

2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールのラットにおける

28日間反復投与毒性試験

—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)

試験実施施設 : 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 .....	7
考 察 .....	12
参考文献 .....	14
 Fig. 1 Mean body weight changes in male rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	15
Fig. 2 Mean body weight changes in female rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	16
Fig. 3 Mean food consumption in male rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	17
Fig. 4 Mean food consumption in male rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	18
 Table 1 Incidence of clinical signs in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	19
Table 2 Incidence of clinical signs in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	21

Table 3 Body weights in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	22
Table 4 Body weights in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	23
Table 5 Food consumption in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	24
Table 6 Food consumption in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	25
Table 7 Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	26
Table 8 Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	30
Table 9 Hematological findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	34
Table 10 Hematological findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	36
Table 11 Biochemical findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	38
Table 12 Biochemical findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	40
Table 13 Necropsy findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	42
Table 14 Necropsy findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	43
Table 15 Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	44
Table 16 Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	47
Table 17 Histopathological findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days .....	50
Table 18 Histopathological findings in rats treated orally with 2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period .....	52

## 要 約

OECD 既存化学物質安全性点検に関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 0 (対照), 5, 20, 75 及び 300 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 6 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットに 28 日間反復経口投与する毒性試験を実施し、以下の結果を得た。なお、対照群及び 300 mg/kg 群にはそれぞれ雌雄各 6 匹の 14 日間回復群を設けた。

死亡はいずれの群にもみられなかった。一般状態の観察では、300 mg/kg 群の雌雄で流涎が認められた。本症状は投与直後から発現し、ほとんどの例で投与後約 30 分以内に消失する変化であった。

体重及び摂餌量では、被験物質投与に関連すると考えられる明らかな変化は認められなかった。尿検査では、300 mg/kg 群の雌雄で尿量の増加、尿浸透圧及び比重の低下、並びに尿色調の淡黄色化が認められた。

血液学的検査では、300 mg/kg 群の雌でヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、並びに分葉核好中球比の増加が認められ、同群の雄でプロトロンビン時間及び APTT の延長が認められた。

血液生化学的検査では、75 及び 300 mg/kg 群の雌で総コレステロール及びリン脂質の増加が認められた。

剖検では、300 mg/kg 群の雄で腎臓の肥大が認められ、同群の雌で腎臓の灰白色点が認められた。

器官重量では、75 mg/kg 群の雌及び 300 mg/kg 群の雌雄で肝臓重量の増加が認められた。

病理学的検査では、300 mg/kg 群の雌雄で肝臓の小葉中心性の肝細胞の肥大、並びに腎臓の好塩基性尿細管、顆粒円柱及び蛋白円柱が認められた。更に腎臓で肉眼的変化のみられた例に好中球性細胞浸潤、遠位尿細管の拡張あるいは近位尿細管の肥大が認められた。

回復試験では、投与期間中及び投与期間終了時みられた変化に回復性が認められた。

以上のように、本試験では 75 mg/kg 以上の群の雌で血清中総コレステロール及びリン脂質の増加、並びに肝臓重量の増加が認められ、300 mg/kg 群の雌雄で流涎、肝臓及び腎臓に対する影響が認められたことから、無影響量は雄で 75 mg/kg、雌で 20 mg/kg と考えられた。

## 緒 言

2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールの安全性に関する毒性試験の一環として、本被験物質を雌雄ラットに 28 日間反復経口投与するとともに、投与期間終了後に 14 日間の休薬期間を設けて、その毒性及び回復性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

より提供された 2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノール (Lot No. ) を試験に使用した。本被験物質は純度 99.67 %, 分子量 206.32 の淡黄褐色の固体である (添付資料 1-1)。試験期間中の被験物質の安定性については、投与期間終了後に残余の被験物質を上記の供給源にて分析することにより確認した (添付資料 1-2)。媒体にはコーンオイル (ナカライテスク株式会社, Lot No. V9F1519) を使用した。なお、被験物質は室温、遮光下で、コーンオイルは室温でそれぞれ被験物質室の保管庫に保存した。

### 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 51 匹購入し、雄 6 日間、雌 7 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、雌雄各 3 匹を抜粹して剖検し、異常がないことを確認したのち、雌雄各 42 匹を選んで 6 週齢で試験に使用した。投与開始時の体重は、雄が 188.9~218.5 g、雌が 137.5~169.8 g であった。動物は、温度  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  (許容範囲  $21\sim27^{\circ}\text{C}$ )、湿度  $55 \pm 10\%$  (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飼育室 (03 番) でステンレススチール製ハンガーケージ (W260×H200×D380 mm) に個別に収容して飼育した。なお、試験期間中の温度の実測値は最高  $25^{\circ}\text{C}$ 、最低  $22^{\circ}\text{C}$ 、湿度の実測値は最高 59%，最低 52% 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) した井戸水を自動給水装置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 2 週間に 1 回以上、受皿は週 3 回以上、ケージ架台は 4 週間に 1 回以上交換するとともに、

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)	性別	使用動物数	動物番号
対照群	0	♂	6+6*	701~706, 707*~712*
		♀	6+6*	751~756, 757*~762*
低用量群	5	♂	6	713~718
		♀	6	763~768
中間用量群 1	20	♂	6	719~724
		♀	6	769~774
中間用量群 2	75	♂	6	725~730
		♀	6	775~780
高用量群	300	♂	6+6*	731~736, 737*~742*
		♀	6+6*	781~786, 787*~792*

\* : 回復試験に使用した動物

投与量は、先に当研究所で実施した 2 週間反復投与毒性予備試験 [試験番号 29841 (GLP 非適用)、投与量: 0, 20, 100 及び 500 mg/kg] の結果を基に設定した。すなわち、予備試験においては、500 mg/kg 群の雌で自発運動の低下、呼吸緩徐及び体温低下がみられ、1/4 例が死亡した。また、500 mg/kg 群の雌雄で体重増加抑制傾向、血清総蛋白質、アルブミン及び総コレステロールの増加、腎臓の灰白色斑、並びに肝臓重量の増加が認められた。したがって、本試験では、300 mg/kg を高用量とし、以下公比約 4 をもって 75, 20 及び 5 mg/kg を設定した。

試験群は、上記 4 用量に对照を加え計 5 群とした。1 群当たりの動物数は、投与期間終了時の剖検例として各群とも雌雄各 6 匹とし、更に、対照群及び高用量群については回復期間終了時の剖検例として雌雄各 6 匹を設けた。

群分けは、投与開始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動物番号を刻印した耳標を取り付けて個体識別した。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。

#### 4. 投与経路、投与方法、投与期間及び回復期間

投与経路は、化審法ガイドラインで指定されており、また、予想されるヒトへの曝露経路の一つである経口投与とした。投与には胃管を用い、1日1回投与で28日間反復投与した。投与容量は5mL/kgとし、個体ごとの投与液量は最新の体重を基に算出した。対照群にはコーンオイルを同様に投与した。

回復試験に供した動物は、投与期間終了後に14日間無処置で飼育した。

#### 5. 被験物質と媒体との混合物調製法

被験物質を各濃度ごとに必要量秤量し、コーンオイルに溶解させ、0.1, 0.4, 1.5 及び 6.0 w/v% 溶液を調製した。調製は週1回の頻度で行い、調製した投与液は褐色ガラスバイアルに入れて飼育区域内の検体保管室の保管庫にて室温保存した。また、初回調製時に、各濃度の投与液について被験物質の濃度確認を実施し、設定濃度の許容範囲 ( $\pm 5\%$ 以内) にあることを確認した(添付資料2)。なお、本調製法による0.1及び20w/v%コーンオイル溶液は、褐色ガラスバイアル中で室温散光下8日間の安定性が確認されている(添付資料3)。

#### 6. 観察、検査、分析及び測定の頻度及び方法

##### 1) 一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定

投与期間中、投与開始日から投与6日(雌)ないし7日(雄)までは毎日投与前及び投与後の2回、それ以降は投与前、投与直後及び投与後2~3時間の3回、また、回復期間中は毎日午前、午後の2回、それぞれ一般状態の観察及び生死の確認を行った。体重及び摂餌量を投与期間及び回復期間を通して週2回の頻度で測定し、更に、投与及び回復最終日にも測定した。

##### 2) 尿検査

投与4週目及び回復2週目に、すべての動物を代謝ケージに個別収容し、絶食、給水下で午前中の時間帯(投与4週目は投与前の時間帯)に採取した新鮮尿について、比色試験紙(プレテスト8a、和光純薬工業株式会社)を用いてpH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血及びウロビリノーゲンを検査した。更に、新鮮尿は1500回転/分で5分間遠心分離し、得られた尿沈渣について鏡検した。また、新鮮尿採取後に給餌、給水下で採取した24時間蓄積尿について、尿量、色調、浸透圧(冰点降下法; OSMOMETER OM801, VOGEL社)及び比重(屈折率法; 尿屈折計、株式会社アタゴ)を測定した。

### 3) 血液学的検査

投与期間終了後及び回復期間終了後に、すべての動物を 18 時間以上絶食させたのち、ペントバルビタール・ナトリウム 30 mg/kg を腹腔内投与して麻酔し、開腹後、後大静脈腹部から採血を行った。採取した血液の一部は EDTA-2K 処理 (EDTA-2K 加血液) して多項目自動血球計数装置 (Sysmex CC-780, シスメックス株式会社) を用いて、白血球数 (電気抵抗検出方式)、赤血球数 (電気抵抗検出方式)、ヘモグロビン量 (Oxyhemoglobin 法)、ヘマトクリット値 (血球 pulse 波高値検出方式) 及び血小板数 (電気抵抗検出方式) を測定し、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の測定結果を基に Wintrobe の赤血球恒数 [平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素量 (MCH) 及び平均赤血球血色素濃度 (MCHC)] を算出した。更に、血液の一部は塗抹標本とし、May-Grünwald-Giemsa 染色を施して白血球百分比を算出するとともに、New methylene blue 超生体染色を施して網状赤血球率を算出した。また、3.8%クエン酸ナトリウム加血液を 3000 回転／分で 15 分間遠心分離し、得られた血漿を用いて全自动血液凝固測定装置 (Sysmex CA-5000, シスメックス株式会社) により、プロトロンビン時間 (散乱光検出方式) 及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT, 散乱光検出方式) を測定した。

### 4) 血液生化学的検査

血液学的検査と同時に採取したすべての動物の血液を室温で約 60 分間放置後、3000回転／分で 10 分間遠心分離し、得られた血清 (ただし、乳酸脱水素酵素及びクレアチニン酸化酵素については、ヘパリン・ナトリウム塗布注射筒にて採血し、同様に遠心分離して得られた血漿) を用いて自動分析装置 (7170, 株式会社 日立製作所) により、総蛋白質 (T.protein, Biuret 法), アルブミン (BCG 法), A/G 比 (総蛋白質及びアルブミンより算出), 総ビリルビン (T.bilirubin, Vanadate oxidation 法), GOT (UV-rate 法), GPT (UV-rate 法),  $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP, L- $\gamma$ -Glutamyl-3-hydroxymethyl-4-nitroanilide 基質法), アルカリ性 fosfotransferase (ALP, p-Nitrophenylphosphate acid 基質法), 乳酸脱水素酵素 (Wróblewski-La due 法), クレアチニン酸化酵素 (JSCC 法), 総コレステロール (T.cholesterol, COD-HDAOS 法), トリグリセライド (GPO-HDAOS 法, glycerol blanking 法), リン脂質 (Choline oxidase-DAOS 法), グルコース (Hexokinase-G-6-PDH 法), 尿素窒素 (BUN, Urease-GLDH 法), クレアチニン (Jaffé 法), 無機リン (IP, PNP-XOD 法) 及びカルシウム (Ca, MXB 法) を測定した。また、電解質分析装置 (PVA- $\alpha$ III, 株式会社 アナリティカル・インスツルメンツ) によりナトリウム (Na, 電極法), カリウム (K, 電極

法) 及びクロール (Cl, 電量滴定法) を測定した.

### 5) 剖検, 器官重量の測定及び病理組織学的検査

投与期間終了後及び回復期間終了後に, すべての動物について採血を行ったのち, 放血死させ, 解剖してすべての器官及び組織について異常の有無を検査した. 剖検後, 脳, 下垂体, 甲状腺 (上皮小体を含む), 心臓, 肺 (気管支を含む), 胸腺, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精嚢, 精巣上体, 精巣及び卵巣を摘出して器官重量 (絶対重量) を測定するとともに, 剖検日の体重を基に体重比器官重量 (相対重量) を算出した. 重量測定器官に加え, 脊髄 (頸部から胸部), 眼球, 気管, 膵臓, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸 (パイエル板を含む), 盲腸, 結腸, 直腸, 腸間膜リンパ節, 膀胱, 子宮, 骨髄 (大腿骨), 坐骨神経及び肉眼的異常部位を採取して 10% 中性緩衝ホルマリン溶液に固定した. なお, 10% 中性緩衝ホルマリン溶液による固定に先だって, 眼球は 2.5% グルタールアルデヒド溶液で, 精巣及び精巣上体はブアン液でそれぞれ前固定した. 投与期間終了時の対照群及び高用量群の眼球を除く上述した器官及び肉眼的異常部位については, 常法に従ってパラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施して光学顕微鏡下で観察した. 更に, 肝臓及び腎臓では, 被験物質投与に関連したと考えられる変化が高用量群で認められたことから, 投与期間終了時には 75 mg/kg 群を, また回復期間終了時には対照群及び高用量群について同様の観察を行った. なお, 回復期間終了時にみられた肉眼的異常部位についても検査を実施した.

### 7. 統計学的処理

体重, 摂餌量, 尿検査 (定性反応を除く), 血液体的検査, 血液生化学的検査, 器官重量及び体重比器官重量について, 各群ごとに平均値と標準偏差を求め, Bartlett 法により分散の均一性を検定した. 分散が均一な場合は Dunnett の多重比較検定を用いて, 分散が不均一な場合は Steel の多重比較検定を用いて対照群との比較を行った. また, 病理組織学的検査については, Mann-Whitney の U 検定法を用いて検定を行った. なお, いずれの場合も有意水準を 1 及び 5% とした.

## 試験成績

### 1. 一般状態

一般状態の観察結果を Table 1, 2 及び Appendix 1~4 に示した。

すべての群に死亡例はなく、5, 20 及び 75 mg/kg 群では観察期間を通して被験物質投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

300 mg/kg 群では、流涎が雄で投与 8 日以降、雌で投与 7 日以降に認められた。流涎は雄で 2~6 例/日、雌で 2~7 例/日の頻度で認められ、総発現例数は雄で 9 例、雌で 11 例であった。発現時間は、投与直後から認められ、ほとんどの例で投与後約 30 分以内に消失し、少数例で投与後 2 ないし 3 時間以内には消失した。更に、300 mg/kg 群の雄 1 例 (No.731) で投与 27 日に投与前から自発運動の低下が認められ、投与 28 日に自発運動の低下は消失したが、尿によると思われる下腹部の汚染が認められた。回復期間において、300 mg/kg 群の雌雄では変化は認められなかった。

その他、偶発的な変化として、対照群及び 20 mg/kg 群の雄各 1 例で頸部に外傷（搔創）が認められ、300 mg/kg 群の雄 1 例で上顎切歯の歯折が認められた。

### 2. 体重

体重推移を Fig.1, 2 及び Table 3, 4 並びに Appendix 5~8 に示した。

投与期間を通して、2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノール各群は対照群とほぼ同様な推移を示した。なお、個体別にみると 300 mg/kg 群の雄 1 例 (No.731) で投与 18 及び 22 日に増加抑制、並びに投与 25 及び 28 日に減少が認められ、また、同群の雌 1 例 (No.786) で投与 25 日に明らかな減少が認められた。

回復期間において、300 mg/kg 群の雄は対照群とほぼ同様な推移を示した。300 mg/kg 群の雌で体重値は対照群より高値を示したが、体重増加量は対照群とほぼ同様であり、回復期間開始時に体重がすでに対照群より高値であったことから、偶然に回復試験に供された動物の体重値の高いものが偏ったことが原因と考えられ、被験物質投与との関連はないと考えられた。

### 3. 摂餌量

摂餌量を Fig.3, 4 及び Table 5, 6 並びに Appendix 9~12 に示した。

投与期間を通して、2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノール各群の雄は対照群とほぼ同様な推移を示した。300 mg/kg 群の雌で投与 2 日に減少及び投与 28 日に増加が認められたが、投与期間中に一定の傾向を示したものではなく、一過性の変化であったことから、被験物質投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。なお、個体別にみると 300 mg/kg 群の雄 1 例 (No.731) で投与 18 日以降に減少あるいは減少傾向が認められ、また、同群の雌 1 例 (No.786) で投与 25 日に減少が認められた。

回復期間を通して、300 mg/kg 群は対照群とほぼ同様な推移を示した。

### 4. 尿検査

投与 4 週目の検査結果を Table 7 及び Appendix 13, 14 に、回復 2 週目の検査結果を Table 8 及び Appendix 15, 16 に示した。

投与 4 週目の検査では、300 mg/kg 群の雌雄で尿量の増加、尿浸透圧及び比重の低下、並びに尿色調の淡黄色化が認められた。

回復 2 週目の検査では、300 mg/kg 群の雌雄で変化は認められなかった。

### 5. 血液学的検査

投与期間終了時の検査結果を Table 9 及び Appendix 17, 18 に、回復期間終了時の検査結果を Table 10 及び Appendix 19, 20 に示した。

投与期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雌でヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、並びに分葉核好中球比の増加が認められ、300 mg/kg 群の雄でプロトロンビン時間及び APTT の延長が認められた。また、300 mg/kg 群の雄で血小板数の増加が認められたが、生理的な変動範囲内（下表）の軽度な変化であった。なお、個体別にみると 300 mg/kg 群の雄 1 例 (No.731) で赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及びリンパ球比の減少、並びに分葉核好中球比の増加が認められた。その他、対照群の雄 1 例 (No.703) で麻酔時の腹腔内投与において、誤投与により肝臓を出血させたことから、すべての測定値は試験の評価から除外した。

回復期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雄で MCH の減少が認められ、同群の雌で MCHC

の減少及び APTT の短縮が認められたが、いずれも軽度な変化であり、かつ同様の変化は投与期間終了時の検査時には認められていないことから、被験物質投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。

#### 10 週齢 Crj:CD(SD)IGS ラットの背景データ

性 項目	動物数	平均値	標準偏差 (S.D.)	最小値	最大値	-2S.D.	+2S.D.
雄 血小板( $10^4/\mu\text{L}$ )	120	97.2	9.9	75.3	130.9	77.4	117.1

#### 6. 血液生化学的検査

投与期間終了時の検査結果を Table 11 及び Appendix 21, 22 に、回復期間終了時の検査結果を Table 12 及び Appendix 23, 24 に示した。

投与期間終了時の検査では、75 及び 300 mg/kg 群の雌で総コレステロール及びリン脂質の増加が認められ、300 mg/kg 群の雄で総ビリルビン及び Ca の増加が認められた。このうち、総ビリルビンについては、高値を示した 1 例 (No.731) を除く他の 5 例の値は生理的な変動範囲内 (下表) の変化であった。Ca については生理的な変動範囲内 (下表) の変化であり、かつ有意差はみられていないものの同群の雄では総蛋白質がやや高値を示していることから、蛋白質の増加に伴った変化と考えられた。なお、個体別にみると 300 mg/kg 群の雄 1 例 (No.731) で総蛋白質、総ビリルビン、γ-GTP、総コレステロール、リン脂質、BUN 及びクレアチニンの増加、並びに A/G 比の減少、同群の別の雄 1 例 (No.735) で総蛋白質の増加が認められ、300 mg/kg 群の雌 1 例でγ-GTP、BUN 及びクレアチニンの増加、並びに A/G 比の減少が認められた。その他、対照群の雄 1 例 (No.703) で麻酔時の腹腔内投与において、誤投与により肝臓を出血させたことから、すべての測定値は試験の評価から除外した。

回復期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雌で総コレステロール及びリン脂質の増加が認められた。その他、300 mg/kg 群の雄で A/G 比の増加が認められ、同群の雌で GPT の減少、並びにトリグリセライド及びグルコースの増加が認められたが、いずれも軽度な変化であり、同様の変化は投与期間終了時の検査時には認められていないことから、被験物質投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。

## 10週齢 Crj:CD(SD)IGS ラットの背景データ

性 項目	動物数	平均値	標準偏差 (S.D.)	最小値	最大値	-2S.D.	+2S.D.
雄 総ビリルビン (mg/dL)	120	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1
Ca (mg/dL)	120	9.8	0.3	9.1	10.5	9.2	10.3

## 7. 剖検

投与期間終了時の検査結果を Table 13 及び Appendix 25, 26 に、回復期間終了時の検査結果を Table 14 並びに Appendix 27, 28 に示した。

投与期間終了時の検査では、300 mg/kg の雄 1 例 (No.731) で腎臓の肥大が認められ、同群の雌 1 例 (No.786) で腎臓の灰白色点が認められた。更に、腎臓の肥大がみられた雄 1 例には胸腺の小型化、副腎の肥大及び肺の暗赤色化が認められ、腎臓の灰白色点がみられた雌 1 例には肺の灰白色化が認められた。その他偶発的な変化として、一般状態で外傷 (搔創) がみられた対照群及び 20 mg/kg 群の雄各 1 例に頸部皮膚の痂皮形成が認められ、5 mg/kg 群の雌 1 例に甲状腺の片側性欠損が認められた。また、対照群の雄 1 例 (No.703) で麻酔時の腹腔内投与において、誤投与により注射針の先端が当たって生じた肝臓の新鮮出血が認められた。

回復期間終了時の検査では、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。偶発的な変化として、300 mg/kg 群の雌 1 例で下腹部皮下の腫瘍が認められた。

## 8. 器官重量

投与期間終了時の検査結果を Table 15 及び Appendix 29, 30 に、回復期間終了時の検査結果を Table 16 及び Appendix 31, 32 に示した。

投与期間終了時の検査では、75 mg/kg 群の雌及び 300 mg/kg 群の雌雄で肝臓の絶対及び相対重量の増加が認められた。なお、個体別にみると 300 mg/kg 群の雄 1 例 (No.731) で肝臓重量の増加に加え、腎臓及び副腎の絶対及び相対重量の増加、胸腺の絶対及び相対重量の減少、並びに脾臓の絶対重量の減少が認められ、300 mg/kg 群の雌 1 例 (No.786) で肝臓重量の増加に加え、腎臓の絶対及び相対重量の増加、並びに胸腺の絶対及び相対重量の減少が認められた。

回復期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雌で肝臓の絶対及び相対重量の増加、同群の雄で肝臓の相対重量の増加が認められたが、変化の程度は投与期間終了時のものと比較して軽減していた。更に、300 mg/kg 群の雌で腎臓の絶対重量の増加が認められた。その他、300 mg/kg 群の雄で精巣上体の絶対重量の減少及び同群の雌で脾臓の絶対重量の増加が認められたが、同

様の変化は投与期間終了時の検査には認められておらず、かつ後述する投与期間終了時の当該器官における病理組織学的検査では被験物質投与に関連する変化は認められていないことから、被験物質投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。

## 9. 病理組織学的検査

投与期間終了時の検査結果を Table 17 及び Appendix 33, 34 に、回復期間終了時の検査結果を Table 18 及び Appendix 35, 36 に示した。また、肝臓及び腎臓の光学顕微鏡写真を Photo. 1~3 に示した。

投与期間終了時の剖検例において、肝臓では、300 mg/kg 群の雌雄各 4 例で小葉中心性の肝細胞肥大が認められ、同群の別の雄 1 例 (No.731) で門脈周囲性の肝細胞肥大が認められた。腎臓では、300 mg/kg 群の雄全例及び雌 5 例で好塩基性尿細管が認められ、このうち雄全例及び雌 3 例で顆粒円柱、雄全例及び雌 1 例で蛋白円柱が認められた。更に、300 mg/kg 群の雌雄で好塩基性尿細管の程度が強かった雄 1 例 (No.731) で近位尿細管の肥大、遠位尿細管の拡張及び好中球性細胞浸潤がみられ、雌 1 例 (No.786) で遠位尿細管の拡張及び好中球性細胞浸潤が認められた。75 mg/kg 群の雌雄では、肝臓及び腎臓において被験物質投与に関連した変化は認められなかった。その他、Table 17 で示す通り、対照群及び被験物質投与群で肝臓の門脈周囲性の脂肪変性、肺の肺胞内泡沫細胞又は動脈壁への鉱質沈着、腎臓皮質の囊胞又は皮髓境界部の鉱質沈着、精巣上体の精子肉芽腫、頸部皮膚の潰瘍が散見されたが、それらの出現頻度及び程度に対照群との差はなく、いずれも被験物質投与と関連のない自然発生あるいは偶発的な変化と考えられた。また、300 mg/kg 群の雌雄各 1 例 (No.731 及び 786) で肉眼的に肺の変化がみられた部位で異物肉芽腫がみられ、加えて胸腺の萎縮も認められたが、いずれも誤投与による変化並びに誤投与に伴う全身状態の悪化に起因した変化と判断した。以上のはかに、対照群及び 300 mg/kg 群で検査を行った胃、小腸、大腸、胰臓、気管、腸間膜リンパ節、脾臓、骨髓、心臓、膀胱、精巣、精嚢、卵巣、子宮、下垂体、甲状腺、副腎、脳、脊髄及び坐骨神経には変化は認められなかった。

回復期間終了時の剖検例において、投与期間終了時と同様な変化として、腎臓では 300 mg/kg 群の雄全例及び雌 1 例で好塩基性尿細管がみられ、更に、雄 4 例で顆粒円柱及び雄 2 例で蛋白円柱が認められたが、変化の程度は投与期間終了時のものと比較して軽減していた。また、投与期間終了時に変化がみられた肝臓には変化は認められなかった。その他、300 mg/kg 群の雄

1例で肝臓の門脈周囲性の脂肪変性がみられ、皮下腫瘍がみられた300 mg/kg群の雌1例で乳腺の腺癌が認められたが、出現例数は少なく、腺癌については、同週齢程度の雌で自然発生するとの報告<sup>1)</sup>もあることから、いずれも被験物質投与と関連のない自然発生の変化と判断した。

## 考 察

2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールの安全性に関する毒性試験の一環として、本被験物質の0, 20, 75及び300 mg/kgを雌雄ラットに28日間反復経口投与し、その毒性及び回復性について検討した。

いずれの群でも死亡例は認められなかった。一般状態観察では、300 mg/kg群の雌雄で投与直後に一過性の流涎が認められた。2,4-ジ-*tert*-ブチルフェノールは、皮膚及び粘膜に対して刺激性を有することが報告（添付資料1）されていることから、本試験で観察された流涎は、被験物質の粘膜刺激性に関連した変化であると考えられた。

体重及び摂餌量では、被験物質投与に関連すると考えられる明らかな変化は認められなかった。

尿検査では、300 mg/kg群の雌雄で尿量の増加が認められた。また、尿量の増加に伴った変化として、300 mg/kg群の雌雄で尿浸透圧及び比重の低下並びに尿色調の淡黄色化が認められた。これらの変化は、後述の病理学的検査で述べるような被験物質の腎臓に対する影響に関連した変化のように考えられた。

血液学的検査では、300 mg/kg群の雌でヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、並びに分葉核好中球比の増加が認められ、同群の雄でプロトロンビン時間及びAPTTの延長が認められた。ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少について、その発生機序は不明であるが、赤血球数及び網状赤血球率に変化はなく、骨髄の病理組織学的検査においても造血抑制を示唆する変化は認められていないことから、重篤な変化ではないと考えられた。分葉核好中球比の増加については、上述した尿量の増加と同様に、被験物質の腎臓に対する影響に関連した変化のように考えられた。また、凝固時間の延長については、本被験物質に類似した構造を持つ2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノールあるいはその代謝物は、抗ビタミンK作用を有することが示唆<sup>2)</sup>されており、プロトロンビン形成にはビタミンKが必須であることから、類似化合物と同様な作用機序により凝固時間の延長が発現した可能性が考えられた。

血液生化学的検査では、75及び300 mg/kg群の雌で総コレステロール及びリン脂質の増加が認められ、本被験物質の脂質代謝への影響が示唆された。

病理学的検査では、75 mg/kg 群の雌及び 300 mg/kg 群の雌雄で肝臓重量の増加が認められ、組織学的には 300 mg/kg 群の雌雄で小葉中心性の肝細胞の肥大が認められた。本被験物質及びその類似化合物の投与において、肝臓重量及び肝薬物代謝酵素活性を増加させることが報告<sup>3)</sup>されており、小葉中心性の肝細胞の肥大は薬物代謝酵素の誘導に起因した変化<sup>4)</sup>と考えられた。また、300 mg/kg 群の雄 1 例で肉眼的に腎臓の肥大が認められ、同群の雌 1 例で腎臓の灰白色点が認められた。腎臓の病理組織学的検査では、300 mg/kg 群の雌雄で好塩基性尿細管、顆粒円柱及び蛋白円柱が認められ、更に腎臓の肉眼的变化がみられた例には好中球性細胞浸潤、近位尿細管の肥大あるいは遠位尿細管の拡張が認められ、本被験物質の腎臓に対する影響が認められた。このような腎障害は、本被験物質のラットにおける単回投与毒性試験<sup>5)</sup>においても認められており、腎臓は本被験物質の主要な標的器官であると考えられた。

上述した変化に加えて、腎障害の程度が強かった 300 mg/kg 群の雌雄各 1 例 (No. 731 及び 786)において、体重及び摂餌量の減少、γ-GTP、BUN 及びクレアチニンの増加、A/G 比の減少、腎臓重量の増加、更に同雄 1 例では赤血球系パラメーターの減少、分葉核好中球比の増加、総蛋白質、総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質の増加、門脈周囲性の肝細胞の肥大などが認められ、被験物質投与による影響が強くみられたが、いずれの例でも誤投与による生体への負荷が加わっていることから、その影響が毒性を増強させたものと考えられた。

回復試験では、血液生化学的検査において、300 mg/kg 群の雌で総コレステロール及びリン脂質の増加が認められたものの、尿検査、血液学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査でみられた変化は消失あるいはその程度が軽減しており、被験物質投与で生じた変化は可逆的であると考えられた。

以上のように、本試験では 75 mg/kg 以上の群の雌で血清中総コレステロール及びリン脂質の増加、並びに肝臓重量の増加が認められ、300 mg/kg 群の雌雄で流涎、肝臓及び腎臓に対する影響が認められたことから、無影響量は雄で 75 mg/kg、雌で 20 mg/kg と考えられた。

## 参考文献

- 1) Oishi Y. et al. (1995): Spontaneously occurring mammary adenocarcinoma in a 10-wk-old female rat.  
J. Toxicol. Pathol. 5, 696-700.
- 2) Takahashi O. et al. (1980): 4-*tert*-butyl-2,6-diisopropylphenol: Another phenol inducing hemorrhage in rats. Toxicology Letters 5, 147-150.
- 3) Kawano S. et al. (1981): Induction of hepatic microsomal monooxygenases in female rats given various substituted phenols and hydroquinones. Japan. J. Pharmacol. 31, 459-462.
- 4) J.R. Glaister, "Principles of Toxicological Pathology" Taylor & Francis, London and Philadelphia, 1986.  
pp83-85.
- 5) 緒方 英博(2000): 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, 株式会社  
パナファーム・ラボラトリーズ(PPL 試験番号 : 19825).

Study No. 29846

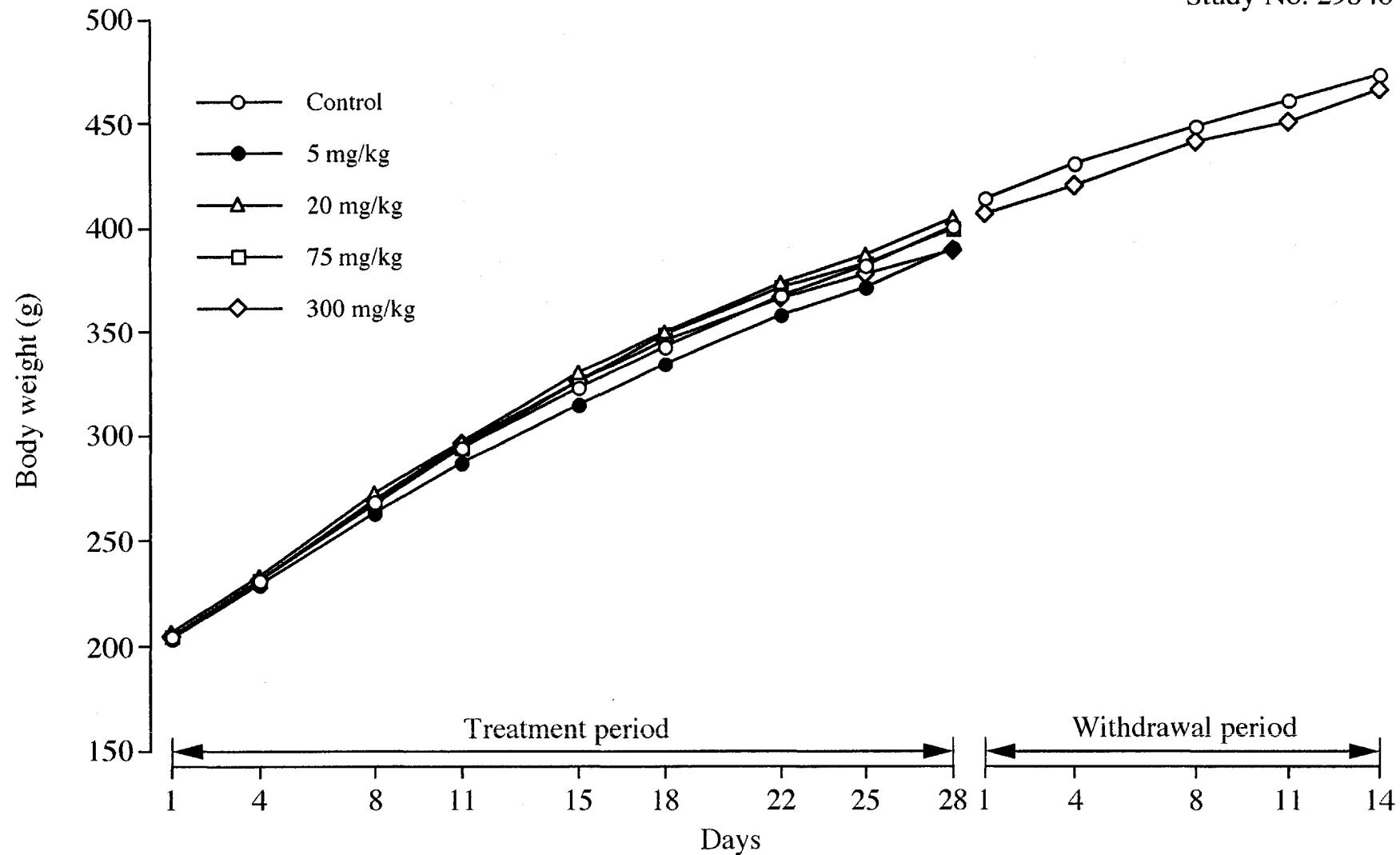


Fig.1 Mean body weight changes in male rats treated orally with 2,4-Di-*tert*-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

Study No. 29846

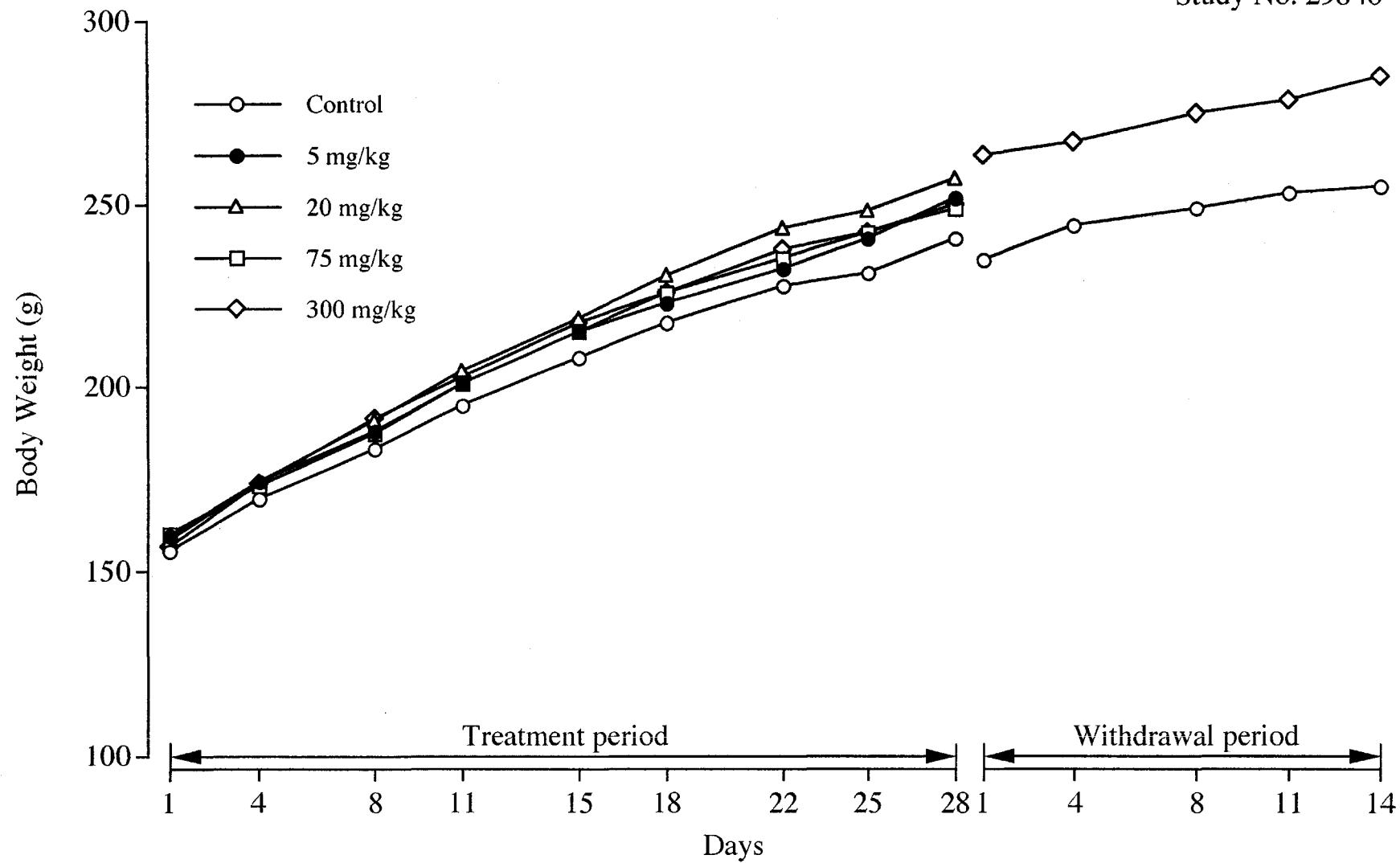


Fig.2 Mean body weight changes in female rats treated orally with 2,4-Di-*tert*-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

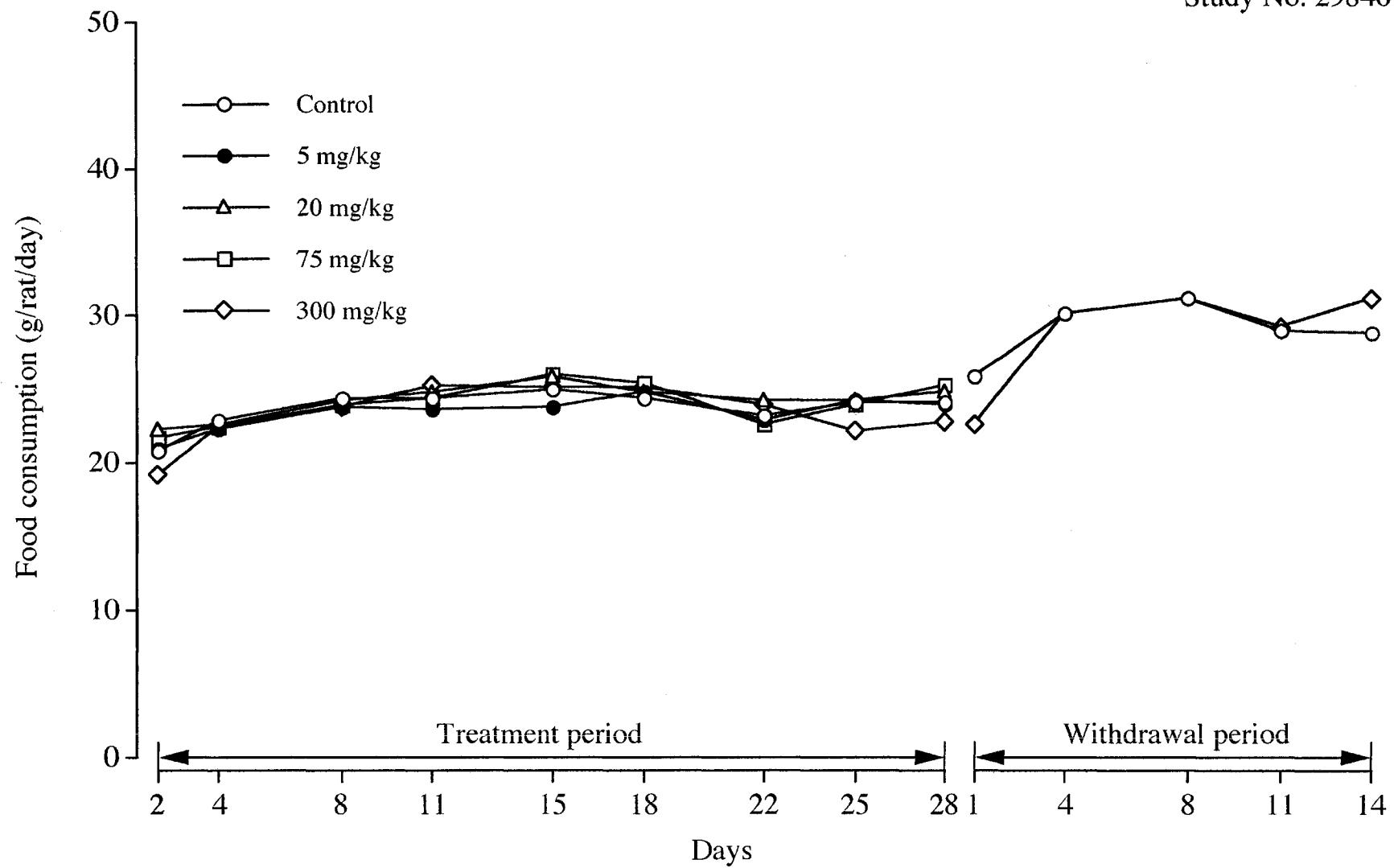


Fig.3 Mean food consumption in male rats treated orally with 2,4-Di-*tert*-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

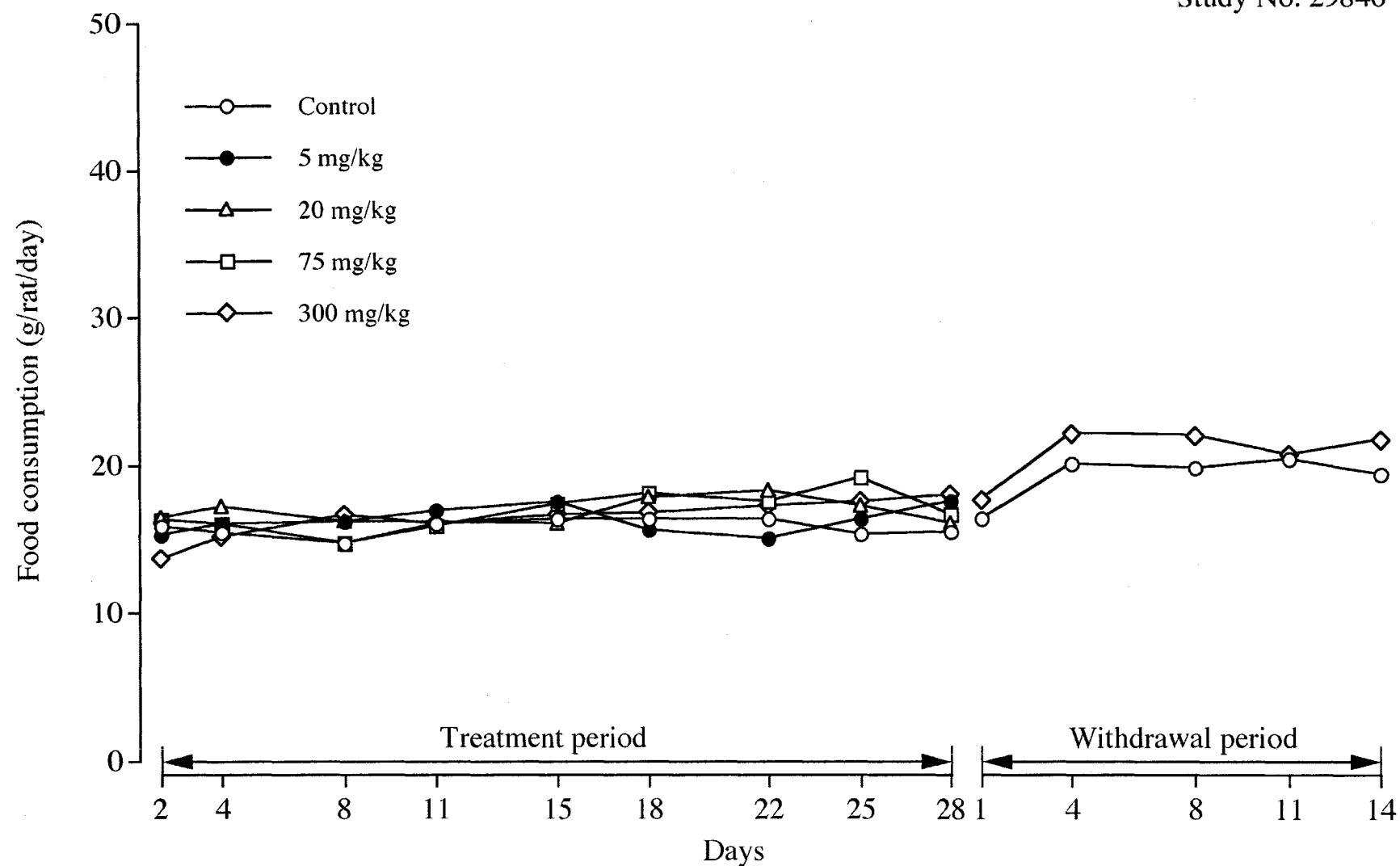


Fig.4 Mean food consumption in female rats treated orally with 2,4-Di-*tert*-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

Table 1 Incidence of clinical signs in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of treatment														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Male	Control	Number of examined	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
		Trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5 mg/kg	Number of examined	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
	20 mg/kg	Number of examined	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
		Trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	75 mg/kg	Number of examined	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
	300 mg/kg	Number of examined	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
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	3	3	2	3	6	2	2	3
		Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled lower abdomen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Female	Abnormality of tooth	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Number of examined	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
		Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	5 mg/kg	No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Number of examined	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
	20 mg/kg	Number of examined	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
		Number of examined	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
	75 mg/kg																
		Number of examined	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
		Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	10	7	5	3	5	7	8	7
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	2	5	3	5	6	5	4	6

Table 1 - continued Incidence of clinical signs in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of treatment										
			18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Male	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11
		Trauma	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
	5 mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	20 mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	5	5	5	5	5	5	5
		Trauma	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
	75 mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	10	9	10	9	8	6	7	7	8	7	6
		Salivation	2	3	2	3	4	5	5	5	3	4	5
		Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		Soiled lower abdomen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Abnormality of tooth	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
Female	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	5 mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	20 mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	75 mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	7	7	6	6	6	7	5	5	6	6	5
		Salivation	5	5	6	6	6	5	7	7	6	6	7

Table 2 Incidence of clinical signs in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of withdrawal													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	Control	Number of examined	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
	300 mg/kg	Number of examined	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	Control	Number of examined	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
	300 mg/kg	Number of examined	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 3 Body weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Days of treatment								
		1	4	8	11	15	18	22	25	28
Male	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	204.5	231.2	267.8	293.5	322.9	342.2	367.0	381.2
		S.D.	±8.3	±8.7	±10.7	±13.5	±18.0	±19.6	±23.4	±25.8
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	203.4	228.7	263.0	286.1	314.5	334.3	357.9	370.8
		S.D.	±7.9	±10.9	±16.3	±20.1	±26.1	±28.8	±35.9	±37.5
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	206.3	233.2	272.2	297.2	329.2	349.1	373.1	386.5
		S.D.	±5.8	±9.3	±15.1	±18.4	±21.7	±27.8	±30.8	±34.4
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	204.0	230.9	266.5	293.5	325.9	348.3	370.4	382.4
		S.D.	±7.2	±9.4	±14.5	±15.3	±15.9	±18.6	±22.4	±24.2
	300 mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	204.3	230.7	268.6	295.4	325.1	345.6	366.2	376.8
		S.D.	±7.9	±10.2	±14.7	±18.4	±23.9	±28.9	±34.5	±53.3
Female	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	155.1	169.3	182.6	194.3	207.5	216.7	226.9	230.5
		S.D.	±10.1	±10.2	±12.0	±13.0	±16.4	±19.7	±20.7	±22.8
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	159.1	173.9	187.3	200.4	214.5	222.2	231.4	239.9
		S.D.	±6.9	±7.9	±9.1	±10.2	±9.5	±11.0	±11.0	±12.6
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	157.9	174.1	190.2	203.7	218.2	229.9	242.7	247.2
		S.D.	±7.9	±9.3	±14.0	±15.9	±18.2	±19.8	±20.5	±21.7
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	159.7	172.6	186.6	200.5	214.2	224.9	234.4	241.3
		S.D.	±4.1	±2.6	±7.5	±6.7	±8.6	±13.0	±13.1	±10.7
	300 mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	156.5	173.1	191.2	201.9	216.9	225.1	236.9	241.6
		S.D.	±6.9	±10.9	±12.0	±12.8	±14.9	±17.1	±19.5	±21.4

Not significantly different from control.

Table 4 Body weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Days of withdrawal				
		1	4	8	11	14
Body weight (g)						
Male	Control	N	6	6	6	6
		Mean	413.2	429.9	447.2	459.6
		S.D.	±23.9	±24.9	±24.6	±27.2
	300 mg/kg	N	6	6	6	6
		Mean	406.0	419.2	439.3	448.9
		S.D.	±40.9	±44.0	±44.5	±45.9
Female	Control	N	6	6	6	6
		Mean	234.1	243.0	248.2	252.2
		S.D.	±22.4	±17.2	±18.6	±19.5
	300 mg/kg	N	6	6	6	6
		Mean	262.9*	266.1	273.8	277.5*
		S.D.	±18.5	±18.8	±22.1	±19.4
						±18.6

\*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 5 Food consumption in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

\*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 6 Food consumption in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Days of withdrawal				
		1	4	8	11	14
Food consumption (g/rat/day)						
Male	Control	N	6	6	6	6
		Mean	25.7	30.0	30.9	28.7
		S.D.	±2.6	±3.7	±3.1	±2.8
	300 mg/kg	N	6	6	6	6
		Mean	22.5	30.0	30.9	29.1
		S.D.	±3.5	±3.5	±2.9	±3.7
Female	Control	N	6	6	6	6
		Mean	16.2	20.0	19.6	20.3
		S.D.	±3.5	±2.4	±3.0	±2.5
	300 mg/kg	N	6	6	6	6
		Mean	17.6	22.0	21.8	20.6
		S.D.	±2.5	±2.5	±3.9	±3.1

Not significantly different from control.

Table 7 Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Urine volume		Osmotic pressure	Specific gravity
			(mL/24hr)	(Osm/kg)	
Male	Control	N	12	12	12
		Mean	12.0	1.493	1.049
		S.D.	±4.3	±0.531	±0.017
	5 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	10.2	1.457	1.048
		S.D.	±2.8	±0.339	±0.013
	20 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	12.9	1.611	1.054
		S.D.	±9.5	±0.664	±0.022
Female	75 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	10.8	1.427	1.049
		S.D.	±3.0	±0.392	±0.014
	300 mg/kg	N	12	12	12
		Mean	31.9**	0.583**	1.021**
		S.D.	±6.6	±0.099	±0.003
	Control	N	12	12	12
		Mean	6.0	1.466	1.048
		S.D.	±3.3	±0.497	±0.017
Male	5 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	7.0	1.524	1.050
		S.D.	±2.4	±0.451	±0.015
	20 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	8.5	1.529	1.050
		S.D.	±6.8	±0.754	±0.025
	75 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	8.2	1.653	1.054
		S.D.	±4.8	±0.763	±0.026
Female	300 mg/kg	N	12	12	12
		Mean	18.4**	0.702**	1.023**
		S.D.	±4.8	±0.177	±0.006

\*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Table 7 - continued Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Color		pH						Protein				Glucose	
			PY	Y	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	±	+	++	-
Male	Control	12	1	11	0	0	0	0	3	9	0	0	3	6	3	12
	5 mg/kg	6	0	6	0	1	0	0	3	2	0	1	2	2	1	6
	20 mg/kg	6	1	5	0	0	0	1	1	4	0	1	0	4	1	6
	75 mg/kg	6	0	6	0	0	0	0	1	5	0	0	0	4	2	6
	300 mg/kg	12	12	0	0	1	0	0	6	5	0	0	2	10	0	12
Female	Control	12	2	10	0	1	1	0	3	7	0	2	4	5	1	12
	5 mg/kg	6	0	6	0	0	0	0	2	4	0	3	1	0	2	6
	20 mg/kg	6	2	4	0	2	0	1	2	1	0	3	3	0	0	6
	75 mg/kg	6	0	6	0	1	0	1	1	3	0	1	1	3	1	6
	300 mg/kg	12	11	1	1	0	2	2	4	2	1	7	3	2	0	12

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

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

Table 7 - continued Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Ketone body		Bilirubin			Occult blood			Urobilinogen (mg/dL)	
			-	-	-	-	+	+++	<1			
Male	Control	12	12		12		12	0	0		12	
	5 mg/kg	6	6		6		5	1	0		6	
	20 mg/kg	6	6		6		6	0	0		6	
	75 mg/kg	6	6		6		6	0	0		6	
	300 mg/kg	12	12		12		12	0	0		12	
Female	Control	12	12		12		12	0	0		12	
	5 mg/kg	6	6		6		6	0	0		6	
	20 mg/kg	6	6		6		6	0	0		6	
	75 mg/kg	6	6		6		5	0	1		6	
	300 mg/kg	12	12		12		12	0	0		12	

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

Table 7 - continued Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment							
			-	-	-	-	-	-	+	
Male	Control	12	12	12	12	12	10	1	1	
	5 mg/kg	6	6	6	6	6	4	2	0	
	20 mg/kg	6	6	6	6	6	6	0	0	
	75 mg/kg	6	6	6	6	6	6	0	0	
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	9	3	0	
29	Female	Control	12	12	12	12	12	9	3	0
	5 mg/kg	6	6	6	6	6	6	0	0	
	20 mg/kg	6	6	6	6	6	5	1	0	
	75 mg/kg	6	6	6	6	6	5	1	0	
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	0	0	

Not significantly different from control.

Grade signs are as follows:

Epithelial cells: -, < 3/field; +, 3/field  $\leq$  and < 10/field; ++, 10/field  $\leq$  and < 20/field; +++,  $\geq$  20/field.

Erythrocytes : -, < 10/field; +, 10/field  $\leq$  and < 30/field; ++, 30/field  $\leq$  and < 100/field; +++, countless.

Leukocytes : -, < 3/field; +, 3/field  $\leq$  and < 20/field; ++, 20/field  $\leq$  and < 40/field; +++,  $\geq$  40/field.

Casts : -, none; +,  $\geq$  1/all field.

Crystals : -, < 10/field; +, 10/field  $\leq$  and < 20/field; ++, 20/field  $\leq$  and < 30/field; +++, countless.

Table 8 Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Urine volume	Osmotic pressure	Specific gravity
			(mL/24hr)	(Osm/kg)	
Male	Control	N	6	6	6
		Mean	20.8	1.455	1.047
		S.D.	±10.0	±0.427	±0.016
	300 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	21.6	1.219	1.038
		S.D.	±6.9	±0.343	±0.011
Female	Control	N	6	6	6
		Mean	11.0	1.380	1.045
		S.D.	±6.5	±0.384	±0.014
	300 mg/kg	N	6	6	6
		Mean	16.4	1.246	1.039
		S.D.	±6.6	±0.476	±0.015

Not significantly different from control.

Table 8 - continued Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Color		pH			Protein				Glucose		Ketone body		Bilirubin	
			PY	Y	7.0	7.5	8.0	-	±	+	++	-	-	-	-	-	-
Male	Control	6	2	4	1	0	5	0	1	5	0	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6	3	3	0	1	5	0	3	3	0	6	6	6	6	6	
Female	Control	6	1	5	0	3	3	4	0	1	1	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6	0	6	0	1	5	0	5	1	0	6	6	6	6	6	

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

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

Table 8 - continued Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Occult blood	Urobilinogen (mg/dL)
			-	<1
Male	Control	6	6	6
	300 mg/kg	6	6	6
Female	Control	6	6	6
	300 mg/kg	6	6	6

Grade sign: -, none;  $\pm$ , trace; +, mild; ++, moderate; +++, marked.

Table 8 - continued Urinary findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment						
			Epithelial cells	Erythrocytes	Leukocytes	Casts	Crystals		
			-	-	-	-	-	+	++
Male	Control	6	6	6	6	6	5	0	1
	300 mg/kg	6	6	6	6	6	6	0	0
Female	Control	6	6	6	6	6	4	2	0
	300 mg/kg	6	6	6	6	6	6	0	0

Not significantly different from control.

Grade signs are as follows.

Epithelial cells: -, < 3/field; +, 3/field  $\leq$  and < 10/field; ++, 10/field  $\leq$  and < 20/field; +++,  $\geq$  20/field.

Erythrocytes : -, < 10/field; +, 10/field  $\leq$  and < 30/field; ++, 30/field  $\leq$  and < 100/field; +++, countless.

Leukocytes : -, < 3/field; +, 3/field  $\leq$  and < 20/field; ++, 20/field  $\leq$  and < 40/field; +++,  $\geq$  40/field.

Casts : -, none; +,  $\geq$  1/all field.

Crystals : -, < 10/field; +, 10/field  $\leq$  and < 20/field; ++, 20/field  $\leq$  and < 30/field; +++, countless.

Table 9 Hematological findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose		Leukocytes (10 <sup>2</sup> / μL)	Erythrocytes (10 <sup>4</sup> / μL)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	Platelets (10 <sup>4</sup> / μL)	MCV	MCH	MCHC	Reticulocyte (%)	PT (sec)	APTT (sec)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	73	774	14.3	46.6	91.7	60	18.6	30.8	41	14.1	22.8
		S.D.	±20	±36	±0.8	±2.8	±10.2	±2	±0.6	±0.5	±6	±0.8	±1.3
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	74	774	14.3	46.4	94.5	60	18.5	30.9	39	14.0	22.1
		S.D.	±16	±29	±0.4	±1.5	±16.2	±1	±0.3	±0.5	±5	±1.9	±2.8
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	75	777	14.2	46.1	95.1	60	18.3	30.7	40	16.8	24.1
		S.D.	±6	±48	±0.8	±2.6	±10.2	±3	±0.6	±0.7	±5	±4.0	±3.6
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	82	785	14.4	46.7	99.5	60	18.4	30.8	39	16.5	24.9
		S.D.	±30	±45	±0.3	±0.9	±8.5	±3	±0.8	±0.2	±2	±3.3	±2.4
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	98	770	13.8	44.9	111.9*	58	18.0	30.8	46	27.9*	43.7*
		S.D.	±18	±63	±1.3	±4.5	±12.4	±2	±0.9	±0.6	±18	±9.7	±19.5
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	62	765	14.4	45.3	99.1	59	18.8	31.8	34	11.0	18.3
		S.D.	±10	±23	±0.5	±1.8	±14.8	±2	±0.5	±0.4	±6	±0.9	±2.3
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	52	739	13.9	43.8	103.3	59	18.8	31.8	32	11.1	18.0
		S.D.	±9	±50	±0.8	±2.4	±8.0	±2	±0.7	±0.7	±4	±1.0	±2.5
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	55	751	14.1	44.1	101.0	59	18.8	31.9	31	11.0	18.4
		S.D.	±20	±42	±0.5	±1.7	±6.2	±3	±0.9	±0.5	±5	±0.4	±2.8
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	62	747	14.1	44.4	99.8	60	18.8	31.7	36	10.8	17.6
		S.D.	±13	±42	±0.4	±1.7	±2.7	±2	±0.8	±0.5	±4	±0.6	±2.7
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	76	711	13.2**	41.8*	116.7	59	18.6	31.7	35	11.2	17.3
		S.D.	±23	±30	±0.5	±1.8	±8.8	±2	±0.4	±0.6	±5	±0.5	±1.6

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Data for one male in the control group were eliminated from the Table 9 owing to a technical error on the anesthetic timing.

Table 9 - continued Hematological findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Differential leukocyte count						
		Eosinophil (%)	Stab neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Lymphocyte (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	
Male	Control	N Mean S.D.	5 0.6 ±0.5	5 0.0 ±0.0	5 12.0 ±5.8	5 85.4 ±7.4	5 0.0 ±0.0	5 2.0 ±1.6
	5 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.3 ±0.5	6 0.0 ±0.0	6 10.2 ±3.2	6 86.8 ±3.7	6 0.0 ±0.0	6 2.7 ±1.6
	20 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.8 ±0.4	6 0.0 ±0.0	6 8.8 ±6.9	6 87.8 ±6.6	6 0.0 ±0.0	6 2.5 ±0.5
	75 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.0 ±0.0	6 0.0 ±0.0	6 11.7 ±4.0	6 86.5 ±4.1	6 0.0 ±0.0	6 1.8 ±1.0
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.7 ±0.8	6 0.0 ±0.0	6 18.2 ±14.8	6 78.5 ±16.1	6 0.0 ±0.0	6 2.7 ±1.8
Female	Control	N Mean S.D.	6 1.0 ±1.3	6 0.0 ±0.0	6 8.7 ±3.1	6 88.2 ±4.9	6 0.0 ±0.0	6 2.2 ±1.2
	5 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.5 ±0.8	6 0.0 ±0.0	6 10.5 ±3.6	6 87.5 ±4.8	6 0.0 ±0.0	6 1.5 ±1.0
	20 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.8 ±1.2	6 0.0 ±0.0	6 8.5 ±4.0	6 88.8 ±5.7	6 0.0 ±0.0	6 1.8 ±1.0
	75 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.3 ±0.5	6 0.0 ±0.0	6 7.8 ±4.9	6 89.5 ±5.8	6 0.0 ±0.0	6 2.3 ±1.0
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.8 ±1.0	6 0.2 ±0.4	6 15.7*	6 81.0 ±5.5	6 0.0 ±0.0	6 2.3 ±1.0

\*: P&lt;0.05 (significantly different from control).

Data for one male in the control group were eliminated from the Table 9 owing to a technical error on the anesthetic timing.

Table 10 Hematological findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Leukocytes (10 <sup>2</sup> / μL)	Erythrocytes (10 <sup>4</sup> / μL)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	Platelets (10 <sup>4</sup> / μL)	MCV	MCH	MCHC	Reticulocyte (%)	PT (sec)	APTT (sec)
Male	Control	6 N	6 78	6 14.5	6 46.5	6 92.7	6 58	6 18.1	6 31.3	6 37	6 16.9	6 22.9
		S.D.	±14	±21	±0.5	±2.1	±7.1	±3	±0.6	±5	±2.5	±1.5
	300 mg/kg	6 N	6 93	6 14.3	6 45.9	6 97.2	6 56	6 17.3*	6 31.1	6 38	6 16.1	6 22.2
		S.D.	±27	±27	±0.2	±0.9	±8.6	±1	±0.3	±6	±3.7	±1.1
Female	Control	6 N	6 54	6 14.2	6 44.6	6 94.3	6 58	6 18.3	6 31.7	6 32	6 11.4	6 18.8
		S.D.	±15	±19	±0.4	±1.7	±8.6	±2	±0.5	±3	±0.2	±0.8
	300 mg/kg	6 N	6 59	6 14.0	6 45.1	6 97.5	6 59	6 18.3	6 31.1*	6 34	6 11.4	6 17.6*
		S.D.	±17	±39	±0.4	±1.5	±3.5	±3	±0.8	±6	±0.4	±0.8

\*: P&lt;0.05 (significantly different from control).

Table 10 - continued Hematological findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Differential leukocyte count					
		Eosinophil (%)	Stab neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Lymphocyte (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)
Male	Control	N Mean S.D.	6 0.7 ±0.5	6 0.0 ±0.0	6 9.3 ±6.5	6 88.0 ±6.7	6 0.0 ±0.0
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 1.2 ±0.4	6 0.0 ±0.0	6 10.3 ±6.2	6 86.7 ±6.8	6 0.0 ±0.0
							6 1.8 ±1.2
Female	Control	N Mean S.D.	6 0.8 ±0.8	6 0.0 ±0.0	6 9.3 ±6.5	6 88.2 ±6.4	6 0.0 ±0.0
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 0.7 ±1.2	6 0.2 ±0.4	6 10.0 ±4.5	6 88.0 ±4.1	6 0.0 ±0.0
							6 1.2 ±1.2

Not significantly different from control.

Table 11 Biochemical findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	T. Protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G ratio	T. Bilirubin (mg/dL)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	LDH (IU/L)	CPK (IU/L)	T. Cholesterol (mg/dL)	
Male	Control	N Mean S.D.	5 4.9 $\pm 0.1$	5 3.5 $\pm 0.1$	5 2.53 $\pm 0.20$	5 0.0 $\pm 0.0$	5 73 $\pm 8$	5 17 $\pm 3$	5 0.5 $\pm 0.2$	5 364 $\pm 53$	5 177 $\pm 105$	5 177 $\pm 117$	5 50 $\pm 7$
	5 mg/kg	N Mean S.D.	6 4.8 $\pm 0.1$	6 3.5 $\pm 0.1$	6 2.78 $\pm 0.37$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 72 $\pm 5$	6 18 $\pm 3$	6 0.7 $\pm 0.3$	6 323 $\pm 56$	6 114 $\pm 33$	6 121 $\pm 15$	6 47 $\pm 6$
	20 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.0 $\pm 0.2$	6 3.6 $\pm 0.1$	6 2.51 $\pm 0.24$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 73 $\pm 7$	6 18 $\pm 2$	6 0.4 $\pm 0.2$	6 314 $\pm 78$	6 121 $\pm 25$	6 158 $\pm 66$	6 49 $\pm 5$
	75 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.0 $\pm 0.2$	6 3.6 $\pm 0.2$	6 2.54 $\pm 0.18$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 70 $\pm 5$	6 17 $\pm 2$	6 0.5 $\pm 0.2$	6 325 $\pm 58$	6 179 $\pm 122$	6 157 $\pm 106$	6 48 $\pm 5$
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.3 $\pm 0.4$	6 3.7 $\pm 0.2$	6 2.35 $\pm 0.50$	6 0.2* $\pm 0.3$	6 62 $\pm 12$	6 20 $\pm 4$	6 2.8 $\pm 4.6$	6 362 $\pm 62$	6 158 $\pm 111$	6 198 $\pm 214$	6 78 $\pm 56$
Female	Control	N Mean S.D.	6 5.3 $\pm 0.2$	6 4.0 $\pm 0.1$	6 3.11 $\pm 0.40$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 78 $\pm 12$	6 15 $\pm 1$	6 0.7 $\pm 0.2$	6 222 $\pm 25$	6 132 $\pm 23$	6 130 $\pm 43$	6 58 $\pm 5$
	5 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.3 $\pm 0.3$	6 3.9 $\pm 0.3$	6 2.86 $\pm 0.38$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 80 $\pm 5$	6 17 $\pm 3$	6 0.7 $\pm 0.2$	6 200 $\pm 41$	6 140 $\pm 46$	6 114 $\pm 28$	6 54 $\pm 9$
	20 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.3 $\pm 0.1$	6 4.0 $\pm 0.1$	6 3.13 $\pm 0.32$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 78 $\pm 11$	6 15 $\pm 2$	6 0.7 $\pm 0.5$	6 249 $\pm 55$	6 105 $\pm 22$	6 134 $\pm 46$	6 60 $\pm 8$
	75 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.4 $\pm 0.3$	6 4.0 $\pm 0.3$	6 2.92 $\pm 0.48$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 78 $\pm 12$	6 14 $\pm 3$	6 0.9 $\pm 0.3$	6 223 $\pm 45$	6 94 $\pm 14$	6 97 $\pm 18$	6 71* $\pm 8$
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.6 $\pm 0.3$	6 4.1 $\pm 0.4$	6 2.72 $\pm 0.52$	6 0.1 $\pm 0.1$	6 76 $\pm 14$	6 18 $\pm 7$	6 1.3 $\pm 0.9$	6 224 $\pm 69$	6 180 $\pm 92$	6 191 $\pm 102$	6 87** $\pm 6$

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Data for one male in the control group were eliminated from the Table 11 owing to a technical error on the anesthetic timing.

Table 11 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose		Triglycerides (mg/dL)	Phospholipids (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	IP (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	68	98	123	12.5	0.4	8.0	9.7	145.8	4.42	106.1
		S.D.	±28	±10	±21	±1.4	±0.1	±0.4	±0.3	±1.8	±0.29	±2.6
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	38	90	102	12.4	0.4	8.1	9.7	146.3	4.27	106.5
		S.D.	±10	±7	±4	±1.2	±0.1	±0.7	±0.4	±0.7	±0.27	±1.8
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	53	96	121	12.9	0.4	8.0	9.8	146.1	4.23	106.4
		S.D.	±13	±6	±18	±1.9	±0.1	±0.7	±0.2	±0.2	±0.18	±0.5
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	61	96	137	13.2	0.4	8.0	9.7	145.3	4.18	105.1
		S.D.	±28	±10	±13	±1.5	±0.1	±0.6	±0.3	±0.5	±0.18	±1.9
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	57	131	130	22.6	0.5	7.7	10.2*	144.5	4.24	104.2
		S.D.	±27	±63	±15	±18.5	±0.3	±0.8	±0.3	±1.2	±0.47	±1.4
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	16	115	102	17.1	0.5	7.5	9.9	144.6	4.42	107.1
		S.D.	±4	±8	±12	±1.6	±0.1	±1.0	±0.3	±0.8	±0.31	±1.6
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	15	111	114	16.8	0.5	7.4	9.7	144.9	4.55	107.9
		S.D.	±6	±15	±7	±1.9	±0.1	±0.6	±0.3	±1.0	±0.16	±1.6
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	19	122	104	18.5	0.5	7.7	10.1	144.7	4.95	107.6
		S.D.	±6	±13	±20	±2.4	±0.1	±0.8	±0.3	±1.2	±0.90	±1.5
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	21	139*	99	17.5	0.4	7.4	9.9	144.6	4.49	107.7
		S.D.	±12	±17	±13	±2.5	±0.0	±1.1	±0.4	±0.6	±0.35	±1.3
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	23	164**	107	20.6	0.5	7.6	10.2	143.4	4.96	105.0
		S.D.	±5	±10	±10	±5.3	±0.2	±1.3	±0.6	±1.0	±1.41	±1.2

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Data for one male in the control group were eliminated from the Table 11 owing to a technical error on the anesthetic timing.

Table 12 Biochemical findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	T. Protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G ratio	T. Bilirubin (mg/dL)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	LDH (IU/L)	CPK (IU/L)	T. Cholesterol (mg/dL)	
Male	Control	N Mean S.D.	6 5.4 $\pm 0.3$	6 3.6 $\pm 0.1$	6 2.00 $\pm 0.20$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 83 $\pm 15$	6 21 $\pm 3$	6 0.2 $\pm 0.1$	6 237 $\pm 31$	6 115 $\pm 38$	6 117 $\pm 28$	6 52 $\pm 6$
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.4 $\pm 0.2$	6 3.8 $\pm 0.2$	6 2.39* $\pm 0.29$	6 0.0 $\pm 0.0$	6 77 $\pm 11$	6 19 $\pm 3$	6 0.3 $\pm 0.1$	6 266 $\pm 40$	6 101 $\pm 55$	6 139 $\pm 93$	6 59 $\pm 11$
	Female	Control	N Mean S.D.	6 5.9 $\pm 0.3$	6 4.2 $\pm 0.3$	6 2.55 $\pm 0.30$	6 0.1 $\pm 0.1$	6 79 $\pm 14$	6 18 $\pm 2$	6 173 $\pm 31$	6 75 $\pm 12$	6 77 $\pm 17$	6 61 $\pm 15$
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 5.9 $\pm 0.3$	6 4.2 $\pm 0.3$	6 2.49 $\pm 0.16$	6 0.0 $\pm 0.1$	6 71 $\pm 8$	6 15** $\pm 1$	6 0.3 $\pm 0.3$	6 151 $\pm 25$	6 65 $\pm 11$	6 69 $\pm 12$	6 83* $\pm 11$

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Table 12 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Triglycerides (mg/dL)	Phospholipids (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	IP (mg/dL)	Ca (mEq/L)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	38	95	123	15.1	0.4	7.1	9.9	146.0	4.25	105.9
		S.D.	±7	±7	±12	±1.8	±0.1	±0.5	±0.2	±1.0	±0.14	±2.3
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	54	106	125	17.5	0.4	7.4	10.0	146.0	4.16	106.3
		S.D.	±19	±16	±13	±3.4	±0.0	±0.3	±0.2	±0.8	±0.13	±1.5
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	14	126	103	18.7	0.5	6.4	10.1	144.2	4.62	107.6
		S.D.	±2	±22	±7	±2.3	±0.1	±0.4	±0.3	±1.0	±0.34	±1.8
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	25*	161*	119**	19.5	0.5	6.1	10.1	144.4	4.36	107.2
		S.D.	±8	±20	±9	±2.4	±0.0	±0.3	±0.1	±0.3	±0.21	±1.2

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Table 13 Necropsy findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Organs and findings	Sex Group and dose	Male					Female				
		Control		5 mg/kg	20 mg/kg	75 mg/kg	300 mg/kg	Control		5 mg/kg	20 mg/kg
		Number of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Digestive system											
Liver											
Hemorrhage, fresh		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Respiratory system											
Lung											
Coloration, light gray		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Coloration, dark red		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hematopoietic system											
Thymus											
Small		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Urinary system											
Kidney											
Spot, light gray		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Enlargement		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Endocrine system											
Thyroid											
Defect, unilateral		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Adrenal											
Enlargement		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Integumentary system											
Integument											
Crust		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 14 Necropsy findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

	Sex	Male		Female	
		Group and dose	Control	300 mg/kg	Control
Organs and findings	Number of animals	6	6	6	6
Integumentary system					
Integument					
Mass, light gray		0	0	0	1

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 15 Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Final body weight		Brain		Pituitary		Thyroids		Heart	
		(g)	(g)	(g/100gB. W.)	(mg)	(mg/100gB. W.)	(mg)	(mg/100gB. W.)	(g)	(g/100gB. W.)	
Male	Control	N Mean S.D.	6 364.2 ±22.8	6 2.11 ±0.05	6 0.58 ±0.03	6 12.1 ±1.3	6 3.3 ±0.3	6 23.5 ±3.4	6 6.5 ±0.8	6 1.37 ±0.12	6 0.38 ±0.03
	5 mg/kg	N Mean S.D.	6 365.6 ±34.4	6 2.11 ±0.05	6 0.58 ±0.06	6 12.2 ±1.3	6 3.3 ±0.3	6 26.2 ±2.6	6 7.2 ±1.2	6 1.40 ±0.16	6 0.38 ±0.03
	20 mg/kg	N Mean S.D.	6 379.2 ±34.0	6 2.11 ±0.08	6 0.56 ±0.04	6 12.7 ±1.6	6 3.4 ±0.3	6 24.0 ±3.3	6 6.3 ±0.7	6 1.43 ±0.23	6 0.38 ±0.06
	75 mg/kg	N Mean S.D.	6 374.4 ±23.2	6 2.09 ±0.06	6 0.56 ±0.03	6 11.6 ±1.2	6 3.1 ±0.3	6 25.4 ±2.4	6 6.8 ±0.7	6 1.40 ±0.18	6 0.37 ±0.05
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 342.6 ±55.3	6 2.07 ±0.08	6 0.62 ±0.12	6 11.5 ±1.1	6 3.4 ±0.6	6 22.5 ±2.8	6 6.6 ±0.8	6 1.28 ±0.19	6 0.38 ±0.02
#	Female Control	N Mean S.D.	6 228.9 ±25.2	6 1.96 ±0.06	6 0.86 ±0.08	6 14.5 ±0.9	6 6.4 ±1.0	6 18.2 ±2.9	6 8.0 ±1.4	6 0.87 ±0.09	6 0.38 ±0.03
	5 mg/kg	N Mean S.D.	6 235.2 ±12.8	6 2.00 ±0.06	6 0.85 ±0.05	6 15.0 ±2.4	6 6.3 ±0.8	6 17.6 ±3.3	6 7.5 ±1.3	6 0.90 ±0.08	6 0.38 ±0.03
	20 mg/kg	N Mean S.D.	6 241.3 ±23.9	6 2.02 ±0.08	6 0.84 ±0.08	6 14.8 ±1.8	6 6.2 ±1.0	6 20.0 ±2.1	6 8.3 ±1.2	6 0.92 ±0.11	6 0.38 ±0.01
	75 mg/kg	N Mean S.D.	6 232.5 ±10.3	6 1.96 ±0.08	6 0.84 ±0.04	6 14.9 ±1.8	6 6.4 ±0.8	6 21.4 ±2.9	6 9.2 ±1.3	6 0.91 ±0.07	6 0.39 ±0.02
	300 mg/kg	N Mean S.D.	6 218.1 ±14.4	6 1.94 ±0.03	6 0.89 ±0.05	6 14.1 ±1.2	6 6.5 ±0.5	6 19.6 ±3.8	6 9.0 ±1.5	6 0.83 ±0.12	6 0.38 ±0.04

Not significantly different from control.

Table 15 - continued    Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Lungs		Thymus		Liver		Spleen		Kidneys	
		(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.36	0.37	0.54	0.15	11.37	3.12	0.71	0.20	2.75
		S.D.	±0.12	±0.01	±0.13	±0.03	±1.14	±0.15	±0.06	±0.02	±0.31
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.46	0.40	0.62	0.17	11.56	3.18	0.71	0.19	2.80
		S.D.	±0.10	±0.04	±0.15	±0.03	±1.15	±0.30	±0.13	±0.02	±0.24
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.41	0.37	0.60	0.16	12.24	3.23	0.81	0.21	2.71
		S.D.	±0.09	±0.01	±0.16	±0.03	±1.02	±0.17	±0.07	±0.02	±0.18
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
47		Mean	1.38	0.37	0.57	0.15	12.96	3.46	0.85	0.23	2.63
		S.D.	±0.13	±0.04	±0.14	±0.04	±1.22	±0.18	±0.17	±0.06	±0.22
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.38	0.41	0.45	0.12	14.85**	4.37**	0.77	0.22	3.15
		S.D.	±0.17	±0.05	±0.19	±0.05	±1.73	±0.32	±0.20	±0.03	±0.58
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.15	0.50	0.49	0.22	6.82	2.98	0.55	0.24	1.73
		S.D.	±0.14	±0.03	±0.11	±0.03	±0.74	±0.10	±0.07	±0.02	±0.14
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.10	0.47	0.54	0.23	6.98	2.97	0.56	0.24	1.74
		S.D.	±0.08	±0.03	±0.16	±0.06	±0.55	±0.12	±0.11	±0.04	±0.12
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
47		Mean	1.16	0.48	0.53	0.22	7.62	3.16	0.58	0.24	1.89
		S.D.	±0.13	±0.01	±0.10	±0.02	±0.94	±0.20	±0.08	±0.02	±0.22
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.14	0.49	0.59	0.26	7.85*	3.38**	0.58	0.25	1.77
		S.D.	±0.07	±0.03	±0.08	±0.04	±0.54	±0.19	±0.06	±0.03	±0.13
47	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.12	0.51	0.42	0.19	9.31**	4.27**	0.61	0.28	1.91
		S.D.	±0.10	±0.04	±0.18	±0.08	±0.43	±0.17	±0.09	±0.04	±0.41

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Table 15 - continued    Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Sex	Group and dose	Adrenals		Seminal Vesicle		Epididymides		Testes		Ovaries	
		(mg)	(mg/100gB. W.)	(g)	(g/100gB. W.)	(g)	(g/100gB. W.)	(g)	(g/100gB. W.)	(mg)	(mg/100gB. W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	53.0	14.6	1.35	0.37	0.92	0.25	3.08	0.85	
		S.D.	±4.5	±2.0	±0.25	±0.06	±0.08	±0.02	±0.11	±0.05	
	5 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	50.2	13.7	1.45	0.40	0.93	0.25	3.10	0.85	
		S.D.	±8.4	±1.6	±0.16	±0.03	±0.06	±0.02	±0.30	±0.05	
	20 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	53.3	14.2	1.38	0.36	0.93	0.25	3.16	0.84	
		S.D.	±4.2	±1.9	±0.06	±0.04	±0.06	±0.03	±0.09	±0.08	
	75 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	55.5	14.9	1.20	0.32	0.94	0.25	3.18	0.85	
		S.D.	±9.1	±3.0	±0.20	±0.05	±0.06	±0.03	±0.14	±0.05	
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	57.8	17.9	1.29	0.38	0.87	0.26	3.07	0.91	
		S.D.	±10.9	±7.6	±0.30	±0.09	±0.09	±0.04	±0.32	±0.12	
Female	Control	N	6	6						6	6
		Mean	65.9	28.9						75.6	32.9
		S.D.	±5.6	±2.1						±12.9	±3.2
	5 mg/kg	N	6	6						6	6
		Mean	61.7	26.2						76.4	32.6
		S.D.	±5.5	±1.8						±7.0	±3.8
	20 mg/kg	N	6	6						6	6
		Mean	66.0	27.5						82.1	33.9
		S.D.	±5.5	±2.1						±18.4	±6.3
	75 mg/kg	N	6	6						6	6
		Mean	68.8	29.6						87.4	37.6
		S.D.	±8.8	±3.7						±8.5	±4.0
	300 mg/kg	N	6	6						6	6
		Mean	61.6	28.2						76.2	34.7
		S.D.	±10.4	±4.2						±16.5	±5.4

Not significantly different from control.

Table 16 Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Final body weight		Brain		Pituitary		Thyroids		Heart	
		(g)	(g)	(g/100gB. W.)	(mg)	(mg/100gB. W.)	(mg)	(mg/100gB. W.)	(g)	(g/100gB. W.)	
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	438.3	2.22	0.51	12.4	2.9	30.2	6.9	1.58	0.36
		S.D.	±26.8	±0.08	±0.04	±0.9	±0.3	±4.8	±1.0	±0.13	±0.04
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	429.2	2.19	0.51	12.8	3.0	26.8	6.2	1.54	0.36
		S.D.	±40.6	±0.08	±0.04	±0.9	±0.3	±6.9	±1.4	±0.12	±0.04
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	234.5	1.99	0.85	15.9	6.8	19.2	8.2	0.81	0.35
		S.D.	±19.5	±0.03	±0.07	±0.8	±0.5	±2.5	±1.1	±0.09	±0.03
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	260.5*	2.05	0.79	16.0	6.1	20.0	7.7	0.93	0.36
		S.D.	±19.7	±0.08	±0.05	±2.4	±0.6	±3.2	±1.0	±0.10	±0.02

\*: P&lt;0.05 (significantly different from control).

Table 16 - continued      Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Lungs		Thymus		Liver		Spleen		Kidneys	
		(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.53	0.35	0.55	0.13	13.08	2.99	0.84	0.19	3.03
		S.D.	±0.09	±0.02	±0.09	±0.02	±0.72	±0.15	±0.07	±0.02	±0.13
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.47	0.35	0.58	0.14	13.85	3.23**	0.89	0.21	3.26
		S.D.	±0.11	±0.01	±0.10	±0.02	±1.40	±0.09	±0.15	±0.02	±0.23
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.12	0.48	0.41	0.18	6.36	2.71	0.55	0.24	1.69
		S.D.	±0.09	±0.04	±0.06	±0.02	±0.54	±0.04	±0.06	±0.02	±0.12
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	1.14	0.44	0.50	0.19	8.08**	3.10**	0.69**	0.27	1.87*
		S.D.	±0.07	±0.03	±0.08	±0.02	±0.88	±0.18	±0.09	±0.04	±0.14

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

Table 16 - continued      Organ weights in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Adrenals		Seminal Vesicle		Epididymides		Testes		Ovaries	
		(mg)	(mg/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	61.6	14.0	1.49	0.34	1.23	0.28	3.29	0.75	
		S.D.	±11.8	±2.3	±0.18	±0.04	±0.04	±0.02	±0.24	±0.05	
	300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	60.3	14.1	1.56	0.37	1.16*	0.27	3.17	0.74	
		S.D.	±6.0	±1.6	±0.18	±0.05	±0.05	±0.03	±0.26	±0.09	
Female	Control	N	6	6					6	6	
		Mean	62.5	26.8					77.5	33.0	
		S.D.	±2.5	±2.0					±12.5	±3.8	
	300 mg/kg	N	6	6					6	6	
		Mean	65.3	25.0					86.9	33.3	
		S.D.	±12.7	±3.4					±17.3	±6.1	

\*: P&lt;0.05 (significantly different from control).

Table 17 Histopathological findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Organs and findings	Sex	Group and dose	Male																
			Control				20 mg/kg				75 mg/kg				300 mg/kg				
	Number of animals		6				6				6				6				
	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++
Digestive system																			
Liver																			
Degeneration, hepatocyte, fatty, periportal	6	0	0	0	0						6	0	0	0	0	6	0	0	0
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	6	0	0	0	0						6	0	0	0	0	2	4	0	0
Hypertrophy, hepatocyte, periportal	6	0	0	0	0						6	0	0	0	0	5	1	0	0
Respiratory system																			
Lung																			
Granuloma, foreign body, pleura	6	0	0	0	0						(0)					5	1	0	0
Accumulation, foam cell, focal	4	2	0	0	2						(0)					5	1	0	0
Mineralization, artery	6	0	0	0	0						(0)					5	1	0	0
Hematopoietic system																			
Thymus																			
Atrophy	6	0	0	0	0						(0)					5	0	(6)	1
Urinary system																			
Kidney																			
Hypertrophy, tubule, proximal	6	0	0	0	0						(0)					6	1	0	0
Tubule, basophilic	6	0	0	0	0						(0)					5	1	4	1
Cast, granular	6	0	0	0	0						(0)					0	5	1	0
Cast, proteinaceous	6	0	0	0	0						(0)					0	5	1	0
Dilatation, tubule, distal	6	0	0	0	0						(0)					5	1	0	0
Cyst, cortex	5	1	0	0	1						(0)					5	1	0	0
Cellular infiltration, neutrophil	6	0	0	0	0						(0)					5	1	0	0
Mineralization, corticomedullary	6	0	0	0	0						(0)					6	0	0	0
Genital system																			
Epididymis																			
Granuloma, spermatic	5	1	0	0	1						(0)					6	0	(6)	0
Integumentary system																			
Integument																			
Ulcer	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	(1)	0	0	1		(0)		(0)	

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

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

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Histopathological examination is not done in 5 mg/kg group (the lowest dose group).

There are no remarkable changes in the stomach, small intestine, large intestine, pancreas, trachea, mesenteric lymph node, spleen, bone marrow(femur), heart, urinary bladder, testis, seminal vesicle, pituitary, thyroid, adrenal, brain, spinal cord and sciatic nerve in control and 300 mg/kg groups.

Table 17 - continued Histopathological findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days

Organs and findings	Sex	Group and dose	Female																		
			Control					20 mg/kg					75 mg/kg					300 mg/kg			
	Number of animals		6		Total	6		Total	6		Total	6		Total	6		Total				
	-	+	++	+++		-	+	++	+++			-	+	++	+++		-	+	++	+++	
Digestive system																					
Liver					(6)																
Degeneration, hepatocyte, fatty, periportal	5	1	0	0	1																
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	6	0	0	0	0																
Hypertrophy, hepatocyte, periportal	6	0	0	0	0																
Respiratory system																					
Lung					(6)																
Granuloma, foreign body, pleura	6	0	0	0	0																
Accumulation, foam cell, focal	5	1	0	0	1																
Mineralization, artery	6	0	0	0	0																
Hematopoietic system																					
Thymus					(6)																
Atrophy	6	0	0	0	0																
Urinary system																					
Kidney					(6)																
Hypertrophy, tubule, proximal	6	0	0	0	0																
Tubule, basophilic	6	0	0	0	0																
Cast, granular	6	0	0	0	0																
Cast, proteinaceous	6	0	0	0	0																
Dilatation, tubule, distal	6	0	0	0	0																
Cyst, cortex	6	0	0	0	0																
Cellular infiltration, neutrophil	6	0	0	0	0																
Mineralization, corticomedullary	5	1	0	0	1																
Genital system																					
Epididymis						NA															
Granuloma, spermatic						NA															
Integumentary system																					
Integument						(0)															
Ulcer						0															

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

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

NA: not applicable.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Histopathological examination is not done in 5 mg/kg group (the lowest dose group).

There are no remarkable changes in the stomach, small intestine, large intestine, pancreas, trachea, mesenteric lymph node, spleen, bone marrow(femur), heart, urinary bladder, ovary, uterus, pituitary, thyroid, adrenal, brain, spinal cord and sciatic nerve in control and 300 mg/kg groups.

Table 18 Histopathological findings in rats treated orally with 2,4-Di-tert-butylphenol for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Organs and findings	Sex	Male												Female													
		Control						300 mg/kg						Control						300 mg/kg							
	Number of animals	6		6					6					6		6					6		6				
		-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	
Digestive system																											
Liver																											
Degeneration, hepatocyte, fatty, periportal	6	0	(6)	0	0	0	5	1	(6)	0	0	1	6	0	(6)	0	0	0	0	6	0	(6)	0	0	0	0	
Urinary system																											
Kidney																											
Tubule, basophilic	6	0	(6)	0	0	0	0	0	3	2	1	6**	6	0	(6)	0	0	0	0	5	1	(6)	0	0	0	1	
Cast, granular	6	0	0	0	0	0	2	4	0	0	4*	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0		
Cast, proteinaceous	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	2	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0		
Genital system																											
Mammary gland																											
Adenocarcinoma																											

\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01 (significantly different from control).

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

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.