

2, 4-ジ-tert-ブチルフェノールのラットにおける
単回投与毒性試験

—最終報告書—

2000年 7月 7日

試験委託者 : 厚生省生活衛生局長
東京都千代田区霞ヶ関1-2-2 (〒100-0013)

試験施設 : 株式会社パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究所
熊本県宇土市栗崎町1285番地 (〒869-0425)

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	2
試験材料及び方法	2
試験成績	5
考 察	7
Figure	
1 Body weight changes in rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	9
Tables	
1 Mortality and LD ₅₀ values in rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	10
2 Clinical signs in male rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	11
3 Clinical signs in female rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	12
4 Body weights in rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	13
5 Necropsy findings in male rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	14

6	Necropsy findings in female rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	16
7	Histopathological findings in male rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	18
8	Histopathological findings in female rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol	19

要 約

1群5匹のCrj:CD(SD) IGSラットに、2, 4-ジ-tert-ブチルフェノールを0(対照), 819, 1024, 1280, 1600及び2000mg/kgの用量で単回経口投与し、その急性期の毒性徴候及びLD₅₀値について検討し、以下の結果を得た。

1. 死亡は、1600 mg/kg以上の群の雄及び1280 mg/kg以上の群の雌で投与後1日から5日に認められた。LD₅₀値は、雄でおおよそ2000 mg/kg, 雌で1762.4 mg/kg(95%信頼限界：1344.7~2309.8 mg/kg)であった。
2. 一般状態の観察では、投与日に軟便又は肛門周囲の汚れがすべての被験物質投与群の雄及び1024 mg/kg以上の群の雌、尿による下腹部の汚れが819及び1024 mg/kg群の雌、自発運動の低下及び緩徐呼吸が2000 mg/kg群の雌に認められた。投与後1日以降には、尿による下腹部の汚れが2000 mg/kg群の雄及び1600 mg/kg以上の群の雌、自発運動の低下及び緩徐呼吸が1600 mg/kg以上の群の雄及び1280 mg/kg以上の群の雌、鼻周囲の汚れが1280 mg/kg以上の群の雄及び1600 mg/kg群の雌に認められた。死亡例では、上述の所見のほか1600 mg/kg群の雌雄で体温低下が認められた。生存例では、遅くとも軟便は投与後2日、鼻周囲の汚れは投与後3日、尿による下腹部の汚れは投与後4日、緩徐呼吸及び自発運動の低下並びに肛門周囲の汚れは投与後6日までに回復した。
3. 体重では、すべての被験物質投与群の雌雄で増加抑制又は減少が認められたが、雄では投与後5ないし7日、雌では投与後3ないし5日から順調な増加が認められた。
4. 病理学的検査において、死亡例では、胃で肉眼的に前胃粘膜の白色化、組織学的に前胃粘膜における潰瘍、肺で肉眼的に暗赤色斑、組織学的に肺胞内水腫、胸腺で肉眼的に暗赤色点又は小型化、組織学的に出血又は萎縮、盲腸で肉眼的に暗赤色化、組織学的に粘膜固有層から粘膜下にかけての出血、副腎で肉眼的に暗赤色斑、組織学的に皮質の出血が認められた。一方、生存例では、腎臓で肉眼的に灰白色点又は肥大、組織学的に好塩基性尿細管及び尿細管拡張、顆粒円柱、好中球性の細胞浸潤及び尿細管腔への細胞滲出又は鉍質沈着が認められた。

緒 言

OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として、2, 4-ジ-tert-ブチルフェノールを雌雄ラットに単回経口投与し、その急性期の毒性徴候及びLD₅₀値について検討したので報告する。

試験材料及び方法

1. 被験物質及び媒体

より提供された2, 4-ジ-tert-ブチルフェノール(純度99.67%, Lot No.)を被験物質として使用した(添付資料1)。本被験物質は、常温では固体であり、本試験の投与終了後にパナファーム・ラボラトリーズで保存中の被験物質の一部について上記の提供先にて分析を行い、試験実施期間中安定であったことを確認した(添付資料2)。媒体はコーンオイル(ナカライテスク株式会社, Lot No. V8M6177)を使用した。なお、被験物質は被験物質室の保管庫に室温、遮光下で保存し、媒体は被験物質室の保管庫内に室温で保存した。

2. 使用動物及び飼育条件

5週齢のCrj:CD(SD)IGSラット(日本チャールス・リバー株式会社)を雌雄各36匹購入し、6日間の検疫馴化を行った。この間に、全例について一般状態の観察及び体重測定を実施するとともに、抜粋した雌雄各3匹について剖検し、異常がないことを確認したのち、雌雄各30匹を選んで6週齢で試験に使用した。投与日の体重は、雄が161.4~177.3 g、雌が123.1~142.1 gであった。動物は、温度24±2℃(許容範囲21~27℃)、湿度55±10%(許容範囲35~75%)、照明12時間(午前7時~午後7時)及び換気回数13~15回/時に設定したバリアーシステムB区域内の飼育室13番で床敷(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イト製ケージ(W265×H185×D425 mm)に、1ケージ当たり2~3匹ずつ収容して飼育した。なお、温度の実測値は最高26℃、最低22℃、湿度の実測値は最高61%、最低54%であった。飼料は高圧蒸気滅菌処理した固型飼料(MF, オリエンタル酵母工業株式会社)を、飲水は次亜塩素酸ナトリウムを添加(約2 ppm)した井戸水を給水瓶によりそれぞれ自由に摂取させた。飼料については財団法人日本食品分析センターにて、また、飲水については株式会社鶴城南九科

研センターにて分析を行い、いずれも許容基準に適合していることを確認した。飼育器材は高圧蒸気滅菌したものを使用し、ケージは週2回、給水瓶は週3回の頻度で交換し、ケージ蓋及びケージ架台は群分け時に1回交換した。また、飼育室は毎日清掃し、消毒薬を浸したモップで清拭した。

3. 試験群構成、投与量設定の根拠及び群分け

試験群構成を下表に示した。

試験群	投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (%)	投与容量 (mL/kg)	性別	使用動物数	動物番号
対照群	0	0	10	♂	5	1～5
				♀	5	101～105
低用量群	819	8.19	10	♂	5	6～10
				♀	5	106～110
中間用量群 1	1024	10.24	10	♂	5	11～15
				♀	5	111～115
中間用量群 2	1280	12.80	10	♂	5	16～20
				♀	5	116～120
中間用量群 3	1600	16.00	10	♂	5	21～25
				♀	5	121～125
高用量群	2000	20.00	10	♂	5	26～30
				♀	5	126～130

投与量は、ラットを用いた予備試験 [試験番号29841 (GLP非適用)] の結果から設定した。1群雌雄各2ないし3匹の動物に250, 500, 1000, 1500及び2000 mg/kgの被験物質を経口投与した結果、1500及び2000 mg/kg群ではともに雄1/3例及び雌2/3例が死亡した。したがって、本試験では死亡の発現が予想され、かつOECDガイドラインによる限界用量である2000 mg/kgを高用量とし、以下公比約1.25で除した1600, 1280, 1024及び819 mg/kgの5用量を設定した。試験群は、これに対照を加え計6群とし、1群当たりの動物数は、各群とも雌雄各5匹とした。

群分けは、投与前日に当日の体重を基に層別連続無作為化法で行い、群分け後の動物には油性フェルトペンによる尾の番号付け及び耳パンチにより個体識別した。また、各ケージには試験番号、動物番号、投与量及び性別を表示したラベルを付けて識別した。なお、試験に使用した動物の体重幅は平均値±20%以内であった。また、群分け後の余剰動物は、試験から除外した。

4. 投与経路及び投与方法

投与経路は、OECD毒性試験ガイドラインで指定されていること、また、予想されるヒトへの曝露経路の一つであることから経口とし、約19~20時間絶食させた動物に胃管を用いて1回強制投与した。投与容量は10 mL/kgとし、各動物の投与液量は投与日の体重を基に算出した。対照群には同容量の媒体を投与した。

5. 被験物質と媒体との混合物調製法

被験物質の必要量をコーンオイルに溶解し、8.19, 10.24, 12.80, 16.00及び20.00 w/v%濃度液を調製した。調製はいずれも投与日に行った。なお、本調製法による0.1及び20 w/v%コーンオイル溶液は、室温、散光下で8日間安定である(添付資料3)。また、調製した各投与液については被験物質の濃度を測定し、設定濃度の許容範囲(±5%以内)にあることを確認した(添付資料4)。

6. 観察及び検査

1) 一般状態観察及び体重測定

観察期間は投与後14日間とし、この間に一般状態及び死亡の有無を投与日(0日)は投与後6時間まで経時的に、投与後1日から13日は毎日午前及び午後の1日2回、投与後14日は午前中に1回観察するとともに、体重を投与日の投与前、並びに投与後1, 3, 5, 7, 10及び14日に測定した。

2) 病理学的検査

観察期間中に死亡した動物は発見後速やかに、また、観察期間終了後の生存動物はエーテル麻酔下に放血致死させたのち剖検した。肉眼的に異常が認められた器官は摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定保存するとともに、代表例について病理組織学的検査を行った。

7. 統計学的処理方法

雌のLD₅₀値を投与後14日間の累積死亡動物数から、Litchfield Wilcoxon法により算出した。体重は、各群ごとに平均値と標準偏差を求めた。なお、有意差検定は行わなかった。

試 験 成 績

1. 死亡の発生状況及びLD₅₀値

死亡の発生状況及びLD₅₀値をTable 1に示した。

1280 mg/kg群の雌1例及び1600 mg/kg群の雌雄各2例、2000 mg/kg群の雄2例及び雌5例が投与翌日(1日)から5日に死亡した。LD₅₀値は、雄でおおよそ2000 mg/kg、雌で1762.4 mg/kg(95%信頼限界：1344.7~2309.8 mg/kg)であった。

2. 一般状態

一般状態の観察結果をTable 2, 3及びAppendix 1, 2に示した。

軟便又は肛門周囲の汚れが、早いもので投与後45分からすべての被験物質投与群の雄及び1024 mg/kg以上の群の雌の過半数例に認められた。投与後2時間からは尿による下腹部の汚れが819及び1024 mg/kg群の雌各1例に、投与後3時間からは自発運動の低下及び緩徐呼吸が2000 mg/kg群の雌1例に認められ、投与後6時間には尿による下腹部の汚れが1600 mg/kg群の雌1例に認められた。なお、投与後6時間には軟便及び肛門周囲の汚れが対照群の雄1例に認められた。投与後1日以降は、尿による下腹部の汚れが1600 mg/kg以上の群の雌及び2000 mg/kg群の雄に認められ、自発運動の低下及び緩徐呼吸が1280mg/kg以上の群の雌及び1600 mg/kg以上の群の雄に認められた。また、1280 mg/kg以上の群の雄及び1600 mg/kg群の雌では鼻周囲の汚れも認められた。死亡例では、上述の所見のほか1600 mg/kg群の雌雄各1例で体温低下が認められた。生存例では、遅くとも軟便は投与後2日、鼻周囲の汚れは3日、尿による下腹部の汚れは投与後4日、緩徐呼吸及び自発運動の低下並びに肛門周囲の汚れは投与後6日までに回復した。

3. 体重

体重の推移をFig. 1, Table 4及びAppendix 3, 4に示した.

すべての被験物質投与群の雌雄で投与翌日から増加抑制又は減少が認められたが, 雄で投与後5ないし7日, 雌で投与後3日ないし5日から順調な増加が認められた.

4. 剖検

剖検の結果をTable 5, 6及びAppendix 5, 6に示した.

死亡例では, 前胃粘膜の白色点が2000 mg/kg群の雄2/2例及び雌2/5例に認められた. また, 肺の暗赤色斑が1600 mg/kg群の雄1/2例及び雌2/2例, 並びに2000 mg/kg群の雄1/2例及び雌1/5例に認められ, 1600及び2000 mg/kg群の雄各1例では気管内の泡沫状液体貯留も認められた. 更に, 胸腺の暗赤色点が1600 mg/kg群の雌1/2例及び2000 mg/kg群の雌2/5例に認められ, 盲腸の暗赤色化又は副腎の暗赤色斑がそれぞれ2000 mg/kg群の雌1/5例に認められた. これらに加えて, 胸腺の小型化が, やや遅れて死亡した1600及び2000 mg/kg群の雌各1例に認められた.

生存例では, 腎臓の灰白色点が1280 mg/kg群の雄1/5例及び雌1/4例, 1600 mg/kg群の雌雄各1/3例, 並びに2000 mg/kg群の雄3/3例に認められ, このうち1280 mg/kg群の雄1例及び2000 mg/kg群の雄2例では, 腎臓の肥大も認められた. 対照群, 並びに819及び1024 mg/kg群の雌雄では, 変化は認められなかった.

5. 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果をTable 7, 8に示した.

死亡例では, 胃で前胃粘膜の白色点に対応して潰瘍(Photo. 1)が認められ, 肺で暗赤色斑に対応して肺胞内水腫, 胸腺で暗赤色点又は小型化に対応して出血又は萎縮, 盲腸で暗赤色化に対応して粘膜固有層から粘膜下にかけての出血, 副腎で暗赤色斑に対応して皮質の出血が認められた.

生存例では, 腎臓で肥大又は灰白色点に対応して好塩基性尿細管及び尿細管拡張, 顆粒円柱, 好中球性の細胞浸潤及び尿細管腔への細胞滲出又は鉍質沈着が認められた(Photo. 2, 3).

考 察

OECD既存化学物質安全性点検に係わる毒性調査の一環として、Crj:CD(SD) IGSラットを用い、2, 4-ジ-tert-ブチルフェノールの経口投与による単回投与毒性試験を実施した。なお、投与量は0(対照)、819, 1024, 1280, 1600及び2000 mg/kgとした。

死亡は、1600 mg/kg以上の群の雄及び1280 mg/kg以上の群の雌で投与後1日から5日までに認められた。LD₅₀値は、雄でおおよそ2000 mg/kg, 雌で1762.4 mg/kg(95%信頼限界：1344.7~2309.8 mg/kg)と推定された。

死亡例では、症状として軟便、自発運動の低下、緩徐呼吸及び体温低下などが認められた。一部の例では、病理学的検査において肉眼的に肺の暗赤色斑、組織学的に肺胞内水腫が認められ、肉眼的に気管内の泡沫状液体の貯留を伴っていたことから、死因は呼吸不全と推察された。また、胃では肉眼的に前胃粘膜の白色点、組織学的に前胃粘膜の潰瘍が認められており、本被験物質は粘膜刺激性を有する可能性が考えられた。そのほかには、組織学的に胸腺に出血又は萎縮、盲腸に粘膜固有層から粘膜下にかけての出血、副腎に皮質の出血が認められた。これらのうち、胸腺の出血は、死亡例においてしばしばみられる非特異的な変化であることから、死戦期に生じた変化と考えられ、盲腸及び副腎の出血も同様な変化である可能性が考えられた。また、胸腺の萎縮は投与後5日に死亡した動物にのみ認められており、当該例では死亡に至るまでの間、緩徐呼吸及び自発運動の低下などの症状がほぼ継続して認められ、体重も明らかに減少していることから、全身症状の悪化に伴ったストレスに起因した変化、あるいは衰弱による変化と考えられた。

生存例では、投与日に軟便又は肛門周囲の汚れが819 mg/kg以上の群の雄及び1024 mg/kg以上の群の雌に認められ、投与後1日以降からは緩徐呼吸が2000 mg/kg群の雄及び1600 mg/kg群の雌、自発運動の低下が2000 mg/kg群の雄及び1280 mg/kg以上の群の雌に認められた。これらのうち軟便は投与後2日、緩徐呼吸、自発運動の低下及び肛門周囲の汚れは投与後6日までにすべて回復した。なお、軟便及び肛門周囲の汚れについては、対照群の雄1例にも認められたが、被験物質投与群に認められた変化は対照群と比較して発現頻度が高く、回復も遅かったことから、被験物質投与によるものと考えられた。そのほかには、鼻周囲の汚れが1280及び1600 mg/kg群の雄に、尿による下腹部の汚れが819, 1024及び1600 mg/kg群の雌に散見されたが、これらの変化は全身症状の悪化に伴う身づくろい行動の抑制に起因した変化と考えられた。体重では、すべての被験物質投与群の雌雄で投与翌

日以降から増加抑制又は減少が認められたが、雄では投与後5ないし7日から、雌では投与後3ないし5日から順調な増加が認められた。病理学的検査では、1280mg/kg以上の群の雌雄で肉眼的に腎臓の灰白色点又は肥大が認められ、これに対応して組織学的に好塩基性尿細管、顆粒円柱、好中球性の細胞浸潤、鉍質沈着などが認められており、本被験物質投与により腎臓に影響を及ぼすことが示唆された。

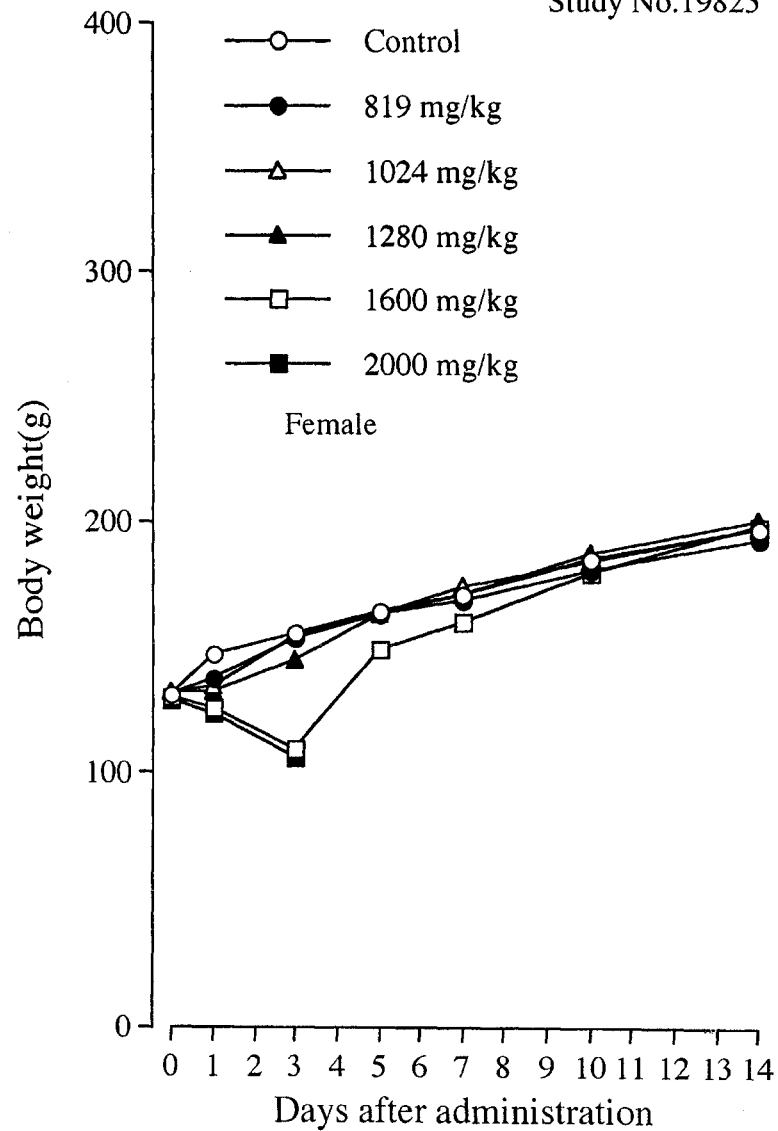
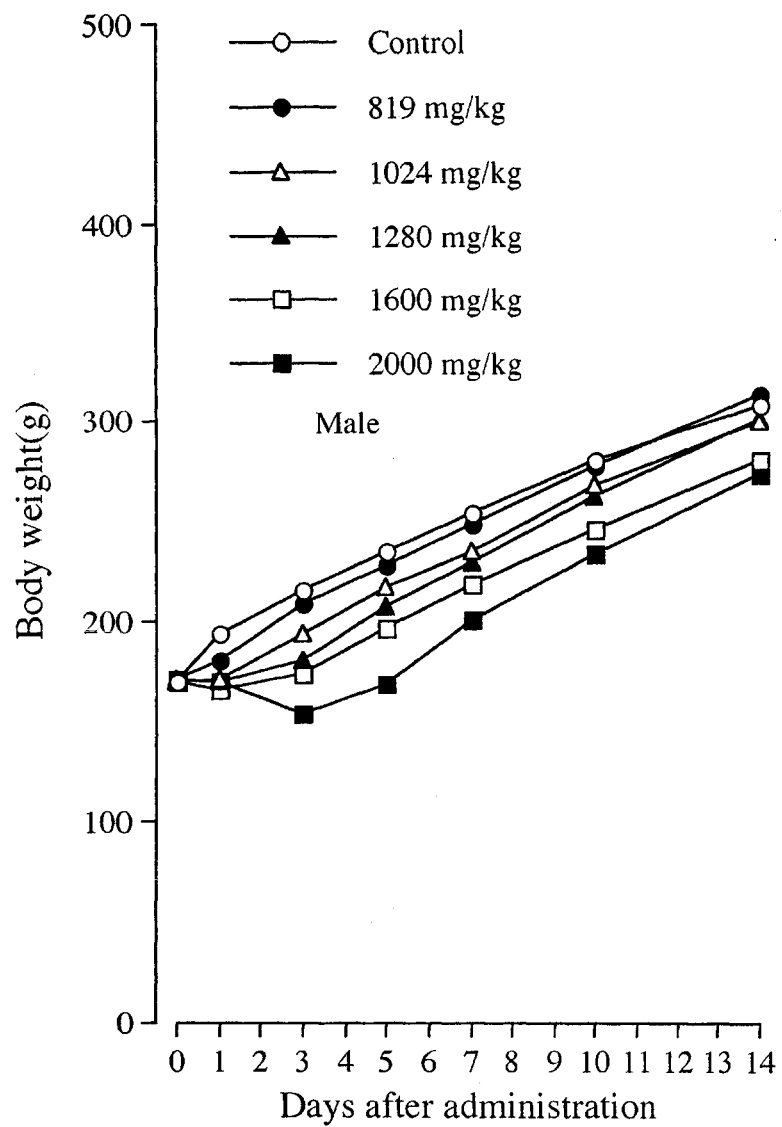


Fig. 1 Body weight changes in rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol.

Table 1 Mortality and LD₅₀ values in rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Sex	Group and dose	Number of animals	Minute				Hour				Day								Total number of dead animals	LD ₅₀ value ¹⁾ (mg/kg)		
			0	15	30	45	1	2	3	6	1	2	3	4	5	6	7	8~14				
Male	Control	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ca. 2000 ²⁾	
	819 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	1024 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	1280 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	1600 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		2
	2000 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0		2
Female	Control	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1762.4 (1344.7~2309.8)	
	819 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	1024 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	1280 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		1
	1600 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0		2
	2000 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	1	0	0	0	0	0		5

1) LD₅₀ value was estimated by Litchfield Wilcoxon method and values in parentheses are 95% confidence limits.

2) Approximate LD₅₀ value.

Table 4 Body weights in rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Sex	Group and dose		Body weight (g) on day						
			0	1	3	5	7	10	14
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	169.6	194.2	216.0	233.8	253.8	278.8	306.9
		S.D.	±4.7	±5.9	±7.3	±9.2	±8.7	±13.3	±13.7
	819 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	171.3	179.8	208.2	227.0	247.8	277.1	311.8
		S.D.	±3.9	±4.3	±2.5	±3.3	±5.7	±9.0	±12.4
	1024 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	169.5	170.4	194.3	216.5	234.2	266.4	298.8
		S.D.	±5.0	±9.1	±17.3	±12.6	±17.3	±14.9	±14.6
	1280 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	170.2	169.7	180.7	207.6	229.0	261.2	300.2
		S.D.	±4.3	±13.1	±22.5	±20.6	±19.3	±18.2	±17.9
1600 mg/kg	N	5	5	3	3	3	3	3	
	Mean	168.9	165.6	172.9	196.2	218.8	245.4	279.7	
	S.D.	±5.7	±5.4	±23.5	±20.9	±20.3	±18.0	±21.3	
2000 mg/kg	N	5	5	3	3	3	3	3	
	Mean	171.2	168.9	153.4	167.9	200.5	233.1	272.3	
	S.D.	±4.1	±8.4	±3.2	±14.5	±9.1	±11.0	±7.4	
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	130.5	146.8	156.1	164.7	170.8	184.6	197.4
		S.D.	±4.9	±4.7	±5.5	±4.9	±6.0	±7.4	±10.4
	819 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	130.7	137.7	154.1	163.5	168.6	180.3	193.1
		S.D.	±3.6	±7.3	±6.8	±7.9	±8.9	±8.7	±9.6
	1024 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	131.4	134.0	155.2	163.3	173.9	183.9	196.7
		S.D.	±6.2	±9.3	±9.3	±10.2	±7.7	±9.3	±10.8
	1280 mg/kg	N	5	5	4	4	4	4	4
		Mean	131.4	132.2	144.4	162.9	171.5	187.0	200.5
		S.D.	±6.8	±11.0	±18.8	±10.0	±8.3	±11.5	±11.1
	1600 mg/kg	N	5	5	4	3	3	3	3
		Mean	129.4	125.7	109.0	149.0	159.8	179.2	198.3
		S.D.	±4.1	±3.5	±12.3	±8.3	±13.2	±15.9	±17.4
	2000 mg/kg	N	5	5	1	-	-	-	-
		Mean	128.9	123.1	-	-	-	-	-
		S.D.	±3.3	±7.0	-	-	-	-	-

Table 5 Necropsy findings in male rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Organs and findings	Sex	Male											
	Group and dose	Control			819 mg/kg			1024 mg/kg			1280 mg/kg		
	Necropsy timing	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total
	Number of animals	5	0	5	5	0	5	5	0	5	5	0	5
Digestive system													
Stomach													
Spot, mucosa, forestomach, white	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Respiratory system													
Trachea													
Retention, fluid, frothy	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung													
Macule, dark red	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Urinary system													
Kidney													
Spot, light gray	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Enlargement	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 5 - continued Necropsy findings in male rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Organs and findings	Sex	Male					
	Group and dose	1600 mg/kg			2000 mg/kg		
	Necropsy timing	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total
	Number of animals	3	2	5	3	2	5
Digestive system							
Stomach							
Spot, mucosa, forestomach, white		0	0	0	0	2	2
Respiratory system							
Trachea							
Retention, fluid, frothy		0	1	1	0	1	1
Lung							
Macule, dark red		0	1	1	0	1	1
Urinary system							
Kidney							
Spot, light gray		1	0	1	3	0	3
Enlargement		0	0	0	2	0	2

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 6 Necropsy findings in female rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Organs and findings	Sex	Female											
	Group and dose	Control			819 mg/kg			1024 mg/kg			1280 mg/kg		
	Necropsy timing	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total
Number of animals	5	0	5	5	0	5	5	0	5	4	1	5	
Digestive system													
Stomach													
Spot, mucosa, forestomach, white	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Large intestine													
Coloration, cecum, dark red	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Respiratory system													
Lung													
Macule, dark red	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematopoietic system													
Thymus													
Spot, dark red	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Small	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Urinary system													
Kidney													
Spot, light gray	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
Endocrine system													
Adrenal													
Macule, dark red	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 6 - continued Necropsy findings in female rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Organs and findings	Sex	Female					
	Group and dose	1600 mg/kg			2000 mg/kg		
	Necropsy timing	Scheduled	Dead	Total	Scheduled	Dead	Total
	Number of animals	3	2	5	0	5	5
Digestive system							
Stomach							
Spot, mucosa, forestomach, white		0	0	0	0	2	2
Large intestine							
Coloration, cecum, dark red		0	0	0	0	1	1
Respiratory system							
Lung							
Macule, dark red		0	2	2	0	1	1
Hematopoietic system							
Thymus							
Spot, dark red		0	1	1	0	2	2
Small		0	1	1	0	1	1
Urinary system							
Kidney							
Spot, light gray		1	0	1	0	0	0
Endocrine system							
Adrenal							
Macule, dark red		0	0	0	0	1	1

Table 7 Histopathological findings in male rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Organs and findings	Group and dose	1280 mg/kg		1600 mg/kg		2000 mg/kg	
	Animal No.	19	21	24	26	29	
	Necropsy timing	S	S	D	D	S	
Digestive system							
Stomach		*	*	*		*	
Ulcer, forestomach					+		
Respiratory system							
Lung		*	*			*	
Edema, alveolus				+	+		
Urinary system							
Kidney				*	*		
Tubule, basophilic		++	+			++	
Cast, granular		-	+			-	
Dilatation, tubule		++	+			++	
Cellular infiltration, neutrophil		+	-			+	
Cellular exudation, tubule, neutrophil		+	-			+	
Mineralization, cortex		-	+			+	

Abbreviations: S, scheduled; D, dead.

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

*; not examined.

Table 8 Histopathological findings in female rats after a single oral administration of 2,4-di-tert-butylphenol

Organs and findings	Group and dose	1280 mg/kg		1600 mg/kg		2000 mg/kg		
	Animal No.	120	123	124	125	127	129	130
	Necropsy timing	S	D	D	S	D	D	D
Digestive system								
Stomach		*	*	*	*	*		*
Ulcer, forestomach							+	
Large intestine		*	*	*	*	*	*	
Hemorrhage, lamina propria, submucosa, cecum								+
Respiratory system								
Lung		*		*	*		*	*
Edema, alveolus			+			+		
Hematopoietic system								
Thymus		*			*	*		
Atrophy			+++	-			-	++
Hemorrhage			-	+			+	-
Urinary system								
Kidney			*	*		*	*	*
Tubule, basophilic		++			+			
Dilatation, tubule		+			+			
Cellular infiltration, neutrophil		+			-			
Mineralization, cortex		+			+			
Endocrine system								
Adrenal		*	*	*	*		*	*
Hemorrhage, cortex						+		

Abbreviations: S, scheduled; D, dead.

Grade sign: -, none; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

*; not examined.