p-tert-ブチルフェノール(p-tert-buty1phenol)
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

厚生省生活衛生局 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 |
|-----------------------------|-----|
| 緒言 | 2 |
| 試験材料および方法 | 3 |
| A. 被験物質 | 3 |
| B. 使用動物および飼育方法 | 3 |
| 1. 使用動物 | 3 |
| 2. 飼育方法 | 3 |
| C. 群分け法および個体識別法 | 3 |
| D. 投与量、投与期間および投与方法 | 4 |
| 1. 投与量の設定 | 4 |
| 2. 投与方法および投与期間 | 4 |
| E. 観察方法 | Ę |
| 1. 親動物 | 5 |
| a. 一般状態 | 5 |
| b. 体重 ······ | - 5 |
| c. 飼料消費量 ······ | . [|
| d. 交配 · | · |
| e. 分娩 ····· | . [|
| f. 雄動物の血液学的、血液生化学的および病理学的検査 | • |
| (1) 血液学的検査 | • |
| (2) 血液生化学的検査 | • |
| (3) 剖検、器官重量および病理組織学的検査 | 7 |
| g. 雌動物の剖検、器官重量および病理組織学的検査 | 7 |
| 2. 産児 | . 8 |
| a. 産児の観察 | . 8 |
| b. 体重測定 ······ | . 8 |
| c. 剖検 ······ | 8 |
| F. 統計分析 ······ | . , |

| \cdot | |
|--|----|
| 結果 | 10 |
| A. 反復投与毒性(F ₀ 動物所見) | 10 |
| 1. 死亡動物 | 10 |
| 2. 一般状態(Tables 1, 2; Appendices 1-1~2-4) | 10 |
| 3. 飼料消費量 (Tables 3~6; Appendices 3-1~6-4; Figures 1, 2) | 10 |
| 4. 体重 | 10 |
| a. 雄動物 (Tables 7, 8; Appendices 7-1~8-4; Figure 3) | 10 |
| b. 雌動物 (Tables 9~14; Appendices 9-1~14-4; Figure 4) | 10 |
| 5. 解剖時検査所見 | 11 |
| a. 雄動物 | 11 |
| (1) 血液学的検査 (Table 15; Appendices 15-1~15-4) | 11 |
| (2) 血液生化学的検査 (Table 16; Appendices 16-1~16-4) | 11 |
| (3) 剖検(Table 17; Appendices 17-1~17-4) | 11 |
| (4) 器官重量 (Table 18; Appendices 18-1~18-4) | 11 |
| (5) 病理組織学的検査 (Table 19; Appendices 19-1~19-2) ·········· | 11 |
| b. 雌動物 | 12 |
| (1) 剖検所見 (Tables 20-1~20-5; Appendices 20-1~20-4) | 12 |
| (2) 器官重量(Table 21; Appendices 21-1~21-4) | 13 |
| (3) 病理組織学的所見 (Tables 22-1~22-5; Appendices 22-1~22-4) | 13 |
| B. 生殖発生毒性 | 14 |
| 1. 生殖学的検査所見 | 14 |
| a. 交配成績(Table 23; Appendices 23-1~23-4) | 14 |
| b. 出産率および妊娠期間(Table 24; Appendices 24-1~24-4) | 14 |
| c. 分娩および哺育状態 | 14 |
| d. 黄体数、着床数および着床率(Table 24; Appendices 24-1~24-4) | 14 |
| 2. 産児観察所見(Tables 24~27; Appendices 24-1~25-4) | 14 |
| 考察 | 16 |
| 結論 | 17 |
| 文献 | 18 |
| | |

OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査研究事業の一環として、ラットを用いて p-tert-butylphenol(以下PTBP)の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、本化合物の雌雄動物に及ぼす毒性ならびに生殖・発生毒性について検討した。

8 週齢の Sprague-Dawley 系雌雄ラットに、交配期間および雌動物においては妊娠・哺育期間を通じて約 6 週間、PTBP の、20、60 および 200 mg/kg を経口投与し、F。動物および F」産児に対する影響を調査して大要次の結果を得た。

1. 一般毒性

200 mg/kg 投与群において 4 匹の雌動物に呼吸雑音が観察されたが、これは大量に投与された PTBP の刺激性によるものと思われる。

また、200 mg/kg 投与群においては血漿アルブミン濃度が軽度ではあるが減少し、それに伴って血漿総タンパクも減少していた。雄動物の血液学的および病理学的検査においては何ら異常は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

 F_0 動物の生殖能および産児の形態あるいは発育に関して、何ら異常は認められなかった。

本試験条件下において、PTBP の F_0 動物に対する毒性学的ならびに生殖・発生毒性学的最大無毒性量は 60 mg/kg であり、 F_1 産児に対する最大無毒性量は 200 mg/kg であった。

OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査研究事業の一環として、ラットを用いて p-tert-butylphenol (PTBP) の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、本化合物の雌雄動物に及ぼす毒性ならびに生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する。

【試験材料および方法】

A. 被験物質

p-tert-butylphenol(PTBP) (CAS 番号; 98-54-4, ロット番号;

純度;99.9%(wt%)〕は、室温で安定な、白色フレーク状の物質(Appendix 26)である。これを投与液とするため、0.5%メチルセルロース水溶液〔メチルセルロース(1500cp, 和光純薬工業株式会社,ロット番号:DSG 1980)、日本薬局方注射用水(三亜製薬株式会社,製造番号:DH004)〕に懸濁した。4%懸濁液(200 mg/kg)を調製し、これを段階希釈して他の投与群の投与液とした。懸濁した投与液は、室温、遮光条件下で8日間安定であることが確認されており(Appendix 27)、調製後7日以内に使用した。また、使用した投与液は均一に懸濁されていること(Appendix 28)、および所定量のPTBPが許容範囲内の濃度で含有されていることが確認された(Appendix 29)。

B. 使用動物および飼育方法

1. 使用動物

日本チャールス・リバー株式会社日野飼育センター生産の Sprague-Dawley 系雌雄ラット(Crj:CD, SPF) を 7 週齢時に購入し、馴化と検疫を兼ねて 5 日間飼育し、一般状態に異常が認められない動物を試験に使用した (Appendix 30)。群分け時の動物の体重範囲は、雌 195.0~226.3 g、雄 270.5~309.8 gであった。

2. 飼育方法

動物は、温度 24 ± 1 $^{\circ}$ 、相対湿度 55 ± 5 %、換気回数約15回/時間、照明12時間(午前7時~午後7時)に調節した飼育室で、金属製ケージ($22\times27\times19$ cm)に個別に収容して飼育し、固型飼料(CA-1、日本クレア株式会社)および飲料水を自由に摂取させた。妊娠18日以後は、飼育ケージの床にステンレス製床板を敷き、床敷として木製チップ(ホワイトフレーク®、日本チャールス・リバー株式会社)を適宜供給した。

C. 群分け法および個体識別法

雌雄動物とも投与初日(投与開始日=投与1日)の投与前に測定した体重に基づいて、 体重別層化無作為抽出法により群分けし、1群雌雄各13匹を使用した。これら雌雄動物に は、フェルトペンを用いて、尾に群識別番号および個体識別番号を印字した。また、個体 識別を容易にする目的で、投与群毎に色彩の異なるカードを懸け、これに群識別番号およ び個体識別番号を記入した。産児に関しては個体識別は行わなかった。

D. 投与量、投与期間および投与方法

1. 投与量の設定

本試験におけるPTBPの投与量を設定するために予備試験を実施した。

8週齢の Sprague-Dawley 系ラットの各群雌雄 5 匹に、PTBPの 0, 250, 500 および 1000 mg/kg を 2 週間経口投与し、毒性症状の観察および体重測定を行った。その結果、1000 mg/kg 投与群の雌動物 2 匹、雄動物 1 匹が死亡し、生存動物においては、体重の増加抑制ならびに呼吸困難症状を伴う異常呼吸音が 3 匹の雌動物に観察された。500 mg/kg 投与群においても、1000 mg/kg 投与群において認められたものと同様の異常呼吸音を発する動物が投与の進行と共に増加し、投与終了時には雌雄それぞれ 3 匹に観察された。以上の結果より、これらの投与量は最大耐量を超えると判断した。250 mg/kg 投与群においても、対照群と比較して有意な体重変化は認められなかったが、1 匹の雌動物より異常呼吸音が聴かれた。500 および 1000 mg/kg 投与群においては、異常呼吸音を発する動物の数は投与の進行と共に増加したことより、また、本試験の投与期間は予備試験より長いことを考慮すると、250 mg/kg も最大耐量を僅かに凌駕すると考え、本試験における高用量には 200 mg/kg を使用することとした。中間用量および低用量には、それぞれ 60 および 20 mg/kg を用いることとした。

2. 投与方法および投与期間

投与液量は、各投与群とも 5 ml/kg とし、対照群のラットには、PTBP 投与の媒体として用いた 0.5%メチルセルロース水溶液をPTBP投与群と同一条件で投与した。投与期間は、雄に対しては交配前 2 週間、交配期間 2 週間および交配期間終了後 2 週間の 6 週間、また、雌に対しては交配前 2 週間、交配期間中(交尾成立まで、最長 2 週間)ならびに交尾成立雌では妊娠期間を通して分娩後の哺育 3 日まで投与した。投与は毎日 1 回、ラット用胃管を用いて強制経口投与した。毎日の投与は午前中に行った。各動物の投与液量は、雄ならびに交尾成立前の雌については週 1 回の測定体重を基に、交尾成立後の雌については妊娠 0 日の体重を基に算出した。

E. 観察方法

- 1. 親動物
- a. 一般状態

試験期間中毎日観察し、必要に応じて観察頻度を増やした。

b. 体重

投与期間中週1回〔雄:投与1、8、15、22、29、36、42日、雌:投与1、8、15日、および妊娠0、7、14、20日)および解剖日に測定した。交尾した雌については、妊娠0、7、14、20日に、さらに分娩した雌では、分娩後0および4日(哺育0および4日)に測定した。

c. 飼料消費量

体重測定日と同じ日に給餌器中の飼料重量を測定し、測定日間の飼料消費量を算出した。交配期間中の飼料消費量は測定しなかった。交尾成立雌については、妊娠 0-7、7-14、14-20日および分娩した雌では、哺育 0-4日の飼料消費量を測定した。

d. 交配

投与15日の夕方から最長 2 週間、同一投与量群の雌雄動物を 1 対 1 で同居させた。交尾の確認は、毎朝、腟内の交尾栓および腟垢中の精子の存在を調べることにより行い、交尾が確認された雌については、その日を妊娠 0 日として起算し、雄から分離して個別に飼育した。

交配結果および妊娠の成否より、各投与群における、交尾率 [(交尾動物数/同居動物数)× 100]、受胎率 [(妊娠動物数/交尾動物数)× 100]、同居開始日から交尾確認日までの日数および雌の発情回帰回数を求めた。

e. 分娩

交尾の成立した雌動物は自然分娩させた。分娩状況を観察できた動物については、異常の有無を記録した。分娩が直接観察できなかった動物についても、分娩後の徴候から分娩障害の有無を判断し、個別に記録した。

分娩の確認は、午前9時~11時に行い、分娩が完了していることが確認できた個体につ

いては、その日を分娩日(哺育0日)とした。

分娩の完了が確認された動物について妊娠期間(妊娠0日~分娩日の日数)を計算し、 各投与群の平均妊娠期間および出産率 [(生存児出産雌数/妊娠雌数)× 100]を求めた。

f. 雄動物の血液学的、血液生化学的および病理学的検査

(1) 血液学的検査

最終投与日の翌日(投与43日相当日)、ネンブタール麻酔下に腹部後大静脈より、抗凝 固剤としてBDTAを用いて採血し、以下の項目について、記載した測定法により検査した。

| 項目 | 測定法 |
|------------------|-----------------------------|
| 赤血球数(RBC) | 電気抵抗法 |
| 白血球数(WBC) | 電気抵抗法 |
| 血色素量(Hb) | 吸光度法 |
| 平均赤血球容積(MCV) | 電気抵抗法 |
| ヘマトクリット値(Ht) | 計算 |
| 平均赤血球血色素量(MCH) | 計算 |
| 平均赤血球血色素濃度(MCHC) | 計算 |
| 血小板数 | 電気抵抗法 |
| 白血球分類 | 視算(静脈血塗沫標本Wright-Giemsa 染色) |

(2) 血液生化学的検査

血液学的検査のための採血に引き続き、抗凝固剤にヘパリンを用いて採血し、血漿を分離して次の項目について、記載した測定法により検査した。

総蛋白濃度 ビウレット法

アルブミン濃度 BCG法

総コレステロール濃度 COD・DAOS法

ブドウ糖濃度 グルコキナーゼ G6PDH法

尿素窒素濃度 ウレアーゼ Gl.DH法

クレアチニン濃度 Jaffe 法

アルカリフォスファターゼ活性パニトロュニ州ン酸基質法

GOT活性 SSCC法

GPT活性 SSCC法

総ビリルビン濃度 ビリルビン「ロシュ」キット S シリーズ

カルシウム濃度 ОСРС法

ナトリウム濃度 イオン電極法

カリウム濃度 イオン電極法

塩素濃度 イオン電極法

無機リン濃度 モリブデン酸直接法

A/G比 計算

(3) 剖検、器官重量および病理組織学的検査

血液検査のための採血に引き続いて、動物をペントバルビタール深麻酔下に放血、致死させて剖検した。肝臓、腎臓、胸腺、精巣および精巣上体については重量を測定した。また、胸腺、肝臓、腎臓、副腎、脳、心臓、脾臓、膀胱および肉眼的に異常の認められた器官は10%ホルマリンで固定し、精巣ならびに精巣上体はブアン液で固定し、そのうち対照群および高用量投与群についてはヘマトキシリン・エオジン染色を施した後に病理組織学的検査を行った。

g. 雌動物の剖検、器官重量および病理組織学的検査

分娩した雌動物は哺育4日に、交尾したが分娩しなかった雌は妊娠25日相当日に、それ

ぞれネンブタール深麻酔下に放血、致死させ、剖検した。妊、不妊に拘わらず、全ての動物の卵巣および子宮を摘出し、子宮については Salewski 法"を応用して着床痕を染色して着床数を確認した。卵巣は実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた後、ブアン液に固定して保存した。不妊動物の卵巣については、病理組織学的検査を行った。また、全ての動物について胸腺、肝臓および腎臓の重量を測定した。これらの器官および脳、心臓、脾臓、副腎、膀胱、子宮および剖検時に異常を認めた器官は10%ホルマリンに固定し、そのうち、高用量投与群および対照群についてはヘマトキシリン・エオジン染色を施した後に、病理組織学的検査を行った。

2. 産児

a. 産児の観察

哺育 0 日に産児数(生存児+死亡児)を数え、分娩率 [(産児数/着床痕数)×100] および産児生存率 [(生存産児数/着床痕数)×100] を求めた。また、産児の性別を調べ、外形異常の有無を観察した。性比は、産児数に対する雄産児数の比として算出した。また、哺育 0 日の生存率 [(生存産児数/産児数)×100] および哺育 4 日の生存率 [(哺育 4 日の生存産児数/哺育 0 日の生存産児数)×100] を求めた。死亡児は剖検し、胸腔および腹腔内の器官を除去した後、エタノールに固定して保存した。

b. 体重測定

哺育0日および4日に各腹雌雄別に合計体重を測定し、産児平均体重を計算した。

c. 剖検

哺育4日にエーテルを用いて安楽死させ、剖検した。胸腔および腹腔内の器官は摘出 し、各腹毎に10%ホルマリンに固定して保存した。屍体は、各腹毎にエタノールに固定し て保存した。

F. 統計分析

交尾率、受胎率および出産率については χ^2 検定を行った。その他のすべてのデータは、個体毎に得られた値あるいは各腹児の平均値を1標本として、先ず、Bartlett法により各群の分散の均一性について検定した。その結果、分散が均一であると判定された場合

には、一元配置型の分散分析を行い、群間に有意性が認められた場合には Dunnett法²¹ あるいは Scheffè法³¹ により対照群と各被験物質投与群との間で平均値の差の検定を行った。分散が均一でなかった場合は、Kruskal-Wallis⁴¹ の順位検定を行い、群間に有意性が認められた場合に対照群と各被験物質投与群との差について Dunnett型²¹ あるいは Scheffè型³¹ の検定を行った。病理組織学的検査所見中、対照群、処理群の両方に共通してみられ、処理群で頻度・程度が増加している所見については、Wilcoxonの順位和検定法により、対照群と処理群の差に関する有意差検定を行った。有意水準は、5%および1%とした。

A. 反復投与毒性(F₀動物所見)

1. 死亡動物

200 mg/kg 投与群の雌動物 1 匹(FB04006) が投与43日に死亡発見された。解剖の結果、主要な変化として、肺の退縮不全、赤色および黒色変化が観察され、病理組織学的には、肺の充血あるいは鬱血を示す変化が認められたが、投与過誤によるものと考えられた。

2. 一般状態 (Tables 1, 2; Appendices 1-1~2-4)

200 mg/kg 投与群においては、交配のために同居させていた 3 日間に、雌雄動物それぞれ 3 匹において尿道口周囲の被毛の汚染が観察されたが、交尾が成立したために分離飼育を始めるとこれは消失した。さらに、200 mg/kg 投与群の雌動物においては、30回目投与後より異常呼吸音を発する動物が発現し、投与の進行と共にその数は増加し、解剖直前には 4 匹の動物で観察された。

3. 飼料消費量 (Tables 3~6; Appendices 3-1~6-4; Figures 1, 2)

雌雄動物において、また、測定したいずれの時期においても、被験物質投与の影響は認められなかった。

4. 体重

- a. 雄動物 (Tables 7, 8; Appendices 7-1~8-4; Figure 3) 投与期間のいずれの時期においても、被験物質投与の影響は認められなかった。
- b. 雌動物 (Tables 9~14; Appendices 9-1~14-4; Figure 4)

交配開始前期間より妊娠期間を通して、いずれの投与群においても被験物質投与の影響は認められなかった。しかし、20 mg/kg 投与群の哺育期間中 4 日間の体重増加量が、対照群に比較して有意 (p<0.05) に減少していた。この変化は、主として 3 匹の母動物に由来するものであり、また、60 あるいは 200 mg/kg 投与群に同様の変化がみられていないことから、偶発的変化と考えられる。

- 5. 解剖時検査所見
- a. 雄動物
- (1) 血液学的検査 (Table 15; Appendices 15-1~15-4)

200 mg/kg 投与群において、赤血球数が統計学的に有意(p<0.01)に減少し、白血球数が統計学的に有意(p<0.01)に増加していた。当研究所における14週齢雄ラットを用いた過去5 試験の赤血球数の平均値は、 $768\sim838\times10^4/\text{mm}^3$ であり、白血球数の平均値は $83\sim133\times10^2/\text{mm}^3$ であった。これら背景データに比較すると、上記変化はいずれも軽度であり、毒性学的に意味のある変化ではなかった。

- (2) 血液生化学的検査 (Table 16; Appendices 16-1~16-4)
- 60 および 200 mg/kg 投与群においてアルブミン濃度が有意(p<0.05 あるいは p<0.01)に減少していた。しかし 60 mg/kg 投与群における変化は極めて軽微であり、正常範囲の値であった。また、200 mg/kg 投与群においては総蛋白量が有意(p<0.05)に減少し、A/G 比は被験物質投与群において減少傾向にあり、60 mg/kg 投与群においては有意(p<0.01)に減少していた。

一方、カリウム濃度は 200 mg/kg 投与群において有意 (p<0.01) に減少していたが、正常範囲の値であった。また、無機リン濃度が 200 mg/kg投与群において僅かではあるが有意 (p<0.01) に増加していた。

- (3) 剖検(Table 17; Appendices 17-1~17-4)被験物質投与に起因したと考えられる異常所見は認められなかった。
- (4) 器官重量(Table 18; Appendices 18-1~18-4)いずれの器官の実重量および比重量においても、統計学的に有意な変化は認められなかった。
 - (5) 病理組織学的検査(Table 19; Appendices 19-1~19-2)各器官における観察所見の概要を以下に示す。

胸腺

異常所見は認められなかった。

肝臓

対照群および 200 mg/kg 投与群に、小葉周辺性の肝細胞脂肪化、小肉芽腫および髄外造血がみられたが、両群間に頻度および程度の差はみられなかった。

腎臟

対照群および 200 mg/kg 投与群に、eosinophilic body、萎縮あるいは再生尿細管、腎盂の拡張がみられたが、両群間に頻度および程度の差はなかった。その他、200 mg/kg 投与群の1例に髄質の石灰沈着が認められた。

副腎

異常所見は認められなかった。

脳

異常所見は認められなかった。

心臓

異常所見は認められなかった。

脾臓

対照群および 200 mg/kg 投与群に髄外造血巣および色素沈着がみられたが、両群間に頻度および程度の差はなかった。

精巣

200 mg/kg 投与群の1例の精細管内に、多核巨細胞がみられた。

精巣上体

対照群および 200 mg/kg 投与群にリンパ球の浸潤がみられたが、両群間に頻度および程度の差はみられなかった。

b. 雌動物

(1) 剖検所見 (Tables 20-1~20-5; Appendices 20-1~20-4)

先の「死亡動物」の項でも述べたように、哺育期間中に死亡発見された 200 mg/kg 投与群の1匹の動物において、肺の充血あるいは鬱血を示す変化が認められた。

- (2) 器官重量(Table 21; Appendices 21-1~21-4)統計学的に有意な変化はみられなかった。
- (3) 病理組織学的所見 (Tables 22-1~22-5; Appendices 22-1~22-4) 各器官における観察所見の概要は以下の通りである。

胸腺

対照群の2例および死亡発見された200 mg/kg 投与群の1匹を含む3例に軽度から中等度の萎縮が認められたが、毒性学的に意味のあるものではなかった。

肝臓

対照群および 200 mg/kg 投与群に、小葉周辺性の肝細胞脂肪化、小肉芽腫および髄外造血がみられたが、両群間に頻度および程度の差はみられなかった。

腎臓

対照群および 200 mg/kg 投与群に萎縮あるいは再生尿細管がみられたが、両群間に 頻度および程度の差はなかった。その他、200 mg/kg 投与群に髄質尿細管の限局性拡張、 腎盂の拡張あるいは尿細管上皮の空胞化が各 1 例みられたが、毒性的に意味のあるもので はなかった。

副腎

異常所見は認められなかった。

脳

異常所見は認められなかった。

心臓

異常所見は認められなかった。

脾臓

対照群および 200 mg/kg 投与群に髄外造血巣および色素沈着がみられたが、両群間の頻度および程度に差はなかった。

膀胱

異常所見は認められなかった。

卵巣

不妊あるいは交尾が成立しなかったために組織観察を実施した動物(FB01001, FB01009,

FB01013, FB02011, FB02012, FB03008, FB04002, FB04007) のうち、20 mg/kg 投与群の1匹(FB02011) に卵胞嚢胞がみられた。

剖検時に異常の認められた器官

200 mg/kg 投与群の死亡発見された1匹の肺に、鬱血および水腫がみられた。

B. 生殖発生毒性

- 1. 生殖学的検査所見
 - a. 交配成績 (Table 23; Appendices 23-1~23-4) 被験物質の投与は、交配成績および妊娠率に影響を及ぼさなかった。
 - b. 出産率および妊娠期間 (Table 24; Appendices 24-1~24-4) 出産率および妊娠期間について、被験物質投与の影響は認められなかった。
 - c. 分娩および哺育状態

200 mg/kg 投与群の1匹の母動物(FB04006)が、妊娠18日より異常呼吸音を発し始め、その後この症状は継続し、分娩翌々日に死亡発見された。この動物では分娩状態を確認することができなかったが、分娩後の観察でも異常呼吸音以外、分娩状態の異常を示唆する一般状態の変化は認められなかった。しかし、妊娠20日から分娩日までの体重減少率が38.4%と高かった(対照群平均:27.7%)。また、営巣行動は認められず、産児の体温は低下しており、哺乳行動も観察されなかった。16匹の産児うち5匹は分娩日に死亡していた。この母動物の病理学的観察結果より、上記異常は投与過誤によりもたらされた変化であると判断した(死亡動物の項参照)。これ以外には分娩および哺育状態に異常は認められなかった。

- d. 黄体数、着床数および着床率(Table 24; Appendices 24-1~24-4) 統計学的有意差を示す変化は認められなかった。
- 2. 産児観察所見 (Tables 24~27; Appendices 24-1~25-4)

「分娩および哺育状態」の項で述べたように、200 mg/kg 投与群の1 匹の母動物が (FB04006) 分娩した産児16匹のうち5 匹が分娩日に死亡し、残る11匹も翌日には死亡して

いた。哺育1日に死亡した11匹のうち解剖観察可能であった7匹を含め、解剖観察可能であった死亡児には形態的異常は観察されなかった。また、哺育4日に解剖観察した産児には何ら異常所見は認められなかった。

この試験において観察された主な毒性変化としては、異常呼吸音および血漿アルブミンの減少であった。PTBPの主な毒性として皮膚および角膜などに対する刺激性が報告されており 50 、この試験で認められた 200~mg/kg 投与群における異常呼吸音は、被験物質の経口投与による口腔あるいは気管に対する刺激性が関与 60 したのかも知れない。しかし病理学的検査において、これを裏付ける所見は得られなかった。

一方、血漿アルブミンの減少については、60 mg/kg 投与群における減少は極めて軽微であったことから、毒性学的には意味のないものと考えられるが、200 mg/kg 投与群における減少はPTBP 投与による毒性反応と思われる。しかし、その他の血液生化学的検査値には、この変化を裏付けるような異常は、血漿蛋白系の変化を除いては認められず、また病理学的検査においても異常は観察されなかった。

生殖発生毒性学的には、投与過誤が生じたと判断された1匹の母動物において新産児死 亡がみられたが、これ以外の母動物およびその産児には何らの異常も観察されなかった。 本試験条件下において、PTBP の F_0 動物に対する毒性学的ならびに生殖・発生毒性学的最大無毒性量は 60~mg/kg であり、 F_1 産児に対する最大無毒性量は 200~mg/kg であった。

- 1) Salewski, E.: Färbewmethode zum makroskopischen Nachweis von implantationsstellen am Uterus der Ratte. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 247: 367 (1964)
- 2) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 20: 482-491 (1964)
- 3) Scheffè H.: A method for judging all contrasts in the analysis of variance. Biometrika 40: 87-104 (1953)
- 4) Kruskal, W. H. and Wallis, W. A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis. J. Amer. Statist. 47: 583-621 (1952)
- 5) Klonne, D. R., Myers, R. C., Nachreiner D. J.: Acute toxicity and primary irritation of para-tertiary butylphenol. Drug and chemical toxicology 11: 43-54 (1988)
- 6) Pauluhn, J., Rüngeler, W. and Mohr, U.: Phenyl isocyanate-induced asthma in rats following a 2-week exposure period. Fundam. Appl. Toxicol. 24: 217-228 (1995)

[TABLE and FIGURE INDEX]

p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

| Tables | (Appendices) | Table title |
|-----------|--------------------|---|
| 1 | (1-1 ~ 1-4) | Summary of clinical signs of Fo males |
| 2 | (2-1 ~ 2-4) | Summary of clinical signs of Fo females |
| 3 | (3-1 ~ 3-4) | Food consumption of Fo males during administration period |
| 4 | (4-1 ~ 4-4) | Food consumption of Fo females during pre-mating period |
| 5 | $(5-1 \sim 5-4)$ | Food consumption of Fo females during pregnant period |
| 6 | $(6-1 \sim 6-4)$ | Food consumption of Fo females during lactation period |
| 7 | $(7-1 \sim 7-4)$ | Body weight of Fo males during administration period |
| 8 | (8-1 ~ 8-4) | Body weight gain of Fo males during administration period |
| 9 | (9-1 ~ 9-4) | Body weight of Fo females during pre-mating period |
| 10 | $(10-1 \sim 10-4)$ | Body weight gain of Fo females during pre-mating period |
| 11 | $(11-1 \sim 11-4)$ | Body weight of Fo females during pregnant period |
| 12 | $(12-1 \sim 12-4)$ | Body weight gain of Fo females during pregnant period |
| 13 | $(13-1 \sim 13-4)$ | Body weight of Fo females during lactation period |
| 14 | $(14-1 \sim 14-4)$ | Body weight gain of Fo females during lactation period |
| 15 | $(15-1 \sim 15-4)$ | Summary of hematological findings in Fo males |
| 16 | $(16-1 \sim 16-4)$ | Summary of biochemical findings of Fo males |
| 17 | $(17-1 \sim 17-4)$ | Summary of macroscopic findings in F_0 males |
| 18 | $(18-1 \sim 18-4)$ | Absolute and relative organ weight of Fo males |
| 19 | (19-1 ~19-2) | Summary of histopathological findings in Fo males |
| 20-1~20-5 | $(20-1 \sim 20-4)$ | Summary of macroscopic findings in Fo females |
| 21 | $(21-1 \sim 21-4)$ | Absolute and relative organ weight of Fo females |
| 22-1~22-5 | $(22-1 \sim 22-4)$ | Summary of histopathological findings in Fo females |
| 23 | $(23-1 \sim 23-4)$ | Summary of reproductive performance |
| 24 | $(24-1 \sim 24-4)$ | Summary of development of F_1 pups up to day 4 of lactation |
| 25 | $(25-1 \sim 25-4)$ | Body weight of F ₁ pups up to day 4 of lactation |
| 26 | | Summary of morphological findings in pups |
| 27 | | Summary of morphological findings in F ₁ dead pups |
| | (26) | Physicochemical property |
| | (27) | Stability of the test article in the prepared sample |
| | (28) | Uniformity of the test article in the prepared sample |
| - | (29) | Content of the test article in the prepared sample |
| | (30) | 購入動物 |

| Figures | Figure title |
|---------|--|
| 1 | Average food consumption of Fo males during treatment period |
| 2 | Average food consumption of Fo females during treatment period |
| 3 | Average body weight of Fo males during treatment period |
| 4 | Average body weight of Fo females during treatment period |

Table 1 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of clinical signs of Fo males

| Number of Nose groups treated | | | Number of animals with clinical signs | | | | |
|-------------------------------|---------------------------|--|---|--|--|--|--|
| (mg/kg) | animals | 1- 7 | 8-14 | 15-21 | 22-28 | 29-35 | 36-43 |
| Vehicle control | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 60 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 200 | 13 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| | Vehicle control 20 60 200 | Dose groups treated animals Vehicle control 13 20 13 60 13 200 13 | Dose groups (mg/kg) treated animals 1-7 Vehicle control 13 0 20 13 0 60 13 0 200 13 0 | Dose groups (mg/kg) treated animals 1-7 8-14 Vehicle control 13 0 0 20 13 0 0 60 13 0 0 200 13 0 0 | Dose groups (mg/kg) treated animals 1-7 8-14 15-21 Vehicle control 13 0 0 0 20 13 0 0 0 60 13 0 0 0 200 13 0 0 3 | Dose groups (mg/kg) treated animals 1-7 8-14 15-21 22-28 Vehicle control 13 0 0 0 0 20 13 0 0 0 0 60 13 0 0 0 0 200 13 0 0 3 0 | Dose groups (mg/kg) treated animals 1-7 8-14 15-21 22-28 29-35 Vehicle control 13 0 0 0 0 0 20 13 0 0 0 0 0 60 13 0 0 0 0 0 200 13 0 0 3 0 0 |

Vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution

Table 2 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of clinical signs of Fo females

| Clinical signs | Dose groups | Number of treated | | Number of animals with clinical signs Day of treatment | | | | |
|----------------------------------|-----------------|-------------------|------|---|-------|-------|-------|--------------|
| · | (mg/kg) | animals | 1- 7 | 8-14 | 15-21 | 22-28 | 29-35 | 36-Sacrifice |
| Cumulative number of death | Vehicle control | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | () a) | 0 |
| | 20 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | () a) | 0 |
| | 60 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 200 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 b) |
| Stained fur in the lower abdomen | Vehicle control | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 20 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 60 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 200 | 13 | 0 | 0 | 3 ы | 0 | 0 | 0 |
| Stridor | Vehicle control | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 20 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 60 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 200 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 b) |

Vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution

a): One female sacrificed after day 28 of treatment (Not copulated)

^{5):} Figures include a female animal (FB04006) that was found dead on day 43. The cause of death was judged related to an intubation accident.

Table 3
p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
Food consumption of Fo males during administration period (g); average ± S.D. (N)

| Compound | | p-tert-butylg | phenol | |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dose group (mg/kg) | 0*) | 20 | 60 | 200 |
| Days of administration | 193.6 ± 11.2 (13) | 190.7 ± 14.3 (13) | 192.5 ± 21.1 (13) | 179.6 ± 22.3 (13) |
| 8 ~ 15 | 198.7 ± 21.1 (13) | 190.8 ± 18.2 (13) | 196.7 ± 12.3 (13) | 196.4 ± 22.2 (13) |
| 29 ~ 36 | 200.3 ± 18.7 (13) | 193.9 ± 17.8 (13) | 200.6 ± 14.5 (13) | 199.5 ± 19.2 (13) |
| 36 ~ 42 | 173.5 ± 15.6 (13) | 165.8 ± 16.5 (13) | 169.9 ± 9.8 (13) | 170.8 ± 14.7 (13) |

a): vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution (5 ml/kg)

Table 4 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Food consumption of F_0 females during pre-mating period (g); average \pm S.D. (N)

| Compound | | p-tert-butyl | phenol | |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dose group (mg/kg) | ()a) | 20 | 60 | 200 |
| Days of administration | | | | |
| 1 ~ 8 | 142.9 ± 8.6 (13) | 141.2 ± 11.4 (13) | 135.0 ± 11.4 (13) | 136.0 ± 11.6 (12) |
| 8 ~ 15 | 151.4 ± 12.9 (13) | 148.1 ± 13.1 (13) | 148.7 ± 12.2 (13) | 148.6 ± 8.3 (12) |

^{*):} vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution (5 ml/kg)

Table 5 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Food consumption of F_0 females during pregnant period (g); average \pm S.D. (N)

| Compound | | p-tert-butyl | phenol | |
|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dose group (mg/kg) | ()a) | 20 | 60 | 200 |
| Pregnant days | | | | |
| 0 ~ 7 | 182.5 ± 14.6 (10) | 180.3 ± 14.1 (11) | 176.4 ± 11.3 (12) | 175.7 ± 10.0 (10) |
| 7 ~ 14 | 196.5 ± 16.5 (10) | 192.4 ± 21.4 (11) | 185.9 ± 12.3 (12) | 193.3 ± 15.5 (10) |
| 14 ~ 20 | 164.5 ± 16.5 (10) | 161.4 ± 15.9 (11) | 160.0 ± 10.6 (12) | 165.6 ± 9.7 (10) |

a): vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution (5 ml/kg)

Table 6 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Food consumption of F_0 females during lactation period (g); average \pm S.D. (N)

| Compound p-tert-butylphenol | | | | | |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--|
| Dose group (mg/kg) | 0*) | 20 | 60 | 200 | |
| Postpartum days | 133.3 ± 14.7 (10) | 125.7 ± 23.4 (11) | 134.9 ± 11.3 (12) | 123.1 ± 17.9 (10) | |

a): vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution (5 ml/kg)

Table 7
p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
Body weight of Fo males during administration period (g); average ± S.D. (N)

| Compound | | p-tert-buty | lphenol | |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Bose group (mg/kg) | 0*) | 20 | 60 | 200 |
| Days of administration | | | | |
| 1 (Initial weight) | 288.8 ± 9.7 (13) | 288.4 ± 9.9 (13) | 288.3 ± 8.4 (13) | 288.6 ± 8.8 (13) |
| 8 | 340.0 ± 15.7 (13) | 332.3 ± 18.1 (13) | 330.4 ± 17.4 (13) | 326.5 ± 17.8 (13) |
| 15 | 383.4 ± 24.6 (13) | 369.9 ± 25.5 (13) | 371.2 ± 21.4 (13) | 368.0 ± 25.6 (13) |
| 22 | 411.2 ± 26.4 (13) | 396.8 ± 27.8 (13) | 402.9 ± 22.4 (13) | 397.0 ± 31.4 (13) |
| 29 | 443.7 ± 30.9 (13) | 427.1 ± 34.0 (13) | 434.2 ± 26.7 (13) | 428.5 ± 39.5 (13) |
| 36 | 469.3 ± 34.9 (13) | 451.1 ± 38.9 (13) | 459.4 ± 29.1 (13) | 456.2 ± 45.5 (13) |
| 42 | 491.4 ± 36.7 (13) | 470.6 ± 40.9 (13) | 476.7 ± 28.2 (13) | 476.3 ± 47.7 (13) |

^{*):} vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution

Table 8
p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
Body weight gain of Fo males during administration period (g); average ± S.D. (N)

| Compound | | p-tert-butyl | phenol | |
|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dose group (mg/kg) | () a) | 20 | 60 | 200 |
| Days of administration | | | | |
| 1 ~ 8 | 51.2 ± 10.8 (13) | 43.8 ± 13.0 (13) | 42.1 ± 11.9 (13) | 37.9 ± 12.7 (13) |
| 8 ~ 15 | 43.3 ± 9.6 (13) | 37.6 ± 10.0 (13) | 40.8 ± 5.8 (13) | 41.5 ± 10.4 (13) |
| 15 ~ 22 | 27.9 ± 8.7 (13) | 26.9 ± 8.5 (13) | 31.6 ± 7.5 (13) | 29.0 ± 8.9 (13) |
| 22 ~ 29 | 32.5 ± 7.2 (13) | 30.3 ± 7.9 (13) | 31.3 ± 6.0 (13) | 31.5 ± 11.0 (13) |
| 29 ~ 36 | 25.6 ± 7.4 (13) | 24.0 ± 8.2 (13) | 25.2 ± 5.2 (13) | 27.7 ± 8.4 (13) |
| 36 ~ 42 | 22.1 ± 5.4 (13) | 19.5 ± 5.8 (13) | 17.4 ± 3.4 (13) | 20.1 ± 3.8 (13) |

a): vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution

Table 9 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Body weight of F_0 females during pre-mating period (g); average \pm S.D. (N)

| Compound | | p-tert-butylg | phenol | |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dose group (mg/kg) | ()a) | 20 | 60 | 200 |
| Days of administration | | | | |
| 1 (Initial weight) | 207.8 ± 7.5 (13) | 208.0 ± 7.9 (13) | 207.6 ± 6.3 (13) | 206.7 ± 6.8 (12) |
| 8 | 229.8 ± 9.3 (13) | 226.8 ± 12.6 (13) | 222.7 ± 8.7 (13) | 224.8 ± 9.2 (12) |
| 15 | 248.4 ± 15.2 (13) | 245.3 ± 15.1 (13) | 244.9 ± 14.6 (13) | 247.3 ± 11.3 (12) |

^{*):} vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution (5 ml/kg)

Table 10
p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
Body weight gain of Fo females during pre-mating period (g); average ± S.D. (N)

| Compound | | p-tert-butyl | pheno l | |
|------------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| Dose group (mg/kg) | ()a) . | 20 | 60 | 200 |
| Days of administration | | | | |
| 1 ~ 8 | 22.0 ± 4.8 (13) | 18.8 ± 6.9 (13) | 15.1 ± 7.2 (13) | 18.1 ± 8.9 (12) |
| 8 ~15 | 18.6 ± 8.6 (13) | 18.5 ± 6.3 (13) | 22.2 ± 9.6 (13) | 22.5 ± 6.6 (12) |

a): vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution (5 ml/kg)

Table 11 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Body weight of Fo females during pregnant period (g); average \pm S.D. (N)

| Compound | | p-tert-butyl | pheno I | |
|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dose group (mg/kg) | ()a) | 20 | 60 | 200 |
| Pregnant days | | | | |
| 0 | 254.7 ± 15.0 (10) | 255.0 ± 17.0 (11) | 251.3 ± 13.8 (12) | 252.5 ± 16.7 (10) |
| 7 | 294.8 ± 15.2 (10) | 300.3 ± 17.5 (11) | 292.3 ± 17.5 (12) | 292.7 ± 18.8 (10) |
| 14 | 336.2 ± 21.7 (10) | 338.8 ± 23.1 (11) | 331.1 ± 18.2 (12) | 334.9 ± 22.5 (10) |
| 20 | 412.9 ± 26.8 (10) | 408.1 ± 36.8 (11) | 404.6 ± 23.2 (12) | 410.6 ± 27.1 (10) |

^{*):} vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution (5 ml/kg)

post in the state of

Table 12 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Body weight gain of Fo females during pregnant period (g); average \pm S.D. (N)

| Compound | | p-tert-buty | Iphenol | |
|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dose group (mg/kg) | () a) | 20 | 60 | 200 |
| Pregnant days | | · | | |
| 0 ~ 7 | 40.1 ± 5.2 (10) | 45.4 ± 8.4 (11) | 41.0 ± 5.5 (12) | 40.2 ± 9.7 (10) |
| 7 ~ 14 | 41.5 ± 8.2 (10) | 38.4 ± 7.1 (11) | 38.8 ± 5.6 (12) | 42.2 ± 8.1 (10) |
| 14 ~ 20 | 76.7 ± 8.5 (10) | 69.3 ± 20.1 (11) | 73.5 ± 10.4 (12) | 75.7 ± 12.9 (10) |

a): vehicle control: 0.5 % methyl cellulose solution

Table 13 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Body weight of Fo females during lactation period (g); average \pm S.D. (N)

| Compound | | p-tert-buty | lphenol | |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dose group (mg/kg) | 0*) | 20 | 60 | 200 |
| Postpartum days | | | | |
| 0 | 298.5 ± 18.6 (10) | 313.1 ± 27.3 (11) | 299.9 ± 20.3 (12) | 305.3 ± 23.2 (10) |
| 4 | 331.5 ± 19.4 (10) | 332.5 ± 24.8 (11) | 329.3 ± 20.6 (12) | 337.4 ± 15.9 (10) |

^{*):} vehicle control: 0.5 % metyl cellulose solution (5 ml/kg)

Table 14 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Body weight gain of F_0 females during lactation period (g); average±S.D. (N)

| Compounds | Vehicle control | p-tert-butylphenol | p-tert-butylphenol | p-tert-butylphenol |
|------------------------|------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| Oose groups (mg/kg) | 0 | 20 | 60 | 200 |
| Postpartum Days | | | | |
| 0~4 | 33.0 ± 11.7 (10 |) 19.4 ± 14.3* (11 |) 29.4 ± 7.6 (12 | 32.0 ± 11.6 (10) |

Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution

^{*:} Significantly different from control, p<0.01

Table 15

p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in raco
Summary of hematological findings in Fo males

| Group | R B C (x104/mm3) | Hemoglobin (g/dl) | Hematocrit (%) | M C V (μ _m 3) | M С Н (рд) | мснс (%) | Platelet (x104/mm3) |
|-----------------|------------------|----------------------|-------------------|--------------------------|---------------|-------------|---------------------|
| Vehicle control | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 844 | 15.5 | 44.9 | 53.2 | 18.4 | 34.6 | 103.5 |
| | ±37 | ±0.9 | ±2.4 | ±1.8 | ±0.6 | ±0.4 | ±19.6 |
| 20 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 821 | 15.4 | 44.7 | 54.4 | 18.7 | 34.4 | 105.4 |
| | ±29 | ±0.4 | ±1.2 | ±1.3 | ±0.5 | ±0.4 | ±8.7 |
| 60 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 833 | 15.3 | 44.6 | 53.5 | 18.4 | 34.4 | 107.3 |
| | ±20 | ±0.4 | ±1.1 | ±1.3 | ±0.4 | ±0.4 | ±7.0 |
| 200 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 805** | 15.0 | 43.8 | 54.5 | 18.7 | 34.3 | 110.4 |
| | ±27 | ±0.4 | ±1.4 | ±2.1 | ±0.7 | ±0.5 | ±7.4 |

| Group | WBC | Band neutrophil | Segmented neutrophil | Eosinophil | Basophil | Monocyte | Lymphocyte |
|-----------------|------------|--------------------|-------------------------|------------|----------|----------|------------|
| Gloup | (x100/mm³) | (%) | (%) | (%) | (%) | (%) | (%) |
| Vehicle control | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 57 | 0 | 13 | 1 | 0 | 4 | 82 |
| | ±12 | ±0 | ±4 | ±1 | ±0 | ±2 | ±6 |
| 20 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 59 | 0 | 10 | 1 | 0 | 3 | 85 |
| | ±20 | ±0 | ±5 | ±1 | ±0 | ±1 | ±6 |
| 60 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 63 | 0 | 16 | 1 | 0 | 3 | 80 |
| | ±11 | ±0 | ±3 | ±1 | ±0 | ±1 | ±4 |
| 200 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 79** | 0 | 11 | 0 | 0 | 2 | 86 |
| | ±14 | ±0 | ±4 | ±1 | ±0 | ±2 | ±4 |

Vehicle control:0.5% methyl cellulose solution Parameter:average S.D.

^{**:}Significantly different from control. p<0.01

Table 16

p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
Summary of biochemical findings of Fo males

| Group | Total protein | Albumin | A/G | BUN | Creatinine | Glucose | Total cholesterol | Total bilirubin |
|-----------------|------------------|---------|--------|---------|------------|---------|----------------------|--------------------|
| | (g/dl) | (g/dl) | | (mg/dl) | (mg/dl) | (mg/dl) | (mg/dl) | (mg/dl) |
| Vehicle control | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 5.4 | 3.1 | 1.31 | 15 | 0.7 | 127 | 29 | 0.09 |
| | ±0.2 | ±0.2 | ±0.16 | ±3 | ±0.1 | ±15 | ±4 | ±0.03 |
| 20 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 5.4 | 3.0 | 1.21 | 16 | 0.7 | 123 | 30 | 0.07 |
| | ±0.2 | ±0.2 | ±0.14 | ±2 | ±0.1 | ±11 | ±6 | ±0.05 |
| 60 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 5.5 | 2.9* | 1.10** | 15 | 0.7 | 128 | 27 | 0.07 |
| | ±0.3 | ±0.2 | ±0.16 | ±3 | ±0.2 | ±12 | ±9 | ±0.02 |
| 200 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 5.1* | 2.7** | 1.18 | 16 | 0.6 | 117 | 28 | 0.07 |
| | ±0.4 | ±0.2 | ±0.20 | ±3 | ±0.1 | ±11 | ±6 | ±0.02 |

| Group | Na | K | C1 | Ca | Inorg. phos. | ALP | GPT | GOT | γ-GTP |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|-----------------|-------|-------|-------|-------|
| | (mEq/1) | (mEq/1) | (mEq/1) | (mg/dl) | (mg/dl) | (0/1) | (U/1) | (0/1) | (U/1) |
| Vehicle control | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 143.4 | 3.95 | 108.7 | 8.3 | 5.5 | 301 | 32 | 66 | 0 |
| | ±1.0 | ±0.22 | ±1.3 | ±0.2 | ±0.4 | ±52 | ±4 | ±9 | ±0 |
| 20 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 144.1 | 3.80 | 108.8 | 8.5 | 5.7 | 280 | 32 | 68 | 0 |
| | ±0.9 | ±0.16 | ±1.2 | ±0.4 | ±0.5 | ±35 | ±9 | ±12 | ±0 |
| 60 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 143.3 | 3.85 | 107.8 | 8.3 | 5.7 | 269 | 32 | 72 | 0 |
| | ±1.0 | ±0.15 | ±1.4 | ±0.3 | ±0.4 | ±55 | ±5 | ±10 | ±1 |
| 200 mg/kg | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) | (13) |
| | 143.4 | 3.72** | 107.9 | 8.4 | 6.2** | 291 | 28 | 69 | 0 |
| | ±0.8 | ±0.14 | ±1.8 | ±0.3 | ±0.4 | ±38 | ±4 | ±6 | ±1 |

Vehicle control:0.5% methyl cellulose solution Parameter:Mean S.D.

^{*:}Significantly different from control. p<0.05
**:Significantly different from control. p<0.01

Table 17 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of macroscopic findings in Fo males

| Group | Contro | | 20 mg/ | | 60 mg/ | | 200 mg | |
|-----------------------------|--------|---|-------------|----------|-------------|---|--------|--------|
| Grade | | + | | + | | + | | + |
| (Heart) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] | |
| pale colored area | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | 0 |
| (Lung) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] | |
| red mottle | 12 | 1 | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 |
| dark colored spot | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 12 | 1 |
| insufficient retraction | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| (Spleen) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] | |
| dark color | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| enlargement | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| enlarged lymphoid follicle | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 12 | 1 |
| small | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | ĩ |
| accessory spleen | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | ō |
| (Adrenal gland) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] | ~ |
| grayish white mottle | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | 0 |
| enlargement | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| (Kidney) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] | - |
| indented area | 12 | 1 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| white area | 12 | 1 | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | ō |
| dilatation of pelvis | 11 | 2 | 12 | 1 | 11 | 2 | 11 | 2 |
| enlargement | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | ō | 12 | 1 |
| yellowish cortex | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | Ō | 12 | 1 |
| reddish medulla | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | ō | 12 | 1 |
| Seminal vesicle) | [13] | | [13] | | [13] | - | [13] | 1 |
| small in the left side | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| Epididymis) | [13] | | [13] | | [13] | v | [13] | 1 |
| enlargement | 13 | 0 | 12 | 1 | 12 | 1 | 13 | 0 |
| (Liver) | [13] | | [13] | | [13] | - | [13] | U |
| yellowish | 11 | 2 | 13 | 0 | 9 | 4 | 12 | 1 |
| accentuated lobular pattern | 8 | 5 | 12 | 1 | 12 | 1 | 13 | o |
| small | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | Ô | 13 | 0 |
| dark color | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | Õ | 13 | 0 |
| yellowish area | 13 | 0 | 13 | Ō | 12 | 1 | 13 | 0 |
| enlargement | 13 | 0 | 13 | ŏ | 13 | Ô | 11 | 0 2 |
| Forestomach) | [13] | | [13] | - | [13] | J | [13] | 4 |
| focal thickening of mucosa | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | • |
| Glandular stomach) | [13] | - | [13] | • | [13] | U | | 1 |
| pale colored mucosa | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | [13] | |
| dark colored spot | 13 | Ŏ | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| red spot | 13 | Ŏ | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 |
| | | | 10 | <u> </u> | 1.0 | U | 12 | 1 |

^{-,} Negative; +, Positive [], Number of animals examined

Table 18 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Absolute and relative organ weight of Fo males; average S.D. (N)

| Compounds | _ | Vehicle | contr | ol p | -tert-butylphen | ol | p-tert-butylpheno | l p-tert-butyly | henol |
|-------------------|------|-------------------|-------|-------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------------------------------|----------|
| Dose groups | | 0 | | | 20 | | 60 | 200 | |
| Final body weight | (g) | 461.3 ± | 33.6 | (13) | 439.8 ± 37.8 | (13) | 448.7 ± 27.7 | (13) 447.9 ± 45 | 5.3 (13) |
| Thymus | (mg) | 403.3 ± 87.7 ± | | (13) | 390.9 ± 84.4 88.7 ± 15.9 | (13) | 409.7 ±115.0 91.3 ± 24.8 | (13) 376.2 ± 59 84.8 ± 15 | |
| Liver | (g) | 12.51 ± 2.70 ± | | (13) | 12.21 ± 1.31 2.78 ± 0.18 | (13) | 12.76 ± 1.27 2.84 ± 0.19 | (13) 12.67 ± 1. 2.82 ± 0 | |
| Kidneys | (g) | 3.07 ± 0.67 ± | | (13) | 2.88 ± 0.30 0.65 ± 0.04 | (13) | 3.05 ± 0.36 0.68 ± 0.05 | (13) 3.10 ± 0.70 ± 0. | |
| Testes | (g) | 3.22 ± 0.70 ± | | (13) | 3.26 ± 0.18 0.75 ± 0.07 | (13) | 3.16 ± 0.23 0.71 ± 0.08 | (13) 3.18 ± 0 0.72 ± 0 | |
| Epididymides | (g) | 1.27 ± 0.28 ± | | (13) | 1.23 ± 0.11 0.28 ± 0.04 | (13) | 1.19 ± 0.08 0.27 ± 0.03 | (13) 1.18 ± 0. 0.27 ± 0. | |

a): Absolute weight
b): Relative weight(g or mg per 100g body weight) Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution

Table 19 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats

| Group Grade | Control - ± + ++ +++ | 20 mg/kg - ± + ++ +++ | 60 mg/kg - ± + ++ +++ | 200 mg/kg - ± ++++++ |
|--|--|--------------------------|--------------------------|--|
| (Thymus) | [13] | [0] | [0] | [13] |
| abnormality | 13 0 0 0 0 | | | 13 0 0 0 0 |
| (Liver) | [13] | [0] | [0] | [13] |
| fatty change of hepatocyte in peripheral zone microgranuloma extramedullary hematopoiesis (Kidney) eosinophilic body atrophic/regenerated tubule | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | [0] | [0] | 0 0 7 6 0 1 12 0 0 0 12 1 0 0 0 [13] 4 4 4 1 0 2 11 0 0 0 |
| dilatation of pelvis interstitial fibrosis infiltration of lymphocytes | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | | | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ |
| in fibrous area calcification in papilla calcification in medulla | 12 0 1 0 0 12 0 1 0 0 13 0 0 0 0 | | | 13 0 0 0 0 13 0 0 0 0 12 0 1 0 0 |
| (Adrenal gland) | [13] | [0] | [0] | [13] |
| abnormality | 13 0 0 0 0 | f 03 | | 13 0 0 0 0 |
| (Brain) abnormality | [13] | [0] | [0] | [13] |
| (Heart) abnormality | 13 0 0 0 0 [13] 13 0 0 0 0 | [0] | [0] | 13 0 0 0 0 [13] |
| (Spleen) extramedullary hematopoiesis | [13] 0 5 8 0 0 | [0] | [0] | 13 0 0 0 0 [13] 0 6 6 1 0 |
| deposits of pigment (Urinary bladder) infiltration of lymphocytes | 0 0 13 0 0 [13] | [0] | [0] | 0 2 11 0 0 [13] |
| in lamina propria (Testis) multinucleated giant cells | 10 3 0 0 0 [13] | [0] | [0] | 13 0 0 0 0 [13] |
| in seminiferous tubules (Epididymis) infiltration of lymphocytes | 13 0 0 0 0 [13] 9 4 0 0 0 | [0] | [0] | 12 1 0 0 0 [13] |
| (Lung) blood in alveoli | [0] | [0] | [0] | 11 2 0 0 0 |
| (Forestomach) hyperkeratosis cyst in submucosa | [0] | [0] | [0] | 0 0 1 0 0 [1] 0 0 1 0 0 |
| (Glandular stomach) increased number | [0] | [0] | [0] | 0 0 1 0 0 |
| of mucous cells hemorrhage in lamina propria | | | | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ |

^{-,} Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe [], Number of animals examined

Summary of histopathological findings in Fo males

Table 20 -1 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of macroscopic findings in Fo females

| Group | Contro | 1 | 20 mg/ | kg | 60 mg/l | kg | 200 mg/ | kg |
|-----------------------------|--------|----|--------|-----|---------|----|--------------------------------|------|
| Grade | _ | + | _ | + | | + | | + |
| (Thymus) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] ^{a)} | |
| red mottle | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | 0 | 13 a) | 0 |
| small | 13 | .0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 a) |
| (Heart) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] ^{a)} | |
| hard | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 a) |
| (Lung) | [13] | | [13] | | [13] | | [13]a) | |
| dark colored area | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 13a) | 0 |
| insufficient retraction | 13 | 0 | 13 | . 0 | 13 | 0 | 12 | 1 a) |
| discoloration | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 a) |
| (Intestine) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] a) | |
| accumulation of gas | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 a) |
| (Spleen) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] a) | |
| dark color | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 13a) | 0 |
| enlargement | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 ^{a)} | 0 |
| enlarged lymphoid follicles | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 ^a) | 0 |
| recessed area | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | _a ,12 ^{a)} | 1 |
| (Kidney) | [13] | | [13] | | [13] | | [13] | |
| mottle | 13 | 0 | 12 | 1 | 13 | 0 | 13a) | 0 |
| dilatation of pelvis | 13 | 0 | 13 | 0 | 13 | 0 | 12 ^{a)} | 1 |

^{-,} Negative; +, Positive

^{[],} Number of animals examined

a): Figures included a female animal (FB04006) that was found dead on day 43. The cause of death was judged related to an intubation accident.

Table 20-2 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of macroscopic findings in Fo females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

| Group | Contro | 1 | 20 mg/ | kg | 60 mg/l | κg | 200 mg | /kg |
|-----------------------------|--------|---|---------|----|---------|----|--------|-----|
| Grade | _ | + | <u></u> | + | _ | + | | + |
| Thymus) | [10] | | [11] | | [12] | | [10] | |
| red mottle | 10 | 0 | 10 | 1 | 12 | 0 | 10 | 0 |
| small | 10 | 0 | 11 | 0 | 12 | 0 | 10 | 0 |
| Heart) | [10] | | [11] | | [12] | | [10] | |
| hard | 10 | 0 | 11 | 0 | 12 | 0 | 10 | 0 |
| Lung) | [10] | | [11] | | [12] | | [10] | |
| dark colored area | 10 | 0 | 11 | 0 | 11 | 1 | 10 | 0 |
| insufficient retraction | 10 | 0 | 11 | 0 | 12 | 0 | 10 | 0 |
| discoloration | 10 | 0 | 11 | 0 | 12 | 0 | 10 | 0 |
| Intestine) | [10] | | [11] | | [12] | | [10] | |
| accumulation of gas | 10 | 0 | 11 | 0 | 12 | 0 | 10 | 0 |
| Spleen) | [10] | | [11] | | [12] | | [10] | |
| dark color | 10 | 0 | 11 | 0 | 11 | 1 | 10 | 0 |
| enlargement | 10 | 0 | 11 | 0 | 11 | 1 | 10 | Õ |
| enlarged lymphoid follicles | 10 | 0 | 11 | 0 | 11 | 1 | 10 | 0 |
| recessed area | 10 | 0 | 11 | 0 | 12 | 0 | 9 | 1 |
| Kidney) | [10] | | [11] | | [12] | _ | [10] | - |
| mottle | 10 | 0 | 10 | 1 | 12 | 0 | 10 | 0 |
| dilatation of pelvis | 10 | 0 | 11 | 0 | 12 | Ō | 9 | 1 |

^{-,} Negative; +, Positive
[], Number of animals examined

Table 20 -3 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of macroscopic findings in Fo females (Sacrificed or died during lactation)

| Group Grade | Control + | 20 mg/kg - + | 60 mg/kg - + | 200 mg/kg - + |
|---|-----------|-----------------|-----------------|--|
| (Thymus) red mottle small | [0] | [0] | [0] | [1]a) 1a) 0 1a) |
| Small (Heart) hard | [0] | [0] | [0] | [1] ^{a)} 0 1a) |
| (Lung) dark colored area insufficient retraction discoloration | [0] | [0] | [0] | [1]a) |
| Intestine) accumulation of gas | [0] | [0] | [0] | [1]a) 0 1a) |
| (Spleen) dark color enlargement enlarged lymphoid follicles recessed area | [0] | [0] | [0] | [1]a) 1 a) 0 1 a) 0 1 a) 0 1 a) 0 |
| Kidney) mottle dilatation of pelvis | [0] | [0] | [0] | [1] ^{a)} 1 0 1 a) 0 1 a) 0 |

^{-,} Negative; +, Positive

^{[],} Number of animals examined

a): Figures included a female animal (FB04006) that was found dead on day 43. The cause of death was judged related to an intubation accident.

Table 20 -4 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of macroscopic findings in Fo females (Not pregnant)

| Group | | Con | trol | | : | 20 mg/ | kg | 60 | mg/ | kg | 20 | 00 mg | /kg |
|-----------------------------|-----|-----|------|---|------|--------|----|------|-----|----|-----|-------|------|
| Grade | | | | + | | | + | | _ | + | | - | , °+ |
| (Thymus) | [2 | 2] | | | [1 |] | | [1] | | | [2] | | |
| red mottle | | | 2 | 0 | | 1 | 0 | | • 1 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| small | | : | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | Ō |
| (Heart) | [2 | 2] | | | [1] | 1 | | [1] | | | [2] | - | |
| hard | = | | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| (Lung) | [2 | 2] | | | [1] | } | | [1] | | | [2] | _ | Ū |
| dark colored area | | : | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | 0 |
| insufficient retraction | | | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | Ō |
| discoloration | | : | 2 | 0 | | 1 | Q | | 1 | 0 | | 2 | õ |
| (Intestine) | [2 | 2] | | | [1] | 1 | | [1] | | | [2] | _ | • |
| accumulation of gas | | | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | 1 | 2 | a |
| (Spleen) | [2 | 2] | | | [1] | | | [1] | | | [2] | | • |
| dark color | | : | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | 0 |
| enlargement | | | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | Ō |
| enlarged lymphoid follicles | | | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | 0 |
| recessed area | | | 2 | 0 | _ | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | 0 |
| (Kidney) | [2 | 2] | | _ | [1] | | | [1] | | | [2] | | _ |
| mottle | | 2 | 3 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | - • | 2 | 0 |
| dilatation of pelvis | | 2 | 2 | 0 | | 1 | 0 | | 1 | 0 | | 2 | ñ |

^{-,} Negative; +, Positive
[], Number of animals examined

Table 20-5 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of macroscopic findings in Fo females (Not copulated)

| Group Grade | Contro | 1 + | 20 mg/ | /kg + | 60 mg/kg - + | 200 mg/kg - + |
|------------------------------|--------|-----|--------|----------|-----------------|------------------|
| (Thymus) | [1] | | [1] | | [0] | [0] |
| red mottle | 1 | 0 | 1 | G | [0, | [0] |
| small | 1 | Ö | ī | ŏ | | |
| (Heart) | [1] | - | [1] | - | [0] | [0] |
| hard | 1 | 0 | 1 | 0 | | 1 |
| (Lung) | [1] | | [1] | | [0] | [0] |
| dark colored area | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| insufficient retraction | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| discoloration | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| (Intestine) | [1] | • | [1] | _ | [0] | [0] |
| accumulation of gas (Spleen) | [1] | 0 | r 11 | 0 | . 01 | r 03 |
| dark color | [4] | 0 | [1] | 0 | [0] | [0] |
| enlargement | 1 | ő | 1 | n | | |
| enlarged lymphoid follicles | 1 | Ö | î | ŏ | | |
| recessed area | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| (Kidney) | [1] | | [1] | - | [0] | [0] |
| mottle | 1 | 0 | 1 | 0 | • • | 1 |
| dilatation of pelvis | 1 | 0 | 1 | 0 | | |

^{-,} Negative; +, Positive
[], Number of animals examined

Table 21 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Absolute and relative organ weight of F_0 females; average±S.D. (N)

| Compounds | | Vehicle con | trol | p-tert-butylphenol | p-tert-butylphenol | p-tert-butylphenol |
|------------------------|------|---|-------|-------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| Dose groups (mg/kg) | _ | 0 | | 20 | 60 | 200 |
| Final body weight | (g) | 331.5 ± 19.4 | (10 |) 332.5 ± 24.8 (| 11) 329.3 ± 20.6 (| 12) 337.4 ± 15.9 (10) |
| Thymus | (mg) | 255.4 ± 46.8 ³ 77.2 ± 14.3 ³ | | 299.1 ±123.6 (88.8 ± 33.0 | 11) 271.8 ± 78.5 (82.1 ± 20.5 | 12) 239.3 ± 66.9 (10) 70.7 ± 18.7 |
| Liver | (g) | 14.48 ± 1.57 4.37 ± 0.37 | (10) | 13.79 ± 1.49 (4.15 ± 0.38 | 11) 14.10 ± 1.14 (4.28 ± 0.18 | 12) 14.58 ± 1.29 (10) 4.32 ± 0.33 |
| Kidneys | (g) | 2.20 ± 0.19 0.66 ± 0.05 | (10 | 2.08 ± 0.16 (0.63 ± 0.04 | 11) 2.11 ± 0.21 (0.64 ± 0.05 | 12) 2.05 ± 0.20 (10) 0.61 ± 0.05 |

Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution

a): Absolute weight
 b): Relative weight(g or mg per 100g body weight)

Table 22-1 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of histopathological findings in Fo females

| Group Grade | Co | ntı ± | | ++ | +++ | | 20 m | g/kg + | ++ - | +++ | 60 mg/kg - ± +++ | 200 +++ — ± | mg/l | | +++ |
|------------------------------|------|----------|----|----|-----|-----|------|-----------|------|-----|---------------------|---|------|------|-------|
| (Thymus) | [13] | | | | | [0 | | | | | [0] | [13] a) | | | ·) 0 |
| atrophy | 11 | 2 | 0 | 0 | 0 | | | | | - | . 01 | 10 1 | 1 | 1. | ′ 0 |
| (Liver) | [13] | | | | | [0 | ł | | | | [0] | [13]a) | | | |
| fatty change of hepatocyte | 2 | | | | ^ | | | | | | | 5 5 | 7 : | a) 0 | 0 |
| in peripheral zone | 3 | 4 | 5 | 1 | 0 | | | | | | | 5 5 6 ^{a)} 7 | | 0 | 0 |
| microgranuloma | 4 | 9 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 5 a) 8 | | 0 | 0 |
| extramedullary hematopoiesis | 6 | 7 | 0 | 0 | 0 | r 0 | , | | | | f ol | | U | U | U |
| (Kidney) | [13] | _ | _ | _ | • | [0 | I | | | | [0] | [13] ^{a)} 6 ^{a)} 6 | | ^ | _ |
| atrophic/regenerated tubule | 7 | 6 1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 13 ^{a)} 0 | 1 0 | 0 | 0 |
| calcification in medulla | 12 | 1 | U | 0 | 0 | | | • | | | | 13 47 0 | U | U | 0 |
| focal dilatation | 17 | ^ | _ | ^ | 0 | | | | | | | 12 a) 0 | | ^ | 0 |
| of tubule in medulla | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 12 a) 1 | 1 | 0 | 0 |
| dilatation of pelvis | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 12-71 | U | 0 | 0 |
| vacuolation | 4 = | _ | _ | _ | | | | | | | | | | .) _ | _ |
| in tubular epithelium | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | 5 01 | 12 0 | 1 . | a) 0 | 0 |
| (Adrenal gland) | [13] | _ | _ | _ | • | [0 | ļ | | | | [0] | [13] a) | _ | _ | _ |
| abnormality | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 13 ^{a)} 0 | 0 | 0 | 0 |
| (Brain) | [13] | | | _ | | [0 | i | | | | [0] | $[13]^{a}$ | | | |
| abnormality | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 13 ^{a)} 0 | 0 | 0 | 0 |
| (Heart) | [13] | | | | | [0 | j | | | | [0] | $[12]^{a}$ | | | |
| abnormality | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 12 a) 0 | 0 | 0 | 0 |
| (Spleen) | [13] | | | | | [0 | j | | | | [0] | [13]a) | а |) | |
| extramedullary hematopoiesis | 0 | 2 | 2 | 9 | 0 | | | | | | | 0 0 | 3 a | 10 | Ð |
| deposits of pigment | 0 | 0 | 11 | 2 | 0 | | | | | | | 0 0 | 13 | a) 0 | 0 |
| (Urinary bladder) | [13] | | | | | [0 | : | | | | [0] | [12] | | | |
| abnormality | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | 12 0 | 0 | 0 | 0 |
| (Ovary) | [3] | | | | | [2 | , | | | | [1] | [2] | | | |
| follicular cyst | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 0 0 0 | 0 2 0 | 0 | 0 | 0 |
| (Lung) | [0] | | | | | [0 | i | | | | [0] | [1] a) | | | |
| congestion | | | | | | - | | | | | - | 0 0 | 0 (| 14 | a) 0 |
| edema | | | | | | | | | | | | 0 0 | | a) 0 | |

^{-,} Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

^{[],} Number of animals examined

a): Figures included a female animal (FB04006) that was found dead on day 43. The cause of death was judged related to an intubation accident.

Table 22 -2 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of histopathological findings in Fo females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

| Group Grade | Co — | ntr ± | | ++ | +++ | | 20 | mg/kg ± + ++ +++ | 60 mg/kg - ± ++++++ | 20 |)0 ± | mg/ + | kg ++ | +++ |
|--------------------------------------|-----------|----------|--------|----|-----|---|-------|---------------------|------------------------|-------|---------|----------|----------|-----|
| (Thymus) | [10] | _ | | _ | _ | | [0] | | [0] | [10] | | | | |
| atrophy | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | | | | 5 07 | 8 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| (Liver) | [10] | | | | | | [0] | | [0] | [10] | | | | |
| fatty change of hepatocyte | | | 7 | _ | ^ | | | | | | | | | |
| in peripheral zone | 3 3 | 4 7 | 3 0 | 0 | 0 | | | | | 5 | 3 | 2 | | 0 |
| microgranuloma | ა 5 | 5 | Ö | 0 | 0 | | | | | 5 | 5 | - | - | 0 |
| extramedullary hematopoiesis | [10] | Э | U | G | U | | r 0.1 | | F 0.3 | 3 | 7 | 0 | 0 | 0 |
| (Kidney) atrophic/regenerated tubule | [10] 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | | [0] | | [0] | [10] | | | | |
| calcification in medulla | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | 4 | 5 | 1 | 0 | 0 |
| focal dilatation | 10 | U | U | U | U | | | | | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| of tubule in medulla | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | |
| dilatation of pelvis | 10 | Ö | Õ | 0 | 0 | | | | | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| vacuolation | 10 | U | U | U | U | | | | | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| in tubular epithelium | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | |
| (Adrenal gland) | [10] | U | Ü | 0 | U | | [0] | | [0] | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| abnormality | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | | i ol | | [0] | [10] | | | | |
| (Brain) | [10] | U | ٠ | U | U | | [0] | | [0.1 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| abnormality | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | | [0] | | [0] | [10] | _ | | | |
| (Heart) | [10] | · | · | Ü | Ü | | [0] | | [0] | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| abnormality | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | | . 0] | | [0] | [10] | _ | _ | | |
| (Spleen) | [10] | Ū | • | Ŭ | • | | [0] | | [0] | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| extramedullary hematopoiesis | 0 | 0 | 1 | 9 | 0 | | . •, | | [0] | [10] | _ | | | |
| deposits of pigment | Ŏ | | 10 | Õ | ŏ | | | | | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 |
| (Urinary bladder) | [10] | | | _ | _ | | [0] | | [0] | 0 | U | 10 | 0 | 0 |
| abnormality | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 1 | | (0) | [10] | _ | _ | _ | |
| (Ovary) | [0] | | | _ | - | - | [0.] | | [0] | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| follicular cyst | | | | | | • | | | r 01 | [0] | | | | |
| (Lung) | [0] | | | | | 1 | [0] | | [0] | r 0.1 | | | | |
| congestion | - 4 | | | | | | 4 | | 1 | [0] | | | | |
| edema | | | | | | | | | | | | | | |

^{-,} Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe [], Number of animals examined

Table 22 -3 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of histopathological findings in Fo females (Sacrificed or died during lactation)

| Group Grade | Control - ± + ++ +++ | 20 mg/kg - ± + ++ +++ | 60 mg/kg - ± + ++ +++ | 200 mg/kg - ± + ++ +++ |
|---|-------------------------|--------------------------|--------------------------|---|
| (Thymus) | [0] | [0] | [0] | [1] a) 0 0 0 1a) 0 |
| atrophy (Liver) fatty change of hepatocyte | [0] | [0] | [0] | 0 0 0 1 ^a) 0 [1] a) 0 0 0 1 a) 0 0 |
| in peripheral zone microgranuloma extramedullary hematopoiesis (Kidney) | [0] | [0] | [0] | 1 a) 0 0 0 0 1 a) 0 0 0 0 [1] a) |
| atrophic/regenerated tubule calcification in medulla focal dilatation | [0] | 1 0) | [0] | 1 a) 0 0 0 0 1 a) 0 0 0 0 |
| of tubule in medulla dilatation of pelvis vacuolation | | | | 1 a) 0 0 0 0 1 a) 0 0 0 0 |
| in tubular epithelium (Adrenal gland) | [0] | [0] | [0] | 0 0 1a)0 0 [1]a) |
| abnormality (Brain) abnormality | [0] | [0] | [0] | 1a)0 0 0 0 [1]a) 1a)0 0 0 0 |
| (Heart) abnormality | [0] | [0] | [0] | [1]a) 1a)0 0 0 0 |
| (Spleen) extramedullary hematopoiesis deposits of pigment | [0] | [0] | [0] | [1] a) 0 0 1 a) 0 0 0 0 1 a) 0 0 |
| (Urinary bladder) abnormality | [0] | [0] | [0] | [0] |
| (Ovary) follicular cyst | [0] | [0] | [0] | [0] |
| (Lung) congestion edema | [0] | [0] | [0] | [1]a) 0 0 0 1a)0 0 0 1a)0 0 |

^{-,} Negative; \pm , Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe [], Number of animals examined

a): Figures included a female animal (FB04006) that was found dead on day 43. The cause of death was judged related to an intubation accident.

Table 22 -4 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of histopathological findings in Fo females (Not pregnant)

| Group Grade | Control 20 mg/kg 60 mg/kg - ± + ++ +++ - ± + ++ +++ | 200 mg/kg - ± ++++++ |
|---|--|--|
| (Thymus) atrophy (Liver) | [2] [0] [0] 2 0 0 0 0 [2] [0] [0] | [2] 2 0 0 0 0 [2] |
| fatty change of hepatocyte in peripheral zone microgranuloma extramedullary hematopoiesis | 0 0 1 1 0 0 2 0 0 0 0 2 0 0 0 [2] [0] | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ |
| <pre>(Kidney) atrophic/regenerated tubule calcification in medulla focal dilatation</pre> | [2] | 1 1 0 0 0 0 2 0 0 0 0 |
| of tubule in medulla dilatation of pelvis vacuolation | $ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ |
| in tubular epithelium (Adrenal gland) | 2 0 0 0 0 [2] [0] [0] | 2 0 0 0 0 [2] |
| abnormality (Brain) | [2] | 2 0 0 0 0 [2] |
| abnormality (Heart) | [2] [0] [0] | 2 0 0 0 0 |
| abnormality (Spleen) | 2 0 0 0 0 [0] [0] | [1] 1 0 0 0 0 [2] |
| extramedullary hematopoiesis deposits of pigment | $egin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | $egin{pmatrix} 0 & 0 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2 & 0 & 0 \\ \end{matrix}$ |
| (Urinary bladder) abnormality (Ovary) | [2] | [2] 2 0 0 0 0 |
| follicular cyst Lung) | | [2] 2 0 0 0 0 [0] |
| congestion edema | | |

^{-,} Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe [], Number of animals examined

Table 22-5 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of histopathological findings in Fo females (Not copulated)

| Group Grade | | Co | ntr ± | | ++ | +++ | 20 mg/kg - ± + ++ +++ | 60 mg/kg - ± + ++ +++ | 200 mg/kg - ± + ++ +++ |
|----------------------------------|---|-----|----------|---|----|-----|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| (Thymus) |] | 1] | 0 | | | | [0] | [0] | [0] |
| atrophy (Liver) | r | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | r 01 | (0) | r 03 |
| fatty change of hepatocyte | L | 1] | | | | | [0] | [0] | [0] |
| in peripheral zone | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | | |
| microgranuloma | | 1 | Ō | 0 | Õ | 0 | | | |
| extramedullary hematopoiesis | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| (Kidney) | [| 1] | | | | | [0] | [0] | [0] |
| atrophic/regenerated tubule | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | | | |
| calcification in medulla | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| focal dilatation | | | | ^ | _ | _ | | | |
| of tubule in medulla | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| dilatation of pelvis vacuolation | | 1 | 0 | U | 0 | 0 | | | |
| in tubular epithelium | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| (Adrenal gland) | r | 1] | Ü | U | Ü | Ü | [0] | [0] | [0] |
| abnormality | L | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | [0] | [0] | [0] |
| (Brain) | ſ | 1] | • | • | • | • | [0] | [0] | [0] |
| abnormality | • | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | , , | , , | [0] |
| (Heart) | [| 1] | | , | | | [0] | [0] | [0] |
| abnormality | - | ī | 0 | 0 | 0 | 0 | • • | | , |
| (Spleen) | [| 1] | | | | | [0] | [0] | [0] |
| extramedullary hematopoiesis | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | | |
| deposits of pigment | _ | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | | |
| (Urinary bladder) | [| 1] | _ | _ | _ | | [0] | [0] | [0] |
| abnormality (Ovary) | | 1 | 0 | 0 | Đ | 0 | | | |
| follicular cyst | Į | 1] | 0 | 0 | 0 | 0 | | [0] | [0] |
| Lung) | f | 0] | U | U | υ | 0 | 0 0 1 0 0 | f 01 | F 0.7 |
| congestion | L | 0] | | | | | [0] | [0] | [0] |
| edema | | | | | | | | | |

^{-,} Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe [], Number of animals examined

23 Table p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of reproductive performance

| Compounds | p-tert-butylphenol | | | | | | | | | |
|--|--------------------|-----------|-----------|-----------|--|--|--|--|--|--|
| Dose groups (mg/kg) | 0 a) | 20 | 60 | 200 | | | | | | |
| Number of mated pairs | 13 | 13 | 13 | 12 | | | | | | |
| Number of copulated pairs | 12 | 12 | 13 | 12 | | | | | | |
| Copulation index A) | 92.3 | 92.3 | 100.0 | 100.0 | | | | | | |
| dumber of pregnant animals | 10 | 11 | 12 | 10 | | | | | | |
| Fertility index B) | 83.3 | 91.7 | 92.3 | 83.3 | | | | | | |
| Pairing days until copulation Average \pm S.D. | 2.7 ± 1.3 | 2.9 ± 1.7 | 2.8 ± 1.5 | 2.3 ± 1.2 | | | | | | |
| fimes of vaginal estrous Average ± S.D. | 1.0 ± 0.0 | 1.1 ± 0.3 | 1.1 ± 0.3 | 1.0 ± 0.0 | | | | | | |

A): Copulation index = (Number of copulated pairs / Number of mated pairs) \times 100; % B): Fertility index = (Number of pregnant animals / Number of copulated pairs) \times 100; % a): Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution

Table 24
p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats
Summary of development of F₁ pups up to day 4 of lactation; average ± S.D.

| Compounds | p-tert-butylphenol | | | | | | | | | | | |
|---|--|--|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Dose groups (mg/kg) | 0 a) | | 20 | | 60 | | 200 | | | | | |
| Number of pregnant females | 10 | | 11 | | 12 | | 10 | | | | | |
| Number of pregnant females with pups alive | 10 | | 11 | | 12 | | 10 | | | | | |
| Gestation index A) | 100 | | 100 | | 100 | | 100 | | | | | |
| Gestation length in days | 22.3 ± 0.5 | (10) | 22.4 ± 0.5 | (11) | 22.3 ± 0.5 | (12) | 22.4 ± 0.5 | (10) | | | | |
| Number of corpora lutea | 17.6 ± 2.9 | (10) | 15.9 ± 4.3 | (11) | 16.8 ± 1.5 | (12) | 16.8 ± 2.3 | (10) | | | | |
| Number of implantation sites | 15.7 ± 1.4 | (10) | 13.5 ± 5.7 | (11) | 16.1 ± 1.4 | (12) | 15.1 ± 2.0 | (10) | | | | |
| Implantation index B) | 90.9 ± 13.0 | (10) | 81.6 ± 23.6 | (11) | 96.1 ± 3.9 | (12) | 90.2 ± 7.3 | (10) | | | | |
| Day 0 of lactation Number of pups born Delivery index C) Number of live pups Birth index D) Live birth index E) | 14.8 ± 1.5 94.3 ± 4.5 14.4 ± 1.9 91.5 ± 6.2 97.2 ± 6.5 | (10) (10) (10) (10) (10) | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | (11) (11) (11) (11) (11) | 14.4 ± 2.8 89.3 ± 13.1 14.3 ± 2.7 88.8 ± 13.0 99.5 ± 1.6 | (12) (12) (12) (12) (12) | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | (10) (10) (10) (10) (10) | | | | |
| Sex ratio F) | 54.7 ± 10.9 | (10) | 51.5 ± 15.6 | (11) | 51.9 ± 18.2 | (12) | 50.7 ± 18.0 | (10) | | | | |
| Day 4 of lactation Number of live pups Viability index G) | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | (10) (10) | $ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | (11) | 14.2 ± 2.5 99.1 ± 3.2 | (12) (12) | 13.6 ± 1.7 97.9 ± 3.4 | (10) | | | | |

Parentheses indicate the number of litters evaluated

A): Gestation index = (Number of pregnant females with live pups / Number of pregnant females) × 100; %

B): Implantation index = (Number of implantation sites / Number of corpora lutea) × 100; %

C): Delivery index = (Number of pups born / Number of implantation sites) \times 100; % D): Birth index = (Number of live pups on Day 0 / Number of implantation sites) \times 100; %

E): Live birth index = (Number of live pups on Day 0 / Number of pups born) \times 100 : %

F): Sex ratio = (Number of male live pups on Day 0 / Number of live pups on Day 0) × 100; %

G): Viability index = (Number of live pups on Day 4 / Number of live pups on Day 0) × 100; %

a): Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution

Table 25 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Body weight of F_1 pups up to day 4 of lactation; average \pm S.D.

| Compounds | p-tert-butylphenol | | | | | | | | | |
|---|--------------------------------------|------|---|-------------|--------------------------------------|------|--|------|--|--|
| Dose groups (mg/kg) | 0 | | 20 | | 60 | | 200 | | | |
| Day O (At birth) No. of live pups Male Female | 14.4 ± 1.9 7.9 ± 1.9 6.5 ± 1.6 | (10) | 12.7 ± 5.3 6.3 ± 2.9 6.5 ± 3.4 | (11) | 14.3 ± 2.7 7.3 ± 2.7 7.0 ± 3.4 | (12) | 13.9 ± 1.8 7.0 ± 2.4 6.9 ± 2.7 | (10) | | |
| Weight of pup in grams Male Female | 6.7 ± 0.7 6.3 ± 0.6 | | 7.0 ± 1.3 6.5 ± 1.2 | | 6.3 ± 0.8 6.1 ± 0.9 | | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | | | |
| Day 4 No. of live pups Male Female | 14.4 ± 1.9 7.9 ± 1.9 6.5 ± 1.6 | (10) | 12.5 ± 5.2 6.3 ± 2.9 6.3 ± 3.3 | (11) | 14.2 ± 2.5 7.3 ± 2.8 6.9 ± 3.2 | (12) | 13.6 ± 1.7 6.9 ± 2.4 6.7 ± 2.5 | (10) | | |
| Weight of pup in grams Male Female | 10.4 ± 0.8 9.7 ± 0.7 | | $\begin{array}{c} 11.3 \pm 2.7 \\ 10.8 \pm 2.5 \end{array}$ | | 10.2 ± 1.3 9.7 ± 1.6 | | $\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$ | | | |

Parentheses indicate the number of litters evaluated Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution

Table 26 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of morphological findings in pups

| Compounds | Vehicle control | p-tert-butylphenol | p-tert-butylphenol | p-tert-butylphenol |
|--|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Dose groups (mg/kg) | 0 | 20 | 60 | 200 |
| No. of pups examined External observation | 144 | 138 | 170 | 136 |
| Visceral observation | 144 | 138 | 170 | 136 |
| No. of pups showing abnormalities <u>External abnormalities</u> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Visceral abnormalities Major abnormalities Minor abnormalities | 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 |

Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution

Table 27 p-tert-Butylphenol: combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats Summary of morphological findings in F1 dead pups

| Compounds | p-tert-butylphenol | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------------------|--------------|----|-------|--|--|--|--|--|
| Oose groups (mg/kg) | ()a) | 20 | 60 | 200 | | | | | |
| No. of dead pups examined | | | | | | | | | |
| External observation | 2 | 0 | 2 | 18 b) | | | | | |
| Visceral observation | 2 | 0 | 2 | 18 b) | | | | | |
| o. of dead pups showing abnormalities | | | | | | | | | |
| External abnormalities | 0 | - | 0 | 0 | | | | | |
| Visceral abnormalities | | | | | | | | | |
| Major abnormalities | 0 | _ | 0 | 0 | | | | | |
| Minor abnormalities | 0 | - | 0 | 0 | | | | | |

a): Vehicle control: 0.5% methyl cellulose solution
b): Figures include a female animal (FB04006) that was found dead on day 43. The cause of death was judged related to an intubation accident.