動物	3
II 試験方法	
II - 1 投与	
II - 1 - 1 投与経路、投与方法及び投与期間	4
II - 1 - 2 投与濃度	4
II - 1 - 3 被験物質の調製方法	4
II - 1 - 4 調製被験物質の濃度測定	4
II - 1 - 5 調製被験物質の安定性	5
II - 1 - 6 被験物質の摂取量	5
II - 2 動物管理	
II - 2 - 1 各群の使用動物数	5
II - 2 - 2 群分け及び個体識別方法	5
II - 2 - 3 飼育条件	6

II - 3	観察・検査項目及び方法	
II - 3 - 1	動物の一般状態の観察	7
II - 3 - 2	体重測定	7
II - 3 - 3	摂餌量測定	7
II - 3 - 4	血液学的検査	7
II - 3 - 5	血液生化学的検査	7
II - 3 - 6	尿検査	7
II - 3 - 7	病理学的検査	8
II - 4	数値処理と統計学的方法	
II - 4 - 1	数値の取り扱いと表示	9
II - 4 - 2	母数の取り扱い	9
II - 4 - 3	統計方法	10
II - 5	試資料の保管	10
III	試験成績	
III - 1	ラットを用いたがん原性試験	
III - 1 - 1	動物の状態観察	11
III - 1 - 2	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	12
III - 1 - 3	病理学的検査	
雄		14
雌		16
III - 2	マウスを用いたがん原性試験	
III - 2 - 1	動物の状態観察	18
III - 2 - 2	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	19
III - 2 - 3	病理学的検査	
雄		21
雌		22

#### IV 考察及びまとめ

##### IV-1 ラット

IV-1-2 血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査 .....24

IV-1-3 病理学的検査 .....25

##### IV-2 マウス

IV-2-1 生死状況、体重、摂水量、摂餌量等 .....28

IV-2-2 病理学的検査 .....28

IV-3 膀胱腫瘍の発生のメカニズム .....31

V 結論 .....32

VI 文献 .....33

## TABLES

TABLE 1	EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE DRINKING STUDIES OF BIPHENYL
TABLE 2	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (TWO-YEAR STUDY)
TABLE 3	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (TWO-YEAR STUDY)
TABLE 4	INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION IN MALE RAT
TABLE 5	INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION IN FEMALE RAT
TABLE 6	FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT (TWO-YEAR STUDY)
TABLE 7	FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT (TWO-YEAR STUDY)
TABLE 8	BIOCHEMISTRY IN MALE RAT
TABLE 9	BIOCHEMISTRY IN FEMALE RAT
TABLE 10	URINALYSIS IN RAT
TABLE 11	NEOPLASTIC LESIONS ( URINARY BLADDER ) INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS IN MALE RAT
TABLE 12	NUMBER OF RATS WITH SELECTED LESIONS OF THE URINARY BLADDER
TABLE 13	NUMBER OF RATS WITH SELECTED LESIONS OF THE URETER
TABLE 14	NUMBER OF RATS WITH SELECTED LESIONS OF THE KIDNEY
TABLE 15	CAUSE OF DEATH IN RATS
TABLE 16	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (TWO-YEAR STUDY)
TABLE 17	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (TWO-YEAR STUDY)
TABLE 18	INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION IN MALE MOUSE
TABLE 19	INCIDENCE OF EXTERNAL AND INTERNAL MASS IN CLINICAL OBSERVATION IN FEMALE MOUSE
TABLE 20	FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE (TWO-YEAR STUDY)
TABLE 21	FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (TWO-YEAR STUDY)

## TABLES(CONTINUED)

TABLE 22	BIOCHEMISTRY IN MALE MOUSE
TABLE 23	BIOCHEMISTRY IN FEMALE MOUSE
TABLE 24	NEOPLASTIC LESIONS ( LIVER ) INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS IN MALE MOUSE
TABLE 25	NEOPLASTIC LESIONS ( LIVER ) INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS IN FEMALE MOUSE
TABLE 26	NUMBER OF MICE WITH SELECTED LESIONS OF THE LIVER
TABLE 27	CAUSE OF DEATH IN MICE

## FIGURES

- FIGURE 1 SURVIVAL ANIMAL RATE : RAT : MALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 2 SURVIVAL ANIMAL RATE : RAT : FEMALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : MALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES : RAT : FEMALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION : RAT : MALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION : RAT : FEMALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 7 SURVIVAL ANIMAL RATE : MOUSE : MALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 8 SURVIVAL ANIMAL RATE : MOUSE : FEMALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 9 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : MALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 10 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE : FEMALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 11 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : MALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 12 FOOD CONSUMPTION : MOUSE : FEMALE (TWO-YEAR STUDY)
- FIGURE 13 ラット雄における尿路系病変の発生過程



## PHOTOGRAPHS

- PHOTOGRAPH 1 URINARY BLADDER, NODULE (TRANSITIONAL CARCINOMA) (A), CALCULS (B)  
RAT, MALE, 4500ppm, ANIMAL NO. 0205-1349
- PHOTOGRAPH 2 URINARY BLADDER, TRANSITIONAL CARCINOMA (A),  
BASAL CELL HYPERPLASIA : TRANSITIONAL EPITHELIUM (B)  
RAT, MALE, 4500ppm, ANIMAL NO. 0205-1317  
(H&E, — : 200  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 3 URINARY BLADDER, TRANSITIONAL PAPILLOMA (↑)  
RAT, MALE, 4500ppm, ANIMAL NO. 0205-1347  
(H&E, — : 500  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 4 URINARY BLADDER, INFLAMMATORY POLYP (↑)  
RAT, MALE, 4500ppm, ANIMAL NO. 0205-1301  
(H&E, — : 500  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 5 URINARY BLADDER, PAPILLARY HYPERPLASIA : TRANSITIONAL EPITHELIUM (↑)  
RAT, FEMALE, ANIMAL NO. 0205-2341  
(H&E, — : 4500  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 6 URINARY BLADDER, NODULAR HYPERPLASIA : TRANSITIONAL EPITHELIUM (↑)  
RAT, MALE, 4500ppm, ANIMAL NO. 0205-1317  
(H&E, — : 200  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 7 URINARY BLADDER, SQUAMOUS CELL HYPERPLASIA (↑)  
RAT, MALE, 4500ppm, ANIMAL NO. 0205-1324  
(H&E, — : 200  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 8 LIVER, HEPATOCELLULAR CARCINOMA (↑)  
MOUSE, FEMALE, 6000ppm, ANIMAL NO. 0206-2311  
(H&E, — : 200  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 9 LIVER, HEPATOCELLULAR ADENOMA (↑)  
MOUSE, FEMALE, 2000ppm, ANIMAL NO. 0206-2230  
(H&E, — : 500  $\mu$  m)
- PHOTOGRAPH 10 LIVER, BASOPHILIC FOCUS (↑)  
MOUSE, FEMALE, 6000ppm, ANIMAL NO. 0206-2307  
(H&E, — : 500  $\mu$  m)

## APPENDIXES

APPENDIX A 1	CLINICAL OBSERVATION ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX A 2	CLINICAL OBSERVATION ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX A 3	CLINICAL OBSERVATION ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX A 4	CLINICAL OBSERVATION ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE
APPENDIX B 1	BODY WEIGHT CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX B 2	BODY WEIGHT CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX B 3	BODY WEIGHT CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX B 4	BODY WEIGHT CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE
APPENDIX C 1	FOOD CONSUMPTION CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX C 2	FOOD CONSUMPTION CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX C 3	FOOD CONSUMPTION CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX C 4	FOOD CONSUMPTION CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE
APPENDIX D 1	CHEMICAL INTAKE CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX D 2	CHEMICAL INTAKE CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX D 3	CHEMICAL INTAKE CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX D 4	CHEMICAL INTAKE CHANGES ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE

## APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX E 1	HEMATOLOGY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX E 2	HEMATOLOGY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX E 3	HEMATOLOGY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX E 4	HEMATOLOGY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE
APPENDIX F 1	BIOCHEMISTRY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX F 2	BIOCHEMISTRY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX F 3	BIOCHEMISTRY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX F 4	BIOCHEMISTRY ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE
APPENDIX G 1	URINALYSIS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX G 2	URINALYSIS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX G 3	URINALYSIS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX G 4	URINALYSIS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE

## APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX H 1	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX H 2	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX H 3	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX H 4	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY :SUMMARY ) RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX H 5	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY SUMMARY ) MOUSE : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX H 6	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY :SUMMARY ) MOUSE : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX H 7	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY :SUMMARY ) MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX H 8	GROSS FINDINGS ( TWO-YEAR STUDY :SUMMARY ) MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX I 1	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , ABSOLUTE RAT : MALE
APPENDIX I 2	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , ABSOLUTE RAT : FEMALE
APPENDIX I 3	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , ABSOLUTE MOUSE : MALE
APPENDIX I 4	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , ABSOLUTE MOUSE : FEMALE
APPENDIX J 1	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , RELATIVE RAT : MALE
APPENDIX J 2	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , RELATIVE RAT : FEMALE
APPENDIX J 3	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , RELATIVE MOUSE : MALE
APPENDIX J 4	ORGAN WEIGHT ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) , RELATIVE MOUSE : FEMALE

## APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX K 1	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX K 2	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX K 3	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX K 4	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX K 5	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX K 6	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX K 7	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX K 8	HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX L 1	NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED RAT : MALE
APPENDIX L 2	NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED RAT : FEMALE
APPENDIX L 3	NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED MOUSE : MALE
APPENDIX L 4	NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED MOUSE : FEMALE
APPENDIX M 1	HISTOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE
APPENDIX M 2	HISTOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE
APPENDIX M 3	HISTOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE
APPENDIX M 4	HISTOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE

## APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX N 1	NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS RAT : MALE
APPENDIX N 2	NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS RAT : FEMALE
APPENDIX N 3	NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS MOUSE : MALE
APPENDIX N 4	NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS MOUSE : FEMALE
APPENDIX O 1	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX O 2	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX O 3	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX O 4	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX O 5	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX O 6	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
APPENDIX O 7	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX O 8	HISTOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR ( TWO-YEAR STUDY : SUMMARY ) MOUSE : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
APPENDIX P 1	IDENTITY OF BIPHENYL ( TWO-YEAR STUDY )
APPENDIX P 2	STABILITY OF BIPHENYL ( TWO-YEAR STUDY )
APPENDIX P 3	CONCENTRATION OF BIPHENYL IN FORMULATED DIETS ( TWO-YEAR STUDY : RAT )
APPENDIX P 4	CONCENTRATION OF BIPHENYL IN FORMULATED DIETS ( TWO-YEAR STUDY : MOUSE )
APPENDIX P 5	STABILITY OF BIPHENYL IN FORMULATED DIETS ( TWO-YEAR STUDY )
APPENDIX Q 1	DOSE FORMULATIONS IN BIPHENYL
APPENDIX R 1	METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS
APPENDIX R 2	UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

## 要約

ビフェニルのがん原性を検索する目的でラットとマウスを用いて経口投与による2年間（105週間）の試験を実施した。

試験にはF344/DuCrj(Fischer)ラットとCrj:BDF<sub>1</sub>マウスを用いた。被験物質投与群3群と対照群1群の計4群の構成で、雌雄各群とも50匹とし、合計ラット400匹、マウス400匹を用いた。投与は、ビフェニルと粉末飼料を混合調製した混餌を動物に自由摂取することにより行った。投与濃度は、ラットは雌雄とも500ppm、1500ppm、4500ppm（公比3.0）、マウスは雌雄とも667ppm、2000ppm、6000ppm（公比3.0）とした。観察、検査項目は、一般状態の観察、体重、摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

ラットの雄では、ビフェニルの投与により4500ppm群で、膀胱の腫瘍や血尿による死亡のため生存率が低下した。同群では膀胱腫瘍が発生し、腫瘍の種類は主に移行上皮癌及び移行上皮乳頭腫であり、少数例が、扁平上皮癌や扁平上皮乳頭腫であった。また、多くの例に膀胱や腎盂に結石が認められた。非腫瘍性病変では4500ppm群で膀胱に炎症性ポリープや上記の腫瘍の前段階と思われる増殖性病変（移行上皮過形成）がみられた。また、尿管や腎盂においても4500ppm群に移行上皮の過形成が認められた。雌では、非腫瘍性の増殖性病変（移行上皮過形成）が膀胱、尿管及び腎盂にみられ、膀胱、腎盂に結石も認められた。しかし、その発生は雄に比べて少なく、膀胱に腫瘍の発生はみられなかった。

マウスでは、ビフェニルの投与により雌の肝臓に肝細胞癌が全投与群で、肝細胞腺腫が2000ppm以上の群で発生増加を示し、その腫瘍の前段階と思われる好塩基性小増殖巣も2000ppm以上の群で発生増加を示した。上記の腫瘍の発生数は2000ppm群で顕著に発生増加を示し、<sup>6000</sup>~~4500~~ppm群でそれをやや下回る傾向を示し、腫瘍の前段階と思われる好塩基性小病巣も同じ傾向を示した。これらの傾向は<sup>6000</sup>~~4500~~ppm群の体重増加の抑制に起因したと考えられた。一方、雄では摂餌量の低下や体重増加の抑制が観察され、それに伴ったと推察される肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生低下が認められた。

F344/DuCrj(Fischer)ラットでは雄に膀胱の移行上皮癌、移行上皮乳頭腫、扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫が発生し、ビフェニルのがん原性が証明された。Crj:BDF<sub>1</sub>マウスでは、雌の肝臓に肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生増加が認められ、ビフェニルのがん原性が証明された。

I 試験材料

I - 1 被験物質の性状等

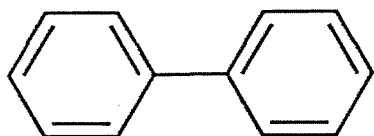
I - 1 - 1 名称と別名

名称 : Biphenyl

別名 : Diphenyl, Bibenzene, Phenylbenzene

CAS.No. : 92-52-4

I - 1 - 2 構造式、分子量 (文献 1)



$C_{12}H_{10}$

分子量 : 154

I - 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1)

性状 : 無色ウロコ状または白色ウンモ状晶

沸点 : 255.2°C

融点 : 70.5°C

比重 : 1.1750 (20°C)

溶解性 : 水に不溶、エタノール、エーテルに可溶、

I - 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : TMN6529

製造元 : 和光純薬株式会社

グレード : 特級

純度 : 98%以上



### I - 3 被験物質の同一性・安定性

#### I - 3 - 1 同一性

被験物質の同一性の確認はマススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、文献値と比較することにより行った。その結果、マススペクトルでは文献（文献 2）と同じ分子イオン及びフラグメントピークが確認された。また、赤外吸収スペクトルでは文献（文献 3）と同じ波数にピークが認められ、ビフェニルであることを確認した。

それらの結果については、APPENDIX P 1に示した。

#### I - 3 - 2 安定性

被験物質の安定性は投与開始前及びその投与終了後に、赤外吸収スペクトル測定及びガスクロマトグラフ分析を実施し、それぞれのデータを比較することにより行った。

その結果、それぞれの測定結果に差はみられず、投与期間中のビフェニルは安定であった。

それらの結果については、APPENDIX P 2に示した。

### I - 4 試験動物

動物は日本チャールス・リバー（株）より購入したF344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及びCrj:BDF<sub>1</sub>マウス(SPF)の雌雄を使用した。

ラット、マウスとも雌雄各248匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各200匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:117~132g、雌:93~105g/マウス雄:18.3~21.9g、雌:16.2~18.6g)を選別し、試験に供した。

## II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要をTABLE 1に示した。

### II - 1 投与

#### II - 1 - 1 投与経路、投与方法及び投与期間

経口投与とした。すなわち、ビフェニルを混合した粉末飼料の自由摂取により、105週間解剖直前まで連続投与した。なお、対照群の動物には粉末飼料のみを与えた。

#### II - 1 - 2 投与濃度

投与濃度は予備試験である13週間投与試験（文献4）の結果に基づき決定した。

ラットでは雌雄とも500ppm、1500ppm、4500ppm、（公比3.0）、マウスでは雌雄とも667ppm、2000ppm、6000ppm（公比3.0）とした。

#### II - 1 - 3 被験物質の調製方法

被験物質の調製は飼料製造業者（オリエンタル酵母㈱）に委託した。それらの調製方法については、APPENDIX Q 1に示した。

なお、各試験における濃度の表示は、ppm（重量対重量比）とした。また、ビフェニル添加飼料の調製頻度は、調製被験物質の安定性の確認された期間により3～4ヶ月に1回とした。

#### II - 1 - 4 調製被験物質の濃度測定

各投与濃度に調製された被験物質の濃度は、調製バッチ（入荷）単位で、ガスクロマトグラフを用いて分析した。それらの結果をAPPENDIX P 3～4に示した。

各群の調製濃度は設定濃度に対し、ラットの試験では86.2～100.9%、マウスの試験では79.2～111.8%の範囲にあった。

## II - 1 - 5 調製被験物質の安定性

ビフェニル添加飼料は4℃で5ヶ月間保管した。

各投与濃度に調製された被験物質の安定性は、調製直後及び5ヶ月後の添加飼料の濃度をガスクロマトグラフを用いて分析し、その結果、5ヶ月間安定であることを確認した。

それらの結果について、APPENDIX P 5に示した。

## II - 1 - 6 被験物質の摂取量

各計測週における摂餌量と測定濃度より体重当たりの被験物質の摂取量(mg/kg/day)を算出した。

それらの結果について、APPENDIX D 1~4に示した。

## II - 2 動物管理

### II - 2 - 1 各群の使用動物数

ラット、マウスとも投与群3群及び対照群1群の計4群を設け、雌雄各群50匹の動物を用いた。

### II - 2 - 2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、動物を体重の重い順より各群に1匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより群間の体重の偏りを小さくする群分け方法(適正層別方式)により実施した(文献 5)。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布し、またケージにも個体識別番号を付した。投与期間においては耳パンチにより識別し、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、ラットとマウスは、バリア区域(AC-1エリア)内の独立した室(ラットの雄を101室、雌を102室、マウスの雄を103室、雌を105室)にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

## II - 2 - 3 飼育条件

動物は、各試験ともに、全飼育期間を通して、温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、明暗サイクル:12時間点灯(8:00~20:00)/12時間消灯(20:00~8:00)、換気回数15~17回/時の環境下で飼育した。

動物は単飼ケージ(ステンレス製二連網ケージ、ラット:170W×294D×176H mm、マウス:112W×212D×120H mm)に収容し、ケージ交換は2週間毎に実施した。

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)のCRF-1を使用し、検疫期間はCRF-1固型飼料(30K Gy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料)を固型飼料給餌器により、また馴化期間及び投与期間はCRF-1粉末飼料(30K Gy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料)を粉末飼料給餌期により自由摂取させた。

飲水は、全飼育期間を通して、市水(秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線滅菌し、自動給水装置で、自由摂取させた。

なお、飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)、夾雑物については(財)日本食品分析センターの分析データを使用ロットごとに入手し、飲水については(財)食品薬品安全センターの分析データを3ヶ月に1回入手し、それぞれ異常のないことを確認した。

## II - 3 観察・検査項目及び方法

### II - 3 - 1 動物の一般状態の観察

各試験とも、毎日1回、動物の一般状態の観察を行った。

### II - 3 - 2 体重測定

投与開始後15週までは週1回、それ以降は2週に1回、体重を測定した。  
なお、動物の死亡発見時及び切迫屠殺時も体重を測定した。

### II - 3 - 3 摂餌量測定

投与開始後15週までは週1回、それ以降は4週に1回、給餌量と残餌量を測定し、その差を給餌期間（原則として7日間）で除法により算出し摂餌量とした。

### II - 3 - 4 血液学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりEDTA-2K入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日より(18時間以上)絶食させた。検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX R 1に示した。

### II - 3 - 5 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて血液生化学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)させた。検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX R 1に示した。

### II - 3 - 6 尿検査

投与最終週まで生存した動物について、新鮮尿を採取し、尿検査を行った。検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX R 1に示した。

## II - 3 - 7 病理学的検査

### (1) 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

### (2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物についてTABLE 1に示した臓器の実重量を測定した。また、実重量の体重比、すなわち定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

### (3) 病理組織学的検査

全動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE 1に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた組織を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお、ラットの定期解剖例においてはTABLE 1に示した臓器に加え、尿管を採取し標本作製を行った。

## II - 4 数値処理と統計学的方法

## II - 4 - 1 数値の取り扱いと表示

体重についてはgを単位とし、ラットでは小数点以下第1位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

摂餌量についてはgを単位とし、計測期間を通しての摂餌量を小数点以下第1位まで計測し、この値を計測期間の日数で除し、1日当たりの平均摂餌量を算出し、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

ビフェニルの体重当りの摂取量は摂餌量にビフェニルの設定濃度を乗じ体重で除した値をmg/kg(body weight)/dayを単位として小数点以下第4位を四捨五入して小数点以下第3位まで表示した。

臓器実重量についてはgを単位とし、小数点以下第3位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第4位を四捨五入し、小数点以下第3位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査についてはAPPENDIX R 2に示した精度により表示した。A/G比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

なお、各数値データにおいての平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

## II - 4 - 2 母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠測となったデータについては母数より除いた。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。

尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査ができた動物数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査データは、各群の有効動物数(供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数)を母数とした。ただし、腫瘍性病変については臓器別に、検査不能臓器数を除いたものを母数とした。

## II - 4 - 3 統計方法

本試験で得られた測定値は対照群を基準群として、まずBartlett法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合はDunnettの多重比較により平均値の検定を行った。

また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合にはDunnett(型)の多重比較を行った。

予備検定については5%の有意水準で両側検定を行い、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。

なお、病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード0として $\chi^2$ 検定を行った。また、尿検査についても $\chi^2$ 検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器腫瘍ごとに、各群ごとの総担癌臓器数について、Peto検定(文献6)、Cochran-Armitage検定、Fisher検定を行った。またPeto検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(注)を用いて、死亡率法(コンテックス3,4を付与された腫瘍についての検定)、有病率法(コンテックス0,1,2を付与された腫瘍についての検定)、死亡率法+有病率法(コンテックス0~4の総計で検定)を行った。

$\chi^2$ 検定とFisher検定は対照群と各投与群間との検定である。

各群雌雄毎に検査数が2以下の項目については検定より除外した。

注：Peto検定に用いるコンテックス

0：定期解剖例にみつかった腫瘍

1：死亡／瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分1だと思うが、確かでない腫瘍

3：多分4だと思うが、確かでない腫瘍

4：死亡／瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に関わっていた腫瘍

## II - 5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、被験物質、その他本試験に係る資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書にしたがって、試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後10年間とする。



### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 ラットを用いたがん原性試験 (試験番号: 0205)

##### Ⅲ-1-1 動物の状態観察

###### (1) 生死状況

生死状況を TABLE 2,3及び FIGURE 1,2に示した。

生存率は雄の4500ppm群で対照群に比較して低値であった。各群の105週における生存動物数(生存率)は、雄では対照群:37/50例(74%)、500ppm群:41/50例(82%)、1500ppm群:38/50例(76%)、4500ppm群:31/50例(62%)、雌では対照群:44/50例(88%)、500ppm群:38/50例(76%)、1500ppm群:44/50例(88%)、4500ppm群:37/50例(74%)であった。

###### (2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1,2に、外部腫瘍、内部腫瘍の発生動物数を TABLE 4,5に示した。

雄では、4500ppm群に血尿が32例観察された。血尿は尿道口からの出血により確認し、外陰部の赤色尿による汚染、尿トレー紙上の赤色尿の残存を補助的要因として所見をとった。また、血尿が原因と思われる貧血が18例に観察された。これらの所見は41週以降、断続的に定期解剖直前まで認められ、一個体の中で繰り返して血尿及び貧血が観察された。

雌では、雄にみられた血尿はほとんどみられず、その他ビフェニルの投与による特徴的な所見は死亡動物及び生存動物のいずれにも認めなかった。

なお、外部腫瘍、内部腫瘍の発生は雌雄とも投与群に増加はみられなかった。

###### (3) 体重

体重の推移を TABLE 2,3、FIGURE 3,4及び APPENDIX B 1,2に示した。

雌雄とも4500ppm群において体重増加の抑制を示し、投与期間中のほとんどの週で対照群に比較して有意な低値が認められた。

###### (4) 摂餌量

摂餌量を TABLE 6,7、FIGURE 5,6及び APPENDIX C 1,2に示した。

雌雄ともに4500ppm群において摂餌量の有意な低値(雄:79~97%、雌:88~96%)が投与開始後1週から47週まで認められた。

( 5 ) 被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX D 1,2に示した。

被験物質の1日当たりの摂取量は、雄で 500ppm群 : 18~46mg/kg、1500 ppm群 : 55~137mg/kg、4500ppm群 : 162~397mg/kg、雌では 500ppm群 : 22~48mg/kg、1500ppm群 : 69~144mg/kg、4500ppm群 : 216~419mg/kgであった。

III - 1 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

( 1 ) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX E 1,2に示した。

雄では、投与による顕著な変化は見られなかった。

なお、4500ppm群で、MCH、リンパ球比の有意な減少が認められたが、軽微な変化であった。また、MCVにも変化がみられたが(1500ppm群で増加、4500ppmで減少)、その変化は投与量に対応していなかった。

雌では、4500ppm群で赤血球数の有意な減少、1500ppm以上の群でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の有意な減少が認められ、被験物質の投与による軽い貧血を示した。

( 2 ) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 8,9及び APPENDIX F 1,2に示した。

雄では、全ての投与群にALP活性の有意な上昇を示し、これに加えて1500ppm以上の群でGOT、GPT及びγ-GTP活性の有意な上昇、並びに、尿素窒素の有意な増加、さらに4500ppm群ではカリウム、アルブミン及びA/G比の有意な増加が認められ、被験物質の投与による肝臓及び腎臓への影響が示唆された。

雌では、4500ppm群にGOTとGPT活性の有意な上昇を示した。これに加えて全投与群にクロール、1500ppm以上の群に尿素窒素、4500ppm群にカリウムの有意な増加、並びに総ビリルビン量の有意な低下が認められ、被験物質の投与による肝臓及び腎臓への影響が示唆された。

その他、4500ppm群に雌雄ともトリグリセライドの有意な減少が認められた。これらの変化は体重増加の抑制に伴った変化と思われる。

### (3) 尿検査

尿検査の結果を TABLE 10及び APPENDIX G 1,2に示した。

雄では、4500ppm群にpHの有意な上昇、潜血の陽性例の増加、及び蛋白の陽性度の有意な減少が認められた。

雌では、4500ppm群に潜血の陽性例の増加と蛋白の陽性度の有意な減少が認められた。

## III - 1 - 3 病理学的検査

### (1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX H 1~4に示した。

雄では、4500ppm群に膀胱の結節が41/50例、結石が43/50例、及び膀胱壁の肥厚が8/50例観察された。また、尿管の拡張が5/50例観察された。

雌では、4500ppm群に膀胱の結石が8/50例、膀胱壁の肥厚が4/50例及び尿管の拡張が2/50例観察された。また、腎臓の変形が500ppm群で1/50例、4500ppm群で14/50例観察された。

### (2) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を APPENDIX I 1,2、J 1,2に示した。

雄では1500ppm以上の群の肝臓及び腎臓に体重比の有意な高値を示し、4500ppm群の腎臓と1500ppm群の肝臓に実重量の有意な高値を示した。

雌では1500ppm以上の群の肝臓及び腎臓に体重比の有意な高値を示した。

その他、体重の増加抑制に伴ったと思われる変化として、雄では1500ppm以上の群の肺に体重比の有意な高値、4500ppm群の副腎、精巣、心臓及び脳に体重比の有意な高値、並びに心臓に実重量の有意な低値を示した。雌では、1500ppm以上の群の副腎、心臓及び脳に体重比の有意な高値を示し、また500ppm群と4500ppm群の肺と4500ppm群の卵巣に体重比の有意な高値を示した。

### (3) 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果を APPENDIX K 1~4に示した。腫瘍性病変の結果は、APPENDIX L 1,2に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX M 1,2に腫瘍の種類別の発生数、APPENDIX N 1,2に統計解析(Peto検定、Cochran-Armitage検定、Fisher検定)、APPENDIX O 1~4に転移性病変について示した。

— 雄 —

ビフェニルの投与による変化の主体は、泌尿器系（膀胱、尿管、腎臓）にみられた。その結果を臓器別に示した。

#### < 膀胱 >

4500ppm群に移行上皮乳頭腫が10/50例、移行上皮癌が24/50例、扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌が各1/50例に発生した。

非腫瘍性病変についても、4500ppm群の移行上皮に単純過形成が12/50例、結節状過形成が40/50例、乳頭状過形成が17/50例及び基底細胞過形成が27/50例に発生した。また、同群では扁平上皮化生が19/50例、扁平上皮過形成が13/50例及び炎症性ポリープが10/50例に認められた（TABLE 12）。なお、移行上皮癌、移行上皮乳頭腫、及び炎症性ポリープの多くの例で、扁平上皮化生を伴っていた。

統計検定を行った結果からは、移行上皮乳頭腫の発生がPeto検定（有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも4500ppm群と対照群の間に増加を示した。また、移行上皮癌の発生、移行上皮乳頭腫と移行上皮癌を合わせた発生、並びに移行上皮乳頭腫、移行上皮癌、扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌を合わせた発生が、Peto検定（死亡率法、有病率法、死亡率法＋有病率法）とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも4500ppm群と対照群の間に増加を示した（TABLE 11）。非腫瘍性病変では、4500ppm群に移行上皮の結節状過形成と乳頭状過形成が定期解剖例と瀕死死亡例で、移行上皮の単純過形成と基底細胞過形成、並びに扁平上皮過形成、炎症性ポリープ及び扁平上皮化生の定期解剖例で対照群に比較して増加を示した。

#### < 尿管 >

4500ppm群に移行上皮の単純過形成が8/50例、結節状過形成が1/50例、また、尿管の拡張が14/50に例認められた（TABLE 13）。その他の群には、1500ppm群に尿管の拡張が1/50例に、対照群に移行上皮の単純性過形成が1/50例にみられた。

統計的には、4500ppm群で移行上皮の単純過形成と尿管の拡張が、定期解剖例で対照群に比較して増加を示した。

#### < 腎臓 >

4500ppm群に腎盂の移行上皮の単純過形成（対照群：6/50例、500ppm群：8/50例、1500ppm群：5/50例、4500ppm群：19/50例）と結節状過形成（対照群：

0/50例、500ppm群:1/50例、1500ppm群:1/50例、4500ppm群:21/50例)の発生増加を示した。また、同群では、乳頭部の鉍質沈着(対照群:9/50例、500ppm群:9/50例、1500ppm群:14/50例、4500ppm群:23/50例)と、腎盂の鉍質沈着(対照群:9/50例、500ppm群:6/50例、1500ppm群:10/50例、4500ppm群:18/50例)が増加を示し、さらに、皮髓境界部の鉍質沈着が10/50例、皮質の鉍質沈着が3/50例、乳頭壊死が7/50例、腎盂上皮の剥離が11/50例、結石が13/50例及び扁平上皮化生が2/50例に認められた(TABLE 14)。

その他の群では、対照群に腎盂上皮の剥離が1/50例、500ppm群に皮質の鉍質沈着が1/50例に認められた。

統計的には、移行上皮の単純過形成、結節状過形成、結石の形成及び皮髓境界部の鉍質沈着が4500ppm群の定期解剖例で、乳頭部の鉍質沈着が4500ppm群の死亡瀕死例で対照群と比較して増加を示した。その他、慢性腎症が4500ppm群の死亡瀕死例で統計的に程度の軽減を示した。

その他、統計的に有意差を示したビフェニルの投与による影響を疑わせる変化を臓器別に示した。

#### < 腹膜 >

中皮腫の発生がPeto検定(有病率法、死亡率法+有病率法)で増加傾向を示した。

#### < 肝臓 >

海綿状変性が1500ppm以上の群の定期解剖例で増加を示した。

#### < 骨髄 >

血管拡張が4500ppm群の定期解剖例で増加を示した。

#### < 鼻腔 >

嗅上皮のエオジン好性変化が1500ppm以上の群の定期解剖例と死亡瀕死例で減少を示し、また、呼吸上皮のエオジン好性変化が1500ppm以上の群の定期解剖例で減少を示した。

— 雌 —

ビフェニルの投与による変化の主体は、泌尿器系（膀胱、尿管、腎臓）にみられた。その結果を臓器別に示した。

< 膀胱 >

4500ppm群では、移行上皮の単純過形成が1/50例、結節状過形成が5/50例、乳頭状過形成が4/50例及び基底細胞過形成が4/50例、並びに扁平上皮化生が4/50例及び扁平上皮過形成が1/50例に認められた。その他の群では、移行上皮の単純過形成が1500ppm群に1/50例、結節状過形成が対照群に1/50例認められ、腫瘍の発生は各投与群ともになかった（TABLE 12）。

< 尿管 >

4500ppm群で移行上皮の単純過形成が2/50例、尿管の拡張が6/50例に認められた（TABLE 13）。

なお、統計的には4500ppm群の尿管の拡張が定期解剖例で有意な増加を示した。

< 腎臓 >

腎盂に移行上皮の単純過形成（対照群：3/50例、500ppm群：5/50例、1500ppm群：12/50例、4500ppm群：25/50例）が投与濃度に対応して増加を示し、4500ppm群では、移行上皮の結節状過形成が12/50例、結石が3/50例、腎盂上皮の剥離が2/50例、乳頭壊死が23/50例、梗塞が8/50例、及び皮質の鉍質沈着が3/50例に認められた。その他の群には、移行上皮の結節状過形成が1500ppm群に1/50例、対照群に皮質の鉍質沈着と梗塞が各1/50例に認められた。また、乳頭部の鉍質沈着（対照群：2/50例、500ppm群：6/50例、1500ppm群：3/50例、4500ppm群：13/50例）、腎盂の鉍質沈着（対照群：12/50例、500ppm群：12/50例、1500ppm群：18/50例、4500ppm群：27/50例）、及びヘモジデリン沈着（対照群：4/50、500ppm群：8/50例、1500ppm群：22/50例、4500ppm群：25/50例）が投与群で増加を示した（TABLE 14）。

なお、統計的には移行上皮の単純過形成及び結節状過形成、梗塞、乳頭壊死、乳頭部の鉍質沈着並びに腎盂の鉍質沈着が4500ppm群の定期解剖例で、またヘモジデリン沈着は1500ppm以上の群の定期解剖例で対照群と比較して増加を示した。

その他、統計的に有意差を示したビフェニルの投与による影響を疑わせる変化を臓器別に示した。

< 骨髄 >

肉芽形成が4500ppm群の定期解剖例で増加を示した。

< 鼻腔 >

鉍質沈着が4500ppm群の定期解剖例で増加を示し、また、嗅上皮のエオジン好性変化が4500ppm群の定期解剖例で程度の軽減を示した。

< 副腎 >

紫斑症様変化が4500ppm群の定期解剖例で増加を示した。

－その他の病変－

上記の所見の他に統計的に有意な変化を示した腫瘍性病変は、雄の睪島の島細胞腺腫（全投与群で対照群に比較して減少、Fisher検定）、精巣の間細胞腫（増加傾向、Peto検定）、雌の子宮の子宮内膜間質性ポリープ（増加傾向、Peto検定）であった。しかし、これらの所見の発生数は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であり、被験物質投与による影響とは考えられなかった。また、非腫瘍性病変で投与群と対照群に有意な増加あるいは減少を示した所見は、死亡・瀕死例では雌の鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化（500ppm群）と子宮の嚢胞状内膜増生（4500ppm群）、定期解剖例では雄の鼻腔の鉍質沈着（1500ppm群）と嗅上皮の呼吸上皮化生（500ppm群）、雌の腎臓の慢性腎症（500ppm群）、鼻腺の呼吸上皮化生（500ppm群）及び下垂体の過形成（1500ppm群）であった。しかし、これらの変化は死亡・瀕死例のみの変化であつたり、投与量に対応した変化ではないこと等から、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

（４）死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 15 に示した。

雄の4500ppm群の死亡例19例のうち7例が膀胱腫瘍であった。また、4例の死亡例では膀胱からの出血以外に形態的变化はみられなかったことより、血尿による貧血や衰弱が原因で死亡したと考えられる。なお、雌においても血尿による貧血や衰弱が原因と思われる死亡が2例みられた。

### Ⅲ - 2 マウスを用いたがん原性試験 (試験番号: 0 2 0 6)

#### Ⅲ - 2 - 1 動物の状態観察

##### (1) 生死状況

生死状況を TABLE 16,17及び FIGURE 7,8に示した。

雌雄ともに各投与群の動物の生存率は対照群と比較して顕著な低下を認めなかった。

なお、雌の6000ppm群の投与開始後6週目に1例の事故死亡があった。

各群の105週における生存動物数(生存率)は、雄では対照群:35/50例(70%)、667ppm群:41/50例(82%)、2000ppm群:41/50例(82%)、6000ppm群:39/50例(78%)、雌では対照群:31/50例(62%)、667ppm群:22/50例(44%)、2000ppm群:25/50例(50%)、6000ppm群:32/49例(67%)であった。

##### (2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 3,4に、外部腫瘍、内部腫瘍の発生動物数を TABLE 18,19に示した。

外部腫瘍及び内部腫瘍の発生状況を全動物(死亡及び生存動物)についてみると、雌雄の全ての投与群で内部腫瘍の発生が対照群に比較して増加していた。しかしながら、これらの変化に対応する腫瘍の発生増加はみられなかった。その他の一般状態でも、雌雄ともビフェニル投与による特徴的な所見は、死亡動物及び生存動物のいずれにも認めなかった。

##### (3) 体重

体重の推移を TABLE 16,17、FIGURE 9,10及び APPENDIX B 3,4に示した。

雌雄とも6000ppm群は顕著な体重増加の抑制を示し、投与期間のほとんどの週で対照群と比較して有意な低値を示した。また、雄の2000ppm群でも投与開始後57週までの多くの週に、対照群と比較して有意な低値を示した。

##### (4) 摂餌量

摂餌量を TABLE 20,21、FIGURE 11,12及び APPENDIX C 3,4に示した。

雄では6000ppm群において投与開始後19から93週の多くの週で、統計的に有意な摂餌量の低値(70~97%)が認められた。

雌では6000ppm群において投与開始後23から95週で、統計的に有意な摂餌量の低値(89~97%)が散見された。しかし、その低下はわずかであった。

なお、雌雄ともに6000ppm群において、投与開始後3週目まで顕著な摂餌



量の増加が認められた。しかし、これらの変化は前述した体重の変化と対応せず、動物が被験物質の特異臭を嫌い、多くは餌をこぼした可能性がある。

#### (5) 被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出した被験物質の摂取量を APPENDIX D 3,4に示した。

被験物質の1日当たりの摂取量は、雄で 667ppm群 : 78~147mg/kg、2000ppm群 : 227~456mg/kg、6000ppm群 : 748~1314mg/kg、雌では 667ppm群 : 104~208mg/kg、2000ppm群 : 323~568mg/kg、6000ppm群 : 1143~2105mg/kgであった。

なお、雌雄の6000ppm群の投与開始後1~3週間の1日当たり被験物質の摂取量は非常に多く、餌こぼしの影響と思われるので除いた。

### III - 2 - 2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

#### (1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 22,23及び APPENDIX E 3,4に示した。

雄では、6000ppm群で赤血球数と血小板数の有意な増加、及びMCVの有意な減少が認められた。しかし、いずれもわずかな変化であった。

雌では、対照群に比べて著変は認められなかった。

#### (2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX F 3,4に示した。

雄では、2000ppm以上の群で尿素窒素及びクロールの増加が認められた。6000ppm群ではこれに加えてALPとCPK活性の有意な上昇、並びにナトリウムの有意な増加が認められ、また、カリウムの有意な低下が認められた。これらの変化は被験物質の投与による肝臓及び腎臓への影響を示唆するが、その程度は極めて僅かであった。

雌では、2000ppm以上の群でGOTとGPT活性の有意な上昇、並びにカルシウム、総蛋白、アルブミン及び総コレステロールの有意な増加が認められた。6000ppm群ではこれに加えてLDHとALP活性の有意な上昇、並びに総ビリルビン、尿素窒素及びナトリウムの有意な増加が認められ、投与による肝臓及び腎臓への影響を示唆した。

その他、雌雄とも6000ppm群に体重増加の抑制に伴うグルコースの有意な低下が認められた。なお、雄では667ppm群にLDH活性の低下が認められ

たが、投与量に対応した変化ではなかった。

### (3) 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX G 3,4に示した。

雄では、6000ppm群で蛋白及びケトン体の陽性度の有意な低下が認められた。

雌では、6000ppm群で蛋白及びケトン体の陽性度の有意な低下が認められ、667ppm群と2000ppm群でpHの有意な低下が認められた。

## III - 2 - 3 病理学的検査

### (1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX H 5~8に示した。

雄では、肝臓の結節の発生（雄；対照群20/50例、667ppm群：16/50例、2000ppm群：14/50例、6000ppm群：11/50例）が、投与量に対応して低下した。

雌では、肝臓の結節の発生（雌；対照群：7/50例、667ppm群：13/50例、2000ppm群：24/50例、6000ppm群：26/49例）が、投与量に対応して増加した。

### (2) 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を APPENDIX I 3,4、J 3,4に示した。

雄では、被験物質の投与による直接的な変化は認められなかった。

雌では、2000ppm以上の群の肝臓に体重比の有意な高値が認められた。また、統計的な有意差は示していないものの肝臓の実重量においても、全ての投与群で高値を示していた。

その他、体重の増加抑制に伴ったものと思われる変化として、雄では6000ppm群の心臓及び腎臓に実重量の有意な低値を示し、同群の副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳に体重比の有意な高値を示した。雌では、6000ppm群の副腎、心臓、肺、腎臓及び脳に実重量の有意な低値が認められ、2000ppm以上の群の腎臓と脳、並びに6000ppm群の肺に体重比の有意な高値が認められた。

( 3 ) 病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果を APPENDIX K 5～8に示した。腫瘍性病変の結果は、APPENDIX L 3～4に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX M 3,4に腫瘍の種類別の発生数、APPENDIX N 3,4に統計解析(Peto検定、Cochran-Armitage検定、Fisher検定)、APPENDIX O 5～8に転移性病変について示した。

－ 雄 －

雄では、ビフェニルの投与による腫瘍の発生または発生増加はみられなかった。以下、統計的に有意差を示したビフェニルの投与による影響を疑わせる変化を臓器別に示した。

< 肝臓 >

肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生が、Cochran-Armitage検定で減少傾向を示した(TABLE 24)。

< 鼻腔 >

嗅上皮の萎縮が2000ppm以上の群の定期解剖例と死亡瀕死例で増加を示した。また、腺の呼吸上皮化生が6000ppm群の定期解剖例で増加を示し、呼吸上皮のエオジン好性変化が全ての投与群の定期解剖例で減少を示した。

< 鼻咽頭 >

呼吸上皮のエオジン好性変化が667ppm群と6000ppm群の定期解剖例で減少を示した。

< 腎臓 >

腎盂上皮の剥離が6000ppm群の定期解剖例で増加を示し、また、腎盂の鉍質沈着が6000ppm群の定期解剖例で減少を示した。

< 精巣 >

鉍質沈着が6000ppm群の定期解剖例と死亡瀕死例で減少を示した。

－ 雌 －

雌では、ビフェニルの投与による変化の主体は肝臓にみられた。

< 肝臓 >

肝細胞腺腫の発生(対照群:2/50例、667ppm群:3/50例、2000ppm群:12/50例、6000ppm群:10/49例)が2000ppm以上の群で増加を示し、また肝細胞癌の発生(対照群:1/50例、667ppm群:5/50例、2000ppm群:7/50例、6000ppm群:5/49例)が全投与群で増加を示した(TABLE)。

非腫瘍性病変では、好塩基性小増殖巣(対照群:1/50例、667ppm群:1/50例、2000ppm群:12/50例、6000ppm群:6/49例)が2000ppm以上の群で増加を示した(TABLE 26)。

統計的には、肝細胞腺腫の発生は、Peto検定(有病率法)とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも2000ppm以上の群と対照群の間に増加を示した。また、肝細胞癌の発生は、Fisher検定で2000ppm群と対照群の間に増加を示した。さらに、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生(対照群:3/50例、667ppm群:8/50例、2000ppm群:16/50例、6000ppm群:14/49例)も、Peto検(有病率法、死亡率法+有病率法)とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも2000ppm以上の群で対照群と比較して増加を示した(TABLE 25)。非腫瘍性病変では、好塩基性小増殖巣が2000ppm群の定期解剖例に増加、肉芽形成が6000ppm群の定期解剖例に程度の軽減を示した。

以下、統計的に有意差を示した投与による影響を疑わせる変化を臓器別に示した。

< 鼻腔 >

嗅上皮の萎縮が2000ppm以上の群の定期解剖例と死亡瀕死例で増加を示した。

< 腎臓 >

髓質外帯の内層の鉍質沈着が2000ppm以上の群の定期解剖例で増加を示した。

< 下垂体 >

嚢胞が6000ppm群の定期解剖例で増加を示した。

— 雌 —

雌では、ビフェニルの投与による変化の主体は肝臓にみられた。

< 肝臓 >

肝細胞腺腫の発生(対照群:2/50例、667ppm群:3/50例、2000ppm群:12/50例、6000ppm群:10/49例)が2000ppm以上の群で増加を示し、また肝細胞癌の発生(対照群:1/50例、667ppm群:5/50例、2000ppm群:7/50例、6000ppm群:5/49例)が全投与群で増加を示した(TABLE 26)。

非腫瘍性病変では、好塩基性小増殖巣(対照群:1/50例、667ppm群:1/50例、2000ppm群:12/50例、6000ppm群:6/49例)が2000ppm以上の群で増加を示した(TABLE 26)。

統計的には、肝細胞腺腫の発生は、Peto検定(有病率法)とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも2000ppm以上の群と対照群の間に増加を示した。また、肝細胞癌の発生は、Fisher検定で2000ppm群と対照群の間に増加を示した。さらに、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生(対照群:3/50例、667ppm群:8/50例、2000ppm群:16/50例、6000ppm群:14/49例)も、Peto検(有病率法、死亡率法+有病率法)とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定でも2000ppm以上の群で対照群と比較して増加を示した(TABLE 25)。非腫瘍性病変では、好塩基性小増殖巣が2000ppm群の定期解剖例に増加、肉芽形成が6000ppm群の定期解剖例に程度の軽減を示した。

以下、統計的に有意差を示した投与による影響を疑わせる変化を臓器別に示した。

< 鼻腔 >

嗅上皮の萎縮が2000ppm以上の群の定期解剖例と死亡瀕死例で増加を示した。

< 腎臓 >

髓質外帯の内層の鉍質沈着が2000ppm以上の群の定期解剖例で増加を示した。

< 下垂体 >

嚢胞が6000ppm群の定期解剖例で増加を示した。

< 子宮 >

嚢胞状内膜増生が6000ppm群の定期解剖例で程度の軽減を示した。

< 脳 >

鉍質沈着が6000ppm群の定期解剖例で減少を示した。

< 全臓器 >

悪性リンパ腫の発生が、Cochran-Armitage検定で減少傾向を示した。

組織球性肉腫の発生が、Peto検定の有病率法で増加傾向を示した。

— その他の病変 —

上記の所見の他に統計的に有意な変化を示した腫瘍性病変は、雄のハーダー腺の腺腫（667ppm群に発生増加、Fisher検定）、雌の肝臓の血管肉腫（増加傾向、Peto検定の有病率法）及び血管腫と血管肉腫をあわせた発生（有病率法）であった。しかし、これらの所見の発生数は投与量との対応、もしくは群間の顕著な差がみられず、さらに当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であるため、被験物質投与による影響とは考えられなかった。また、非腫瘍性病変で投与群と対照群の間に有意な差が、死亡・瀕死例の雌の脳に鉍質沈着（667ppm群）、定期解剖例の雌の鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化（2000ppm群）、脾臓に濾胞増生（2000ppm群）でみられた。しかし、これらの変化は投与量に対応したものではないことから被験物質投与による影響とは考えられなかった。

（４）死因

病理学的にみた死亡/瀕死例の死因を TABLE 27 に示した。

雌雄とも投与群に特定な原因による死亡の増加は認められなかった。むしろ雄の投与群は肝腫瘍による死亡が対照群に比べ少なかった。

#### IV 考察及びまとめ

##### IV-1 ラット

ビフェニルの投与により、雄の4500ppm群は膀胱腫瘍や血尿による生存率の低下がみられた。同群では膀胱や腎盂の結石が多くの例に認められ、膀胱腫瘍が発生した。膀胱腫瘍の組織型は移行上皮癌と移行上皮乳頭腫が多く、少数例が扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫であった。非腫瘍性病変では、膀胱に炎症性ポリープや上記の腫瘍の前段階と思われる増殖性病変（移行上皮過形成）が認められた。また、尿管や腎盂においても移行上皮の過形成が認められ、腎臓に鉍質沈着、乳頭壊死及び腎盂上皮剥離等の変性性病変が認められた。雌では、非腫瘍性の増殖性病変（移行上皮過形成）が膀胱、尿管及び腎盂にみられ、膀胱、腎盂に結石も認められた。しかし、その発生は雄に比べて少なく、膀胱に腫瘍の発生はみられなかった。

##### IV-1-1 生死状況、体重、摂餌量

雄では、膀胱腫瘍及び血尿を原因とする死亡例により、死亡率の増加が4500ppm群でみられ、これはビフェニルの投与によりものと考えられた。雌では、500ppm群と4500ppm群の生存率が対照群よりやや低かったが、投与量に対応していないことから、ビフェニルの投与によるものとは考えられなかった。

体重及び摂餌量については、雌雄ともに4500ppm群において体重増加の抑制及び摂餌量の低下が認められた。これらはビフェニルを含む飼料に対する動物の摂餌忌避によるものと考えられた。

##### IV-1-2 血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査

血液学的検査では、雌に軽度の貧血が認められ、ビフェニルの投与による影響と考えられた。生化学的検査では、雌雄とも腎臓及び肝臓の機能的障害を疑わせる変化が認められた。しかし、肝臓に認められた生化学的検査の変化に相応した形態的变化は病理組織学的検査からは認められなかった。

尿検査ではpHの上昇が雄に認められた。本試験の予備試験である13週間投与試験（文献4）においては、雌雄ともpHは逆に低下しており、また、本試験の雌においてもpHの上昇が顕著にみられなかった。すなわち、ビフェニル投与による尿pHの変化は投与期間及び雌雄間で差異があった。さらに、13週間投与試験では結石の形成が見られなかったこと、本試験雌では結石の形成が少数であり、膀胱腫瘍の発生もみられなかった。

ことより、雄の尿 pH の上昇は結石の形成や膀胱腫瘍の発生と関連していたと推察できる。また、潜血の陽性例が雄に高率にみられたがこれらは膀胱や腎盂の結石、若しくは腎盂上皮の剥離による二次的な変化と考えられた。

#### IV - 1 - 3 病理学的検査

##### <膀胱>

ビフェニルの投与により、雄では膀胱の被蓋上皮である移行上皮由来の腫瘍（移行上皮癌、移行上皮乳頭腫）が顕著に発生し、少数ではあるが扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫の発生もみられた。雌では腫瘍の発生はみられなかった。また、上記の前段階と思われる非腫瘍性の増殖性病変は雄に高率に認められた。

雄では4500ppm群で移行上皮乳頭腫が10例、移行上皮癌が24例認められた。これらの腫瘍は自然発生が稀な腫瘍（当センターのヒストリカルコントロールデータでは移行上皮乳頭腫1/750例、移行上皮癌0/750例）である。また、これらの腫瘍の前段階と思われる移行上皮の増殖性病変（単純性過形成、結節状過形成、乳頭状過形成及び基底細胞過形成）が高率に認められた。これらの病変は加齢性の変化としては通常認められない病変である。すなわち、上記の移行上皮由来の腫瘍及び移行上皮の過形成の自然発生は稀であり、さらに統計的に有意な差を示したことからもビフェニルの投与による発生と考えられた。また、扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発生は各1例と少ないものの、これらの腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータにはない稀な腫瘍であった。さらに、これらの腫瘍の前段階と思われる扁平上皮過形成や扁平上皮化生が高率に認められた。すなわち、扁平上皮系の腫瘍及びその関連病変もビフェニルの投与により発生したと考えられた。

上記の所見に加え4500ppm群では、炎症性ポリープが10例認められた。この病変も自然発生が稀な病変であることから、ビフェニルの投与による発生と考えられた。なお、炎症性ポリープは現在のところ非腫瘍性の増殖性病変と考えられている（文献 7）が、今回経験した病変の中には形態的に異型を示していたり、これが死因となった個体もある。さらにヒトにおいては類似の病変を腫瘍と診断している報告（文献 8）もあり、この病変についての診断名及び腫瘍か非腫瘍かの分類については、今後検討の余地がある。

その他、剖検時に結石が43/50例、結節が41/50例と高率に認められ、膀胱腫瘍のみられた個体は全て結石を伴っていた。結石の形成はビフェニル



投与による尿中成分の変化によると考えられ、膀胱腫瘍の発生と結石形成の間に関連があることが示唆された。

雌では4500ppm群に移行上皮の単純過形成、結節状過形成、乳頭状過形成、基底細胞過形成、扁平上皮化生及び扁平上皮過形成が認められ、また、剖検時に結石がみられた。これらの所見は何れも雄に認められた所見と同じ病変であり、上記の所見はビフェニル投与による変化と考えられた。しかし、これらの病変の発生数は雄に比べて少なかった。また、雌では移行上皮由来の腫瘍発生や炎症性ポリープの発生もみられなかった。

#### <尿管>

ビフェニルの投与により雌雄とも移行上皮の増殖性病変が認められ、その発生は雄に高率に認められた。

雄では、4500ppm群に移行上皮の増殖性病変（単純過形成及び結節状過形成）が認められた。これらは膀胱の移行上皮に見られた変化と同様であり、4500ppm群で有意な増加を示した。したがって、これらはビフェニル投与による変化と考えられた。なお、尿管の拡張も認められたが、これは膀胱や腎臓のビフェニル投与による変化に伴った二次的なものと推察される。

雌では4500ppm群に移行上皮の増殖病変である単純過形成が認められ、雄と同様ビフェニル投与による変化と考えられた。また、尿管の拡張は膀胱や腎臓の変化に伴った二次的なものと推察される。しかし、雌では結節状過形成は認められず、単純過形成や尿管の拡張の発生数も雄に比べて少なかった。

#### <腎臓>

ビフェニルの投与により雌雄とも腎盂の移行上皮に増殖性病変が認められ、この変化は雄に強くみられた。また、腎盂に結石の形成が認められ、その発生も雄に高率にみられた。さらに、ビフェニルの投与により腎臓実質と腎盂に認められた変性病変は雌雄でやや異なっていた。

雄では、4500ppm群に腎盂移行上皮の増殖性病変（単純過形成及び結節状過形成）の顕著な増加を示し、ビフェニルの投与による変化と考えられた。また、乳頭部や腎盂の鉍質沈着は通常の加齢性病変として認められるものの、4500ppm群で顕著な増加を示し、皮質や皮髄境界部の鉍質沈着も4500ppm群に認められた。即ち、ビフェニルの投与により腎臓の実質内と腎盂において鉍質沈着が増加した。また、腎盂上皮の剥離が4500ppm群で顕著な増加を示し、乳頭壊死が4500ppm群にのみに認められた。これらの変化はビフェニルの投与により腎臓の実質に障害が波及した結果と推察される。なお、

乳頭部及び皮髓境界部の鉍質沈着、並びに腎盂上皮の剥離は本試験の予備試験である13週間投与試験（文献4）でも認められ、ビフェニルの投与による直接的な変化と思われる。さらに4500ppm群では、腎盂に結石が認められ、膀胱と同様にビフェニル投与による尿中成分の変化によると考えられた。その他4500ppm群では腎盂移行上皮の扁平上皮化生が認められ、これは腎盂の結石や、鉍質沈着、上皮の剥離などの腎臓の変化に伴ったものと考えられた。

雌では4500ppm群に腎盂移行上皮の増殖性病変（単純過形成、結節状過形成）の顕著な増加を示し、ビフェニルの投与による変化と考えられた。また、乳頭部及び腎盂の鉍質沈着の発生は対照群にも認められたが、4500ppm群で顕著な増加を示し、皮質の鉍質沈着もわずかではあるが増加していた。即ち、ビフェニルの投与により腎臓の鉍質沈着が増加した。さらに、4500ppm群では腎盂上皮の剥離が少数例に発生しており、乳頭壊死、梗塞及びヘモジデリン沈着が増加を示した。これらの所見はビフェニルの投与により腎臓の実質も障害を受けていたと考えられる。その他、腎盂に結石が4500ppm群で認められ、ビフェニル投与による尿中成分の変化によると考えられた。

なお、腎盂にみられた移行上皮の増殖性病変は、結節性過形成の発生数は雄に多く、単純性過形成の発生数はむしろ雌に多くみられた。また、腎盂の結石の形成は雌より雄に高率にみられ、変性病変においては、雄では腎盂上皮の剥離が多く、雌では乳頭壊死、梗塞、ヘモジデリン沈着が多くみられた。

以下、投与群と対照群の間に投与量に対応した発生の差が認められ、ビフェニルの投与による影響を否定できない所見を列挙する。

○発生増加が認められた所見

腹膜の中皮腫（雄、Peto検定で増加傾向）

肝臓の海綿状変性（雄の1500ppm以上の群）

骨髄の血管拡張（雄の4500ppm群）

骨髄の肉芽形成（雌の4500ppm群）

鼻腔の鉍質沈着（雌の4500ppm群）

副腎の紫斑症様変化（雌の4500ppm群）

○発生低下が認められた所見

鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化

（雄の1500ppm以上の群、雌の4500ppm群：程度の軽減）

鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化（雄の1500ppm以上の群）

## IV - 2    マウス

マウスでは、ビフェニルの投与により雌の肝臓に肝細胞癌及び肝細胞腺腫の発生増加が認められ、その前段階と思われる好塩基性小増殖巣も雌で増加した。一方、雄では、摂餌量の低下や体重増加の抑制に起因したと推察される肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生低下が認められた。

## IV - 2 - 1    生死状況、体重、摂水量、摂餌量等

投与群の生存率は、雌雄ともに対照群と比較して顕著な低下を認めなかった。死因についても、投与群と対照群の間に顕著な差を示した死因はなかった。雌雄ともに6000ppm群において顕著な体重増加の抑制を示した。摂餌量は雌雄の6000ppm群で統計的に有意な低値を示したが、雌においては、わずかな変化であった。

また、血液生化学的検査では、雌で腎臓や肝臓の機能障害を示唆する変化が認められた。また、尿検査の一部の項目にもそれに伴ったと思われる変動がみられた。なお、上記の変化の一部は雄にも認められたが極めて軽微な変化であった。

## IV - 2 - 2    病理学的検査

肝細胞由来の腫瘍が雄では減少傾向を示し、雌では肝細胞由来の腫瘍が投与群で発生増加した。

雄では肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生が、統計的（Cochran-Armitage検定）に減少傾向を示した。マウスの肝細胞由来の腫瘍の発生減少が制限給餌や、体重の増加抑制によって起こると報告されており（文献9,10）、雄の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生低下はビフェニル投与による摂餌量の減少や体重抑制に起因した変化と考えられた。

雌では肝細胞由来の腫瘍の発生増加がみられた。統計的には、肝細胞腺腫の発生はPeto検定とCochran-Armitage検定で増加傾向を示し、Fisher検定が2000ppm以上の群で対照群との間に有意差が認められた。肝細胞癌の発生はFisher検定で2000ppm群に有意差を示した。当センターのヒストリカルコントロールデータと比較すると、肝細胞腺腫では2000ppm以上の群でその範囲（平均発生率は4.8%で、試験単位の発生率は2～10%）を超えており、肝細胞癌では全投与群でその発生率（平均発生率は1.8%で、試験単位の発生率は0～4%）を越えていた。さらに、これらの腫瘍の前段階と思われる好塩基性小増殖巣が2000ppm以上の群で増加を示した。これらのことから、ビフェニルの投与により肝細胞由来の腫瘍とその前段階と思われる増殖性病変が発生増加したと考えられる。なお、上記に示した腫瘍の発生数は2000

ppm群で顕著に発生増加を示し、4500ppm群でそれをやや下回る傾向を示した。また、これらの腫瘍の前段階と思われる好塩基性小病巣も同じ傾向を示した。体重抑制によってマウスの肝細胞由来の腫瘍の発生が減少することが知られており（文献 9）、この傾向は4500ppm群の体重増加の抑制に起因して、肝細胞由来の腫瘍や好塩基性小増殖巣の発生増加がやや抑制されたためと考えられた。

以上のように、本試験でみられた形態的变化は雌雄で異なっていたが、生化学的検査においても、肝臓で機能的障害を疑わせる変化が雌に顕著にみられた。また、本試験の予備試験である13週間投与試験（文献 6）では雌雄とも肝臓に変化がみられたが、その病理像は雌雄で異なっていた（雄：肝細胞の中心性腫脹、雌：エオジン好性細顆粒状変化）。さらに、BDF<sub>1</sub>マウスの肝細胞由来の自然発生腫瘍は、当センターのヒストリカルコントロールデータの平均発生率（肝細胞腺腫が雄：16.0%、雌：4.8%、肝細胞癌が雄：24.2%、雌：1.8%）からみると、雄に多くみられ雌では少ない。それにもかかわらず、今回の試験ではビフェニルの投与により雌にのみ肝細胞由来の腫瘍が増加し、雄ではむしろ投与群で減少していた。すなわち、ビフェニルの投与は肝臓において雌雄で異なった影響を示しうることが推察された。

投与群と対照群の間に投与量に対応した発生の差が認められ、ビフェニルの投与による影響を否定できない所見を列挙する。

○発生増加が認められた所見

鼻腔の腺の呼吸上皮化生（雄の6000ppm群）

腎臓の髄質外帯の内層の鉍質沈着（雌の2000ppm以上の群）

腎臓の腎盂上皮の剥離（雄の6000ppm群）

下垂体の嚢胞（雌の6000ppm群）

鼻腔の嗅上皮の萎縮（雌雄の2000ppm以上の群）

全臓器の組織球性肉腫（雌にPeto検定の有病率法で増加傾向）

○発生低下が認められた所見

鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化（雄の全投与群）

鼻咽頭の呼吸上皮のエオジン好性変化（雄の667ppm群と6000ppm群）

肝臓の肉芽形成（雌の6000ppm群）

腎臓の腎盂の鉍質沈着（雄の6000ppm群）

精巣の鉍質沈着（雄の6000ppm群）

子宮の嚢胞状内膜増生（雌の6000ppm群）

脳の鉍質沈着（雌の6000ppm群）

全臓器の悪性リンパ腫（雌にCochran-Armitage検定で減少傾向）

これらの変化の中で、腎盂の剥離は雌雄とも本試験の予備試験である13週間投与試験にも認められ、ビフェニルの投与による直接的な変化と思われた。しかし、今回の試験でラットにみられたような腎盂移行上皮の増殖性病変はマウスでは認められなかった。また、鼻腔の嗅上皮の萎縮は雌雄とも、対照群、667ppm群には認められず、2000ppm以上に群にのみ認められ、ビフェニルの投与による影響と考えられる。その他、雌の全臓器の悪性リンパ腫（対照群：21/50例、667ppm群：19/50例、2000ppm群：14/50例、6000ppm群：11/49例）は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内（平均発生率：31.1%、試験単位の発生率：20～44%）にあるものの、群間の差が大きくビフェニル投与による影響を否定できなかった。しかし、現在のところ体重増加の抑制にともなって悪性リンパ腫が減少するという報告はなく、被験物質との関係は不明であった。

## IV - 3 膀胱腫瘍の発生のメカニズム

ビフェニルの投与によりラットの雄にのみ膀胱腫瘍が発生した。また、ラットの雌雄に膀胱及び尿管における移行上皮の増殖性病変（過形成）、並びに膀胱と腎盂の結石形成が認められたが、雄に高率にみられた。マウスでは雌雄とも腫瘍の発生や結石の形成は認められなかった。

ビフェニルは膀胱結石誘発物質として知られており（文献11）、また、ガラス玉やパラフィン・ペレットを挿入するとその機械的刺激が膀胱癌を誘発するという報告（文献12）からも、膀胱結石による機械的刺激と腫瘍発生との関係が推察される。一方、ビフェニルをラットに投与するとそのほとんどが尿中に代謝産物として排泄されるという報告（文献13）もみられ、ビフェニルの代謝様式が結石の形成や腫瘍の発生に関与していることも推察された。

今回の結果より、結石の形成と膀胱腫瘍の関連性を調べる目的で、ラットとマウスの尿とラットの膀胱結石の分析を行った。その結果、ラットの結石の成分は雌雄とも主にビフェニル水酸化体の硫酸抱合体であった。尿分析の結果は膀胱結石と同様、雌雄とも主に硫酸抱合体であった。しかし、雌にグルクロン酸抱合体が若干みられた。一方、マウスの尿分析の結果は、雌雄ともビフェニル水酸化体のグルクロン酸抱合体であることがわかった。これらのことより、結石形成の要因がビフェニル抱合体の種類によることが考えられる。すなわち、ビフェニルの尿中代謝物の種差や性差が腫瘍の発生と結石の発生の差に関与している可能性がある」と推察できる。

しかし、結石は膀胱だけではなく腎盂にも形成されたが、腎盂移行上皮に腫瘍の発生は起きなかった。また、雌においても膀胱結石が形成された例はみられたものの、腫瘍発生はなかった。さらに、腎盂の移行上皮の増殖性病変（過形成）及び腎臓実質における変性病変については雌雄でやや異なる結果となった。これは尿自体にプロモーターとしての作用があることを示唆する報告（文献14）や、膀胱腫瘍の発生には尿中に発癌要因が一定時間滞在することをその必須条件としているという報告（文献15）、また、ビフェニルの染色体異常試験でS9mix添加により陽性を示したという報告（文献16）などから、尿の停滞時間や尿中代謝産物の影響が結石以外にも腫瘍発生に関与している可能性が考えられる。しかし、これらを実証する明確な証拠は得られなかった。

## V 結 論

F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF<sub>1</sub>マウスを用いてビフェニルの2年間(105週間)にわたる経口投与(混餌)によるがん原性試験を行った。

ラットの雄では、4500ppm群で膀胱腫瘍の発生が認められた。腫瘍の種類は主に移行上皮癌及び移行上皮乳頭腫であり、少数例が扁平上皮癌や扁平上皮乳頭腫であった。また同群では、膀胱や腎盂の結石が多くの例にみられ、上記の腫瘍の前段階と思われる非腫瘍性の増殖性病変も膀胱、尿管及び腎盂に認められた。雌では、非腫瘍性の増殖性病変や膀胱及び腎盂の結石の発生は雄に比べて少なく、膀胱に腫瘍の発生はみられなかった。

マウスでは、雌の肝細胞癌が全投与群で、肝細胞腺腫が2000ppm以上の群で発生増加を示し、その前段階と思われる好塩基性小増殖巣も2000ppm以上の群で増加した。なお、腫瘍の発生数は4500ppm群では体重増加の抑制により2000ppm群をやや下回る傾向を示した。また、好塩基性小病巣も同じ傾向を示した。一方、雄では摂餌量の低下や体重増加の抑制が観察され、それに伴ったと推察される肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生低下が認められた。

以上のことから、ビフェニルの投与はF344/DuCrj(Fischer)ラットの雄に膀胱の移行上皮癌、移行上皮乳頭腫、扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫を発生させ、ビフェニルのがん原性が証明された。また、Crj:BDF<sub>1</sub>マウスでは、雌に肝臓の肝細胞癌と肝細胞腺腫を発生増加させ、ビフェニルのがん原性が証明された。

VI 文献

1. 化学大事典編集委員会(1978)  
化学大事典, pp.497, 共立出版株式会社, 東京
2. EPA/NIH Mass Spectrayl Data Base (1978) v. 1, pp.529
3. Sadtler Handbook by Sadtler Laboratories, Inc. (1978) pp.68
4. 櫻ゆみ(1993)  
ビフェニルのラット及びマウスを用いた経口投与によるがん原性予備試験報告書
5. 阿部正信 (1986)  
長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの  
適正層別方式の確立  
薬理と治療, 14, 7285-7302
6. Peto, R., Pike, M. C., Day, N. E., Gray, R. G., Lee, P. N., Parish, S.,  
Peto, J., Richrds, S. and Wahrendorf, J. (1980)  
Guidlines for Simple, Sensitive Significance Tests for  
Carcinogenic Effects in Long-term Animal Experiments.  
In:Long-Term and Short-Term Screening Assays for  
Carcinogens:A Critical Appraisal,  
IARC Monographs, Suppl. 2, pp.311-426  
International Agency for Research on Cancer, Lyon.
7. Jokinen M. P. (1990)  
Urinary bladder, ureter and urethra.  
In:Pathology of the Fischer Rat, Reference and Atlas. pp.109-126  
Academic Press, Inc., San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
8. Wick M. R., Brown B. A., Young R. H. and Mills S. E (1988)  
Spindle-cell proliferations of the urinary tract. An immnohistochemical study.  
The American Journal of Surgical Pathology, 12, 379-389



9. Imai K., Yoshimura S., Yamaguchi K., Matsui E., Isaka H., Hashimoto K. and Boorman G.A. (1990)  
Effects of dietary restriction on age associated pathologic changes in F344 rats.  
Journal of Toxicologic Pathology, 3, 209-221
10. Witt W.M., Sheldon W.G., and Thurman J.D. (1991)  
Pathological endpoints in dietary restricted rodents-Fischer 344 rats and B6C3F<sub>1</sub> mice.  
In: L. Fishbein ed. Biological Effects of Dietary Restriction, pp. 73-86  
Springer-Verlag, New York.
11. 伊東信行 著 (1994)  
最新毒性病理学 Toxicologic Pathology, pp. 209-218,  
榊中山書店, 東京
12. Miyakawa M. and Yoshida O. (1975)  
Induction of tumors of the urinary bladder in female mice following surgical implantation of glass beads and feeding of bracken fern.  
Gann, 66, 437-439
13. Meyer T., Aarbakke J. and Scheline R.R. (1976)  
The Metabolism of Biphenyl. I. Metabolic disposition of <sup>14</sup>C-biphenyl in the rat.  
Acta Pharmacol. et toxicol, 39, 412-418
14. Rowland R.G., Henneberry M.O., Oyasu R. and Grayhack J.T. (1980)  
Effects of urine and continued exposure to carcinogen on progression of early neoplastic urinary bladder lesions.  
Cancer Research, 40, 4524-4527
15. 伊東信行 (1987)  
膀胱癌, その発生と進展並びにその修飾  
日病会誌, 宿題報告I, 75, pp. 3-37
16. 石館 基 (1987)  
チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験データ集  
pp. 152, 国立衛生試験所安全性生物試験研究センター, 東京