最 終 報 告 書

1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンのラットを用いる

反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

（試験番号：07-111）

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目　次

要約 …… 1頁

目的 …… 2

材料および方法 …… 2

1. 被験物質 …… 2

2. 動物および飼育条件 …… 2

3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法 …… 3

4. 観察および検査 …… 4

1) 親動物に関する項目 …… 4

(1) 一般状態観察 …… 5

(2) 詳細な臨床観察 …… 5

(3) 感覚反射機能検査 …… 5

(4) 握力および自発運動量 …… 5

(5) 体重および摂餌量 …… 6

(6) 雌の性周期検査 …… 6

(7) 交配および分娩状態観察 …… 6

(8) 雄の尿検査 …… 7

(9) 血液学検査 …… 7

(10) 血液生化学検査 …… 7

(11) 剖検および器官重量 …… 8

(12) 病理組織学検査 …… 8

2) 新生児に関する項目 …… 9

(1) 産児数、性比および外表検査 …… 9

(2) 一般状態観察 …… 9

(3) 体重 …… 9

(4) 病理学検査 …… 9

5. 統計解析 …… 9

結果 …… 11

1. 反復投与毒性 …… 11

1) 一般状態および死亡 …… 11
2) 詳細な臨床観察 …… 11
3) 感覚反射機能検査 …… 11
4) 握力および自発運動量 …… 11
5) 体重 …… 11
6) 摂餌量 …… 12
7) 雄の尿検査 …… 12
8) 血液学検査 …… 12
9) 血液生化学検査 …… 12
10) 剖検 …… 13
11) 器官重量 …… 13
12) 病理組織学検査 …… 13
2. 生殖発生毒性 …… 14
1) 親動物に及ぼす影響 …… 14
(1) 性周期検査 …… 14
(2) 交尾率および受胎率 …… 15
(3) 黄体数、着床数および着床率 …… 15
(4) 出産率および妊娠期間 …… 15
(5) 分娩および哺育状態 …… 15
2) 新生児に及ぼす影響 …… 15
(1) 生存性および体重 …… 15
(2) 形態 …… 16
考察 …… 17
文献 …… 20
添付資料
A 図・群別平均値表
Figures 1、2 体重 …… 1
Figures 3、4 摂餌量 …… 4
Tables 1、2 死亡率 …… 7
Tables 3、4 一般状態 …… 9

Tables	5、6	詳細な臨床観察	12
Tables	7、8	感覚反射機能検査	38
Tables	9、10	握力および自発運動量	44
Tables	11、12	体重	50
Tables	13、14	摂餌量	53
Table	15	雄の尿検査	56
Tables	16、17	血液学検査	60
Tables	18、19	血液生化学検査	64
Tables	20、21	剖検	68
Tables	22、23	器官重量	70
Tables	24～26	病理組織学検査	74
Table	27	生殖に及ぼす影響	79
Table	28	新生児に及ぼす影響	80
Table	29	新生児の外表所見	81
Table	30	新生児の内臓所見	82

要　約

1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンの 0（被験物質の媒体である局方オリブ油のみ投与）、2、10、50 および 250 mg/kg/day を、1 群雌雄各 12 匹の SD 系ラットに、交配開始 2 週間前から、雄は 42 日間、雌は分娩後哺育 4 日まで経口投与し、その反復投与毒性および生殖発生毒性を調べた。また、雄については対照群および 250 mg/kg 群の各 12 匹からそれぞれ 5 匹を選別し、雌についてはサテライト群として別に 1 群 5 匹の対照群および 500 mg/kg 群を設け、投与終了後 14 日間観察を継続し、毒性の回復性についても検討した。

1. 反復投与毒性

10 mg/kg 群で雌に、50 mg/kg 群では雌雄に、肝臓の絶対および相対重量の高値並びに小葉中心性肝細胞肥大が認められた。250 mg/kg 群では、雌雄に総タンパクおよびアルブミン濃度の高値、肝臓の絶対および相対重量の高値並びに小葉中心性肝細胞肥大、雄に ALT およびコリンエステラーゼ活性の高値並びに血糖値の低値、雌にカルシウム濃度の高値、平均赤血球血色素濃度および中性脂肪濃度の低値、腎臓の絶対および相対重量の高値並びに遠位尿細管/集合管の拡張および集合管上皮の過形成が認められた。これらの変化は、回復群においては回復あるいは回復傾向を示し、可逆的変化と判断された。

2. 生殖発生毒性

250 mg/kg 群で新生児の数、出生率、生存率および体重に低値が認められた。

以上の結果から、1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンの親動物への反復投与において、10 mg/kg 群で雌に肝臓に対する影響、50 mg/kg 群で雄に肝臓に対する影響が認められたことから、無影響量(NOEL)および無毒性量(NOAEL)は、いずれも雄は 10 mg/kg/day、雌は 2 mg/kg/day と推定した。また、生殖発生毒性に関する NOEL および NOAEL は、250 mg/kg 群で新生児数、体重および出生率に変化が認められたことから、いずれも 50 mg/kg/day と推定した。

目　的

1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンをラットに反復経口投与し、本物質の反復投与毒性および生殖発生毒性を検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質である 1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼン（CAS No. 1460-02-2）は、水に難溶、食物油に可溶な白色結晶性粉末である。試験には、

試薬（　　純度 98%）を購入し、冷暗所（2～6℃）、密栓下で保管して使用した。用いた被験物質は投与終了後に

委託して分析し、使用期間中安定であったことを確認した（Appendix 1）。本物質の特性は、Appendix 1 に示す。

投与液はオリブ油（局方、ロット番号 NA-15、小堺製薬株式会社）を溶媒とし、所定の投与用量となる濃度の溶液に調製した。調製した投与液は、1 日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷所（2～6℃）遮光下で密栓して保管した。投与液中の被験物質は、冷所遮光下で少なくとも 9 日間は安定であることが確認された（Appendix 2）ので、調製後 9 日以内に使用した。初回に調製された投与液について分析し、所定の濃度で調製されていることを確認した（Appendix 3）。

2. 動物および飼育条件

動物は、SD 系 [Crl : CD(SD)]ラットを用いた。ラットは、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センター（神奈川県厚木市下古沢 795）から 8 週齢のものを搬入（雄 68 匹、雌 80 匹）し、12 日間試験環境に馴化させた。馴化期間中に臨床観察および体重測定による検疫並びに雌については 10 日間の性周期観察も併せて行い、発育および一般健康状態が良好で、雌では性周期に異常の認められなかったものについて、投与開始前日に体重を測定し、無作為抽出法により雄は 60 匹、雌は 70 匹を選び、10 週齢で試験に用いた。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、雌についてはさらに対照群と最高用量群の回復群として各 5 匹からなる 2 群のサテライト群を設け、無作為抽出法により群分けを行った。なお、雌のサテライト群については交配を行わなかった。雄の回復群に

ついては、投与 42 日に対照群と最高用量群の中から体重による無作為抽出法によりそれぞれ 5 匹を選別し、回復群とした。投与開始時の平均体重(体重範囲)は、雄 374(335～414)g、雌 229(205～255)g であった。ラットは、温度 22±3℃、 湿度 55±10%、換気回数 10 回以上／時(オールフレッシュエアー方式)、照明 12 時間／日(午前 7 時点灯、午後 7 時消灯)に設定したバリアーシステム動物室(第 1 室)で、個体別にステンレス製金網ケージ〔260W×380D×180 H(mm)〕に収容し、これをステンレス製 5 段のラックに配置して飼育した。ただし、交尾の成立した雌は、妊娠 0 日に巣作り材料(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)を入れたポリカーボネート製ケージ〔265W×426D×200H(mm)〕に収容し、分娩後は児動物と同居させた。飼料（固型飼料ラボ MR ストック、日本農産工業株式会社、ロット番号 20071263、20080371）および飲料水（孔径 1μm のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は、それぞれ給餌器および自動給水装置または給水瓶（ポリカーボネートケージの場合）により、自由に摂取させた。

動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札の貼付、並びに耳パンチ法により行った。

飼育期間中、動物室の温度は 22.4～24.4℃、湿度は 45～56%の範囲で推移(Appendix 4）した。また、飼料および巣作り材料の汚染物質の分析結果（Appendices 5、6）は、「米国環境保護庁毒性物質規制法の飼料および媒体の汚染物質限度（1979)」等を参考にして当研究所が設定した許容範囲内にあり、飲料水は水道法に基づく水質基準に適合する（Appendix 7）ことが確認された。したがって、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断した。

本試験は、動物実験を科学的観点および倫理的な配慮の下に実施するために遵守すべき事項等を定めた、「財団法人 畜産生物科学安全研究所の動物実験実施規定」に従い、本施設の動物実験委員会の承認を得て行った。

3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

本物質の 500、1000 および 2000 mg/kg を雌雄各 2 匹のラットに単回経口投与した結果、500 mg/kg 以上投与の群で嗜眠傾向および体重減少がみられ、2000 mg/kg 投与では全例が死亡した。また、本物質の 50、100 および 300 mg/kg を雌雄各 1 匹のラッ

トに5日間反復経口投与した結果、300 mg/kg投与で肝臓の大型化がみられ、100 mg/kg投与でもその傾向が認められた。

そこで、1群雌雄各4匹のラットに，本被験物質を0（溶媒のみ）、10、30、100および300 mg/kg/dayで14日間反復経口投与し、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定、尿検査、血液学および血液生化学検査、剖検並びに器官重量の測定を行った。その結果、血液生化学検査において、30 mg/kg群で雄にアルブミン、100 mg/kg群で雄にアルブミンおよびA/G 比、雌にカルシウムの有意な高値が認められ、300 mg/kg群で雌雄に総タンパク、アルブミンおよびカルシウム、雄にA/G 比、ALT、ChEおよび無機リン並びに雌にナトリウムの有意な高値、雄に塩素の有意な低値が認められた。病理学検査では、30 mg/kg 以上の群の雄および 100 mg/kg以上の群の雌に肝臓の大型化が認められ、100 mg/kg以上の群の雄および300 mg/kg群の雌に肝臓重量の有意な高値が、さらに、 300 mg/kg群で雌に前胃粘膜の肥厚例が認められた。

以上の成績から、本試験における投与量については、確実に反復投与毒性が発現すると予測される 250 mg/kg/day を最高用量、毒性影響が認められないと予測される 2 mg/kg/dayを最低用量とし、これらの用量の間に10および50 mg/kg/day の計4用量を設定した。

試験群の構成は、①溶媒投与群（以下、対照群）、②被験物質の2 mg/kg/day投与群（2 mg/kg群）、③同10 mg/kg/day投与群（10 mg/kg群）、④同50 mg/kg/day投与群（50 mg/kg群）および⑤同250 mg/kg/day投与群（250 mg/kg群）の5群とした。

投与方法は、投与液量を体重1kg当たり5 mLとし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、投与液を胃内に投与した。対照群には、媒体として用いた局方オリブ油を同様に投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重を基に算出した。投与期間は、雌雄とも交配開始 14 日前から、雄は 42 日間、雌は交配および妊娠期間を経て分娩後の哺育4日まで、最短42日～最長52日間、1日1回、午前中（8：42～11：46）に投与した。ただし、雌の回復群は、雄と同様に42日間投与した。

4. 観察および検査

1) 親動物に関する項目

親動物について、次の項目を観察あるいは検査した。なお、感覚反射機能検査、握力、

自発運動量、尿検査、血液学検査、血液生化学検査、器官重量および病理組織学検査については、雄は投与 35 日に、雌は交配終了時に各群から無作為抽出法により雌雄各 5 匹を選び、検査の対象とした。

(1) 一般状態観察

投与期間中毎日、投与直後から投与後 1 時間に、動物の生死、外観、行動等について観察した。さらに、朝夕 2 回は、動物の生死や瀕死状態の有無について確認した。また、妊娠、出産、哺育の状態については、注意深く観察した。

(2) 詳細な臨床観察

投与開始前日およびその後は週 1 回、ケージサイドでの観察に加えて、動物をケージから取り出す時およびケージ外のアルミ製オープンフィールド（370W×560D×40Hmm）で、ケージからの出し易さ、ケージから出す時の扱い易さ、体躯緊張(弛緩～強直)、皮膚（色）、毛並み、立毛、眼分泌物、眼瞼閉鎖状態、眼球突出、流涙、口鼻分泌物（汚れ）、流涎、下腹部被毛の尿による汚れ、肛門周囲の便による汚れ、発声、呼吸、姿勢、痙攣、振戦、探索行動（覚醒度）、警戒性、自発運動（活動性）、歩行（よろめき）、異常行動（自咬、後ろ向き歩行等）、常同行動（過度の毛繕い、反復旋回運動等）、意識不全（混迷、カタレプシー、昏睡）、四肢筋緊張度、排尿および排糞について観察し、認められた変化を評点（Appendix 8）で記録した。動物には無作為化法で観察番号を付け、 観察者以外の者が群や動物番号を表示したケージの標識札を観察番号のみ表示した標識札に替え、観察者は観察番号順に観察を行うことにより、投与内容が不明な状態で観察した。

(3) 感覚反射機能検査

雄は投与 42 日、雌は哺育 3 日、また、回復群の雌雄は投与 42 日および回復 14 日に、聴覚反応（ピンセットで軽くケージを叩く音に対する驚愕反応）、視覚反応（顔面に棒を近づけた場合の接近反応）、触覚反応（腰部に触れた場合の反応）、痛覚反応（尾根部をピンセットで摘んだ場合の逃避、発声等の反応）、瞳孔反射（暗所から急に明るい場所に移した時の瞳孔の反射）および正向反射（面上で動物を背臥位にした場合の正常姿勢にもどる反射）を調べ、認められた反応を評点（Appendix 9）で記録した。

(4) 握力および自発運動量

雄は投与 41 日、雌は哺育 3 日、また回復群の雌雄は投与 42 日（最終投与日）およ

び回復 13 日に、雄は 30 および 60 分間、雌は 30 分間の自発運動量（自発運動量測定装置、SUPERMEX、室町機械株式会社、動物が発する遠赤外線をセンサーが感知し、測定装置内の区画間の間における移動回数を測定）並びに前肢および後肢の握力（ラット・マウス用握力測定装置、MK-380R/FR、室町機械株式会社）を測定した。回復群の雌の自発運動量は、30 および 60 分間測定した。

(5) 体重および摂餌量

体重は、雄については投与 1（投与開始日、投与直前）、7、14、21、28、35 および 42 日並びに回復 7（投与 49 日）および 14 日（投与 56 日）、雌は投与 1、7 および 14 日、妊娠 0、7、14 および 20 日並びに哺育 0 および 4 日に、また、サテライト群として設けた雌の回復群については交配を行わないため、雄と同じ日に測定した。さらに、雌雄とも屠殺日に測定した。摂餌量は、体重測定日に合わせて、ケージごとに翌日までの 24 時間飼料消費量を測定した。ただし、摂餌量の最終測定日は、雄では投与 41 日、雌では哺育 3 日、回復群では回復 13 日とした。交配期間中の投与 21 および 28 日には、交尾の成立していない雌雄の摂餌量は測定しなかった。

(6) 雌の性周期検査

雌について、馴化・検疫期間に引き続き、交配前の 2 週間を経て交配期間の交尾が確認されるまで、Giemsa 染色による膣垢塗抹標本を作製し、鏡検により性周期段階の判定を行った。また、投与開始日から交配開始日までの性周期段階の判定から性周期を算出した。1 性周期は、発情期（Ⅲ）像が認められた日から次のⅢ期像が認められた前日までとし、Ⅲ期像が連続した場合は、最初のⅢ期像が認められた日から起算した。

(7) 交配および分娩状態観察

交配前 2 週間の投与を終了（投与 15 日の午後）した雌雄を同一群内で 1 対 1 の組み合わせを作り、2 週間を限度として交尾が確認されるまで連続同居させた。交配期間中は毎朝一定時刻（9：30 頃）に交尾の確認を行い、交尾率（%）［（交尾動物数／同居動物数）×100］を算出した。交尾は、膣栓形成あるいは膣垢中の精子の有無により確認し、確認された日を妊娠 0 日とした。分娩状態の観察も同じ時刻に行い、分娩の完了が確認された日を哺育 0 日とした。交配および分娩の観察結果から、各群について、受胎率（%）［（受胎雌数／交尾成立雌数）×100］、妊娠期間（妊娠 0 日から分娩の完了が確認された日までの日数）および出産率（%）［（生児出産雌数／妊娠雌数）×100］を

算出した。

(8) 雄の尿検査

雄について、投与 37 日および回復群については回復 9 日に、動物を約 3 時間代謝ケージに収容し、得られた尿について、外観の観察、試験紙法（マルティスティックス、バイエル・三共株式会社）による pH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビンおよびウロビリノーゲンの定性的検査並びに沈渣の検査（URI-CELL 液、ケンブリッジケミカルプロダクト社、で染色して鏡検）を行った。さらに、18 時間収容して得られた尿について、尿量、 比重（屈折計、エルマ光学株式会社）並びにナトリウムおよびカリウム（電解質自動分析装置、NAKL-132、東亜ディーケーケー株式会社）を測定した。

(9) 血液学検査

最終投与の翌日あるいは回復期間終了の翌日の解剖直前に、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より採血した。動物は前日の午後 5 時より除餌し、水のみを給与した。採取した血液は 3 分割し、その一部は EDTA-2K で凝固阻止処理し、多項目自動血球計数装置（XT-2000iv、シスメックス株式会社）により、赤血球数（電気抵抗検出法）、血色素量（ラウリル硫酸ナトリウム-ヘモグロビン法）、ヘマトクリット値（赤血球パルス波高値検出法）、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度（以上、計算値）、白血球数、網状赤血球数、白血球百分率（以上、フローサイトメトリー法）および血小板数（電気抵抗検出法）を測定した。また、血液の一部を 3.8%クエン酸ナトリウム液で凝固阻止処理して血漿を得、血液凝固自動測定装置（KC-10A, 米アメルング社）により、プロトロンビン時間（Quick 一段法）および活性化部分トロンボプラスチン時間（エラヂン酸活性化法）を測定した。なお、必要に応じて検査できるように、血液塗抹標本を作製した。

(10) 血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、生化学自動分析装置（JCA-BM8 型クリナライザー、日本電子株式会社）により、総タンパク（ビューレット法）、アルブミン（BCG[1]法）、A/G 比（計算値）、血糖（GluK[2]-G-6-PDH[3]法）、総コレステロール（酵素法、CES[4]-COD[5]-POD[6]系）、トリグリセライド（酵素法、LPL[7]-GK[8]-GPO[9]-POD[6]系）、総ビリルビン（ジアゾ法）、尿素窒素（ウレアーゼ・UV 法）、クレアチニン （Jaffe

法)、AST、ALT、γ-GTP、ALP（以上、JSCC[10]法)、LDH（SFBC法[11]）、ChE（BTC[12]-DTNB[13]法)、無機リン（酵素法、PNP[14]-XOD[15]-POD[6]系）およびカルシウム（OCPC[16]法）を、また電解質自動分析装置（NAKL-132、東亜ディーケーケー株式会社）により、ナトリウム、カリウムおよび塩素（以上、イオン電極法）を測定した。

1)：ブロムクレゾールグリーン，2) グルコキナーゼ、3) グルコース-6-リン酸脱水素酵素、4) コレステロールエステラーゼ、5) コレステロールオキシダーゼ、6) ペルオキシダーゼ、7) リポプロテインリパーゼ、8) グリセロールキナーゼ、9) L-α-グリセロリン酸オキシダーゼ、10) 日本臨床化学会、11) フランス臨床生物学会、12) ブチリルチオコリン、13) 5、5'-ジチオビス-2-ニトロ安息香酸、14) プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ、15) キサンチンオキシダーゼ、16) o-クレゾールフタレンコンプレクソン

(11) 剖検および器官重量

雄の計画屠殺動物は投与42日の翌日、雌は哺育5日、また、回復群については回復14日の翌日に、それぞれエーテル麻酔下で放血屠殺し、体表、開口部粘膜および内部諸器官を肉眼的に観察した。また、各群雌雄各5匹の肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、脳、心臓、下垂体、甲状腺および精嚢並びに全ての雄の精巣および精巣上体を秤量（絶対重量）し、屠殺日の体重に基づいて対体重比（相対重量）を算出した。なお、対器官は左右を一括して、下垂体および甲状腺は固定後に秤量した。雌については、卵巣の黄体数および子宮の着床数を調べ、着床率（%）[（着床数／黄体数）×100]を算出した。

(12) 病理組織学検査

全例について下記器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液（精巣、精巣上体はブアン液で前固定）で固定し、保存した。

（脳、下垂体、甲状腺、胸腺、気管・肺（固定液を注入後浸漬)、胃、腸、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、脊髄（頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、骨髄（大腿骨)、リンパ節（頸部リンパ節、腸間膜リンパ節)、乳腺）

病理組織学検査は、対照群および500 mg/kg群の雌雄各5匹の上記器官・組織について実施した。精巣については、精子形成サイクル検査（ステージⅡ・Ⅲ、Ⅴ、ⅦおよびⅫⅡ）も行った。その結果、被験物質の投与による影響が雌雄の肝臓および雌の腎臓に認められたので、回復群を含むその他の群については、雌雄の肝臓および雌の腎臓に

ついて検査した。各群の肉眼的異常部位は全例について検査した。検査は、常法に従ってパラフィン切片を作製し、H-E 染色を施して鏡検した。また、精子形成サイクル検査のために精巣の PAS 染色標本も作製した。

2) 新生児に関する項目

(1) 産児数、性比および外表検査

分娩完了の確認後、各腹の産児数（生産児と死亡児の合計）を調べ、分娩率(%) [(総出産児数／着床数)×100]を、また、肛門と生殖突起間の長短により性別を判定し、群ごとの性比を算出した。さらに、新生児について、口腔内を含む外表の異常を観察した。

(2) 一般状態観察

毎日、一般状態および生死を確認し、出生率（%）[（出産確認時生児数／総出産児数）×100]および哺育 4 日生存率（%）[（哺育 4 日の生児数／出産確認時生児数）×100]を算出した。

(3) 体重

新生児について、哺育 0 および 4 日に、雌雄別に腹ごとの体重を測定し、1 匹当たりの平均体重を算出した。

(4) 病理学検査

死亡例はその都度、生存例は哺育 4 日にエーテル麻酔下で放血死させ、胸部および腹部における主要器官について、肉眼的に観察した。

5. 統計解析

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との有意差(危険率 5%以下)を、次の方法で検定した。なお、出産児に関するデータは、1 腹の平均を 1 標本とした。

(1) パラメトリックデータ

多群間の比較については、Bartlett の分散検定を行った。分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行い、その結果有意差を認めた場合、Dunnett 法により対照群に対する各群の比較検定を行った。分散が一様でない場合は、ノンパラメトリックデータに用いる検定法に従った（体重、体重増加量、摂餌量、握力、自発運動量、尿検査における定量的データ、血液学検査データ、血液生化学検査データ、器官重量、黄体数、着床数、

交尾成立期間、妊娠期間、産児数、生児数、死亡児数)。2 群間の比較については、F 検定を行い、その結果分散が一様な場合は Student の t 検定を、分散が一様でない場合は Aspin-Welch の t 検定を行った。

(2) ノンパラメトリックデータ

多群間の比較については、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合、Dunnett 型の検定法により対照群と各群を比較した (白血球百分率、尿検査における定性的データ、精子形成サイクル検査、着床率、出生率、分娩率、性周期、新生児生存率)。2 群間の比較については、Mann-Whitney の U 検定を行った。

(3) カテゴリカルデータ

Fisher の直接確率法を用いた(詳細な臨床観察、感覚反射機能検査、一般状態の観察および病理学検査における異常例の発現率、交尾率、受胎率、出産率)。なお、病理組織学検査所見のうち、グレード分けしたデータについては Mann-Whitney の U 検定、児動物の性比については、χ^2 検定を用いた。

結　果

1. 反復投与毒性

1) 一般状態および死亡 (Tables 1～4、Appendices 10～13)

投与期間において、投与 12 日以降に、流涎が 250 mg/kg 群で雄の 12 匹全例並びに雌の 10 匹およびサテライト群の 5 匹全例に認められた。流涎は、投与直後に口周囲を湿らす程度の一過性ものであった。回復期間においては、一般状態の変化は認められなかった。死亡は、投与および回復期間を通じて認められなかった。

2) 詳細な臨床観察 (Tables 5, 6、Appendices 14, 15)

投与期間中および回復期間中の観察において、各観察項目に有意な変化は認められなかった。

3) 感覚反射機能検査 (Tables 7, 8、Appendices 16, 17)

投与期間中および回復期間中の検査において、各検査項目に変化は認められなかった。

4) 握力および自発運動量 (Tables 9, 10、Appendices 18, 19)

投与期間中の検査において、2 および 250 mg/kg 群で雄に 30 分間の自発運動量の有意な高値、並びに雌のサテライト群で 30 分間の自発運動量の有意な低値が認められた。60 分間の自発運動量には、有意な変化は認められなかった。また、前後肢の握力に有意な変化は認められなかった。回復期間中の検査においては、握力および自発運動量に有意な変化は認められなかった。

5) 体重 (Figures 1, 2、Tables 11, 12、Appendices 20, 21)

投与期間中において、各測定時点の体重には有意な変化は認められなかったが、50 および 250 mg/kg 群の雄および雌のサテライト群の投与期間中体重増加量は対照群と比べて大きく、50 mg/kg 群の雄および雌のサテライト群に有意差が認められた。回復期間中において、雄の回復群で回復 0 日の体重の有意な高値および回復期間中体重増加量の有意な低値が認められた。

6) 摂餌量 (Figures 3, 4、Tables 13, 14、Appendices 22, 23)

投与期間において、雄で 50 mg/kg 群の投与 7、14 および 35 日並びに 250 mg/kg 群の投与 7～41 日の摂餌量に有意な高値が認められた。雌では、交配前の投与 7 日において、10 および 250 mg/kg 群の摂餌量に有意な高値が認められたが、対照群の摂餌量が低値であったための偶発的な変化と判断された。回復期間においては、雄の回復群で、回復 13 日の摂餌量に有意な高値が認められた。

7) 雄の尿検査 (Table 15、Appendix 24)

投与期間中および回復期間中の検査において、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

8) 血液学検査 (Tables 16, 17、Appendices 25, 26、背景データ： Appendices 42, 43)

投与期間終了時の検査において、2 mg/kg 群で、雄に平均赤血球血色素濃度の有意な低値が認められた。50 mg/kg 群では、雄に平均赤血球血色素濃度および白血球百分率における好酸球比の有意な低値並びに血小板数の有意な高値が認められた。250 mg/kg 群では、雄に血小板の有意な高値および好酸球比の有意な低値、雌に平均赤血球血色素濃度の有意な低値が認められた。回復期間終了時の検査においては、回復群で雄に血色素量およびヘマトクリット値の有意な低値並びに血小板数の有意な高値、雌に平均赤血球血色素濃度の有意な低値が認められた。

9) 血液生化学検査 (Tables 18, 19、Appendices 27, 28、背景データ： Appendices 42, 43)

投与期間終了時の検査において、10 mg/kg 群で雌に中性脂肪濃度の有意な低値が認められた。50 mg/kg 群では変化は認められなかった。250 mg/kg 群では雌雄に総タンパク濃度およびアルブミン濃度の有意な高値が認められた。さらに、雄に ALT 活性およびコリンエステラーゼ活性の有意な高値並びに血糖値の有意な低値、雌にカルシウム濃度の有意な高値並びに中性脂肪濃度の有意な低値が認められた。回復期間終了時の検査においては、回復群の雄に ALT 活性および雌に総コレステロール濃度の有意な高値が認められた。

10) 剖検 (Tables 20, 21、Appendices 29～30)

投与期間終了時屠殺動物において、肝臓の大型化が 50 mg/kg 群で雄の 2/12 匹および雌の 4/12 匹、250 mg/kg 群で雄の 7/7 匹および雌の 12/12 匹に認められた。回復期間終了時屠殺動物では、肝臓の大型化は認められなかった。なお、被験物質の投与とは無関係に、胸腺の赤色域が投与期間終了時屠殺動物の 2 mg/kg 群の雄の 1 匹および 10 mg/kg 群の雌の 1 匹、子宮水腫が回復期間終了時屠殺動物の対照群の雌の 2 匹に認められた。

11) 器官重量 (Tables 22, 23、Appendices 32～35)

投与期間終了時屠殺動物において、肝臓の絶対重量および相対重量の有意な高値が 10 mg/kg 群で雌、50 および 250 mg/kg 群で雌雄に認められた。さらに、250 mg/kg 群で雌に腎臓の絶対重量および相対重量並びに副腎の絶対重量、雄に副腎の相対重量の、いずれも有意な高値が認められた。回復期間終了時屠殺動物では、回復群で肝臓の絶対重量および相対重量の有意な高値が雌雄に、脾臓の絶対重量および相対重量の有意な高値が雄に、心臓の絶対重量および相対重量の有意な高値並びに甲状腺の絶対重量の有意な高値が雌に認められた。回復群の肝臓重量の変化は、投与期間終了時屠殺動物と比べて軽減していた。

12) 病理組織学検査 (Tables 24～26、Appendices 29～31、 Photos 1, 2)

投与期間終了時屠殺動物において、被験物質の投与に起因する変化が、雌雄の肝臓および雌の腎臓に認められた。肝臓において、小葉中心性肝細胞肥大が 10 mg/kg 群で雌の 2 匹、50 mg/kg 群で雄の 3 匹および雌の 5 匹、250 mg/kg 群で雄の 5 匹および雌の 5 匹に認められ、250 mg/kg 群では変化の程度も増強する傾向にあった。腎臓において、遠位尿細管から集合管にかけての拡張および集合管上皮の過形成が 250 mg/kg 群で雌の 3 匹に認められた。回復群では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大は雄の 2 匹および雌の 2 匹に認められ、投与期間終了時屠殺動物と比べて発現率および変化の程度とも軽減していた。また、雌の腎臓に遠位尿細管/集合管の拡張および集合管上皮の過形成は認められず、回復していた。

これらの被験物質の投与に起因する変化の他に、対照群にのみ、あるいは対照群と被験物質投与群に、肺の泡沫細胞集簇（雌雄）および動脈壁鉱質沈着（雄)、心臓の心筋

変性・線維化（雄）、肝臓の微小肉芽腫（雄）、巣状壊死（雄）および小葉周辺性肝細胞脂肪変性（雄）、腎臓の近位尿細管上皮硝子滴（雄）、近位尿細管上皮好酸性小体（雄）、好塩基性尿細管（雄）、硝子円柱（雄）、皮質線維化（雌）、脾臓の髄外造血（雌雄）および褐色色素沈着（雌雄）、膀胱の粘膜下組織リンパ球浸潤（雄）、前立腺の間質リンパ球浸潤（雄）が認められた。これらは、いずれもラットにおける自然発生病変として発現する変化 [1] であり、また、被験物質投与群における発現率や変化の程度に対照群との差は認められなかった。

また、被験物質投与群にのみ、雌で肝臓の微小肉芽腫、小葉周辺性肝細胞脂肪変性および巣状壊死、腎臓の好塩基性尿細管、孤立性嚢胞および皮質リンパ球浸潤が認められたが、これらの変化は発現率や変化の程度が被験物質の投与により増強する傾向は認められなかった。

なお、剖検で被験物質の投与とは無関係に発現した赤色域を認める胸腺には出血が認められた。

対照群で認められた交尾不成立（No. 010 と 510）および 250 mg/kg 群で認められた妊娠不成立（No. 052 と 557、No. 060 と 565）の各ペアについて、雄では下垂体、精巣、精巣上体、前立腺および精嚢等に変化はなく、また、雌では No. 557 で軽度な子宮腔拡張が認められた以外には、下垂体、卵巣および子宮等に変化は認められず、交尾不成立および妊娠不成立の原因となるような所見は認められなかった。また、50 および 250 mg/kg 群で全児死亡が認められた雌親（No. 545、559、561）では、下垂体、卵巣、子宮および乳腺等に変化は認められなかった。

精子形成サイクル検査において、各検査ステージに変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

1) 親動物に及ぼす影響

(1) 性周期検査（Table 27、Appendices 37, 38）

被験物質投与各群とも、対照群と比べて性周期に有意な変化は認められなかった。なお、250 mg/kg 群で 1 匹（No. 557）が性周期検査後 4 日から、別の 1 匹（No. 566）が性周期検査後 7 日から、発情休止期（V）像が持続し、No. 557 は性周期が算出できず、また、No. 566 は 1 性周期のデータのみとなったため、平均性周期の算出からは除

外した。No. 566 はサテライト群のため、その後のスメア像は採取しておらず、性周期は不明だが、No. 557 は交配開始後 2 日に発情前期（Ⅰ）像、その翌日に発情期（Ⅲ）像と共に精子が認められ、交尾が確認されたことから、発情休止期（Ⅴ）像の持続は偽妊娠を起こしていたことを示すものと判断された。

(2) 交尾率および受胎率 (Table 27、Appendix 38)

250 mg/kg 群で交尾成立までに要する平均日数の有意な延長が認められたが、これは対照群の交尾成立までに要する日数が偶発的に短かったことによる統計学的有意差であり、いずれの被験物質投与群とも交尾成立までに要する日数は 4 日以内の正常値を示すものであった。交尾率および受胎率には、いずれの被験物質投与群とも有意な変化は認められなかった。なお、対照群で 1 例（No. 010 と 510 のペア）の交尾不成立が認められた。この例の雌は、交配前は順調な性周期を示していたが、交配開始後 2 日から 13 日まで発情休止期（Ⅴ）像が持続し、交配開始後 14 日に発情前期（Ⅰ）像が認められたことから、偽妊娠を起こしていたものと判断された。また、250 mg/kg 群で 2 例（No. 052 と 557 のペア、No. 060 と 565 のペア）の妊娠不成立が認められた。

(3) 黄体数、着床数および着床率 (Table 27、Appendix 38)

黄体数、着床数および着床率に有意な変化は認められなかった。

(4) 出産率および妊娠期間 (Table 27、Appendix 38)

出産率および妊娠期間に有意な変化は認められなかった。

(5) 分娩および哺育状態 (Table 27、Appendix 38)

50 mg/kg 群で 1 匹 (No. 545) は分娩後、哺育行動は示したものの哺育 1 日までの間に全児死亡が認められた。250 mg/kg 群では 1 匹 (No. 559) は分娩したものの、児は全例死亡（死産）であった。また、別の 1 匹 (No.561) は分娩したものの、1 匹の生存児以外は全て死産であり、その生存児も哺育 0 日の夕方には死亡が確認された。

2 および 10 mg/kg 群では、分娩および哺育状態に変化は認められなかった。

2) 新生児に及ぼす影響

(1) 生存性および体重 (Table 28、Appendix 39)

250 mg/kg 群で哺育 0 日および 4 日の新生児総数および新生児雌数、出生率、哺育 4 日までの生存率、哺育 0 日および 4 日の新生児体重に有意な低値が認められた。

被験物質投与各群とも一腹当たりの総出産児数、分娩率、性比および新生児の一般状態には変化は認められなかった。

(2) 形態 (Table 29、30、Appendices 40、41)

外表検査では、10 mg/kg 群で矮小児が 1 匹認められたのみであった。内臓検査では、いずれの投与群においても内臓異常は認められず、内臓変異として、左臍動脈遺残を呈する児動物が対照群で 1 匹 (0.6%)、2 mg/kg 群で 1 匹 (0.8%) および 10 mg/kg 群で 1 匹 (0.5%)、胸腺の頸部残留を呈する児動物が 2 mg/kg 群で 1 匹 (0.6%) および 10 mg/kg 群で 1 匹 (0.4%) 認められたが、これらは、いずれも 1 例ずつの低い発現率であり、自然発生的範疇のものと判断した。

考　察

1. 反復投与毒性について

1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンの主な反復投与毒性として、肝臓、腎臓および副腎に変化が認められ、また、摂餌量、体重、血液等に対する影響も認められた。

肝臓に対する影響について、病理組織学検査で、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が、10 mg/kg 群の雌並びに 50 および 250 mg/kg 群の雌雄に認められた。また、この肝細胞肥大を反映した変化と考えられる肝臓重量の高値が、10 mg/kg 群の雌並びに 50 および 250 mg/kg 群の雌雄に認められ、50 および 250 mg/kg 群の雌雄では、剖検においても肝臓の大型化が確認された。

血液生化学検査で 250 mg/kg 群に認められた雌雄の総タンパク濃度およびアルブミン濃度の高値並びに雄の ALT 活性およびコリンエステラーゼ活性の高値についても、被験物質の肝臓に対する影響と関連する変化と考えられる。

また、250 mg/kg 群の雄の血糖値の低値および雌の中性脂肪濃度の低値についても、肝臓の変化が糖・脂質代謝に影響をもたらしている可能性が考えられる。

なお、中性脂肪濃度の低値は 10 mg/kg 群の雌にも認められたが、各個体とも背景データにおける基準値内の軽度な変化であり、50 mg/kg 群では変化は認められていないことから、被験物質の影響によるものではないと判断された。

250 mg/kg 群の雌に認められたカルシウム濃度の高値については、カルシウム代謝への影響を示唆する変化を伴っていないこと、およびカルシウムはアルブミンとの結合物を測定していることから、アルブミン濃度の高値に伴う二次的な変化と考えられる。

腎臓に対する影響について、250 mg/kg 群の雌に腎臓重量の高値が認められ、病理組織学検査では腎臓の遠位尿細管/集合管の拡張および集合管上皮の過形成が認められた。集合管上皮の過形成は、被験物質により影響を受けた上皮の再生性変化と推察され、遠位尿細管から集合管の拡張は、集合管上皮の過形成に伴う尿成分のうっ滞を示唆する変化と考えられる[2)]。しかしながら、これらの病理組織学的変化による腎機能に対する影響を示唆する変化は認められなかった。また、雄では腎臓の変化は認められなかった。

副腎に対する影響について、250 mg/kg 群で病理組織学変化は認められなかったが、雄に相対重量、雌に絶対重量の高値が認められた。

摂餌量および体重に対する影響について、50 および 250 mg/kg 群の雄の摂餌量およ

び体重増加量は増加傾向を示し、雌のサテライト群の投与期間中体重増加量も増加した。この変化の発現機序は不明であるが、有害性の観点からは、毒性学的意義は小さいものと考えられる。

血液に対する影響について、50 および 250 mg/kg 群で雄に血小板数の高値が認められた。被験物質の投与による影響と考えられるものの、血液凝固を遅延させる減少性の変化ではなく、しかも軽度な増加であり、毒性学的意義は小さいものと考えられる。

また、250 mg/kg 群の雌の平均赤血球血色素濃度の低値については、赤血球数、血色素濃度およびヘマトクリット値に有意な変化は認められていないが、回復群においても認められており、前述の腎臓に対する影響と何らかの関連性を有する可能性が考えられる。

なお、2 および 50 mg/kg 群の雄に認められた平均赤血球血色素濃度の低値については、用量相関性は認められず、いずれの個体も背景データにおける基準値の範囲内の値で、むしろ対照群の値がやや高値であったための変化と考えられる。

一般状態の観察で 250 mg/kg 群に認められた流涎は、投与直後に一過性に発現する変化で、被験物質の吸収に伴う全身毒性とは考え難く、投与液に対する忌避反応と解せられる変化であった。

詳細な臨床観察、感覚反射機能検査および握力に変化は認められなかった。

自発運動の測定で認められた、2 および 250 mg/kg 群の雄の測定開始 30 分間の運動量の高値については用量相関性が認められず、雌のサテライト群では雄とは逆に測定開始 30 分間の運動量は低値を示したが、妊娠雌の自発運動量に変化は認められなかった。さらに、いずれも 60 分間の測定では有意差が認められず、関連する変化も認められなかった。

血液学検査で、50 および 250 mg/kg 群の雄に認められた白血球百分率における好酸球比の低値については、背景データにおける基準値の範囲を逸脱する個体は認められず、これらの群の白血球数は対照群を上回り、好酸球数では対照群との差は小さなものであった。

したがって、これら自発運動量および好酸球比の変化は、被験物質の投与による影響とは考え難く、偶発的な変化と判断された。

以上のように、1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンの反復投与により肝臓に対する影響

が雌は 10 mg/kg 以上、雄は 50 mg/kg 以上の用量で認められた。さらに、50 mg/kg 以上の用量で雄に摂餌量・体重および血液に対する影響、250 mg/kg で雌に腎臓に対する影響が認められた。

このような投与期間中あるいは投与期間終了時の検査で認められた変化は、回復群においては、肝臓や血液の変化の一部は残存したものの回復傾向にあり、可逆的な変化と判断された。

2. 生殖発生毒性について

雌雄親動物の生殖能に対する影響について、観察した各指標とも対照群と比べて変化は認められず、被験物質投与による影響は認められなかった。

なお、250 mg/kg 群で 2 例の妊娠不成立が認められたが、いずれのペアにおいても病理組織学検査でその原因となるような所見は認められなかったことから、偶発的なものと判断された。また、50 mg/kg 群の 1 匹の母動物で分娩後、哺育行動は示したものの、哺育 1 日までの間に全児死亡が認められた。しかし、母動物の下垂体、卵巣、子宮および乳腺の病理組織学検査並びに生殖能に変化は認められず、また、同群の他の母動物における児動物の発生・発育に変化は認められていないことから、この例の全児死亡は偶発的なものと判断された。250 mg/kg 群では 2 例の母動物に死産が認められたが、病理組織学検査において母動物の下垂体、卵巣、子宮および乳腺に変化は認められず、また、生殖能にも変化は認められなかった。

児動物の発生・発育に対しては、250 mg/kg 群で新生児数、出生率、生存率および新生児体重に低値が認められた。これらの変化について、母動物に低体重や摂餌量の減少は認められていないこと、また、同群の 2 例の母動物に死産が認められていることなどから、母動物の栄養状態に伴う非特異的な影響ではなく、被験物質投与に起因する児動物に対する毒性影響を示す変化と判断された。

以上の結果から、1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンの親動物への反復投与において、10 mg/kg 群で雌に肝臓に対する影響、50 mg/kg 群で雄に肝臓に対する影響が認められたことから、無影響量(NOEL)および無毒性量(NOAEL)は、いずれも雄は 10 mg/kg/day、雌は 2 mg/kg/day と推定した。また、生殖発生毒性に関する NOEL および NOAEL は、

250 mg/kg 群で新生児数、出生率、生存率および体重に変化が認められたことから、いずれも 50 mg/kg/day と推定した。

文　献

1) 日本毒性病理学会編, “毒性病理組織学”, 日本毒性病理学会, 2000.

2) G. Austin Gresham, “Current Histopathology”, Volume 13, - C. Gopinath, D.E. Prentice and D.J. Lewis, “Atlas of experimental toxicological pathology” - the urinary system, MTP Press Limited, 1987.

1, 3, 5-トリ-*tert*-ブチルベンゼンのラットを用いる

反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

(試験番号：07-111)

報告書　添付資料A

(図・群別平均値表)

財団法人　畜産生物科学安全研究所

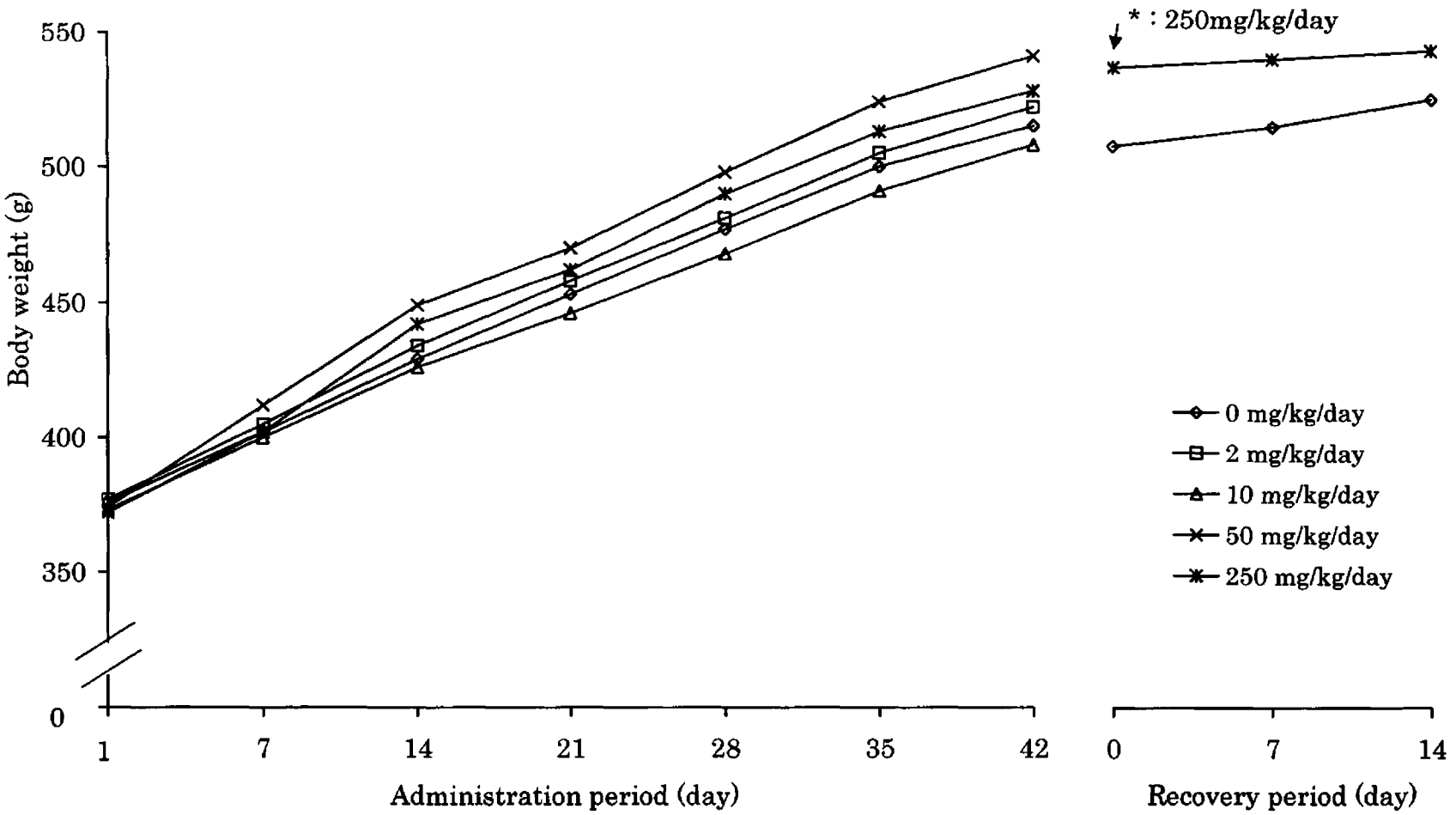

Fig. 1 Body weight changes of male rats treated orally with 1,3,5,-Tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

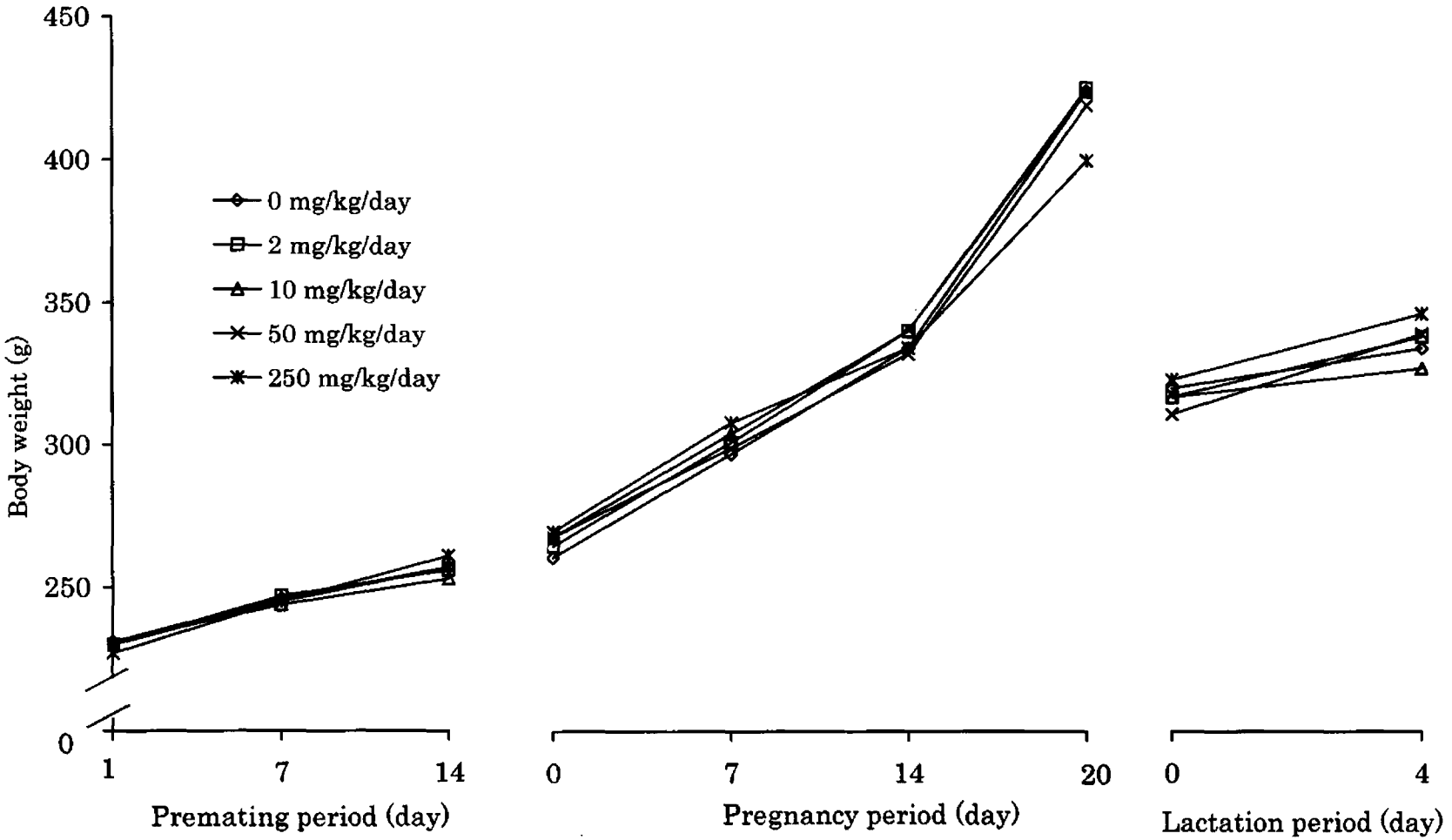

Fig. 2-1 Body weight changes of female rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

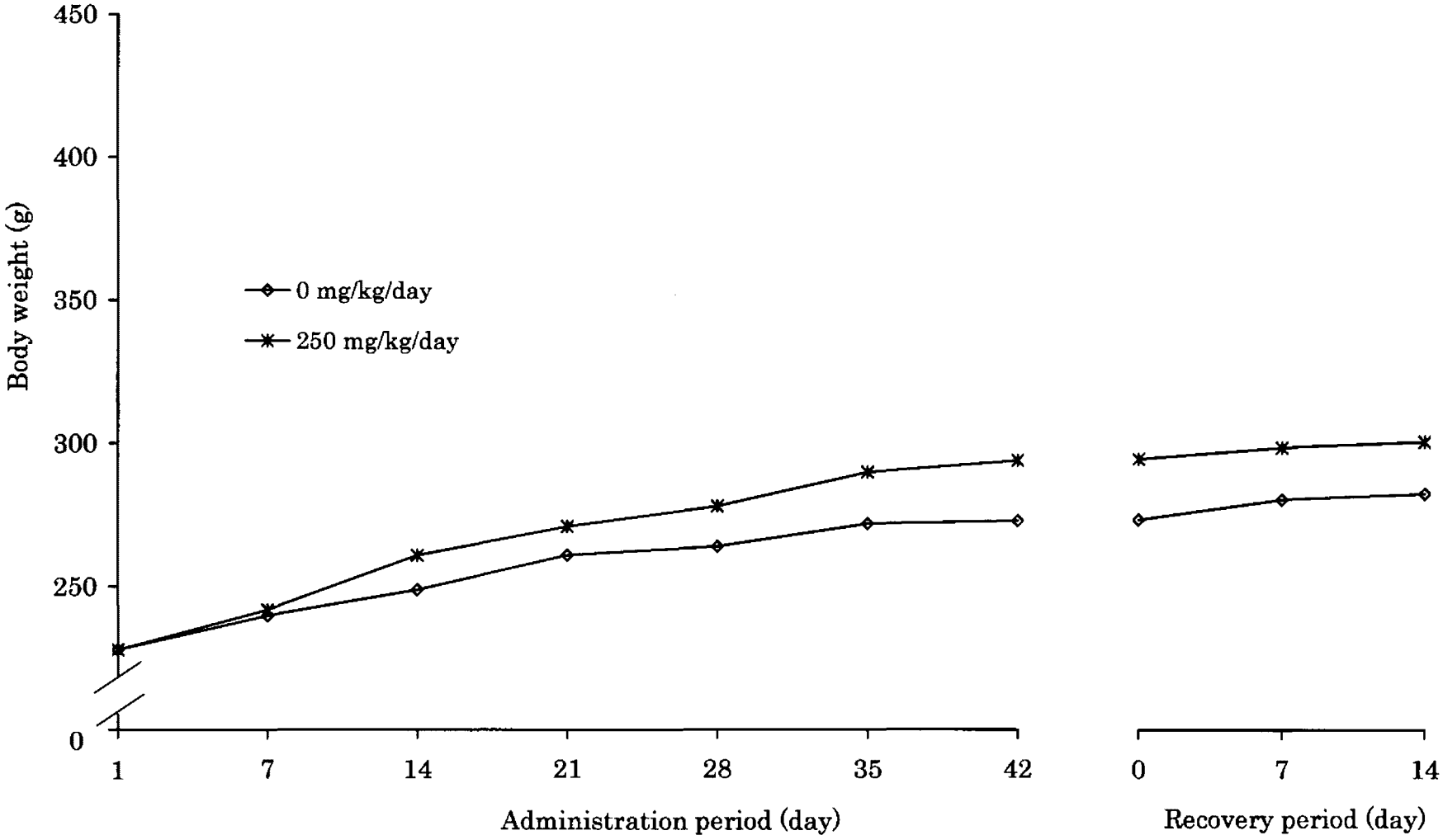

Fig. 2-2 Body weight changes of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

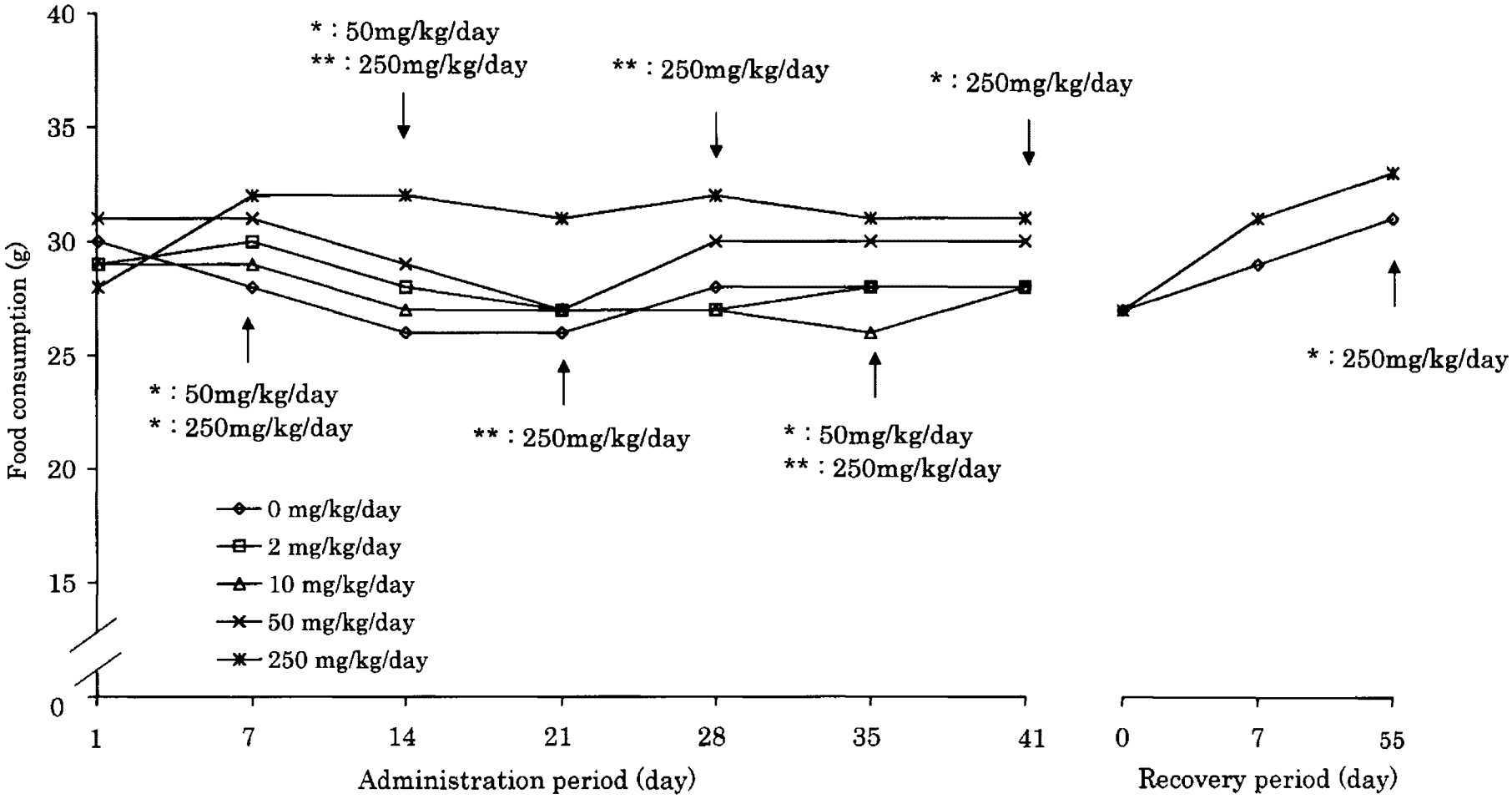

Fig.3 Food consumption changes of male rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

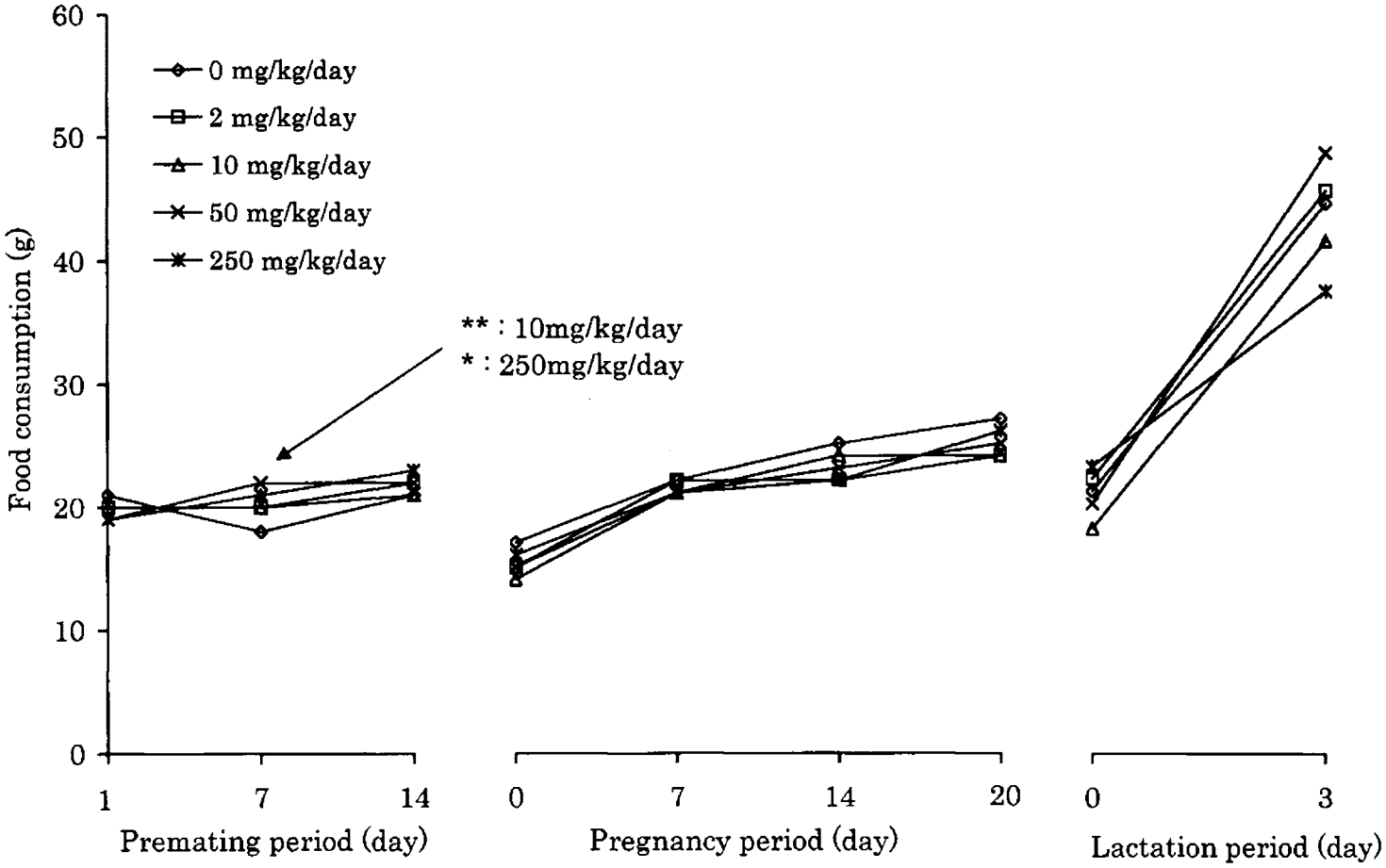

Fig. 4-1 Food consumption changes of female rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

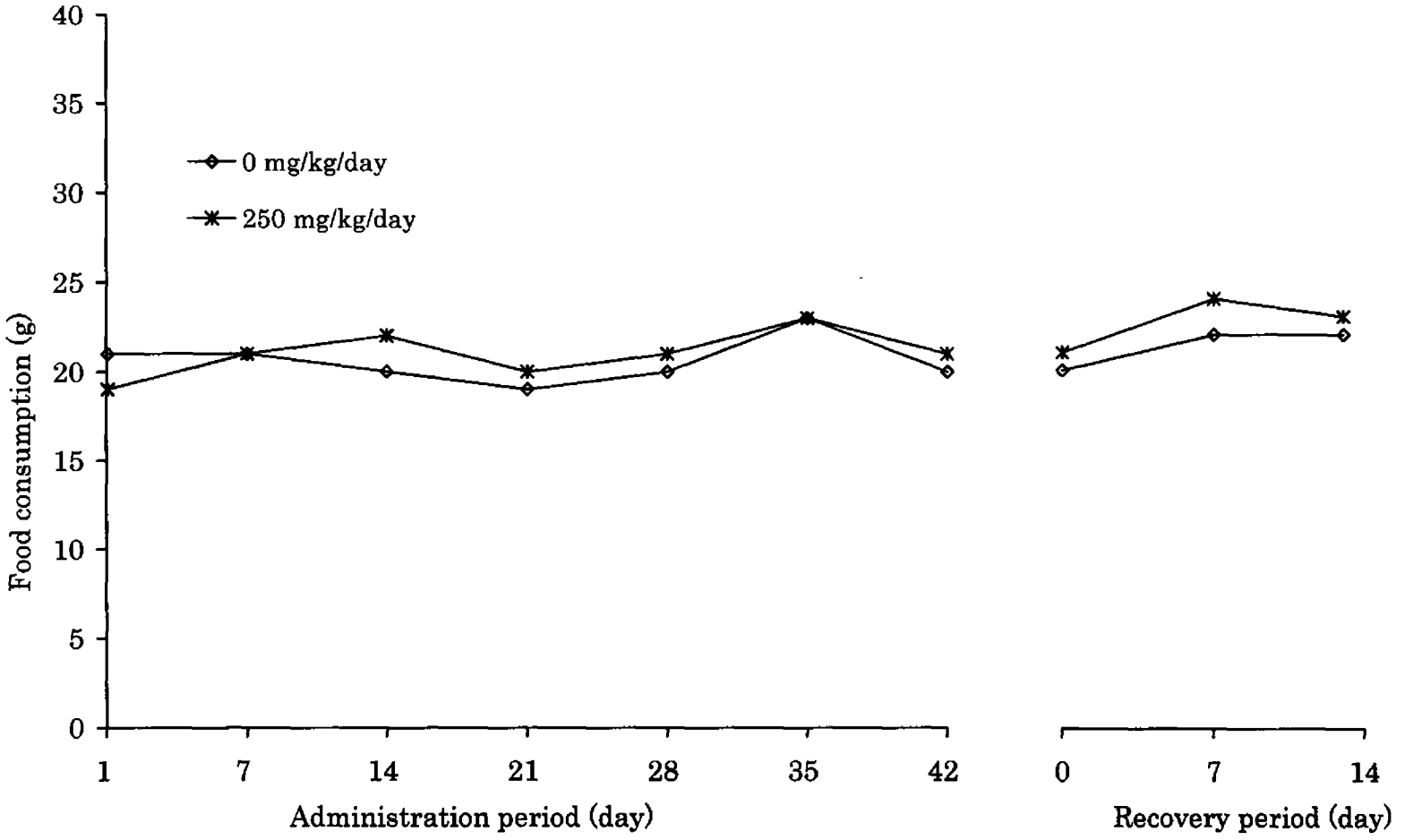

Fig. 4-2 Food consumption changes of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Table 1 Mortality rate of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	0	2	10	50	250
No. of animals examined	12	12	12	12	12
No. of animals that died	0	0	0	0	0
Mortality (%)	0	0	0	0	0

Table 2 Mortality rate of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	0	2	10	50	250	Satellite group 0	Satellite group 250
No. of animals examined	12	12	12	12	12	5	5
No. of animals that died	0	0	0	0	0	0	0
Mortality (%)	0	0	0	0	0	0	0

Table 3 Clinical signs of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

General conditions		Dose (mg/kg/day)	Administration period									Recovery period	
			0			2	10	50	250			0	250
			TK	KR	Total	TK	TK	TK	TK	KR	Total	KR	KR
	Grade	No. of animals	7	5	12	12	12	12	7	5	12	5	5
Salivation	−		7	5	12	12	12	12	0	0	0	5	5
	+		0	0	0	0	0	0	7	5	12 **	0	0

− : Negative, + : Slight.
TK : Terminal killing.
KR : Killed by design at the end of 14-day recovery period.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 4-1 Clinical signs of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

General conditions	Grade	Dose (mg/kg/day) / No. of animals	Administration period 0	2	10	50	250
			12	12	12	12	12
Salivation	−		12	12	12	12	2
	+		0	0	0	0	10 **

- : Negative. + : Slight.

** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 4-2 Clinical signs of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

General conditions		Dose (mg/kg/day)	Administration period		Recovery period	
			0	250	0	250
		No. of animals	5	5	5	5
Salivation	—		5	0	5	5
	+		0	5 **	0	0

- : Negative. + : Slight.

** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 5-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 Before administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	9	12	10	12	11
	2 or more	3	0	2	0	1
	Color : Pale yellow	4/4	1/1	3/3	2/2	5/5
Defecation	Not detected or 1	11	11	11	9	9
	2 or more	1	1	1	3	3
	Appearance : Normal	1/1	2/2	1/1	4/4	4/4

Table 5-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 1 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	12	12	12	11	10
	2 or more	0	0	0	1	2
	Color : Pale yellow	7/7	3/3	6/6	6/6	3/3
Defecation	Not detected or 1	10	9	12	10	9
	2 or more	2	3	0	2	3
	Appearance : Normal	3/3	3/3	-	4/4	4/4

Table 5-3 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 2 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Color : Pale yellow	3/3	-	3/3	1/1	1/1
Defecation	Not detected or 1	11	12	10	11	12
	2 or more	1	0	2	1	0
	Appearance : Normal	2/2	-	2/2	1/1	-

Table 5-4 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 3 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	11	12	12
	Temporally in handling	0	0	1	0	0
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	11	11	11	11	12
	2 or more	1	1	1	1	0
	Color : Pale yellow	2/2	1/1	2/2	3/3	-
Defecation	Not detected or 1	11	12	11	12	12
	2 or more	1	0	1	0	0
	Appearance : Normal	2/2	-	2/2	-	1/1

Table 5-5 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 4 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	10	12	12
	Temporally in handling	0	0	2	0	0
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	11	12	11	12	12
	2 or more	1	0	1	0	0
	Color : Pale yellow	1/1	-	2/2	1/1	-
Defecation	Not detected or 1	11	12	12	12	12
	2 or more	1	0	0	0	0
	Appearance : Normal	1/1	-	-	-	-

Table 5-6 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 5 of the administration period 〉

Items		Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		12	12	11	12	11
	Temporally in handling		0	0	1	0	1
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		12	10	10	12	11
	2 or more		0	2	2	0	1
	Color : Pale yellow		1/1	4/4	3/3	-	2/2
Defecation	Not detected or 1		11	12	12	12	12
	2 or more		1	0	0	0	0
	Appearance : Normal		1/1	-	-	-	-

Table 5-7 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 6 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth·nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	9	12	11	10	12
	Temporally in handling	3	0	1	2	0
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	11	11	12	12	12
	2 or more	1	1	0	0	0
	Color : Pale yellow	2/2	4/4	3/3	1/1	1/1
Defecation	Not detected or 1	11	12	12	12	12
	2 or more	1	0	0	0	0
	Appearance : Normal	2/2	-	-	-	-

Table 5-8 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 1 of the recovery period 〉

Items		Dose(mg/kg/day)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacrimation	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected		5	5
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		0	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
	Color : Pale yellow		1/1	-
Defecation	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
	Appearance : Normal		-	-

Table 5-9 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 2 of the recovery period 〉

Items		Dose(mg/kg/day)	0	250
		No. of animals	5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacrimation	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected		5	5
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		5	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
	Color : Pale yellow		-	-
Defecation	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
	Appearance : Normal		-	-

Table 6-1-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 Before administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 12	2 12	10 12	50 12	250 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	10	12	12	12	12
	2 or more	2	0	0	0	0
	Color : Pale yellow	5/5	-	2/2	-	1/1
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Appearance : Normal	-	-	-	-	-

Table 6-1-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 1 of the administration period 〉

Items		Dose(mg/kg/day)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		12	12	12	12	12
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		12	12	11	12	12
	2 or more		0	0	1	0	0
	Colar : Pale yellow		3/3	-	1/1	2/2	-
Defecation	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance : Normal		-	-	-	-	-

Table 6-1-3 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 2 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 12	2 12	10 12	50 12	250 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	11	12	12	12	11
	2 or more	1	0	0	0	1
	Colar : Pale yellow	1/1	-	-	-	1/1
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Appearance : Normal	-	-	-	-	-

Table 6-1-4 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 3 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	12	12	12	11	11
	2 or more	0	0	0	1	1
	Colar : Pale yellow	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Appearance : Normal	-	-	-	-	-

Table 6-1-5 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 4 of the administration period 〉

Items		Dose(mg/kg/day)	0	2	10	50	250
		No. of animals	12	12	12	12	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal		12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal		12	12	12	12	12
Skin	Normal		12	12	12	12	12
Fur	Normal		12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected		12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected		12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected		12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected		12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected		12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected		12	12	12	12	12
Salivation	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected		12	12	12	12	12
Breathing	Normal		12	12	12	12	12
Body position	Normal		12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected		12	12	12	12	12
Tremor	Not detected		12	12	12	12	12
Exploration	Normal		12	12	12	12	12
Alertness	Normal		12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal		12	12	12	12	12
Walk	Normal		12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal		12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected		12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected		12	12	12	12	12
Limb tone	Normal		12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1		11	12	12	12	12
	2 or more		1	0	0	0	0
	Colar : Pale yellow		1/1	-	1/1	-	-
Defecation	Not detected or 1		12	12	12	12	12
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance : Normal		-	-	-	-	-

Table 6-1-6 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 5 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 12	2 12	10 12	50 12	250 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	12	12
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	12	12
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	12
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	12
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	11	12	11	12	12
	2 or more	1	0	1	0	0
	Colar : Pale yellow	1/1	-	1/1	-	-
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Appearance : Normal	-	1/1	-	-	-

Table 6-1-7 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 6 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 12	2 / 12	10 / 12	50 / 12	250 / 12
Reactivity on removal from the cage	Normal	12	12	12	12	12
Reactivity on handling	Normal	12	12	12	12	12
Muscle tone	Normal	12	12	12	12	12
Skin	Normal	12	12	12	11	11
	Pale skin	0	0	0	1	1
Fur	Normal	12	12	12	12	12
Piloerection	Not detected	12	12	12	11	12
	Almost whole body	0	0	0	1	0
Eye discharge	Not detected	12	12	12	12	12
Palpebral closure	Not detected	12	12	12	12	11
	1/4	0	0	0	0	1
Exophthalmos	Not detected	12	12	12	12	12
Lacrimation	Not detected	12	12	12	12	12
Smudge around mouth-nose	Not detected	12	12	12	12	12
Salivation	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	12	12	12	12	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected	12	12	12	12	12
Vocalization	Not detected	12	12	12	12	12
Breathing	Normal	12	12	12	12	12
Body position	Normal	12	12	12	12	12
Convulsion	Not detected	12	12	12	12	12
Tremor	Not detected	12	12	12	12	12
Exploration	Normal	12	12	12	12	12
Alertness	Normal	12	12	12	12	12
Locomotor activity	Normal	12	12	12	12	11
	Slightly decreased	0	0	0	0	1
Walk	Normal	12	12	12	12	12
Abnormal behavior	Normal	12	12	12	12	12
Stereotypy	Not detected	12	12	12	12	12
Failure of consciousness	Not detected	12	12	12	12	12
Limb tone	Normal	12	12	12	12	12
Urination	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Colar : Pale yellow	-	-	-	-	1/1
Defecation	Not detected or 1	12	12	12	12	12
	2 or more	0	0	0	0	0
	Appearance : Normal	-	-	-	-	-

Table 6-1-8 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 7 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 1
Reactivity on removal from the cage	Normal	1
Reactivity on handling	Normal	1
Muscle tone	Normal	1
Skin	Normal	1
Fur	Normal	1
Piloerection	Not detected	1
Eye discharge	Not detected	1
Palpebral closure	Not detected	1
Exophthalmos	Not detected	1
Lacrimation	Not detected	1
Smudge around mouth-nose	Not detected	1
Salivation	Not detected	1
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	1
Blotted fur around anus with feces	Not detected	1
Vocalization	Not detected	1
Breathing	Normal	1
Body position	Normal	1
Convulsion	Not detected	1
Tremor	Not detected	1
Exploration	Normal	1
Alertness	Normal	1
Locomotor activity	Normal	1
Walk	Normal	1
Abnormal behavior	Normal	1
Stereotypy	Not detected	1
Failure of consciousness	Not detected	1
Limb tone	Normal	1
Urination	Not detected or 1	1
	2 or more	0
	Colar : Pale yellow	-
Defecation	Not detected or 1	1
	2 or more	0
	Appearance : Normal	-

Table 6-2-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 Before administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Color : Pale yellow	3/3	-
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 6-2-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 1 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth·nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Color : Pale yellow	-	-
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 6-2-3 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 2 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Color : Pale yellow	-	-
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 6-2-4 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 3 of the administration period 〉

Items		Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal		5	5
Reactivity on handling	Normal		5	5
Muscle tone	Normal		5	5
Skin	Normal		5	5
Fur	Normal		5	5
Piloerection	Not detected		5	5
Eye discharge	Not detected		5	5
Palpebral closure	Not detected		5	5
Exophthalmos	Not detected		5	5
Lacrimation	Not detected		5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected		5	5
Salivation	Not detected		5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		5	5
Vocalization	Not detected		5	5
Breathing	Normal		5	5
Body position	Normal		5	5
Convulsion	Not detected		5	5
Tremor	Not detected		5	5
Exploration	Normal		5	5
Alertness	Normal		5	5
Locomotor activity	Normal		5	5
Walk	Normal		5	5
Abnormal behavior	Normal		5	5
Stereotypy	Not detected		5	5
Failure of consciousness	Not detected		5	5
Limb tone	Normal		5	5
Urination	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
	Color : Pale yellow		-	-
Defecation	Not detected or 1		5	5
	2 or more		0	0
	Appearance : Normal		-	-

Table 6-2-5 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 4 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals	0 / 5	250 / 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	4	5
	2 or more	1	0
	Color : Pale yellow	2/2	-
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 6-2-6 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 5 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Color : Pale yellow	-	-
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 6-2-7 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 6 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Color : Pale yellow	-	-
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 6-2-8 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 1 of the recovery period >

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	4	5
	2 or more	1	0
	Color : Pale yellow	3/3	1/1
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 6-2-9 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of the recovery period >

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0 5	250 5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth·nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Normal	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Color : Pale yellow	2/2	-
Defecation	Not detected or 1	5	5
	2 or more	0	0
	Appearance : Normal	-	-

Table 7 - 1 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 6 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals examined	0 / 5	2 / 5	10 / 5	50 / 5	250 / 5
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5	5

Table 7 - 2 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of male rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 6 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals examined	0 5	250 5
Hearing reaction	Normal	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5
Pain reaction	Normal	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5
Righting reflex	Normal	5	5

Table 7 - 3 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of male rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 2 of the recovery period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals examined	0 5	250 5
Hearing reaction	Normal	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5
Pain reaction	Normal	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5
Righting reflex	Normal	5	5

Table 8 - 1 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 6 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals examined	0 5	2 5	10 5	50 5	250 5
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5	5

Table 8 - 2 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 6 of the administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals examined	0 5	250 5
Hearing reaction	Normal	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5
Pain reaction	Normal	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5
Righting reflex	Normal	5	5

Table 8 - 3 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

〈 On week 2 of the recovery period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) / No. of animals examined	0 5	250 5
Hearing reaction	Normal	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5
Pain reaction	Normal	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5
Righting reflex	Normal	5	5

Table 9-1 Mean value of grip strength and motor activity of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 6 of the administration period>

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts)	
		Forelimb	Hindlimb	0～30min.	0～60min.
0	5	820 ± 93	488 ± 67	6193 ± 1688	7570 ± 3188
2	5	777 ± 84	528 ± 52	8094 * ± 389	10745 ± 916
10	5	803 ± 101	530 ± 86	7896 ± 838	10447 ± 3772
50	5	986 ± 167	531 ± 121	7823 ± 793	11432 ± 3255
250	5	799 ± 73	512 ± 44	8247 * ± 1040	9301 ± 1819

Each value is exprssed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 9-2 Mean value of grip strength and motor activity of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 6 of the administration period>

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts)	
		Forelimb	Hindlimb	0～30min.	0～60min.
0	5	962 ± 66	398 ± 54	8189 ± 560	13560 ± 1390
250	5	925 ± 202	444 ± 79	8717 ± 184	14951 ± 1525

Each value is exprssed as mean±S.D.

Table 9-3 Mean value of grip strength and motor activity of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 2 of the recovery period>

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts)	
		Forelimb	Hindlimb	0～30min.	0～60min.
0	5	918 ± 90	505 ± 127	7266 ± 999	11069 ± 3541
250	5	854 ± 180	605 ± 150	7111 ± 1802	11582 ± 3927

Each value is exprssed as mean±S.D.

Table 10-1 Mean value of grip strength and motor activity of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 6 of the administration period>

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts)
		Forelimb	Hindlimb	0～30min.
0	5	674 ± 134	429 ± 70	5478 ± 1114
2	5	619 ± 116	397 ± 83	6663 ± 1290
10	5	612 ± 93	431 ± 94	6916 ± 1134
50	5	671 ± 86	385 ± 56	6835 ± 2048
250	5	730 ± 134	431 ± 139	4939 ± 1681

Each value is exprssed as mean ± S.D.

Table 10-2 Mean value of grip strength and motor activity of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 6 of the administration period>

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts)	
		Forelimb	Hindlimb	0～30min.	0～60min.
0	5	507 ± 131	356 92	9293 ± 237	14600 ± 3629
250	5	659 ± 103	343 29	8463 * ± 648	14857 ± 1804

Each value is exprssed as mean ± S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 10-3 Mean value of grip strength and motor activity of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

<On week 2 of the recovery period>

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts)	
		Forelimb	Hindlimb	0～30min.	0～60min.
0	5	587 ± 170	373 ± 70	8723 ± 691	15708 ± 2153
250	5	673 ± 82	413 ± 95	8296 ± 1210	14481 ± 2432

Each value is exprssed as mean ± S.D.

Table 11 Body weights of male rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg/day)	Day	Administration period								Recovery period			
		1	7	14	21	28	35	42	Gain 1～42	42 (0)	49 (7)	56 (14)	Gain 42～56
0		376 ± 17 (12)	402 ± 24 (12)	429 ± 27 (12)	453 ± 27 (12)	477 ± 30 (12)	500 ± 32 (12)	515 ± 36 (12)	139 ± 24 (12)	506 ± 24 (5)	513 ± 24 (5)	523 ± 20 (5)	17 ± 4 (5)
2		377 ± 19 (12)	405 ± 22 (12)	434 ± 27 (12)	458 ± 29 (12)	481 ± 31 (12)	505 ± 36 (12)	522 ± 38 (12)	145 ± 22 (12)				
10		373 ± 12 (12)	400 ± 13 (12)	426 ± 19 (12)	446 ± 22 (12)	468 ± 25 (12)	491 ± 24 (12)	508 ± 25 (12)	135 ± 20 (12)				
50		374 ± 13 (12)	412 ± 17 (12)	449 ± 22 (12)	470 ± 24 (12)	498 ± 26 (12)	524 ± 30 (12)	541 ± 30 (12)	167 ** ± 23 (12)				
250		372 ± 20 (12)	402 ± 17 (12)	442 ± 20 (12)	462 ± 20 (12)	490 ± 20 (12)	513 ± 22 (12)	528 ± 23 (12)	156 ± 15 (12)	535 * ± 9 (5)	538 ± 10 (5)	541 ± 10 (5)	5 ** ± 2 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.
(n) : No. of animals.
* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 12-1 Body weights of female rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg/day)	Day	Premating period				Pregnancy period					Lactation period		
		1	7	14	Gain 1～14	0	7	14	20	Gain 0～20	0	4	Gain 0～4
0		231 ± 12 (12)	246 ± 11 (12)	257 ± 12 (12)	26 ± 8 (12)	260 ± 10 (11)	296 ± 15 (11)	333 ± 17 (11)	422 ± 20 (11)	162 ± 17 (11)	319 ± 24 (11)	333 ± 18 (11)	14 ± 11 (11)
2		230 ± 13 (12)	247 ± 10 (12)	256 ± 9 (12)	26 ± 12 (12)	264 ± 11 (12)	300 ± 14 (12)	339 ± 16 (12)	423 ± 24 (12)	158 ± 17 (12)	316 ± 15 (12)	337 ± 19 (12)	21 ± 14 (12)
10		231 ± 10 (12)	244 ± 13 (12)	253 ± 12 (12)	22 ± 7 (12)	267 ± 15 (12)	303 ± 14 (12)	339 ± 16 (12)	422 ± 30 (12)	155 ± 18 (12)	316 ± 18 (12)	326 ± 28 (12)	11 ± 18 (12)
50		230 ± 16 (12)	245 ± 14 (12)	257 ± 17 (12)	27 ± 10 (12)	267 ± 15 (12)	298 ± 19 (12)	331 ± 24 (12)	417 ± 29 (12)	150 ± 17 (12)	310 ± 27 (12)	338 ± 26 (11)	23 ± 8 (11)
250		227 ± 13 (12)	245 ± 15 (12)	261 ± 15 (12)	34 ± 10 (12)	269 ± 12 (10)	307 ± 19 (10)	338 ± 27 (10)	416 ± 42 (10)	147 ± 36 (10)	318 ± 26 (10)	341 ± 23 (8)	18 ± 13 (8)

Each value is expressed as mean ± S.D.
(n) : No. of animals.

Table 12-2 Body weights of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated study dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg/day)	Day	Administration period								Recovery period			
		1	7	14	21	28	35	42	Gain 1～42	42(0)	49(7)	56(14)	Gain 42～56
0		228 ± 14 (5)	240 ± 12 (5)	249 ± 10 (5)	261 ± 16 (5)	264 ± 16 (5)	272 ± 19 (5)	273 ± 18 (5)	45 ± 10 (5)	273 ± 18 (5)	280 ± 21 (5)	282 ± 22 (5)	9 ± 6 (5)
250		228 ± 11 (5)	242 ± 11 (5)	261 ± 11 (5)	271 ± 16 (5)	278 ± 17 (5)	290 ± 19 (5)	294 ± 18 (5)	66 ** ± 9 (5)	294 ± 18 (5)	298 ± 19 (5)	300 ± 20 (5)	6 ± 5 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.
(n) : No. of animals.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 13 Food consumption of male rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg/day)	Day	Admnistration period 1	7	14	21	28	35	41	Recovery period 42(0)	49(7)	55(13)
0		30 ± 4 (12)	28 ± 3 (12)	26 ± 2 (12)	26 ± 2 (11)	28 ± 2 (11)	28 ± 1 (12)	28 ± 2 (12)	27 ± 2 (5)	29 ± 1 (5)	31 ± 2 (5)
2		29 ± 3 (12)	30 ± 3 (12)	28 ± 3 (12)	27 ± 2 (12)	27 ± 1 (12)	28 ± 2 (12)	28 ± 3 (12)			
10		29 ± 3 (12)	29 ± 3 (12)	27 ± 3 (12)	27 ± 2 (12)	27 ± 3 (12)	26 ± 2 (12)	28 ± 2 (12)			
50		31 ± 3 (12)	31 * ± 2 (12)	29 * ± 2 (12)	27 ± 2 (12)	30 ± 2 (12)	30 * ± 2 (12)	30 ± 2 (12)			
250		28 ± 4 (12)	32 * ± 4 (12)	32 ** ± 4 (12)	31 ** ± 1 (12)	32 ** ± 3 (12)	31 ** ± 2 (12)	31 * ± 1 (12)	27 ± 4 (5)	31 ± 2 (5)	33 * ± 1 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.
(n) : No. of animals.
* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 14-1 Food consumption of female rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (g/rat/day)

Dose (mg/kg/day)	Day	Premating period 1	7	14	Pregnancy period 0	7	14	20	Lactation period 0	3
0		21 ± 3 (12)	18 ± 4 (12)	21 ± 2 (12)	17 ± 3 (11)	22 ± 2 (11)	25 ± 2 (11)	27 ± 4 (11)	21 ± 6 (11)	44 ± 6 (11)
2		20 ± 2 (12)	20 ± 3 (12)	22 ± 2 (12)	16 ± 4 (12)	24 ± 3 (12)	24 ± 4 (12)	27 ± 4 (12)	24 ± 6 (12)	49 ± 9 (12)
10		19 ± 2 (12)	22 ** ± 2 (12)	22 ± 2 (12)	16 ± 3 (12)	23 ± 2 (12)	26 ± 2 (12)	26 ± 5 (12)	19 ± 5 (12)	44 ± 10 (12)
50		20 ± 3 (12)	21 ± 3 (12)	22 ± 2 (12)	16 ± 3 (12)	23 ± 3 (12)	25 ± 2 (12)	27 ± 4 (12)	21 ± 8 (12)	48 ± 7 (11)
250		19 ± 3 (12)	21 * ± 3 (12)	23 ± 3 (12)	18 ± 2 (10)	23 ± 4 (10)	25 ± 6 (10)	30 ± 5 (10)	24 ± 6 (8)	37 ± 11 (8)

Each value is expressed as mean ± S.D.
(n) : No. of animals.
* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 14-2 Food consumption of female rats of the satellite group treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg/day)	Day	Administration period							Recovery period		
		1	7	14	21	28	35	42	42 (0)	49(7)	55(13)
0		21 ± 2 (5)	21 ± 3 (5)	20 ± 3 (5)	19 ± 2 (5)	20 ± 2 (5)	23 ± 3 (5)	20 ± 1 (5)	20 ± 1 (5)	22 ± 3 (5)	22 ± 2 (5)
250		19 ± 2 (5)	21 ± 2 (5)	22 ± 2 (5)	20 ± 2 (5)	21 ± 1 (5)	23 ± 3 (5)	21 ± 2 (5)	21 ± 2 (5)	24 ± 1 (5)	23 ± 3 (5)

Each value is expressed as mean±S.D.
(n) : No. of animals.

Table 15 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 6 of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		Volume[a)] (mL/18hr)	Specific[a)] gravity	Na[a)] (mEq/18hr)	K[a)] (mEq/18hr)	pH						Protein				
		PY	C	−	1+					6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	−	±	1+	2+	3+
0	5	5		5		7.7 ± 1.1	1.073 ± 0.013	0.85 ± 0.13	1.89 ± 0.21				1		4		1	3	1	
2	5	5		5		9.8 ± 2.6	1.066 ± 0.010	1.05 ± 0.35	2.30 ± 0.67					1	4		1	3	1	
10	5	5		5		9.3 ± 2.6	1.066 ± 0.006	0.96 ± 0.27	2.08 ± 0.59						5		1	2	2	
50	5	5		5		9.7 ± 1.5	1.064 ± 0.004	0.91 ± 0.21	1.95 ± 0.43		1			1	3			3	2	
250	5	5		5		9.3 ± 2.0	1.061 ± 0.007	0.96 ± 0.21	2.17 ± 0.33			1	1		3			1	3	1

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glucose				Ketone body					Occult blood					Urobilinogen			Bilirubin			
		−	±	1+	2+	−	±	1+	2+	3+	−	±	1+	2+	3+	0.1	1	2	−	1+	2+	3+
0	5	5					1	3	1		5					5			5			
2	5	5					2	3			5					5			5			
10	5	5					2	2	1		5					5			5			
50	5	5				1	2	1	1		5					5			5			
250	5	5				1	3	1			5					5			5			

a) : Mean±S.D.
Color :PY(pale yellow), C(colorless)
Cloudy : −(negligible), 1+(cloudy)
Protein : −(negligible), ±(15~30mg/dL), 1+(30mg/dL), 2+(100mg/dL), 3+(300mg/dL)
Glucose : −(negligible), ±(0.1g/dL), 1+(0.25g/dL), 2+(0.5g/dL)
Ketone body : −(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL),3+(80mg/dL)
Occult blood : −(negligible), ±(trace), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)
Urobilinogen : Ehrlich unit/dL
Bilirubin : −(negligible), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)

Table 15 · 2 Urinary findings of male rats treated with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 6 of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals									
										Mg				Ca			Ams		
		−	1+	2+	3+	−	1+	2+	3+	−	1+	2+	3+	−	1+	2+	−	1+	2+
0	5	5				5				3	2			5			5		
2	5	5				5				3	2			5			5		
10	5	5				5				3	2			5			5		
50	5	5				5				2	3			5			5		
250	5	5				5				2	2	1		5			5		

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Epithelial cells										Casts						Fat globules		
		Sq				R			S			G		H		W				
		−	1+	2+	3+	−	1+	2+	−	1+	2+	−	1+	−	1+	−	1+	−	1+	2+
0	5	4	1			5			5			5		5		5		5		
2	5	4	1			5			5			5		5		5		5		
10	5	5				5			5			5		5		5		5		
50	5	4	1			5			5			5		5		5		5		
250	5	4	1			5			5			5		5		5		5		

− ; Not observed, 1+ ; A few in some fields, 2+ ; A few in all fields, 3+ ; Many in all fields
Crystals ; Mg (ammonium magnesium phosphate), Ca (calcium carbonate), Ams (amorphous)
Epithelial cells ; Sq (squamous), R (round), S (spindle)
Casts ; G (granule), H (hyaline), W (waxy)

Table 15 - 3 Urinary findings of male rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		Volume[a)] (mL/18hr)	Specific[a)] gravity	Na[a)] (mEq/18hr)	K[a)] (mEq/18hr)	pH						Protein				
		PY	C	−	1+					6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	−	±	1+	2+	3+
0	5	5		5		8.6 ± 3.1	1.070 ± 0.013	1.25 ± 0.20	3.31 ± 0.78				1		4		3	1	1	
250	5	5		5		9.6 ± 2.6	1.065 ± 0.015	1.21 ± 0.31	3.05 ± 0.86						5			3	1	1

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glucose				Ketone body					Occult blood					Urobilinogen			Bilirubin			
		−	±	1+	2+	−	±	1+	2+	3+	−	±	1+	2+	3+	0.1	1	2	−	1+	2+	3+
0	5	5				1	4				5					5			5			
250	5	5				1	3		1		5					5			5			

a) : Mean±S.D.
Color :PY(pale yellow), C(colorless)
Cloudy : −(negligible), 1+(cloudy)
Protein : −(negligible), ±(15~30mg/dL), 1+(30mg/dL), 2+(100mg/dL), 3+(300mg/dL)
Glucose : −(negligible), ±(0.1g/dL), 1+(0.25g/dL), 2+(0.5g/dL)
Ketone body : −(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL),3+(80mg/dL)
Occult blood : −(negligible), ±(trace), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)
Urobilinogen : Ehrlich unit/dL
Bilirubin : −(negligible), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)

Table 15 · 4 Urinary findings of male rats treated with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity with the reproduction/developmental toxicity screening test

< On week 2 of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals									
										Mg				Ca			Ams		
		−	1+	2+	3+	−	1+	2+	3+	−	1+	2+	3+	−	1+	2+	−	1+	2+
0	5	5				5				5				5			5		
250	5	5				5				4	1			5			5		

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Epithelial cells										Casts						Fat globules		
		Sq				R			S			G		H		W				
		−	1+	2+	3+	−	1+	2+	−	1+	2+	−	1+	−	1+	−	1+	−	1+	2+
0	5	4	1			5			5			5		5		5		5		
250	5	4	1			5			5			5		5		5		5		

− ; Not observed, 1+ ; A few in some fields, 2+ ; A few in all fields, 3+ ; Many in all fields
Crystals ; Mg (ammonium magnesium phosphate), Ca (calcium carbonate), Ams (amorphous)
Epithelial cells ; Sq (squamous), R (round), S (spindle)
Casts ; G (granule), H (hyaline), W (waxy)

Table 16 - 1 Hematological findings of male rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10^4/μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	PT (sec)
0	5	854 ± 35	15.7 ± 0.6	43.5 ± 0.8	51 ± 1	18.4 ± 0.3	36.0 ± 0.7	26.4 ± 7.4	16.0 ± 0.4
2	5	887 ± 30	15.8 ± 0.3	45.9 ± 1.5	52 ± 2	17.8 ± 0.5	34.3 ** ± 0.5	22.4 ± 4.6	15.7 ± 0.3
10	5	873 ± 23	15.7 ± 0.5	44.7 ± 1.7	51 ± 2	18.0 ± 0.4	35.1 ± 0.6	22.7 ± 6.7	15.8 ± 0.5
50	5	831 ± 26	15.3 ± 0.5	43.8 ± 2.0	53 ± 3	18.4 ± 0.7	34.9 * ± 0.7	19.9 ± 6.0	15.4 ± 0.4
250	5	825 ± 30	15.0 ± 0.4	42.3 ± 1.2	51 ± 2	18.2 ± 0.4	35.5 ± 0.2	22.1 ± 2.4	15.7 ± 0.2

Dose	No. of	APTT	Plat.	WBC	Differential leukocyte counts (%)				
(mg/kg/day)	animals	(sec)	(10^4/μL)	(10^2/μL)	Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	19.2 ± 1.5	121 ± 10	78 ± 12	0.0 ± 0.0	1.1 ± 0.2	20.9 ± 6.1	74.0 ± 6.4	4.0 ± 0.9
2	5	19.2 ± 0.8	129 ± 8	96 ± 19	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.3	15.8 ± 3.5	80.0 ± 4.2	3.3 ± 0.9
10	5	18.8 ± 1.6	134 ± 13	83 ± 27	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.8	18.6 ± 5.5	75.9 ± 6.6	4.2 ± 1.0
50	5	19.5 ± 1.5	155 ** ± 10	100 ± 20	0.0 ± 0.0	0.5 * ± 0.2	14.9 ± 2.0	80.5 ± 2.8	4.1 ± 0.9
250	5	19.3 ± 1.5	145 ** ± 12	91 ± 21	0.0 ± 0.0	0.5 * ± 0.1	15.5 ± 3.6	79.6 ± 4.8	4.3 ± 1.3

Each value is expressed as mean±S.D.
* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 16 - 2 Hematological findings of male rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10^4/μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	PT (sec)
0	5	898 ± 41	15.9 ± 0.8	45.7 ± 2.1	51 ± 1	17.7 ± 0.3	34.8 ± 0.4	20.3 ± 5.8	16.6 ± 0.6
250	5	838 ± 62	14.1 ** ± 0.7	40.9 ** ± 2.0	49 ± 3	16.9 ± 0.9	34.5 ± 0.5	32.8 ± 13.2	16.3 ± 0.3

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10^4/μL)	WBC (10^2/μL)	Differential leukocyte counts (%)				
					Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	18.2 ± 1.2	123 ± 17	74 ± 8	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.2	15.5 ± 4.0	79.5 ± 4.7	3.9 ± 1.4
250	5	19.6 ± 0.8	147 * ± 8	81 ± 7	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.3	16.4 ± 5.6	79.3 ± 5.5	3.4 ± 0.8

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 17 - 1 Hematological findings of female rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10^4/μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	PT (sec)
0	5	672 ± 62	13.2 ± 1.1	39.5 ± 2.2	59 ± 3	19.6 ± 0.2	33.3 ± 1.1	92.9 ± 27.4	16.3 ± 1.1
2	5	675 ± 23	12.9 ± 0.2	38.5 ± 0.4	57 ± 2	19.2 ± 0.4	33.6 ± 0.5	86.2 ± 16.0	16.6 ± 1.2
10	5	694 ± 24	13.2 ± 0.7	39.8 ± 1.9	57 ± 1	19.1 ± 0.5	33.2 ± 0.5	71.2 ± 19.8	16.6 ± 1.3
50	5	677 ± 33	12.8 ± 0.5	38.5 ± 1.6	57 ± 2	18.9 ± 0.4	33.2 ± 0.4	76.6 ± 12.6	16.3 ± 1.3
250	5	610 ± 52	11.9 ± 0.9	37.3 ± 2.5	61 ± 2	19.6 ± 0.5	32.0 * ± 0.7	87.5 ± 33.2	16.6 ± 1.5

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10^4/μL)	WBC (10^2/μL)	Differential leukocyte counts (%)				
					Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	17.3 ± 0.6	163 ± 28	76 ± 17	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.5	25.4 ± 6.8	70.8 ± 6.3	3.0 ± 1.1
2	5	18.1 ± 1.0	158 ± 21	74 ± 17	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.4	31.6 ± 9.2	64.1 ± 9.5	3.5 ± 1.6
10	5	17.4 ± 0.4	150 ± 21	79 ± 5	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.5	26.2 ± 11.7	70.1 ± 11.6	2.9 ± 0.8
50	5	17.4 ± 1.2	175 ± 17	68 ± 12	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.5	25.9 ± 6.1	70.3 ± 5.1	2.8 ± 1.1
250	5	17.4 ± 0.6	155 ± 22	66 ± 15	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.5	18.7 ± 4.2	76.9 ± 4.9	3.5 ± 1.7

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 17 - 2 Hematological findings of female rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10^4/μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	PT (sec)
0	5	810 ± 49	14.7 ± 0.5	41.8 ± 1.8	52 ± 2	18.2 ± 0.6	35.2 ± 0.4	21.4 ± 4.5	16.3 ± 0.5
250	5	770 ± 50	13.9 ± 0.8	40.2 ± 2.5	53 ± 1	18.0 ± 0.5	34.6 * ± 0.3	23.0 ± 1.8	15.6 ± 0.5

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10^4/μL)	WBC (10^2/μL)	Differential leukocyte counts (%)				
					Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	17.8 ± 0.9	124 ± 11	33 ± 11	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.7	18.5 ± 4.4	78.2 ± 4.3	1.8 ± 0.8
250	5	17.6 ± 1.7	139 ± 11	35 ± 8	0.0 ± 0.0	1.9 ± 0.7	14.9 ± 5.6	81.7 ± 5.0	1.5 ± 0.3

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 18 - 1 Blood biochemical findings of male rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)
0	5	493 ± 196	75 ± 3	34 ± 3	415 ± 83	0.51 ± 0.13	46 ± 16	6.06 ± 0.16	2.85 ± 0.08	0.88 ± 0.02	60 ± 8
2	5	271 ± 160	74 ± 13	39 ± 8	421 ± 47	0.60 ± 0.18	53 ± 17	6.21 ± 0.29	2.85 ± 0.15	0.85 ± 0.08	78 ± 12
10	5	388 ± 294	66 ± 10	32 ± 5	434 ± 59	0.72 ± 0.16	62 ± 26	6.14 ± 0.24	2.88 ± 0.18	0.88 ± 0.05	68 ± 13
50	5	284 ± 74	73 ± 8	39 ± 7	465 ± 136	0.62 ± 0.10	83 ± 27	6.19 ± 0.21	2.92 ± 0.22	0.90 ± 0.12	70 ± 16
250	5	320 ± 211	77 ± 12	48 ** ± 2	522 ± 80	0.72 ± 0.36	108 ** ± 47	6.73 ** ± 0.46	3.34 ** ± 0.31	0.98 ± 0.08	77 ± 22

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	50 ± 19	162 ± 12	15.0 ± 0.8	0.37 ± 0.04	0.37 ± 0.01	10.2 ± 0.5	7.1 ± 0.4	147 ± 1	4.75 ± 0.51	108 ± 2
2	5	44 ± 12	154 ± 11	15.8 ± 2.8	0.75 ± 0.93	0.36 ± 0.04	10.4 ± 0.5	7.8 ± 0.6	148 ± 2	4.41 ± 0.39	105 ± 2
10	5	33 ± 14	156 ± 8	15.2 ± 2.8	0.32 ± 0.04	0.43 ± 0.16	10.3 ± 0.2	7.2 ± 0.3	148 ± 1	4.27 ± 0.18	108 ± 1
50	5	29 ± 15	172 ± 9	14.7 ± 2.4	0.38 ± 0.02	0.33 ± 0.06	10.4 ± 0.3	7.8 ± 0.9	149 ± 3	4.48 ± 0.39	107 ± 1
250	5	24 ± 10	141 * ± 13	16.2 ± 2.5	0.42 ± 0.05	0.34 ± 0.03	10.9 ± 0.5	7.5 ± 0.4	149 ± 1	4.23 ± 0.71	106 ± 1

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 18 - 2 Blood biochemical findings of male rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)
0	5	281 ± 114	84 ± 20	46 ± 14	350 ± 39	0.62 ± 0.14	52 ± 9	6.17 ± 0.23	2.81 ± 0.22	0.84 ± 0.07	72 ± 18
250	5	395 ± 65	93 ± 14	67 * ± 10	323 ± 41	0.79 ± 0.16	51 ± 17	6.38 ± 0.26	2.83 ± 0.19	0.80 ± 0.05	98 ± 23

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	41 ± 17	158 ± 14	18.3 ± 3.6	0.36 ± 0.06	0.35 ± 0.03	10.0 ± 0.6	7.0 ± 0.8	149 ± 1	4.80 ± 0.89	109 ± 1
250	5	59 ± 18	164 ± 9	20.6 ± 2.0	0.40 ± 0.08	0.32 ± 0.04	10.3 ± 0.2	6.9 ± 0.4	148 ± 1	4.91 ± 0.29	108 ± 2

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 19 - 1 Blood biochemical findings of female rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)
0	5	496 ± 79	87 ± 9	66 ± 21	462 ± 171	0.72 ± 0.16	255 ± 83	6.23 ± 0.33	3.03 ± 0.25	0.95 ± 0.07	76 ± 15
2	5	560 ± 267	84 ± 18	60 ± 9	402 ± 139	0.86 ± 0.11	251 ± 40	5.89 ± 0.29	2.80 ± 0.25	0.90 ± 0.09	67 ± 12
10	5	391 ± 206	77 ± 15	61 ± 14	375 ± 145	0.75 ± 0.13	425 ± 300	6.15 ± 0.22	3.01 ± 0.21	0.96 ± 0.09	75 ± 13
50	5	636 ± 279	106 ± 31	87 ± 26	482 ± 278	0.84 ± 0.27	348 ± 111	6.32 ± 0.33	3.33 ± 0.42	1.13 ± 0.21	58 ± 6
250	5	1275 ± 1754	104 ± 35	68 ± 24	261 ± 78	1.00 ± 0.37	408 ± 203	6.92 * ± 0.54	3.62 * ± 0.42	1.15 ± 0.30	66 ± 13

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	109 ± 33	136 ± 10	28.1 ± 2.6	0.46 ± 0.07	0.29 ± 0.02	10.8 ± 0.6	8.5 ± 1.0	148 ± 1	4.49 ± 0.40	106 ± 2
2	5	100 ± 32	161 ± 18	25.7 ± 2.9	0.45 ± 0.06	0.23 ± 0.03	10.7 ± 0.8	8.5 ± 0.9	148 ± 1	4.82 ± 0.25	109 ± 2
10	5	42 ** ± 13	154 ± 13	26.3 ± 5.3	0.45 ± 0.05	0.25 ± 0.05	10.9 ± 0.3	9.1 ± 1.2	148 ± 1	4.21 ± 0.25	108 ± 2
50	5	71 ± 36	150 ± 11	25.0 ± 5.9	0.43 ± 0.03	0.28 ± 0.06	10.7 ± 0.2	7.6 ± 1.2	149 ± 1	4.35 ± 0.31	108 ± 2
250	5	24 ** ± 9	145 ± 17	27.5 ± 4.6	0.55 ± 0.08	0.31 ± 0.10	11.9 * ± 0.4	9.0 ± 0.6	148 ± 1	4.55 ± 0.68	105 ± 2

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 19 · 2 Blood biochemical findings of female rats treated orally with 1,3,5-tri-tert-butylbenzene in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	ChE (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)
0	5	414 ± 113	80 ± 15	33 ± 8	167 ± 45	1.14 ± 0.40	541 ± 120	6.63 ± 0.48	3.30 ± 0.47	0.99 ± 0.15	78 ± 15
250	5	434 ± 117	94 ± 26	46 ± 12	118 ± 30	1.12 ± 0.67	621 ± 93	7.01 ± 0.91	3.59 ± 0.49	1.06 ± 0.16	126 * ± 30

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	T.G. (mg/dL)	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0	5	23 ± 17	139 ± 12	20.9 ± 3.3	0.40 ± 0.03	0.28 ± 0.02	10.0 ± 0.6	4.8 ± 1.1	146 ± 2	4.77 ± 0.45	109 ± 3
250	5	31 ± 10	136 ± 20	21.4 ± 4.2	0.41 ± 0.03	0.26 ± 0.03	10.3 ± 0.4	5.1 ± 1.0	147 ± 2	5.01 ± 0.15	111 ± 2

Each value is expressed as mean±S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 20 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with reproduction/developmental toxicity screening test

Organ	: Findings	Grade	Dose(mg/kg/day)	At the end of administration period 0	2	10	50	250		At the end of recovery period 0	250
			No. of animals	7	12	12	12	7		5	5
Thymus	: Reddish area	+		0	1	0	0	0		0	0
Liver	: Large	+ ~ ++		0	0	0	2	7	**	0	0

+ : Slight. ++ : Moderate.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 21 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with reproduction/developmental toxicity screening test

Organ	: Findings	Grade		At the end of administration period						At the end of recovery period[a]	
			Dose(mg/kg/day)	0	2	10	50	250		0	250
			No. of animals	12	12	12	12	12		5	5
Thymus	: Reddish area	+		0	0	1	0	0		0	0
Liver	: Large	+ ～ ++		0	0	0	4	12	**	0	0
Uterus	: Hydrometra	+		0	0	0	0	0		2	0

a : Satellite group.
+ : Slight. ++ : Moderate.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 22-1 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< At the end of administration period >

	Dose (mg/kg/day)	B.W. (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Seminal vesicle (g)	Testis (g)	Epididymis (g)	Pituitary (mg)	Thyroid (mg)
Absolute	0	492	2.01	0.40	1.39	11.94	2.91	60.8	0.72	2.35	3.45	1.41	13.5	26.6
		±44	±0.08	±0.03	±0.09	±1.12	±0.34	±6.5	±0.10	±0.13	±0.24	±0.20	±0.9	±5.3
		(7)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(7)	(7)	(5)	(5)
	2	495	2.04	0.38	1.51	13.64	3.14	62.4	0.76	2.17	3.46	1.40	14.8	27.7
		±36	±0.05	±0.09	±0.11	±0.71	±0.24	±7.1	±0.06	±0.47	±0.23	±0.14	±1.4	±1.6
		(12)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(12)	(12)	(5)	(5)
	10	479	2.03	0.36	1.44	13.28	3.22	65.3	0.73	2.49	3.55	1.40	14.8	32.7
		±22	±0.06	±0.09	±0.10	±0.56	±0.23	±6.8	±0.08	±0.41	±0.27	±0.12	±1.2	±7.6
		(12)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(12)	(12)	(5)	(5)
	50	512	2.05	0.31	1.44	16.95 **	3.25	75.9	0.85	2.55	3.39	1.37	15.5	26.4
		±30	±0.08	±0.14	±0.09	±2.38	±0.22	±16.9	±0.07	±0.14	±0.24	±0.10	±2.0	±3.9
		(12)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(12)	(12)	(5)	(5)
	250	481	2.06	0.29	1.38	21.82 **	3.18	76.4	0.77	2.23	3.21	1.34	13.7	28.6
		±29	±0.07	±0.05	±0.04	±3.63	±0.21	±9.9	±0.05	±0.18	±0.19	±0.10	±1.9	±6.3
		(7)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(7)	(7)	(5)	(5)
Relative @	0	492	0.42	0.08	0.29	2.47	0.60	12.6	0.15	0.49	0.70	0.29	2.8	5.5
		±44	±0.03	±0.01	±0.01	±0.16	±0.04	±1.1	±0.02	±0.04	±0.07	±0.05	±0.2	±1.2
		(7)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(7)	(7)	(5)	(5)
	2	495	0.40	0.07	0.29	2.66	0.61	12.2	0.15	0.42	0.70	0.28	2.9	5.4
		±36	±0.03	±0.02	±0.02	±0.19	±0.04	±2.2	±0.02	±0.07	±0.08	±0.04	±0.4	±0.6
		(12)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(12)	(12)	(5)	(5)
	10	479	0.42	0.07	0.30	2.75	0.67	13.5	0.15	0.51	0.74	0.29	3.1	6.7
		±22	±0.03	±0.02	±0.02	±0.13	±0.04	±1.5	±0.01	±0.06	±0.06	±0.03	±0.4	±1.5
		(12)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(12)	(12)	(5)	(5)
	50	512	0.41	0.06	0.29	3.34 *	0.64	15.0	0.17	0.50	0.66	0.27	3.0	5.2
		±30	±0.03	±0.02	±0.02	±0.44	±0.05	±3.3	±0.01	±0.03	±0.04	±0.02	±0.4	±0.7
		(12)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(12)	(12)	(5)	(5)
	250	481	0.44	0.06	0.29	4.58 **	0.67	16.0 *	0.16	0.47	0.67	0.28	2.9	6.0
		±29	±0.03	±0.01	±0.01	±0.51	±0.03	±1.1	±0.01	±0.04	±0.06	±0.03	±0.3	±1.0
		(7)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(7)	(7)	(5)	(5)

Each value is expressed as mean ± S.D.
@ : Relative organ weight per 100g body weight.
(n) : Number of animals.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 22-2 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< At the end of recovery period >

	Dose (mg/kg/day)	B.W. (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Seminal vesicle (g)	Testis (g)	Epididymis (g)	Pituitary (mg)	Thyroid (mg)
Absolute	0	484 ±19 (5)	2.10 ±0.07 (5)	0.28 ±0.05 (5)	1.46 ±0.13 (5)	12.15 ±1.29 (5)	3.13 ±0.22 (5)	66.7 ±7.6 (5)	0.72 ±0.07 (5)	2.61 ±0.32 (5)	3.56 ±0.35 (5)	1.45 ±0.17 (5)	14.6 ±0.7 (5)	33.7 ±2.8 (5)
	250	494 ±18 (5)	2.07 ±0.06 (5)	0.32 ±0.05 (5)	1.50 ±0.17 (5)	15.12 * ±1.69 (5)	3.23 ±0.19 (5)	58.8 ±9.9 (5)	0.88 * ±0.12 (5)	2.32 ±0.37 (5)	3.54 ±0.09 (5)	1.40 ±0.07 (5)	14.2 ±1.0 (5)	33.8 ±5.9 (5)
Relative @	0	484 ±19 (5)	0.43 ±0.02 (5)	0.06 ±0.01 (5)	0.30 ±0.03 (5)	2.51 ±0.21 (5)	0.65 ±0.06 (5)	13.7 ±1.3 (5)	0.15 ±0.01 (5)	0.54 ±0.08 (5)	0.74 ±0.09 (5)	0.30 ±0.04 (5)	3.0 ±0.2 (5)	7.0 ±0.8 (5)
	250	494 ±18 (5)	0.42 ±0.01 (5)	0.07 ±0.01 (5)	0.30 ±0.03 (5)	3.06 ** ±0.28 (5)	0.65 ±0.02 (5)	11.9 ±1.9 (5)	0.18 * ±0.02 (5)	0.47 ±0.08 (5)	0.72 ±0.04 (5)	0.28 ±0.02 (5)	2.9 ±0.2 (5)	6.8 ±1.1 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.
@ : Relative organ weight per 100g body weight.
(n) : Number of animals.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 23-1 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	B.W. (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Pituitary (mg)	Thyroid (mg)
0	302	1.92	0.21	0.92	9.79	1.82	75.5	0.60	17.1	22.7
Absolute	±19	±0.09	±0.10	±0.09	±1.06	±0.07	±7.7	±0.12	±2.4	±3.4
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
2	315	1.89	0.27	0.97	10.85	2.00	81.3	0.66	18.3	23.5
	±18	±0.11	±0.04	±0.06	±0.53	±0.12	±13.1	±0.07	±1.2	±3.1
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
10	312	1.88	0.27	1.00	11.73 *	1.88	77.7	0.64	17.7	23.6
	±16	±0.12	±0.08	±0.09	±0.93	±0.17	±16.2	±0.06	±2.8	±1.2
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
50	301	1.91	0.23	0.98	13.81 **	1.99	90.4	0.53	17.8	24.3
	±18	±0.06	±0.04	±0.06	±1.23	±0.09	±9.7	±0.04	±1.8	±2.0
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
250	321	1.92	0.28	1.01	20.31 **	2.25 **	103.9 **	0.93	17.7	26.4
	±11	±0.03	±0.07	±0.10	±1.45	±0.14	±16.2	±0.50	±1.4	±5.8
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
0	302	0.64	0.07	0.31	3.24	0.60	25.1	0.20	5.6	7.5
Relative @	±19	±0.05	±0.03	±0.03	±0.28	±0.04	±3.4	±0.03	±0.7	±0.9
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
2	315	0.60	0.09	0.31	3.45	0.64	26.0	0.21	5.8	7.5
	±18	±0.03	±0.01	±0.02	±0.19	±0.05	±5.2	±0.02	±0.2	±1.0
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
10	312	0.60	0.09	0.32	3.76 *	0.60	25.1	0.21	5.7	7.6
	±16	±0.03	±0.03	±0.02	±0.14	±0.05	±6.4	±0.02	±0.8	±0.5
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
50	301	0.64	0.08	0.33	4.58 **	0.66	30.0	0.18	5.9	8.1
	±18	±0.02	±0.01	±0.01	±0.21	±0.03	±2.8	±0.02	±0.6	±0.6
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
250	321	0.60	0.09	0.31	6.33 **	0.70 **	32.4	0.29	5.5	8.2
	±11	±0.02	±0.02	±0.03	±0.37	±0.05	±4.4	±0.16	±0.3	±1.7
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)

Each value is expressed as mean ± S.D.
@ : Relative organ weight per 100g body weight.
(n) : Number of animals.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 23-2 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with d1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

< At the end of recovery period >

	Dose (mg/kg/day)	B.W. (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Pituitary (mg)	Thyroid (mg)
Absolute	0	259 ±20 (5)	1.92 ±0.10 (5)	0.25 ±0.07 (5)	0.88 ±0.08 (5)	7.03 ±0.41 (5)	1.79 ±0.13 (5)	82.9 ±18.4 (5)	0.49 ±0.05 (5)	18.5 ±0.3 (5)	24.0 ±2.2 (5)
	250	273 ±17 (5)	1.83 ±0.03 (5)	0.33 ±0.10 (5)	1.00 * ±0.05 (5)	8.72 ** ±0.42 (5)	1.90 ±0.09 (5)	75.8 ±11.0 (5)	0.55 ±0.07 (5)	17.8 ±2.3 (5)	27.9 * ±1.8 (5)
Relative @	0	259 ±20 (5)	0.75 ±0.09 (5)	0.10 ±0.03 (5)	0.34 ±0.004 (5)	2.72 ±0.09 (5)	0.69 ±0.03 (5)	32.0 ±5.6 (5)	0.19 ±0.01 (5)	7.2 ±0.5 (5)	9.3 ±0.9 (5)
	250	273 ±17 (5)	0.67 ±0.04 (5)	0.12 ±0.03 (5)	0.37 ** ±0.01 (5)	3.21 * ±0.32 (5)	0.69 ±0.03 (5)	27.7 ±3.5 (5)	0.20 ±0.01 (5)	6.5 ±1.1 (5)	10.2 ±0.7 (5)

Each value is expressed as mean ± S.D.
@ : Relative organ weight per 100g body weight.
(n) : Number of animals.

* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 24-1 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with reproduction/developmental toxicity screening test

Organs	Findings	Grade	At the end of administration period								At the end of recovery period			
		Dose(mg/kg/day)	0		2	10	50		250		0	250		
		No. of animals	4	1[UC]	5	5	5	1[PM]	5		5	1	2[FP]	2[PM]
Lung	Accumulation, foam cell	-	3	1	#	#	#	#	3		#	#	#	#
		+	1	0	#	#	#	#	2		#	#	#	#
	Mineralization, artery	-	3	1	#	#	#	#	5		#	#	#	#
		+	1	0	#	#	#	#	0		#	#	#	#
Heart	Myocardial degeneration/fibrosis	-	3	0	#	#	#	#	5		#	#	#	#
		+	1	1	#	#	#	#	0		#	#	#	#
Liver	Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	-	4	1	5	5	2	#	0		5	0	2	1
		+	0	0	0	0	3	#	0		0	1	0	1
		++	0	0	0	0	0	#	5	**	0	0	0	0
	Microgranuloma	-	3	1	5	5	5	#	5		5	1	2	2
		+	1	0	0	0	0	#	0		0	0	0	0
	Degeneration, fatty, hepatocyte, periportal	-	3	0	5	5	5	#	5		5	1	2	2
		+	1	1	0	0	0	#	0		0	0	0	0
	Necrosis, focal	-	3	1	4	5	5	#	4		5	1	2	2
		+	1	0	0	0	0	#	1		0	0	0	0
		++	0	0	1	0	0	#	0		0	0	0	0
Kidney	Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	-	1	0	#	#	#	#	1		#	#	#	#
		+	3	1	#	#	#	#	4		#	#	#	#
	Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	-	3	1	#	#	#	#	3		#	#	#	#
		+	1	0	#	#	#	#	2		#	#	#	#

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; # : Not examined.
UC : Unsuccessful copulation. PM : Paired male for female rat that all pups died after delivery. FP : Failed to cause pregnancy.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 24-2 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with reproduction/developmental toxicity screening test

Organs	Findings	Grade	At the end of administration period							At the end of recovery period			
		Dose(mg/kg/day)	0		2	10	50		250	0	250		
		No. of animals	4	1[UC]	5	5	5	1[PM]	5	5	1	2[FP]	2[PM]
Kidney (Continued)	Basophilic tubule	-	1	1	#	#	#	#	2	#	#	#	#
		+	3	0	#	#	#	#	3	#	#	#	#
	Cast, hyaline	-	3	1	#	#	#	#	5	#	#	#	#
		+	1	0	#	#	#	#	0	#	#	#	#
Spleen	Hematopoiesis, extramedullary	-	0	0	#	#	#	#	0	#	#	#	#
		+	4	1	#	#	#	#	5	#	#	#	#
	Deposit, pigment, brown	-	0	0	#	#	#	#	0	#	#	#	#
		+	4	1	#	#	#	#	5	#	#	#	#
Thymus	Hemorrhage	-	4	1	0/1[b]	#	#	#	5	#	#	#	#
		+	0	0	1/1[b]	#	#	#	0	#	#	#	#
Prostate	Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	-	2	0	#	#	#	1	4	#	#	2	1
		+	2	1	#	#	#	0	1	#	#	0	1
Urinary bladder	Cellular infiltration, lymphocyte, submucosa	-	4	0	#	#	#	#	5	#	#	#	#
		+	0	1	#	#	#	#	0	#	#	#	#

b : Examined the animal with a macroscopic abnormality.
Grade, - : Negative; + : Slight; # : Not examined.
UC : Unsucceseful copulation. PM : Paired male for female rat that all pups died after delivery. FP : Failed to cause pregnancy.
No abnormalities were detected in the brain, pituitary, thyroid, parathyroid, trachea, stomach, small intestine, large intestine, adrenal, testis, epididymis, seminal vesicle, spinal cord, sciatic nerve, bone marrow and lymph nodes from animals of control and 250 mg/kg groups.

Table 25-1 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with reproduction/developmental toxicity screening test

Organs	: Findings	Grade	At the end of administration period									At the end of recovery period[a]	
		Dose(mg/kg/day)	0		2	10	50		250			0	250
		No. of animals	5	1^{UC}	5	5	5	1^{KL}	5	2^{NP}	2^{KL}	5	5
Lung	: Accumulation, foam cell	-	3	#	#	#	#	#	2	#	#	#	#
		+	1	#	#	#	#	#	3	#	#	#	#
		++	1	#	#	#	#	#	0	#	#	#	#
Liver	: Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	-	5	#	5	3	0	#	0	#	#	5	3
		+	0	#	0	2	5 **	#	0	#	#	0	2
		++	0	#	0	0	0	#	5 **	#	#	0	0
	Microgranuloma	-	5	#	4	5	5	#	4	#	#	5	4
		+	0	#	1	0	0	#	1	#	#	0	1
	Degeneration, fatty, hepatocyte, periportal	-	5	#	4	5	5	#	5	#	#	5	5
		+	0	#	1	0	0	#	0	#	#	0	0
	Necrosis, focal	-	5	#	5	5	5	#	3	#	#	5	5
		+	0	#	0	0	0	#	1	#	#	0	0
		++	0	#	0	0	0	#	1	#	#	0	0
Kidney	: Dilatation, distal/collecting tubular	-	5	#	5	5	5	#	2	#	#	5	5
		+	0	#	0	0	0	#	3	#	#	0	0
	Hyperplasia, collecting tubular epithelium	-	5	#	5	5	5	#	2	#	#	5	5
		+	0	#	0	0	0	#	3	#	#	0	0
	Fibrosis, cortex	-	4	#	5	5	5	#	5	#	#	5	5
		+	1	#	0	0	0	#	0	#	#	0	0
	Cyst, solitary	-	5	#	5	4	5	#	5	#	#	5	5
		+	0	#	0	1	0	#	0	#	#	0	0
	Basophilic tubule	-	5	#	5	4	5	#	4	#	#	5	5
		+	0	#	0	1	0	#	1	#	#	0	0
	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	-	5	#	5	5	4	#	4	#	#	5	4
		+	0	#	0	0	1	#	1	#	#	0	1

a : Satellite group. b : Examined the animal with a macroscopic abnormality.
Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; # : Not examined.
NP : Non pregnant, killed on 27 days after copulation. KL : Killed because all pups died after delivery. UC : Unsuccessful copulation.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 25-2 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 1,3,5,-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with reproduction/developmental toxicity screening test

Organs	: Findings	Grade	At the end of administration period									At the end of recovery period[a]	
		Dose(mg/kg/day)	0		2	10	50		250			0	250
		No. of animals	5	1^{UC}	5	5	5	1^{KL}	5	2^{NP}	2^{KL}	5	5
Spleen	: Hematopoiesis, extramedullary	-	0	#	#	#	#	#	0	#	#	#	#
		+	4	#	#	#	#	#	5	#	#	#	#
		++	1	#	#	#	#	#	0	#	#	#	#
	Deposit, pigment, brown	-	0	#	#	#	#	#	0	#	#	#	#
		+	4	#	#	#	#	#	5	#	#	#	#
		++	1	#	#	#	#	#	0	#	#	#	#
Uterus	: Dilatation, lumen	-	5	1	#	#	#	1	5	1	2	0/2[b]	#
		+	0	0	#	#	#	0	0	1	0	2/2[b]	#

a : Satellite group. b : Examined the animal with a macroscopic abnormality.
Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; # : Not examined.
NP : Non pregnant, killed on 27 days after copulation. KL : Killed because all pups died after delivery. UC : Unsuccessful copulation.
No abnormalities were detected in the brain, pituitary, thyroid, parathyroid, thymus, trachea, heart, stomach, small intestine, large intestine, adrenal, urinary bladder, ovary, mammary gland, testis, spinal cord, sciatic nerve, bone marrow and lymph nodes from animals of control and 250 mg/kg groups.

Table 26 The number of cells in seminiferous epithelia assessed by the individual examination in male rats treated orally with 1,3,5-Tri-tert-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	No. of animals		Stage II-III			Stage V			Stage VII			Stage XII	
			G	P	T	G	P	T	G	R/P	T	G	Z/P
0	5	Mean	0.65	2.21	7.02	0.58	2.34	7.27	0.06	3.62	7.36	0.07	5.09
		S.D.	0.03	0.08	0.11	0.02	0.14	0.22	0.01	0.24	0.21	0.01	0.14
250	5	Mean	0.65	2.21	6.83	0.59	2.27	7.21	0.07	3.72	7.56	0.07	5.26
		S.D.	0.04	0.09	0.29	0.06	0.07	0.08	0.01	0.16	0.24	0.01	0.25

G : spermatogonia.
P : pachytene spermatocyte.
R : preleptotene spermatocyte.
Z : zygotene spermatocyte.
T : round spermatid.

Table 27 Reproduction results of rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)	0	2	10	50	250
Estrous cycle (days, Mean ± S.D.)	4.1 ± 0.2	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.1 ± 0.2
No. of pairs mated	12	12	12	12	12
No. of pairs with successful copulation	11	12	12	12	12
Copulation index (%)	91.7	100	100	100	100
Pairing days until copulation (days, Mean ± S.D.)	1.7 ± 0.8	2.3 ± 0.9	2.6 ± 0.8	2.4 ± 0.9	2.9 ± 0.8 **
No. of pregnant females	11	12	12	12	10
Fertility index (%)	100	100	100	100	83.3
No. of corpora lutea (Mean ± S.D.)	15.7 ± 1.3	15.8 ± 2.1	15.8 ± 2.9	15.0 ± 1.9	15.8 ± 2.3
No. of implantation sites (Mean ± S.D.)	14.9 ± 1.0	15.4 ± 1.8	15.4 ± 3.4	14.8 ± 1.8	14.4 ± 3.2
Implantation index (%, Mean ± S.D.)	95.0 ± 5.2	98.1 ± 4.3	97.2 ± 7.9	98.5 ± 3.8	90.6 ± 13.2
No. of pregnant females with parturition	11	12	12	12	10
Gestation length (days, Mean ± S.D.)	22.4 ± 0.5	22.3 ± 0.5	22.3 ± 0.5	22.4 ± 0.5	22.7 ± 0.5
No. of pregnant females with live pups	11	12	12	12	9
Gestation index (%)	100	100	100	100	90.0
No. of pregnant females with live pups on day 4	11	12	12	11	8
No. of pregnant females without live pups on day 4	0	0	0	1	2

Estrous cycle : Mean days from metaeatrus I (III) to next III.
a : (No. of females with disorder of estrous cycle / No. of females).
Copulation index = (No. of pairs with successful copulation/No. of pairs mated) ×100.
Fertility index = (No. of pregnant females/No. of pairs with successful copulation) ×100.
Gestation index = (No. of females with live pups/No. of pregnant females) ×100.
Implantation index = (No. of implantation sites / No. of corpora lutea) ×100.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 28 Litter results of rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose(mg/kg/day)	0	2	10	50	250
No. of pregnant females with live pups	11	12	12	12	9
No. of pups born	14.1 ± 1.0	14.6 ± 2.3	14.0 ± 4.7	14.1 ± 2.2	11.9 ± 3.6
Delivery index (%)	94.7 ± 5.6	94.3 ± 6.5	88.0 ± 18.5	95.3 ± 6.1	83.3 ± 18.5
No. of pups alive on day 0 of lactation					
Total	14.1 ± 1.0	14.3 ± 2.3	13.9 ± 4.7	12.8 ± 2.4	7.2 ± 4.7 **
Male	6.8 ± 2.5	7.1 ± 1.7	6.8 ± 2.4	6.2 ± 2.2	4.6 ± 3.1
Female	7.3 ± 2.9	7.3 ± 1.9	7.2 ± 3.2	6.7 ± 2.3	2.6 ± 1.9 **
Live birth index (%)	100.0 ± 0.0	98.4 ± 4.0	99.5 ± 1.7	92.1 ± 15.0	56.2 ± 33.4 **
Sex ratio(Male/Female)	0.94	0.97	0.93	0.94	1.41
No. of pups alive on day 4 of lactation					
Total	14.1 ± 1.0	14.1 ± 2.2	13.3 ± 4.7	11.7 ± 4.5	7.0 ± 4.2 **
Male	6.8 ± 2.5	6.9 ± 1.6	6.6 ± 2.4	5.5 ± 2.9	4.4 ± 2.7
Female	7.3 ± 2.9	7.2 ± 1.9	6.7 ± 3.1	6.2 ± 2.9	2.6 ± 1.7 **
Viability index (%)	100.0 ± 0.0	98.4 ± 2.9	93.8 ± 11.7	88.5 ± 30.0	80.5 ± 35.9 *
Body weight of live pups (g)					
on day 0					
Male	7.1 ± 0.4	6.9 ± 0.5	6.5 ± 0.8	6.5 ± 1.0	5.7 ± 0.6 **
Female	6.6 ± 0.4	6.6 ± 0.6	6.1 ± 0.5	6.0 ± 0.9	5.4 ± 0.8 **
on day 4					
Male	11.1 ± 0.8	11.0 ± 0.8	9.9 ± 2.1	10.8 ± 1.9	8.6 ± 2.0 *
Female	10.5 ± 0.7	10.5 ± 1.1	9.3 ± 1.7	9.7 ± 2.1	8.2 ± 1.6 *

Delivery index = (No. of pups born/No. of implantation sites)×100.
Live birth index = (No. of live pups on day 0/No. of pups born)×100.
Viability index = (No. of live pups on day 4/No. of live pups on day 0)×100.
Sex ratio = Total number of male pups/Total number of female pups.
Each value is expressed as Mean±S.D.,except sex retio.
* : Significantly different from control at 5% level of probability.
** : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 29 External findings of pups obtained from pregnant rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose(mg/kg/day)	0	2	10	50	250
No. of pups examined	155	175	168	169	119
No. of pups with external malformations#	0 (0)	0 (0)	1 (0.5±1.7)	0 (0)	0 (0)
Dwarf#	0 (0)	0 (0)	1 (0.5±1.7)	0 (0)	0 (0)

: No. of pups (Mean±S.D. of individual litter percentages).

Table 30 Visceral findings of pups from pregnant rats treated orally with 1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene in the combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test

Dose(mg/kg/day)	0	2	10	50	250
No. of pups examined	155	172	163	168	111
No. of pups with visceral malformations	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
No. of pups with visceral variations	1 (0.6±2.1)	2 (1.3±3.1)	2 (1.0±2.3)	0 (0)	0 (0)
Persistent left umbilical artery	1 (0.6±2.1)	1 (0.8±2.6)	1 (0.5±1.8)	0 (0)	0 (0)
Thymic remnant in neck	0 (0)	1 (0.6±1.9)	1 (0.4±1.5)	0 (0)	0 (0)

( ):No. of pups (Mean±S.D. of individual litter percentages).