

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(混餌試験)報告書

試験番号

2 週 間 : ラット/0179 ; マウス/0180

1 3 週 間 : ラット/0185 ; マウス/0186

CAS No. 92 - 52 - 4

平成 5 年 5 月 31 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予備試験(混餌試験)報告書

試験番号

2 週 間 : ラット/0179 ; マウス/0180

13 週 間 : ラット/0185 ; マウス/0186

本 文

目 次	頁
要 旨	1
ビフェニルについて	3
I 試 験 材 料	
I - 1 被 験 物 質 の 使 用 ロ ッ ト 等	6
I - 2 被 験 物 質 の 同 一 性 ・ 安 定 性	6
I - 2 - 1 同 一 性	6
I - 2 - 2 安 定 性	6
I - 3 試 験 動 物	7
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	8
II - 1 - 2 投 与 濃 度	8
II - 1 - 3 被 験 物 質 の 調 製	10
II - 1 - 4 調 製 時 に お け る 濃 度 測 定	10
II - 1 - 5 投 与 条 件 下 に お け る 被 験 物 質 の 安 定 性	10
II - 1 - 6 被 験 物 質 の 摂 取 量	10
II - 2 動 物 管 理	
II - 2 - 1 群 分 け 及 び 個 体 識 別 方 法	11
II - 2 - 2 飼 育 条 件	11
II - 3 観 察 ・ 検 査 項 目 及 び 方 法	
II - 3 - 1 動 物 の 一 般 症 状 の 観 察	12
II - 3 - 2 体 重 測 定	12
II - 3 - 3 摂 餌 量 測 定	12
II - 3 - 4 血 液 学 的 検 査	12
II - 3 - 5 血 液 生 化 学 的 検 査	12
II - 3 - 6 尿 検 査	13
II - 3 - 7 病 理 学 的 検 査	13
II - 4 数 値 処 理 と 統 計 学 的 方 法	
(1) 数 値 の 取 扱 と 表 示	14
(2) 母 数 の 取 扱 と 表 示	14
(3) 統 計 方 法	15
II - 5 試 資 料 の 保 管	15

## Ⅲ 試験成績

## Ⅲ-1 ラットを用いた試験

## Ⅲ-1-1 2週間試験

(1) 動物の状態観察	16
(2) 病理学的検査	17

## Ⅲ-1-2 13週間試験

(1) 動物の状態検査	18
(2) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	19
(3) 病理学的検査	20

## Ⅲ-2 マウスを用いた試験

## Ⅲ-2-1 2週間試験

(1) 動物の状態検査	22
(2) 病理学的検査	23

## Ⅲ-2-2 13週間試験

(1) 動物の状態検査	24
(2) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	25
(3) 病理学的検査	26

## Ⅳ 考察及びまとめ 28

## Ⅴ 文献 31

T A B L E S

TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS  
IN THE FEED (OR GAVAGE) STUDIES OF BIPHENYL

TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT  
(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT  
(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 4 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 5 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 6 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT  
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 7 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT  
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 8 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 9 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

T A B L E S (CONTINUED)

TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE  
(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE  
(TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDIES)

TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE  
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE  
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 16 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

TABLE 17 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

F I G U R E S

FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:MALE (TWO-YEAR STUDIES)

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES : RAT:FEMALE (TWO-YEAR STUDIES)

FIGURE 3 FOOD CONSUMPTION : RAT:MALE (TWO-YEAR STUDIES)

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION : RAT:FEMALE (TWO-YEAR STUDIES)

FIGURE 5 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:MALE (TWO-YEAR STUDIES)

FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES : MOUSE:FEMALE (TWO-YEAR STUDIES)

FIGURE 7 FOOD CONSUMPTION : MOUSE:MALE (TWO-YEAR STUDIES)

FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION : MOUSE:FEMALE (TWO-YEAR STUDIES)

P H O T O G R A P H S

- PHOTOGRAPH 1 KIDNEY, DILATATION:TUBULAR LUMEN  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, RAT, MALE, 16000ppm, ANIMAL NO.0185-1508  
(H.E., X60)
- PHOTOGRAPH 2 KIDNEY, HYALINE CAST  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, RAT, MALE, 16000ppm, ANIMAL NO.0185-1508  
(H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 3 KIDNEY, BASOPHILIC CHANGE  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, RAT, MALE, 16000ppm, ANIMAL NO.0185-1505  
(H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 4 KIDNEY, DESQUAMATION:PELVIS  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, RAT, MALE, 16000ppm, ANIMAL NO.0185-1505  
(H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 5 KIDNEY, DESQUAMATION:PELVIS  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, MOUSE, MALE, 16000ppm, ANIMAL NO.0186-1603  
(H.E., X150)
- PHOTOGRAPH 6 LIVER, EOSINOPHILIC FINE GRANULAR CHANGE:LIVER CELL  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, MOUSE, FEMALE, 16000ppm, ANIMAL NO.0186-2606  
(H.E., X600)
- PHOTOGRAPH 7 LIVER, NON REMARKABLE CHANGE  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, MOUSE, MALE, Control, ANIMAL NO.0186-1005  
(H.E., X60)
- PHOTOGRAPH 8 LIVER, SWELLING OF LIVER CELL  
THIRTEEN-WEEKS STUDY, MOUSE, MALE, 16000ppm, ANIMAL NO.0186-1603  
(H.E., X150)



A P P E N D I X E S

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

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX A 5-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 5-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 5-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 5-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 5-5 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 5-6 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-1 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-2 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-3 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 6-4 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MRIBUND ANIMALS
- APPENDIX A 6-5 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 6-6 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX A 7-1 IDENTITY AND PURITY OF BIPHENYL  
PERFORMED AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY  
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 7-2 STABILITY OF BIPHENYL  
AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY  
(TWO-WEEK STUDIES)
- APPENDIX A 7-3 ANALYSIS OF BIPHENYL CONCENTRATION IN FORMULATED DIETS  
OF THE TWO-WEEK STUDIES
- APPENDIX A 7-4 STABILITY OF BIPHENYL IN FORMULATED DIETS  
OF THE TWO-WEEK STUDIES

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX B 1-1 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE
- APPENDIX B 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE
- APPENDIX B 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 4-1 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE
- APPENDIX B 4-2 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 4-3 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 4-4 CHEMICAL INTAKE CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX B 5-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE
- APPENDIX B 5-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 5-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 5-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 6-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE
- APPENDIX B 6-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 6-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 6-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 7-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE
- APPENDIX B 7-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 7-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 7-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX B 8-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 8-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 8-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS
- APPENDIX B 8-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 8-5 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)  
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 9-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), ABSOLUTE  
RAT:MALE
- APPENDIX B 9-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), ABSOLUTE  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 9-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), ABSOLUTE  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 9-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), ABSOLUTE  
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 10-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE  
RAT:MALE
- APPENDIX B 10-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE  
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 10-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE  
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 10-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE  
MOUSE:FEMALE

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX B 11-1 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY) RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 11-2 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY) RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 11-3 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY) MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 11-4 HISTOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS  
(THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY) MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS
- APPENDIX B 12-1 IDENTITY AND PURITY OF BIPHENYL  
PERFORMED AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY  
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- APPENDIX B 12-2 STABILITY OF BIPHENYL  
AT THE JAPAN BIOASSAY LABORATORY  
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)
- APPENDIX B 12-3 ANALYSIS OF BIPHENYL CONCENTRATION IN FORMULATED DIETS  
OF THE THIRTEEN-WEEK STUDIES
- APPENDIX B 12-4 STABILITY OF BIPHENYL IN FORMULATED DIETS  
OF THE THIRTEEN-WEEK STUDIES
- APPENDIX C 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS
- APPENDIX C 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

## 要旨

ビフェニルの投与による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(104週間)の試験を実施するに当たり、その投与濃度を検索するために、本予備試験(2週間試験、13週間試験)を実施した。2週間試験及び13週間試験のラット及び2週間試験のマウスでは、被験物質投与群を5群、対照群1群の6群構成で、また13週間試験のマウスにおいては被験物質投与群を6群、対照群1群の群構成による7群構成で行った。投与濃度は、2週間試験のラットは雌雄とも 40000ppm、20000ppm、10000ppm、5000ppm、2500ppmで、マウスは雌雄とも 20000ppm、10000ppm、5000ppm、2500ppm、1250ppmとし、13週間試験のラットは雌雄とも、16000ppm、8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm、マウスは雌雄とも最終投与濃度を16000ppm、10000ppm、8000ppm、4000ppm、2000ppm、500ppmとした。投与はビフェニルを混合した粉末飼料の自由摂取で行った。観察、検査項目は一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査(13週間試験)、血液生化学的検査(13週間試験)、尿検査(13週間試験)、剖検、臓器重量測定(13週間試験)及び病理組織学的検査を行った。

ラットでは2週間試験の結果、高用量の 40000ppm群及び 20000ppm群で、体重増加の抑制、摂餌量の低値、骨髓と腎臓の変化がみられたが、10000ppm群では体重増加の抑制が約10%みられただけであった。これらの結果から、13週間試験における投与濃度は高用量を 20000ppmと 10000ppmの間である 16000ppmとし、以下 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm(公比2.0)と設定した。13週間試験の結果、高用量である 16000ppm群及び 8000ppm群では、体重増加の抑制(10%以上)、摂餌量の低値、腎臓(近位尿細管腔の拡張、硝子円柱、塩基性変化、腎盂移行上皮の剥離)と肝臓(肝細胞の腫脹)の変化、貧血傾向、血漿の生化学的検査における変化、尿pH等の変化が認められた。4000ppm群では体重増加の抑制が軽度に見られ、雄では腎臓の変化及び血液、生化学検査の変化、雌では肝臓の変化がみられた。2000ppm以下の群では、雄にのみ腎臓、血液及び生化学的变化がわずかにみられただけであった。これらを参考に、がん原性試験における投与濃度を高用量群は 4500ppmとし、中用量および低用量群はより確実に長期間投与に耐えられると考えられる 1500ppm、500ppm(公比3.0)と設定した。

マウスでは2週間試験の結果、高用量の 20000ppm群は雄で7/10例、雌で6/10例、10000ppm群では雌雄とも1/10例の死亡をみた。また、20000ppm及び 10000ppm群では体重増加の抑制、20000ppm群で脾臓、肝臓、胸腺、腎臓、

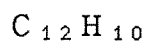
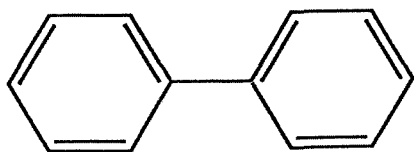
筋肉の変化、10000ppm群で肝臓の変化がみられた。死亡の原因は摂食忌避による餓死と思われることから、13週間試験の投与濃度はビフェニルの摂食阻害に対して動物を馴化させるため段階的に投与濃度を上げ、高用量を16000ppm(1週目 4000ppm、2週目 8000ppm)以下、公比2.0で 8000ppm(1週目 4000ppm)、4000ppm、2000ppmとし、16000~8000ppmの間に10000ppm(1週目 4000ppm)、さらに 500ppmを加えて試験を行うこととした。13週間試験の結果、高用量である 16000ppm群の雌で1/10例死亡し、雌雄ともに体重増加の抑制、肝臓の変化(雄で肝細胞の腫脹、雌でエオジン好性細顆粒状変化)、腎臓の変化(腎盂移行上皮の剥離、硝子円柱)、生化学的変化がみられた。10000ppm群及び 8000ppm群では、雄で体重増加の抑制、肝臓の変化、雌雄に生化学的変化があり、8000ppm群の雌では腎臓の変化もみられた。なお、4000ppm群では、雌雄で生化学的変化が軽度に観察されただけであった。

そこでがん原性試験における投与濃度を、高用量は8000ppmと 4000ppmの中間をとり 6000ppmとし、以下、中用量及び低用量は、それぞれ 2000ppm、677ppm(公比3.0)と設定した。



ビフェニルについて

<構造式、分子量>



分子量 : 154.20

CAS.No. : 92-52-4

<名称と別名>

名称 : Biphenyl (ビフェニル)

別名 : Diphenyl (ジフェニル)

Bibenzene (ビベンゼン)

Phenylbenzene (フェニルベンゼン)

<物理化学的性状等>

性状 : 無色ウロコ状または白色ウンモ状晶

沸点 : 255.2℃

融点 : 69.2℃

比重 :  $d_4^{20}$  1.041

溶解性 : 水に不溶、アルコールに微溶、四塩化炭素、エーテルに可溶

保存条件 : 火気のない冷所に保存

<用途>

熱的に安定な化合物であるため伝熱媒体として用いられ、その他、有機合成原料、染色助剤、医薬原料、防かび剤、合成樹脂原料などに用いられている。(文献 1, 2)

<生産量>

日本では、1991年には約5,000ton生産された(文献 1)

<許容濃度>

ACGIHでは、時間荷重平均値を0.2ppmとしている。

F A O / W H O は本品の一日摂取許容量 (ADI) を0.125mgとしている。

(文献 3, 4)

<法的規制>

労働安全衛生法上の規制はされていない。

<人への障害例>

ビフェニルをしみ込ませ、フルーツ紙を製造する工場で、作業者が目や喉に強度の刺激を訴えた。また、頭痛、消化器症状多発、全身疲労が認められる。(文献 4)

<動物試験>

動物の試験による報告を次表に示す。

試験の種類	動物種	投与期間	投与経路	内容	文献番号
急性	ラット	1回	経口	L D <sub>50</sub> =3280mg/kg	(文献 5)
			経口	L D <sub>50</sub> =3.3~5.5g/kg	(文献 1)
			経口	L D <sub>50</sub> =3280mg/kg、L D <sub>50</sub> =2400mg/kg	(文献 6)
	マウス	1回	経口	L D <sub>50</sub> =1900mg/kg	(文献 7)
	ウサギ	1回	経口	L D <sub>50</sub> =2410mg/kg	(文献 5)
			経口	致死量をウサギにオリーブ油溶液として1回経口投与した。 死亡例：肝臓の脂肪変性、強い腎炎症 生存例：肺の鬱血、水腫、炎症 後肢の軽度の麻痺	(文献 6)
			経皮	L D <sub>50</sub> =2500mg/kg	(文献 6)
亜急性	ラット	4週間	経口	2、20、200mg/kg 血液像、体重正常	(文献 8)
		3ヶ月	混餌	0.01、0.1% 0.1%に多尿、他に異常無し (摂餌効率異常無し)	(文献 8)
慢性	ラット	2~13ヶ月	経口	50~100mg/day 軽度肝障害	(文献 4)
		1回 7ヶ月飼育	経口	25%オリーブ油溶液を0.5、1.0、1.5、2.0、3.0g投与 腫瘍無し	(文献 9)
		13ヶ月	経口	50~100mg/day 乳頭腫2例 胃前部偏平上皮癌1例	(文献 9)
		750日	混餌	0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1% 0.5、1% 摂餌量小、体重抑制(100日) 腎臓にリンパ球浸潤、尿細管萎縮 または拡張、嚢胞、尿中蛋白 血色素尿 1% ヘモグロビン低下	(文献 8)
	Wistar	75週間	混餌	0.25、0.5% 47週より血尿、結石→死亡	(文献 10)
	Wistar	104週間	混餌	0.063、0.125% 結石わずか、腫瘍無し	(文献 10)
	マウス	18ヶ月	経口+ 混餌	2.5mg/day、0.5%ゼラチン中 7~28日 +517µm 餌中×17ヶ月 腫瘍無し	(文献 11)
			経口	T D <sub>Lo</sub> =56mg/kg	(文献 12)
			皮下	T D <sub>Lo</sub> =46mg/kg	(文献 13)
その他	ラット F344	1週	混餌	0.1、0.5、1.0、2.0%ピフェニルはコンカナバリンAによるラットの剥離膀胱上皮細胞の凝集能を高めなかったがピフェニルの誘導体であるo-フェニルフェノールナトリウム(OPP-Na)は高値であった。	(文献 14)
		13~91週	混餌	0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0% OPP-Naは膀胱癌を雄に発生	(文献 15)

I 試験材料

I - 1 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号

2 週間 試験 : DSQ3708

13 週間 試験 : DSK6646

製 造 元 : 和光純薬工業株式会社

グ レ ー ド : 和光特級

純 度 : 98.0%以上

I - 2 被験物質の同一性・安定性

I - 2 - 1 同一性

被験物質として使用するビフェニルを各ロット毎にマススペクトル、及び紫外吸収スペクトルを測定し、同一であることを確認した。なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 7-1、13週間試験は Appendix B 12-1 に示した。

I - 2 - 2 安定性

被験物質として使用するビフェニルを各ロット毎に受領時及びその使用終了時に、ガスクロマトグラフを実施し、安定であることを確認した。なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 7-2、13週間試験は Appendix B 12-2 に示した。

### I - 3 試験動物

動物は2週間試験、13週間試験ともに日本チャールス・リバー(株)の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。

2週間試験では、ラット、マウスとも雌雄各75匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般状態の観察所見に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60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:116~132g、雌:97~108g/マウス雄:21.2~24.4g、雌:17.7~20.0g)を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラットの雌雄各75匹、マウスの雌雄各87匹を生後4週齢で導入し、各1週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般状態の観察所見に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近いラットの雌雄各60匹、マウスの雌雄各70匹(投与開始時体重範囲、ラット雄:115~132g、雌:97~109g/マウス雄:21.9~24.6g、雌:17.7~19.9g)を選別し、試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF<sub>1</sub>マウスを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせた。

## 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

2週間試験、13週間試験において、ビフェニルを混合した粉末飼料の自由摂取で、2週間試験では14日間連続、13週間試験では92～94日間連続投与した。

#### Ⅱ - 1 - 2 投与濃度

##### 2週間試験

2週間試験では、ラットは高用量を 40000ppmに設定し、それ以下 20000ppm、10000ppm、5000ppm、2500ppm（公比2.0）とした。

マウスは高用量を 20000ppmに設定し、それ以下 10000ppm、5000ppm、2500ppm、1250ppm（公比2.0）とした。

##### 13週間試験

13週間試験では、ラットは高用量を 16000ppmに設定し、それ以下 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm（公比2.0）とした。

マウスは高用量を 16000ppmに設定し、公比2.0で 8000ppm、4000ppm、2000ppmと 8000～16000ppmの間に 10000ppm、また低用量に 500ppmを加えた。さらに、16000ppm、10000ppm、8000ppmについては次表に示すように投与濃度を段階的に上げた。

群名（最終投与濃度）	投与濃度	投与週日	投与期間（週）
8000ppm群	4000ppm	0-0～1-7	1
	8000ppm	1-7～13-7	12
10000ppm群	4000ppm	0-0～1-7	1
	10000ppm	1-7～13-7	12
16000ppm群	4000ppm	0-0～1-7	1
	8000ppm	1-7～2-7	1
	16000ppm	2-7～13-7	11

### Ⅱ－１－３ 被験物質の濃度調製

2週間、13週間の各試験とも、ビフェニルと粉末飼料を混合して予め所定の濃度に調製し、さらに、各設定濃度になるように粉末飼料を加え希釈調製した。なお、各試験における濃度のppm表示は、重量対重量比とした。また、調製頻度は2週間試験では餌の交換にあわせて週1回とし、13週間試験では1ヶ月に1回とした。

### Ⅱ－１－４ 調製時における濃度測定

投与したビフェニルの混合飼料の濃度は、2週間、13週間試験では投与開始時にガスクロマトグラフ法によって測定し、設定濃度に対し、2週間試験では 89.2～102.9%、13週間試験では 99.2～111.6% の範囲に各々調製されていることを確認した。

なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 7-3 、13週間試験は Appendix B 12-3 に示した。

### Ⅱ－１－５ 投与条件下における被験物質の安定性

粉末飼料と混合調製したビフェニルの安定性については、その濃度をガスクロマトグラフ法により測定し、7日間の安定性を確認した。

なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 7-4 、13週間試験は Appendix B 12-4 に示した。

### Ⅱ－１－６ 被験物質の摂取量

2週間、13週間試験のビフェニルの摂取量は、体重と摂餌量の測定値及び設定濃度から算出した。

なお、それらの結果について、2週間試験は Appendix A 4-1～4 、13週間試験は Appendix B 4-1～4 に示した。



## Ⅱ - 2 動物管理

### Ⅱ - 2 - 1 群分け及び個体識別方法

供試動物の各投与群への割り当ては、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 16)。

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により、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、バリア区域内の独立した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、他試験と区別した。

### Ⅱ - 2 - 2 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。

動物のケージへの収容は全て単飼(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)とし、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(30KGY- $\gamma$ 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(30KGY- $\gamma$ 線照射滅菌飼料)を粉末飼料給餌器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、自動給水により自由摂取させた。

## 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

2週間試験では、0日(投与開始直前)、1日(1週1日)、2日(1週2日)、4日(1週4日)、7日(1週7日)、11日(2週4日)及び14日(2週7日)、13週間試験では週1回体重を測定した。

### Ⅱ - 3 - 3 摂餌量測定

2週間試験では4日(1週4日)、7日(1週7日)、11日(2週4日)、及び14日(2週7日)、13週間試験では週1回摂餌量を測定した。

### Ⅱ - 3 - 4 血液学的検査

13週間試験において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採血したEDTA-2K加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 C 1 に示した。

### Ⅱ - 3 - 5 血液生化学的検査

13週間試験において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採血したヘパリンリチウム加血液を遠心分離して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 C 1 に示した。

## Ⅱ - 3 - 6 尿検査

13週間試験の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。

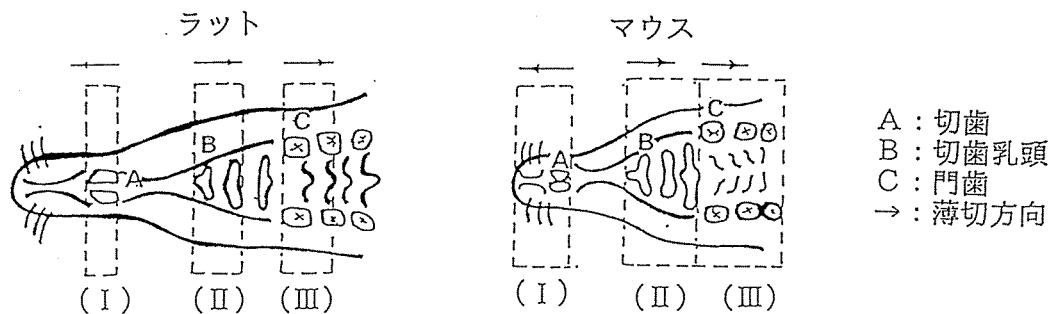
検査項目は Table 1、検査方法は Appendix C 1 に示した。

## Ⅱ - 3 - 7 病理学的検査

各試験とも解剖時に全動物について肉眼的に観察を行った。2週間試験では雌雄各群の 2~7例の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を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臓器を、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、鼻腔については切歯の後端(レベル1)、切歯乳頭(レベル2)、第一臼歯の前端(レベル3)の3カ所で切り出し(横断)、検査した。

臓器重量は13週間試験の定期解剖時まで生存した動物についてTable 1 に示した臓器の湿重量を測定した。

### 切出し位置



## Ⅱ - 4 数値処理と統計学的方法

### (1) 数値の取扱いと表示

各数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

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g/kg/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 C 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った。

### (2) 母数の取扱いと表示

各種統計検定における群内動物数(母数)は総括表に示した。

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「-」で表示し、母数より除いた。

13週間試験の臓器重量、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「-」で表示し、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、検査数を母数とした。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。

### (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13週試験では非腫瘍性病変について、死亡/瀕死例、定期解剖例に分け、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。なお、 $\chi^2$ 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。

### 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 ラットを用いた試験

##### Ⅲ-1-1 2週間試験(試験番号:0179)

###### (1) 動物の状態観察

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

一般状態の観察結果を Appendix A 1-1,2 に示した。

投与期間中の一般状態の観察において、雌雄ともに 40000ppm群に1週3日より糞少量が全個体にみられ、2週4日よりしだいに回復がみられる様になった。また、1週7日以降しだいに立毛を程する個体が増加した。

体重の推移を Table 2,3、Appendix A 2-1,2 に示した。

雌雄の 10000ppm以上の群では、継続した体重の低下もしくは体重増加の抑制がみられた。投与期間中、雌雄の 5000ppm以下の群では対照群に比較して顕著な差は認められなかった。

14日の最終計測時における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 40000ppm群:51%、20000ppm群:76%、10000ppm群:80%、5000ppm群:96%、2500ppm群:97%、雌では 40000ppm群:65%、20000ppm群:87%、10000ppm群:92%、5000ppm群:96%、2500ppm群:99%であった。

摂餌量を Table 4,5、Appendix A 3-1,2 に示した。

投与期間中、雄の 10000ppm以上の群、雌の 20000ppm以上の群で継続的に対照群に比較して低値が認められ、その量は対照群に比較して雄では 40000ppm群:39~53%、20000ppm群:43~80%、10000ppm群:70~91%、雌では 40000ppm群:38~69%、20000ppm群:44~88%であった。

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂餌量を Appendix A 4-1,2 に示した。

( 2 ) 病理学的検査

剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix A 5-1,2 に示した。

雌雄ともに 40000ppm群に胸腺の萎縮が少数例みられた。

病理組織学的検査

病理組織学的所見を Appendix A 6-1,2 に示した。

雌雄の 20000ppm以上の群に骨髓の減形成、雌雄の 40000ppm群に腎臓の腎盂の剥離がみられた。これに加えて、雄の 40000ppm群では胸腺の萎縮、腎臓の好塩基性変化、硝子円柱、副腎の皮質の脂質増加、精巣の萎縮がみられた。雌の 40000ppm群では腎臓の尿細管腔の拡張がみられた。雌ではその他、5000、20000、40000ppm群に腎臓の好塩基性変化が、40000ppm群に腎臓の皮髄境界部の鉍質沈着の消失がみられた。

Ⅲ - 1 - 2    1 3 週 間 試 験 ( 試 験 番 号 : 0 1 8 5 )

( 1 ) 動 物 の 状 態 観 察

動物の死亡は、雌雄ともに全ての群で認められなかった。

投与期間中の一般状態の観察において、雌雄の投与群にはビフェニルの投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

体重の推移を Table 6, 7 、 Appendix B 2-1, 2 に示した。

雄の 8000ppm以上の群及び雌の 4000ppm以上の群においては、全投与期間(1～13週)に、雄の 4000ppm群においては、9週以降13週に体重増加の抑制が対照群と比較して認められ、その抑制率は雄の 4000ppm群では3～8%、8000ppm群:7～10%、16000ppm群:12～21%、雌の 4000ppm群では4～9%、8000ppm群:6～12%、16000ppm群:12～15%であった。一方、2000ppm以下の群の体重推移は雌雄ともに対照群との間に顕著な差は認められなかった。

13週の最終計測時における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 16000ppm群:81%、8000ppm群:91%、4000ppm群:92%、2000ppm群:97%、1000ppm群:101%、雌では 16000ppm群:86%、8000ppm群:90%、4000ppm群:93%、2000ppm群:98%、1000ppm群:97%であった。

摂餌量を Table 8, 9 、 Appendix B 3-1, 2 に示した。

雄の 16000ppm群及び雌の 8000ppm以上の群において投与後1週以降のはは全投与期間に、摂餌量の低下が対照群と比較して認められ、その低下率は雄では 16000ppm群:7～36%、雌では 8000ppm群:8～19%、16000ppm群:0～25%であった。一方、雄の 8000ppm以下の群では、8000ppm群の1週に低下がみられ、他は対照群との間に顕著な差は認められなかった。雌の 4000ppm以下の群では 4000ppm群の2～5週に低下がみられ、他は対照群との間に顕著な差は認められなかった。

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂餌量を Appendix B 4-1, 2 に示した。



( 2 ) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

血液学的検査

血液学的検査の結果を Appendix B 5-1,2 に示した。

雄では、2000ppm以上の群で赤血球数の減少及びM C Vの増加が、4000 ppm以上の群でヘモグロビン濃度の減少及びM C Hの増加が、8000ppm以上の群でヘマトクリット値の減少、16000ppm群で血小板数の増加がそれぞれ認められた。

雌では、8000ppm以上の群で赤血球数、ヘマトクリット値の減少及びヘモグロビン濃度の減少が、16000ppm群でM C Hの減少がそれぞれ認められた。

血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を Appendix B 6-1,2 に示した。

雄では、4000ppm以上の群でアルブミン、A / G 比、総コレステロール及びリン脂質の増加、8000ppm以上の群でカルシウムの増加、16000ppm群でG P T 活性の低下、ナトリウム、クロールの減少及びカリウムの増加が認められた。

雌では、8000ppm以上の群でアルブミン、A / G 比、総コレステロール及び尿素窒素の増加、16000ppm群でリン脂質、カリウムの増加、 $\gamma$ -G P T 活性の上昇及びナトリウムの減少、8000ppm群でトリグリセライドの減少がそれぞれ認められた。

尿検査

尿検査の結果を Appendix B7-1,2 に示した。

雄では、8000ppm以上の群でp H 値の低下及びケトン体の陽性例の減少が認められ、16000ppm群で蛋白質の陽性度の減少が認められた。

雌では、16000ppm群でp H 値の低下が認められた。

### ( 3 ) 病理学的検査

#### 剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix B 8-1,2 に示した。

雄の 16000ppm群で腎臓の白色点が1/10例みられた。

#### 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 B 9-1,2 、  
B 10-1,2 に示した。

雄では 8000ppm以上の群に肝臓の実重量と体重比、及び腎臓の体重比の高値、4000ppm群に肝臓と腎臓の体重比の高値が認められた。雌では 8000ppm以上の群に肝臓の実重量と体重比の高値、4000ppm群に肝臓の体重比の高値が認められた。その他、体重の抑制に伴って、雄では胸腺の実重量の低値が 4000ppm以上の群、心臓と脾臓の実重量の低値が 8000ppm以上の群、肺の実重量の低値が 16000ppm群にみられ、また、脳の体重比の高値が 4000ppm以上の群、副腎と精巣の体重比の高値が 8000ppm以上の群、肺と脾臓の体重比の高値が 16000ppm群に認められた。雌でも体重の抑制に伴って、心臓の実重量の低値が 4000ppm以上の群、胸腺、副腎、卵巣、及び肺の実重量の低値が 16000ppm群でみられ、また、肺と脳の体重比の高値が 4000ppm以上の群、副腎の体重比の高値が 4000ppmと 8000ppm群、腎臓の体重比の高値が 8000ppm以上の群に認められた。

#### 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を Appendix B 11-1,2 に示した。

#### 雄

8000ppm以上の群で、肝臓の肝細胞腫脹、腎臓の好塩基性変化と皮髄境界部の鉍質沈着が認められ、16000ppm群では腎臓の硝子円柱、乳頭の鉍質沈着、尿細管腔の拡張及び腎盂移行上皮の剥離が認められた。また、硝子円柱、腎盂移行上皮の剥離はわずかではあるが、8000ppm群でも認められた。

#### 雌

8000ppm以上の群で肝臓の肝細胞腫脹と腎臓の腎盂移行上皮の剥離が認め

られ、16000ppm群では腎臓の硝子円柱、腎盂移行上皮の剥離、及び尿細管の拡張が認められた。

## Ⅲ - 2 マウスを用いた試験

## Ⅲ - 2 - 1 2週間試験 (試験番号:0180)

## (1) 動物の状態観察

動物の死亡は、雌雄の 10000ppm以上の群において認められ、雄では 10000ppm群に1/10例(1週7日)、20000ppm群に7/10例(1週4日:1例、1週5日:2例、1週6日:2例、1週7日:1例、2週1日:1例-合計7例)に認められた。雌では 10000ppm群に1/10例(1週5日)、20000ppm群に6/10例(1週4日:1例、1週5日:2例、1週6日:1例、2週1日:1例、2週2日:1例-合計6例)に認められた。

一般状態の観察結果を Appendix A 1-3,4 に示した。

雌雄の 10000ppm以上の群で投与直後よりすべての個体が糞少量の所見が認められ、雌雄ともに投与開始4日後(1週4日)より立毛、糞小粒及び円背位がみられたが、しだいに回復の傾向を示し、20000ppm群の雌においては自発運動減少(6/9例)もみられたが、その多くが死に至った。

体重の推移を Table 10,11、Appendix A 2-3,4 に示した。

雌雄の 10000ppm以上の群では継続した体重の低下もしくは体重の抑制がみられた。5000ppm群で投与初期において体重の抑制がみられたが後半はしだいに回復がみられた。また、2500ppm以下の群では対照群に比較して顕著な差は認められなかった。

14日の最終計測時における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では 20000ppm群:75%、10000ppm群:88%、5000ppm群:99%、2500ppm群:100%、1250ppm群:101%、雌では 20000ppm群:84%、10000ppm群:92%、5000ppm群:98%、2500ppm群:99%、1250ppm群:101%であった。

摂餌量を Table 12,13、Appendix A 3-3,4 に示した。

雄の 10000ppm以上の群及び雌の 5000ppm以上の群では対照群に比較して摂餌量の高値が散見された。これは、5000ppm以上の群では餌こぼしがあり、すべての値を摂取したと考えるのは困難である。

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂餌量を Appendix A 4-3,4 に示した。

## (2) 病理学的検査

### 剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix A 5-3~6 に示した。

死亡動物では、雌雄とも胸腺の萎縮及び全身の瘦削が観察された。

定期解剖動物では、雄の 20000ppm群及び雌の 10000ppm以上の群で胸腺の萎縮が少数例ではあるが観察された。

### 病理組織学的検査

病理組織学的所見を Appendix A 6-3~6 に示した。

#### 雄

死亡動物に脾臓の萎縮、肝臓の萎縮及び巣状壊死が観察された。

定期解剖動物では 10000ppm以上の群で肝臓の腫脹及び肉芽形成が、これに加えて 20000ppm群で肝臓の巣状壊死、腎臓の好塩基性変化及び筋組織の鉍質沈着を伴った壊死が、それぞれ観察された。

#### 雌

死亡動物に胸腺と脾臓の萎縮、肝臓の萎縮、中心性壊死及び巣状壊死が観察された。

定期解剖動物で 10000ppm以上の群で肝臓の腫脹が、20000ppm群で肝臓の巣状壊死が、1250、2500、20000ppm群で肝臓の肉芽形成が、2500ppm群で胃の腸上皮化生がそれぞれ観察された。

なお、死亡した個体は摂餌忌避による餓死と思われる。肝臓の巣状壊死は摂餌忌避による栄養不足やストレスによる変化と考えられる。また、肝臓の肉芽形成、筋組織の鉍質沈着をともなった壊死と投与との関係は明かでない。

## Ⅲ - 2 - 2 13週間試験 (試験番号:0186)

## (1) 動物の状態観察

動物の死亡は、雌の16000ppm群においてビフェニルの投与開始後、3週目に1例認められた。

一般状態の観察結果を Appendix B 1-1 に示した。

投与期間中の一般状態の観察において、雌雄ともにビフェニルの投与と関連があると思われる所見は認められなかった。

体重の推移を Table 14, 15、Appendix B 2-3, 4 に示した。

雄では、8000ppm以上の群ではほぼ全投与期間に、体重増加の抑制が対照群と比較して認められ、体重の抑制率は16000ppm群:6~25%、10000ppm群:3~16%、8000ppm群:5~17%、4000ppm群:2~9%であった。

雌では、10000ppm以上の群ではほぼ全投与期間に、体重増加の抑制が対照群と比較して認められ、8000ppm群においても、同様に体重増加の抑制が投与後期にみられた。体重の抑制率は16000ppm群:4~22%、10000ppm群:3~15%、8000ppm群:1~10%であった。

13週の最終計測時における各投与群の体重は、対照群と比較して、雄では16000ppm群:75%、10000ppm群:85%、8000ppm群:83%、4000ppm群:91%、2000ppm群:97%、500ppm群:97%、雌では16000ppm群:86%、10000ppm群:92%、8000ppm群:94%、4000ppm群:97%、2000ppm群:102%、500ppm群:101%であった。

摂餌量を Table 16, 17、Appendix B 3-3, 4 に示した。

雄では、すべての投与群で投与開始後1週は対照群に比較して摂餌量の低値が認められたが、それ以降投与終了まで対照群に比較して高値が散見された。投与開始2週目以降、投与群では対照群と比較すると16000ppm群:100~120%、10000ppm群:95~122%、8000ppm群:98~124%、4000ppm群:93~110%、2000ppm群:94~113%、500ppm群:91~118%であった。雌では8000ppm以上の群で、対照群に比較して高値であるものが散見された。また、雄と同様に投与開始以降投与群では、対照群と比較すると、16000ppm群:94~125%、10000ppm群:88~132%、8000ppm群:92~119%、4000ppm群:89~116%、2000ppm群:88~121%、500ppm群:94~125%であった。雌雄とも投与濃度にしたがい摂餌量が増加している傾向にあるが、なかには対照群に比べて低値

であるものもみられた。これは個体によっては餌こぼしをするためと考えられる。

体重、摂餌量及び設定濃度より算出された被験物質摂餌量を Appendix B 4-3, 4 に示した。

## (2) 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

### 血液学的検査

血液学的検査の結果を Appendix B 5-3, 4 に示した。

雌の 500ppm 群及び 4000ppm 以上の群で M C V の減少、8000、16000ppm 群で M C H の減少がそれぞれ認められ、8000ppm 群で血小板数の増加が認められた。

雄には特記すべき変化は認められなかった。

### 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を Appendix B 6-3, 4 に示した。

雄では、2000ppm 以上の群で A / G 比の増加が、8000ppm 以上の群で A L P 活性の上昇が認められた。また、16000ppm 群でトリグリセライドの減少、及び G O T、G P T 活性の上昇が認められ、さらに 8000、16000ppm 群でアルブミン、総コレステロールの増加が認められた。

雌では、2000ppm 以上の群で総コレステロール、8000ppm 以上の群で A L P 活性の上昇、16000ppm 群で G O T、G P T 活性の上昇が認められ、さらに 16000ppm 群ではトリグリセライドの減少も認められた。また 4000ppm、10000ppm 以上の群での総タンパク質、4000、8000、16000ppm 群でのアルブミンの増加が、10000ppm 群でカリウムの減少がそれぞれ認められた。

### 尿検査

尿検査の結果を Appendix B 7-3, 4 に示した。

雌雄ともに特記すべき変化は認められなかった。

### ( 3 ) 病理学的検査

#### 剖検

解剖時に観察された剖検所見を Appendix B 8-3~5 に示した。

雌の死亡動物では、胸腺の萎縮、全身の瘦削が観察された。

定期解剖動物では、肝臓の暗色化が雌雄の 8000ppm以上の群で多数例に観察された。

#### 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 B 9-3,4 、  
B 10-3,4 に示した。

雄では 8000ppm以上の群に肝臓と精巣の体重比の高値、4000ppm群に肝臓の体重比の高値が認められた。雌では 8000ppmと 16000ppm群に肝臓の実重量と体重比の高値、10000ppm群に肝臓の体重比の高値が認められた。その他、雄では体重の抑制に伴って、肺の実重量の低値が 8000ppm以上の群、心臓の実重量の低値が 10000ppm以上の群、腎臓の実重量の低値が 16000ppm群にみられ、また、脳の体重比の高値が 4000ppm以上の群、肺と脾臓の体重比の高値が 16000ppm群に認められた。雌でも体重の抑制に伴って、腎臓の実重量の低値が 10000ppm以上の群、肺の実重量の低値が 10000ppm、心臓と脳の実重量の低値が 16000ppm群にみられた。また、脳の体重比の高値が 8000ppm群に認められた。

#### 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を Appendix B 11-3,4 に示した。

#### 雄

定期解剖動物では、8000ppm以上の群で肝臓の肝細胞腫脹が認められた。16000ppm群で腎臓の腎盂移行上皮の剥離、少数例に硝子円柱が認められた。

#### 雌

死亡動物については特記すべき特徴的な所見が認められなかった。

定期解剖動物では、16000ppm群で肝臓の肝細胞のエオジン好性微小顆粒状変化が認められた。また、16000ppm及び 8000ppm群で1例ずつではあるが



腎臓に腎盂移行上皮の剥離が認められた。

## 考察及びまとめ

ビフェニルの混餌投与によるがん原性試験の投与濃度を設定するにあたって、F-344ラット、BDF<sub>1</sub>マウスを用いた2週間及び13週間投与試験を行った。

## ラット

ラットの2週間試験の結果、高用量の40000ppm群では、雌雄ともに死亡はみられなかったものの、対照群に比較して体重増加の抑制がみられ、摂餌量も全投与期間を通して少なく、病理組織学的に骨髓、腎臓に変化がみられた。20000ppm群でも雌雄とも体重増加の抑制、摂餌量の低値がみられ、病理組織学的には雌雄ともに骨髓に変化が観察された。体重の抑制及び摂餌量の低値は40000ppm群では約50～70%であり、20000ppm群では摂餌量が7日目に60-80%、14日目には対照群の値に近づいたものの80～90%であった。10000ppm群では体重増加の抑制が約10%みられたほかは、著変を認めなかった。500ppm以下の群では何等著変を認めなかった。

これらの結果から20000ppm以上を13週間連続投与することは困難であると考えられ、また10000ppm群では対照群に比べて顕著な変化を認めなかったことから、13週間試験における投与濃度は高用量を20000ppmと10000ppmの間である16000ppmとし、以下8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm（公比2.0）と設定した。

13週間試験の結果、全投与群とも動物の死亡はみられなかった。高用量である16000ppm群及び8000ppm群では、対照群に比べ雌雄ともに体重増加の抑制（10%以上）がみられ、摂餌量も全投与期間を通して少なく、病理組織学的には腎臓及び肝臓に変化がみられた。臨床検査では血液学的検査で貧血傾向がみられたほか、血漿の生化学的検査におけるアルブミン増加等の変化や尿pH等の変化が観察された。4000ppm群では体重増加の抑制がわずかにみられ、病理組織学的には雄の腎臓及び雌の肝臓に変化が、雄では血液、生化学検査においても変化がみられた。2000ppm以下の群では、体重、摂餌量、一般状態等に著変はみられなく、雄で病理組織学的に腎臓のわずかな変化、臨床検査の血液、生化学的検査でわずかな変化がみられたにすぎなかった。これらの変化の中で病理組織学的所見は、腎臓の近位尿細管腔の拡張、硝子円柱、塩基性変化、腎盂移行上皮の剥離であり、肝臓は肝細胞の腫脹であった。肝臓の変化では、軽微な変化であり長期間投与でも動物の生存に影響を与える障害ではないと考えられた。これに対して、腎

臓の変化は、Ambroseらのビフェニルの混餌試験（0.5及び1%）における長期投与（750日）によって腎障害が発現し、生存期間が投与群で短かったという報告（文献 8）と、小西らのWistar系ラットにビフェニルの0.25または0.5%添加飼料を与えた試験で、47週頃より血尿や結石が発生し、動物が死亡したという報告（文献 10）にあるように尿結石に関連した所見で、ビフェニルの長期間投与で動物の生存に影響を与える障害であると考えられた。

がん原性試験での投与濃度は体重を指標にすれば 8000ppm群でも10%程度の抑制であり、がん原性試験の高用量として選択し得る。しかし、ビフェニルの長期間投与は上述のように結石の形成が推測されるため、高用量は4500ppmとし、中用量及び低用量はより確実に長期間投与に耐えられると考えられる 1500ppm、500ppm（公比3.0）と設定した。

#### マウス

マウスの2週間試験の結果、高用量の 20000ppm群は雄で7/10例、雌で6/10例の動物が死亡し、10000ppm群においても雌雄ともに1/10例の死亡をみた。また、20000ppm及び 10000ppm群の体重増加の抑制もみられ、病理組織学的には 20000ppm群で雌雄ともに脾臓、肝臓、胸腺、腎臓、筋肉に変化がみられた。10000ppm群でも雌雄ともに肝臓に変化がみられた。

これらの結果から13週間試験の投与濃度の設定において 10000ppm以上の投与濃度は不適切であると考えられた。しかし、5000ppmでは対照群と比較して摂餌量、体重について顕著な差が見られないこと、10000ppm、20000ppm群の生存例の体重が後半から雌雄ともに増加したこと、また、死亡がみられた日は投与開始後4～8日目になっており、死亡した原因は摂食忌避による栄養障害と思われることなどから、投与濃度を段階的に上げることによりビフェニルの摂食阻害に対して動物が馴化するであろうと判断された。そこで、13週間試験における投与濃度は高用量群を 16000ppm（1週目 4000ppm、2週目 8000ppm）として公比2.0で 8000ppm（1週目 4000ppm）、4000ppm、2000ppmとし、8000～16000ppmの間に 10000ppm（1週目 4000ppm）、低用量に 500ppmを加えて試験を行うこととした。

13週間試験の結果、高用量の 16000ppm群の雌に1/10例死亡がみられ、体重増加の抑制が雌雄ともにみられた。病理組織学的には、肝臓、腎臓に変化がみられ、臨床検査ではALP活性の増加等、生化学的変化がみられた。10000ppm群では、雄で体重増加の抑制、病理組織学的にも雄で肝臓の変化がみられ、臨床検査においては雌雄に生化学的変化がみられた。8000ppm群では、雄で体重増加の抑制、病理組織学的には雄の肝臓と、雌の腎臓の変化が観察され、臨床検査においては雌雄ともに生化学的変化がみられた。

4000ppm以下の群では、雌雄とも対照群に比較して体重には顕著な差がみられなかった。これらの群の病理組織学的な変化は 500ppm群の雌の腎臓に1例みられただけであり、臨床検査でも生化学的变化が軽度に認められたに過ぎなかった。なお、ビフェニルの投与による病理組織学的変化は肝臓の肝細胞の腫脹（雄）とエオジン好性細顆粒状変化（雌）、腎臓の腎盂移行上皮の剥離と硝子円柱であった。

今回、13週間試験の 8000ppm以上の群では濃度を段階的に上げて投与したため、前回の2週間試験のような摂食忌避による所見や、多くの死亡例はみられなかったものの、完全に摂食忌避を避けられたとは考えられない。また、文献的にも摂食忌避の問題を、横路らはB6C3F<sub>1</sub>マウスを用いて粉末飼料にビフェニルを混入し、20ヶ月間投与した実験でビフェニルの飼料中への多量混入は不可能であって、10000ppmがほぼ上限であると報告している。（文献 17）

今回の13週試験の結果から、8000ppm群でも体重抑制がみられたこと、また、4000ppm群では顕著な変化がみられないことより、がん原性試験の高用量はこれらの濃度の中間をとり 6000ppmとし、以下、中用量及び低用量は、それぞれ 2000ppm、677ppm（公比3.0）と設定した。

V 文献

1. 化学工業日報社(1993)  
12093の化学商品  
pp.656-657,化学工業日報社,東京.
2. 浅原照三、戸倉仁一郎、大河原信、熊野谿従、妹尾学編(1980)  
溶剤ハンドブック(第3刷)  
pp.214-215,講談社,東京.
3. American Conference of Governmental Industrial Hygienists.  
ACGIH 化学物質と物理因子のTLV 化学物質のBEI(1991~92年度用)  
日測協資料 No.30,pp.44,日本作業環境測定協会,東京.
4. 環境庁環境化学物質研究会(1988)  
環境化学物質要覧  
pp.383-384,丸善,東京.
5. Deichmann,W.B., Kitzmiller,K.V., Dierker,M. and Witherup,S.  
(1947)  
Observations on the effects of diphenyl,o- and p-aminodiphenyl,  
o- and p-nitrodiphenyl and dihydroxyoctachlorodiphenyl upon  
experimental animals.  
The Journal of Industrial Hygiene and Toxicology,29,1-13.
6. 後藤 稔、池田正之、原 一郎 編(1982)  
産業中毒便覧(増補版)  
pp.555-556,医歯薬出版,東京.
7. 一色賢司、宮田一正、松井重樹、堤将和、渡辺忠雄(1983)  
農薬の急性毒性に及ぼす防カビ剤及び防虫剤の影響  
食品衛生学雑誌,24,268-274.
8. 食品添加物公定書解説書編集委員会(1987)  
第5版 食品添加物公定書解説書  
pp.D-410 - D-417,廣川書店,東京.
9. 海外技術資料研究所専門委員会(1975)  
主要化学品 2000種 発癌性データ調査レポート  
pp.219,海外技術資料研究所,東京.

10. 小西陽一(1981)  
昭和54年度厚生省がん助成金による研究報告集(下)  
pp.976-977, 国立がんセンター, 東京
  
11. Innes, J. R. M., Ulland, B. M., Valerio, M. G., Petrucelli, L., Fishbein, L., Hart, E. R., Pallotta, A. J., Bates, R. R., Falk, H. L., Gart, J. J., Klein, M., Mitchell, I. and Peters, J. (1969)  
Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: A preliminary note.  
Journal of The National Cancer Institute, 42, 1101-1114.
  
12. Sweet, D. V. (ed.) (1987)  
Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (1985-86 ed.)  
pp. 1174,  
NIOSH, U.S. Dept. Health and Human Services, Washington. D. C.
  
13. Esther, E. S. (1981)  
Aromatic Hydrocarbons.  
In: Clayton, G. D. and Clayton, F. E. (eds),  
Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, Vol 2B,  
pp. 3325-3331, John Wiley and Sons, New York, N. Y.
  
14. Honma, Y., Kakizoe, T., Komatsu, H., Nijima, T. and Sugimura, T. (1983)  
Increased agglutinability of bladder epithelial cells by concanavalin A in rats fed several biphenyl derivatives.  
Journal of Cancer Research Clinical Oncology, 106, 176-178.
  
15. Hiraga, K. and Fujii, T. (1981)  
Induction of tumours of the urinary system in F344 rats by dietary administration of sodium o-phenylphenate.  
Fd. Cosmet. Toxicol, 19, 303-310.
  
16. 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適正層別方式の確立.  
薬理と治療, 14, 7285-7302.
  
17. 横路謙次郎(1981)  
昭和56年度厚生省がん助成金による研究報告集(下)  
pp. 1012-1013, 国立がんセンター, 東京