
4-エチル-1,1'-ビフェニルのラットを用いる
経口投与による簡易生殖毒性試験

最 終 報 告 書

作成日 2000年8月29日

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

目次

要約	10
緒言	12
方法	
1.被験物質および媒体	12
2.投与検体および濃度確認	12
3.使用動物および飼育条件	13
4.投与経路，投与方法，群構成，投与量および投与期間	14
5.観察および検査項目	15
6.統計学的方法	18
結果	
I．反復投与毒性	19
1．雄(P)に及ぼす影響	19
2．雌(P)に及ぼす影響	20
II．生殖発生毒性	21
1．親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響	21
2．新生児(F ₁)に及ぼす影響	22
考察	23
文献	24

Table 1-1	General signs of male rats (P) in preliminary reproduction	
~1-4	toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 28~ 31
Table 2	Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 32
Table 3	Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 33
Table 4	Necropsy findings of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 34
Table 5	Organ weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 35
Table 6	Obsrvation of sperm in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 36
Table 7	Histopathological findings of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 37
Table 8-1	General signs of female rats (P) in preliminary	
~8-2	reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 38~ 39
Table 9-1	General signs of dams (P) during pregnancy period in	
~9-2	preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 40~ 41

Table 10	General signs of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 42
Table 11	Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 43
Table 12	Body weight of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 44
Table 13	Body weight of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 45
Table 14	Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 46
Table 15	Food consumption of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 47
Table 16	Food consumption of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 48
Table 17	Necropsy findings of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 49
Table 18	Organ weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 50
Table 19-1	Histopathological findings of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 51
Table 19-2	Histopathological findings of dead female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 52
Table 20	Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 53

Table 21	Observation of pups (F1) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 54
Table 22	Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 55
Table 23	Necropsy findings of pups (F1) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 56
Fig. 1	Chemical structure of 4-ethyl-1,1'-biphenyl	 57
Fig. 2	Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 58
Fig. 3	Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 59
Fig. 4	Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 60
Fig. 5	Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 61
Fig. 6	Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 62
Fig. 7	Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 63
Fig. 8	Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration	 64

要約

4-エチル-1,1'-ビフェニルのラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験を行い、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、300 mg/kgを最高用量とし、以下公比約3により100, 30および10 mg/kgとした。対照として媒体(コーンオイル)投与群を設けた。なお、各群の使用動物数は雌雄各12例とした。

I. 反復投与毒性

1. 雄(P)に及ぼす影響

一般状態：いずれの群とも死亡および瀕死例は認められなかった。一般状態では、投与に起因する変化はみられなかった。

体重：100および300 mg/kg群で低値がみられた。

摂餌量：300 mg/kg群で低値がみられた。

剖検：投与に起因する変化はみられなかった。

器官重量：300 mg/kg群で精巣の相対重量の高値がみられた。

精子検査：投与に起因する変化はみられなかった。

病理組織学検査：精巣および精巣上体に投与に起因する変化はみられなかった。

2. 雌(P)に及ぼす影響

一般状態：300 mg/kg群で4例が死亡した。300 mg/kg群で体温低下、自発運動の低下、立毛、被毛の汚れおよび軟便がみられた。

体重：300 mg/kg群では、交配前、妊娠期および哺育期に低値がみられた。

摂餌量：100 mg/kg群では、交配前に一過性の低値がみられた。300 mg/kg群では、交配前および妊娠期に低値がみられた。

剖検：300 mg/kg群の死亡例では、腺胃粘膜暗赤色斑がみられた。生存例では、投与に起因する変化はみられなかった。

器官重量：投与に起因する変化はみられなかった。

病理組織学検査：卵巣に投与に起因する変化はみられなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

精子検査：前述したように投与に起因する変化はみられなかった。

病理組織学検査：前述したように精巣、精巣上体および卵巣に投与に起因する変化はみられなかった。

発情回数、交尾率、交尾所要日数：投与に起因する変化はみられなかった。

受胎雌数，妊娠期間，分娩状態，哺育状態：100および300 mg/kg群では，妊娠期間の延長がみられた．

受胎率：投与に起因する変化はみられなかった．

妊娠黄体数，着床数，着床率：300 mg/kg群では，着床数の低値，着床率の低値傾向がみられた．

出産率：300 mg/kg群で低値傾向がみられた．

2. 新生児(F₁)に及ぼす影響

総出産児数，死産児数，哺育0日の新生児数，哺育0日の性比，分娩率，児の産出率，出生率：100 mg/kg群では，死産児数の高値，児の産出率および出生率の低値，哺育0日の新生児数の低値傾向がみられた．300 mg/kg群では，死産児数の高値，総出産児数，哺育0日の新生児数，分娩率，児の産出率および出生率の低値がみられた．

一般状態：投与に起因する変化はみられなかった．

哺育4日の生存児数，哺育4日の性比，哺育4日の生存率：100 mg/kg群では，哺育4日の生存児数および哺育4日の生存率の低値あるいは低値傾向がみられた．300 mg/kg群では，哺育4日の生存児は1例も得られなかった．

外表観察：投与に起因する変化はみられなかった．

体重：100 mg/kg群では，哺育4日の腹合計体重の低値がみられた．300 mg/kg群では，哺育0日の雌雄別平均，腹平均および腹合計の体重の低値あるいは低値傾向がみられた．

剖検：投与に起因する変化はみられなかった．

以上のように，4-エチル-1,1'-ビフェニルの一般毒性学的無影響量は，雄では100 mg/kg投与により体重に影響が認められたことから30 mg/kg/day，雌では100 mg/kg投与により摂餌量に影響が認められたことから30 mg/kg/dayと考えられる．また，生殖発生毒性学的な無影響量は，雄では300 mg/kg投与しても精子検査成績，精巣および精巣上体の病理組織学検査成績，交尾率に影響が認められなかったことから300 mg/kg/dayと考えられる．雌では100 mg/kg投与で妊娠期間の延長が認められたことから30 mg/kg/dayと考えられる．児動物では，100 mg/kg投与で死産児数の高値，児の産出率，出生率および哺育4日の生存児数の低値，哺育0日の新生児数および哺育4日の生存率の低値傾向がみられたことから30 mg/kg/dayと考えられる．

緒言

4-エチル-1,1'-ビフェニルが経口的に継続して人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Preliminary Reproduction Toxicity Screening Testに従って、4-エチル-1,1'-ビフェニルを雄ラットに1日1回、50～52日間および雌ラットに1日1回、41～45日間経口投与した簡易生殖毒性試験を行い、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質の4-エチル-1,1'-ビフェニル (CAS No.5707-44-8) は、Fig.1に示す化学構造を有し、分子量：182.27、融点：34～35.5 °C、沸点：149～149.8 °Cであり、常温において白色塊である。また、融点以上では無色～わずかにうすい黄色の澄明の液体である。当試験には、1998年12月15日に厚生省 生活衛生局企画課 生活化学安全対策室から提供されたものを用いた[製造元： Lot No. 純度：99.71 %]。入手後は、試験施設の被験物質保管庫に室温・遮光条件下で保管した。なお、投与期間終了後に試験施設での保管分を除いた残余被験物質は新日鐵化学株式会社に返却し、その一部について分析した結果、純度に問題はなかったことから、使用期間中の安定性が確認された。

媒体として、コーンオイルを用いた。コーンオイル[片山化学工業株式会社, Lot No. A1934(入手日：1999年4月1日, 使用期限：2004年3月31日), Lot No.A3951(入手日：1999年4月20日, 使用期限：2004年4月19日), Lot No.A4940(入手日：1999年4月27日, 使用期限：2004年4月26日)およびLot No.A5932(入手日：1999年5月18日, 使用期限：2004年5月17日)]は、入手後、試験施設の被験物質保管室に室温条件下で保管した。

2. 投与検体および濃度確認

4-エチル-1,1'-ビフェニルは、各濃度ごとにコーンオイルで溶解して調製した。なお、1および100 mg/mLの調製液は、室温・遮光条件下で7日間保存しても安定性に問題のないことが確認されていたため¹⁾(Attachment 1)、各濃度の調製液は調製後、1日分ごとに小分けし、室温・遮光条件下で保管し、調製後7日以内に使用した。投与後の残余投与検体は廃棄した。また、調製に際して、被験物質の純度による換算は実施しなかった。

投与開始日および雄投与終了日に使用した各投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で高速液体クロマトグラフを用いて測定した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の95.9～99.8 %であり、濃度に問題はなかった(Attachment 2および3)。

3. 使用動物および飼育条件

1) 動物種および系統

試験には、毒性試験に汎用されているSprague-Dawley系雌雄ラット [(SPF), Crj: CD (SD)IGS] を用いた。動物は、1999年4月7日に日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から8週齢で雌雄各73匹を購入した。入手後1日の体重範囲は、雄が262~287 g, 雌が212~242 gであった。

2) 検疫および馴化, 群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、5日間の検疫期間およびその後7日間の馴化期間を設けた。この間に、3回の体重測定および毎日一般状態の観察を、さらに雌は馴化期間中に7日間の性周期観察を行った。一般状態および体重推移に異常がみられず、また性周期観察で異常が認められなかった動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与開始日に行った。群分け後の残余動物のうち、検疫・馴化動物番号の若い順に雄2例を選び、飼育期間終了時に微生物モニタリング検査に用いた。その他の残余動物は、投与開始日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄処分した。

動物の個体識別は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクによる記入法および色素塗布法を、群分け後は色素塗布法および耳パンチ法を併用して行った。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日、性別および検疫・馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、性別、動物番号および交尾成立日(雌のみ)を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

3) 環境条件および飼育管理

動物は、室温20~26 °C(実測値: 20~23 °C), 湿度40~70 %(実測値: 43~69 %), 明暗各12時間(照明: 午前6時~午後6時), 換気回数12回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持されている飼育室(E棟7号室, ただし, 検疫はE棟2号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ(W: 240×D: 380×H: 200 mm)を用いて1ケージ当たり5匹までの雌雄別群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ(W: 755×D: 210×H: 170 mm)を用いて個別飼育した。ただし、交配はステンレス製懸垂式ケージ内で行った。母動物は、妊娠18日以降オートクレーブ処理した床敷(サンフレーク, 日本チャールス・リバー株式会社)を入れたプラスチック製ケージ(W: 310×D: 360×H: 175 mm)で個別飼育し、自然分娩および哺育させた。ケージの受け皿, 給水瓶およびプラスチック製ケージの交換は1週間に2回以上, ステンレス製懸垂式ケージ, ステンレス製五連ケージおよび給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお、動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)および0.02 %次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。飼育期間終了時に採血したモニタリング動物の血清検査において、感染を示唆するような異常はみられなかった。

床敷の微量金属および汚染物質の分析結果は、ほぼ6カ月ごとに財団法人日本食品分析センターで実施した成績を日本チャールス・リバー株式会社から入手した。その分析結果は、

試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4) 飼料および飲料水

飼料は、入手後3カ月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ、自由に摂取させた。使用した飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センターおよびオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ6カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査結果は、いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路、投与方法、群構成、投与量および投与期間

1) 投与経路および投与方法

4-エチル-1,1'-ビフェニルは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンドを取り付けたポリプロピレン製ディスプレイ注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、雄では投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。雌では、交配前および交配期間中は投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を、妊娠期間中は妊娠0, 7, 14および21日の体重を、授乳期間中は哺育0日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。投与時刻は午前8時43分～11時53分の間で、投与回数は1日1回とした。

投与開始日の週齢は雌雄とも10週齢であり、体重範囲は雄が321～354 g、雌が245～269 gであった。

2) 群構成および投与量

群構成は、下記のように被験物質投与群として4群を設定し、その他に対照群を設けた。1群の動物数は、雌雄それぞれ12匹とした。

群	試験群	投与量	(濃度)	雄(動物番号)	雌(動物番号)
第1群	対照(コーソイル)	0 mg/kg (	0 mg/mL)	12(001～012)	12(051～062)
第2群	4-エチル-1,1'-ビフェニル	10 mg/kg (	2 mg/mL)	12(101～112)	12(151～162)
第3群	4-エチル-1,1'-ビフェニル	30 mg/kg (	6 mg/mL)	12(201～212)	12(251～262)
第4群	4-エチル-1,1'-ビフェニル	100 mg/kg (	20 mg/mL)	12(301～312)	12(351～362)
第5群	4-エチル-1,1'-ビフェニル	300 mg/kg (	60 mg/mL)	12(401～412)	12(451～462)

投与量は、財団法人食品薬品安全センターで実施されたラットにおける28日間反復経口投与毒性試験²⁾(投与段階: 0, 20, 100, 500および1000 mg/kg)の結果により決定した。すなわち、死亡例が1000 mg/kg群で雄4/10例と雌1/10例、500 mg/kg群で雄1/5例認められた。また、500 mg/kg以上の群で体重および摂餌量の低値がみられた。しかし、100 mg/kg群では、肝臓、腎臓および胃に病理組織学変化がみられるものの、重篤な変化は認められなかった。そこで、当試験では、ラットにおける28日間反復経口投与毒性試験において死亡例

の認められた500 mg/kgと重篤な変化は認められなかった100 mg/kgの中間量に相当する300 mg/kgを最高用量とし、以下公比約3により100, 30および10 mg/kgとした。また、対照として媒体(コーンオイル)のみを同容量投与する群を設けた。

3) 投与期間

投与期間は、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Preliminary Reproduction Toxicity Screening Testに従って、雄では交配前14日間とその後36～38日間(精子検査に3日間必要なため、雄の剖検を3日間に分けて実施)の合計50～52日間とし、雌では交配前14日間、交配期間中(最長14日間)、妊娠期間中および哺育3日までの合計41～45日間とした。なお、投与開始日を投与1日とした。

5. 観察および検査項目

1) 雄(P)

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は、投与前・後の1日2回(ただし、剖検日は剖検前1回)観察した。

(2) 体重測定

体重は、1週間に2回測定した(測定日：投与1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 43, 46, 49日および剖検日)。

(3) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前14日間および交配期間終了後に1週間に2回測定した(残量測定日：投与3, 6, 10, 13, 31, 34, 38, 41, 45および48日)。

(4) 剖検

最終投与の翌日(投与51～53日)に各群の各4例(動物番号の若い順)をエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、精巣、精巣上体および精巣上体の尾部重量を測定した。なお、各器官重量(精巣上体の尾部を除く)を最終体重で除して相対重量も算出した。精巣および精巣上体の頭部は、ブアン液で2～3時間固定後、90 %アルコールに再固定した。前立腺および精嚢は、20 %中性緩衝ホルマリンで固定した。

(5) 精子検査

右精巣上体の尾部は、37 °Cに加温した精子培養液(0.5 %牛血清アルブミン加Medium 199)中で分割し、約5分間静置後、精子原液を作製した。この精子原液を用いて精子の活動性、精子の生存性および精子の形態の各検査を実施した。なお、各検査終了後、精子原液は廃棄した。

精子の活動性は、精子原液を精子培養液で希釈し、約30分間培養(炭酸ガス培養器:BNA-121D, タバイエスベック株式会社, 培養条件:37 °C, 5 %炭酸ガス, 95 %空気)後に精子希釈液をサンプルチャンバー(MICROSLIDES, #HTR1099, VitroCom, Inc.)に入れ、HTM-IVOS(Hamilton Thorne Research)を用いて、活動精子率[Motility ratio]を算出するとともに、活動精子について基準点移動速度[Path velocity($\mu\text{m/s}$)], 最短距離移動速度[Straight line velocity($\mu\text{m/s}$)], 総移動速度[Curvilinear velocity($\mu\text{m/s}$)]および頭

部の横切り回数[Beat cross frequency(Hz)]を算出した。ただし、10 mg/kg群の1例(No. 110)では、希釈後の精子の状態が不良であったため、再調製した精子希釈液を用いて検査した。その場合には、精子原液が炭酸ガス培養器で約30分間培養されているため、再調製した精子希釈液は調製後速やかに検査に用いた。

精子の生存性として、加藤らの方法³⁾に従い、マイクロウェルプレート内で精子原液を精子培養液にて約2~3倍希釈した後、Calcein acetoxymethyl esterとEthidium homodimer-1とで約2時間培養・染色(炭酸ガス培養器:BNA-121D, タバイエスベック株式会社, 培養条件:37℃, 5%炭酸ガス, 95%空気)した後、蛍光顕微鏡下で300個の精子を生存精子、途中死亡精子と死滅精子に分類し、生存精子率(Viability)と生き残り精子率(Survivability)を求めた。なお、生存、途中死亡および死滅精子の判定は、頭部~尾部にかけて緑色の蛍光発色が認められるものを生存精子、頭部には赤色の蛍光発色が、尾部には緑色の蛍光発色が認められるものを途中死亡精子、頭部には赤色の蛍光発色が認められるが、尾部には蛍光発色が認められないものを死滅精子とした。

精子の形態は、精子原液をスライドガラスに塗抹し、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、1%エオジン染色液で染色し、顕微鏡下で300個の精子について観察した。奇形精子率は、精子300個当たりの奇形精子の割合を求めることにより算出した。

精子数は、左精巣上体尾部を凍結(-80℃)保存後、0.1%Triton X-100中でホモジナイズ(IKA, ULTRA-TURRAX T25basic)して作製した精子懸濁液をサンプルチャンバー(CELL-VU, Fertility Technologies, Inc.)に入れ、HTM-IVOS(Hamilton Thorne Research)を用いて算出した。なお、左精巣上体尾部1g当たりの精子数も算出した。

(6) 病理組織学検査

精巣および精巣上体の頭部は、常法に従ってパラフィン包埋標本作製した。なお、切り出し後の器官・組織は、10%中性緩衝ホルマリンで保存した。

対照群および300 mg/kg群の精巣および精巣上体の頭部についてHE染色組織標本作製し、病理組織学検査を実施した。なお、精巣については、PAS-ヘマトキシリン染色組織標本作製したが、これらの標本については鏡検の必要を認めなかったため、検査に用いなかった。

2) 雌(P)

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は、投与前・後の1日2回(ただし、剖検日は剖検前1回)観察した。

死亡例は、発見後速やかに剖検し、着床数および妊娠黄体数を数え、卵巣、子宮、膣、胎児、胎盤および剖検で異常の認められた器官・組織[300 mg/kgの2例(No.452および462)の胃]を20%中性緩衝ホルマリンで固定した。

(2) 性周期

性周期は、投与開始日から交尾確認日あるいは交配期間終了日まで毎日1回観察した。なお、発情期が連続2日間にわたって観察された場合は1回として発情回数を計数した。

(3) 体重測定

体重は、交配開始前14日間および交配期間中は1週間に2回(測定日：投与1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25および29日), 妊娠期間中は妊娠0, 7, 14および21日に, 哺育期間中は哺育0および4日にそれぞれ測定した。

(4) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前14日間までは1週間に2回(残量測定日：投与3, 6, 10および13日), 妊娠期間中は妊娠2, 9, 16および21日に, 哺育期間中は哺育4日に測定した。

(5) 交尾不成立雌

交尾不成立雌は、交配期間終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床の有無を確認した。着床のみられない雌は、子宮を2 % KOH溶液により透明化させて着床痕の有無を調べ、卵巢重量を測定し、卵巢、子宮および腔を20 % 中性緩衝ホルマリンで固定した。なお、卵巢重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

(6) 分娩状態の観察

交尾雌は自然分娩させ、分娩状態の異常の有無、分娩終了の確認を妊娠21日から妊娠25日の午前10時まで毎日行った。午前10時に分娩が終了していた場合、その日を哺育0日とした。

(7) 妊娠25日の午前10時までに分娩しなかった動物

妊娠25日の午前10時までに分娩しなかった雌は、エーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床の有無により妊娠の成否を確認した。着床のみられない雌は、子宮を2 % KOH溶液により透明化させて着床痕の有無を調べた。不妊雌は、卵巢の重量を測定し、卵巢、子宮および腔を20 % 中性緩衝ホルマリンで固定した。なお、卵巢重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

(8) 哺育状態の観察および剖検

母動物は、哺育状態を哺育4日まで毎日観察し、新生児が全例死亡した日あるいは哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、着床数および妊娠黄体数を数えた。卵巢は重量を測定し、卵巢、子宮および腔を20 % 中性緩衝ホルマリンで固定した。なお、卵巢重量を最終体重で除して相対重量も算出した。

(9) 病理組織学検査

卵巢および死亡例の剖検で異常の認められた器官・組織[300 mg/kgの2例(No.452および462)の胃]は、常法に従ってパラフィン包埋標本作製した。なお、切り出し後の器官・組織は、10 % 中性緩衝ホルマリンで保存した。

対照群および300 mg/kg群の卵巢ならびに死亡例の剖検で異常の認められた器官・組織[300 mg/kgの2例(No.452および462)の胃]についてHE染色組織標本作製し、病理組織学検査を実施した。

3) 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

14日間投与した雌雄を同一群内で1対1に組み合わせて同居交配した。交配期間は14日を限度として、交尾を確認するまでの連続同居交配とした。

交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い、腔垢内に精子または腔栓を確認した雌を交尾成立

動物として、その日を妊娠0日として起算した。

4) 新生児(F₁)

(1) 出産時の観察

出産時に総出産児数と性、死産児数、新生児数および外表異常の有無を観察した。死産児は、20 %中性緩衝ホルマリンで固定し、保存した。

(2) 新生児の観察

新生児は、一般状態および死亡の有無を毎日1回観察した。死亡児は、死後変化が著しい場合を除いて剖検後20 %中性緩衝ホルマリンで固定し、保存した。

(3) 体重測定

体重は、哺育0日(出生日)および4日に測定した。

(4) 剖検

生存児は、哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

6. 統計学的方法

有意差検定は以下に示したように、対照群と各投与群の間で行い、危険率を5 %とし、5 %未満($p < 0.05$)と1 %未満($p < 0.01$)とに分けて表示した。新生児の体重は一腹の平均値と合計値も算出した。なお、不受胎雌の交尾後の一般状態、体重および摂餌量は集計から除外した。

〈検定方法〉

体重(親動物、新生児)、摂餌量、器官の絶対重量および相対重量、精子の活動性の項目、奇形精子率[(奇形精子数/観察精子数)× 100]、生存精子率[(生存精子数+途中死亡精子数/観察精子数)× 100]、生き残り精子率[(生存精子数/観察精子数)× 100]、精子数、左精巣上体尾部1 g当たりの精子数[精子数/左精巣上体尾部重量(g)]、発情回数、交尾所要日数、妊娠期間[分娩日(哺育0日)-交尾確認日]、妊娠黄体数、着床数、着床率[(着床数/妊娠黄体数)× 100]、総出産児数(新生児数+死産児数)、死産児数、新生児数、分娩率[(総出産児数/着床痕数)× 100]、児の産出率[(哺育0日の新生児数/着床数)× 100]、出生率[(哺育0日の新生児数/総出産児数)× 100]、哺育4日の生存児数、哺育4日の生存率[(哺育4日の生存児数/哺育0日の新生児数)× 100]、性比(雄/雌)、外表異常の出現率[(外表異常児数/新生児数)× 100]および哺育4日の生存児の剖検での異常の出現率[(剖検での異常児数/哺育4日の生存児数)× 100]は、各群で平均値および標準偏差を算出した。その後、Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならばDunnett法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallisの検定)を行い、有意ならば順位を利用したDunnett型の検定法により行った。

交尾率[(交尾成立動物数/同居動物数)× 100]、受胎率[(受胎雌数/交尾成立動物数)× 100]および出産率[(新生児出産雌数/受胎雌数)× 100]は、 χ^2 検定により行った。

結果

I. 反復投与毒性

1. 雄(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 1-1~1-4, Appendix 1-1~1-5)

死亡および瀕死例は、いずれの群でも認められなかった。

一般状態観察において、対照群および10 mg/kg群では異常はみられなかった。30 mg/kg群では、投与30日以降の投与後に一過性の流涎が10例みられた。100および300 mg/kg群では、投与2日以降の投与後に一過性の流涎が各12例みられた。

2) 体重(Table 2, Fig.2, Appendix 2-1~2-5)

10および30 mg/kg群では、対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。100 mg/kg群では、対照群と比べて投与18~49日に体重の有意な低値がみられた。300 mg/kg群では、対照群と比べて投与4~49日に体重の有意な低値がみられた。

3) 摂餌量(Table 3, Fig.3, Appendix 3-1~3-5)

10, 30および100 mg/kg群では、対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて投与3~10日に摂餌量の有意な低値がみられた。

4) 剖検(Table 4, Appendix 4-1~4-5)

いずれの群とも、異常はみられなかった。

5) 器官重量(Table 5, Appendix 5-1~5-5)

剖検日の体重において、10および30 mg/kg群では対照群と比べて有意差はみられなかった。100および300 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重の有意な低値がみられた。

器官重量において、10および30 mg/kg群では対照群と比べて精巣および精巣上体の絶対ならびに相対重量に有意差はみられなかった。100 mg/kg群では、対照群と比べて精巣上体の相対重量の有意な高値がみられたが、対照群との体重差による変化と考えられる。300 mg/kg群では、対照群と比べて精巣の相対重量の有意な高値がみられた。また、300 mg/kg群では、対照群と比べて精巣上体の相対重量の有意な高値がみられたが、対照群との体重差による変化と考えられる。

6) 精子検査(Table 6, Appendix 6-1~6-5)

各投与群とも、対照群と比べて活動精子率、基準点移動速度、最短距離移動速度、総移動速度、頭部の横切り回数、奇形精子率、生存精子率、生き残り精子率、精子数、左精巣上体尾部1 g当たりの精子数に有意差はみられなかった。

7) 病理組織学検査(Table 7, Appendix 7-1~7-2)

精巣：対照群では、グループ3の精細管にステップ19精子細胞の残留が1例(No.004)みられた。300 mg/kg群では、異常はみられなかった。

精巣上体(頭部)：対照群および300 mg/kg群とも、異常はみられなかった。

2. 雌(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 8-1~8-2, 9-1~9-2および10, Appendix 8-1~8-5, 9-1~9-5および10-1~10-5)

死亡は、300 mg/kg群で4例(No.451:妊娠20日, No.452:妊娠22日, No.453:妊娠22日およびNo.462:妊娠19日)認められた。死亡例では、自発運動の低下が2例(No.452およびNo.462)、体温低下および被毛の汚れが1例(No.462)、一過性の流涎が全例みられた。

生存例の一般状態観察において、対照群、10および30 mg/kg群では異常はみられなかった。100 mg/kg群では、投与4日以降の投与後に一過性の流涎が12例みられた。300 mg/kg群では、投与2日以降の投与後に一過性の流涎が12例みられた。その他に、300 mg/kg群で体温低下、自発運動の低下、立毛、被毛の汚れおよび軟便が1例(No.461)みられた。

2) 体重(Table 11~13, Fig.4および5, Appendix 11-1~11-5, 12-1~12-5および13-1~13-5)

交配開始前において、10、30および100 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて投与4~15日に体重の有意な低値がみられた。

妊娠期間中において、10、30および100 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠0~21日に体重の有意な低値がみられた。

哺育期間中において、10、30および100 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて哺育0日に体重の有意な低値がみられた。

3) 摂餌量(Table 14~16, Fig.6および7, Appendix 14-1~14-5, 15-1~15-5および16-1~16-5)

交配開始前において、10および30 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。100 mg/kg群では、対照群と比べて投与6日に摂餌量の有意な低値がみられた。300 mg/kg群では、対照群と比べて投与3および6日に摂餌量の有意な低値がみられた。

妊娠期間中において、30および100 mg/kg群では対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠21日に摂餌量の有意な低値がみられた。なお、10 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠21日に摂餌量の有意な低値がみられたが、投与量に依存した変化ではなかった。

哺育期間中において、10、30および100 mg/kg群では対照群と比べて摂餌量に有意差はみられなかった。

4) 剖検(Table 17, Appendix 17-1~17-5)

生存例においては、いずれの群とも異常はみられなかった。

死亡例においては、300 mg/kg群で鼻口周囲の被毛の汚れが1例(No.462)、腺胃粘膜暗赤色斑が2例(No.452および462)みられた。死亡例の子宮内観察において、胎児の発育は正常であった。

5) 器官重量(Table 18, Appendix 18-1~18-5)

剖検日の体重において、10および30 mg/kg群では対照群と比べて有意差はみられなかった。100および300 mg/kg群では、対照群と比べて剖検日の体重の有意な低値がみられた。

器官重量において、10、30および100 mg/kg群では対照群と比べて卵巣の絶対ならびに相対重量に有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて卵巣の相対重量の有意な高値がみられたが、対照群との体重差による変化と考えられる。

6) 病理組織学検査

(1) 生存例(Table 19-1, Appendix 19-1~19-2)

卵巣：対照群および300 mg/kg群とも、異常はみられなかった。

(2) 死亡例(Table 19-2, Appendix 19-3)

卵巣：300 mg/kg群の4例(No.451, 452, 453および462)において異常はみられなかった。

剖検で異常の認められた胃：300 mg/kg群の2例(No.452および462)において異常はみられなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

1) 発情回数(Table 20, Appendix 20-1~20-5)

交配前の投与期間(14日間)の発情回数は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

2) 交尾所要日数、交尾率、受胎雌数および受胎率(Table 20, Appendix 20-1~20-5)

対照群の1組を除いた全例で交尾が確認された。交尾所要日数は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。また、交尾率にも、各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

不受胎雌は、300 mg/kg群で2例みられた。しかし、受胎率には各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった。

3) 妊娠期間および分娩状態(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

妊娠期間は、10および30 mg/kg群では対照群と比べて有意差はみられなかった。100および300 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠期間の有意な延長がみられた。

分娩状態において、対照群、10、30および100 mg/kg群ではいずれの母動物とも異常はみられなかった。300 mg/kg群の3例(No.458, No.460およびNo.461)では、哺育0日に出産児が全例死亡したため、新生児は得られなかった。

4) 妊娠黄体数、着床数および着床率(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

10、30および100 mg/kg群では、対照群と比べて妊娠黄体数、着床数および着床率に有意差はみられなかった。300 mg/kg群では、対照群と比べて着床数の有意な低値および着床率の低値傾向がみられた。

5) 出産率および哺育状態(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

出産率は、対照群、10、30および100 mg/kg群では100 %であった。300 mg/kg群では、

3母動物(No.458, No.460およびNo.461)で新生児が得られなかったため出産率は50.0 %であり, 対照群と比べて有意差はないものの低値であった。対照群および各投与群とも, 哺育状態に異常はみられなかった。

2. 新生児(F₁)に及ぼす影響

1) 総出産児数, 死産児数, 哺育0日の新生児数, 哺育0日の性比, 分娩率, 児の産出率および出生率(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

10および30 mg/kg群では, 対照群と比べて総出産児数, 死産児数, 哺育0日の新生児数, 哺育0日の性比, 分娩率, 児の産出率および出生率に有意差はみられなかった。100 mg/kg群では, 対照群と比べて死産児数の有意な高値, 児の産出率および出生率の有意な低値, 哺育0日の新生児数の低値傾向がみられた。300 mg/kg群では, 対照群と比べて死産児数の有意な高値, 総出産児数, 哺育0日の新生児数, 分娩率, 児の産出率および出生率の有意な低値がみられた。

2) 新生児の一般状態, 哺育4日の生存児数, 哺育4日の性比, 哺育4日の生存率および外表異常(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

10および30 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育4日の生存児数, 哺育4日の性比および哺育4日の生存率に有意差はみられなかった。100 mg/kg群では, 哺育1日までに全新生児が死亡した母動物が1例(No.355)みられ、哺育4日の生存児数の有意な低値および哺育4日の生存率の低値傾向が認められた。300 mg/kg群では, 3母動物(No.456, No.457およびNo.459)とも哺育2日までに全新生児が死亡したため, 哺育4日の生存児が得られず, 哺育4日の生存率は0 %であり, 対照群と比べて有意差がみられた。

新生児の外表面観察では, いずれの群とも異常はみられなかった。

新生児の一般状態では, いずれの群とも異常はみられなかった。

3) 新生児の体重(Table 22, Fig.8, Appendix 22-1~22-5)

10および30 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育0および4日の雌雄別平均, 腹平均および腹合計の体重に有意差はみられなかった。100 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育4日の腹合計体重の有意な低値がみられた。300 mg/kg群では, 対照群と比べて哺育0日の雌雄別平均体重の低値傾向, 腹平均および腹合計の体重の有意な低値がみられた。

4) 生存児の剖検(Table 23, Appendix 23-1~23-5)

対照群, 10, 30および300 mg/kg群では, 異常はみられなかった。100 mg/kg群では, 腎盂拡張が1例みられたが, 他の投与群で認められないことから偶発例と考えられる。

5) 死亡児の剖検

いずれの群とも, 異常はみられなかった。

考察

4-エチル-1,1'-ビフェニルのラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験を行い、雌雄動物の性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、300 mg/kgを最高用量とし、以下公比約3により100, 30および10 mg/kgとした。対照として媒体(コーンオイル)投与群を設けた。

雄に関しては、死亡および瀕死例はいずれの群にも認められなかった。一般状態では、30, 100および300 mg/kg群で投与後に一過性の流涎がみられたが、一般状態観察において痙攣などの神経症状は認められないことから、被験物質の刺激性に基づく変化と判断され、毒性症状とはみなさなかった。体重において、100および300 mg/kg群で低値がみられた。また、摂餌量においては、300 mg/kg群で低値がみられた。器官重量において、300 mg/kg群で精巣の相対重量の高値がみられた。しかし、剖検、精子検査、精巣および精巣上体の病理組織学検査において投与による影響は認められなかった。なお、ラットにおける28日間反復経口投与毒性試験²⁾でも、500 mg/kg以上の群で体重および摂餌量の低値がみられている。

雌に関しては、300 mg/kg群で妊娠末期に4例が死亡した。300 mg/kg群では、一部の例で妊娠末期に体温低下、自発運動の低下、立毛、被毛の汚れおよび軟便がみられた。なお、一般状態観察において、雄の場合と同様に100および300 mg/kg群で認められた流涎は毒性症状とはみなさなかった。体重において、300 mg/kg群で交配前、妊娠期および哺育期に低値がみられた。摂餌量において、100 mg/kg群で交配前に一過性の低値、300 mg/kg群で交配前および妊娠期に低値がみられた。しかし、生存例の剖検所見、器官重量および卵巣の病理組織学検査において投与による影響はみられなかった。なお、300 mg/kg群の死亡例の剖検において、腺胃粘膜暗赤色斑がみられたが、該当部位の病理組織学検査では異常が認められなかったことから、軽微な変化と考えられる。ラットにおける28日間反復経口投与毒性試験²⁾では、死亡例が1000 mg/kg群で雄4/10例と雌1/10例、500 mg/kg群で雄1/5例認められており、妊娠動物の方が4-エチル-1,1'-ビフェニルの毒性は強く発現する可能性がある。

したがって、当試験条件下における4-エチル-1,1'-ビフェニルの一般毒性学的無影響量は、雌雄とも30 mg/kg/dayと考えられる。

親動物の生殖発生に対しては、前述したように10, 30, 100および300 mg/kg群とも精子検査成績、精巣、精巣上体および卵巣に病理組織学変化は認められなかった。発情回数、交尾率、交尾所要日数、受胎率、妊娠黄体数、分娩状態および哺育状態では、投与に起因する変化はみられなかった。しかし、100および300 mg/kg群では、妊娠期間の延長がみられた。また、300 mg/kg群では、着床数の低値、出産率および着床率の低値傾向がみられた。10および30 mg/kg群では、妊娠期間、着床数、着床率および出産率に投与に起因する変化はみられなかった。したがって、当試験条件下における4-エチル-1,1'-ビフェニルの生殖発生毒性学的な無影響量は、雄が300 mg/kg、雌が30 mg/kg/dayと考えられる。

児動物に対しては、10および30 mg/kg群では総出産児数、死産児数、哺育0日の新生児数、

哺育0日の性比，分娩率，児の産出率，出生率，一般状態，哺育4日の新生児数，哺育4日の生存率に投与による影響はみられなかった．100 mg/kg群では，死産児数の高値，児の産出率および出生率の低値，哺育0日の新生児数，哺育4日の生存児数および哺育4日の生存率の低値あるいは低値傾向がみられた．300 mg/kg群では，死産児数の高値，総出産児数，哺育0日の新生児数，分娩率，児の産出率および出生率の低値がみられ，哺育4日の生存児は1例も得られなかった．新生児の外表観察において，投与に関連した変化はみられなかった．児動物の体重では，10および30 mg/kg群では対照群との間に差はみられなかった．100 mg/kg群では，哺育4日の腹合計体重の低値がみられたが，雌雄別平均および腹平均の体重に差は認められないことから，哺育4日の生存児数の低値傾向に基づく変化と考えられる．300 mg/kg群では，哺育0日の雌雄別平均，腹平均および腹合計の体重の低値あるいは低値傾向がみられた．児動物の剖検では，投与に起因する変化はみられなかった．

したがって，当試験条件下における4-エチル-1,1'-ビフェニルの生殖発生毒性学的な無影響量は，児動物では30 mg/kg/dayと考えられる．

以上のように，4-エチル-1,1'-ビフェニルの一般毒性学的無影響量は，雄では100 mg/kg投与により体重に影響が認められたことから30 mg/kg/day，雌では100 mg/kg投与により摂餌量に影響が認められたことから30 mg/kg/dayと考えられる．また，生殖発生毒性学的な無影響量は，雄では300 mg/kg投与しても精子検査成績，精巣および精巣上体の病理組織学検査成績，交尾率に影響が認められなかったことから300 mg/kg/dayと考えられる．雌では100 mg/kg投与で妊娠期間の延長が認められたことから30 mg/kg/dayと考えられる．児動物では，100 mg/kg投与で死産児数の高値，児の産出率，出生率および哺育4日の生存児数の低値，哺育0日の新生児数および哺育4日の生存率の低値傾向がみられたことから30 mg/kg/dayと考えられる．

文献

- 1) : 4-エチル-1,1'-ビフェニルの調製液の安定性確認試験(試験番号：100818P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 2) 4-エチル-1,1'-ビフェニルのラットにおける28日間反復経口投与毒性試験(財団法人食品薬品安全センター 最終報告書)
- 3) Kato,M., et al.(1995): Congenital Anomalies 35:394

Table 1-1 General signs of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general signs	Days of administration																													
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15	
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af
Control	0	Number of males Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of males Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	30	Number of males Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	100	Number of males Normal Salivation	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	6	12	6	12	4	12	1	12	3	12	3	12	1	12	1	12	1	12	1	12	1	12	2	12	0	12	0
			0	0	0	6	0	6	0	8	0	11	0	9	0	9	0	11	0	11	0	11	0	11	0	11	0	10	0	12	0	12
	300	Number of males Normal Salivation	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	4	12	3	12	3	12	2	12	1	12	1	12	1	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0
				0	0	0	8	0	9	0	9	0	10	0	11	0	11	0	11	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0

Be: before administration, Af: after administration.

Table 1-2 General signs of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general signs	Days of administration																													
			16		17		18		19		20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30	
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af
Control	0	Number of males Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of males Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	30	Number of males Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10		
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	100	Number of males Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
			12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	1	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0
	Salivation	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	11	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	300	Number of males Normal	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0
			0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	
Salivation		0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	

Be: before administration, Af: after administration.

Table 1-3 General signs of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general signs	Days of administration																													
			31		32		33		34		35		36		37		38		39		40		41		42		43		44		45	
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	30	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	8	12	9	12	9	12	10	12	8	12	11	12	10	12	10	12	8	12	9	12	9	12	10	12	9	12	10		
		Salivation	0	4	0	3	0	3	0	2	0	4	0	1	0	2	0	2	0	2	0	4	0	3	0	3	0	2	0	3	0	2
	100	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	0	12	0	12	0	12	2	12	0	12	0	12	0	12	2	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0
	300	Salivation	0	12	0	12	0	12	0	10	0	12	0	12	0	12	0	10	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12
		Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0
	300	Salivation	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12

Be: before administration, Af: after administration.

Table 1-4 General signs of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of males and general signs	Days of administration														
			46		47		48		49		50		51		52		53
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8	4	4
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8	4	4
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8	4	4
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8	4	4
	30	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8	4	4
		Normal	12	9	12	10	12	9	12	9	12	10	12	6	8	4	4
		Salivation	0	3	0	2	0	3	0	3	0	2	0	2	0	0	0
	100	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8	4	4
		Normal	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	8	0	4
		Salivation	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	8	0	4	0
	300	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	8	8	4	4
		Normal	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	8	0	4
		Salivation	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	8	0	4	0

Be: before administration, Af: after administration.

Table 2 Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl					
	0		10		30		100	
Number of males	12		12		12		12	
Days of admin- istration								
1	335.9 ± 9.5		335.2 ± 9.0		335.5 ± 8.6		335.8 ± 9.3	335.7 ± 8.7
4	344.2 ± 10.7		344.6 ± 14.3		347.1 ± 9.5		342.3 ± 12.6	328.3 ± 10.2**
8	361.3 ± 14.9		357.5 ± 14.5		365.7 ± 10.6		354.8 ± 15.5	336.9 ± 10.3**
11	375.7 ± 20.9		371.7 ± 16.4		381.4 ± 10.7		366.3 ± 14.9	347.8 ± 10.6**
15	391.8 ± 25.8		384.1 ± 17.7		396.8 ± 11.8		377.8 ± 15.5	354.5 ± 12.3**
18	402.8 ± 25.4		392.7 ± 17.6		403.4 ± 12.5		381.8 ± 13.8*	357.3 ± 16.4**
22	423.7 ± 29.3		411.8 ± 20.2		420.5 ± 15.8		398.6 ± 16.1*	375.6 ± 16.6**
25	435.5 ± 30.9		423.5 ± 21.2		431.1 ± 17.3		407.3 ± 18.5**	384.6 ± 20.3**
29	451.2 ± 33.0		436.2 ± 21.1		446.8 ± 19.8		419.0 ± 21.1**	391.5 ± 23.4**
32	453.5 ± 32.9		440.8 ± 22.9		452.1 ± 20.0		421.5 ± 22.5**	393.6 ± 22.7**
36	466.8 ± 36.2		451.8 ± 23.7		462.1 ± 20.6		429.1 ± 26.3**	398.3 ± 25.8**
39	473.3 ± 36.0		457.8 ± 22.0		468.5 ± 21.0		433.3 ± 27.7**	399.8 ± 23.6**
43	483.4 ± 39.1		463.5 ± 15.7		474.6 ± 21.2		438.0 ± 29.3**	400.8 ± 25.2**
46	491.4 ± 39.5		471.8 ± 17.3		483.9 ± 21.9		442.9 ± 31.8**	402.3 ± 24.7**
49	497.0 ± 40.9		483.2 ± 18.9		491.8 ± 21.7		447.4 ± 34.2**	408.3 ± 26.8**

Each value shows mean (g) ± S.D.

Significantly different from control (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$).

Table 3 Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl							
	0		10		30		100		300	
Number of males	12		12		12		12		12	
Days of administration										
3	23.1 ±	2.2	22.3 ±	2.0	24.5 ±	1.8	21.2 ±	2.3	15.8 ±	3.8**
6	22.8 ±	2.4	22.5 ±	2.2	24.0 ±	2.3	22.2 ±	2.4	20.0 ±	3.1*
10	21.8 ±	2.5	21.3 ±	2.0	22.1 ±	2.9	20.9 ±	1.6	19.3 ±	1.8*
13	21.8 ±	2.5	20.2 ±	1.7	21.5 ±	2.6	20.5 ±	1.3	20.3 ±	1.4
31	19.8 ±	2.6	19.6 ±	1.9	20.2 ±	2.0	20.5 ±	2.2	19.3 ±	2.5
34	20.3 ±	2.5	20.5 ±	1.6	21.1 ±	2.5	21.3 ±	2.7	19.9 ±	3.2
38	20.6 ±	2.1	20.3 ±	2.5	19.4 ±	2.5	21.1 ±	2.1	20.8 ±	2.2
41	20.0 ±	2.1	19.8 ±	1.8	20.3 ±	2.7	20.4 ±	2.0	20.1 ±	2.5
45	20.1 ±	2.3	20.3 ±	1.7	20.3 ±	2.8	20.9 ±	2.8	19.6 ±	1.8
48	19.8 ±	2.8	19.7 ±	1.7	20.6 ±	2.1	21.4 ±	4.0	19.9 ±	2.0

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$).

Table 4 Necropsy findings of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0	10	30	100	300
Number of males	12	12	12	12	12
Normal	12	12	12	12	12

Table 5 Organ weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0		10	30	100	300
Number of males	12		12	12	12	12
Body weight (g)	502.3 ± 39.9		491.8 ± 20.5	498.8 ± 23.9	453.2 ± 36.5**	411.7 ± 25.1**
Testes (g)	3.568 ± 0.340		3.503 ± 0.269	3.563 ± 0.413	3.558 ± 0.270	3.607 ± 0.288
	(g%) 0.714 ± 0.097		0.715 ± 0.061	0.714 ± 0.086	0.788 ± 0.059	0.878 ± 0.049**
Epididymides (g)	1.250 ± 0.073		1.290 ± 0.098	1.261 ± 0.116	1.262 ± 0.070	1.151 ± 0.118
	(g%) 0.250 ± 0.023		0.264 ± 0.023	0.253 ± 0.022	0.279 ± 0.026*	0.279 ± 0.024*

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 6 Observation of sperm in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl				
	0	10	30	100	300	
Number of males	12	12	12	12	12	
Sperm motion parameters						
After 30 min. incubation						
Motility ratio(%)	88.50 ± 7.46	86.79 ± 3.68	86.88 ± 4.19	88.38 ± 3.18	88.33 ± 2.42	
Path velocity (μm/s)	160.99 ± 16.47	163.03 ± 6.87	160.95 ± 4.48	165.85 ± 7.88	164.34 ± 9.23	
Straight line velocity (μm/s)	115.93 ± 15.93	119.69 ± 5.96	117.60 ± 6.25	119.92 ± 6.44	118.03 ± 8.14	
Curvilinear velocity (μm/s)	367.77 ± 31.58	376.40 ± 12.37	363.23 ± 12.29	381.67 ± 15.55	381.93 ± 20.57	
Beat cross frequency (Hz)	31.11 ± 1.35	30.84 ± 0.89	30.25 ± 2.22	31.14 ± 1.28	32.63 ± 1.64	
Morphology of sperm						
Abnormal ratio (%) ^{a)}	3.72 ± 2.80	4.31 ± 3.37	4.66 ± 4.12	2.78 ± 0.98	2.73 ± 1.02	
Viability (%) ^{b)}	99.20 ± 1.21	98.35 ± 2.12	98.34 ± 2.27	99.09 ± 0.61	99.25 ± 0.57	
Survivability (%) ^{c)}	87.08 ± 3.86	85.03 ± 4.69	84.98 ± 7.55	86.60 ± 3.48	84.18 ± 3.47	
Number of sperms in left cauda epididymis (×10 ⁶)	265.51 ± 52.70	274.13 ± 38.27	272.24 ± 56.87	271.93 ± 41.72	227.70 ± 43.55	
Number of sperms / g (left cauda epididymis) (×10 ⁶)	883.81 ± 131.49	879.64 ± 67.73	885.38 ± 161.62	894.24 ± 122.03	858.48 ± 94.28	

Each value shows mean ± S.D.

a): (Number of abnormal sperms / 300 sperms)×100.

b): ((Number of live sperms + number of dead sperms during the 2 hrs. incubation) / 300 sperms)×100.

c): (Number of live sperms after the 2 hrs. incubation / 300 sperms)×100.

Table 7 Histopathological findings of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control						4-ethyl-1,1'-biphenyl					
	0						300					
Incidence and Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+
Findings												
Testis	[12]						[12]					
Retention, spermatid, group 3, seminiferous tubule	11	1	1	0	0	0	12	0				

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Examined number of males.

No remarkable changes were seen in epididymis.

Table 8-1 General signs of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of females and general signs	Days of administration																											
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14	
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af
Control	0	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	30	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	11	12	11	12	7	12	8	12	6	12	7	12	2	12	5	12	6	12	3	12	2
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	5	0	4	0	6	0	5	0	10	0	7	0	6	0	9	0	10
	300	Number of females Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	10	12	10	12	6	11	6	11	6	11	4	11	1	12	2	12	1	12	1	12	0	12	0	12	0
		Soiled fur	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	0	0	0	2	0	2	0	6	0	6	0	5	0	8	0	11	0	10	0	11	0	11	0	12	0	12	0	12	

Be: before administration, Af: after administration.

Table 8-2 General signs of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of females and general signs	Days of administration																												
			15*		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25		26		27		28		29
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be
Control	0	Number of females	12	12	7	7	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		Normal	12	12	7	7	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of females	12	12	8	8	6	6	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Normal	12	12	8	8	6	6	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	30	Number of females	12	12	9	9	8	8	5	5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Normal	12	12	9	9	8	8	5	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	100	Number of females	12	12	8	8	4	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Normal	12	4	8	2	4	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Salivation	0	8	0	6	0	3	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	300	Number of females	12	12	8	8	5	5	3	3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Normal	12	0	8	0	5	0	3	0	1	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Salivation	0	12	0	8	0	5	0	3	0	1	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Be: before administration, Af: after administration.

*: commencement of pairing.

Table 9-1 General signs of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general signs	Days of pregnancy																											
			0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13	
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	30	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	100	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	2	12	3	12	4	12	6	12	3	12	5	12	5	12	3	12	4	12	4	12	3	12	4	12	2	12	5
		Salivation	0	10	0	9	0	8	0	6	0	9	0	7	0	7	0	9	0	8	0	8	0	9	0	8	0	10	0	7
	300	Number of dams	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		Normal	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0
		Salivation	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10

Be: before administration, Af: after administration.

Table 9-2 General signs of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general signs	Days of pregnancy																							
			14		15		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25	
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	2	0	0	0	0	0	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	2	-	-	-	-	-	
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	0	0	0	0	0	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	-	-	-	-	-	
	30	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	7	7	0	0	0	0	0	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	7	7	-	-	-	-	-	
	100	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	10	0	0	0	0	0	
		Normal	12	4	12	5	12	4	12	3	12	4	12	6	12	5	12	8	10	6	-	-	-	-	-	
	300	Salivation	0	8	0	7	0	8	0	9	0	8	0	6	0	7	0	4	0	4	-	-	-	-	-	
		Number of dams	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	8	8	8	8	6	0	0	0	0	0	
		Normal	10	0	10	0	10	0	10	0	9	0	9	1	8	1	7	1	5	1	-	-	-	-	-	
		Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	-	-	-	-	-	
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	-	-	-	-	-	
		Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	-	-	-	-	-	
		Soiled fur	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	-	-	-	-	-	
		Salivation	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	8	0	7	0	7	0	5	-	-	-	-	-	
		Loose stool	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	-	-	-	-	-	
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	0	-	-	-	-	-	

Be: before administration, Af: after administration.

Table 10 General signs of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Number of dams and general signs	Days of lactation									
			0		1		2		3		4	
			Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af	Be	Af
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
4-ethyl-1, 1'-biphenyl	10	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	30	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100	Number of dams	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11
		Normal	12	7	12	10	11	11	11	11	11	11
		Salivation	0	5	0	1	0	0	0	0	0	0
	300	Number of dams	6	3	3	1	1	0	0	0	0	0
		Normal	5	0	3	0	1	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
		Piloerection	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
		Soiled fur	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
		Salivation	0	3	0	1	0	-	-	-	-	-
		Loose stool	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-

Be: before administration, Af: after administration.

Table 11 Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl									
		0		10		30		100		300			
Number of females		12		12		12		12		12			
Days of admin- istration													
1	258.3 ± 6.6			257.8 ± 6.2			257.9 ± 7.0			257.8 ± 6.3			
4	256.6 ± 8.2			257.4 ± 4.5			257.0 ± 7.3			256.7 ± 6.2	237.3 ± 10.2**		
8	263.2 ± 8.4			263.3 ± 7.4			262.0 ± 7.6			259.1 ± 8.7	240.5 ± 15.5**		
11	269.4 ± 10.3			269.5 ± 5.9			263.5 ± 10.4			263.5 ± 8.1	250.4 ± 12.8**		
15	277.3 ± 9.4			275.7 ± 8.3			270.5 ± 11.9			272.5 ± 10.2	255.8 ± 19.7**		
18	301.0 (1)			297.0 ± 19.1 (3)			285.4 ± 6.2 (5)			277.0 (2)	258.3 ± 11.6 (3)		
22	325.0 (1)												
25	338.0 (1)												
29	354.0 (1)												

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 12 Body weight of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0		10	30	100	300
Number of dams	11		12	12	12	10
Days of pregnancy						
0	282.5 ± 9.6		285.4 ± 11.9	282.5 ± 9.6	275.1 ± 10.4	263.4 ± 17.9**
7	318.8 ± 11.6		323.4 ± 11.4	316.4 ± 10.8	312.8 ± 11.4	288.8 ± 22.8**
14	357.0 ± 14.8		357.4 ± 14.8	348.8 ± 13.5	345.7 ± 14.3	306.3 ± 28.1**
21	448.1 ± 19.3		453.8 ± 11.6	434.4 ± 43.8	440.0 ± 21.9	332.0 ± 38.1** (8)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 13 Body weight of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0		10	30	100	300
Number of dams	11		12	12	12	6
Days of lactation	0	329.9 ± 19.0	327.8 ± 19.4	322.4 ± 17.9	323.6 ± 19.2	282.5 ± 23.4**
	4	356.9 ± 23.2	346.8 ± 18.8	340.0 ± 18.0	337.8 ± 17.2 (11)	—

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 14 Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)		Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl							
		0		10		30		100		300	
Number of females		12		12		12		12		12	
Days of admin- istration											
3		15.3 ±	2.3	14.9 ±	2.2	15.3 ±	1.9	14.8 ±	2.3	11.0 ±	3.2**
6		16.9 ±	2.5	16.9 ±	1.8	16.0 ±	2.3	14.4 ±	1.6*	10.1 ±	2.7**
10		17.0 ±	2.1	17.1 ±	2.0	16.8 ±	1.7	15.4 ±	1.9	15.7 ±	4.5
13		16.9 ±	2.5	17.6 ±	3.2	18.1 ±	1.8	16.1 ±	2.5	17.2 ±	2.1

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 15 Food consumption of dams (P) during pregnancy period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl							
	0		10		30		100		300	
Number of dams	11		12		12		12		10	
Days of pregnancy										
2	19.6 ±	2.7	19.8 ±	2.6	19.2 ±	2.1	18.3 ±	2.1	18.4 ±	4.8
9	22.6 ±	2.4	21.0 ±	2.5	20.6 ±	2.6	22.0 ±	2.2	20.8 ±	2.5
16	21.5 ±	2.1	21.5 ±	1.7	21.3 ±	2.1	22.0 ±	2.3	19.9 ±	3.6
21	20.7 ±	0.9	18.9 ±	1.9*	18.7 ±	4.3	20.9 ±	2.3	10.5 ±	6.2** (8)

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 16 Food consumption of dams (P) during lactation period in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0	10	30	100	300
Number of dams	11	12	12	11	0
Days of lactation	4	4	4	4	—
	32.8 ± 4.2	31.8 ± 3.7	30.8 ± 4.8	28.0 ± 4.6	—

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 17 Necropsy findings of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0	10	30	100	300
Number of females	12	12	12	12	8
Normal	12	12	12	12	8
Number of dead females	0	0	0	0	4
Normal	-	-	-	-	2
Soiled fur (peri-nasal and mouth region)	-	-	-	-	1
Stomach (glandular mucosa)	-	-	-	-	-
Dark red spots	-	-	-	-	2

Table 18 Organ weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl				
	0		10	30	100	300	
Number of females	12		12	12	12	8	
Body weight (g)	356.7 ± 22.1		346.8 ± 18.8	340.0 ± 18.0	335.6 ± 18.1*	284.3 ± 21.3**	
Ovaries (mg)	101.38 ± 10.29		107.16 ± 12.70	106.98 ± 14.05	105.35 ± 15.01	119.55 ± 22.29	
(mg%)	28.48 ± 3.17		31.03 ± 4.36	31.52 ± 4.39	31.38 ± 4.05	42.30 ± 8.79**	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 19-1 Histopathological findings of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control		4-ethyl-1,1'-biphenyl	
	0		300	
Incidence and Grade	N	A	N	A
Findings	[12]		[8]	
Ovary	12	0	8	0

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Examined number of females.

Table 19-2 Histopathological findings of dead female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	4-ethyl-1,1'-biphenyl	
	300	
Incidence and Grade	N	A
Findings		
Ovary	[4] 4	0
Stomach	[2] 2	0

N : No abnormality detected.

A : Abnormality detected.

[] : Examined number of females.

Table 20 Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0	10	30	100	300
Number of females	12	12	12	12	12
Number of estrous cases before mating (14 days)					
Mean±S.D.	3.4 ± 0.7	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5	2.9 ± 0.5
Number of pairs	12	12	12	12	12
Number of pairs with successful copulation	11	12	12	12	12
Copulation index (%) ^{a)}	91.7	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of conceiving days					
Mean±S.D.	1.8 ± 0.9	2.4 ± 1.2	2.9 ± 1.4	2.2 ± 1.1	2.5 ± 1.6
Conceiving days 1-5	11	12	12	12	11
Conceiving days ≥6	0	0	0	0	1
Number of pregnant females	11	12	12	12	10
Fertility index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3
Number of dead pregnant females	0	0	0	0	4
Number of live pregnant females at delivery	11	12	12	12	6
Number of pregnant females with live pups	11	12	12	12	3

a): (Number of pairs with successful copulation / number of pairs)×100.

b): (Number of pregnant females / number of pairs with successful copulation)×100.

Table 21 Observation of pups (F1) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0	10	30	100	300
Number of dams	11	12	12	12	6
Length of gestation (days)	22.18 ± 0.40	22.50 ± 0.52	22.50 ± 0.67	22.83 ± 0.39 **	23.00 ± 0.00 **
Pregnancy days ≤ 21	0	0	1	0	0
Pregnancy days = 22	9	6	4	2	0
Pregnancy days ≥ 23	2	6	7	10	6
Corpora lutea	17.0 ± 1.9	17.5 ± 2.5	17.8 ± 2.0	16.6 ± 1.8	14.3 ± 3.1
Implantation scars	16.0 ± 1.5	15.9 ± 1.5	16.3 ± 1.8	15.9 ± 2.0	12.2 ± 2.8 **
Implantation index (%) ^{a)}	94.6 ± 7.5	91.8 ± 8.9	91.8 ± 10.7	96.0 ± 5.2	85.3 ± 13.6
Gestation index (%) ^{b)}	100.0	100.0	100.0	100.0	50.0
Pups born	15.3 ± 1.8	15.4 ± 1.4	15.3 ± 1.1	14.8 ± 2.7	7.0 ± 3.7 **
Stillbirths	0.1 ± 0.3	0.4 ± 0.7	0.3 ± 0.5	2.1 ± 3.8 **	6.3 ± 3.3 **
Live pups born	15.2 ± 2.0	15.0 ± 1.5	15.0 ± 1.4	12.8 ± 3.9	0.7 ± 0.8 **
Sex ratio at birth ^{c)}	1.11 ± 0.42	1.21 ± 0.64	1.06 ± 0.49	1.44 ± 1.49	0.00 (2)
(Total male/total female)	86 / 81	93 / 87	88 / 92	80 / 73	1 / 3
Delivery index (%) ^{d)}	95.4 ± 6.0	96.8 ± 3.3	94.3 ± 5.2	92.7 ± 9.2	58.3 ± 25.1 *
Birth index (%) ^{e)}	94.7 ± 7.9	94.3 ± 4.9	92.6 ± 4.7	80.3 ± 22.3 *	5.0 ± 5.9 **
Live birth index (%) ^{f)}	99.3 ± 2.4	97.3 ± 4.2	98.2 ± 3.3	87.0 ± 22.7 *	8.2 ± 10.6 **
Live pups on day 4 of lactation	14.8 ± 2.1	15.0 ± 1.5	14.7 ± 1.8	11.7 ± 4.6 *	0.0 ± 0.0 ** (3)
Sex ratio on day 4 of lactation ^{c)}	1.15 ± 0.44	1.21 ± 0.64	1.05 ± 0.45	1.27 ± 1.13 (11)	—
(Total male/total female)	85 / 78	93 / 87	86 / 90	70 / 70	0 / 0
Viability index (%) ^{g)}	97.5 ± 4.3	100.0 ± 0.0	97.6 ± 3.6	86.3 ± 27.9	0.0 ± 0.0 ** (3)
External anomalies (%) ^{h)}	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 (3)

Each value shows mean ± S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

a): (Number of implantation scars / number of corpora lutea)×100.

c): Number of male pups / number of female pups.

e): (Number of live pups born / number of implantation scars)×100.

g): (Number of live pups on day 4 / number of live pups born)×100.

b): (Number of dams with live pups / number of pregnant dams)×100.

d): (Number of pups born / number of implantation scars)×100.

f): (Number of live pups born / number of pups born)×100.

h): (Number of pups with external anomalies / number of live pups)×100.

Table 22 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0	10	30	100	300
Number of dams	11	12	12	12	3
Male weight					
Days of lactation					
0	6.69 ± 0.59	7.01 ± 0.39	6.96 ± 0.48	6.75 ± 0.51	5.40 (1)
4	11.30 ± 1.45	11.63 ± 1.12	11.14 ± 1.22	10.45 ± 1.22 (11)	—
Female weight					
Days of lactation					
0	6.40 ± 0.69	6.68 ± 0.31	6.62 ± 0.57	6.44 ± 0.51	5.05 (2)
4	10.83 ± 1.51	11.01 ± 0.89	10.56 ± 1.39	10.10 ± 1.17 (11)	—
Mean pups weight					
Days of lactation					
0	6.55 ± 0.61	6.87 ± 0.34	6.78 ± 0.51	6.59 ± 0.50	5.17 ± 0.49 **
4	11.08 ± 1.46	11.34 ± 0.99	10.85 ± 1.30	10.28 ± 1.17 (11)	—
Litter weight					
Days of lactation					
0	98.56 ± 7.95	102.58 ± 8.66	101.50 ± 10.09	84.75 ± 26.68	6.70 ± 2.17 *
4	161.54 ± 7.28	168.99 ± 11.87	158.08 ± 19.64	129.01 ± 25.90 ** (11)	—

Each value shows mean (g) ± S.D. per dam.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Significantly different from control (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 23 Necropsy findings of pups (F1) on day 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

Group (mg/kg)	Control	4-ethyl-1,1'-biphenyl			
	0	10	30	100	300
Number of males	85	93	86	70	0
Normal	85	93	86	69	-
Dilatation of renal pelvis	0	0	0	1	-
Number of females	78	87	90	70	0
Normal	78	87	90	70	-

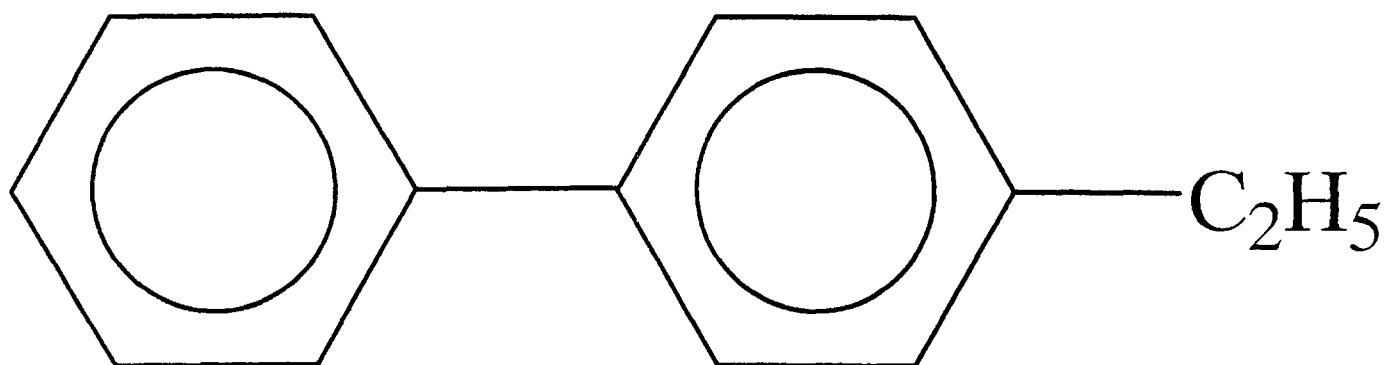


Fig. 1 Chemical structure of 4-ethyl-1,1'-biphenyl

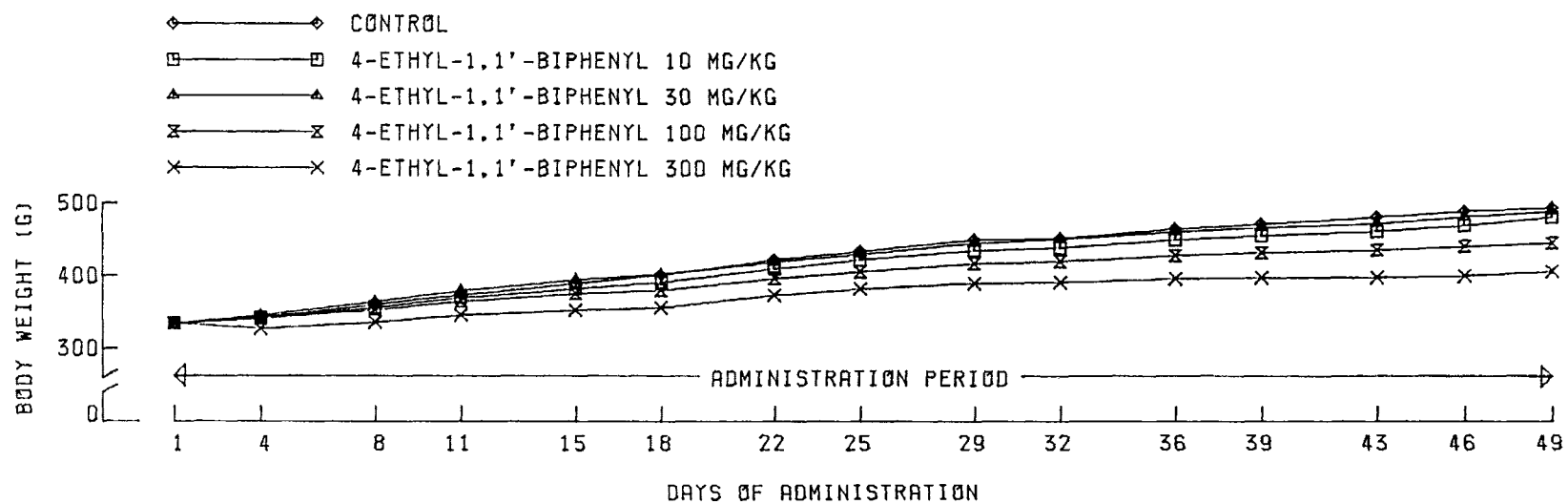


Fig. 2 Body weight of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

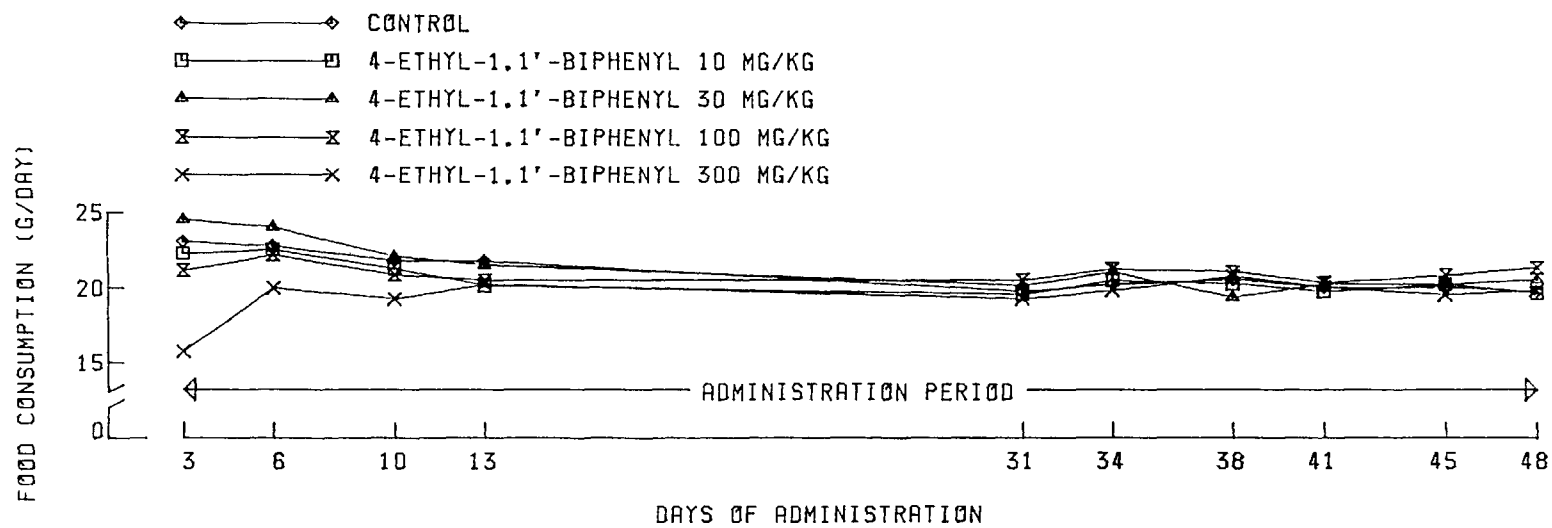


Fig. 3 Food consumption of male rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

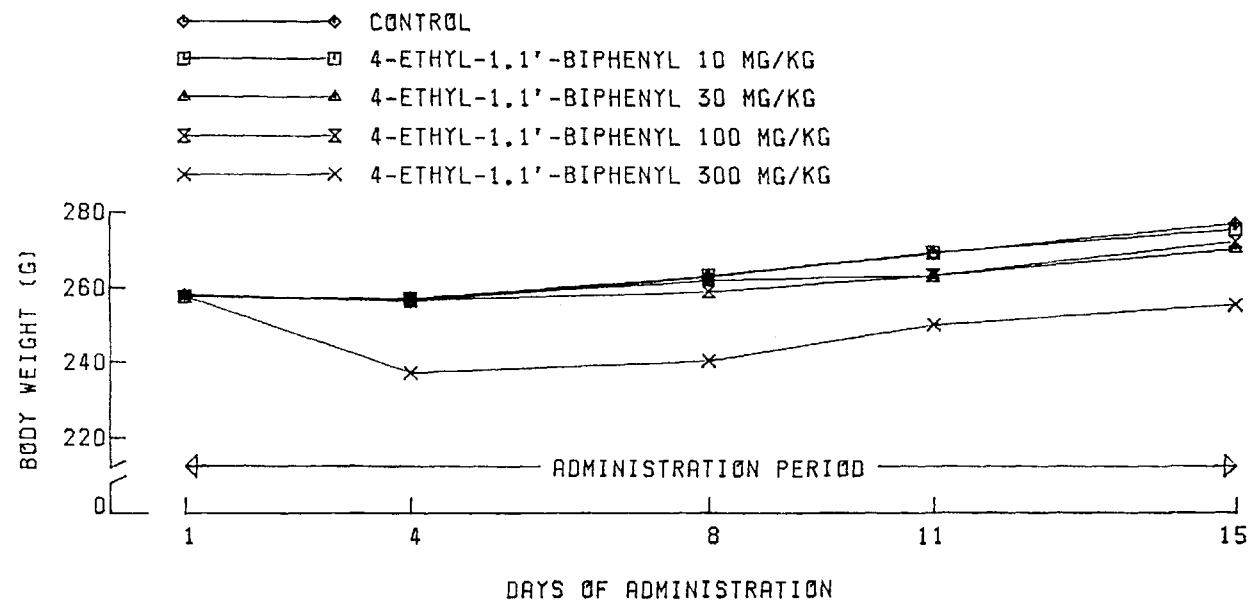


Fig. 4 Body weight of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

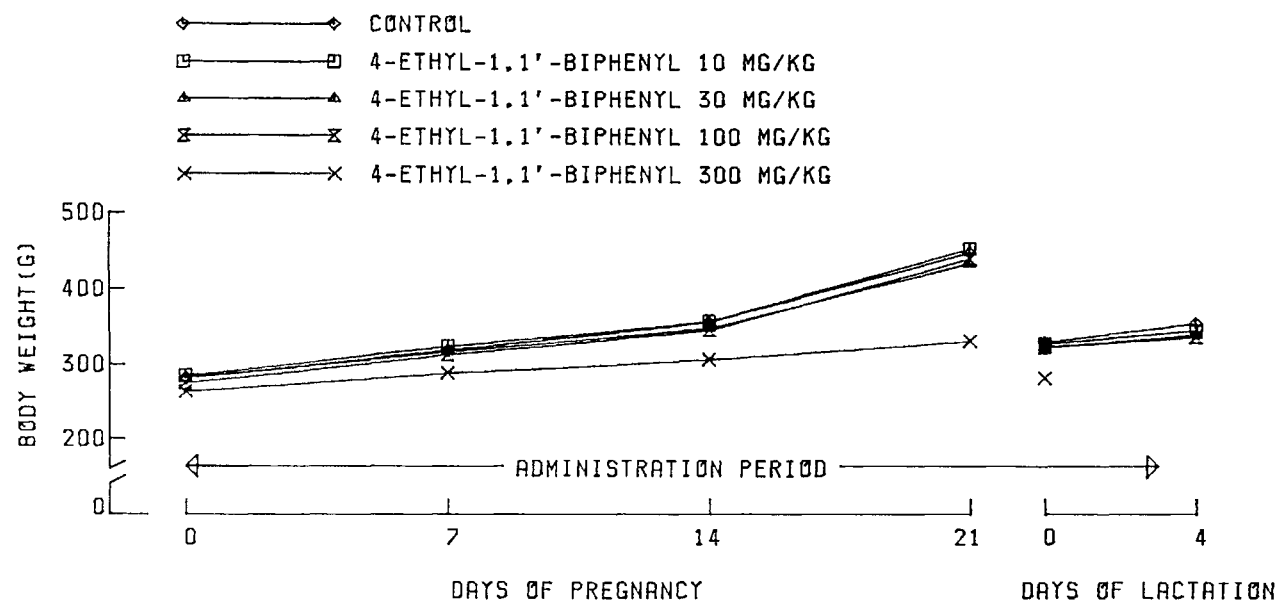


Fig. 5 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

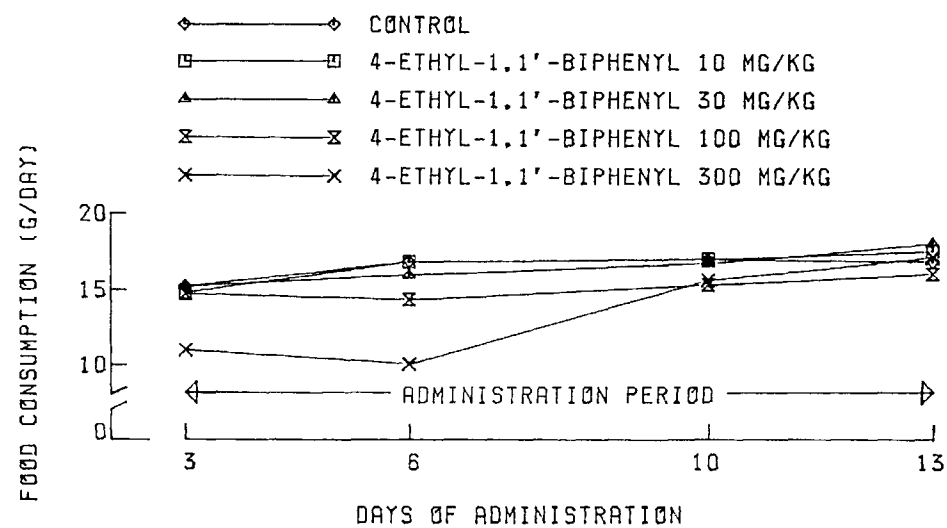


Fig. 6 Food consumption of female rats (P) in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

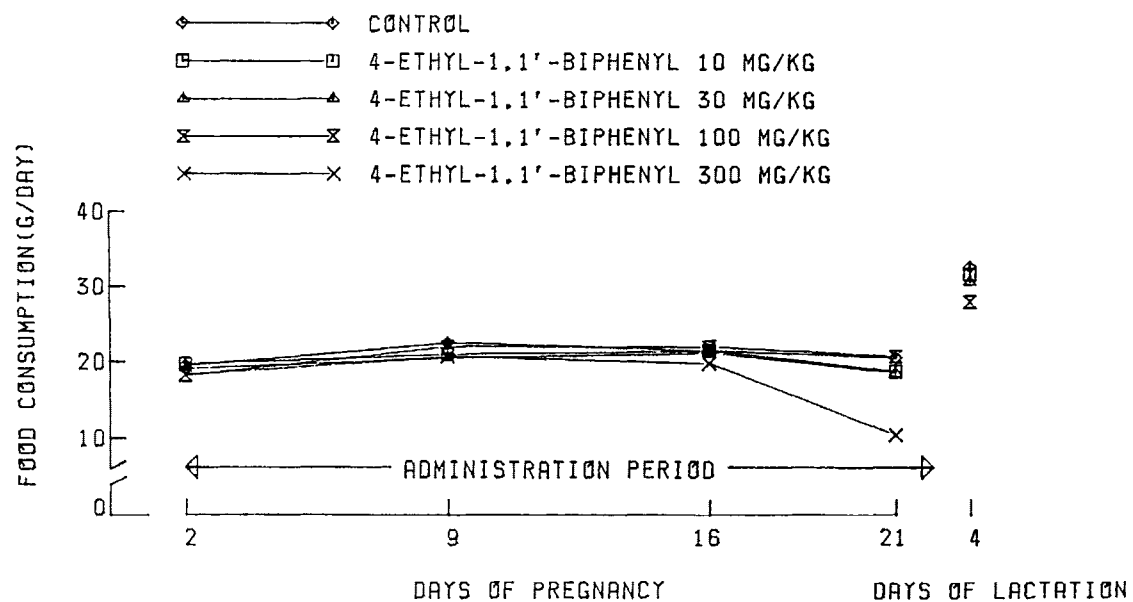


Fig. 7 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration

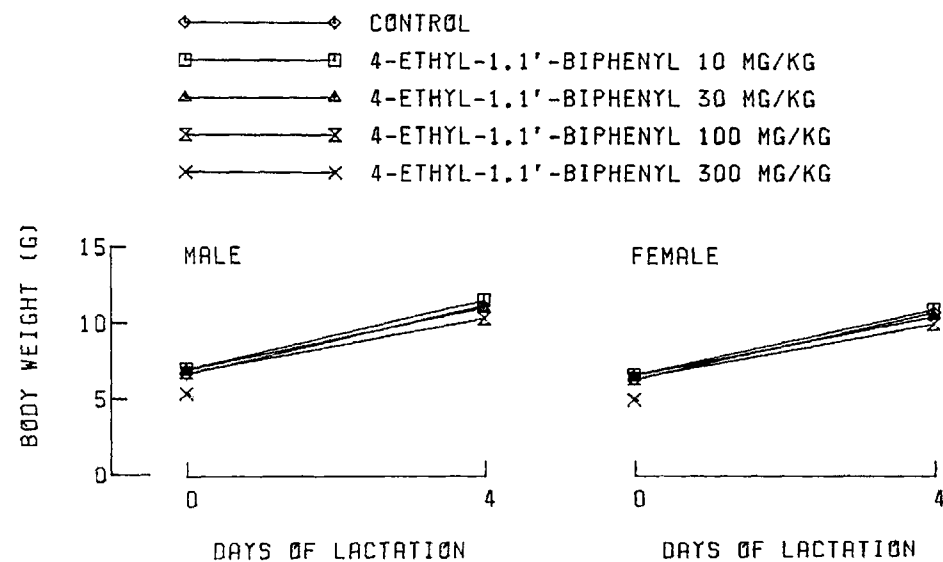


Fig. 8 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in preliminary reproduction toxicity screening test of 4-ethyl-1,1'-biphenyl by oral administration