２００４年１１月　８日

4, 4'-ビフェニルジオールのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室　委託

財団法人食品薬品安全センター
秦野研究所

【 目 次 】

要　約 1
試験目的 5
試験材料および方法 6
1．被験物質 6
2．使用動物および飼育条件 6
3．群分けおよび個体識別 7
4．投与検体の調製 7
5．投与量、群構成、投与期間および投与方法 8
6．観察方法 10
7．統計解析 17

結　果 19
Ⅰ．反復投与毒性 19
1．一般状態 19
2．詳細な症状観察結果 20
3．神経学的検査結果 20
4．体重 20
5．摂餌量 21
6．尿検査成績 21
7．解剖時検査所見 22
Ⅱ．生殖発生毒性 28
1．性周期 28
2．交配成績 28
3．分娩および哺育所見 28
4．黄体数および着床数 28
5．出生児所見 29
考　察 30
1．反復投与毒性 30
2．生殖発生毒性 34
3．無作用量 36
文　献 37
Figures 1～4

Tables 1～30

【 要 約 】

4,4'-ビフェニルジオールの、雌雄動物に対する反復投与の影響、ならびに親動物の生殖・発生および新生児の発育に及ぼす影響を検討するために、同物質の 0（媒体対照、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液）、8、40 および 200 mg/kg を Sprague-Dawley 系（Crj:CD(SD) IGS)ラットの雌雄（12 匹／群）に、10 週齢から 2 週間経口投与し、2 週間を限度として交配させた。雄は交配期間終了後 2 週間を経過した後、回復性ならびに遅発性変化の有無を観察する対照群および 200 mg/kg 投与群の各 5 例を残して投与 43 日に剖検し、血液学検査、血液生化学検査ならびに病理学検査を実施した。雌は交配後、自然分娩させ、4 日間出生児を哺育させて哺育 5 日に剖検し、出生児は哺育 4 日に剖検した。また、分娩しなかった雌は妊娠 26 日相当日に剖検し、交尾しなかった雌は投与 53 日に剖検した。これらの動物はこの間投与を継続し、一般状態を観察し、詳細な症状観察を行うとともに、体重および摂餌量を算定し、尿検査を行い、神経学的検査を実施した。また、雌動物は性周期を観察した。さらに親動物は、分娩および泌乳を含む繁殖能力を観察し、出生児は哺育 4 日までの発育を観察した。親動物の剖検では、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施した。これら交配に供した動物とは別に、雌における回復性ならびに遅発性変化の有無を観察するために、サテライト群を設け、媒体あるいは 200 mg/kg の被験物質を各群 5 匹の雌に対して雄と同様に投与した。回復性ならびに遅発性変化の有無を観察した動物は、雌雄とも最終投与日に神経学的検査を実施し、その翌日（回復 1 日）から 2 週間投与を停止した後、再び神経学的検査を行い、その翌日に剖検して、交配に供した動物と同様の検査を行った。これらの観察期間中にも体重および摂餌量の測定、詳細な症状観察ならびに尿検査を実施した。

Ⅰ. 反復投与毒性

1. 雄動物所見

死亡ならびに瀕死屠殺はなかった。投与 15 日から、200 mg/kg 投与群において、排泄された尿が、時間経過に伴って白濁してくるのが認められ、それが投与終了翌日（剖検日／回復 1 日）まで観察された。投与 31 日における尿検査では、40 mg/kg 以上の投与群において混濁が

認められ、200 mg/kg 投与群ではシュウ酸カルシウム様の沈渣結晶が認められたが、その他の検査項目に異常は認められなかった。回復 2 日以降には被験物質投与に関連した一般状態の異常は認められなくなり、回復 11 日における尿検査で混濁およびシュウ酸カルシウム様沈渣結晶の認められる例はなかった。詳細な症状観察で得られたスコアには、投与期間中および回復期間中のいずれの時期においても対照群と被験物質投与群との間で差は認められず、体重増加および摂餌量にも被験物質投与の影響は認められなかった。投与期間終了時の剖検では 200 mg/kg 投与群の肝臓に、腫大あるいは暗色調を認める例があったが、回復期間終了時の剖検では被験物質投与に起因する所見は認められなかった。血液学検査および血液生化学検査の各成績には、いずれの時期の剖検においても被験物質投与の影響と判断される変化は認められなかった。投与終了時に測定した器官重量を対照群と比較すると、200 mg/kg 投与群において肝臓の相対重量が増加し、副腎重量が低下していた。これらの組織のうち、肝臓の病理組織学検査では、小葉中心性肝細胞肥大を認める例があり、門脈周囲における脂肪化の程度は対照群と比較して減弱していた。一方、副腎組織に異常は認められなかった。その他の器官については、重量および病理組織学検査成績ともに投与の影響は認められなかった。回復期間終了時における剖検では、200 mg/kg 投与群と対照群との間で重量あるいは相対重量に差の認められる器官はなく、また、門脈周囲における脂肪化の程度も対照群と同様であった。

2.雌動物所見

死亡ならびに瀕死屠殺は、交配に供した動物にもサテライト群にも認められなかった。

交配に供した雌における一般状態の変化としては、投与 15 日から、200 mg/kg 投与群の動物が排泄した尿に、雄で観察されたのと同様の変化が認められた。この所見は、床敷の入ったケージに収容されていたために確認できなかった妊娠 18 日から哺育 4 日までの期間を除き、哺育 5 日の剖検日まで観察された。投与 32 日に実施した尿検査では、交配した雌では、40 mg/kg 以上の投与群において混濁およびシュウ酸カルシウム様の沈渣結晶が認められ、比重が低下した。詳細な症状観察で得られたスコアには、対照群と被験物質投与群との間で差は認められず、体重増加および摂餌量にも被験物質投与に起因すると判断される影響は認められ

なかった。また、剖検前日に実施した神経学的検査においても、いずれの投与群にも異常は認められなかった。剖検では、器官重量、血液学検査、血液生化学検査および病理組織学検査のいずれにおいても、被験物質投与に起因すると判断される影響は認められなかった。

媒体あるいは 200 mg/kg を投与したサテライト群においても、投与 15 日から、200 mg/kg 投与群の動物から排泄された尿に、交配に供した雌に認められたのと同様の変化が認められ、投与終了翌日の回復 1 日まで観察された。投与 32 日における尿検査では、200 mg/kg 投与群にシュウ酸カルシウム様の沈渣結晶および混濁が認められ、有意差は認められなかったが、比重は対照群と比べて低値の傾向を示した。しかし、回復 2 日以降には被験物質投与に関連した一般状態の異常は認められなくなり、回復 11 日における尿検査で混濁およびシュウ酸カルシウム様沈渣結晶の認められる例はなく、比重も対照群と同様であった。詳細な症状観察で得られたスコアには、投与期間中および回復期間中のいずれの時期においても対照群と被験物質投与群との間で差は認められず、体重増加および摂餌量にも被験物質投与に起因すると判断される影響は認められなかった。回復 14 日に実施した神経学的検査においても異常を認める動物はなかった。回復 15 日における剖検においても、被験物質投与に関連した異常はいずれの検査においても認められなかった。

Ⅱ. 生殖発生毒性

被験物質投与により性周期が変化することはなく、交尾率、受胎率、交尾までの平均発情回帰回数および平均同居日数などの交配成績にも投与の影響は認められなかった。

分娩および哺育状態についても、被験物質投与に起因すると判断される異常は認められず、被験物質投与群では対照群と同様の妊娠期間を経て、妊娠動物の全例が生児を出産した。黄体数、着床数、着床率、産児数、分娩率、生存児数、生児出産率、出生率、新生児生存率のいずれについても、対照群と被験物質投与群との間で差は認められず、着床前から出生後の哺育４日に到るまでの生存に被験物質投与の影響は認められなかった。哺育０日および４日における性比にも被験物質投与の影響は認められなかった。また、出生児の体重には投与の影響は認められず、生死にかかわらず、形態異常はいずれの出生児にも認められなかった。

Ⅲ. 評価

以上の試験成績から、本試験条件下では、4,4'-ビフェニルジオールの無作用量は、反復投与毒性に関しては、雌雄いずれにおいても 40 mg/kg/day 以上の投与群で尿の混濁が認められたことから、雌雄ともに 8 mg/kg/day であると結論される。生殖発生毒性に関しては、200 mg/kg/day を投与しても雌雄ともに影響が認められなかったことから、200 mg/kg/day であると結論される。出生児に関しても投与の影響が認められなかったことから 200 mg/kg/day であると結論される。また、雌雄動物に認められた被験物質投与に起因すると考えられる変化は、投与の中止後２週間までに回復し、その間遅発性の変化は認められないと結論される。

【試験目的】

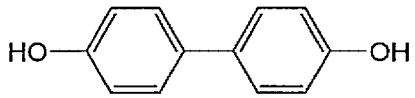
4,4'-ビフェニルジオールは液晶ポリマーの原料あるいは合成樹脂の改質材として生産されている化学物質である。OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、OECD 化学物質試験法ガイドライン 422/反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験法（1996 年 3 月 22 日）に準拠し、「化学物質 GLP」（平成 12 年 3 月 1 日改正、環保安第 41 号、生衛発第 268 号、平成 12･02･14 基局第 1 号）を遵守して、4,4'-ビフェニルジオールの反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、同化合物の親動物に対する反復投与の影響ならびに新生児の生存性、発育および形態を含む生殖発生に及ぼす影響ついて検討したので報告する。

【試験材料および方法】

1．被験物質

被験物質の 4,4'-ビフェニルジオール（BPD と略記、CAS No.：92-88-6、分子式：$C_{12}H_{10}O_2$、分子量：186.21、英名：4,4'-biphenyldiol）は、　　から提供を受けたもので、下図に示した構造を有する。提供された被験物質（ロット番号：　　）は、純度 99.96 wt%の白色結晶で、使用時まで密閉して遮光下で高温を避けて室温保管した。本試験に使用した被験物質については、投与終了後に　　に返却し、再分析して使用期間中の安定性を確認した(Table A)。

図．構造式



2．使用動物および飼育条件

試験には、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センター生産の Sprague-Dawley (SD)系(Crj:CD (SD)IGS、SPF)ラットを使用した。雌雄動物はいずれも７週齢で購入し、入荷日を含む８日間、検疫と馴化を兼ねて飼育し、その間毎日一般状態を観察して異常が認められなかった動物を、さらに 2 週間予備飼育した。予備飼育期間中、雄は一般状態を観察し、雌は一般状態を観察するとともに性周期を観察した。動物の入荷、検疫ならびに群分け状況を、Table B に示した。

各動物は、許容温湿度各 21.0～25.0℃、および 40.0～75.0%、換気回数約 15 回／時間、照明 12 時間（７時～19 時点灯）に制御された飼育室で、金属製金網床ケージ(220w×270d×190h mm)に個別に収容して飼育し、固型飼料（CE-2、日本クレア株式会社）および飲料水（水道水、秦野市水道局給水）を自由に摂取させた。妊娠 18 日（腟栓あるいは精子発見日＝妊娠０日）以後の母動物は、哺育４日（哺育 0 日＝分娩日）までラット用プラスチック製繁殖ケージ（350w×400d×180h mm)に収容し、紙パルプ製チップ（ペパークリーン、日本エスエルシー株式会社）を床敷として供給して飼育した後、再び前述の金属製金網床ケージに収

容した。試験期間中、秦野研究所中央温湿度監視装置により測定した飼育室の温湿度は、それぞれ、23.5～24.5℃および46～70%と、いずれも許容範囲内であった。使用した飼料、水および床敷についても試験に支障を来す可能性の考えられる混入物はなかった。

3．群分けおよび個体識別

雌雄とも投与開始前日の体重に基づく体重別層化無作為抽出法により群分けし、各群に雌雄各12匹を、また、雌に設定したサテライト群には各5匹を配した。雌動物については、検疫終了後から群分け日まで腟スメア標本により性周期を毎日観察し、発情を回帰している動物を選択して群分けに用いた。

群分け後、すべての動物は、尾にフェルトペンで個体識別番号を示す番号を記して個体を識別した。各飼育ケージには、試験計画番号および個体識別番号を記入した群ごとに色の異なる動物カードを掛けて個体識別の補助とした。出生児については、個体識別は行わなかった。群分けにおいて余剰となった動物の一部は、定期および試験終了時微生物モニタリングに供し、異常のないことを確認した。その他は、本試験以外の目的に使用した。

4．投与検体の調製

投与検体は、濃度毎に秤量した被験物質を、0.5％カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC Na）水溶液に懸濁し、いずれの用量においても1回の投与液量が5mL/kg体重になるように濃度を調整した。媒体とした0.5％CMC Na水溶液は、所定量のカルボキシメチルセルロースナトリウム（カルメロースナトリウム、製造元：丸石製薬株式会社、製造番号：2115）を注射用水（日局注射用水、製造元：光製薬株式会社、製造番号：A207TT）に溶解して調製した。

投与検体の安定性については、投与開始前に上記のように調製した0.01および20w/v%の調製検体について、冷蔵、遮光条件下で8日間の安定性を確認した(Table C)。これらの結果に基づき、投与検体は1週間に1回以上の頻度で調製し、冷蔵、遮光保管して調製後7日以内に使用した。

各濃度の投与検体に含まれる被験物質の含量は、投与開始前に 1 回、初回の投与検体について以下に示す方法で測定し、調製検体には所定量の被験物質が含まれていることを確認した(Table D)。

測定方法

各調製検体の 1 mL を採取し、メタノールで一定量とした後、メタノールで適宜希釈して試料溶液を調製した。別に、被験物質を必要量秤取し、メタノールに溶解して標準溶液（0.1、0.2、0.5 μg/mL）を調製した。試料溶液および標準溶液を高速液体クロマトグラフ（HPLC）法により測定し、標準溶液から作成する検量線を用いて濃度を求めた。

HPLC 条件

分析カラム ： Inertsil ODS-2
（内径 4.6 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm、ジーエルサイエンス㈱）
移 動 相 ： 水／アセトニトリル（65:35 v/v）
流 速 ： 1.0 mL/min
カラム温度 ： 40℃
検出波長 ： 265 nm
試料注入量 ： 10 μL

5．投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の投与量は、4,4'-ビフェニルジオールのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合予備試験（試験計画番号：R-02-003、以下「BPD の予備試験」）を行い、決定した。すなわち、既に報告されている、ラットにおける BPD の経口投与による 50%致死量(4920 mg/kg) [1]ならびにマウスに対して経口投与により幼若赤血球比率を低下させ小核出現頻度を増加させる用量（40 mg/kg）[2]を参考にして、高用量には OECD 化学物質毒性試験ガイドラインに定められている限度値の 1000 mg/kg を設定し、以下公比 5 で減じて、中用量には 200 mg/kg を、低用量には 40 mg/kg を設定し、雌雄ラットに 18 日間反復経口投与した。その間、継続的な観察を含む一般状態の観察を行い、体重および摂餌量を測定した。また、投与 7 日から 5 日間を限度として同群内の雌雄を交配させ、受胎の有無を確認した。雌雄の生存例は、投与 18 日の翌日に全例について血液検査を行うとともに剖検し、器官重量を測定した。その結果、1000 mg/kg の BPD は反復投与により雌雄動物を死亡させるが、生存例は交尾して妊娠することが確認された。200 mg/kg 以下の投与量では 18 日間反復投与しても死亡は認められ

なかったが、200 mg/kg 投与により、軽度ながら、1000 mg/kg 投与群において認められた体重増加抑制、肝臓および腎臓相対重量の増加傾向が認められ、また、尿の白濁も認められたことから、本試験において 200 mg/kg をさらに反復投与することにより、親動物に対して明瞭な影響が表れるものと推測された。これらの結果から、本試験における高用量には 200 mg/kg を設定し、以下公比 5 で減じて中用量には 40 mg/kg を、低用量には 8 mg/kg を設定した。

以下に群構成を示す。

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	濃度 (w/v%)	投与容量 (mL/kg)	動物番号 雄	動物番号 雌
1	CMC Na 水溶液 (対照群)	0	0	5	MX01001～012	FB01001～012
2	BPD	8	0.16	5	MX02001～012	FB02001～012
3	BPD	40	0.8	5	MX03001～012	FB03001～012
4	BPD	200	4	5	MX04001～012	FB04001～012
5 (サテライト群)	CMC Na 水溶液 (対照群)	0	0	5	―――	FB05001～005
6 (サテライト群)	BPD	200	4	5	―――	FB06001～005

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前２週間から最長２週間の交配期間を経て剖検前日に至るまでの連続 42 日間、また、雌に対しては交配前２週間、交尾までの交配期間、妊娠期間および哺育 4 日まで、交尾したが分娩しない雌は妊娠 25 日相当日まで、交尾しなかった雌は剖検前日まで 52 日間、それぞれ毎日１回、一定時刻の間（9 時～13 時）に、ラット用胃管を用いて経口投与した。サテライト群については、42 日間毎日、同様に投与した。投与に際しては、投与前に調製検体をマグネチックスターラーで攪拌し、均一であることを目視により確認してから投与を開始し、投与中も調製検体をマグネチックスターラーで攪拌した。また、各動物の投与液量（５mL/kg）は、雌雄とも最近時の体重をもとに、個体別に算出した。

6．観察方法

1）一般状態の観察

雌雄とも、全例について飼育期間中毎日1回以上観察した。投与期間中の動物については、投与前および投与終了後に観察した。さらに、回復および遅発毒性の有無を調べるために、雄動物は、対照群および高用量群のうち、動物番号の大きい各5例を最終投与翌日（回復1日）から14日間、雌はサテライト群の全例について、最終投与翌日（回復1日）から14日間、毎日1回以上、一般状態を観察した。

観察された症状のうち、速やかな回復が期待されない所見は断続的観察を行わなかった。また、排泄物の時間経過に伴う変化であることが、初回発見翌日における断続的観察で明らかになった所見についても、その後の断続的観察は行わなかった。

2）詳細な症状観察

雄は全例について、群分け日、投与7、14、21、28、35および42日の13時～16時にスコアリング法による詳細な症状観察を行った。回復期間中は、回復7および14日の13時～16時にスコアリング法による詳細な症状観察を行った。雌は、全例について、群分け日、投与7、14、21、28、35および42日の13時～16時にスコアリング法による詳細な症状観察を行った。投与49日までに分娩しない例（未交尾例を含む）は投与49日にも観察を行った。観察日が分娩中であった例は哺育0日に観察し、その他の分娩例は哺育0日から4日の間に1回観察した。サテライト群は回復7および14日に観察した。観察では、ケージ越しでの観察を約20秒間行い、ケージから取り出す際に外表を観察し、作業台上での観察を約40秒間行った。次に、作業台上で、姿勢・体位、探索行動、身づくろい、発声、挙尾反応、歩行、常同行動、奇妙な行動、振戦、痙攣、立毛、眼裂および呼吸数を観察した。

3）神経学的検査

神経学的検査では、プライエル反応、瞳孔反射、視覚定位、驚愕反応、痛覚、後肢引込み反射、眼瞼（瞬目）反射、正向反射の有無を観察する機能検査を実施した。これらの検査は、投与

終了時の雄は、投与 42 日の詳細な症状観察に引き続き、各群の動物番号の若い 5 例および回復観察に供する対照群および高用量群の各５例について実施した。また、回復期間終了時には、回復 14 日の詳細な症状観察後に、全例について実施した。雌では、投与終了時には、分娩例は、哺育４日に投与期間が近接した各群の動物番号が若い５匹を選び、サテライト群では、投与 42 日の詳細な症状観察に引き続き、全例について実施した。また、回復期間終了時には、回復 14 日の詳細な症状観察後にも検査を行った。

４）体重測定

雄は生存例の全例について、投与１（投与開始日）、7、14、21、28、35、42 日、回復１、7、14 日および解剖日（最終投与翌日および回復 15 日）に測定した。

雌は生存例の全例について、投与１、７、14 日に測定し、交尾確認後は、妊娠０、７、14 および 20 日に、分娩後は哺育０および４日ならびに解剖日に測定した。分娩の認められなかった例は剖検日に測定した。交尾しなかった雌は、投与 21、28、35、42 および 49 日ならびに解剖日に測定した。これらのうち、投与 21～49 日の体重、ならびに交尾あるいは分娩しなかった例の剖検時体重は、測定対象が限られていることから評価の対象から除外した。サテライト群の動物は全例について、投与 1、7、14、21、28、35、42 日、回復 1、7、14 日および解剖日（回復 15 日）に測定した。

５）摂餌量測定

雄は生存例の全例について、投与 1～2、7～8、14～15、29～30、35～36、41～42 日、回復 6～7、13～14 日に測定した。

雌は全例について、交配前期間は投与 1～2、7～8、14～15 日、交尾確認後は、妊娠 0～1、7～8、14～15、20～21 日に、分娩後は哺育３～４日に測定した。交尾しなかった雌は投与 29～30、35～36、41～42、48～49 日に測定した。サテライト群は、投与 1～2、7～8、14～15、29～30、35～36、41～42 日、回復 6～7、13～14 日に測定した。

6）尿検査

雄では投与 31 日および回復 11 日に、交尾した雌は、投与 32 日に、サテライト群の雌では投与 32 日および回復 11 日に、動物を代謝ケージに収容し、約 4 時間蓄尿して下表のように検査した。沈渣結晶については、「臨床検査法提要」[3]、「尿沈渣カラーアトラス」[4]、および「尿沈渣」[5]に掲載の図譜と形状を比較して分類した。

項目	測定法	使用機器
色調・混濁度	視診	
沈渣	鏡検	光学顕微鏡
pH・潜血・蛋白・糖・ケトン体	試験紙法	クリニテック 200+（バイエル・三共）
ビリルビン・ウロビリノーゲン	同上	同上
比重	屈折法	屈折計（ユリコン・アタゴ社）

7）性周期

群分け日までの性周期観察に引き続き、群分け後の観察を行わなかったサテライト群を除き、全例について交尾確認日まで、腟スメア標本を作製して観察し、細胞構成から、発情期、発情前期および発情休止期に分類した。これらの分類に基づき、性周期の型を、４日間隔で発情を回帰するものを４日周期、４～５日間隔で発情を回帰するものを４および５日周期に分類し、投与開始後に性周期の型が変化した動物の頻度を群毎に算出するとともに、投与期間中における平均発情回帰日数（個体毎の発情期から次回発情期までの日数の平均）を群毎に算出した。

8）交配

交配は、サテライト群を除く雌と雄との間で、２週間投与後(投与 15 日)の 12 週齢から、交尾を確認するまで、２週間を限度として同群内の雌雄を１：１で連日同居させることによって行った。交尾の確認は、腟スメア中の精子の存在あるいは腟栓を確認することにより行い、いずれかが確認された日を妊娠０日と起算して雄から分離し、個別に飼育した。交配期間終了まで交尾が認められなかった動物も、雌雄を分離し、個別に飼育した。

交配結果から、各群について交尾率〔(交尾動物数／交配動物数) ×100、%〕を求め、子

宮に着床痕の確認された雌動物を妊娠動物として受胎率〔(妊娠動物数／交尾動物数) ×100、%〕を算出した。また、同居開始日から交尾確認日までの日数およびその間に回帰した発情期の回数も求めた。

9）分娩・哺育状態の観察

各群とも、交尾した雌は、全例を自然分娩させて哺育させた。

分娩の確認は、妊娠 21 日から分娩が確認されるまで、妊娠 25 日を限度として毎日行い、11 時までに分娩が完了した例についてその日を哺育 0 日とした。分娩状態を直接観察できた例については、異常の有無を断続的に観察し、直接観察ができなかった例については、分娩前後の一般状態および産児の状態から異常の有無を判断した。

妊娠 25 日相当日までに分娩が確認されない動物は、翌日、後述の剖検の項に示した方法に従って剖検し、子宮に着床痕の認められなかった例を不妊と判定した。

分娩を確認した例については、全例の妊娠期間（妊娠０日～分娩日までの日数）を算定し、出産率〔(生児出産雌数／妊娠動物数) ×100、%〕を各群について求めた。また、哺育１日から毎日、哺育状態を観察し、後述の哺育５日の剖検において数えられた着床数および妊娠黄体数から着床率〔(着床数／妊娠黄体数) ×100、%〕を算出した。

10）F_1 出生児の観察

哺育０日に、雌雄別に産児数（生存児＋死亡児）を調べ、分娩率〔(産児数／着床痕数) ×100、%〕、生児出産率〔(出産生児数／着床痕数) ×100、%〕および出生率〔(出産生児数／産児数) ×100、%〕を算出した。生存児については外表奇形の有無を観察した。翌日（哺育１日）から哺育４日まで、毎日一般状態を観察し、生児数と死亡児数を雌雄別に数え、新生児生存率〔(哺育４日の生児数／哺育０日の生児数) ×100、%〕を算出した。生存児については、哺育０および４日に個別の体重を測定し、腹ごとに雌雄別の平均値を算出するとともに、哺育０および４日における性比〔(哺育０あるいは４日雄生児数／哺育０あるいは４日総生児数) ×100〕を算出した。

11）剖検

雌雄動物は、以下に示す時期に剖検を行った。

対象動物	解剖時期	屠殺前の絶食
雄		
投与終了時剖検例（回復観察に供さない全生存例）	投与 42 日の翌日	18～24 時間絶食（剖検例全例）
回復観察例（対照群および高用量群の動物番号が大きい 5 例）	回復 15 日	18～24 時間絶食（剖検例全例）
雌		
分娩例	哺育 4 日の翌日	18～24 時間絶食（剖検例全例）
交尾したが分娩しなかった例	妊娠 26 日相当日	18～24 時間絶食（剖検例全例）
交尾が確認されなかった例	投与 52 日の翌日	18～24 時間絶食（剖検例全例）
サテライト群	回復 15 日	18～24 時間絶食（剖検例全例）

剖検例全例に対してペントバルビタールナトリウム麻酔を行い、以下に示す動物については、可能な限り対照群から低、中、高用量群の順に各群 1 匹ずつ、動物番号の若い順に選抜して採血を行い、その後放血致死させて剖検し、病理学検査を行った。その他の動物は放血致死させて剖検し、病理学検査を行った。採血は、雄の投与終了時剖検では各群の動物番号が若い５例について、また、回復 15 日における剖検では全例について行い、血液学検査の内、クエン酸ナトリウムを抗凝固剤とした血液凝固時間測定に用いる血液、EDTA-2K を抗凝固剤としたその他の血液学検査に用いる血液、ならびにヘパリンを抗凝固剤とした血液生化学検査に用いる血液の順に腹部後大静脈から採取した。雌の投与終了時剖検では、分娩例のうち、哺育 4 日に投与期間が近接した動物の中で、尿検査を実施したものを優先して各群の動物番号が若い５例について、雄と同様に血液を採取した。サテライト群は全例について、同様に血液を採取した。さらに、これら血液を採取した動物は、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓および副腎、ならびに雄については精巣および精巣上体の重量を測定し、相対重量を算出した。

分娩例の雌は、全例について子宮は着床痕数を数え、着床痕が認められた例については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた。

出生児については、死亡児は発見後速やかに剖検し、0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定して保存した。生存児は、全例を哺育４日にエーテル吸入により致死させ剖検した。

12) 血液学検査

採取した血液の全例について以下に示す項目について検査を行った。なお、採血時に作製した Wright-Giemsa 染色静脈血塗抹標本および Brecher 法による網状赤血球比率計測のための標本は、検査の必要がないと判断されたので使用しなかった。

項目	測定法	使用機器
赤血球数(RBC)	自動（電気抵抗法）	血液自動分析装置 CELL-DYN3500SL（ダイナボット）
白血球数(WBC)	自動（フローサイトメトリー・レーザー光散乱法/電気抵抗法）	同上
白血球分類	同上	同上
血色素量(Hb)	同上（吸光度法）	同上
平均赤血球容積(MCV)	自動（電気抵抗法）	同上
血小板数	同上（電気抵抗法）	同上
ヘマトクリト値(Ht)	計算（RBC×MCV×0.001）	
平均赤血球血色素量(MCH)	計算（Hb×1000/RBC）	
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	計算（Hb×100/Ht）	
プロトロンビン時間(PT)	光散乱検出法	全自動血液凝固測定装置（CA-1000　東亜医用電子）
活性部分トロンボプラスチン時間(APTT)	同上	同上

13) 血液生化学検査

採取した血液の全例から血漿を分離し、それらを用いて以下の項目を検査した。

項目	測定法	使用機器
総蛋白濃度	ビウレット法	生化学自動分析装置　COBAS MIRA plus（ﾛｼｭ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ）
アルブミン濃度	BCG 法	同上
総コレステロール濃度	コレステロールオキシダーゼ・HDAOS 法	同上
グルコース濃度	ヘキソキナーゼ･G-6-PDH 法	同上
尿素窒素濃度	ウレアーゼ・GlDH 法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé 法	同上
アルカリフォスファターゼ(ALP)活性	GSCC 法	同上
ALT (GPT)活性	IFCC 法	同上

続く

続き

項目	測定法	使用機器
AST (GOT)活性	IFCC 法	生化学自動分析装置 COBAS MIRA plus (ﾛｼｭ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ)
γ-ｸﾞﾙﾀﾐﾙﾄﾗﾝｽﾍﾟﾌﾟﾁﾀﾞｰｾﾞ (γ-GTP) 活性	同上	同上
トリグリセライド濃度	GPO･HDAOS (グリセリン消去)法	同上
無機リン濃度	モリブデン酸直接法	同上
総ビリルビン濃度	アゾビリルビン法	同上
カルシウム濃度	OCPC 法	同上
A/G 比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05 (エイアンドティー)
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

14) 病理学検査

(1) 肉眼検査

全例について剖検し、器官・組織の肉眼観察を行った。また、雌雄とも全例について、脳、下垂体、脊髄、心臓、気管、肺 (気管支を含む)、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、甲状腺および上皮小体、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、坐骨神経、大腿骨および骨髄ならびに病変部を採取した。これらに加え、雄では、精巣、精巣上体、前立腺腹葉、凝固腺を含む精嚢を採取した。また、雌では、卵巣、子宮、腟を採取し、子宮については、着床数を数え、分娩した雌の卵巣については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた。これらの器官・組織の採取において、肺 (気管支を含む) は雌雄ともに 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で注入固定してから採取した。また、精巣ならびに精巣上体はブアン液 (長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液を使用) に固定し、その他は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定して保存した。

(2) 病理組織学検査

固定・保存器官のうち、卵巣、精巣および精巣上体は全例について常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って病理組織標本を作製し、病理組織学検

査を実施した。

その他の器官のうち、肝臓および腎臓は、各群の血液学検査および血液生化学検査を実施した各５例について標本を作製し、検査した。これら以外の組織・器官は、雄の投与終了時剖検および雌の分娩例では対照群および高用量群において、血液学検査および血液生化学検査を実施した各５例について標本を作製し、検査したが、骨髄とともに採取した大腿骨は検査の対象から除外した。回復期間終了時に剖検した動物については、固定・保存した器官・組織のうち、卵巣あるいは精巣および精巣上体について標本を作製し、検査した。また、これらの他に、投与終了時剖検において雄の肝臓重量が被験物質投与群において増加の傾向を示し、副腎重量は低下の傾向を示したため、また、腎臓重量は被験物質投与によって変化する可能性が疑われたので、雌雄の肝臓、腎臓および副腎について標本を作製し、検査した。病変部は投与終了時の剖検で雌雄動物から採取した。これらのうち、40 mg/kg 投与群の雄において採取された病変部は、同群のみに認められた孤発例で、被験物質投与との関連性が認められなかったので検査しなかった。その他については、雄では、検査が予定されていた動物の検査予定器官にみられた病変であったこと、雌では200 mg/kg 投与群の動物であったことから標本を作製して検査した。

７．統計解析

神経学的検査結果、性周期の変化した動物の頻度、交尾率、受胎率ならびに出生児の形態異常の出現頻度については Fisher の直接確率検定 [3]を行った（有意水準：5%）。被験物質投与群の病理組織学検査所見のうち、グレード分けしたデータは Mann-Whitney のＵ検定 [4]（有意水準：5%）により、陽性グレードの合計値は Fisher の直接確率の片側検定 [5]（有意水準：5%）により、対照群との間で有意差検定を行った。その他のデータは、個体ごとに得られた値あるいは litter ごとの平均値を１標本とし、サテライト群内あるいはその他の群内で比較した。その際、解析の対象が２群の場合には、まず F 検定を行い、有意差が認められなければ Student's - t 検定を行った。F 検定において有意差が認められた場合は、Aspin-Welch 検定を行った。解析の対象が３群以上の場合は、先ず、Bartlett の方法 [6]により各群の分散の一様性について検定（有意水準：5%）を行った。分散が一様であった場合には、一元配置型の分散分析 [6]（有意水

準：5%）を行い、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett 法[7]により多重比較を行った（有意水準：5%）。一方、いずれかの群で分散が 0 となる場合および分散が一様でなかった場合には、Kruskal-Wallis の順位検定[8]（有意水準：5%）を行い、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett 型[7]の検定法により多重比較を行った（有水準：5%）。

【 結 果 】

Ⅰ．反復投与毒性

1．一般状態（Tables 1～2-2; Appendices 1-1～2-2-2）

1）雄

死亡あるいは瀕死動物はいずれの投与群にも認められなかった。

一般状態については、8 mg/kg 投与群の動物に異常は認められなかった。200 mg/kg 投与群では、投与 15 日（交配開始日）の投与後約５時間に、排泄された尿が白濁しているのを認めた。その翌日の投与 16 日に、単独飼育となった 3 例（動物番号：MX04003 、MX04011、MX04012）について投与後から経時的に観察した結果、白濁は排泄後の時間が経過するのに伴って認められることが明らかになったので、その後は、投与前に白濁の有無を観察することとした。その結果、時間経過による白濁は、200 mg/kg 投与群の全例に、投与終了の翌日（剖検日／回復 1 日）まで観察された。回復の観察に供した動物については、回復 2 日には認められなくなった。回復期間中に新たな所見が認められることもなかった。その他、投与期間中に認められた所見としては、対照群の１例の左上腕部に、投与 15 日から痂皮形成が認められ、投与 21 日には回復したが、その部分に脱毛が認められるようになった。この例の脱毛は投与 39 日まで認められた。また、40 mg/kg 投与群では、１例の右前肢に投与７日から脱毛が認められ、投与 23 日には左前肢にも認められるようになった。さらに、投与 36 日には、右胸部および右鼠頚部にも脱毛が認められ、投与終了時の剖検まで回復しなかった。

2）雌

死亡あるいは瀕死動物は、サテライト群の動物も含めていずれの投与群にも認められなかった。

一般状態については、40 mg/kg 以下の投与群の動物に異常は認められなかった。200 mg/kg 投与群では、投与 15 日（交配開始日）の投与後約５時間に、雄にみられたのと同様に、排泄された尿が白濁しているのを認めた。後述のように、単独飼育を行っていたサテライト群の動物について投与 16 日に雄と同様の観察を行い、その結果に基づき、雌においても、投与前

に白濁の有無を観察することとした。その結果、床敷の入ったケージに収容されていたために確認できなかった妊娠 18 日から哺育 4 日までの期間を除き、時間経過による尿の白濁は、哺育 5 日の剖検日まで観察された。その他の所見はいずれの動物にも認められなかった。

サテライト群においても、排泄された尿が白濁しているのが 200 mg/kg 投与群において投与 15 日から認められた。投与 16 日に、投与後から経時的に観察した結果、白濁は排泄後の時間が経過するのに伴って認められることが明らかになった。投与 17 日からは、雄と同様に、投与前に白濁の有無を観察したが、この所見は、投与終了翌日の回復 1 日まで全例に観察され、その後認められなくなった。その他の変化は、いずれの動物にも認められなかった。

2．詳細な症状観察結果（Tables 3～4-2; Appendices 3-1-1～4-2-2-3）

サテライト群を含めて雌雄ともに、いずれの時期においても対照群と BPD 投与群との間で各観察項目のスコアに有意差は認められなかった。

3．神経学的検査結果（Tables 5-1～5-2; Appendices 5-1-1～5-2-2）

サテライト群を含めて、雌雄ともに、いずれの投与群においても検査結果に異常は認められなかった。回復 14 日における検査においても異常は認められなかった。

4．体重

1）雄（Figure 1; Tables 6～8; Appendices 6-1～8-4）

いずれの時期においても体重、増加量および累積増加量に対照群と BPD 投与群との間で有意差は認められなかった。

2）雌（Figure 2; Tables 9-1～11-2; Appendices 9-1-1～11-2-2）

いずれの時期においても体重および累積増加量には、対照群と BPD 各投与群との間で有意差を認めなかった。増加量は、8 mg/kg および 200 mg/kg 投与群において、妊娠 0～7 日の値が対照群と比較して有意（$p<0.05$）な低値を示した他に、交配に供した動物では対照群との間

に差を認めなかった。

サテライト群では、200 mg/kg 投与群の投与 35～42 日および回復 1～7 日の増加量が対照群と比較して有意（p<0.05）な低値を示したが、体重および累積増加量には対照群との間で有意差を認めなかった。

5．摂餌量

1）雄（Figure 3; Table 12; Appendices 12-1～12-4）

いずれの時期も対照群と BPD 投与群との間で有意差は認められなかった。

2）雌（Figure 4; Tables 13-1～2; Appendices 13-1-1～13-2-2）

サテライト群を含めて、対照群との間に有意差が認められたのは、200 mg/kg 投与群における妊娠 0～1 日の値のみであった（p<0.05）。

6．尿検査成績

1）雄（Table 14; Appendices 14-1～14-4）

投与 31 日における検査では、沈渣結晶が全例に観察されたが、BPD 投与群ではそれが増加しているものが認められ、200 mg/kg 投与群では 10 例全例に増加が認められた。観察された結晶の形状は、リン酸様を呈するものとシュウ酸カルシウム様を呈するものがあったが、リン酸様結晶は、200 mg/kg 投与群の２例を除き、全例の動物に観察された。一方、シュウ酸カルシウム様の結晶は、200 mg/kg 投与群の 8 例に観察され、40 mg/kg 以下の投与群には認められなかった。また、対照群および 8 mg/kg 投与群には認められていない尿の混濁が 40 mg/kg 投与群では、５例中１例に認められ、200 mg/kg 投与群では、10 例全例に認められ、その程度も BPD の用量に依存して亢進していた。その他の項目は対照群と同様であった。

回復 11 日の検査では、200 mg/kg 投与群の動物の尿に混濁および沈渣結晶の増加は認められず、リン酸様結晶のみが沈渣結晶として観察された。また、その他の検査項目も対照群と同様であった。

2）雌（Tables 15-1～15-2; Appendices 15-1-1～15-2-2）

交配に供した雌では、投与 32 日における検査では、ほぼ全例に沈渣結晶が観察されたが、BPD 投与群ではそれが増加しているものが認められ、200 mg/kg 投与群では７例全例に増加が認められた。観察された結晶の形状は雄と同様であったが、シュウ酸カルシウム様の結晶は、40 mg/kg 投与群の７例中１例および 200 mg/kg 投与群の 6 例に観察され、8 mg/kg 以下の投与群には認められなかった。また、対照群および 8 mg/kg 投与群には認められていない尿の混濁が 40 mg/kg 投与群では７例中２例に、200 mg/kg 投与群では７例中 6 例に認められ、雄と同様に、その程度は BPD の用量に依存して亢進していた。さらに雌では、40 mg/kg 以上の投与群において比重が対照群と比較して有意（$p<0.05$、$p<0.01$）な低値を示した。その他の検査項目は対照群と同様であった。

サテライト群における投与 32 日の検査でも、200 mg/kg 投与群において尿沈渣結晶の増加が 5 例中 4 例に認められ、これらには軽度ないし中程度の混濁も認められた。観察された沈渣結晶は、対照群ではリン酸様結晶のみであったが、200 mg/kg 投与群ではシュウ酸カルシウム様の結晶が、混濁の認められた４例に観察された。比重については対照群との間で有意差は認めなかったが、低値の傾向が認められた。その他の検査項目は対照群と同様であった。回復 11 日における検査では、混濁の認められる例はなく、その他の検査項目も対照群と同様であった。また、観察された沈渣結晶はリン酸様の形状を呈するもののみであった。

７．解剖時検査所見

１）血液学検査所見

(1) 雄(Table 16; Appendices 16-1～16-4)

投与期間終了時剖検では、8 および 200 mg/kg 投与群において、対照群と有意差の認められる検査項目はなかった。40 mg/kg 投与群では、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量がそれぞれ対照群と比較して有意（$p<0.05$）に低い値を示した。

回復 15 日における剖検では、200 mg/kg 投与群における白血球数が有意（$p<0.05$）に低い値を示した他に、対照群との間で有意差の認められる項目はなかった。

(2) 雌(Tables 17-1～17-2; Appendices 17-1-1～17-2-2)

投与期間終了時剖検では、対照群と BPD 投与群との間で有意差の認められる項目はなかった。サテライト群においても回復 15 日の剖検で対照群と 200 mg/kg 投与群との間で有意差の認められる項目はなかった。

2）血液生化学検査所見

(1) 雄(Table 18; Appendices 18-1～18-4)

投与期間終了時剖検では、40 mg/kg 以下の投与群において対照群との間に有意差の認められる検査項目はなかった。200 mg/kg 投与群では、ナトリウム濃度が有意（$p<0.05$）な低値を示した他に対照群との間に有意差を認めなかった。回復期間終了時剖検では、対照群と 200 mg/kg 投与群との間で有意差の認められる項目はなかった。

(2) 雌(Tables 19-1～19-2; Appendices 19-1-1～19-2-2)

投与期間終了時剖検では、対照群と BPD 投与群との間で有意差の認められる項目はなかった。回復 15 日のサテライト群における剖検では、AST（GOT）活性が対照群と比較して有意（$p<0.05$）な低値を示した他に対照群と 200 mg/kg 投与群との間で有意差の認められる項目はなかった。

3）器官重量

(1) 雄(Table 20; Appendices 20-1～20-4)

投与期間終了時剖検では、40 mg/kg 以下の投与群において、対照群と比較して重量あるいは相対重量に有意差が認められる器官はなかった。200 mg/kg 投与群では、対照群と比較して肝臓の相対重量が有意（$p<0.05$）な高値を示し、副腎重量が有意（$p<0.05$）な低値を示した。その他の器官については重量および相対重量ともに対照群との間に有意差は認められなかった。回復 15 日の剖検では、重量あるいは相対重量に対照群と 200 mg/kg 投与群との間で有意差の認められる器官はなかった。

(2) 雌(Tables 21-1～21-2; Appendices 21-1-1～21-2-2)

投与期間終了時剖検では、いずれの投与群においても対照群と比較して重量あるいは相対重量に有意差が認められる器官はなかった。

サテライト群の回復 15 日における剖検においても、重量あるいは相対重量に対照群と 200 mg/kg 投与群との間で有意差の認められる器官はなかった。

4）剖検所見

(1) 雄(Table 22; Appendix 22)

投与終了時剖検では、対照群および 8 mg/kg 投与群の動物に異常は認められなかった。40 mg/kg 投与群では、1 例に局所的な脱毛が観察された。200 mg/kg 投与群では、2 例に肝臓の暗色調および腫大が認められた。回復 15 日の剖検では異常を認める例はなかった。

(2) 雌(Tables 23-1～23-2; Appendices 23-1～23-2)

投与終了時剖検では、対照群および 40 mg/kg 以下の投与群の動物に異常は認められなかった。200 mg/kg 投与群では、分娩した 1 例の両側腎臓に腎盂の拡張が観察された。また、全出生児が死亡した 1 例には、脾臓および胸腺の小型化が観察された。

回復 15 日におけるサテライト群の剖検では異常を認める例はなかった。

5）病理組織学検査所見

(1) 雄(Table 24; Appendix 24)

投与終了時剖検において、各群 5 例について検査した副腎、ならびに対照群と 200 mg/kg 投与群の各 5 例について検査した脳、脊髄、下垂体、心臓、気管、上皮小体、胸腺、下顎リンパ節、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、坐骨神経、膀胱、凝固腺を含む精嚢および大腿骨骨髄については、異常所見は認められなかった。投与終了時あるいは回復 15 日における剖検で異常の認められた器官と所見は以下のとおりである。

(精巣)

限局性の精細管萎縮が、投与終了時剖検では対照群を含む各群に、また、回復 15 日剖検で

は 200 mg/kg 投与群に1例ずつ認められたが、対照群と BPD 投与群との間に有意差は認められなかった。

（精巣上体）

投与終了時剖検において、40 mg/kg 投与群の1例の片側尾部に精子肉芽腫が認められた他に、異常は認められなかった。回復 15 日の剖検では異常を認める例はなかった。

（前立腺腹葉）

投与終了時剖検において、対照群および 200 mg/kg 投与群に上皮あるいは間質へのリンパ球および好中球の浸潤が認められたが、両群間で有意差は認められなかった。

回復 15 日の検査は実施しなかった。

（肝臓）

投与終了時剖検において、各群の5例ずつを検査した結果、200 mg/kg 投与群において小葉中心性肝細胞肥大が2例に認められ、門脈周囲性の脂肪化が対照群と比較して有意（$p<0.01$）に減弱していた。その他、小肉芽腫が対照群を含む各群の動物に観察されたが、対照群と BPD 各投与群との間に有意差は認められなかった。

回復 15 日における剖検では、門脈周囲性の脂肪化は対照群と 200 mg/kg 投与群との間で同程度に認められ、有意差はなかった。また、小肉芽腫が両群に1例ずつ観察された。

（腎臓）

投与終了時剖検では、好酸性小体および好塩基性尿細管が対照群を含む各投与群に認められたが、対照群と BPD 各投与群との間に有意差は認められなかった。これらの他に、鉱質沈着が対照群および 40 mg/kg 投与群に、皮髄境界部における限局性の嚢胞形成が 8 mg/kg 投与群に、また、リンパ球の間質への浸潤が 8 mg/kg 投与群を除く各群に認められたが、これらの所見に対照群と BPD 投与群との間で有意差は認められなかった。

回復 15 日の剖検においても、好酸性小体、好塩基性尿細管およびリンパ球の間質への浸潤が対照群および 200 mg/kg 投与群に認められたが、両群間で有意差は認められなかった。

（肺および気管支）

投与終了時剖検において対照群および 200 mg/kg 投与群の各5例について観察した結果、

肺胞への泡沫細胞の集簇が両群に認められ、動脈壁への鉱質沈着および肺胞域に限局性の骨化生が 200 mg/kg 投与群に認められたが、これらの所見に両群間で有意差は認められなかった。回復 15 日の剖検では検査しなかった。

（甲状腺）

投与終了時剖検において対照群および 200 mg/kg 投与群の各５例について観察した結果、異所性の胸腺組織が 200 mg/kg 投与群に認められたが、両群間で有意差は認められなかった。回復 15 日の剖検では検査しなかった。

（脾臓）

投与終了時剖検において対照群および 200 mg/kg 投与群の各５例について観察した結果、両群の全例に髄外造血および褐色色素の沈着が認められたが、これらの所見の程度および頻度に両群間で有意差は認められなかった。回復 15 日の剖検では検査しなかった。

(2) 雌(Tables 25-1～25-2; Appendices 25-1～25-2)

投与終了時剖検において、全例について検査した卵巣、各群の５例について検査した副腎、ならびに対照群と 200mg/kg 投与群の各５例について検査した脳、脊髄、下垂体、心臓、気管、甲状腺、上皮小体、胸腺、下顎リンパ節、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、坐骨神経、膀胱、子宮、膣および大腿骨骨髄については、異常所見は認められなかった。回復 15 日に剖検したサテライト群では、卵巣および副腎に所見は認められなかった。

以下に、投与終了時剖検あるいはサテライト群で認められた所見を示す。

（肝臓）

投与終了時剖検では、対照群を含む各群に門脈周囲の脂肪化が、また、小肉芽腫が 40 mg/kg 以下の投与群に観察された。これらの他に、髄外造血が 8 および 200 mg/kg 投与群に観察された。これらの所見には対照群と BPD 各投与群の間で有意差は認められなかった。

サテライト群においても門脈周囲の脂肪化および小肉芽腫が対照群および 200 mg/kg 投与群で観察されたが、両群の間で有意差は認められなかった。

（腎臓）

投与終了時剖検では、対照群を含む各群に、皮質の好塩基性尿細管および鉱質沈着が認められ、間質へのリンパ球浸潤は 40 mg/kg 投与群に、遠位尿細管腔のび慢性の拡張が 8 mg/kg 投与群に認められた。これらの所見には対照群と BPD 各投与群の間で有意差は認められなかった。

サテライト群では皮質の好塩基性尿細管が対照群に、また、鉱質沈着が 200 mg/kg 投与群に認められたが、これらの所見に両群の間で有意差は認められなかった。

（肺および気管支）

投与終了時剖検において対照群および 200 mg/kg 投与群の各 5 例について検査した結果、両群に肺胞域の泡沫細胞の限局性集簇および肺胞に限局性の骨化生が認められた。また、200 mg/kg 投与群では動脈壁に鉱質沈着が観察された。これらの所見には両群間で有意差は認められなかった。

（脾臓）

投与終了時剖検において対照群および 200 mg/kg 投与群の各 5 例について検査した結果、両群の全例に髄外造血および褐色色素の沈着が観察されたが、これらの所見に両群間で有意差は認められなかった。

（病変部）

投与終了時剖検において両側に腎盂拡張の認められた 200 mg/kg 投与群の 1 例の腎臓には、組織標本においても腎盂拡張が認められた。また、この例の皮質には好塩基性尿細管が認められ、乳頭部には集合管上皮の変性、好中球浸潤および好塩基性尿細管が観察された。投与終了時剖検において小型化の認められた 200 mg/kg 投与群の 1 例の胸腺には萎縮が認められた。同じ例において小型化の認められた脾臓については、髄外造血および褐色色素の沈着の他に、赤脾髄領域の軽度な縮小が観察された。

Ⅱ.生殖発生毒性

1．性周期（Table 26; Appendices 26-1～26-4）

投与開始後に性周期の型が変化した動物は、8 mg/kg 投与群に1例認められたのみで、平均発情回帰日数には対照群と BPD 投与群との間で有意差は認められなかった。

2．交配成績（Tables 26、27; Appendices 26-1～27-4）

対照群および 8 mg/kg 投与群の各1組が交尾しなかったが、交尾率に対照群と BPD 投与群との間で有意差は認められなかった。また、交配期間中に回帰した発情の回数および交尾までの同居日数にも対照群と BPD 各投与群との間で有意差は認められなかった。

不妊動物は 40 mg/kg に 2 例認められたのみで、その他の投与群では交尾した全例が妊娠し、受胎率に対照群と BPD 投与群との間で有意差は認められなかった。

3．分娩および哺育所見（Tables 28; Appendices 28-1～28-4）

妊娠動物の全例が生児を出産した。分娩の直接観察が可能であったのは、対照群の 11 例中 3 例、8 mg/kg 投与群の 11 例中 2 例、40 mg/kg 投与群の 10 例中 1 例および 200 mg/kg 投与群の 12 例中 4 例であった。これら分娩を直接観察した例には分娩状態の異常は認められなかった。一方、直接観察できなかった例のうち 200 mg/kg 投与群の1例（動物番号：FB04012）は、母動物の全身状態に異常は観察されなかったが、5 匹の生存児を含む 18 匹の産児がケージ内に散乱し、分娩状態が不良と判断された。本例の出生児は、翌日までに全例が死亡していた。その他の動物に分娩状態の異常は認められず、哺育状態の異常を認める例もなかった。

4．黄体数および着床数（Table 28; Appendices 28-1～28-4）

黄体数は通常の値であるが、着床数が5と少ないために着床率が低くなった動物が 8 mg/kg 投与群に1例（動物番号：FB02003）認められたが、その他の例の黄体数、着床数および着床率に異常は認められず、BPD の用量に依存した変化あるいは対照群との間における有意差も認められなかった。

5．出生児所見

1）一般状態および生存性（Table 28; Appendices 28-1～28-4）

いずれの投与群の動物も行動を含む一般状態に異常は認められなかった(表に示さず)。

全出生児が死亡した 200 mg/kg 投与群の1例以外に産児の死亡率が高かった例は、いずれの投与群にもなく、産児数、分娩率、生存産児数、生児出産率、出生率、新生児生存率のいずれにも対照群と BPD 各投与群との間で有意差は認められなかった。また、哺育0日および哺育4日における性比にも対照群と BPD 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2）体重（Table 29; Appendices 29-1～29-4）

全出生児が死亡した 200 mg/kg 投与群の生存産児は、雌雄ともに哺育 0 日における全例の体重がやや低かった。一方、着床数が少なかった 8 mg/kg 投与の1例の生存産児は、哺育 0 日における全例の体重がやや高値を示した。しかし、生存児の体重に BPD の用量に依存した変化は雌雄ともに認められず、BPD 各投与群と対照群との間で有意差も認められなかった。

3）形態観察所見（Table 30）

生存産児の形態観察では、哺育1日までに全例が死亡した 200 mg/kg 投与群の例も含めて異常は観察されなかった。また、死亡児の剖検ならびに哺育 4 日の剖検のいずれにおいても異常は認められなかった。

【 考 察 】

1．反復投与毒性

雌雄ともに、200 mg/kg までの BPD を反復経口投与しても死亡あるいは瀕死に至ることはなく、詳細な症状観察および神経学的検査において検知されるような神経行動学的異常も示さなかった。また、投与中止後２週間に亘る観察期間中に遅発性の影響を認めることもなかった。一方、200 mg/kg 投与により、雌雄動物から排泄された尿が時間の経過に伴って白濁してくるのが認められた。これらの変化は投与を休止すると認められなくなることから、BPD 投与による影響であると考えられる。尿の白濁は排泄後の時間経過に伴い認められたが、後述のように、一般状態の観察では白濁を認めなかった40 mg/kg 投与群の雌雄にも、尿検査では混濁が認められたことから、BPD 投与によって尿に排泄された物質が、時間経過により析出して白濁尿として観察されたものと考えられる。

排泄された尿の変化の他に、一般状態の変化として、雄に、痂皮形成／脱毛が認められたが、いずれも40 mg/kg 以下の投与群に認められた変化であることから、BPD 投与の影響ではないと考えられる。

雄では、体重増加および摂餌量に BPD 投与の影響は認められなかった。雌では、交尾した動物の妊娠0～7日における軽度な体重増加量抑制が、8および200 mg/kg 投与群において認められた。200 mg/kg 投与群では、妊娠0～1日における摂餌量も僅かであるが対照群との間で有意差が認められた。また、この時期における8 mg/kg 投与群の摂餌量も低値の傾向を示していたことから、両投与群では、摂餌量の軽度な低下を伴う妊娠初期における体重増加抑制があったものと考えられる。しかし、40 mg/kg 投与群には摂餌量および体重増加のいずれにも抑制は認められず、また、体重増加および摂餌量の抑制には明瞭な用量依存の関係も認められなかった。体重増加抑制は、200 mg/kg を投与したサテライト群においても認められたが、摂餌量は対照群と同様であった。また、体重増加抑制は、交尾した動物では投与期間の中期に認められたのに対し、サテライト群では投与末期から回復期に認められ、交尾した動物とサテライト群の動物との間で体重増加抑制の時期と投与回数との間に関連性は認められなかった。これらのことから、雌動物に認められた体重増加および摂餌量の抑制は偶発的変化であ

る可能性が高いと判断された。

前述のように、200 mg/kg 投与群では、雌雄の尿が排泄後の時間経過に伴って白濁してくるのが認められた。投与31あるいは32日に実施した尿検査では、混濁や沈渣結晶の増加が認められている。観察された沈渣結晶を形状から分類すると、リン酸様結晶が対照群を含む全ての投与群の動物に観察されたのに対し、シュウ酸カルシウム様結晶は40 mg/kg 投与群の雌および200 mg/kg 投与群の雌雄に観察された。シュウ酸カルシウム結晶は、食餌中に含まれているシュウ酸塩や、生体内におけるグリシンの分解によって生じたシュウ酸など、食餌由来や生理的な過程で生成されたシュウ酸に由来して形成されるが[5]、エチレングリコール中毒など外来性化学物質による曝露でもこれが尿沈渣に増加することが知られている[12]。本試験において、シュウ酸カルシウム様結晶は、特に200 mg/kg 投与群の雌雄に高頻度に認められ、同じ動物を対象とした回復11日における検査では認められなかったことから、尿沈渣へのシュウ酸カルシウム様結晶の出現は、BPD 投与による影響であると考えられる。

シュウ酸カルシウム様の沈渣結晶は、40 mg/kg 投与群の雄には認められなかった。しかし、40 mg/kg 投与群では、200 mg/kg 投与群の動物で顕著に認められた尿の混濁が、雄では５例中１例に、また、雌では７例中２例に認められた。40 mg/kg 投与群の尿にみられた混濁は、200 mg/kg 投与群と比べて軽度ではあったが、8 mg/kg 以下の投与群には認められていないこと、回復11日における検査では認められなかったこと、ならびに、40 mg/kg 投与群において混濁の認められた雌の２例中１例にはシュウ酸カルシウム様沈渣結晶の増加も認められていることから、BPD 投与による影響であると考えられる。

尿の沈渣結晶として、リン酸様結晶の増加も認められた。リン酸結晶は、ラットの尿沈渣に一般的に観察される結晶で、本試験においても対照群を含むほぼ全例に観察された。対照群では沈渣結晶の増加は雌雄ともに認められなかったが、BPD 各投与群では沈渣結晶の増加する例があり、そのうち、8 mg/kg 投与群の雌雄および40 mg/kg 投与群の雄の例では、リン酸様結晶だけが観察された。前述のように BPD 投与によってシュウ酸カルシウム様結晶が出現してくるが、その前段階として、生理的に存在する沈渣結晶が増加してくる可能性も考えられる。しかし、シュウ酸カルシウム様の沈渣結晶が１例に観察された40 mg/kg 投与群の雌で

は、この例以外に沈渣結晶の増加する例は認められなかった。また、尿沈渣にシュウ酸カルシウムを増加させるエチレングリコールを、Fisher 344ラットに2年間混餌投与した試験[13]でも、三リン酸塩の増加とエチレングリコールの投与量あるいは投与期間との関連性は認められていない。さらに、本試験と同様の条件下で、同系統のラットを飼育すると、本試験でみられたのと近傍の週齢（18週齢）に沈渣結晶が増加してくるものが認められている[14]。従って、リン酸様結晶を主体とする沈渣結晶は、自然発生により増加したものと判断された。

雌において尿比重の有意な低下が40 mg/kg 以上の投与群に認められた。サテライト群の雌でも、対照群との間に有意差は認められなかったが、200 mg/kg 投与により尿比重が低下する傾向が認められ、BPD 投与による影響であると考えられる。尿比重の低下は尿量の増加を伴うことが多いが、本試験では、新鮮尿を検査したため、尿量に及ぼす影響は明らかではない。しかし、一般状態の観察で認められるような尿量の増加は認められず、比重の低下も僅かであった。さらに、投与終了時の剖検では、腎臓重量あるいは腎臓の病理組織学所見に BPD 投与の影響は認められず、血液生化学検査成績にも腎機能の異常を示唆する変化は認められなかったことから軽度な影響であると考えられる。雌における尿検査と近接した投与時期に尿検査を実施した雄に尿比重の変化は認められなかった。予備試験では、1000 mg/kg 投与により雄の腎臓に明瞭な毒性変化が認められたが、本試験では、腎臓重量あるいは腎臓の病理組織学所見に BPD 投与の影響は認められなかった。さらに、血液生化学検査の成績にも腎臓機能の異常を示唆する変化は認められず、混濁やシュウ酸カルシウム様沈渣結晶の出現といった尿の性状変化が、40 mg/kg 以上の投与群で認められたのみであった。

雄の投与終了時における血液学検査では、40 mg/kg 投与群において平均赤血球容積および平均赤血球血色素量がやや低下したが、軽度であり、用量に依存した変化ではなかったことから、これらは偶発的変化であると考えられる。また、回復期間終了時における血液学検査では、対照群と200 mg/kg 投与群との間で白血球数に有意差が認められたが、200 mg/kg 投与群における値は、投与終了時における対照群の値と類似した正常な値であることから、偶発的な差であると考えられる。

雄の投与終了時における血液生化学検査において200 mg/kg 投与群におけるナトリウム濃度

が僅かに低下した。しかし、ナトリウム濃度以外に変化の認められた項目はなく、また、個体毎に比較しても、カリウム濃度を含めて関連して変動した検査項目は認められなかった。さらに、尿比重の低下が認められている雌でも血漿ナトリウム濃度を含めて血液生化学の各検査項目に投与の影響は認められなかったことから、200 mg/kg 投与群の雄における血漿ナトリウム濃度の僅かな低下は偶発的変化である可能性が高い。

雌の投与終了時における血液学検査および血液生化学検査では、いずれの項目についてもBPD 投与の影響は認められなかった。サテライト群は、回復15日にこれらの検査を行ったが、200 mg/kg 投与群において、AST(GOT)活性が対照群と比較して有意な低値を示した。しかし、逸脱酵素の活性が低下したことは、BPD 投与の影響を示唆するものではなく、むしろ対照群における活性がやや高かったことによるものと考えられる。従って BPD は、回復15日における血液生化学検査の成績にも影響は及ぼさないと考えられる。

雌雄ともに、上記以外に、尿検査、血液学検査ならびに血液生化学検査において、BPD 投与との関連性を考慮すべき項目はなかった。

投与終了時に測定した雄の器官重量は、200 mg/kg 投与群において肝臓の相対重量が増加し、副腎重量が低下した。いずれも軽度な変化であったが、肝臓の剖検所見として、腫大あるいは暗色調の認められる例もあり、さらに病理組織学検査では対照群の肝臓には認められなかった小葉中心性肝細胞肥大を認める例もあった。回復期間終了時の剖検ではこうした変化が認められなかったことから、BPD の反復投与が雄の肝臓に形態学的変化をもたらすことにより、相対重量を増加させたものと考えられる。雌の肝臓にはこれらの変化は認められていないことから、BPD が肝臓に及ぼす影響には性差の存在する可能性が示唆された。これらの他に、200 mg/kg 投与群の雄の肝臓には門脈周囲性の脂肪化の程度の減弱も認められた。一方、副腎の病理組織学検査では異常所見はいずれの動物にも認められず、副腎皮質ホルモンの影響を受けやすい胸腺重量にも、BPD 投与の影響は認められなかった。さらに、1000 mg/kg を反復投与した BPD の予備試験では、副腎重量はむしろ増加していたことから、200 mg/kg 投与群の雄における副腎重量の低下は偶発的な変化である可能性が高い。

雌の器官重量には BPD 投与の影響は認められなかった。

BPD の予備試験において腎臓に変化が認められたことから、本試験では、雌雄ともに全ての投与群において病理組織学検査を行った。しかし、いずれの所見も対照群と BPD 投与群との間で差は認められず、また、用量に依存した変化の認められた所見あるいは投与終了時と回復15日との間で明瞭な変化の認められた所見もなかった。これらのことから、200 mg/kg までの BPD は腎臓の形態に明瞭な影響は及ぼさないと考えられた。

200 mg/kg 投与群において哺育１日までに全出生児が死亡した１例に、脾臓および胸腺の小型化が観察され、病理組織学検査でもこれらの組織に所見が認められたが、投与終了時の剖検例に類似した所見は認められなかった。また、上記の雄における肝臓の所見以外はいずれも対照群と BPD 投与群との間で差は認められず、BPD 投与の影響によるものではないと考えられる。

以上のように、BPD の反復投与の結果、40 mg/kg 以上の BPD は雌雄の尿を混濁させ、雌では40 mg/kg 以上の投与量により尿沈渣にシュウ酸カルシウム様結晶を出現させ、尿比重を低下させることが認められた。また、雄では200 mg/kg 投与により尿沈渣にシュウ酸カルシウム様結晶を出現させ、これら尿の変化により、一般状態の観察において200 mg/kg 投与により雌雄動物の尿が、排泄後の時間経過に伴い白濁するのが認められた。さらに、200 mg/kg の BPD は雄に対してのみ組織学的変化を伴う肝臓重量の増加を招来するが、いずれも投与の中止によって回復することが明らかになった。

２．生殖発生毒性

200 mg/kg 投与を受けても性周期の変化した動物はなく、全例が交尾して妊娠したことから、200 mg/kg までの BPD 投与は性周期および交配のいずれにも影響を及ぼさないと考えられる。

妊娠期間はいずれも正常で、BPD 投与は妊娠期間に影響を及ぼさないと考えられるが、200 mg/kg 投与群において 12 例中１例の母動物に全出生児の死亡が認められた。この例では、生死にかかわらず産児はケージ内に散乱し、生存児には腹部にミルクスポットが認められず、また、体重も他の腹の生存児と比べて低かったが、形態異常は観察されなかったことから、分娩における母性行動の欠如があったものと判断された。市販の繁殖用飼料の供与を受けて

いる SD 系妊娠ラットに比較的大量のコーン油を毎日経口投与すると、腎臓の尿細管上皮が障害され、分娩の翌日までに母動物の全身状態が悪化して出生児の生存率が低下することが報告されている [15]。200 mg/kg の BPD は尿沈渣にシュウ酸カルシウム様結晶を増加させ、尿比重を軽度に低下させる量であることから、腎臓に対する BPD の負荷と分娩の異常との関連性が示唆されるが、本例の分娩前後における全身状態に異常は観察されなかった。また、本例以外に、全出生児の死亡を認める例もなく、分娩時における生存率が著しく低下した例もなかったことから、BPD の腎臓に対する負荷と全出生児死亡との関連性は乏しいと考えられる。母動物の全身状態の他に、母性行動には、神経内分泌学的な要因も大きく影響する。BPD は、エストロジェン受容体と結合親和性を有し [16, 17]、去勢雌ラットの子宮重量を増加させる活性も有している [17]。分娩直前のラットでは、後分娩排卵に向けて卵巣にグラーフ卵胞が形成され、エストロジェンが盛んに分泌されているが、本試験において投与した BPD が、内因性のエストロジェンを凌駕するだけのエストロジェン活性を有していると仮定すると、BPD が母性行動に関わる神経内分泌に影響を及ぼした可能性も考えられる。しかし、エストロジェンは、ラットに対して、直接的にも、また、母性行動を促進するプロラクチンの下垂体前葉からの分泌を亢進させることによって間接的にも、母性行動を促進すると考えられている [18]。従って、BPD が有すると報告されているエストロジェン活性が、分娩時の母性行動に関わる神経内分泌に悪影響を及ぼして分娩時の母性行動を欠如させた可能性は乏しいと考えられる。本試験では、母性行動の欠如によると考えられる全出生児の死亡が高用量群の 1 例に観察されたが、本試験と同一の試験ガイドライン下で実施した試験 [19]の媒体（注射用水）投与群にも母性行動の欠如による全出生児の死亡が 1 例に認められている。この例も本例と同様に、分娩前後における母動物の全身状態にも、出生児にも異常は認められていないことから、本例における分娩時の母性行動の欠如も被験物質投与とは関連しない変化であると判断された。哺育状態についても、異常の認められた例はなく、また、本例以外に全出生児が死亡した例もなかったことから、200 mg/kg までの BPD は分娩および哺育状態に影響は及ぼさないと考えられる。

黄体数、着床数、着床率、産児数、分娩率、生存児数、生児出産率、出生率、新生児生存

率のいずれについても対照群と BPD 各投与群との間で差は認められず、着床前から出生後の哺育 4 日に到るまでの生存に 200 mg/kg までの BPD は影響を及ぼさないと考えられる。また、性比にも影響は認められなかった。

出生児の成長についても、哺育 0 および 4 日の体重に対照群と BPD 各投与群との間に差は認められず、BPD 投与の影響は認められなかった。さらに、生存児あるいは死亡児のいずれにおいても形態異常を示す出生児は認められなかったことから、200 mg/kg までの BPD は出生児の形態に影響を及ぼさないと考えられる。

3．無作用量

以上の試験成績から、本試験条件下では、4,4'-ビフェニルジオールの無作用量は、反復投与毒性に関しては、雌雄いずれにおいても 40 mg/kg/day 以上の投与群で尿の混濁が認められたことから、雌雄ともに 8 mg/kg/day であると結論される。生殖発生毒性に関しては、200 mg/kg/day を投与しても雌雄ともに影響が認められなかったことから 200 mg/kg/day であると結論される。出生児に関しても、投与の影響が認められなかったことから 200 mg/kg/day であると結論される。また、雌雄動物に認められた被験物質投与に起因すると考えられる変化は、投与の中止後２週間までに回復し、その間、遅発性の変化は認められないと結論される。

【 文 献 】

1) National Technical Information Service: OTS0534530, Springfield, VA, U.S.A.

2) Ciranni, R., Barale, R., Marrazzini, A., Loprieno, N.: Benzene and genotoxicity of its metabolites, 1. Transplacental activity in mouse fetuses and in their dams. Mutation Res., 208: 61-67 (1988).

3) 金井　泉：臨床検査法提要（金井正光　編集）改訂29版、金原出版、東京（1983）.

4) 藤森　勲、小沢亨史、佐藤和文、小林　寛、神谷一成、片瀬史朗：尿沈渣カラーアトラス（岡本一也　監修)、近代出版、東京（1992）.

5) 長浜大輔：尿沈渣第4版、文光堂、東京（1993）.

6) 吉村　功：毒性・薬効データの統計解析（吉村　功編)、サイエンティスト社、東京 (1977).

7) 丹後俊郎：医学への統計学（古川俊之　監修)、朝倉書店、東京（1985).

8) 石居　進：生物統計学入門、培風館、東京（1992).

9) 佐久間昭：薬効評価ー計画と解析、東京大学出版会、東京（1977).

10) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics, 20: 482-491 (1964).

11) Kruskal, W. H., Wallis, W. A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis. J. Amer. Statist. Assoc., 47: 583-621 (1952).

12) Bruckner, J., Warren, D. A.: Toxic effects of solvents and vapors. in "Casarett and Doull's Toxicology, 6th ed.", Klaassen, C. D. ed., McGraw-Hill, New York (2001) pp.869-916.

13) DePass, L. R., Garman, R. H., Woodside, M. D., Giddens, W. E., Maronpot, R. R., Weil, C. S.: Chronic toxicity and oncogenicity studies of ethylene glycol in rats and mice. Fund. Appl. Toxicol., 7: 547-565 (1986).

14) Tanaka, A., Azegami, Z., Kojima, K., Imai, K.: Response to commercial low protein diet. in "Biological Reference Data on Crj:CD(SD)IGS Rats -1998",

Matsuzawa, T. and Inoue, H. eds., CD(SD)IGS Study Group, Yokohama (1998) pp. 19-30.

15) Sato, M., Wada, K., Marumo, H., Nagao, T., Imai, K., Ono, H.: Influence of corn oil and diet on reproduction and the kidney in female Sprague-Dawley rats. Toxicol. Sci., 56: 156-164 (2000).

16) Paris, F., Balaguer, P., Terouanne, B., Servant, N., Lacoste, C., Cravedi, J. P., Nicolas, J. C., Sultan, C.: Phenylphenols, biphenols, bisphenol-A and 4-tert-octylphenol exhibit alpha and beta estrogen activities and antiandrogen activity in reporter cell line. Mol. Cell. Endocrinol., 193: 43-49 (2002).

17) Yamasaki, K., Imatanaka, N., Yakabe, Y.: Comparative study of the uterotrophic potency of 14 chemicals in a uterotrophic assay and their receptor-binding affinity. Toxicol. Lett., 146: 111-120 (2004).

18) Numan, M.: Maternal behavior, in "Physiology of Reproduction, 2nd ed., vol. 1", Knobil, E. and Neil, J.D. eds., Raven Press, New York (1994) pp. 221-302.

19) 代田眞理子ら：臭化リチウムのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験:化学物質毒性試験報告 vol. 10 (厚生労働省医薬局審査課化学物質安全対策室　監修)、化学物質点検推進連絡協議会、東京、pp. 329-346 (2003).

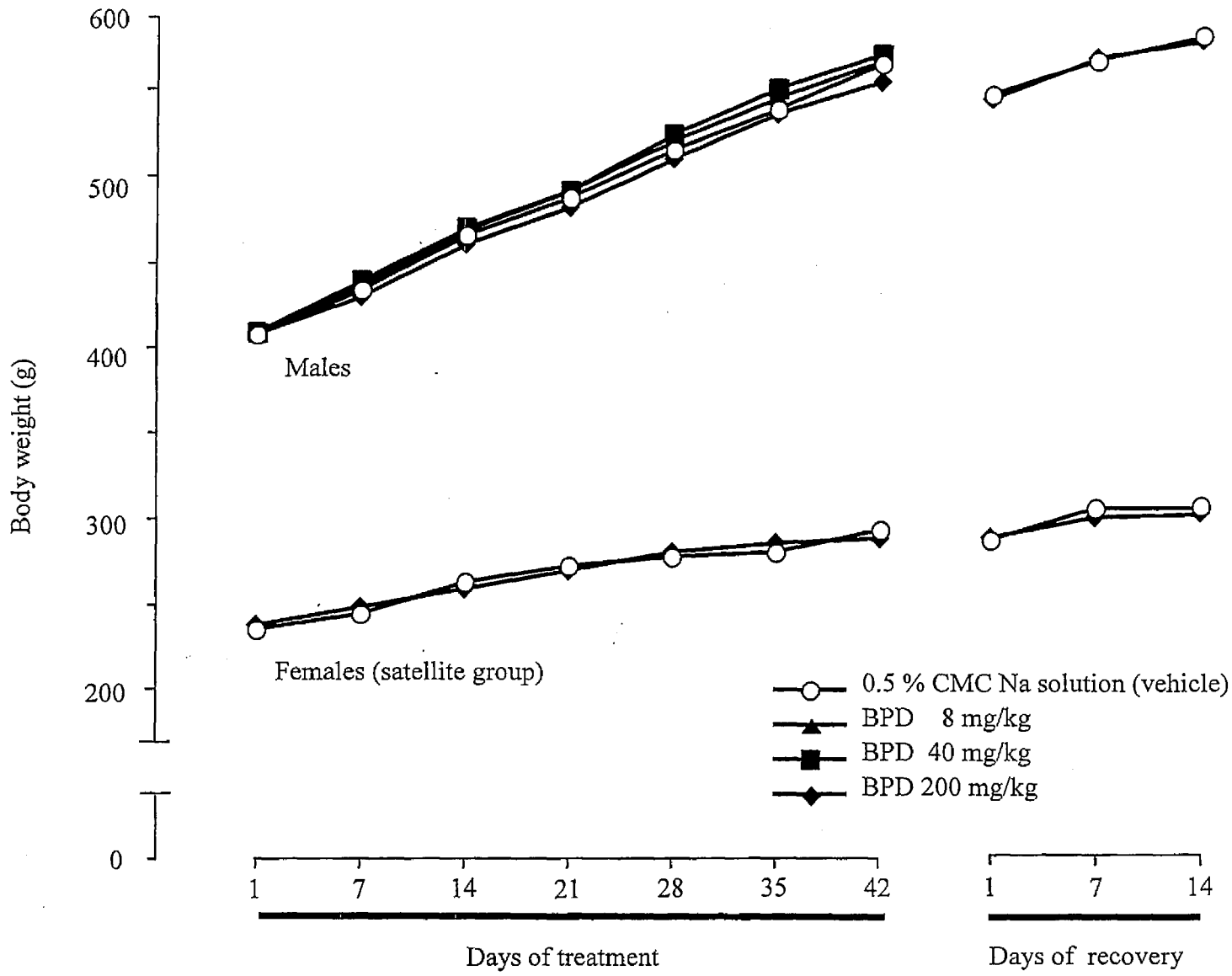


Fig. 1 Body weight changes during the treatment and withdrawal periods in males and satellite females treated orally with 0.5 % sodium carboxymethylcellulose (CMC Na) solution or 4,4'-biphenyldiol (BPD) in combined repeat and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

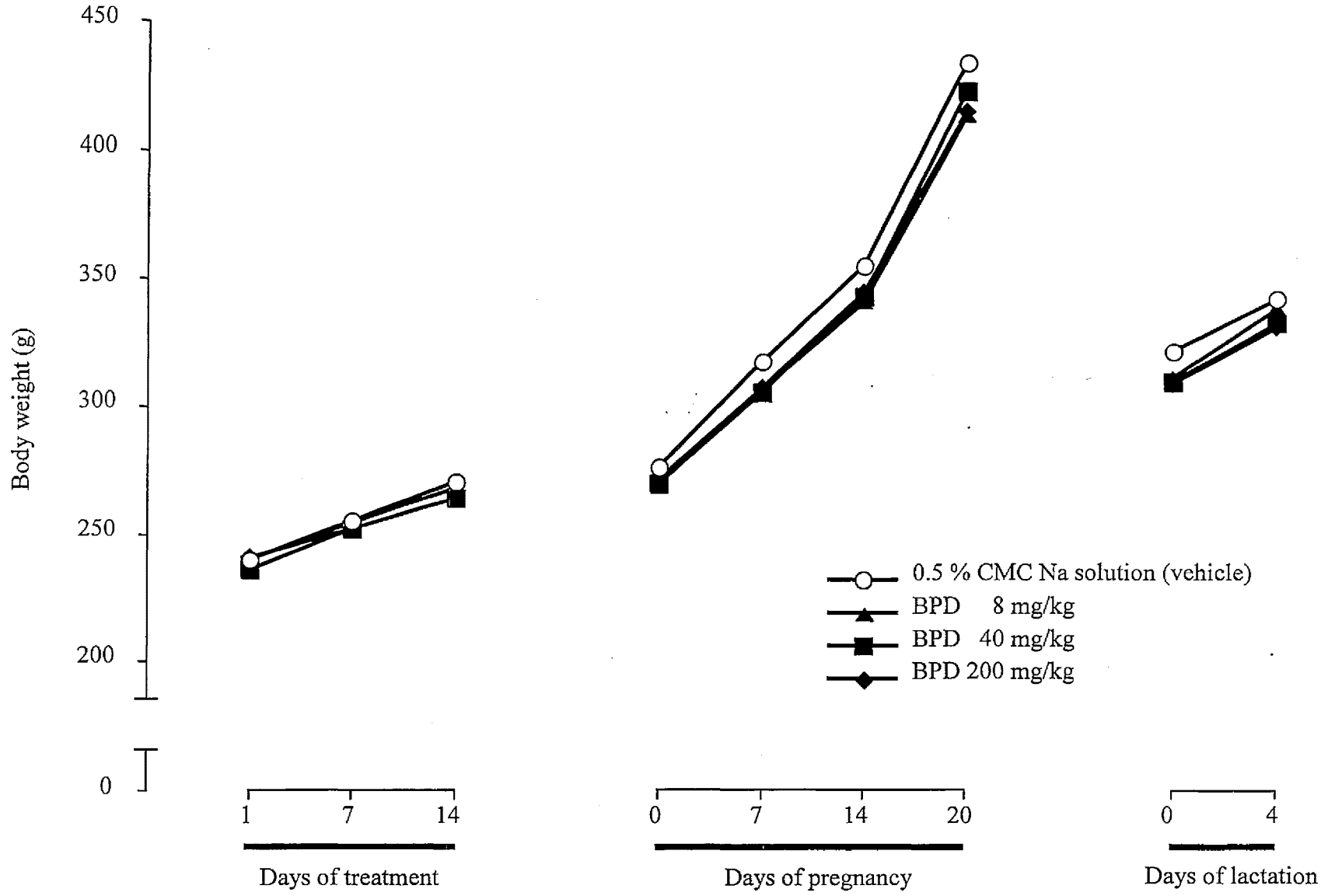


Fig. 2 Body weight changes of females treated orally with 0.5 % sodium carboxymethycellulose (CMC Na) solution or 4,4'-biphenyldiol (BPD) in combined repeat and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

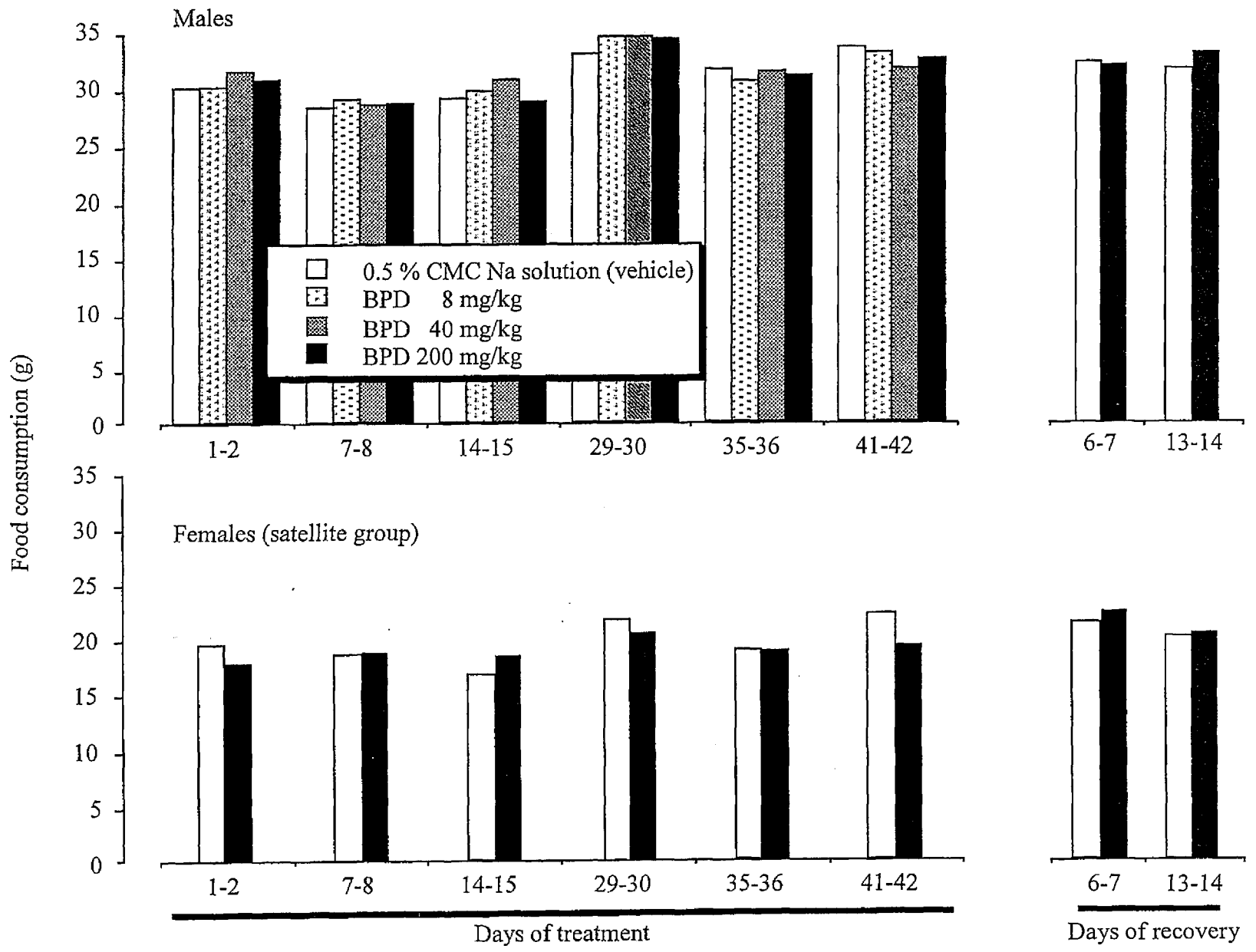


Fig. 3 Food consumption during the treatment and withdrawal periods in males and satellite females treated orally with 0.5 % sodium carboxymethycellulose (CMC Na) solution or 4,4'-biphenyldiol (BPD) in combined repeat and reproductive/ developmental toxicity screening test in rats

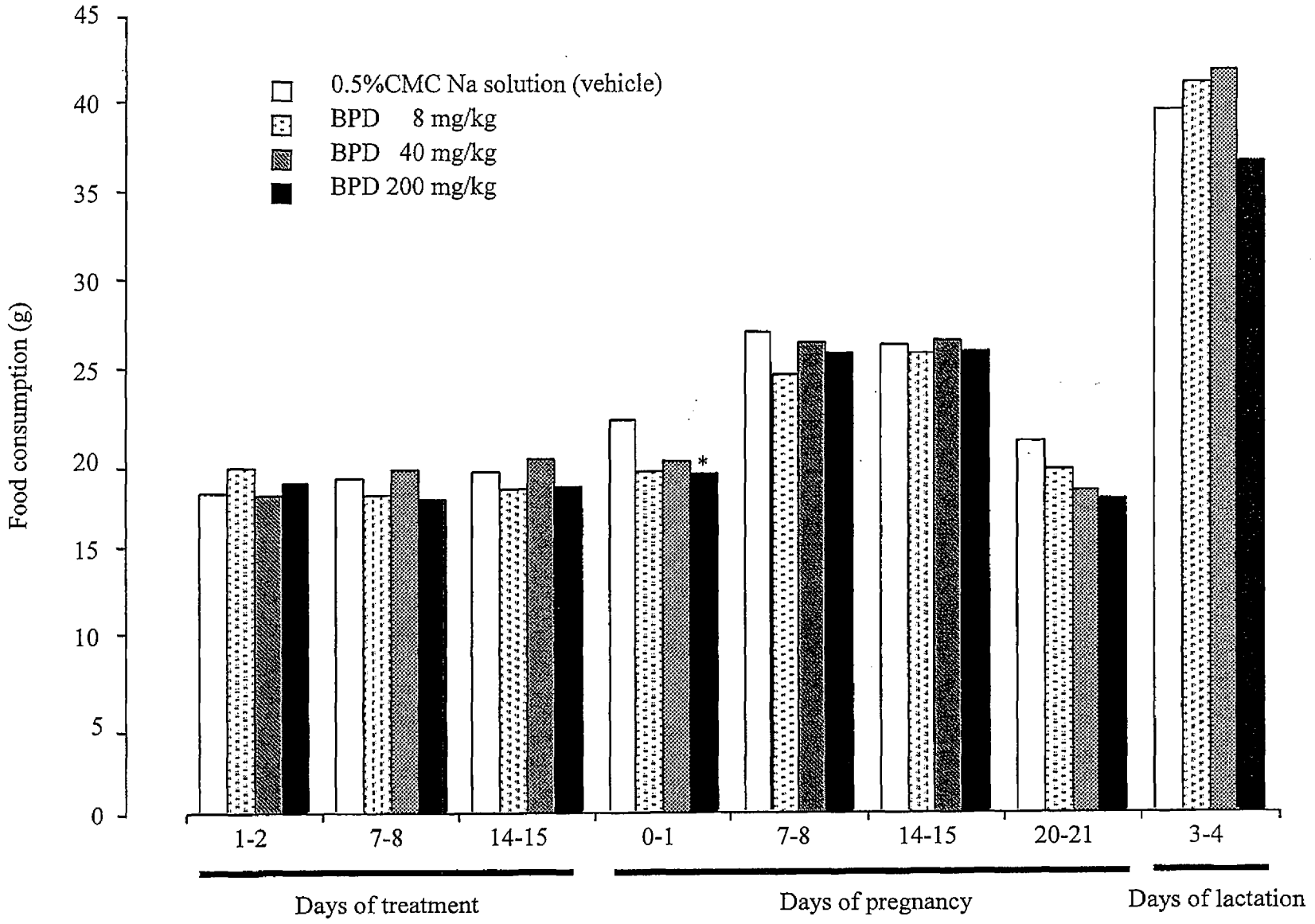


Fig. 4 Food consumption of females treated orally with 0.5 % sodium carboxymethycellulose solution or 4,4'-biphenyldiol (BPD) in combined repeat and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

*, significant difference from control at $p<0.05$

Table 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of clinical signs in males

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Number of animals	Number of animals with clinical signs							number of animals				
			Days of treatment								Days of recovery			
			1 - 7	8 - 14	15 - 21	22 - 28	29 - 35	36 - 42	Total		1 -7	8 -14	15	Total
Crust formation	0[a)]	12	0	0	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0
	8	12	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	40	12	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	200	12	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
Loss of fur	0[a)]	12	0	0	1	1	1	1	1	5	0	0	0	0
	8	12	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	40	12	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-
	200	12	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
White turbid urine	0[a)]	12	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
	8	12	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	40	12	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	200	12	0	0	11	12	12	12	12	5	4	0	0	4

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 2 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmentaal toxicity screeving test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of clinical signs in females

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Number of animals	Number of animals with clinical signs								
			Days of treatment								
			1 - 7	8 - 14	15 - 21	22 - 28	29 - 35	36 - 42	43- 49	50 -53	Total
White turbid urine	0[a)]	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	12	0	0	0	0	0	0	0	-	0
	200	12	0	0	12	11	12	4	3	-	12

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 2 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of clinical signs in females (satellite group)

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Number of animals	Number of animals with clinical signs							Number of animals				
			Days of treatment								Days of recovery			
			1 - 7	8 - 14	15 - 21	22 - 28	29 - 35	36 - 42	Total		1 -7	8 -14	15	Total
White turbid urine	0[a)]	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
	200	5	0	0	5	5	5	4	5	5	2	0	0	2

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Findings in detailed clinical observations of males

			At homecage				In observer's hands					Outside of homecage			
	Dose (mg/kg)	Examined[a)]	Posture[b)] (regular/rearing)	Sleeping[a)]	Locomotor[c)]	Grades of vocalization, tremor and convulsion	Responses to capture	Responses to handling	Grade of Salivation	Grades of heart beat, body temperature, exophthalmos and pupil size	Exhibiting abnormal color in fur or skin or lacrimation[a)]	Posture[b)] (regular/rearing)	Grades of grooming, vocalization, straub tail, gait, tremor, convulsion, piloerection and palpebral opening	Grades of exploration and respiratory rate	Exhibiting stereotypy or bizarre behavior[a)]
The day before treatment															
	0[d)]	12	12/0	2	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	0	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	0	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
Days of treatment															
7	0[d)]	12	12/0	7	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	3	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	3	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
14	0[d)]	12	12/0	5	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	11/1	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	4	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	6	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	10/2	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	2	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	10/2	0 ± 0	4 ± 0	0
21	0[d)]	12	12/0	8	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	11/1	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	5	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	5	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	4	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	11/1	0 ± 0	4 ± 0	0
28	0[d)]	12	12/0	9	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	9	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	7	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
35	0[d)]	12	11/1	2	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	11/1	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	11/1	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	10/2	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	3	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
42	0[d)]	12	12/0	8	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	7	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	9	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	8	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	0 ± 0	4 ± 0	0
Days of recovery															
7	0[d)]	5	5/0	2	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	0 ± 0	4 ± 0	0
14	0[d)]	5	5/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	4/1	0	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	0 ± 0	4 ± 0	0

Values represent mean ± S.D.
a), number of animals
b), sitting or standing animals/number of rearing animals
c), sleeping animals are excluded
d), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 4 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Findings in detailed clinical observations of females

	Dose (mg/kg)	Examined	At homecage					In observer's hands					Outside of homecage					
			Posture[b] (regular/rearing)	Sleeping[a]	Locomotor[b]	Vocalization	Grades of vocalization, tremor and convulsion	Responses to capture	Responses to handling	Grade of Salivation	Grades of heart beat, body temperature, exophthalmos and pupil size	Exhibiting abnormal color in fur or skin or lacrimation[c]	Posture[b] (regular/rearing)	Grade of exploration	Grade of grooming	Grades of vocalization, straub tail, gait, tremor, convulsion, piloerection and palpebral opening	Grade of respiratory rate	Exhibiting stereotypy or bizarre behavior[a]
The day before treatment																		
	0[d]	12	12/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	3	4 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	1 ± 2	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	10/2	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	11/1	0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
Days of treatment																		
7	0[d]	12	12/0	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	10/2	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	10/2	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	10/2	8	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0
14	0[d]	12	10/2	5	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	9/3	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	11/1	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	10/2	7	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0
21	0[d]	12	11/1	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	11/1	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	11/1	7	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	7	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
28	0[d]	12	12/0	5	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	11/1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	10/2	5	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	6	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
35	0[d]	12	12/0	7	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	12	12/0	6	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	12	12/0	7	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	10	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
Lactation period (days 39~42 of treatment)	0[d]	11	11/0	2	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	11/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	11	10/1	4	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	10/1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	40	10	9/1	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	8/2	4 ± 0	1 ± 2	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	12	12/0	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	12/0	4 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0

Values represent mean ± S.D.
a), number of animals
b), sitting or standing animals/number of rearing animals
c), sleeping animals are excluded
d), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 4 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Findings in detailed clinical observations of females (satellite group)

			At homecage				In observer's hands					Outside of homecage					
	Dose (mg/kg)	Examined[a)]	Posture[a)] (regular/rearing)	Sleeping[a)]	Locomotor[a)]	Grades of vocalization, tremor and convulsion	Responses to capture	Responses to handling	Grade of Salivation	Grades of heart beat, body temperature, exophthalmos and pupil size	Exhibiting abnormal color in fur or skin or lacrimation[a)]	Posture[b)] (regular/rearing)	Grade of exploration	Grade of grooming	Grades of vocalization, straub tail, gait, tremor, convulsion, piloerection and palpebral opening	Grade of respiratory rate	Exhibiting stereotypy or bizarre behavior[a)]
The day before treatment																	
	0[d)]	5	3/2	1	4 ± 0	0 ± 0	1 ± 2	1 ± 2	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	1 ± 2	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
Days of treatment																	
7	0[d)]	5	4/1	0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
14	0[d)]	5	3/2	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	8	5	5/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
21	0[d)]	5	5/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	2	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
28	0[d)]	5	5/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	4/1	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
35	0[d)]	5	5/0	2	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
42	0[d)]	5	3/2	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
Days of recovery																	
7	0[d)]	5	5/0	1	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
14	0[d)]	5	5/0	0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0
	200	5	5/0	3	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0	5/0	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0	0

Values represent mean ± S.D.
a), number of animals
b), sitting or standing animals/number of rearing animals
c), sleeping animals are excluded
d), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 5 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Functional findings of animals on the final day of treatment

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Dose groups (mg/kg)	0 [a)]	8	40	200
Males (Day 42 of treatment)				
Number of animals	10	10	10	10
Preyer's reflex	100	100	100	100
Pupillary reflex	100	100	100	100
Visual placing	100	100	100	100
Startle response	100	100	100	100
Pain response	100	100	100	100
Hind-limb withdrawal	100	100	100	100
Corneal reflex	100	100	100	100
Righting	100	100	100	100
Females (Day 4 of lactation)				
Number of animals	5	5	5	5
Preyer's reflex	100	100	100	100
Pupillary reflex	100	100	100	100
Visual placing	100	100	100	100
Startle response	100	100	100	100
Pain response	100	100	100	100
Hind-limb withdrawal	100	100	100	100
Corneal reflex	100	100	100	100
Righting	100	100	100	100
Females (satellite group) (Day 42 of treatment)				
Number of animals	5			5
Preyer's reflex	100			100
Pupillary reflex	100			100
Visual placing	100			100
Startle response	100			100
Pain response	100			100
Hind-limb withdrawal	100			100
Corneal reflex	100			100
Righting	100			100

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
Values represent % of animals showing normal responses.

Table 5 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Functional findings of animals on day of 14 recovery

Sex	Males		Females	
Compound	4,4'-Biphenyldiol		4,4'-Biphenyldiol	
Dose groups (mg/kg)	0 [a)]	200	0 [a)]	200
Number of animals	5	5	5	5
Preyer's reflex	100	100	100	100
Pupillary reflex	100	100	100	100
Visual placing	100	100	100	100
Startle response	100	100	100	100
Pain response	100	100	100	100
Hind-limb withdrawal	100	100	100	100
Corneal reflex	100	100	100	100
Righting	100	100	100	100

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
Values represent % of animals showing normal responses.

Table 6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Body weight of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Days of treatment				
1	407.5 ± 19.0 (12)	408.9 ± 17.8 (12)	409.9 ± 18.5 (12)	407.6 ± 21.6 (12)
7	434.6 ± 22.2 (12)	437.0 ± 23.5 (12)	439.6 ± 26.3 (12)	431.0 ± 26.0 (12)
14	465.3 ± 23.7 (12)	468.2 ± 27.4 (12)	470.4 ± 32.2 (12)	460.3 ± 30.5 (12)
21	486.8 ± 27.3 (12)	490.7 ± 28.7 (12)	491.5 ± 31.5 (12)	481.1 ± 30.6 (12)
28	514.6 ± 30.1 (12)	519.1 ± 31.7 (12)	524.2 ± 33.5 (12)	509.8 ± 36.2 (12)
35	538.9 ± 32.0 (12)	544.3 ± 33.6 (12)	550.4 ± 32.9 (12)	536.0 ± 39.6 (12)
42	564.1 ± 35.4 (12)	565.7 ± 35.9 (12)	569.2 ± 33.7 (12)	553.8 ± 44.5 (12)
Days of recovery				
1	545.1 ± 36.2 (5)			541.9 ± 48.4 (5)
7	564.5 ± 43.4 (5)			565.5 ± 50.4 (5)
14	579.4 ± 42.3 (5)			576.0 ± 51.4 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Body weight gain of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Days of treatment				
1 - 7	27.1 ± 4.9 (12)	28.1 ± 7.5 (12)	29.6 ± 11.2 (12)	23.4 ± 8.1 (12)
7 - 14	30.7 ± 6.1 (12)	31.2 ± 7.3 (12)	30.8 ± 9.3 (12)	29.4 ± 9.6 (12)
14 - 21	21.5 ± 8.9 (12)	22.5 ± 7.8 (12)	21.2 ± 6.8 (12)	20.7 ± 7.4 (12)
21 - 28	27.8 ± 9.2 (12)	28.4 ± 8.4 (12)	32.7 ± 4.9 (12)	28.7 ± 10.4 (12)
28 - 35	24.3 ± 8.5 (12)	25.2 ± 6.4 (12)	26.2 ± 3.8 (12)	26.2 ± 7.8 (12)
35 - 42	25.2 ± 5.7 (12)	21.4 ± 13.5 (12)	18.9 ± 6.4 (12)	17.8 ± 9.8 (12)
Days of recovery				
1 - 7	19.4 ± 8.5 (5)			23.6 ± 8.8 (5)
7 - 14	15.0 ± 5.2 (5)			10.5 ± 2.0 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 8

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Days of treatment				
1 - 14	57.8 ± 9.1 (12)	59.3 ± 13.8 (12)	60.5 ± 19.4 (12)	52.7 ± 15.6 (12)
1 - 21	79.3 ± 12.3 (12)	81.8 ± 16.2 (12)	81.6 ± 19.5 (12)	73.5 ± 13.8 (12)
1 - 28	107.1 ± 17.2 (12)	110.2 ± 20.6 (12)	114.3 ± 20.8 (12)	102.2 ± 20.9 (12)
1 - 35	131.4 ± 21.0 (12)	135.4 ± 24.6 (12)	140.4 ± 19.7 (12)	128.4 ± 26.4 (12)
1 - 42	156.6 ± 24.4 (12)	156.8 ± 27.9 (12)	159.3 ± 20.0 (12)	146.2 ± 33.5 (12)
Days of recovery				
1 - 14	34.3 ± 7.6 (5)			34.1 ± 9.9 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 9 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Body weight of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Days of treatment				
1	240.3 ± 10.5 (12)	240.0 ± 10.1 (12)	235.8 ± 11.5 (12)	240.6 ± 13.6 (12)
7	255.2 ± 8.8 (12)	255.0 ± 15.0 (12)	252.6 ± 10.8 (12)	252.0 ± 10.0 (12)
14	270.7 ± 8.9 (12)	268.4 ± 13.3 (12)	264.1 ± 13.9 (12)	264.4 ± 16.7 (12)
Days of pregnancy				
0	276.1 ± 14.7 (11)	271.6 ± 18.5 (11)	269.9 ± 14.3 (10)	271.9 ± 14.2 (12)
7	317.2 ± 13.0 (11)	305.7 ± 16.8 (11)	305.3 ± 14.4 (10)	306.7 ± 16.6 (12)
14	354.9 ± 14.2 (11)	340.8 ± 19.0 (11)	343.3 ± 11.6 (10)	344.9 ± 19.4 (12)
20	433.6 ± 25.3 (11)	412.8 ± 33.3 (11)	422.4 ± 18.0 (10)	414.7 ± 22.6 (12)
Days of lactation				
0	321.2 ± 22.5 (11)	311.0 ± 26.1 (11)	309.4 ± 20.4 (10)	308.6 ± 24.6 (12)
4	341.9 ± 24.0 (11)	338.0 ± 25.5 (11)	332.4 ± 21.5 (10)	331.3 ± 17.9 (11)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 9 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Body weight of females (satellite group) (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol	
Groups (mg/kg)	0[a)]	200
Days of treatment		
1	235.6 ± 12.0 (5)	238.0 ± 10.7 (5)
7	244.8 ± 14.3 (5)	248.6 ± 16.0 (5)
14	262.8 ± 20.4 (5)	259.7 ± 16.1 (5)
21	272.7 ± 21.2 (5)	269.6 ± 16.6 (5)
28	278.2 ± 25.1 (5)	280.9 ± 21.1 (5)
35	280.7 ± 27.7 (5)	285.5 ± 22.2 (5)
42	293.3 ± 29.5 (5)	288.2 ± 20.6 (5)
Days of recovery		
1	285.0 ± 26.3 (5)	286.5 ± 20.3 (5)
7	304.6 ± 32.1 (5)	298.4 ± 20.7 (5)
14	306.0 ± 31.6 (5)	301.2 ± 18.6 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 10- 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Body weight gain of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Days of treatment				
1 - 7	14.9 ± 4.5 (12)	15.0 ± 6.8 (12)	16.9 ± 6.5 (12)	11.5 ± 6.2 (12)
7 - 14	15.4 ± 5.9 (12)	13.4 ± 7.4 (12)	11.5 ± 6.2 (12)	12.4 ± 7.5 (12)
Days of pregnancy				
0 - 7	41.0 ± 7.4 (11)	34.1 ± 6.5* (11)	35.4 ± 3.9 (10)	34.8 ± 5.5* (12)
7 - 14	37.7 ± 5.4 (11)	35.1 ± 7.6 (11)	38.0 ± 4.3 (10)	38.2 ± 5.7 (12)
14 - 20	78.8 ± 15.4 (11)	71.9 ± 19.4 (11)	79.1 ± 8.4 (10)	69.9 ± 9.5 (12)
Days of lactation				
0 - 4	20.7 ± 12.3 (11)	26.9 ± 11.1 (11)	23.0 ± 13.3 (10)	18.4 ± 11.7 (11)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
*, significant difference from control at $p < 0.05$

Table 10 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Body weight gain of females (satellite group) (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol	
Groups (mg/kg)	0[a)]	200
Days of treatment		
1 - 7	9.2 ± 3.0 (5)	10.6 ± 7.4 (5)
7 - 14	18.0 ± 6.9 (5)	11.1 ± 7.1 (5)
14 - 21	9.9 ± 4.6 (5)	9.9 ± 4.8 (5)
21 - 28	5.5 ± 6.4 (5)	11.3 ± 6.2 (5)
28 - 35	2.5 ± 3.2 (5)	4.6 ± 1.9 (5)
35 - 42	12.5 ± 5.6 (5)	2.7 ± 4.5* (5)
Days of recovery		
1 - 7	19.6 ± 6.3 (5)	11.9 ± 3.0* (5)
7 - 14	1.4 ± 2.4 (5)	2.9 ± 7.5 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
*, significant difference from control at $p < 0.05$

Table 11 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Days of treatment				
1 - 14	30.3 ± 6.7 (12)	28.4 ± 6.3 (12)	28.4 ± 9.0 (12)	23.9 ± 6.9 (12)
Days of pregnancy				
0 - 14	78.7 ± 11.1 (11)	69.3 ± 12.1 (11)	73.4 ± 4.7 (10)	73.0 ± 8.7 (12)
0 - 20	157.5 ± 20.3 (11)	141.2 ± 29.3 (11)	152.5 ± 8.3 (10)	142.9 ± 12.8 (12)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 11 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of females (satellite group) (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol	
Groups (mg/kg)	0[a)]	200
Days of treatment		
1 - 14	27.2 ± 8.9 (5)	21.7 ± 7.5 (5)
1 - 21	37.1 ± 11.3 (5)	31.6 ± 8.1 (5)
1 - 28	42.6 ± 16.9 (5)	42.9 ± 12.6 (5)
1 - 35	45.1 ± 18.7 (5)	47.5 ± 13.5 (5)
1 - 42	57.7 ± 19.2 (5)	50.1 ± 11.8 (5)
Days of recovery		
1 - 14	21.0 ± 6.8 (5)	14.8 ± 8.4 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 12

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Food consumption of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Days of treatment				
1 - 2	29.9 ± 2.7 (12)	30.0 ± 2.7 (12)	31.4 ± 2.3 (12)	30.7 ± 2.1 (12)
7 - 8	28.2 ± 2.6 (12)	28.9 ± 2.7 (12)	28.4 ± 3.2 (12)	28.5 ± 2.6 (12)
14 - 15	29.0 ± 1.8 (12)	29.6 ± 2.1 (12)	30.7 ± 2.9 (12)	28.7 ± 2.7 (12)
29 - 30	32.9 ± 3.2 (12)	34.4 ± 3.1 (12)	34.4 ± 3.0 (12)	34.2 ± 2.6 (12)
35 - 36	31.5 ± 3.3 (12)	30.5 ± 3.8 (12)	31.3 ± 2.4 (12)	30.9 ± 3.1 (12)
41 - 42	33.4 ± 3.6 (12)	33.0 ± 3.1 (12)	31.6 ± 2.3 (12)	32.4 ± 3.9 (12)
Days of recovery				
6 - 7	32.2 ± 4.4 (5)			32.0 ± 2.2 (5)
13 - 14	31.7 ± 2.8 (5)			33.1 ± 3.0 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 13 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Food consumption of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol							
Groups (mg/kg)	0[a)]		8		40		200	
Days of treatment								
1 - 2	18.1 ± 2.2	(12)	19.5 ± 2.4	(12)	18.0 ± 2.6	(12)	18.7 ± 2.5	(12)
7 - 8	18.9 ± 2.6	(12)	18.0 ± 1.8	(12)	19.4 ± 1.9	(12)	17.7 ± 1.9	(12)
14 - 15	19.3 ± 3.0	(12)	18.4 ± 3.1	(12)	20.0 ± 1.6	(12)	18.5 ± 2.6	(12)
Days of pregnancy								
0 - 1	22.2 ± 2.0	(11)	19.3 ± 4.3	(11)	19.9 ± 2.3	(10)	19.2 ± 2.2*	(12)
7 - 8	27.0 ± 3.0	(11)	24.7 ± 2.6	(11)	26.4 ± 3.1	(10)	25.9 ± 3.1	(12)
14 - 15	26.3 ± 2.9	(11)	25.9 ± 2.7	(11)	26.5 ± 3.0	(10)	26.0 ± 3.5	(12)
20 - 21	21.0 ± 3.8	(11)	19.4 ± 3.5	(11)	18.2 ± 7.1	(10)	17.8 ± 5.6	(12)
Days of lactation								
3 - 4	39.5 ± 7.6	(11)	41.1 ± 10.3	(11)	41.8 ± 7.8	(10)	36.7 ± 7.7	(11)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
*, significant difference from control at $p < 0.05$

Table 13 -2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Food consumption of females (satellite group) (g); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]		200	
Days of treatment				
1 - 2	19.5 ± 1.7	(5)	17.7 ± 1.7	(5)
7 - 8	18.5 ± 2.2	(5)	18.6 ± 3.0	(5)
14 - 15	16.6 ± 2.5	(5)	18.3 ± 3.2	(5)
29 - 30	21.6 ± 3.2	(5)	20.4 ± 4.3	(5)
35 - 36	18.8 ± 3.2	(5)	18.8 ± 2.8	(5)
41- 42	22.0 ± 3.3	(5)	19.3 ± 2.9	(5)
Days of recovery				
6 - 7	21.3 ± 2.5	(5)	22.3 ± 2.0	(5)
13 - 14	20.0 ± 2.1	(5)	20.4 ± 2.6	(5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 14

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Findings in urinalysis of males

Compound		4,4'-Bbiphenyldiol			
Dose (mg/kg)		0[a)]	8	40	200
On day 31 of treatment					
Number of animals examined		10	5	5	10
Quality					
Color	light yellow	10	5	5	10
Turbidity	negative	10	5	4	0
	slight	0	0	0	3
	moderate	0	0	1	4
	marked	0	0	0	3
pH	7.0	2	2	0	7
	7.5	5	2	1	2
	8.0	2	0	4	1
	8.5	1	1	0	0
Protein	negative	2	0	2	7
	trace	4	2	0	2
	30≦and <100 mg/dL	3	3	3	1
	100≦and <300 mg/dL	1	0	0	0
Glucose	negative	10	5	5	10
Ketone	negative	7	1	3	7
	trace	2	4	1	3
	slight	1	0	1	0
Bilirubin	negative	10	5	5	10
Occult blood	negative	10	5	5	10
Urobilinogen	0.1≦and <1.0 EU/dL	10	5	5	10
Urinary sediment					
Crystal					
Grade	a few	10	4	3	0
	abundant	0	1	2	10
Shape	phosphate-like	10	5	5	8
	calcium oxalate-like	0	0	0	8
Specific gravity (mean±S.D.)		1.030 ± 0.010	1.038 ± 0.008	1.031 ± 0.011	1.031 ± 0.004
On day 11 of recovery					
Number of animals examined		5			5
Quality					
Color	light yellow	5			5
turbidity	negative	5			5
pH	7.0	1			1
	7.5	4			1
	8.0	0			3
	8.5	0			0
Protein	negative	0			0
	trace	0			1
	30≦and <100 mg/dL	4			4
	100≦and <300 mg/dL	1			0
Glucose	negative	5			5
Ketone	negative	1			3
	trace	3			2
	slight	1			0
Bilirubin	negative	5			5
Occult blood	negative	5			5
Urobilinogen	0.1≦and <1.0 EU/dL	4			4
	1.0≦and <2.0 EU/dL	1			1
Urinary sediment					
Crystal					
Grade	a few:	5			5
Shape	phosphate-like	5			5
Epithelial cells	a few:	3			3
Specific gravity (mean±S.D.)		1.033 ± 0.004			1.029 ± 0.009

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 15 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Findings in urinalysis of females (collected on 32 of treatment from mated females)

Compound		4,4'-Biphenyldiol			
Dose (mg/kg)		0[a)]	8	40	200
On day 32 of treatment					
Number of animals examined		7	7	7	7
Quality					
Color	light yellow	7	7	7	7
Turbidity	negative	7	7	5	1
	slight	0	0	2	5
	moderate	0	0	0	1
pH	6.0	0	1	0	0
	6.5	1	1	0	0
	7.0	2	1	2	4
	7.5	2	2	5	3
	8.0	1	1	0	0
	8.5	1	1	0	0
Protein	negative	3	4	7	7
	trace	3	1	0	0
	30≦and <100 mg/dL	1	2	0	0
Glucose	negative	7	7	7	7
Ketone	negative	5	5	7	7
	trace	2	2	0	0
Bilirubin	negative	7	7	7	7
Occult blood	negative	7	7	7	7
Urobilinogen	0.1≦and <1.0 EU/dL	5	5	7	7
	1.0≦and <2.0 EU/d	2	2	0	0
Urinary sediment					
Crystal					
Grade	a few	5	3	6	0
	abundant	0	2	1	7
Shape	phosphate-like	5	5	7	5
	calcium oxalate-like	0	0	1	6
Epithelial cells	a few	0	1	0	0
Specific gravity (mean±S.D.)		1.038 ± 0.008	1.039 ± 0.006	1.028 ± 0.008 *	1.026 ± 0.005 **

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)
*, significant difference from control at $p<0.05$
**, significant difference from control at $p<0.01$

Table 15 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Findings in urinalysis of females (satellite group)

Compound		4,4'-Biphenyldiol	
Dose (mg/kg)		0[a)]	200
On day 32 of treatment			
Number of animals examined		5	5
Quality			
Color	light yellow	5	5
Turbidity	negative	5	1
	slight	0	2
	moderate	0	2
pH	6.0	0	0
	6.5	0	0
	7.0	2	2
	7.5	1	2
	8.0	2	1
	8.5	0	0
Protein	negative	3	5
	trace	0	0
	30≦and 100 mg/dL	2	0
Glucose	negative	5	5
Ketone	negative	5	5
	trace	0	0
Bilirubin	negative	5	5
Occult blood	negative	5	5
Urobilinogen	0.1≦and 1.0 EU/dL	3	5
	1.0≦and 2.0 EU/dL	2	0
Urinary sediment			
Crystal			
Grade	a few	5	1
	abundant	0	4
Shape	phosphate-like	5	5
	calcium oxalate-like	0	4
Specific gravity (mean±S.D.)		1.034 ± 0.014	1.028 ± 0.004
On day 11 of recovery			
Number of animals examined		5	5
Quality			
Color	light yellow	5	5
Turbidity	negative	5	5
pH	7.0	0	3
	7.5	1	2
	8.0	3	0
	8.5	1	0
Protein	negative	3	2
	trace	0	3
	30≦and 100 mg/dL	2	0
	100≦and 300 mg/dL	0	0
Glucose	negative	5	5
Ketone	negative	5	5
	trace	0	0
	slight	0	0
Bilirubin	negative	5	5
Occult blood	negative	5	5
Urobilinogen	0.1≦and 1.0 EU/dL	3	2
	1.0≦and 2.0 EU/dL	2	3
Urinary sediment			
Crystal			
Grade	a few:	4	5
Shape	phosphate-like	4	5
Specific gravity (mean±S.D.)		1.029 ± 0.013	1.033 ± 0.012

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 16

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Hematological findings of males; mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Day 43 of treatment				
RBC ($\times 10^4/\mu L$)	841 ± 19 (5)	852 ± 32 (5)	873 ± 20 (5)	843 ± 27 (5)
Hemoglobin (g/dL)	15.2 ± 0.5 (5)	15.4 ± 0.5 (5)	14.9 ± 0.4 (5)	14.9 ± 0.6 (5)
Hematocrit (%)	46.0 ± 1.6 (5)	46.4 ± 1.8 (5)	45.0 ± 1.1 (5)	45.1 ± 1.7 (5)
MCV (fL)	54.6 ± 2.0 (5)	54.5 ± 1.4 (5)	51.5 ± 1.3* (5)	53.5 ± 1.5 (5)
MCH (pg)	18.1 ± 0.7 (5)	18.1 ± 0.5 (5)	17.1 ± 0.4* (5)	17.7 ± 0.7 (5)
MCHC (g/dL)	33.0 ± 0.3 (5)	33.2 ± 0.3 (5)	33.1 ± 0.3 (5)	33.0 ± 0.5 (5)
WBC ($\times 10^2/\mu L$)	91.3 ± 43.3 (5)	78.5 ± 31.0 (5)	92.5 ± 41.8 (5)	87.3 ± 27.7 (5)
Neutrophil (%)	15 ± 5 (5)	14 ± 5 (5)	13 ± 4 (5)	10 ± 5 (5)
Eosinophil (%)	2 ± 0 (5)	2 ± 1 (5)	2 ± 1 (5)	2 ± 1 (5)
Basophil (%)	0 ± 0 (5)	0 ± 0 (5)	0 ± 0 (5)	0 ± 0 (5)
Monocyte (%)	4 ± 1 (5)	5 ± 1 (5)	6 ± 3 (5)	3 ± 1 (5)
Lymphocyte (%)	79 ± 7 (5)	78 ± 5 (5)	80 ± 7 (5)	85 ± 6 (5)
Platelet ($\times 10^4/\mu L$)	103.1 ± 6.8 (5)	105.5 ± 16.9 (5)	115.2 ± 7.4 (5)	111.1 ± 9.3 (5)
PT (sec)	19.0 ± 3.9 (5)	20.1 ± 2.9 (5)	18.4 ± 1.4 (5)	17.7 ± 2.5 (5)
APTT (sec)	24.0 ± 2.7 (5)	24.4 ± 1.6 (5)	24.0 ± 1.0 (5)	23.6 ± 1.1 (5)
Day 15 of recovery				
RBC ($\times 10^4/\mu L$)	859 ± 31 (5)			889 ± 32 (5)
Hemoglobin (g/dL)	15.1 ± 0.1 (5)			15.6 ± 0.5 (5)
Hematocrit (%)	45.6 ± 0.7 (5)			46.8 ± 1.7 (5)
MCV (fL)	53.1 ± 2.0 (5)			52.7 ± 0.9 (5)
MCH (pg)	17.5 ± 0.6 (5)			17.6 ± 0.3 (5)
MCHC (g/dL)	33.0 ± 0.3 (5)			33.4 ± 0.2 (5)
WBC ($\times 10^2/\mu L$)	116.8 ± 21.6 (5)			80.9 ± 14.8* (5)
Neutrophil (%)	10 ± 3 (5)			10 ± 1 (5)
Eosinophil (%)	1 ± 0 (5)			2 ± 0 (5)
Basophil (%)	0 ± 0 (5)			0 ± 0 (5)
Monocyte (%)	4 ± 0 (5)			5 ± 1 (5)
Lymphocyte (%)	85 ± 3 (5)			83 ± 2 (5)
Platelet ($\times 10^4/\mu L$)	113.2 ± 13.2 (5)			110.0 ± 9.4 (5)
PT (sec)	15.8 ± 2.0 (5)			20.2 ± 4.4 (5)
APTT (sec)	23.1 ± 1.7 (5)			24.4 ± 1.8 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

*, significant difference from control at $p < 0.05$

Table 17 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Hematological findings of females (on day 5 of lactation); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
RBC ($\times 10^4/\mu L$)	688 ± 42 (5)	651 ± 67 (5)	643 ± 39 (5)	655 ± 62 (5)
Hemoglobin (g/dL)	13.3 ± 0.3 (5)	13.2 ± 0.9 (5)	12.4 ± 0.7 (5)	12.7 ± 0.9 (5)
Hematocrit (%)	40.2 ± 1.4 (5)	39.8 ± 2.6 (5)	37.4 ± 2.3 (5)	38.1 ± 2.9 (5)
MCV (fL)	58.5 ± 2.0 (5)	61.4 ± 3.2 (5)	58.2 ± 2.8 (5)	58.3 ± 1.3 (5)
MCH (pg)	19.3 ± 0.9 (5)	20.3 ± 1.0 (5)	19.3 ± 0.9 (5)	19.4 ± 0.4 (5)
MCHC (g/dL)	33.1 ± 0.5 (5)	33.1 ± 0.5 (5)	33.2 ± 0.4 (5)	33.3 ± 0.1 (5)
WBC ($\times 10^2/\mu L$)	80.1 ± 14.5 (5)	80.6 ± 18.9 (5)	99.1 ± 30.7 (5)	93.7 ± 22.8 (5)
Neutrophil (%)	32 ± 21 (5)	24 ± 11 (5)	27 ± 9 (5)	22 ± 9 (5)
Eosinophil (%)	1 ± 1 (5)	1 ± 1 (5)	1 ± 0 (5)	1 ± 0 (5)
Basophil (%)	0 ± 0 (5)	0 ± 0 (5)	0 ± 0 (5)	0 ± 0 (5)
Monocyte (%)	4 ± 2 (5)	4 ± 1 (5)	5 ± 2 (5)	4 ± 1 (5)
Lymphocyte (%)	63 ± 20 (5)	71 ± 11 (5)	68 ± 10 (5)	73 ± 10 (5)
Platelet ($\times 10^4/\mu L$)	107.7 ± 9.4 (5)	108.1 ± 11.8 (5)	114.2 ± 11.1 (5)	110.4 ± 14.5 (5)
PT (sec)	12.7 ± 0.7 (5)	13.4 ± 0.9 (5)	12.7 ± 0.4 (5)	13.0 ± 0.7 (5)
APTT (sec)	18.4 ± 1.4 (5)	18.8 ± 2.3 (5)	18.7 ± 0.9 (5)	18.7 ± 0.7 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 17 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Hematological findings of females (on day 15 of recovery in satellite group); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol	
Groups (mg/kg)	0[a)]	200
RBC ($\times 10^4/\mu L$)	806 ± 17 (5)	820 ± 59 (5)
Hemoglobin (g/dL)	15.0 ± 0.5 (5)	15.1 ± 0.7 (5)
Hematocrit (%)	44.6 ± 1.1 (5)	45.2 ± 2.1 (5)
MCV (fL)	55.4 ± 0.7 (5)	55.2 ± 1.9 (5)
MCH (pg)	18.6 ± 0.4 (5)	18.5 ± 0.7 (5)
MCHC (g/dL)	33.5 ± 0.3 (5)	33.5 ± 0.3 (5)
WBC ($\times 10^2/\mu L$)	52.6 ± 23.5 (5)	59.2 ± 22.2 (5)
Neutrophil (%)	10 ± 4 (5)	12 ± 10 (5)
Eosinophil (%)	2 ± 1 (5)	2 ± 2 (5)
Basophil (%)	0 ± 0 (5)	0 ± 0 (5)
Monocyte (%)	4 ± 2 (5)	3 ± 2 (5)
Lymphocyte (%)	85 ± 6 (5)	83 ± 13 (5)
Platelet ($\times 10^4/\mu L$)	108.2 ± 13.8 (5)	106.7 ± 11.3 (5)
PT (sec)	12.3 ± 0.6 (5)	12.4 ± 0.6 (5)
APTT (sec)	18.6 ± 0.8 (5)	19.8 ± 0.9 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 18

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Biochemical findings of males; mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Day 43 of treatment				
Total protein (g/dL)	5.9 ± 0.1 (5)	5.8 ± 0.2 (5)	5.8 ± 0.3 (5)	6.0 ± 0.1 (5)
Albumin (g/dL)	3.5 ± 0.1 (5)	3.5 ± 0.1 (5)	3.5 ± 0.3 (5)	3.6 ± 0.1 (5)
A/G	1.48 ± 0.16 (5)	1.50 ± 0.08 (5)	1.50 ± 0.10 (5)	1.49 ± 0.11 (5)
BUN (mg/dL)	16 ± 1 (5)	18 ± 2 (5)	18 ± 1 (5)	18 ± 1 (5)
Creatinine (mg/dL)	0.7 ± 0.1 (5)	0.7 ± 0.1 (5)	0.7 ± 0.1 (5)	0.7 ± 0.1 (5)
Glucose (mg/dL)	169 ± 13 (5)	160 ± 10 (5)	172 ± 15 (5)	175 ± 17 (5)
Total cholesterol (mg/dL)	40 ± 13 (5)	39 ± 4 (5)	46 ± 4 (5)	31 ± 6 (5)
Triglyceride (mg/dL)	40 ± 25 (5)	33 ± 6 (5)	53 ± 31 (5)	53 ± 16 (5)
ALP (U/L)	222 ± 45 (5)	195 ± 38 (5)	190 ± 63 (5)	237 ± 48 (5)
ALT(GPT) (U/L)	32 ± 6 (5)	33 ± 4 (5)	32 ± 8 (5)	30 ± 6 (5)
AST(GOT) (U/L)	73 ± 9 (5)	66 ± 5 (5)	68 ± 15 (5)	61 ± 9 (5)
γ-GTP (U/L)	1 ± 1 (5)	1 ± 1 (5)	1 ± 1 (5)	1 ± 1 (5)
Total bilirubin (mg/dL)	0.05 ± 0.01 (5)	0.04 ± 0.02 (5)	0.05 ± 0.02 (5)	0.04 ± 0.00 (5)
Inorganic phosphate (mg/dL)	6.1 ± 0.3 (5)	6.6 ± 0.4 (5)	6.9 ± 0.5 (5)	6.6 ± 0.7 (5)
Ca (mg/dL)	9.0 ± 0.2 (5)	9.0 ± 0.2 (5)	8.9 ± 0.2 (5)	9.1 ± 0.3 (5)
Na (mEq/L)	144.7 ± 0.3 (5)	144.9 ± 0.7 (5)	144.7 ± 0.7 (5)	143.7 ± 0.7* (5)
K (mEq/L)	4.17 ± 0.27 (5)	4.31 ± 0.29 (5)	4.19 ± 0.32 (5)	4.46 ± 0.32 (5)
Cl (mEq/L)	107.3 ± 1.6 (5)	108.2 ± 0.8 (5)	107.8 ± 1.3 (5)	106.8 ± 1.7 (5)
Day 15 of recovery				
Total protein (g/dL)	6.1 ± 0.2 (5)			6.2 ± 0.2 (5)
Albumin (g/dL)	3.7 ± 0.2 (5)			3.8 ± 0.2 (5)
A/G	1.58 ± 0.14 (5)			1.62 ± 0.20 (5)
BUN (mg/dL)	14 ± 1 (5)			16 ± 2 (5)
Creatinine (mg/dL)	0.8 ± 0.1 (5)			0.9 ± 0.2 (5)
Glucose (mg/dL)	195 ± 29 (5)			174 ± 14 (5)
Total cholesterol (mg/dL)	55 ± 10 (5)			49 ± 8 (5)
Triglyceride (mg/dL)	61 ± 32 (5)			49 ± 20 (5)
ALP (U/L)	148 ± 22 (5)			155 ± 18 (5)
ALT(GPT) (U/L)	44 ± 14 (5)			32 ± 5 (5)
AST(GOT) (U/L)	76 ± 23 (5)			63 ± 7 (5)
γ-GTP (U/L)	2 ± 1 (5)			1 ± 0 (5)
Total bilirubin (mg/dL)	0.06 ± 0.03 (5)			0.04 ± 0.02 (5)
Inorganic phosphate (mg/dL)	6.7 ± 0.7 (5)			6.8 ± 0.5 (5)
Ca (mg/dL)	9.6 ± 0.2 (5)			9.3 ± 0.2 (5)
Na (mEq/L)	143.9 ± 0.5 (5)			144.0 ± 0.9 (5)
K (mEq/L)	4.36 ± 0.30 (5)			4.32 ± 0.21 (5)
Cl (mEq/L)	105.8 ± 1.0 (5)			105.0 ± 2.1 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

* , significant difference from control at $p < 0.05$

Table 19 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Biochemical findings of female (on day 5 of lactaion); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Total protein (g/dL)	6.1 ± 0.3 (5)	5.9 ± 0.4 (5)	5.9 ± 0.4 (5)	5.9 ± 0.3 (5)
Albumin (g/dL)	4.0 ± 0.3 (5)	3.8 ± 0.4 (5)	3.9 ± 0.3 (5)	3.9 ± 0.3 (5)
A/G	1.98 ± 0.24 (5)	1.81 ± 0.16 (5)	1.92 ± 0.28 (5)	2.01 ± 0.26 (5)
BUN (mg/dL)	17 ± 2 (5)	19 ± 2 (5)	16 ± 2 (5)	15 ± 2 (5)
Creatinine (mg/dL)	0.7 ± 0.0 (5)	0.7 ± 0.0 (5)	0.6 ± 0.1 (5)	0.7 ± 0.1 (5)
Glucose (mg/dL)	120 ± 3 (5)	117 ± 9 (5)	119 ± 3 (5)	117 ± 8 (5)
Total cholesterol (mg/dL)	53 ± 11 (5)	47 ± 10 (5)	49 ± 11 (5)	40 ± 13 (5)
Triglyceride (mg/dL)	39 ± 13 (5)	36 ± 36 (5)	27 ± 3 (5)	38 ± 11 (5)
ALP (U/L)	73 ± 27 (5)	85 ± 47 (5)	111 ± 29 (5)	121 ± 20 (5)
ALT(GPT) (U/L)	48 ± 10 (5)	40 ± 12 (5)	38 ± 7 (5)	42 ± 5 (5)
AST(GOT) (U/L)	73 ± 13 (5)	71 ± 5 (5)	59 ± 9 (5)	71 ± 6 (5)
γ-GTP (U/L)	3 ± 1 (5)	2 ± 1 (5)	2 ± 1 (5)	3 ± 1 (5)
Total bilirubin (mg/dL)	0.05 ± 0.01 (5)	0.05 ± 0.01 (5)	0.04 ± 0.01 (5)	0.04 ± 0.01 (5)
Inorganic phosphate (mg/dL)	5.3 ± 0.5 (5)	5.6 ± 0.2 (5)	5.4 ± 0.7 (5)	5.2 ± 0.5 (5)
Ca (mg/dL)	9.2 ± 0.3 (5)	9.2 ± 0.4 (5)	9.2 ± 0.3 (5)	9.1 ± 0.1 (5)
Na (mEq/L)	142.9 ± 1.0 (5)	142.0 ± 1.0 (5)	142.0 ± 0.6 (5)	142.2 ± 1.0 (5)
K (mEq/L)	3.90 ± 0.18 (5)	3.82 ± 0.20 (5)	3.67 ± 0.10 (5)	3.69 ± 0.25 (5)
Cl (mEq/L)	108.8 ± 1.0 (5)	108.3 ± 2.3 (5)	108.3 ± 1.2 (5)	108.6 ± 0.9 (5)

a), vehicle control, (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 19 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Biochemical findings of female (on day 15 of recovery in the satellite group); mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol	
Groups (mg/kg)	0[a)]	200
Total protein (g/dL)	6.7 ± 0.2 (5)	6.4 ± 0.2 (5)
Albumin (g/dL)	4.6 ± 0.2 (5)	4.3 ± 0.3 (5)
A/G	2.24 ± 0.15 (5)	1.97 ± 0.27 (5)
BUN (mg/dL)	22 ± 3 (5)	20 ± 2 (5)
Creatinine (mg/dL)	0.9 ± 0.2 (5)	0.8 ± 0.1 (5)
Glucose (mg/dL)	150 ± 17 (5)	163 ± 11 (5)
Total cholesterol (mg/dL)	65 ± 15 (5)	72 ± 9 (5)
Triglyceride (mg/dL)	29 ± 9 (5)	26 ± 10 (5)
ALP (U/L)	70 ± 17 (5)	86 ± 19 (5)
ALT(GPT) (U/L)	39 ± 20 (5)	25 ± 7 (5)
AST(GOT) (U/L)	87 ± 19 (5)	58 ± 13* (5)
γ-GTP (U/L)	2 ± 1 (5)	2 ± 1 (5)
Total bilirubin (mg/dL)	0.07 ± 0.02 (5)	0.06 ± 0.01 (5)
Inorganic phosphate (mg/dL)	4.5 ± 0.7 (5)	4.6 ± 0.5 (5)
Ca (mg/dL)	9.5 ± 0.3 (5)	9.3 ± 0.4 (5)
Na (mEq/L)	142.1 ± 0.8 (5)	141.9 ± 0.7 (5)
K (mEq/L)	4.36 ± 0.23 (5)	4.24 ± 0.21 (5)
Cl (mEq/L)	106.5 ± 2.4 (5)	106.3 ± 1.0 (5)

a), vehicle control, (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
*, significant difference from control at $p<0.05$

Table 20

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Organ weight of males ; mean ± S.D. (N)

Compound		4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)		0 [a]	8	40	200
Day 43 of treatment					
Final body weight	(g)	536.2 ± 29.1 (5)	517.2 ± 8.5 (5)	541.0 ± 31.4 (5)	509.5 ± 44.4 (5)
Brain	(g)	2.05 ± 0.08 [b] (5)	1.99 ± 0.05 (5)	2.10 ± 0.07 (5)	2.01 ± 0.07 (5)
		0.38 ± 0.02 [c] (5)	0.38 ± 0.01 (5)	0.39 ± 0.02 (5)	0.40 ± 0.05 (5)
Thymus	(mg)	315.1 ± 35.2 (5)	367.1 ± 107.2 (5)	322.7 ± 46.2 (5)	379.0 ± 52.0 (5)
		59.0 ± 7.9 (5)	71.1 ± 21.1 (5)	59.5 ± 5.7 (5)	75.0 ± 13.1 (5)
Heart	(g)	1.44 ± 0.08 (5)	1.41 ± 0.12 (5)	1.49 ± 0.15 (5)	1.35 ± 0.12 (5)
		0.27 ± 0.02 (5)	0.27 ± 0.02 (5)	0.27 ± 0.02 (5)	0.27 ± 0.02 (5)
Liver	(g)	15.13 ± 1.72 (5)	14.92 ± 1.24 (5)	16.67 ± 1.84 (5)	16.49 ± 1.86 (5)
		2.82 ± 0.22 (5)	2.88 ± 0.23 (5)	3.08 ± 0.21 (5)	3.23 ± 0.24* (5)
Kidneys	(g)	3.40 ± 0.19 (5)	3.38 ± 0.38 (5)	3.61 ± 0.18 (5)	3.50 ± 0.24 (5)
		0.64 ± 0.05 (5)	0.66 ± 0.08 (5)	0.67 ± 0.05 (5)	0.69 ± 0.06 (5)
Spleen	(g)	0.88 ± 0.04 (5)	0.88 ± 0.02 (5)	0.90 ± 0.13 (5)	0.89 ± 0.13 (5)
		0.17 ± 0.01 (5)	0.17 ± 0.01 (5)	0.17 ± 0.01 (5)	0.17 ± 0.03 (5)
Testes	(g)	3.40 ± 0.15 (5)	3.29 ± 0.21 (5)	3.47 ± 0.46 (5)	3.41 ± 0.14 (5)
		0.64 ± 0.03 (5)	0.64 ± 0.04 (5)	0.65 ± 0.11 (5)	0.68 ± 0.09 (5)
Epididymides	(g)	1.29 ± 0.06 (5)	1.21 ± 0.12 (5)	1.22 ± 0.12 (5)	1.23 ± 0.05 (5)
		0.24 ± 0.02 (5)	0.24 ± 0.02 (5)	0.23 ± 0.03 (5)	0.24 ± 0.03 (5)
Adrenal glands	(mg)	67.6 ± 7.4 (5)	61.1 ± 9.1 (5)	57.1 ± 3.7 (5)	53.3 ± 5.8* (5)
		12.6 ± 1.1 (5)	11.8 ± 1.7 (5)	10.6 ± 1.0 (5)	10.5 ± 1.3 (5)
Day 15 of recovery					
Final body weight	(g)	540.5 ± 40.2 (5)			534.7 ± 51.4 (5)
Brain	(g)	2.00 ± 0.07 [b] (5)			2.05 ± 0.09 (5)
		0.37 ± 0.03 [c] (5)			0.39 ± 0.04 (5)
Thymus	(mg)	309.3 ± 57.1 (5)			291.2 ± 59.5 (5)
		57.6 ± 12.5 (5)			54.1 ± 7.2 (5)
Heart	(g)	1.49 ± 0.20 (5)			1.52 ± 0.10 (5)
		0.28 ± 0.03 (5)			0.28 ± 0.02 (5)
Liver	(g)	15.14 ± 2.79 (5)			15.62 ± 2.24 (5)
		2.79 ± 0.32 (5)			2.91 ± 0.21 (5)
Kidneys	(g)	3.58 ± 0.22 (5)			3.50 ± 0.28 (5)
		0.67 ± 0.05 (5)			0.66 ± 0.03 (5)
Spleen	(g)	0.81 ± 0.13 (5)			0.81 ± 0.09 (5)
		0.15 ± 0.01 (5)			0.15 ± 0.02 (5)
Testes	(g)	3.56 ± 0.13 (5)			3.40 ± 0.16 (5)
		0.66 ± 0.04 (5)			0.64 ± 0.06 (5)
Epididymides	(g)	1.31 ± 0.07 (5)			1.31 ± 0.08 (5)
		0.24 ± 0.02 (5)			0.25 ± 0.03 (5)
Adrenal glands	(mg)	61.8 ± 13.5 (5)			62.0 ± 11.7 (5)
		11.3 ± 1.8 (5)			11.6 ± 1.7 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
b):, absolute weight
c), relative weight (g or mg per 100 g body weight)

*: significant difference from control at $p<0.05$

Table 21-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Organ weight of females (on day 5 of lactation); mean ± S.D. (N)

Compound		4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)		0 [a]	8	40	200
Final body weight	(g)	317.4 ± 15.9 (5)	303.5 ± 23.1 (5)	297.0 ± 2.8 (5)	298.5 ± 5.4 (5)
Brain	(g)	1.91 ± 0.04 [b] (5)	1.88 ± 0.07 (5)	1.89 ± 0.07 (5)	1.84 ± 0.06 (5)
		0.60 ± 0.03 [c] (5)	0.62 ± 0.03 (5)	0.64 ± 0.03 (5)	0.61 ± 0.02 (5)
Thymus	(mg)	256.4 ± 74.0 (5)	227.5 ± 26.1 (5)	192.2 ± 30.8 (5)	298.1 ± 80.9 (5)
		80.7 ± 21.8 (5)	74.9 ± 5.7 (5)	64.7 ± 10.3 (5)	99.6 ± 25.8 (5)
Heart	(g)	1.00 ± 0.12 (5)	0.98 ± 0.07 (5)	0.89 ± 0.04 (5)	0.91 ± 0.07 (5)
		0.32 ± 0.04 (5)	0.32 ± 0.01 (5)	0.30 ± 0.01 (5)	0.30 ± 0.02 (5)
Liver	(g)	10.56 ± 0.64 (5)	9.64 ± 1.61 (5)	9.94 ± 0.30 (5)	10.36 ± 0.34 (5)
		3.33 ± 0.14 (5)	3.16 ± 0.34 (5)	3.35 ± 0.11 (5)	3.47 ± 0.11 (5)
Kidneys	(g)	1.94 ± 0.12 (5)	1.88 ± 0.15 (5)	1.98 ± 0.07 (5)	1.86 ± 0.10 (5)
		0.61 ± 0.06 (5)	0.62 ± 0.05 (5)	0.66 ± 0.03 (5)	0.62 ± 0.04 (5)
Spleen	(g)	0.75 ± 0.05 (5)	0.78 ± 0.19 (5)	0.67 ± 0.07 (5)	0.65 ± 0.09 (5)
		0.24 ± 0.02 (5)	0.26 ± 0.05 (5)	0.22 ± 0.03 (5)	0.22 ± 0.03 (5)
Adrenal glands	(mg)	79.5 ± 10.9 (5)	76.3 ± 4.6 (5)	74.8 ± 11.6 (5)	67.6 ± 6.9 (5)
		25.1 ± 3.6 (5)	25.3 ± 3.3 (5)	25.2 ± 4.0 (5)	22.7 ± 2.7 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
b), absolute weight
c), relative weight (g or mg per 100 g body weight)

Table 21-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Organ weight of females (on day 15 of recovery in the satellite group); mean ± S.D. (N)

Compound		4,4'-Biphenyldiol	
Groups (mg/kg)		0 [a]	200
Final body weight	(g)	283.7 ± 27.8 (5)	276.6 ± 17.6 (5)
Brain	(g)	1.81 ± 0.11 [b] (5)	1.87 ± 0.10 (5)
		0.64 ± 0.08 [c] (5)	0.68 ± 0.06 (5)
Thymus	(mg)	291.0 ± 47.3 (5)	259.8 ± 41.8 (5)
		102.2 ± 9.3 (5)	93.8 ± 13.0 (5)
Heart	(g)	0.89 ± 0.04 (5)	0.92 ± 0.09 (5)
		0.32 ± 0.02 (5)	0.33 ± 0.02 (5)
Liver	(g)	7.82 ± 0.75 (5)	7.90 ± 1.06 (5)
		2.77 ± 0.19 (5)	2.85 ± 0.22 (5)
Kidneys	(g)	1.94 ± 0.19 (5)	2.02 ± 0.21 (5)
		0.69 ± 0.10 (5)	0.73 ± 0.06 (5)
Spleen	(g)	0.51 ± 0.11 (5)	0.50 ± 0.09 (5)
		0.18 ± 0.03 (5)	0.18 ± 0.02 (5)
Adrenal glands	(mg)	60.8 ± 11.0 (5)	65.5 ± 4.8 (5)
		21.4 ± 2.4 (5)	23.7 ± 0.7 (5)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)
b), absolute weight
c), relative weight (g or mg per 100 g body weight)

Table 22

Combined repeatet dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of macroscopic findings in males

Compound	4,4'-Biphenyldiol							
Groups (mg/kg)	0[a)]		8		40		200	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
Day 43 of treatment								
(Liver)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Dark	7	0	12	0	12	0	5	2
Enlargement	7	0	12	0	12	0	5	2
(Skin)	[7]		[12]		[12]		[7]	
Alopecia, local	7	0	12	0	11	1	7	0
Day 15 of recovery								
(All organ)	[5]						[5]	
No remarkable change								

-, Negative; +, Positive
[ ], Number of animals examined
a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 23 - 1

Combined repeatet dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of macroscopic findings in females (on day 5 of lactation)

Compound	4,4'-Biphenyldiol							
Groups (mg/kg)	0[a)]		8		40		200	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Kidney)	[11]		[11]		[10]		[12]	
Dilatation, renal pelvis, bilateral	11	0	11	0	10	0	11	1
(Spleen)	[11]		[11]		[10]		[12]	
Small	11	0	11	0	10	0	11	1
(Thymus)	[11]		[11]		[10]		[12]	
Small	11	0	11	0	10	0	11	1

-, Negative; +, Positive
[ ], Number of animals examined
a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 23 - 2

Combined repeatet dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of macroscopic findings in females (on day 15 of recovery in the satellite group)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]		200	
Grade	-	+	-	+
(All organ)	[5]		[5]	
No remarkable change				

-, Negative; +, Positive
[ ], Number of animals examined
a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 24

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of histopathological findings in males

Compound	4,4'-Biphenyldiol																							
Groups (mg/kg)	0[a]						8						40						200					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
Day 43 of treatment																								
(Testis)	[7]						[12]						[12]						[7]					
Atrophy, focal, seminiferous tubule	6	1	0	0	0	1	11	1	0	0	0	1	11	1	0	0	0	1	6	1	0	0	0	1
(Epididymis)	[7]						[12]						[12]						[7]					
Spermatic granuloma, cauda, unilateral	7	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	11	0	0	1	0	1	7	0	0	0	0	0
(Liver)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2
Fatty change, periportal	0	0	4	1	0	5	0	2	2	1	0	5	0	2	3	0	0	5	0	5	0	0	0	** 5
Microgranuloma	2	3	0	0	0	3	2	3	0	0	0	3	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3
(Kidney)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Eosinophilic body	3	1	1	0	0	2	3	0	2	0	0	2	0	2	0	3	0	5	0	2	1	2	0	5
Basophilic tubule, cortex	1	4	0	0	0	4	0	5	0	0	0	5	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3
Mineralization	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0
Cyst, focal, cortico-medullary junction	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	3	2	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1
(Adrenal gland)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Brain)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Spinal cord)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Pituitary gland)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Heart)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Lung & Bronchus)	[5]						[0]						[0]						[5]					
Accumulation, foam cell, focal, alveolus	2	3	0	0	0	3													2	3	0	0	0	3
Mineralization, artery wall, lung	5	0	0	0	0	0													4	1	0	0	0	1
Metaplasia, osseous, focal, alveolus	5	0	0	0	0	0													4	1	0	0	0	1
(Trachea)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Thyroid gland)	[5]						[0]						[0]						[5]					
Ectopic thymus	5	0	0	0	0	0													4	1	0	0	0	1
(Parathyroid gland)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Thymus)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Mandibular lymph node)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Spleen)	[5]						[0]						[0]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	0	1	2	2	0	5													0	2	3	0	0	5
Deposit, pigment, brown	0	0	2	3	0	5													0	0	1	4	0	5
(Stomach)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Duodenum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Jejunum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Ileum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Cecum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Colon)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Rectum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Mesenteric lymph node)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Sciatic nerve)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Urinary bladder)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Prostate: ventral lobe)	[5]						[0]						[0]						[5]					
Cellular infiltration, lymphocyte & neutrophil, epithelium/interstitium	3	1	0	1	0	2													3	1	1	0	0	2
(Seminal vesicle & Coagulating gland)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Bone marrow of Femur)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Day 15 of recovery																								
(Testis)	[5]																		[5]					
Atrophy, focal, seminiferous tubule	5	0	0	0	0	0													4	1	0	0	0	1
(Epididymis)	[5]																		[5]					
No remarkable change																								
(Liver)	[5]																		[5]					
Fatty change, periportal	0	2	2	1	0	5													0	4	1	0	0	5
Microgranuloma	4	1	0	0	0	1													4	1	0	0	0	1
(Kidney)	[5]																		[5]					
Eosinophilic body	3	1	1	0	0	2													0	3	1	1	0	5
Basophilic tubule, cortex	1	4	0	0	0	4													1	4	0	0	0	4
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	3	2	0	0	0	2													4	1	0	0	0	1
(Adrenal gland)	[5]																		[5]					
No remarkable change																								

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade
[ ], Number of animals examined
a), vegicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

**, Significantly different from control p<0.01 (Two-tailed Mann-Whitney U test)

Table 25 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of histopathological findings in females (on day 5 of lactation)

Compound	4,4'-Biphenyldiol																							
Group (mg/kg)	0[a]						8						40						200					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Ovary)	[12]						[12]						[12]						[12]					
No remarkable change																								
(Liver)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Fatty change, periportal	1	4	0	0	0	4	0	5	0	0	0	5	2	3	0	0	0	3	1	4	0	0	0	4
Microgranuloma	3	2	0	0	0	2	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0
Hematopoiesis, extramedullary	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
(Kidney)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Basophilic tubule, cortex	2	3	0	0	0	3	3	2	0	0	0	2	2	3	0	0	0	3	2	3	0	0	0	3
Mineralization	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0
Dilatation, lumen, diffuse, distal tubule	5	0	0	0	0	0	4	0	1	0	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
(Adrenal gland)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Brain)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Spinal cord)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Pituitary gland)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Heart)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Lung & Bronchus)	[5]						[0]						[0]						[5]					
Accumulation, foam cell, focal, alveolus	4	1	0	0	0	1													2	3	0	0	0	3
Mineralization, artery wall, lung	5	0	0	0	0	0													4	1	0	0	0	1
Metaplasia, osseous, focal, alveolus	4	1	0	0	0	1													4	1	0	0	0	1
(Trachea)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Thyroid gland)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Parathyroid gland)	[5]						[0]						[0]						[4]					
No remarkable change																								
(Thymus)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Mandibular lymph node)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Spleen)	[5]						[0]						[0]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	0	0	1	4	0	5													0	0	2	3	0	5
Deposit, pigment, brown	0	0	4	1	0	5													0	0	3	2	0	5
(Stomach)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Duodenum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Jejunum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Ileum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Cecum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Colon)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Rectum)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Mesenteric lymph node)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Sciatic nerve)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Urinary bladder)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Uterus)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Vagina)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
(Bone marrow of Femur)	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade
[ ], Number of animals examined
a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 25 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of histopathological findings in females (on day 15 of recovery)

Compound	4,4'-Biphenyldiol													
Group (mg/kg)	0[a]							200						
Grade		-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.
(Ovary)	[5]							[5]						
No remarkable change														
(Liver)	[5]							[5]						
Fatty change, periportal		4	1	0	0	0	1		2	3	0	0	0	3
Microgranuloma		3	2	0	0	0	2		4	1	0	0	0	1
(Kidney)	[5]							[5]						
Basophilic tubule, cortex		4	1	0	0	0	1		5	0	0	0	0	0
Mineralization		5	0	0	0	0	0		4	1	0	0	0	1
(Adrenal gland)	[5]							[5]						
No remarkable change														

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade
[ ], Number of animals examined
a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5mL/kg)

Table 26

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Summary of estrous cycle

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Number of females examined	12	12	12	12
Pre-treatment period				
Number of females showing 4-day cycle	12	12	12	12
Treatment period				
Number of females showing				
4-day cycle	12	11	12	12
4- and 5-day cycle	0	1	0	0
Mean length of estrous cycle in days				
Mean ± S.D.	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Number of vaginal estrus during mating period				
Mean ± S.D.	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 27

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Reproductive performance of animals

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Number of pairs examined	12	12	12	12
Number of pairs copulated	11	11	12	12
Copulation index	91.7	91.7	100.0	100.0
Number of pregnant females	11	11	10	12
Fertility index	100.0	100.0	83.3	100.0
Pairing days until copulation Mean ± S.D.	2.5 ± 1.1	2.6 ± 1.2	2.7 ± 0.8	2.7 ± 1.2

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 28

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Development of pups up to day 4 of lactation; mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Number of pregnant females	11	11	10	12
Number of pregnant females with live newborns	11	11	10	12
Gestation index	100	100	100	100
Gestation length in days	22.4 ± 0.5 (11)	22.4 ± 0.5 (11)	22.0 ± 0.0 (10)	22.4 ± 0.5 (12)
Number of corpora lutea	15.9 ± 1.6 (11)	16.5 ± 1.1 (11)	16.2 ± 1.2 (10)	15.2 ± 1.5 (12)
Number of implantations	15.5 ± 1.7 (11)	14.3 ± 3.6 (11)	16.0 ± 1.6 (10)	14.7 ± 1.7 (12)
Implantation index	97.1 ± 4.3 (11)	86.9 ± 21.6 (11)	98.7 ± 4.2 (10)	96.7 ± 5.3 (12)
Day 0 of lactation				
Number of newborns	14.5 ± 2.3 (11)	13.8 ± 4.0 (11)	15.1 ± 1.7 (10)	14.0 ± 1.8 (12)
Delivery index	93.2 ± 6.9 (11)	94.6 ± 12.2 (11)	94.4 ± 4.8 (10)	95.5 ± 5.2 (12)
Number of live newborns	14.3 ± 2.3 (11)	13.8 ± 4.0 (11)	14.6 ± 1.6 (10)	12.8 ± 2.9 (12)
Birth index	92.0 ± 7.6 (11)	94.6 ± 12.2 (11)	91.5 ± 8.1 (10)	88.8 ± 20.1 (12)
Live birth index	98.7 ± 3.0 (11)	100.0 ± 0.0 (11)	97.0 ± 7.5 (10)	93.3 ± 20.8 (12)
Sex ratio on day 0	54.8 ± 14.5 (11)	49.4 ± 17.4 (11)	52.5 ± 15.1 (10)	51.6 ± 14.7 (12)
Day 4 of lactation				
Number of live pups	13.9 ± 2.1 (11)	13.6 ± 4.0 (11)	14.5 ± 1.5 (10)	12.4 ± 4.2 (12)
Viability index	97.7 ± 4.0 (11)	98.8 ± 2.6 (11)	99.4 ± 2.0 (10)	91.7 ± 28.9 (12)
Sex ratio on day 4	54.4 ± 14.9 (11)	49.3 ± 17.9 (11)	52.1 ± 15.9 (10)	50.8 ± 15.2 (11)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Gestation index = (number of pregnant females with live newborns/number of pregnant females) × 100, %
Implantation index = (number of implantations/number of corpora lutea) × 100, %
Delivery index = (number of newborns/number of implantations) × 100, %
Birth index = (number of live newborns/number of implantations) × 100, %
Live birth index = (number of live newborns/number of newborns) × 100, %
Sex ratio on day 0 = (number of male live newborns/number of live newborns) × 100, %
Viability index = (number of live pups on day 4 of lactation/number of live newborns) × 100, %
Sex ratio on day 4 = (number of male live pups on day 4 of lactation/number of live pups on day 4 of lactation) × 100, %

Table 29

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Body weight of pups up to day 4 of lactation; mean ± S.D. (N)

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Day 0 of lactation (at birth)				
Number of live newborns				
Male	7.7 ± 2.1 (11)	6.9 ± 3.0 (11)	7.6 ± 2.1 (10)	6.5 ± 2.2 (12)
Female	6.5 ± 2.5 (11)	6.9 ± 3.3 (11)	7.0 ± 2.6 (10)	6.3 ± 2.7 (12)
Body weight of live newborn (g)				
Male	6.8 ± 0.8 (11)	6.9 ± 0.8 (11)	6.5 ± 0.5 (10)	6.6 ± 0.8 (12)
Female	6.6 ± 0.6 (11)	6.6 ± 0.7 (11)	6.0 ± 0.4 (10)	6.2 ± 0.8 (12)
Day 4 of lactation				
Number of live pups				
Male	7.5 ± 2.3 (11)	6.8 ± 3.1 (11)	7.5 ± 2.2 (10)	6.8 ± 2.0 (11)
Female	6.4 ± 2.2 (11)	6.8 ± 3.2 (11)	7.0 ± 2.6 (10)	6.7 ± 2.5 (11)
Body weight of pup (g)				
Male	10.6 ± 1.7 (11)	10.7 ± 1.1 (11)	10.2 ± 1.1 (10)	10.8 ± 1.0 (11)
Female	10.3 ± 1.4 (11)	10.4 ± 1.4 (11)	9.8 ± 1.0 (10)	10.0 ± 0.9 (11)

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)

Table 30

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 4,4'-biphenyldiol by oral administration in rats

Morphological findings of pups

Compound	4,4'-Biphenyldiol			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Dead pups				
Number of dead pups examined	3	1	6	12
External observation	3	1	6	12
Visceral observation	0	0	5	1
Number of pups with external changes	0	0	0	0
Number of pups with visceral changes	0	0	0	0
Live pups				
At birth (day 0)				
Number of newborns examined	157	152	146	154
Number of newborns with external changes	0	0	0	0
At necropsy (day 4 of lactation)				
Number of pups examined	153	150	145	149
Number of pups with external changes	0	0	0	0
Number of pups with visceral changes	0	0	0	0

a), vehicle control (0.5% CMC Na solution, 5 mL/kg)