

最 終 報 告 書

『4,4'-ビフェノールのマウスを用いる小核試験』

試験番号 H-08471

群馬県渋川市有馬 1967-11

株式会社 SRD 生物センター

試験実施の概括

試験名称：4,4'-ビフェノールのマウスを用いる小核試験

試験番号 H-08471

1. 試験目的

4,4'-ビフェノールについてげっ歯類を用いて小核試験を行い、小核を有する多染性赤血球の出現頻度から変異原性の有無を検討する。

2. 動物愛護

株式会社 SRD 生物センター動物実験委員会の承認済み。承認番号 2008009

3. 遵守した GLP

厚生労働省、経済産業省ならびに環境省の「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」〔平成 15 年 11 月 21 日（薬食発第 1121003 号）厚生労働省医薬食品局長、（平成 15・11・17 製局第 3 号）経済産業省製造産業局長、（環保企発第 031121004 号）環境省総合環境政策局長連名基準、最終改正：平成 17 年 4 月 1 日〕

4. 参照したガイドライン

「厚生労働省の「医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて」（平成 11 年 11 月 1 日医薬審第 1604 号厚生省医薬安全局審査管理課長）ならびに「OECD Guideline for the Testing of Chemicals #474 (adopted on July 21, 1997)」(以下、ガイドラインと略す)

5. 試験委託者

名 称	国立医薬品食品衛生研究所
所在地	東京都世田谷区上用賀 1-18-1

6. 試験受託者

名 称	株式会社 SRD 生物センター
所在地	群馬県渋川市有馬 1967-11

7.試験施設

名 称 株式会社 SRD 生物センター 渋川ラボラトリー
所在地 群馬県渋川市有馬 1967-11

8.記録、資料および標本の保存

(1) 保存期間

化審法 GLP 第 32 条(化審法第 4 条第 1 項若しくは第 2 項、第 4 条の 2 第 2 項、第 3 項若しくは第 8 項、第 5 条の 4 第 2 項、第 24 条第 2 項又は第 25 条の 3 第 2 項の規定による通知を受けた後 10 年間) に規定された期間

(2) 保存物

①試験計画書（原本）、試験に関する記録文書、最終報告書（原本）、
試験実施によって得られた生データ、資料類、被験物質保存サンプル

：株式会社 SRD 生物センター 渋川ラボラトリー

②標 本

：株式会社 SRD 生物センター 榛名ラボラトリー

目 次

	頁
最終報告書の作成	(5 の 1)
試験実施の概括	(5 の 2)
I. 要 約	1
II. 試験目的	2
III. 試験材料および方法	2
IV. 試験結果	8
V. 考察および結論	9
VI. 参考文献	9
Table 1. Results of micronucleous test of 4,4'-Biphenol in male mice	10
Appendix 1. Dose determination test results of 4,4'-Biphenol in male mice (Individuals)	11
Appendix 2. Dose determination test results of 4,4'-Biphenol in female mice (Individuals)	12
Appendix 3. Micronucleous test results of 4,4'-Biphenol in male mice (Individuals)	13

I. 要 約

4,4'-ビフェノールの変異原性 (*in vivo*) を検討するため、Crlj:CD1(ICR)系の雄性マウスの骨髓細胞を用いて小核を有する多染性赤血球(MNPCE)の誘発性を検討した。

本試験においては 1000 mg/kg を最高用量とし、500 および 250 mg/kg の計 3 用量を設定した。4,4'-ビフェノールおよび陰性対照の投与経路は経口とし、単回投与した。さらに陽性対照群として Mitomycin C (MMC) を 2 mg/kg 単回腹腔内投与した。投与後 24 時間にマウスを屠殺し、骨髓塗抹標本を作製して観察した。その結果、4,4'-ビフェノールの投与群では、MNPCE の出現頻度および総赤血球 (RBC) に対する多染性赤血球 (PCE) の比率について、いずれも陰性対照群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった。なお、4,4'-ビフェノール投与後の一般状態の観察においては、1000 mg/kg 投与群の全ての動物で自発運動の低下および体温下降の毒性徴候が認められた。一方、陽性対照群の MNPCE の出現頻度は、陰性対照群と比較して有意に増加した。

以上の結果より、当該試験条件下において 4,4'-ビフェノールによりマウス骨髓細胞に対する小核誘発作用は認められなかったことから、4,4'-ビフェノールの変異原性は陰性と判断された。

II. 試験目的

4,4'-ビフェノールについてげっ歯類を用いて小核試験を行い、小核を有する多染性赤血球の誘発性から変異原性の有無を検討した。

III. 試験材料および方法

1. 被験物質^注

- | | |
|----------------|--|
| (1) 名 称 | 4,4'-ビフェノール |
| (2) 別名 (商品名) | 4,4'-ビフェニルジオール |
| (3) CAS No. | 92-88-6 |
| (4) 化学式 | (C ₆ H ₄ OH) ₂ |
| (5) 分子量 | 186.21 |
| (6) Lot No. | |
| (7) 純 度 | 100.0% |
| (8) 融 点 | 282.3℃ |
| (9) 外 観 | 白色粉末 |
| (10) 保管条件 | 室温、遮光 |
| (11) 検査日 | 2008 年 12 月 4 日 |
| (12) 有効期限 | 2012 年 12 月 31 日 |
| (13) 同一性 | 提供された情報と送付された被験物質のラベルおよび外観を目視により 比較し確認した。 |
| (14) 安定性(GLP) | 実験開始前および終了後に赤外分光光度計 (フーリエ変換赤外分光光度計、FT-720、堀場製作所) を用いて被験物質の赤外吸収スペクトルを測定し、両者の赤外吸収スペクトルを比較した結果、類似していることから安定であることを確認した (Attached sheet 2)。 |
| (15) 残余被験物質の処分 | 関連試験終了後、残余被験物質はサンプルとして少量採取した後、廃棄処分する。 |

^注: 本被験物質は、和光純薬工業株式会社製造の製品 (4,4'-ビフェニルジオール) を SRD 生物センターで購入したものである。特性は製造元の情報による。

2. 対照物質

(1) 陰性対照物質

0.5%CMC·Na 溶液（カルボキシメチルセルロースナトリウム【Lot No. SDE1990、和光純薬工業株式会社】を、注射用蒸留水【局方、Lot No. 80901D、扶桑薬品工業株式会社】で 0.5%に調製したもの）

(2) 陽性対照物質

Mitomycin C（MMC：Lot No. ALJ4428、和光純薬工業株式会社）を注射用蒸留水（局方、Lot No. 61008D、扶桑薬品工業株式会社）で溶解し、2 mg/10 mL/kg の濃度となるよう生理食塩液（局方、Lot No. 80114D、扶桑薬品工業株式会社）で用時に調製したものを使用した。

3. 被験物質の調製

(1) 使用する溶媒および溶媒選択の理由

事前に溶媒に対する溶解性あるいは懸濁性の検討を行った結果、水に溶解せず懸濁性も不良であったが、0.5%CMC·Na 溶液には良好に懸濁した。したがって、0.5%CMC·Na 溶液を選択した。

(2) 被験物質液の調製

被験物質を高精度・分析用セミ・マイクロ電子天びん（型式：ER-182A、株式会社エー・アンド・デイ）で用量設定試験では 4000 mg（実測値：4000.8 mg）、本試験では 1000 mg（実測値：1000.9 mg）秤量後、0.5%CMC·Na 溶液にメノウの乳鉢、乳棒を用いて懸濁させた。これを用量設定試験では 20 mL、本試験では 10 mL にメスアップしたものを最高用量とし、段階希釈し各用量の被験物質液を調製した。なお、被験物質液は黄色灯下で用時調製とした。

4. 使用動物

ガイドラインを参照して、使用動物はげっ歯類であるマウスとし、また小核試験に一般的に用いられており、かつ、背景データが豊富であることから CrIj:CD1(ICR)系マウスを選択した。用量設定試験では 7 週齢の雌雄マウスを各 20 匹（体重範囲：雄 30.5～33.5 g、雌 22.9～27.2 g）本試験では雄マウスを 30 匹（体重範囲：30.2～36.3 g）、日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県港北区新横浜 3-17-6）から購入した。動物入荷後、6 日間検疫・馴化を行った。検疫・馴化期間中は一般状態を毎日 1 回観察し、入荷時および検疫・馴化期間終了日に電子天秤（L2200S、ザルトリウス株式会社）を用いて体重を測定した。検疫・馴化期間終了日に動物の健康状態評価を実施し、体重の減少が認められた用量設定

試験の雌の 1 例（仮動物番号 F001）を除き、異常動物がいないことを確認した。群分けは体重の減少が認められた動物を除き実施し、用量設定試験の雄では体重の軽い動物および重い動物 2 匹ずつ、雌では体重の軽い動物 1 匹および重い動物 2 匹、本試験では体重の軽い動物 3 匹および重い動物 2 匹を除いた動物を用いて体重による層別無作為化を行い、用量設定試験では各群 2 匹、本試験では各群 5 匹ずつ配分した。

群分け時（投与初日）の週齢は用量設定試験および本試験ともに 7 週齢、体重範囲は用量設定試験では雄 33.6～37.6 g、雌 26.7～29.1 g、本試験では雄 34.5～39.1 g であった。余剰動物（群分け除外動物）は頸椎脱臼により安楽死させた。識別方法については、ケージには試験番号、動物番号、投与経路、投与用量等を記載した色ラベルを貼付し、動物はピクリン酸 70%エタノール飽和溶液を用いて被毛の一部を染色して識別をした。

5. 飼育環境条件

(1) 飼育環境

動物は、コンベンショナル方式動物試験室（10 号室）にて、ポリカーボネート製マウス用飼育ケージ（215 W×320 D×130 H mm）に、5 匹（検疫・馴化期間中）、2 匹（用量設定試験実験中）、5 匹（本試験実験中）ずつ配分して飼育した。飼育環境は温度 $22 \pm 3^\circ\text{C}$ （実測値：20.5～22.1℃）、湿度 $50 \pm 20\%$ （実測値：35.8～54.8%）、換気回数 10 回以上／時間（オールフレッシュエアー方式）、照明 12 時間／日（午前 7 時より午後 7 時、照度 150～300 ルクス）とした。

ケージ、給水瓶および網蓋は次亜塩素酸ナトリウムの 500 倍水溶液で消毒したものを使用し、以後、ケージおよび給水瓶は 1 週に 2 回交換した。また、床敷にはオートクレーブ滅菌後、乾燥させたクリーンチップ（日本クレア株式会社）を使用し、ケージと共に交換した。なお、毎日作業終了後清掃し、塩化ベンゼトニウム（ハイアミン液、三共株式会社）400 倍水溶液で床面を清拭消毒した。

(2) 飼 料

実験動物用固型飼料 CE-2（Lot No. E2108 日本クレア株式会社：東京都目黒区東山 1-2-7）をケージ網蓋に入れ、自由に摂取させた。なお、販売者が財団法人東京顕微鏡院（東京都中央区日本橋箱崎 44-1）に依頼して実施した使用ロットの飼料中混在物、汚染物質の分析結果の写しを入手し、自社で定めた許容基準に適合していることを給餌前に確認した。

(3) 飲料水

渋川市水道水を 250 mL のポリカーボネート製給水瓶により自由摂取させた。なお、当施設が指定した場所より定期的に採取した飲料水について「水質基準に関する省令（平成 15 年厚生労働省令第 101 号）」および「水道法施行規則の一部を改正する省令（平成 19 年厚生労働省令第 136 号）」に基づいて、これらの分析結果が上記水質基準に適合していることを確認した。

6. 群構成

(1) 用量設定試験

投与用量は 2000 mg/kg を最高用量（ガイドラインによる）として、以下公比 2 で 4 段階の用量を設定した（次表参照）。

群 No.	被験物質 投与用量 (mg/kg)	性	処理時間 (hr)	動物数	動物番号
01	250	雄	24	2	01M01、01M02
			48	2	01M03、01M04
		雌	24	2	01F01、01F02
			48	2	01F03、01F04
02	500	雄	24	2	02M01、02M02
			48	2	02M03、02M04
		雌	24	2	02F01、02F02
			48	2	02F03、02F04
03	1000	雄	24	2	03M01、03M02
			48	2	03M03、03M04
		雌	24	2	03F01、03F02
			48	2	03F03、03F04
04	2000	雄	24	2	04M01、04M02
			48	2	04M03、04M04
		雌	24	2	04F01、04F02
			48	2	04F03、04F04

(2) 本試験

用量設定試験の結果、本試験では雄を用いて、処理時間は 24 時間、1000 mg/kg を最高用量として、以下公比 2 で 3 段階の用量を設定した(次表参照)。

群 No.	群名	試験物質	投与用量 (mg/kg)	動物数	動物番号
10	陰性対照群	0.5%CMC-Na	0	5	10M01～10M05
11	被験物質群	4,4'-ビフェ ノール	250	5	11M01～11M05
12			500	5	12M01～12M05
13			1000	5	13M01～13M05
14	陽性対照群	Mitomycin C	2	5	14M01～14M05

7.一般状態観察

用量設定試験、本試験ともに投与日から標本作製日まで一般状態観察を行った。投与日は、投与後約 15、30 分、1、3、6 時間、その後は毎日 1 回以上、一般状態の変化および死亡の有無を観察した。

8.試験方法

試験は Schmid ¹⁾ の方法で行った。

(1) 投 与

用量設定試験では、投与直前のマウスの体重から投与液量を算出し、マウス用胃ゾンデを取り付けた 1 mL のディスポーザブルシリンジで単回経口投与した。本試験では、陰性対照群および被験物質群は用量設定試験と同様な方法で行い、陽性対照群は 25G の針を取り付けたディスポーザブルシリンジを用いて単回腹腔内投与した。投与液量はいずれも 10 mL/kg とした。

なお、投与経路の選択理由は、被験物質群においてはヒトへの暴露が最も予想される経路であるため、陽性対照群は感度が高いためそれぞれ選択した。

(2) 骨髓細胞の洗い出しおよび標本作製

投与後、処理時間(用量設定試験では 24 あるいは 48 時間、本試験では 24 時間)を経過したマウス(生存例のみ)を頸椎脱臼によって屠殺し、右大腿骨を摘出した。予め番号を記した遠沈管に、牛胎児血清(Lot No. 432058、Gibco)を 1 mL のディスポーザブルシリンジに充填させて骨髓細胞を洗い出した。その後、1000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、上清を除いてから攪拌し、パストゥールピペットを用いて採取された骨髓細胞塊を軽くピペッティングして均一な細胞懸濁液とした。各懸濁液をそれぞれ 1 枚のスライドグラスに少量滴下して塗

抹し、骨髓塗抹スライド標本とした。

(3) 染色

塗抹標本をメタノールで5分間固定し、1/150 mol/L リン酸緩衝液 (pH 6.8) で3%に調製したギムザ染色液 (Lot No. HX773198、MERCK) で30分染色した。その後同じ緩衝液で洗浄し、0.004%クエン酸水溶液で数秒間処理した後、水で洗浄した。最終的に水洗し、自然乾燥させた。

9. 観 察

スライド標本をランダムイズ (スライドにランダムなコード番号を記載) し、スライド標本を微分干渉型生物顕微鏡 (型式: BHS-323N、株式会社オリンパス) で100倍の油浸レンズを用いて観察した。ただし、用量設定試験ではランダムイズは実施しなかった。1個体につき、総赤血球 (RBC) 200個当たりの多染性赤血球 (PCE) と正染性赤血球 (NCE) の数を測定し、この結果より総赤血球中の多染性赤血球の比率を求めた。また、同じ標本から2000個の多染性赤血球を観察し、青紫色を呈する小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) の数を測定して、出現頻度を算出した。

10. 結果の判定

各投与群における MNPCE の出現頻度に、用量依存性を伴う増加または陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められる場合に陽性と判定し、それ以外は陰性と判定した。なお、最終的な判定は生物学的意義を重要視し、統計学的解析は判定の補助的手段として用いた。

また、陰性、陽性対照群の MNPCE の出現頻度が、共に背景データの範囲 (最小値～最大値) 内であれば実験操作が適切に行われたものとした。

11. 統計学的解析

本試験における各投与群の MNPCE の出現頻度および PCE と RBC の比率について、陰性対照群と被験物質群および陽性対照群との間、あるいは被験物質投与群間で Wilcoxon の順位和検定を用いて有意差検定を実施した。なお、有意水準はそれぞれ危険率 5%未満および 1%未満とした。

IV. 試験結果

本試験における最高用量、処理時間および使用する動物の性を決定するため、雌雄マウスに被験物質を 250、500、1000 および 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 24 あるいは 48 時間に骨髓塗抹標本を作製し顕微鏡観察した。

その結果、MNPCE の出現頻度、および RBC に対する PCE の比率いずれも、雌雄ならびに処理時間（24 および 48 時間）に顕著な差は無かった（Appendix 1 および 2）。なお、投与後の一般状態の観察では雄の 2000 mg/kg 投与群で 2 例（動物番号 04M02、04M04）、雌の 2000 mg/kg 投与群で 1 例（動物番号 04F03）の死亡が認められた。また、1000 mg/kg 以上の投与群における全ての動物に、自発運動の低下および体温下降の毒性症状が認められた。

以上の結果から、本試験における使用動物の性は雄、処理時間は 24 時間、最高用量は 1000 mg/kg とし、以下公比 2 で 500 および 250 mg/kg の計 3 用量を設定した。投与方法は陰性対照群および被験物質群で単回経口、陽性対照群では単回腹腔内投与とした。投与後 24 時間に骨髓塗抹標本を作製し顕微鏡観察した。

本試験の結果、MNPCE の出現頻度は、陰性対照群では $0.11 \pm 0.07\%$ 、被験物質群の 250、500 および 1000 mg/kg ではそれぞれ 0.11 ± 0.08 、 0.09 ± 0.07 および $0.14 \pm 0.08\%$ であり、陰性対照群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった。なお、陽性対照群では $4.12 \pm 1.10\%$ であり、陰性対照群と比べ有意な増加が認められた。一方、RBC に対する PCE の比率は、陰性対照群では $52.70 \pm 3.96\%$ 、被験物質群の 250、500 および 1000 mg/kg ではそれぞれ 47.30 ± 4.37 、 50.10 ± 5.35 および $51.30 \pm 6.20\%$ 、陽性対照群では $48.20 \pm 2.39\%$ であり、陰性対照群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった（Table 1、Appendix 3）。また、投与後の一般状態の観察では、1000 mg/kg の投与群における全ての動物に、自発運動の低下および体温下降の毒性症状が認められた。

V. 考察および結論

4,4'-ビフェノールの変異原性 (*in vivo*) を検討するため、CrIj:CD1(ICR)系の雄性マウスの骨髓細胞を用いて小核を有する多染性赤血球(MNPCE)の誘発性を検討した。

本試験における最高用量、処理時間および使用する動物の性を決定するため、雌雄マウスを用いて、250～2000 mg/kg の用量で用量設定試験を行い、骨髓塗抹標本を観察した。その結果、MNPCE の出現頻度、および RBC に対する PCE の比率いずれも、雌雄ならびに処理時間(24 および 48 時間)に顕著な差はなかった。また、投与後の一般状態の観察では 2000 mg/kg 投与群において、雄で 2 例、雌では 1 例の死亡が認められた。また、1000 mg/kg 以上の投与群においては全ての動物に、自発運動の低下および体温下降の毒性症状が認められた。

これらのことから、本試験における使用動物の性は雄、処理時間は 24 時間、最高用量は 1000 mg/kg とし、以下公比 2 で計 3 用量とした。その結果、各用量の被験物質群では、MNPCE の出現頻度および RBC に対する PCE の比率について、いずれも陰性対照群と比較して顕著な差は認められなかったため、生物学的に有意な差は無いと判断した。また統計学的解析においても有意な差は認められなかった。なお、投与後の一般状態の観察では、1000 mg/kg 投与群で自発運動の低下および体温下降の毒性徴候を示す動物が認められた。一方、陽性対照群では、MNPCE の出現頻度が有意に増加したが、RBC に対する PCE の比率については有意な差は認められなかった。

また、陰性、陽性対照群の MNPCE の出現頻度が、共に背景データの範囲(最小値～最大値)内であったため、当該試験が適正な条件下で実施されたことが確認された(Attached sheet 1)。

以上の結果より、当該試験条件下において 4,4'-ビフェノールによりマウス骨髓細胞に対する小核誘発作用は認められなかったことから、4,4'-ビフェノールの変異原性は陰性と判断された。

VI. 参考文献

- 1) Schmid W. (1975) The micronucleus test. Mutation Res., 31, 9-15

Table 1. Results of micronucleus test of 4,4'-Biphenol in male mice

Test Substance	Dose (mg/kg)	Sampling period (hr)	No. of animals	No. of PCE examined	MNPCE	MNPCE/PCE (Mean±S.D. ,%)	PCE/RBC (Mean±S.D. ,%)	Judgement
Negative	0	24	5	10000	11	(0.11 ± 0.07)	(52.70 ± 3.96)	—
4,4'-Biphenol	250	24	5	10000	11	(0.11 ± 0.08)	(47.30 ± 4.37)	
	500	24	5	10000	9	(0.09 ± 0.07)	(50.10 ± 5.35)	
	1000	24	5	10000	14	(0.14 ± 0.08)	(51.30 ± 6.20)	
Positive control	2	24	5	10000	412	(4.12 ± 1.10)*	(48.20 ± 2.39)	+

PCE : Polychromatic erythrocyte, MNPCE : Micronucleated PCE, RBC : Red blood cells

Dosing volume : 10 mL/kg in all groups

Negative control : 0.5%CMC-Na (Carboxymethyl Cellulose Sodium Salt) solution

Positive control : Mitomycin C

Mean±S.D. : Results are the mean of 5 male mice

* : Significantly different from negative control at $P < 0.01$

Study No. H-08471

Appendix 1. Dose determination test results of 4,4'-Biphenol in male mice (Individuals)

Test substance	Dose (mg/kg)	Sampling period (hr)	Animal No.	No. of PCE examined	No. of MNPCE	No. of RBC examined	No. of PCE	PCE/RBC (%)
4,4'-Biphenol	250	24	01M01	2000	2	200	99	49.5
			01M02	2000	3 (0.13)	200	104	52.0
		48	01M03	2000	2	200	108	54.0
			01M04	2000	5 (0.18)	200	95	47.5
	500	24	02M01	2000	3	200	104	52.0
			02M02	2000	4 (0.18)	200	113	56.5
		48	02M03	2000	1	200	107	53.5
			02M04	2000	3 (0.10)	200	97	48.5
	1000	24	03M01	2000	1	200	104	52.0
			03M02	2000	4 (0.13)	200	89	44.5
		48	03M03	2000	3	200	99	49.5
			03M04	2000	1 (0.10)	200	112	56.0
	2000	24	04M01	2000	2	200	105	52.5
			04M02*	—	— (0.10)	—	—	—
		48	04M03	2000	3	200	92	46.0
			04M04*	—	— (0.15)	—	—	—

() : Mean %

* : Dead

PCE : Polychromatic erythrocyte, MNPCE : Micronucleated PCE, RBC : Red Blood cells

Dosing volume : 10 mL/kg in all groups

Study No. H-08471

Appendix 2. Dose determination test results of 4,4'-Biphenol in female mice (Individuals)

Test substance	Dose (mg/kg)	Sampling period (hr)	Animal No.	No. of PCE examined	No. of MNPCE	No. of RBC examined	No. of PCE	PCE/RBC (%)
4,4'-Biphenol	250	24	01F01	2000	1	200	108	54.0
			01F02	2000	3 (0.10)	200	97	48.5
		48	01F03	2000	3	200	120	60.0
			01F04	2000	2 (0.13)	200	100	50.0
	500	24	02F01	2000	3	200	102	51.0
			02F02	2000	4 (0.18)	200	101	50.5
		48	02F03	2000	3	200	97	48.5
			02F04	2000	0 (0.08)	200	110	55.0
	1000	24	03F01	2000	4	200	93	46.5
			03F02	2000	1 (0.13)	200	94	47.0
		48	03F03	2000	2	200	104	52.0
			03F04	2000	4 (0.15)	200	93	46.5
	2000	24	04F01	2000	2	200	94	47.0
			04F02	2000	4 (0.15)	200	108	54.0
		48	04F03*	—	—	—	—	—
			04F04	2000	3 (0.15)	200	109	54.5

() : Mean %

* : Dead

PCE : Polychromatic erythrocyte, MNPCE : Micronucleated PCE, RBC : Red Blood cells

Dosing volume : 10 mL/kg in all groups

Study No. H-08471

Appendix 3. Micronucleus test results of 4,4'-Biphenol in male mice (Individuals)

Test substance	Dose (mg/kg)	Sampling period (hr)	Animal No.	No. of PCE examined	No. of MNPCE	No. of RBC examined	No. of PCE	PCE/RBC (%)
Negative control	0	24	10M01	2000	3	200	107	53.5
			10M02	2000	4	200	93	46.5
			10M03	2000	1	200	103	51.5
			10M04	2000	1	200	111	55.5
			10M05	2000	2	200	113	56.5
4,4'-Biphenol	250	24	11M01	2000	2	200	92	46.0
			11M02	2000	1	200	81	40.5
			11M03	2000	2	200	96	48.0
			11M04	2000	1	200	101	50.5
			11M05	2000	5	200	103	51.5
	500	24	12M01	2000	0	200	83	41.5
			12M02	2000	2	200	106	53.0
			12M03	2000	3	200	105	52.5
			12M04	2000	3	200	110	55.0
			12M05	2000	1	200	97	48.5
	1000	24	13M01	2000	1	200	114	57.0
			13M02	2000	4	200	98	49.0
			13M03	2000	4	200	88	44.0
			13M04	2000	4	200	117	58.5
			13M05	2000	1	200	96	48.0
Positive control	2	24	14M01	2000	75	200	97	48.5
			14M02	2000	105	200	104	52.0
			14M03	2000	89	200	91	45.5
			14M04	2000	48	200	95	47.5
			14M05	2000	95	200	95	47.5

PCE : Polychromatic erythrocyte, MNPCE : Micronucleated PCE, RBC : Red Blood cells

Dosing volume : 10 mL/kg in all groups

Negative control : 0.5%CMC-Na (Carboxymethyl Cellulose Sodium Salt) solution

Positive control : Mitomycin C

Study No. H-08471