最終報告書

4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）のラットを用いた
経口投与による２８日間反復投与毒性試験および２週間回復試験

株式会社ボゾリサーチセンター

目　次

Figures and Tables

要　約

Crj：CD（SD）系雌雄ラットを用いて、4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）の反復投与による毒性ならびにその回復性を検討した。投与量は 0（5％アラビアゴム水溶液：対照群）、15、60、および 250mg／kg／day とし、２８日間強制経口投与した。１群の動物数は、対照群、60および 250mg／kg投与群で雌雄各１２匹、15mg／kg投与群で雌雄各６匹とし、このうち、対照群、60および 250mg／kg投与群の雌雄各６匹については、２８日間投与後１４日間休薬させた。

１．試験期間を通じて、死亡はみられず、また、一般状態にも被験物質投与に起因する変化はみられなかった。

２．体重では被験物質投与による変化はみられなかった。摂餌量では、 250mg／kg投与群の雌雄で投与開始初期に一時的な減少がみられたが、雄ではその後対照群をやや上回って推移した。60mg／kg投与群の雄の摂餌量も対照群をやや上回って推移した。

３．尿検査では、 pHの低下が60mg／kg投与群の雌と 250mg／kg投与群の雌雄に、尿蛋白およびケトン体の増加が60および 250mg／kg投与群の雌でみられた。

４．血液学的検査では、 250mg／kg投与群で雌雄に血小板数の増加、雌に分葉核好中球比率の増加およびリンパ球比率の減少がみられた。

５．血液生化学的検査では、無機リンの増加が60mg／kg以上の投与群の雌に、総コレステロールの増加が 250mg／kg投与群の雌雄に、リン脂質および尿素窒素の増加と血糖値の低下が 250mg／kg投与群の雌にみられた。

６．病理学的検査では、 250mg／kg投与群の雌雄に肝臓重量の増加、肉眼的な小腸壁の肥厚と盲腸の拡張がみられた。組織学的には、肝臓で小葉中心帯肝細胞の肥大と回腸における腸絨毛の過形成が 250mg／kg投与群の雌雄に、盲腸と結腸で吸収上皮細胞の空胞化が60mg／kg以上の投与群の雌雄に、また、盲腸粘膜の細胞浸潤が60mg／kg以上の投与群の雌雄に、結腸粘膜の細胞浸潤が60mg／kg以上の投与群の雌にみられた。さらに、腸間膜リンパ

節では、傍皮質領域における“tingible body macrophage”が 250mg／kg投与群の雌に多くみられた。

７．１４日間の休薬後も、 250mg／kg投与群で尿 pHの低下、尿蛋白の増加、血小板数の増加、回腸における腸絨毛の過形成がみられたものの、その他の変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験における4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）の無影響量は15mg／kg／day と推定された。

緒　言

4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）は、サルモネラを用いた変異原性では陰性を示すことが報告されている[1]。

今回、厚生省生活衛生局の依頼により、4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）をヒトが摂取した場合の影響を推定する目的で、被験物質をラットに２８日間反復経口投与し、その影響を明らかにするとともに、２週間休薬し、障害の回復性を調べたのでその成績を報告する。

なお、本試験は「新規化学物質に係る試験および指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第４条に規定する試験施設について（昭和63年11月18日；環保業第39号環境庁企画調整局長、薬発第 229号厚生省薬務局長、59基局第85号通商産業省基礎産業局長連名基準）」に定める「新規化学物質に係る試験および指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第４条に規定する試験施設に関する基準」および「新規化学物質に係る試験の方法について（昭和61年12月 5日；環保業第 700号環境庁企画調整局長、薬発第1039号厚生省薬務局長、61基局第1014号通商産業省基礎産業局長連名通知）」（以下「化審法ガイドライン」という）に準拠して実施した。

試験材料および方法

1．被験物質および被験液の調製

1）被験物質

被験物質4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）は以下の情報とともに、　　より提供された。

製造者　：

被験物質名　：　4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）
（CAS No.：96－69－5）

構造式または示性式　：　$S[C_6H_2(CH_3)(OH)C(CH_3)_3]_2$

ロット番号　：

純度　：　98%以上

性状　：　白色結晶性粉末で、水に不溶、アセトンおよびメタノールに可溶。

分子量　：　358.54

融点　：　160～165℃

保存方法　：　室温・暗所

安定性　：　返却後の被験物質の分析結果から、動物試験期間中は安定であったことが確認された。

保存方法　：　室温・暗所保存

なお、提供された被験物質のうち、約5g を保管試料として御殿場研究所の被験物質保管室に保管し、その他の残余被験物質は全量を製造者に返却した。

2）対照液および被験液の調製

(1) 対照液（溶媒）の調製および保存方法

必要量のアラビアゴム（日本薬局方、日本粉末薬品株式会社、ロット番号：JH4104）を秤量し、最終調製量の約8割の注射用水（日本薬局方、株式会社大塚製薬工場、ロット番号：4184）に、スターラーで撹拌しながら徐々に加えて完全に溶解させたのち注射用水をさらに加えて規定量とし、5%アラビアゴム水溶液を調製した。調製は最大1週間分を一括して行い、使用時まで室温で保存した。

(2) 被験液の調製および保存方法

投与容量が5mℓ／kg体重となるよう、各濃度毎に必要な被験物質を秤取し、乳鉢

を用いて溶媒に懸濁して調製した。被験液の調製は最大１週間分を一括して行い、１日分ずつ褐色ガラス瓶に分注し、冷蔵庫（約４℃）に保存した。

３）被験液の安定性

0.1～５％（w/v）懸濁液は、室温で１日間および冷蔵（約４℃）・暗所（褐色ガラス瓶）で８日間まで安定である（添付資料　１）。

４）被験液の濃度および均一性の確認

投与開始前および投与終了週の２回、投与に使用した各濃度液について、株式会社ボゾリサーチセンターで測定した結果、表示値に対する割合は94.0～ 104.2%、また、変動係数（ＣＶ）は 0.3～ 0.8%の範囲内であり、いずれも適正濃度でかつ均一であることが確認された（添付資料　２、３）。

２．試験動物

Crj：ＣＤ（ＳＤ）系ＳＰＦラット（日本チャールス・リバー株式会社）の雌雄各６０匹[注1]を５週齢で購入し、当所で約１週間検疫・馴化飼育した後、体重増加が順調で一般状態に異常を認めなかった雌雄各４２匹を選び、６週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で 193～222g（平均値：208.0g）、雌で 148～171g（平均値：157.4g）であり、いずれの動物の体重も平均値±20%以内であった。

動物は、検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日（雌雄とも投与開始の４日前）の体重に基づいて層別化し、各群の平均体重がほぼ均等となるよう、コンピュータを用いてブロック配置法および無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群および群内の個体番号を無作為に割り当てた）により各群に割り付けた。

群分け後の余剰動物は、投与開始日に安楽死させた。

注1：試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各６０匹であったが、実際には雌雄各６２匹が納入された。

３．飼育条件

動物は、温度２３±３℃、相対湿度５０±２０%、換気回数１時間当たり１１～１３回、照明１日１２時間（午前７時～午後７時）の飼育室（６０２号室）で、金属製網ケージ（ W 190× D 350× H 170 mm ：リードエンジニアリング株式会社）に１匹ずつ収容し、固型飼料（放射線滅菌ＣＲＦ－１、オリエンタル酵母工業株式会社）および飲料水（御殿場市営水道水：自動給水）を自由に摂取させ飼育した。なお、飼料中の汚染物質等に関し

ては、使用した全ロットについて財団法人日本食品分析センターで分析したデータを入手し）、また、飲料水については、水道法に準拠した水質の検査を財団法人静岡県生活科学検査センターに定期的（年４回）に依頼し、得られたデータを入手してそれぞれ異常のないことを確認して保管した。

４．投与量、群構成および動物数

投与量は、２週間投与による予備試験[2]の成績を参考にして、すなわち、4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）の15、60、250および1000mg／kgを雌雄のラットに２週間反復経口投与した結果、1000mg／kg投与群で多数例が死亡し、250mg／kg投与群ではＧＯＴおよびＧＰＴ活性の上昇、血糖値の低下、盲腸の拡張などがみられた。一方、60mg／kg以下の投与群では変化はみられなかった。これらの結果から、本試験では明らかな毒性徴候が予想される250mg／kgを最高投与量とし、以下公比約４で減じて60および15mg／kgの３用量を設定した。これに対照群を加え計４群を使用した。２８日間投与後に剖検する群（主群）に雌雄各６匹を用い、さらに、対照群、中用量群および高用量群では２８日間投与後２週間休薬した後に剖検する群（回復群）に雌雄各６匹を用いた。次に群構成表を示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (%)	性	主群		回復群	
				動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	雄	6	1001～1006	6	1007～1012
			雌	6	1101～1106	6	1107～1112
低用量群	15	0.3	雄	6	2001～2006	-	－
			雌	6	2101～2106	-	－
中用量群	60	1.2	雄	6	3001～3006	6	3007～3012
			雌	6	3101～3106	6	3107～3112
高用量群	250	5	雄	6	4001～4006	6	4007～4012
			雌	6	4101～4106	6	4107～4112

５．個体識別およびケージへの表示

個体識別は、入荷時に小動物用耳標をつけて行った。また、飼育ケージには、投与量ごとに色分けしたケージラベルに試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号お

よび剖検日を明記し、表示した。

6．投与方法および投与期間

「化審法ガイドライン」に準じて経口投与を選択した。被験液は、 0.5mℓ／100g体重の投与容量で、１日１回（午前８時～午後３時の間）、週７日、金属製胃ゾンデを用いて２８日間（計２９回）強制経口投与した。対照群には溶媒（５％アラビアゴム水溶液）を同様に投与した。投与液量は最新の体重を基準に算出した。なお、回復期間は２週間とし、この間休薬させた。

7．検査方法

1）一般状態の観察

投与期間中は毎日３回、投与前と投与直後および投与２時間後（ただし、休日は投与前と投与直後の２回）、回復期間中は毎日１回（午前中）、症状の有無、行動異常の有無を観察した。

なお、以下、投与開始日を投与１日、投与１～７日を投与第１週と起算した。

2）体重測定

投与開始日の投与前に１回測定し、その後は３日ないし４日間隔で週２回、当日の投与前（午前中）に測定した。回復期間中は回復１日（投与期間終了の翌日）および３日に測定し、その後は３日ないし４日間隔で週２回測定した。また、相対器官重量算出のため、投与終了時および回復終了時の剖検日にも絶食後の体重を測定した。

3）摂餌量測定

投与開始日の投与前に１回、前日からの１日量を測定した。その後の投与期間中は３日あるいは４日間隔で週２回、３日ないし４日間の累積摂取量を当日の投与前に測定し、１匹１日量を算出した。回復期間中は、回復１日から３日までの累積摂取量を測定し、その後は３日あるいは４日間隔で週２回、３日ないし４日間の累積摂取量を測定して、１匹１日量を算出した。なお、測定は午前中に行った。

4）尿検査

投与第４週および回復第２週に行った。

投与第４週（投与２３日～２５日の間）は、検査当日の投与後に主群の全動物について、回復第２週（回復８日～１１日の間）は回復群の全動物について、個別に代謝ケージに収容し、絶食・自由摂水下で４時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でそ

の後の２０時間尿を採取した。検査項目は次の通りである。なお、採取した最初の４時間尿について pH以下沈渣までの検査と尿量を、その後に得られた２０時間尿を用いて尿比重および尿量の測定を行い、尿量は４時間の尿量および２０時間の尿量を合計して算出した。摂水量は、代謝ケージに収容した状態で前日からの１日の摂取量を、給水瓶を用いて測定した。

検査項目	測定方法
pH	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] a)
蛋白質（Protein）	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] a)
ケトン体（Ketone body）	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] a)
ブドウ糖（Glucose）	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] a)
潜血（Occult blood）	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] a)
ビリルビン（Bilirubin）	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] a)
ウロビリノーゲン（Urobilinogen）	URIFLET 7A [㈱京都第一科学] a)
色調（Color）	肉眼観察
沈渣（Urine sediment）	鏡検法
尿量（２４時間量）	容量測定
比重（S. G.）	屈折法 b)
摂水量（２４時間量）	重量法

使用測定機器

a) ： mini AUTION ANALYZER
MA－4210 （株式会社京都第一科学）

b) ： アタゴ屈折計 （株式会社アタゴ）

5）血液学的検査

投与期間および回復期間終了の翌日の屠殺時に、前日から一夜（約１６時間）絶食させた全動物を、エーテル麻酔下に開腹し、腹大動脈から抗凝固剤（ＥＤＴＡ－２Ｋ）を加えた採血ビン（ＳＢ－４１：東亜医用電子株式会社）に血液を採取し、以下の項目について測定した。ただし、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラス

チン時間については、3.8%クエン酸ナトリウムを加えた容器に採取した血液を遠心分離（3000rpm、１０分間）し、得られた血漿を用いて測定した。

測定項目	測定方法	単位
赤血球数（ＲＢＣ）	電気抵抗変化検出法[c]	10^4／mm³
ヘモグロビン量（Ｈｂ）	シアンメトヘモグロビン法[c]	g／dℓ
ヘマトクリット値（Ｈｔ）	$\frac{\text{平均赤血球容積}(\mu^3)\times\text{赤血球数}(10^4/\text{mm}^3)}{10^3}$ [c]	%
平均赤血球容積（ＭＣＶ）	電気抵抗変化検出法[c]	μ^3
平均赤血球血色素量（ＭＣＨ）	$\frac{\text{ヘモグロビン量}(g/d\ell)\times 10}{\text{赤血球数}(10^6/\text{mm}^3)}$ [c]	pg
平均赤血球血色素濃度（ＭＣＨＣ）	$\frac{\text{ヘモグロビン量}(g/d\ell)\times 10^2}{\text{ヘマトクリット値}(\%)}$ [c]	%
網赤血球率（Ｒｅｔｉｃｕｌｏｃｙｔｅ）	Ｂｒｅｃｈｅｒ法	‰
血小板数（Ｐｌａｔｅｌｅｔ）	電気抵抗変化検出法[c]	10^4／mm³
白血球数（ＷＢＣ）	電気抵抗変化検出法[c]	10^2／mm³
白血球百分率	Ｍａｙ－Ｇｉｅｍｓａ 鏡検法	%
プロトロンビン時間（ＰＴ）	クロット法[d]	sec.
活性化部分トロンボプラスチン時間（ＡＰＴＴ）	クロット法[d]	sec.

使用測定機器

c)　：　コールター全自動８項目血球アナライザーＴ８９０
（株式会社　日科機）

d)　：　血液凝固自動測定装置　ＡＣＬ　１００
（Instrumentation Laboratory）

6）血液生化学的検査

血液学的検査のための採血と同時に、腹大動脈から採取した血液を３０分～１時間室温で放置した後、遠心分離（3000rpm 、１０分間）し、得られた血清を用いて以下の項目について測定した。ただし、ＧＯＴ、ＧＰＴ、ＬＤＨ、γ－ＧＴＰおよびＣｈＥについてはヘパリンを加えた容器に採取後、遠心分離（3000rpm 、１０分間）し、得られた血漿を用いて測定した。

測定項目	測　定　方　法	単　位
ＧＯＴ	ＵＶ－rate法[e)]	IU／ℓ
ＧＰＴ	ＵＶ－rate法[e)]	IU／ℓ
ＬＤＨ	ＵＶ－rate法[e)]	IU／ℓ
γ－ＧＴＰ	γ－Glu－ＤＢＭＡ－rate法[e)]	IU／ℓ
ＣｈＥ	ＤＴＮＢ法[e)]	IU／ℓ
Ａℓ Ｐ	Bessey －Lowry法[e)]	IU／ℓ
総コレステロール（Ｔ．ｃｈｏ）		
	ＣＥＨ－ＣＯＤ－ＰＯＤ法[e)]	mg／dℓ
トリグリセライド（ＴＧ）	ＧＫ－ＧＰＯ－ＰＯＤ法[e)]	mg／dℓ
リン脂質（ＰＬ）	ＰＬＤ－ＣｈＯＤ－ＰＯＤ法[e)]	mg／dℓ
総ビリルビン（Ｔ．bilirubin）		
	アゾビリルビン法[e)]	mg／dℓ
血糖（Glucose）	Hexokinase －Ｇ６ＰＤ法[e)]	mg／dℓ
尿素窒素（ＢＵＮ）	Urease －ＧＬＤＨ法[e)]	mg／dℓ
クレアチニン（Creatinine）		
	Jaffé法[e)]	mg／dℓ
ナトリウム（Ｎａ）	イオン選択電極法[e)]	mEq ／ℓ

測定項目	測　定　方　法	単　位
カリウム（K）	イオン選択電極法[e)]	mEq／ℓ
塩素（Cℓ）	イオン選択電極法[e)]	mEq／ℓ
カルシウム（Ca）	OCPC法[e)]	mg／dℓ
無機リン（P）	モリブデン酸法[e)]	mg／dℓ
総蛋白質（TP）	Biuret 法[e)]	g／dℓ
アルブミン（Albumin）	BCG法[e)]	g／dℓ
A／G比（A／G）	総蛋白質およびアルブミンから算出	

使用測定機器

e)　：　自動分析装置　Monarch (Instrumentation Laboratory)

7）病理学的検査

(1) 剖検および器官重量測定

全動物について、採血後放血致死させ、外表異常の有無を観察した後、頭部、胸部および腹部を含む全身の器官・組織について、肉眼的に異常の有無を観察した。続いて、以下に示す器官について摘出後、器官重量（絶対重量）を測定した。また、絶食後の体重および絶対重量から体重100g当たりの相対重量を算出した。なお、両側性の器官は左右別々に測定したが、左右合計の重量も算出し、合計の値で評価した。

脳、胸腺、心臓、肺（気管支を含む）、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

(2) 病理組織学的検査

全動物について以下に示す全器官・組織を採取し、リン酸緩衝液（1/15M、pH 7.1～7.4）で調製した１０％ホルマリン液（但し、眼球およびハーダー腺は３％グルタルアルデヒド・2.5%ホルマリン液）で固定後、下線を施した器官・組織についてパラフィン包埋した。主群ではこのうち、対照群と高用量群は包埋した全ての器官・組織について、また、中および低用量群は高用量群で被験物質投与による変化が疑われた小腸（十二指腸～回腸）、大腸（盲腸～直腸）、肝臓および腸間膜リンパ節について切片とし、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色を施して鏡検した。回復群についても、被験物質投与による変化が疑われた上記の腸管、肝臓および腸間膜リンパ節について全動物を検査した。また、肉眼的異常部位について

は用量に関係なく鏡検した。さらに、正常および異常所見の代表例について写真を撮影した。

脳、脊髄、坐骨神経、胸大動脈、心臓、気管、肺（気管支を含む）、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、唾液腺（顎下腺・舌下腺）、肝臓、膵臓、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、腟、乳腺、皮膚、眼球、ハーダー腺、骨及び骨髄（胸骨・大腿骨）、大腿筋、肉眼的異常部位

8．統計処理

各検査項目のうち数値化した成績について、まずBartlett 法により各群の分散の均一性の検定を行った。その結果、分散が均一の場合には一元配置法による分散分析を行い、群間に有意差が認められたならば、各群の例数が等しいときにはDunnett法を、各群の例数が異なるときにはScheffé法を用いて、対照群と各投与群との平均値の差の検定を行った。分散が均一でない場合には、Kruskal－Wallis の順位検定を行い、有意であれば対照群と各投与群との平均順位の差について、Dunnett型（各群の例数が等しいとき）、または、Scheffé型（各群の例数が異なるとき）を用いて、対照群と各投与群との平均順位の差の検定を行った。検定はいずれも両側で、有意水準は5および1％とした[3]。

試験結果

1．一般状態

成績をTable　1－1～1－3、Appendix 1～11に示した。

投与期間および回復期間を通じて、いずれの動物にも異常はみられなかった。

2．体重

成績をFig. 1、Table　2－1、2－2、Appendix 12～18に示した。

1）投与期間

雌雄ともに、各投与群の体重は対照群と同様に推移した。

2）回復期間

雌雄ともに、各投与群の体重は対照群と同様に推移した。

3．摂餌量

成績をFig. 2、Table　3－1、3－2、Appendix 19～25に示した。

1）投与期間

雄では、250mg／kg投与群で投与4日に対照群を有意に下回った。しかし、その後は対照群をやや上回って推移し、投与22日および29日には有意な差であった。また、60mg／kg投与群でも対照群をやや上回って推移し、投与29日には有意な差がみられた。

雌では、250mg／kg投与群で投与4日に対照群を有意に下回ったが、その後は対照群と同様に推移した。

2）回復期間

雌雄ともに、各投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。

4．尿検査

成績をTable　4－1～4－8、Appendix 26～46に示した。

1）投与第4週検査

雄では、250mg／kg投与群に尿pHの低下傾向と尿沈渣中のリン酸塩の増加傾向がみられた。

雌では、60mg／kg以上の投与群で尿pHの低下傾向、尿蛋白、ケトン体および尿沈渣

中のリン酸塩の増加傾向がみられた。

2）回復第2週検査

雄では、250mg／kg投与群に尿蛋白の増加傾向がみられた。

雌では、250mg／kg投与群で尿pHの低下傾向がみられた。

5．血液学的検査

成績をTable 5－1～5－4、Appendix 47～60に示した。

1）投与終了時検査

雄では、250mg／kg投与群で血小板数の有意な増加がみられた。他に、プロトロンビン時間の有意な短縮が60mg／kg投与群にみられたが、用量に応じた変化ではなかった。

雌では、250mg／kg投与群で血小板数および分葉核好中球比率の有意な増加とリンパ球比率の有意な減少がみられた。

2）回復終了時検査

雌雄ともに、250mg／kg投与群で血小板数の有意な増加がみられた。

6．血液生化学的検査

成績をTable 6－1～6－4、Appendix 61～74に示した。

1）投与終了時検査

雄では、250mg／kg投与群で総コレステロールの有意な増加がみられた。

雌では、60mg／kg以上の投与群で無機リンの有意な増加がみられたほか、250mg／kg投与群で総コレステロール、リン脂質および尿素窒素の有意な増加と血糖値の有意な低下がみられた。

2）回復終了時検査

血糖の有意な低下が250mg／kg投与群の雄でみられた。他に、総コレステロールとリン脂質の有意な増加が60mg／kg投与群の雌でみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

7．剖検所見

成績をTable 7－1、7－2、Appendix 75～88に示した。

1）投与終了時剖検例

盲腸の拡張が 250mg／kg投与群の雄５例と雌４例に、小腸壁の肥厚が 250mg／kg投与群の雌雄各４例にみられた。

他に、甲状腺の腫大（両側性）が15mg／kg投与群の雌１例（No. 2103）にみられたが、出現状況から偶発所見と判断した。

2）回復終了時剖検例

精巣の腫大（片側性）が60mg／kg投与群の雄１例（No. 3010）に、精巣上体の黄色小結節が 250mg／kg投与群の雄１例（No. 4011）にみられたが、出現状況からいずれも偶発所見と判断した。

8．器官重量

成績をTable　8－1～8－8、Appendix 89～116に示した。

なお、両側性の器官は左右別々に測定したが、左右合計の重量も算出し、合計の値で評価した。

1）投与終了時剖検例

肝臓で、相対重量の有意な増加が 250mg／kg投与群の雌雄にみられた。

2）回復終了時剖検例

心臓で、相対重量の有意な増加が雄の各投与群にみられた。

他に、脳の絶体重量の有意な増加が雌の60mg／kg投与群にみられたが、用量と関連した変化ではなかった。

9．病理組織学的検査

成績をTable　9－1～9－5、Appendix 117～120に、また代表例の写真をPhoto. 1～22に示した。

1）投与終了時剖検例

被験物質投与によると考えられる変化が小腸、大腸、肝臓および腸間膜リンパ節にみられた。

回腸：腸絨毛のごく軽度な過形成（Photo. 3、4）が 250mg／kg投与群の雄１例と雌３例にみられた。本所見は、腸絨毛の丈の高さの増大として観察され、組織構築の変化あるいは炎症反応は認められなかった。

盲腸：吸収上皮細胞のごく軽度から軽度な空胞化（Photo. 8、9）が60mg／kg投

与群の雄３例と雌１例、 250mg／kg投与群の雌雄各５例にみられた。また、粘膜におけるごく軽度から軽度な細胞浸潤（Photo. １１、１２）が60mg／kg投与群の雄５例と雌１例、 250mg／kg投与群の雌雄各３例にみられたが、吸収上皮細胞の空胞化を示す個体と細胞浸潤を示す個体とは必ずしも一致していなかった。

結腸：吸収上皮細胞のごく軽度な空胞化（Photo. １４、１５）が60mg／kg投与群の雌雄各１例、 250mg／kg投与群の雄１例と雌２例にみられた。また、粘膜におけるごく軽度な細胞浸潤（Photo. １７、１８）が雌の60および 250mg／kg投与群でそれぞれ１および２例にみられた。

直腸：粘膜におけるごく軽度な細胞浸潤が 250mg／kg投与群の雌雄各１例にみられた。

肝臓：小葉中心帯肝細胞のごく軽度な肥大（Photo. ２０）が 250mg／kg投与群の雌雄各５例にみられた。他に、変異細胞巣（対照群の雄１例）と微小肉芽腫（60mg／kg投与群の雌１例）がみられたが、出現状況から偶発所見と判断した。

腸間膜リンパ節：傍皮質領域において、核崩壊物を容れたマクロファージ“tingible body macrophage”の出現（Photo. ２２）が、対照群で雄１例（ごく軽度）、15mg／kg投与群で雌雄各１例（いずれもごく軽度）、60mg／kg投与群で雄１例と雌２例（いずれもごく軽度）にみられたのに対し、 250mg／kg投与群では雄で２例（１例がごく軽度、残る１例が軽度）と雌で５例（４例がごく軽度、残る１例が軽度）にみられ、 250mg／kg投与群の雌で例数がやや多かった。

上記以外の器官・組織では、以下の変化がみられたが、出現状況とその病理学的性状からいずれも偶発所見と判断した。

腎臓：近位尿細管の限局性好塩基性化（ 250mg／kg投与群の雄１例）。

前立腺：炎症（対照群の１例）。

甲状腺（上皮小体を含む）：濾胞上皮細胞のび慢性過形成（肉眼的に腫大を示した15mg／kg投与群の雌１例）。

投与終了時剖検例で検索したその他の器官・組織、すなわち、脳、脊髄、坐骨神経、心臓、気管、肺（気管支を含む）、胃、十二指腸、空腸、膵臓、下垂体、副腎、胸腺、脾臓、頸部リンパ節、膀胱、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、腟、眼球、骨および骨髄（胸骨・大腿骨）には異常所見は認められなかった。

2）回復終了時剖検例

回腸：腸絨毛のごく軽度から軽度な過形成（Photo. 5、6）が、250mg／kg投与群の雌雄各２例にみられた。

盲腸：吸収上皮細胞の変化は認められなかった。なお、粘膜におけるごく軽度から軽度な細胞浸潤が対照群で雌雄各２例、60mg／kg投与群で雄２例と雌１例、250mg／kg投与群で雄３例と雌４例にみられた。

直腸：粘膜におけるごく軽度な細胞浸潤が60mg／kg投与群の雌１例、250mg／kg投与群の雄１例にみられた。

肝臓：肝細胞の肥大は認められなかった。なお、ごく軽度な微小肉芽腫が対照群の雌雄各１例、250mg／kg投与群の雄１例にみられた。

肉眼的異常部位：肉眼的に腫大を示した60mg／kg投与群の１例（No. 3010）の精巣では精細管の萎縮、黄色小結節を示した250mg／kg投与群の１例（No. 4011）の精巣上体では精子肉芽腫がみられた。

回復終了時剖検例で検索したその他の器官・組織、すなわち、十二指腸、空腸、結腸および腸間膜リンパ節には異常所見は認められなかった。

考　察

Crj：CD（SD）系雌雄ラットに、4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）を 0（5％アラビアゴム水溶液）、15、60および 250mg／kg／day の用量で２８日間反復強制経口投与し、その毒性を検討するとともに、60および 250mg／kg投与群についてはその後１４日間休薬させ、変化の回復性について検討した。

試験期間を通じて死亡はみられず、また、一般状態および体重推移にも被験物質投与による変化は認められなかった。

摂餌量では、 250mg／kg投与群の雌雄で投与開始４日に減少を示したが、雄ではその後対照群をやや上回った。60mg／kg投与群でも雄の摂餌量は対照群をやや上回った。これらの投与群の体重は、対照群とほぼ同様であったことから、食餌効率は低下しているものと考えられ、後述の腸管に対する障害がその要因と推察される。

尿検査では、60mg／kg以上の投与群で尿 pHの低下、尿蛋白およびケトン体の増加が主として雌にみられた。同時に、血液生化学的検査において、雌で尿素窒素や無機リンの増加がみられたことから、尿蛋白の増加は本被験物質の腎臓に対する影響と考えられるが、腎臓では組織学的変化は認められなかった。また、 250mg／kg投与群の雌の血糖値は低下していたことから、尿中ケトン体の増加は、血糖値の低下に伴い、エネルギー源としての脂質要求が増大したためと推察される。

血液学的検査では、血小板数の増加、リンパ球比率の減少と分葉核好中球比率の増加が250mg／kg投与群の主として雌にみられた。250mg／kg投与群の雌におけるリンパ球および分葉核好中球の実数を、白血球数とその分画比率から求めると、リンパ球数は対照群平均値の約20％増、分葉核好中球数は対照群平均値の約 160％増であったことから、本試験における白血球分画比率の変化は、分葉核好中球の実質的な増加に起因し、大腸粘膜での細胞浸潤との関連性が示唆される。

血液生化学的検査では、既に述べた血糖、尿素窒素および無機リンの変動のほか、総コレステロールとリン脂質の増加が 250mg／kg投与群にみられ、脂質代謝への影響も示唆された。

病理学的検査では、小腸、大腸、腸間膜リンパ節および肝臓に変化がみられた。小腸では、肉眼的な壁の肥厚が 250mg／kg投与群にみられ、組織学的には、回腸で腸絨毛の過形成がみられた。既に述べた如く、60mg／kg以上の投与群では食餌効率の低下が示唆された

が、小腸における形態学的変化は、消化・吸収能の低下に対する適応的な生体反応と考えられる。また、大腸では、肉眼的な盲腸の拡張が 250mg／kg投与群にみられ、組織学的には盲腸および結腸で吸収上皮細胞の空胞化および粘膜の細胞浸潤が60mg／kg以上の投与群にみられ、大腸に対する障害性が示唆された。ただし、吸収上皮細胞の変化を示す個体と細胞浸潤を示す個体とは必ずしも一致せず、両者の関連性は明らかでなかった。腸間膜リンパ節では、傍皮質領域における“tingible body macrophage”が 250mg／kg投与群にやや多くみられた。この変化は、頸部リンパ節や胸腺、脾臓など他のリンパ器官では認められなかったことから、腸管障害と関連した所見であり、リンパ系器官に対する直接的な作用ではないと考えられる。なお、投与終了時剖検例のうち、 250mg／kg投与群の雌雄各１例に、直腸粘膜の細胞浸潤がみられたが発現例数が少なく、また、この種の動物では背景的に観察されることから、被験物質投与との関連性はないと判断された。

肝臓では、 250mg／kg投与群で重量が増加し、組織学的には小葉中心帯肝細胞の肥大が認められた。血液生化学的検査では、ＧＯＴやＧＰＴ活性など肝機能障害を示す所見はみられなかったことから、肝臓の組織所見は、薬物代謝酵素の誘導を示唆するもの[4]と推察される。

休薬期間終了後には、被験物質投与に関連すると考えられる変化のうち、 250mg／kg投与群の尿 pHの低下、尿蛋白の増加、血小板数の増加および回腸における腸絨毛の過形成を除く所見は認められず、概ね可逆性の変化と考えられた。

以上の如く、4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）をラットに２８日間反復投与した結果、主な変化が60mg／kg以上の投与群の大腸に、さらに 250mg／kg投与群では小腸および肝臓にみられ、本被験物質の主な標的器官は腸管と肝臓と考えられた。一方、15mg／kg投与群では変化は認められなかった。これらの結果から、本試験における4,4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）の無影響量は15mg／kg／day と推定された。

文　献

1) E. Zeiger, B. Anderson, S. Haworth, T. Lawlor, K. Mortelmans, and W. Speck (1987).
Salmonella mutagenicity tests : Ⅲ. Results from the testing of 255 chemicals. Environ. Mutagen., 9 (Suppl. 9) : 1 ～ 109.

2)
4, 4′－チオビス（6－*tert*－ブチル－*m*－クレゾール）のラットを用いた経口投与による１４日間反復投与毒性試験（予備試験）（株式会社ボゾリサーチセンター試験番号 : B-2813, 1995年６月）

3) S. C. Gad and C. S. Weil (1989).
Chapter 15. Statistics for toxicologists. In "Principles and Methods of Toxicology" 2nd Edition, edited by A. Wallace Hayes, Raven Press, Ltd., New York, pp. 435-483.

4) J. R. Glaister (1986).
毒性病理学の基礎, 高橋道人監訳, 1992年日本語版, ソフトサイエンス社, 東京, pp. 95～98.

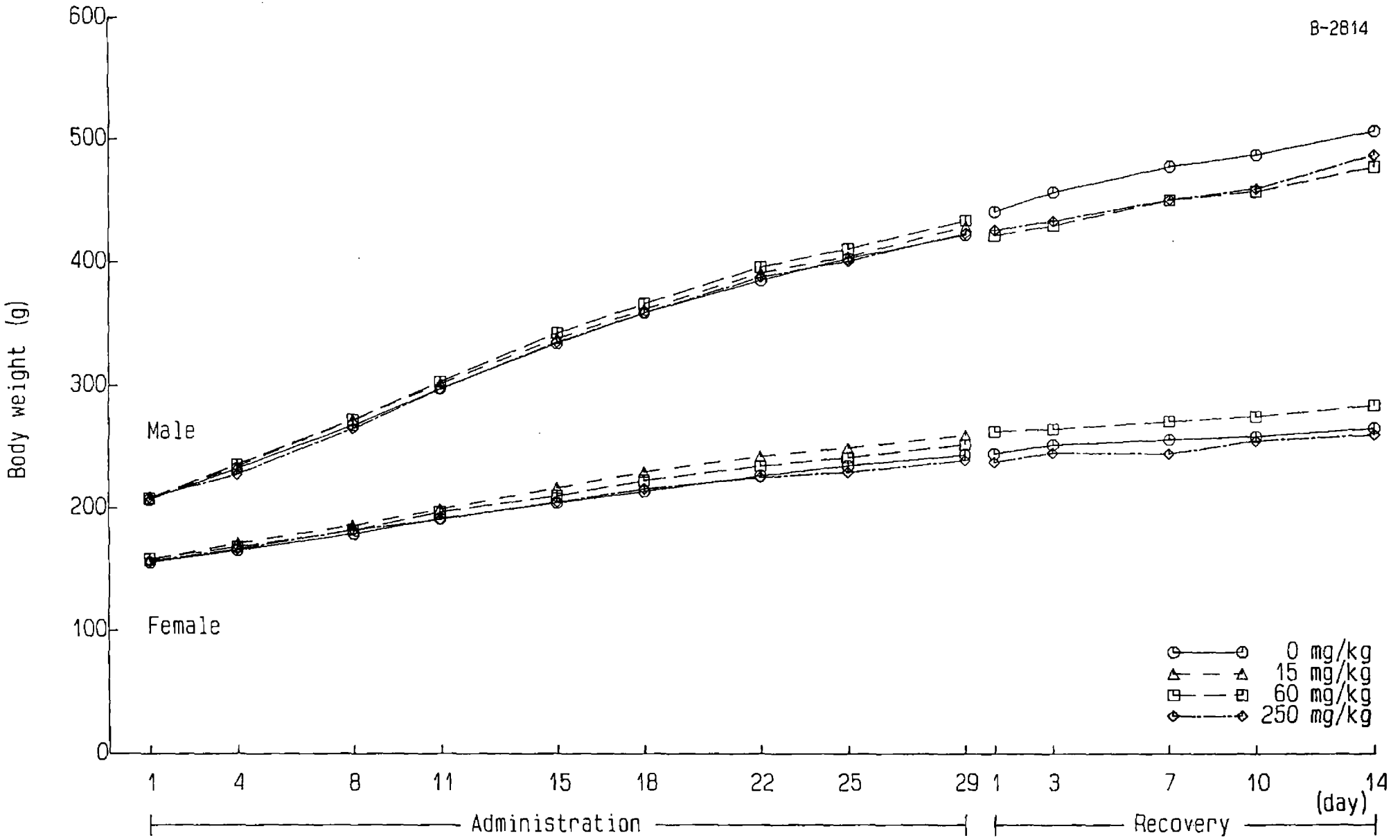

Fig.1 Body weight of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

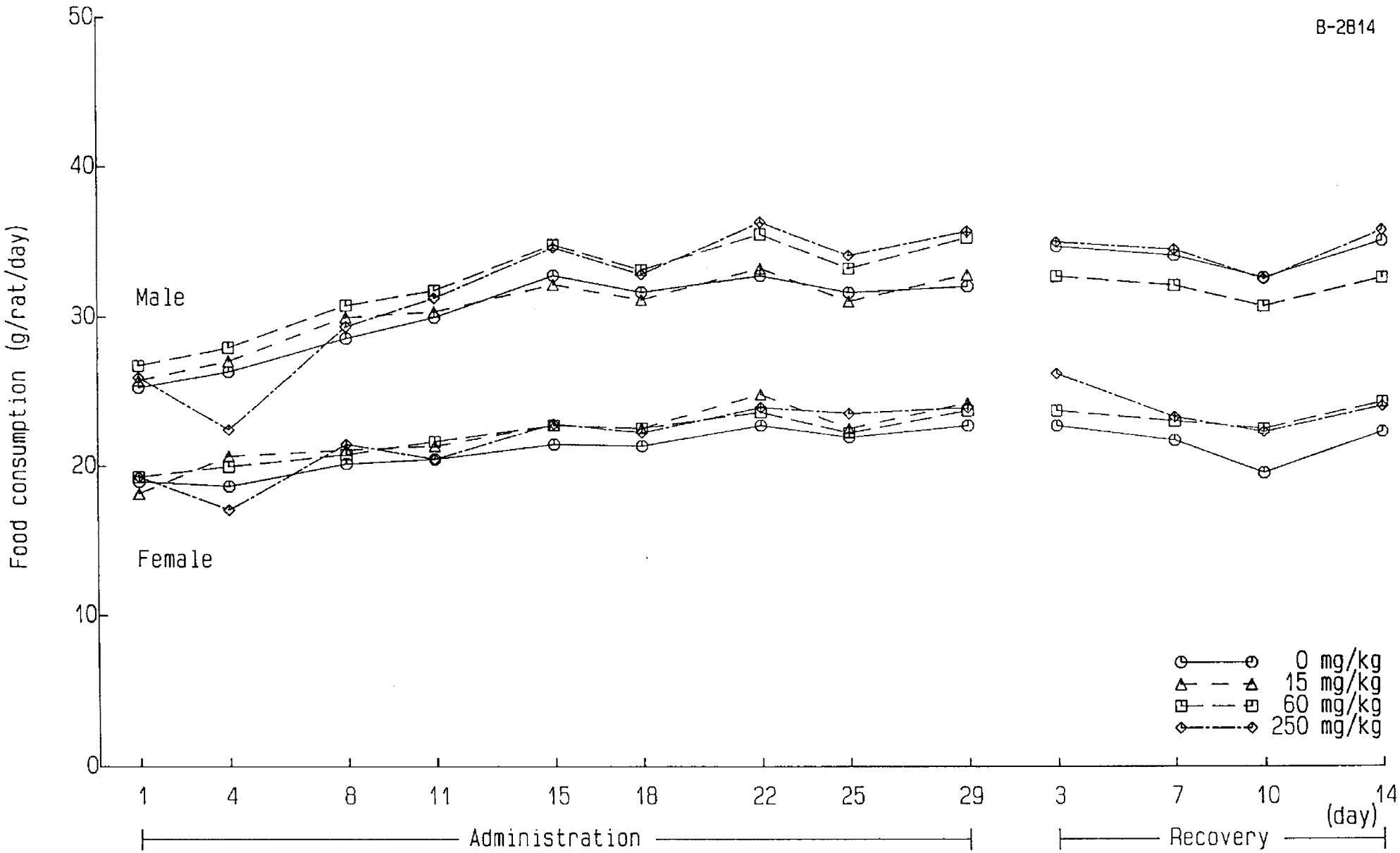

Fig.2 Food consumption of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Table 1-1 Clinical signs of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	Symptoms	Day of administration													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	15	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	250	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	15	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	250	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1-2 Clinical signs of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	Symptoms	Day of administration														
			15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
Male	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	15	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	250	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	15	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	250	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1-3 Clinical signs of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	Symptoms	Day of recovery													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	0	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	250	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Female	0	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	250	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Table 2-1 Body weight of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg		Day of administration 1	4	8	11	15	18	22	25	29	Gain 1-29
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	207	232	268	298	335	360	386	404	424	217
		S.D.	8	10	12	15	17	19	24	29	29	26
	15	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	208	234	272	302	339	362	392	405	431	223
		S.D.	7	9	13	16	18	20	23	31	30	24
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	208	235	272	303	343	367	397	412	435	227
		S.D.	7	9	14	18	24	29	35	36	40	36
	250	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	209	227	265	297	336	360	389	402	425	216
		S.D.	6	9	9	11	8	10	14	16	15	13
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	156	166	179	192	205	214	227	235	244	88
		S.D.	6	8	8	14	17	18	21	20	20	16
	15	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	158	172	186	199	217	230	243	250	260	102
		S.D.	6	8	11	14	15	12	13	17	16	12
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	159	169	182	197	210	223	235	242	253	94
		S.D.	6	6	7	12	15	16	17	18	21	17
	250	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	157	167	182	191	205	216	225	230	239	82
		S.D.	7	7	9	11	13	12	13	16	16	13

Unit : g
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-2 Body weight of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery 1	3	7	10	14	Gain 1-14
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	443	459	479	489	508	65
		S.D.	28	29	31	32	36	9
Male	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	423	431	452	459	479	56
		S.D.	36	38	43	39	41	13
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	428	435	453	462	488	61
		S.D.	11	15	18	15	19	14
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	245	252	257	259	266	21
		S.D.	27	31	28	32	30	10
Female	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	263	265	272	276	285	21
		S.D.	29	26	27	32	34	6
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	238	246	245	256	261	23
		S.D.	19	20	20	18	22	4

Unit : g
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-1 Food consumption of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg		Day of administration 1	4	8	11	15	18	22	25	29
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	25.3	26.4	28.6	30.0	32.8	31.7	32.8	31.7	32.1
		S.D.	1.5	1.8	1.9	2.4	2.4	2.6	2.8	3.9	3.3
	15	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	25.8	27.1	30.0	30.4	32.2	31.2	33.3	31.1	32.9
		S.D.	1.2	1.5	1.9	3.1	3.2	3.6	3.0	3.4	3.3
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	26.8	28.0	30.8	31.9	34.9	33.2	35.6	33.3	35.4*
		S.D.	2.0	1.5	2.5	3.0	3.9	4.2	3.9	3.3	3.2
	250	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	26.0	22.5**	29.4	31.3	34.7	32.9	36.5*	34.2	35.8*
		S.D.	1.9	2.9	2.0	2.1	1.4	2.0	3.1	2.5	2.6
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	19.0	18.7	20.2	20.5	21.5	21.4	22.8	22.0	22.8
		S.D.	1.5	1.1	1.6	2.3	2.3	2.6	2.8	2.0	3.1
	15	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	18.2	20.7	21.1	21.4	22.8	22.6	24.9	22.6	24.3
		S.D.	1.3	2.1	1.4	2.0	1.2	1.1	2.4	2.1	1.4
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	19.3	20.0	20.8	21.7	22.8	22.6	23.7	22.3	23.8
		S.D.	2.1	1.3	1.7	2.8	2.3	2.1	2.3	2.6	2.7
	250	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	19.3	17.1*	21.5	20.5	22.9	22.3	24.0	23.6	24.0
		S.D.	1.9	2.0	1.4	1.4	2.0	2.2	2.7	2.7	2.9

Unit : g/rat/day
Significantly different from control (*:$p<0.05$, **:$p<0.01$)

Table 3-2 Food consumption of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery 3	7	10	14
Male	0	No.	6	6	6	6
		Mean	34.8	34.2	32.7	35.2
		S.D.	2.8	2.7	2.6	3.4
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	32.8	32.2	30.8	32.7
		S.D.	3.3	3.3	2.8	2.6
	250	No.	6	6	6	6
		Mean	35.1	34.6	32.6	35.9
		S.D.	2.7	3.0	2.0	2.7
Female	0	No.	6	6	6	6
		Mean	22.8	21.8	19.6	22.4
		S.D.	3.7	3.0	4.4	2.9
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	23.8	23.1	22.6	24.4
		S.D.	4.4	3.6	3.7	2.9
	250	No.	6	6	6	6
		Mean	26.3	23.4	22.4	24.1
		S.D.	4.1	2.2	2.0	2.1

Unit : g/rat/day
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-1 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	6	0	0	0	0	0	0	0	1	5	1	4	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	15	6	0	0	0	0	0	0	0	4	2	1	3	1	1	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	0	0	0	0	0	2	4	0	3	2	1	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	250	6	0	0	0	0	0	1	2	1	2	1	1	3	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	0	0	0	1	2	2	1	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	15	6	0	0	1	0	1	0	2	2	0	4	1	1	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	0	3	1	0	1	0	1	2	0	2	2	0	0	3	2	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	250	6	0	1	1	1	0	2	0	1	0	1	0	4	1	0	0	2	3	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0

1) - : 0 - 5 mg/dl +- : 10 - 20 mg/dl + : 30 - 70 mg/dl ++ : 100 - 200 mg/dl +++ : 250 - 400 mg/dl ++++ : >400 mg/dl
2) - : 0 mg/dl +- : 5 mg/dl + : 10 - 20 mg/dl ++ : 30 - 45 mg/dl +++ : 60 - 80 mg/dl ++++ : >80 mg/dl
3) - : 0 - 10 mg/dl +- : 30 - 50 mg/dl + : 70 - 100 mg/dl ++ : 150 - 200 mg/dl +++ : 300 - 500 mg/dl ++++ : ≧1000 mg/dl

Table 4-2 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin						6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	4	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	15	6	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	6	5	0	0	1	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	250	6	5	0	0	0	1	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1
Female	0	6	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	15	6	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	250	6	4	1	0	0	1	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2

4) - : 0 mg/dl +- : 0.03 mg/dl + : 0.06 - 0.1 mg/dl ++ : 0.2 - 0.5 mg/dl +++ : ≧1.0 mg/dl
5) - : 0 mg/dl +- : 0.2 mg/dl + : 0.5 - 1.0 mg/dl ++ : 2.0 - 4.0 mg/dl +++ : 6.0 - 10.0 mg/dl ++++ : >10.0 mg/dl
6) +- : 0.2 - 1.0 mg/dl + : 2.0 - 3.0 mg/dl ++ : 4.0 - 6.0 mg/dl +++ : 8.0 - 12.0 mg/dl ++++ : >12.0 mg/dl
7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 4-3 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT																															
																									CRYSTALLIZATION									
			RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO				
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++
	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
Male	15	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
	250	6	5	0	0	1	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	3	2	1	0	0	6	0	0	0	0
	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
Female	15	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	250	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell
SREC : Small Round Epithelial Cell
PS : Phosphate Salts
CO : Calcium Oxalate

\- : Negative
+- : Slight
\+ : Mild
++ : Moderate
+++ : Severe

Table 4-4 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake ml/ral/24hrs	Urine volume ml/24hrs	S.G.
	0	6	Mean	40	9.9	1.072
			S.D.	8	3.6	0.012
Male	15	6	Mean	41	9.3	1.073
			S.D.	6	5.3	0.018
	60	6	Mean	45	12.9	1.063
			S.D.	4	5.4	0.015
	250	6	Mean	51	13.5	1.058
			S.D.	12	5.0	0.011
	0	6	Mean	35	8.4	1.070
			S.D.	7	3.0	0.018
Female	15	6	Mean	41	10.2	1.060
			S.D.	8	7.1	0.016
	60	6	Mean	39	4.8	1.079
			S.D.	25	2.4	0.018
	250	6	Mean	41	5.6	1.066
			S.D.	12	3.7	0.026

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-5 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Male	60	6	0	0	0	0	0	0	0	0	6	1	0	5	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	250	6	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0	2	1	3	0	0	4	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	0	6	0	0	0	0	0	1	0	3	2	3	1	1	1	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Female	60	6	0	0	0	0	0	0	1	2	3	0	4	0	2	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	250	6	0	0	0	1	1	1	1	2	0	1	3	2	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0

1) - : 0 - 5 mg/dl +- : 10 - 20 mg/dl + : 30 - 70 mg/dl ++ : 100 - 200 mg/dl +++ : 250 - 400 mg/dl ++++ : >400 mg/dl
2) - : 0 mg/dl +- : 5 mg/dl + : 10 - 20 mg/dl ++ : 30 - 45 mg/dl +++ : 60 - 80 mg/dl ++++ : >80 mg/dl
3) - : 0 - 10 mg/dl +- : 30 - 50 mg/dl + : 70 - 100 mg/dl ++ : 150 - 200 mg/dl +++ : 300 - 500 mg/dl ++++ : ≧1000 mg/dl

Table 4-6 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin						6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
	0	6	3	1	1	1	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
Male	60	6	4	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	250	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0
Female	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	250	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0

4) - : 0 mg/dl +- : 0.03 mg/dl + : 0.06 - 0.1 mg/dl ++ : 0.2 - 0.5 mg/dl +++ : ≧1.0 mg/dl
5) - : 0 mg/dl +- : 0.2 mg/dl + : 0.5 - 1.0 mg/dl ++ : 2.0 - 4.0 mg/dl +++ : 6.0 - 10.0 mg/dl ++++ : >10.0 mg/dl
6) +- : 0.2 - 1.0 mg/dl + : 2.0 - 3.0 mg/dl ++ : 4.0 - 6.0 mg/dl +++ : 8.0 - 12.0 mg/dl ++++ : >12.0 mg/dl
7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 4-7 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT																																
																										CRYSTALLIZATION									
			RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO				
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	250	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	1	5	0	0	0	6	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0
	250	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	1	4	1	0	0	6	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell
SREC : Small Round Epithelial Cell
PS : Phosphate Salts
CO : Calcium Oxalate

\- : Negative
+- : Slight
\+ : Mild
++ : Moderate
+++ : Severe

Table 4-8 Urinalysis of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake ml/rat/24hrs	Urine volume ml/24hrs	S.G.
	0	6	Mean	44	10.4	1.079
			S.D.	5	3.3	0.019
Male	60	6	Mean	41	9.2	1.074
			S.D.	8	6.5	0.017
	250	6	Mean	42	8.9	1.078
			S.D.	4	6.0	0.019
	0	6	Mean	30	6.1	1.068
			S.D.	7	3.2	0.013
Female	60	6	Mean	31	7.2	1.066
			S.D.	8	3.6	0.018
	250	6	Mean	42	6.6	1.072
			S.D.	12	4.1	0.023

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 5-1 Hematological findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC $\times 10^4/mm^3$	Hb g/dl	Ht %	MCV μ^3	MCH pg	MCHC %	Reticu-locyte ‰	Plate-let $\times 10^4/mm^3$	PT sec.	APTT sec.
	0	6	Mean	800	16.0	48	59.8	20.0	33.5	20	118.0	12.8	19.4
			S.D.	38	0.4	2	1.9	0.7	0.4	3	7.3	1.1	1.8
Male	15	6	Mean	791	15.9	48	60.4	20.1	33.2	22	122.2	11.8	18.0
			S.D.	28	0.4	1	0.6	0.5	0.6	3	8.1	0.8	1.2
	60	6	Mean	790	15.6	47	59.8	19.8	33.2	21	116.5	11.4*	17.3
			S.D.	38	0.4	2	2.1	0.7	0.4	3	11.9	0.5	1.4
	250	6	Mean	793	15.9	48	60.0	20.0	33.3	22	135.0*	13.6	21.3
			S.D.	27	0.7	2	0.9	0.3	0.4	6	9.2	1.3	1.8
	0	6	Mean	753	15.5	45	59.2	20.6	34.8	22	114.6	10.6	14.0
			S.D.	35	0.5	2	1.4	0.6	0.9	4	8.7	0.5	0.9
Female	15	6	Mean	760	16.1	45	59.8	21.2	35.4	17	120.6	10.9	13.7
			S.D.	36	0.6	2	1.2	0.5	0.4	5	11.6	0.3	0.5
	60	6	Mean	724	15.3	43	59.5	21.2	35.6	19	116.2	10.5	14.1
			S.D.	26	0.4	1	1.2	0.5	0.4	3	6.3	0.7	1.4
	250	6	Mean	758	15.8	44	58.5	20.8	35.5	19	136.6**	10.0	14.3
			S.D.	49	0.8	2	1.0	0.4	0.2	4	9.2	0.3	1.6

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

Table 5-2 Hematological findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC $\times 10^2/mm^3$	Differential leukocyte counts (%) Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
Male	0	6	Mean	95	84.5	0.1	14.8	0.4	0.0	0.2	0.0
			S.D.	34	5.5	0.2	5.6	0.6	0.0	0.3	0.0
	15	6	Mean	105	88.3	0.1	10.7	0.9	0.0	0.1	0.0
			S.D.	39	4.1	0.2	4.7	0.8	0.0	0.2	0.0
	60	6	Mean	96	81.1	0.2	17.8	0.8	0.0	0.1	0.0
			S.D.	28	2.2	0.3	1.9	1.0	0.0	0.2	0.0
	250	6	Mean	97	87.8	0.3	11.5	0.3	0.0	0.3	0.0
			S.D.	37	3.6	0.3	3.4	0.4	0.0	0.3	0.0
Female	0	6	Mean	66	86.0	0.0	13.2	0.7	0.0	0.2	0.0
			S.D.	10	3.1	0.0	3.2	0.3	0.0	0.3	0.0
	15	6	Mean	76	84.3	0.2	14.1	1.2	0.0	0.3	0.0
			S.D.	18	3.2	0.3	2.4	0.9	0.0	0.3	0.0
	60	6	Mean	86	83.2	0.2	15.4	1.2	0.0	0.1	0.0
			S.D.	23	6.8	0.3	6.3	0.7	0.0	0.2	0.0
	250	6	Mean	93	73.0**	0.3	24.4**	1.9	0.0	0.3	0.0
			S.D.	37	9.0	0.4	7.7	1.3	0.0	0.4	0.0

Significantly different from control (**:$p<0.01$)

Table 5-3 Hematological findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC $\times 10^4/mm^3$	Hb g/dl	Ht %	MCV μ^3	MCH pg	MCHC %	Reticu-locyte ‰	Plate-let $\times 10^4/mm^3$	PT sec.	APTT sec.
	0	6	Mean	806	15.8	47	58.1	19.6	33.8	21	107.4	12.3	19.8
			S.D.	21	0.4	1	1.0	0.2	0.4	5	3.6	1.5	2.4
Male	60	6	Mean	812	15.9	47	58.1	19.6	33.8	20	109.3	12.5	19.0
			S.D.	28	0.3	1	2.4	0.8	0.4	4	7.4	1.1	1.4
	250	6	Mean	801	15.4	46	57.6	19.3	33.4	23	118.8*	12.1	18.9
			S.D.	15	0.4	1	2.5	0.8	0.3	4	9.2	0.8	1.8
	0	6	Mean	812	15.6	46	56.8	19.2	33.9	20	113.3	10.7	16.6
			S.D.	46	0.3	1	2.3	0.9	0.4	2	10.8	0.5	1.4
Female	60	6	Mean	810	15.8	47	57.3	19.4	33.9	23	112.4	10.5	16.3
			S.D.	27	0.5	2	0.5	0.2	0.4	5	8.3	0.6	1.9
	250	6	Mean	808	15.5	46	57.1	19.2	33.6	22	128.1*	10.8	16.4
			S.D.	19	0.2	1	0.8	0.4	0.3	5	7.2	0.3	1.2

Significantly different from control (*:$p<0.05$)

Table 5-4 Hematological findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC $\times 10^2/mm^3$	Differential leukocyte counts (%) Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
	0	6	Mean	92	79.9	0.2	18.7	0.9	0.0	0.3	0.0
			S.D.	18	9.2	0.3	8.6	0.4	0.0	0.4	0.0
Male	60	6	Mean	99	84.0	0.1	14.9	0.6	0.0	0.4	0.0
			S.D.	24	4.8	0.2	4.3	0.5	0.0	0.4	0.0
	250	6	Mean	97	80.3	0.0	18.7	0.7	0.0	0.3	0.0
			S.D.	8	8.9	0.0	9.0	0.6	0.0	0.4	0.0
	0	6	Mean	84	79.2	0.2	19.6	0.8	0.0	0.3	0.0
			S.D.	32	9.0	0.3	8.8	0.6	0.0	0.3	0.0
Female	60	6	Mean	100	88.6	0.3	9.9	1.0	0.0	0.2	0.0
			S.D.	23	2.2	0.4	1.7	0.8	0.0	0.3	0.0
	250	6	Mean	80	85.4	0.3	13.3	0.8	0.0	0.3	0.0
			S.D.	26	8.0	0.3	7.9	0.5	0.0	0.3	0.0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-1 Blood chemical findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		GOT IU/l	GPT IU/l	LDH IU/l	AlP IU/l	γ-GTP IU/l	ChE IU/l	TP g/dl	Albumin g/dl	A/G	T.cho mg/dl
Male	0	6	Mean	54	36	26	289	1.5	672	6.0	3.5	1.39	59
			S.D.	9	6	5	61	0.7	39	0.2	0.1	0.12	13
	15	6	Mean	57	34	25	297	1.4	707	6.0	3.4	1.32	62
			S.D.	10	4	3	38	0.5	92	0.2	0.1	0.09	12
	60	6	Mean	53	35	24	312	1.5	690	5.8	3.4	1.41	62
			S.D.	5	5	6	65	0.3	74	0.2	0.1	0.09	15
	250	6	Mean	60	36	27	326	1.5	787	5.7	3.3	1.41	81*
			S.D.	5	9	8	69	0.4	95	0.3	0.1	0.13	9
Female	0	6	Mean	63	36	24	192	1.7	2610	6.4	3.7	1.36	70
			S.D.	10	7	17	34	0.7	663	0.5	0.2	0.10	14
	15	6	Mean	59	33	20	185	1.9	2268	6.2	3.7	1.48	68
			S.D.	8	3	6	26	0.7	695	0.3	0.2	0.10	8
	60	6	Mean	64	35	22	198	1.5	1857	6.1	3.5	1.35	84
			S.D.	4	3	7	71	0.4	508	0.3	0.2	0.10	16
	250	6	Mean	57	37	26	186	1.4	1832	6.5	3.7	1.30	101**
			S.D.	8	9	6	25	0.8	592	0.4	0.3	0.08	15

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

Table 6-2 Blood chemical findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		TG mg/dl	PL mg/dl	T.bili-rubin mg/dl	Glucose mg/dl	BUN mg/dl	Crea-tinine mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
	0	6	Mean	74	113	0.11	119	12	0.57	142	4.8	110	9.3	9.2
			S.D.	23	22	0.01	22	1	0.03	1	0.4	1	0.2	0.5
Male	15	6	Mean	94	114	0.11	118	12	0.58	142	4.6	110	9.2	9.2
			S.D.	20	15	0.01	8	1	0.03	1	0.3	1	0.2	0.5
	60	6	Mean	97	122	0.12	124	13	0.58	142	4.4	110	9.2	9.2
			S.D.	22	22	0.02	10	2	0.02	1	0.3	1	0.3	0.5
	250	6	Mean	77	132	0.16	106	13	0.56	142	4.6	110	9.3	9.8
			S.D.	33	11	0.07	11	1	0.03	1	0.2	1	0.3	0.2
	0	6	Mean	32	133	0.11	107	14	0.60	141	4.8	112	9.0	8.2
			S.D.	4	24	0.01	12	2	0.06	1	0.4	2	0.1	0.7
Female	15	6	Mean	37	134	0.12	104	15	0.60	141	5.1	111	9.1	8.6
			S.D.	9	15	0.01	9	1	0.06	1	0.2	1	0.2	0.6
	60	6	Mean	36	161	0.11	107	13	0.58	140	5.0	112	8.9	9.2*
			S.D.	5	30	0.01	9	1	0.04	1	0.2	2	0.2	0.5
	250	6	Mean	54	192**	0.48	83**	17*	0.63	140	5.2	114	9.2	9.2*
			S.D.	28	39	0.38	16	3	0.05	2	0.6	2	0.4	0.8

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

Table 6-3 Blood chemical findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		GOT IU/l	GPT IU/l	LDH IU/l	AlP IU/l	γ-GTP IU/l	ChE IU/l	TP g/dl	Albumin g/dl	A/G	T.cho mg/dl
	0	6	Mean	56	41	33	232	1.7	693	6.3	3.4	1.19	66
			S.D.	11	4	9	67	0.2	89	0.1	0.1	0.08	15
Male	60	6	Mean	57	36	25	247	1.7	802	6.2	3.4	1.24	65
			S.D.	16	8	6	56	0.3	229	0.2	0.2	0.13	14
	250	6	Mean	61	33	28	244	1.8	650	6.2	3.4	1.22	67
			S.D.	17	5	12	25	0.2	52	0.2	0.1	0.10	14
	0	6	Mean	64	34	23	142	1.8	2410	6.7	3.6	1.18	62
			S.D.	5	5	6	36	0.4	703	0.2	0.2	0.09	12
Female	60	6	Mean	69	35	24	147	1.8	2665	7.1	3.7	1.12	88*
			S.D.	7	8	5	32	0.6	927	0.4	0.1	0.10	18
	250	6	Mean	66	31	27	131	1.3	2275	6.9	3.7	1.12	63
			S.D.	11	4	10	30	0.6	473	0.3	0.2	0.08	15

Significantly different from control (*:$p<0.05$)

Table 6-4 Blood chemical findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose mg/kg	No.		TG mg/dl	PL mg/dl	T.bili-rubin mg/dl	Glucose mg/dl	BUN mg/dl	Crea-tinine mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
	0	6	Mean	113	125	0.13	139	14	0.56	145	4.8	111	9.0	7.8
			S.D.	36	21	0.02	15	2	0.05	1	0.3	1	0.2	0.5
Male	60	6	Mean	110	125	0.13	127	13	0.60	145	4.7	112	8.9	7.8
			S.D.	54	26	0.02	11	1	0.05	1	0.3	1	0.1	0.4
	250	6	Mean	88	123	0.12	122*	16	0.62	145	4.7	111	9.0	8.4
			S.D.	38	18	0.01	4	2	0.06	1	0.3	2	0.2	0.4
	0	6	Mean	39	138	0.13	108	15	0.59	142	5.1	114	9.2	8.2
			S.D.	10	23	0.02	14	2	0.04	1	0.3	1	0.3	0.3
Female	60	6	Mean	42	178*	0.13	120	14	0.61	142	5.1	114	9.2	7.9
			S.D.	7	20	0.02	18	2	0.08	0	0.3	1	0.2	0.7
	250	6	Mean	36	136	0.14	105	15	0.60	142	5.2	114	9.1	8.3
			S.D.	14	30	0.02	8	2	0.05	1	0.3	1	0.2	1.0

Significantly different from control (*:$p<0.05$)

Table 7-1 Gross pathological findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Sex	Organs Findings	Dose (mg/kg) No. of animals	0 6	15 6	60 6	250 6
Male	Small intestine					
	Thickening of wall		0	0	0	4
	Large intestine					
	Dilatation of cecum		0	0	0	5
Female	Thyroid					
	Enlargement (bilateral)		0	1	0	0
	Small intestine					
	Thickening of wall		0	0	0	4
	Large intestine					
	Dilatation of cecum		0	0	0	4

Table 7-2 Gross pathological findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Organs Findings	Dose (mg/kg) No. of animals	0 6	60 6	250 6
Male	Testis				
	Enlargement (unilateral)		0	1	0
	Epididymis				
	Yellow nodule (unilateral)		0	0	1

No lesions were found in females.

Table 8-1 Absolute and rerative organ weights of male rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g/g%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%	Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	375	2.01	535	1.27	1.29	11.65	0.69	1.45	1.43	2.87
		S.D.	19	0.07	74	0.10	0.03	1.08	0.07	0.10	0.12	0.22
	15	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	401	2.04	647	1.32	1.33	12.63	0.72	1.49	1.47	2.96
		S.D.	26	0.05	105	0.11	0.12	1.30	0.12	0.14	0.11	0.25
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	415	2.03	553	1.32	1.39	13.07	0.70	1.48	1.54	3.02
		S.D.	42	0.05	77	0.09	0.11	1.94	0.11	0.13	0.14	0.27
	250	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	378	2.00	464	1.31	1.35	13.78	0.73	1.49	1.49	2.98
		S.D.	18	0.03	76	0.20	0.07	1.64	0.04	0.12	0.15	0.27
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.54	143	0.34	0.35	3.10	0.18	0.39	0.38	0.77
		S.D.		0.03	19	0.02	0.02	0.14	0.02	0.01	0.02	0.03
	15	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.51	162	0.33	0.33	3.15	0.18	0.37	0.37	0.74
		S.D.		0.03	26	0.02	0.01	0.13	0.02	0.03	0.03	0.05
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.49	134	0.32	0.33	3.14	0.17	0.36	0.37	0.73
		S.D.		0.05	19	0.03	0.02	0.22	0.03	0.02	0.02	0.03
	250	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.53	123	0.35	0.36	3.64**	0.19	0.40	0.39	0.79
		S.D.		0.02	20	0.05	0.01	0.33	0.02	0.03	0.04	0.07

Significantly different from control (**:$p<0.01$)

Table 8-2 Absolute and rerative organ weights of male rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

	Dose mg/kg		Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Testis (R) g/g%	Testis (L) g/g%	Testis (R+L) g/g%
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	29	32	60	1.58	1.57	3.15
		S.D.	3	5	8	0.08	0.11	0.19
Absolute	15	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	32	34	67	1.68	1.67	3.35
		S.D.	5	5	11	0.10	0.09	0.18
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	30	33	63	1.64	1.63	3.27
		S.D.	4	2	6	0.17	0.13	0.29
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	30	31	61	1.64	1.65	3.29
		S.D.	4	5	9	0.14	0.14	0.28
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	8	9	16	0.42	0.42	0.84
		S.D.	1	1	2	0.02	0.02	0.05
Relative	15	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	8	9	17	0.42	0.42	0.84
		S.D.	2	2	3	0.03	0.03	0.06
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	7	8	15	0.40	0.40	0.80
		S.D.	1	1	2	0.07	0.06	0.13
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	8	8	16	0.44	0.44	0.87
		S.D.	1	1	2	0.04	0.04	0.09

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-3 Absolute and rerative organ weights of female rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g/g%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%	Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%
	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	228	1.84	420	0.85	1.09	6.75	0.51	0.86	0.86	1.72
		S.D.	12	0.06	108	0.08	0.05	0.76	0.06	0.10	0.11	0.21
Absolute	15	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	243	1.86	447	0.84	1.07	6.86	0.49	0.94	0.92	1.86
		S.D.	15	0.05	68	0.05	0.10	0.34	0.03	0.07	0.05	0.11
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	227	1.84	434	0.83	1.06	6.87	0.47	0.92	0.92	1.84
		S.D.	8	0.07	87	0.04	0.08	0.58	0.04	0.08	0.06	0.13
	250	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	220	1.86	460	0.78	1.04	7.65	0.50	0.87	0.87	1.74
		S.D.	12	0.06	97	0.04	0.07	0.86	0.05	0.06	0.08	0.14
	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.81	184	0.37	0.48	2.96	0.23	0.38	0.38	0.76
		S.D.		0.04	42	0.03	0.02	0.26	0.04	0.04	0.04	0.07
Relative	15	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.77	185	0.35	0.44	2.83	0.20	0.39	0.38	0.77
		S.D.		0.04	33	0.02	0.03	0.12	0.02	0.03	0.02	0.05
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.81	192	0.37	0.47	3.02	0.21	0.41	0.41	0.81
		S.D.		0.04	41	0.02	0.04	0.19	0.01	0.03	0.02	0.04
	250	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.85	210	0.36	0.47	3.46**	0.23	0.40	0.39	0.79
		S.D.		0.04	49	0.01	0.04	0.20	0.03	0.02	0.02	0.05

Significantly different from control (**:$p<0.01$)

Table 8-4 Absolute and rerative organ weights of female rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

	Dose mg/kg		Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Ovary (R) mg/mg%	Ovary (L) mg/mg%	Ovary (R+L) mg/mg%
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	35	37	72	40.2	41.1	81.3
		S.D.	4	4	8	3.9	7.1	9.8
Absolute	15	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	36	39	75	49.0	47.6	96.6
		S.D.	5	4	8	8.7	7.4	14.9
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	35	41	76	48.7	49.3	98.0
		S.D.	4	6	10	6.3	10.0	15.5
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	35	38	74	52.2*	45.2	97.4
		S.D.	3	2	5	7.5	4.5	10.2
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	15	16	32	17.7	18.0	35.7
		S.D.	2	2	3	2.2	2.8	4.3
Relative	15	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	15	16	31	20.2	19.7	40.0
		S.D.	2	2	4	3.4	3.5	6.2
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	16	18	33	21.5	21.8	43.3
		S.D.	2	3	5	3.2	4.7	7.6
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	16	18	34	23.8**	20.5	44.3
		S.D.	1	1	3	3.8	1.4	4.7

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

Table 8-5 Absolute and rerative organ weights of male rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g/g%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%	Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%
	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	475	2.10	468	1.43	1.47	14.63	0.80	1.58	1.66	3.24
		S.D.	35	0.04	78	0.09	0.09	1.59	0.13	0.11	0.10	0.20
Absolute	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	447	2.11	475	1.41	1.46	13.43	0.73	1.52	1.57	3.09
		S.D.	40	0.12	136	0.11	0.11	1.26	0.15	0.13	0.13	0.26
	250	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	455	2.12	489	1.44	1.50	14.67	0.74	1.62	1.63	3.25
		S.D.	17	0.05	52	0.07	0.09	0.85	0.12	0.10	0.11	0.18
	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.44	99	0.30	0.31	3.07	0.17	0.34	0.35	0.69
		S.D.		0.03	19	0.01	0.01	0.16	0.02	0.02	0.02	0.04
Relative	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.47	107	0.32*	0.33	3.02	0.16	0.34	0.35	0.69
		S.D.		0.05	29	0.01	0.02	0.31	0.02	0.03	0.03	0.06
	250	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.47	108	0.32*	0.33	3.23	0.16	0.35	0.36	0.72
		S.D.		0.02	11	0.01	0.01	0.15	0.02	0.02	0.02	0.04

Significantly different from control (*:p<0.05)

Table 8-6 Absolute and rerative organ weights of male rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Testis (R) g/g%	Testis (L) g/g%	Testis (R+L) g/g%
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	32	33	64	1.68	1.68	3.36
		S.D.	3	4	7	0.12	0.13	0.24
Absolute	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	32	34	66	1.86	1.61	3.47
		S.D.	3	4	5	0.57	0.12	0.61
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	32	33	65	1.63	1.59	3.22
		S.D.	5	5	10	0.06	0.06	0.11
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	7	7	14	0.36	0.36	0.71
		S.D.	1	1	2	0.04	0.04	0.08
Relative	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	7	8	15	0.42	0.36	0.78
		S.D.	1	1	2	0.13	0.03	0.14
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	7	8	14	0.36	0.35	0.71
		S.D.	1	1	3	0.02	0.02	0.05

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-7 Absolute and rerative organ weights of female rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g/g%	Thymus mg/mg%	Heart g/g%	Lung g/g%	Liver g/g%	Spleen g/g%	Kidney (R) g/g%	Kidney (L) g/g%	Kidney (R+L) g/g%
	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	249	1.86	341	0.86	1.08	6.84	0.51	0.90	0.91	1.81
		S.D.	29	0.04	50	0.09	0.08	0.93	0.07	0.07	0.07	0.14
Absolute	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	264	1.99*	384	0.94	1.11	7.49	0.52	0.96	0.92	1.87
		S.D.	29	0.15	57	0.11	0.09	1.08	0.08	0.13	0.09	0.22
	250	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	238	1.88	339	0.84	1.05	7.00	0.50	0.88	0.87	1.74
		S.D.	17	0.08	85	0.04	0.10	0.65	0.04	0.08	0.09	0.16
	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.75	138	0.35	0.43	2.75	0.21	0.37	0.37	0.73
		S.D.		0.08	18	0.03	0.03	0.13	0.03	0.03	0.02	0.05
Relative	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.76	147	0.36	0.42	2.83	0.20	0.36	0.35	0.71
		S.D.		0.09	22	0.02	0.02	0.13	0.03	0.01	0.01	0.01
	250	No.		6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	142	0.36	0.44	2.94	0.21	0.37	0.37	0.74
		S.D.		0.07	34	0.01	0.02	0.12	0.01	0.03	0.03	0.06

Significantly different from control (*:$p<0.05$)

Table 8-8 Absolute and rerative organ weights of female rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Adrenal (R) mg/mg%	Adrenal (L) mg/mg%	Adrenal (R+L) mg/mg%	Ovary (R) mg/mg%	Ovary (L) mg/mg%	Ovary (R+L) mg/mg%
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	35	36	70	45.3	43.0	88.3
		S.D.	3	3	6	8.9	7.0	13.0
Absolute	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	38	39	76	46.5	45.9	92.4
		S.D.	3	3	5	4.3	7.1	9.9
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	38	40	78	45.9	50.1	96.0
		S.D.	5	5	10	8.6	5.2	12.5
	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	14	15	28	18.6	17.4	36.0
		S.D.	2	2	3	4.8	2.9	6.8
Relative	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	15	15	29	17.7	17.4	35.1
		S.D.	2	1	3	1.0	1.7	1.4
	250	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	16	17	33	19.3	21.1*	40.4
		S.D.	3	3	5	3.2	2.3	4.6

Significantly different from control (*:$p<0.05$)

Table 9-1 Histopathological findings of male rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)	0							15							60							250						
	No. of animals				6							6							6							6			
-findings	Grade	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE
Ileum																													
-hyperplasia / villus		6						6	6						6	6						6	5	1					6
Cecum																													
-vacuolization / cytoplasmic / absorptive epithelial cell		6						6	6						6	3	3					6	1	4	1				6
-cellular infiltration / mucosa		6						6	6						6	1	4	1				6	3	2	1				6
Colon																													
-vacuolization / cytoplasmic / absorptive epithelial cell		6						6	6						6	5	1					6	5	1					6
Rectum																													
-cellular infiltration / mucosa		6						6	6						6	6						6	5	1					6
Liver																													
-hypertrophy / hepatocyte / centrilobular		6						6	6						6	6						6	1	5					6
-altered hepatocellular foci		5					1	6	6						6	6						6	6						6
Mesenteric lymph node																													
-tingible body macrophage / paracortical / increased		5	1					6	5	1					6	5	1					6	4	1	1				6
Kidney																													
-basophilic change / proximal tubule / focal		6						6															5	1					6
Prostate																													
-inflammation		5	1					6															6						6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe P : Present a) TE : Total Examined
a): "Present" is used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion.

Table 9-2 Histopathological findings of female rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)	0							15							60							250						
	No. of animals				6							6							6							6			
-findings	Grade	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE
Ileum																													
-hyperplasia / villus		6						6	6						6	6						6	3	3					6
Cecum																													
-vacuolization / cytoplasmic / absorptive epithelial cell		6						6	6						6	5	1					6	1	3	2				6
-cellular infiltration / mucosa		6						6	6						6	5	1					6	3	2	1				6
Colon																													
-vacuolization / cytoplasmic / absorptive epithelial cell		6						6	6						6	5	1					6	4	2					6
-cellular infiltration / mucosa		6						6	6						6	5	1					6	4	2					6
Rectum																													
-cellular infiltration / mucosa		6						6	6						6	6						6	5	1					6
Liver																													
-hypertrophy / hepatocyte / centrilobular		6						6	6						6	5						6	1	5					6
-microgranuloma		6						6	6						6	5	1					6	6						6
Thyroid (Parathyroid)																													
-hyperplasia / follicle cell / diffuse		6						6			1				1								6						6
Mesenteric lymph node																													
-tingible body macrophage / paracortical / increased		6						6	5	1					6	4	2					6	1	4	1				6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe P : Present a) TE : Total Examined
a): "Present" is used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion.

Table 9-3 Histopathological findings of male rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Organs	Dose (mg/kg)	0							60							250						
	No. of animals				6							6							6			
-findings	Grade	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE
Ileum																						
-hyperplasia / villus		6						6	6						6	4	1	1				6
Cecum																						
-cellular infiltration / mucosa		4	1	1				6	4	2					6	3	2	1				6
Rectum																						
-cellular infiltration / mucosa		6						6	6						6	5	1					6
Liver																						
-microgranuloma		5	1					6								5	1					6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe P : Present a) TE : Total Examined
a): "Present" is used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion.

Table 9-4 Histopathological findings of female rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Organs	Dose (mg/kg)	0							60							250						
	No. of animals				6							6							6			
-findings	Grade	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE	0	1	2	3	4	P	TE
Ileum																						
-hyperplasia / villus		6						6	6						6	4	2					6
Cecum																						
-cellular infiltration / mucosa		4	2					6	5	1					6	2	2	2				6
Rectum																						
-cellular infiltration / mucosa		6						6	5	1					6	6						6
Liver																						
-microgranuloma		5	1					6								6						6

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe P : Present a) TE : Total Examined
a): "Present" is used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion.

Table 9-5 Histopathological findings of rats administered orally with 4,4'-Thiobis (6-tert-butyl-m-cresol) for 28 days and followed by a recovery period for 14 days (Gross lesions)

Sex	Dose mg/kg	Animal number	Organs	Gross pathological findings	Histopathological findings (grade)*
Male	60	3010	Testis	-Enlargement (unilateral)	-Atrophy / tubular (+)
	250	4011	Epididymis	-Yellow nodule (unilateral)	-Granuloma / spermatic (+)

* ; + : Mild