
P-tert-ブチルトルエンのラットを用いる
28日間反復経口投与毒性試験および14日間回復試験

最 終 報 告 書

作成日 2001年5月15日

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

目 次

要約	11
緒言	13
方法		
1. 被験物質および媒体	13
2. 投与検体および濃度確認	13
3. 使用動物および飼育条件	14
4. 投与経路, 投与方法, 群構成, 投与量および投与期間	15
5. 観察および検査項目	16
6. 統計解析	18
結果		
1. 一般状態	19
2. 体重	19
3. 摂餌量	20
4. 摂水量	20
5. 尿検査	21
6. 血液学検査	22
7. 血液生化学検査	23
8. 剖検	23
9. 器官重量	24
10. 病理組織学検査	25
考察	28
文献	29

table, Table, Fig.,の目次

Table 1-1 ~ 1-3	General signs of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 34~ 36
Table 2-1 ~ 2-3	General signs of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 37~ 39
Table 3	Body weights of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 40
Table 4	Body weights of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 41
Table 5	Food consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 42
Table 6	Food consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 43
Table 7	Water consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 44
Table 8	Water consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 45
Table 9-1 ~ 9-2	Urinary examination of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 46~ 47
Table 10-1 ~10-2	Urinary examination of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 48~ 49
Table 11-1 ~11-2	Urinary examination of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 50~ 51
Table 12-1 ~12-2	Urinary examination of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 52~ 53
Table 13	Hematological examination of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl 54

Table 14	Hematological examination of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	55
Table 15	Hematological examination of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	56
Table 16	Hematological examination of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	57
Table 17	Blood chemical examination of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	58
Table 18	Blood chemical examination of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	59
Table 19	Blood chemical examination of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	60
Table 20	Blood chemical examination of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	61
Table 21	Necropsy findings of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	62
Table 22	Necropsy findings of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	63
Table 23	Necropsy findings of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	64
Table 24	Necropsy findings of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	65
Table 25	Organ weights of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	66
Table 26	Organ weights of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	67
Table 27	Organ weights of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	68

Table 28	Organ weights of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	69
Table 29-1 ~ 29-2	Histopathological findings of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	70~ 71
Table 30	Histopathological findings of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	72
Table 31	Histopathological findings of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	73
Table 32	Histopathological findings of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	74
Fig. 1	Chemical structure of toluene, p-tert-butyl	75
Fig. 2	Body weights of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	76
Fig. 3	Body weights of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	77
Fig. 4	Food consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	78
Fig. 5	Food consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	79
Fig. 6	Water consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	80
Fig. 7	Water consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl	81

要約

p-tert-ブチルトルエンを雌雄ラットに28日間経口投与し、その毒性について検討した。一部の動物については、14日間の回復期間を設けた。投与量は、50 mg/kg を最高用量とし、以下15、5 および 1.5 mg/kg とした。対照として媒体(コーンオイル)投与群を設けた。なお、各群の使用動物数は、投与期間終了時剖検例雌雄各6例と回復期間終了時剖検例雌雄各6例の雌雄各12例とした。

一般状態および死亡状況：死亡および瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。一般状態観察では、15 mg/kg 以上の群の雌雄で流涎が認められたが、毒性症状とはみなさなかった。

体重：投与に起因する変化はみられなかった。

摂餌量：15 mg/kg 群の雄と50 mg/kg 群の雌雄で投与期間の初期に摂餌量の低値がみられた。回復期間中は、投与に起因する変化はみられなかった。

摂水量：15 mg/kg 群の雄で投与期間の中期に摂水量の高値がみられた。50 mg/kg 群の雄で投与期間を通して摂水量の高値が、雌で投与期間の中期に摂水量の高値がみられた。回復期間中は、投与に起因する変化はみられなかった。

尿検査：15 mg/kg 群の雄で尿量の高値がみられた。50 mg/kg 群の雌雄で尿量の高値およびpHの低値傾向、雄で尿比重および蛋白質の低値あるいは低値傾向がみられた。回復期間終了前には、50 mg/kg 群の雄で尿量の高値、尿比重の低値がみられた。

血液学検査：5 mg/kg 群の雄でAPTTおよびフィブリノーゲン濃度の低値、15 mg/kg 群の雄でAPTTおよびフィブリノーゲン濃度の低値、雌でフィブリノーゲン濃度の低値、50 mg/kg 群の雄でAPTTおよびフィブリノーゲン濃度の低値、雌でフィブリノーゲン濃度の低値、PTの高値がみられた。これらの変動は、回復期間終了時にはほぼ消失したが、15 mg/kg 群の雄で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低値、50 mg/kg 群の雄で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低値、雌でヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低値がみられた。

血液生化学検査：5 mg/kg 群の雄で総蛋白およびトリグリセライドの低値、AST、尿素窒素および無機リンの高値がみられた。15 mg/kg 群の雄で総蛋白、アルブミン量およびトリグリセライドの低値、AST、A/G、総ビリルビン、尿素窒素および無機リンの高値、雌で総蛋白、アルブミン量、総コレステロール、トリグリセライドおよびCaの低値、 γ -GTPの高値、50 mg/kg 群の雄で総蛋白、アルブミン量、総コレステロール、トリグリセライドおよびNaの低値、AST、A/G、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニンおよび無機リンの高値、雌で総蛋白、アルブミン量、トリグリセライド、KおよびCaの低値、総コレステロールの低値傾向、 γ -GTP、総ビリルビンの高値がみられた。回復期間終了時には、これらの変化は消失した。

剖検所見：50 mg/kg 群の雄で両側精巣と両側精巣上体の萎縮が6例みられた。雌では、投与に起因する変化はみられなかった。回復期間終了時には、50 mg/kg 群の雄で両側精巣の萎縮が6例、両側精巣上体の萎縮が4例みられた。

器官重量：15 mg/kg 群の雄で肝臓の相対重量の高値がみられた。雌で肝臓の絶対重量ならび

に相対重量の高値，50 mg/kg 群の雄で精巣および精巣上体の絶対重量ならびに精巣の相対重量の低値，肝臓の絶対重量ならびに相対重量の高値，雌で卵巣の絶対重量の低値，肝臓の絶対重量ならびに肝臓，腎臓および副腎の相対重量の高値がみられた。回復期間終了時には，15 mg/kg 群の雌で肝臓の相対重量の高値，50 mg/kg 群の雄で精巣上体の絶対重量ならびに相対重量の低値，精巣の絶対重量ならびに相対重量の低値傾向，雌で肝臓の絶対重量ならびに相対重量の高値がみられた。

病理組織学検査：50 mg/kg 群の雄で肝臓に門脈周囲性肝細胞肥大が4例，精巣に精細管萎縮およびライディヒ細胞の過形成が6例，精巣上体の精巣上体管腔内の精子減少が6例みられた。雌で肝臓に門脈周囲性肝細胞肥大が1例みられた。回復期間終了時には，50 mg/kg 群の雄で精巣に精細管萎縮が6例，精巣上体の精巣上体管腔内の精子減少が6例みられた。

以上のことから，P-tert-ブチルトルエンは肝臓，腎臓，精巣，精巣上体，卵巣および副腎に影響を及ぼすことが示唆された。当試験条件下における P-tert-ブチルトルエンの一般毒性学的無影響量は，雄では5 mg/kg 投与により APTT およびフィブリノーゲン濃度の低値が認められたことから1.5 mg/kg/day，雌では15 mg/kg 投与によりフィブリノーゲン濃度の低値が認められたことから5 mg/kg/day と考えられる。

緒言

P-tert-ブチルトルエンが経口的に継続して人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、「新規化学物質に係る試験の方法について」の一部改正等について(スクリーニング毒性試験法の制定)の別添[ほ乳類を用いる 28 日間の反復投与毒性試験並びに細菌を用いる復帰突然変異試験及びほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験による変異原性試験](昭和 61 年 12 月 5 日環保業第 700 号, 薬発第 1039 号, 61 基局第 1014 号)に基づいて, P-tert-ブチルトルエンを雌雄ラットに 28 日間反復経口投与し, さらに一部の動物には 14 日間の回復期間を設けた反復投与による毒性について検討した。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質の P-tert-ブチルトルエン(CAS No. 98-51-1)は, Fig.1 に示す化学構造を有し, 分子量: 148.25, 融点: -41.4°C , 沸点: 193°C であり, 水に不溶, アセトンそして DMSO と混和する特異臭を有する無色透明な液体である。当試験には, 厚生省 生活衛生局企画課 生活化学安全対策室から提供されたものを用いた[製造元: _____, Lot No. _____, 純度: 95.93 % (GC 面積%), 不純物として, m-TBT(3.08 %), 水分(0.01 %)を含む]。入手後は, 試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温・遮光条件下で保管した。なお, 投与期間終了後に当試験施設での保管分を除いた残余被験物質は: _____ に返却し, その一部について分析した結果, 純度は 96.44 %であり, 問題はなかったことから使用期間中の安定性が確認された。

媒体として, コーンオイルを用いた。コーンオイル[片山化学工業株式会社, Lot No. A7955(入手日: 1999 年 7 月 22 日, 使用期限: 2004 年 7 月 21 日)]は, 入手後, 試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温条件下で保管した。

2. 投与検体および濃度確認

P-tert-ブチルトルエンは, 各濃度ごとにコーンオイルで希釈溶解して調製した。なお, 0.2, 2, 20 および 200 mg/mL の調製液は, 室温・遮光条件下で 7 日間保存しても安定性に問題のないことが確認されていたため¹⁾ (Attachment 1 および 2), 各濃度の調製液は調製後, 1 日分ごとに小分けし, 室温・遮光条件下で保管し, 調製後 7 日以内に使用した。投与後の残余投与検体は廃棄した。また, 調製に際して, 被験物質の純度による換算を実施した。

投与開始日および投与期間終了日に使用した各投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で高速液体クロマトグラフを用いて測定した。その結果, 被験物質濃度は表示濃度の 94.3~99.0 %であり, 濃度に問題はなかった(Attachment 3 および 4)。

3. 使用動物および飼育条件

3.1 動物種および系統

試験には、毒性試験に汎用されている Sprague-Dawley 系雌雄ラット[Crj:CD(SD)IGS, SPF]を用いた。動物は、2000年4月26日に日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から4週齢で雌雄各67匹を入手した。入手後1日の体重範囲は、雄が74~85g、雌が63~81gであった。

3.2 検疫および馴化, 群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、5日間の検疫期間およびその後7日間の馴化期間を設けた。この間に、3回の体重測定および毎日一般状態の観察を行った。一般状態および体重推移に異常がみられなかった動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与開始日に行った。なお、個々の動物の体重は、平均値の±20%以内に入るように考慮した。群分け後の残余動物のうち、検疫・馴化動物番号の若い順に雄2例を選び、飼育期間終了時に微生物モニタリング検査に用いた。その他の残余雄および残余雌は、投与開始日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄処分した。

動物の個体識別は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクによる記入法および色素塗布法を、群分け後は色素塗布法および耳パンチ法を併用して行った。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日および検疫・馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量および動物番号を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

3.3 環境条件および飼育管理

動物は、室温20~26℃(実測値:22~24℃)、湿度40~70%(実測値:46~67%)、明暗各12時間(照明:午前6時~午後6時)、換気回数12回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持されている飼育室(E棟3号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ(W:240×D:380×H:200mm)を用いて1ケージ当たり5匹までの雌雄別群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ(W:755×D:210×H:170mm)を用いて個別飼育した。ケージの受け皿および給水瓶の交換は1週間に2回以上、ステンレス製五連ケージおよび給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお、動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)および0.02%次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。飼育期間終了時に採血したモニタリング動物の血清検査において、感染を示唆するような異常はみられなかった。

3.4 飼料および飲料水

飼料は、入手後3か月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ、自由に摂取させた。使用した同一ロットの飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析セン

ターおよびオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ6か月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査結果は、いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路，投与方法，群構成，投与量および投与期間

4.1 投与経路および投与方法

p-tert-ブチルトルエンは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたポリプロピレン製ディスポーザブル注射筒(テルモ株式会社)を用いて、強制経口投与した。投与液量は、投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。投与時刻は午前9時13分～11時53分の間で、投与回数は1日1回とした。

投与開始日の週齢は雌雄とも6週齢であり、体重範囲は雄が161～188 g、雌が128～151 gであった。

4.2 群構成および投与量

群構成は、以下に示したように被験物質投与群として4群を設定し、その他に対照群を設けた。各群の動物数は、投与期間終了時剖検例雌雄各6例と回復期間終了時剖検例雌雄各6例の雌雄各12例とした。

群	試験群	投与量(濃度)	動物数(動物番号)	
			雄	雌
第1群	対照(コントロール)	0 mg/kg (0 mg/mL)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (M01101～M01112)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (F01151～F01162)
第2群	P-tert-ブチルトルエン	1.5 mg/kg (0.3 mg/mL)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (M02201～M02212)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (F02251～F02262)
第3群	P-tert-ブチルトルエン	5 mg/kg (1 mg/mL)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (M03301～M03312)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (F03351～F03362)
第4群	P-tert-ブチルトルエン	15 mg/kg (3 mg/mL)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (M04401～M04412)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (F04451～F04462)
第5群	P-tert-ブチルトルエン	50 mg/kg (10 mg/mL)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (M05501～M05512)	6 ¹⁾ +6 ²⁾ 12 (F05551～F05562)

1):投与期間終了時剖検匹数

2):回復期間終了時剖検匹数

投与量は、P-tert-ブチルトルエンのラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験¹⁾(投与段階:0, 1.5, 5, 15 および 50 mg/kg, 各群雌雄各12例)の結果により決定した。すなわち、死亡例が、15 mg/kg群で雌1例、50 mg/kg群で雄1例と雌6例認められた。また、5 mg/kg群

の雌および 15 mg/kg 以上の群の雌雄で体重の低値, 15 mg/kg 以上の群の雄で精巣および精巣上体の萎縮がみられた。そこで, 当試験の投与量は, 50 mg/kg を最高用量とし, 以下公比約 3 により 15, 5 および 1.5 mg/kg とした。また, 対照として媒体(コーンオイル)のみを同容量投与する群を設けた。

4.3 投与期間

投与期間は, 「新規化学物質に係る試験の方法について」の一部改正等について(スクリーニング毒性試験法の制定)の別添[ほ乳類を用いる 28 日間の反復投与毒性試験並びに細菌を用いる復帰突然変異試験及びほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験による変異原性試験]に準じて, 28 日間連続投与とした。また, 28 日間の投与後に一部の動物について 14 日間の回復期間を設けた。なお, 投与開始日を投与 1 日とし, 最終投与の翌日を回復 1 日とした。

5. 観察および検査項目

5.1 一般状態

一般状態および死亡の有無は, 投与期間中には投与前・後の 1 日 2 回ならびに回復期間中には毎日 1 回観察した。

5.2 体重測定

体重は, 投与期間中および回復期間中とも 1 週間に 2 回測定した(測定日: 投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 28 および 29 日(回復 1 日), 回復 4, 8, 11, 14 日および 15 日)。なお, 剖検前日の午後 4 時頃からは絶食とした。

5.3 摂餌量測定

摂餌量は, 投与期間中および回復期間中とも 1 週間に 1 回測定した(残量測定日: 投与 3, 10, 17 および 24 日, 回復 3 および 10 日)。

5.4 摂水量測定

摂水量は, 投与期間中および回復期間中とも 1 週間に 1 回測定した(残量測定日: 投与 3, 10, 17 および 24 日, 回復 3 および 10 日)。

5.5 尿検査

投与期間終了前に投与期間終了時の剖検用動物, 回復期間終了前に回復期間終了時の剖検用動物について, 採尿ケージを用いて絶食・給水下で 3 時間で採取した尿(3 時間尿)と引き続いて給餌・給水下で 21 時間で採取した尿(21 時間尿)ならびにそれらを合計した尿(24 時間尿)について, 以下の検査を実施した。なお, 検査後の尿は廃棄した。

3 時間尿: 色調は, 外観判定とした。pH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンは, 尿検査試験紙(ウロペーパー II 栄研 7, 栄研化学株式会社)に尿を滴下後に尿自動分析装置(US-2100, 栄研化学株式会社)を用いて検査した。尿沈渣は, 沈渣を尿沈渣

染色液(Sternheimer 変法, 和光純薬工業株式会社)で染色後に顕微鏡下で観察した。なお, 採尿は, 当日の検体投与後に行った。

21 時間尿: 比重(S.G.)を屈折率により屈折型尿比重計(ユリベット-IID, 株式会社ニコン)を用いて測定した。

24 時間尿: 尿量(UV)を比重と重量から算出した。

5.6 血液学検査

最終投与の翌日および回復期間終了後に, ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/kg)による麻酔下で腹大動脈からカニューレーションにより血液を採取し, 以下の血液学検査を実施した。なお, 測定後の残余血液は廃棄した。

赤血球数(RBC), ヘモグロビン量(HGB), ヘマトクリット値(HCT), 血小板数(PLT)および白血球数(WBC)は, EDTA-2K コーティングした Sysmex サンプルカップに採取した血液について, 多項目自動血球計数装置(Sysmex K-4500, シスメックス株式会社)を用いて測定した。さらに, 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)を算出した。

網状赤血球比率(RET)は, EDTA-2K 処理した血液を Brecher 法により超生体染色してスライドガラスに塗抹後, Giemsa 染色標本を作製して顕微鏡下で赤血球 1000 個中の網状赤球数を計数し, 算出した。

白血球百分率は, EDTA-2K 処理した血液をスライドガラスに塗抹し, May-Giemsa 染色標本を作製して顕微鏡下で白血球 100 個を分類計数した。

プロトロンビン時間(PT), 活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)およびフィブリノーゲン濃度(FIB)は, 血液を 3.13 %クエン酸ナトリウムで処理後, 遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm, 15 分間)して得た血漿について, 散乱光検出方式により血液凝固分析装置(コアグマスターII, 三共株式会社)を用いて測定した。

5.7 血液生化学検査

血液学検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm, 15 分間)して得た血清について, 以下の血液生化学検査を実施した。測定用の血清は測定時までには冷凍庫(-80 °C)内に保存し, 保存用血清は最終報告書提出時まで冷凍庫(-80 °C)内に保管した。

AST は MDH-UV 法, ALT は LDH-UV 法, ALP は p-ニトロフェニルリン酸基質法, γ -GTP は L- γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法, 総蛋白(TP)は Biuret 法, 総ビリルビン(T-Bil)は安定化ジアゾニウム塩法, 尿素窒素(UN)はウレアーゼ-GIDH 法, クレアチニン(CRE)はクレアチナーゼ・F-DAOS 法, ブドウ糖(Glu)はヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法, 総コレステロール(T-Cho)は COD-HDAOS 法, トリグリセライド(TG)は GPO-HDAOS 法, Ca は o-CPC 法, 無機リン(IP)は PNP・XDH 法, Na, K および Cl はイオン選択電極法により, いずれも生化学自動分析装置(AU 400, オリンパス光学工業株式会社)を用いて測定した。

アルブミン量(Alb)は総蛋白量および蛋白分画値[電気泳動法, 自動電気泳動装置(AES 310, オリンパス光学工業株式会社)]から, A/G(アルブミン/グロブリン)は蛋白分画値から算出した。

5.8 剖検

上記の 5.6 および 5.7 の項で採血した動物をさらに放血致死させた後に剖検した。脳(大脳、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体および卵巣は重量を測定した。なお、各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。ただし、下垂体および甲状腺は 20 %中性緩衝ホルマリンに 1 晩固定後測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、精囊、前立腺、子宮、腔、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、胸骨、大腿骨および乳腺とともに 20 %中性緩衝ホルマリンに固定した。ただし、精巣および精巣上体はブアン液に 2~3 時間固定後 90 %アルコールに再固定し、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンに 1 晩固定後 20 %中性緩衝ホルマリンに再固定した。

5.9 病理組織学検査

摘出した以下の器官・組織について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。

投与期間終了時剖検例の対照群および 50 mg/kg 群について、心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、リンパ節(下顎・腸間膜)、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、腔、下垂体、甲状腺、上皮小体、脳(大脳・小脳・延髄)、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨(胸骨・大腿骨)および骨髓(胸骨・大腿骨)について HE 染色組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。50 mg/kg 群の検査で対照群と比べて異常を示す動物数に差があると考えられた器官・組織については、投与期間終了時の 1.5, 5 および 15 mg/kg 群の雌雄の肝臓、回復期間終了時の対照群, 1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群の雌雄の肝臓、ならびに投与期間終了時の 1.5, 5 および 15 mg/kg 群の雄の精巣および精巣上体、回復期間終了時の対照群, 1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群の雄の精巣および精巣上体も同様に検査した。

6. 統計解析

有意差検定は下記に示したように、対照群と各投与群の間で行い、危険率を 5 %とし、5 %未満($p < 0.05$)と 1 %未満($p < 0.01$)とに分けて表示した。

〈検定方法〉

体重、摂餌量、摂水量、尿量、尿比重、血液学検査成績、血液生化学検査成績および器官の絶対および相対重量は、各群で平均値および標準偏差を算出した。その後、Bartlett 法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならば Dunnett 法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallis の検定)を行い、有意ならば順位を利用した Dunnett 型の検定法により行った。

病理組織学検査において、50 mg/kg 群で毒性学的影響が示唆され、他の用量群についても検査を実施した器官・組織の所見については、対照群との群間比較を上記の順位を利用した Dunnett 型の検定法を用いて行った。そこで対照群との間に有意差が認められた場合は、Cochran・Armitage の傾向検定を用いて用量反応性の検定を行った。

結果

1. 一般状態

1.1 投与期間

1.1.1 雄(Table 1-1 および 1-2, Appendix 1-1~1-5)

死亡および瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

一般状態観察において、対照群, 1.5 および 5 mg/kg 群では異常はみられなかった。15 mg/kg 群では、投与 7 日以降の投与後に一過性の流涎が 7 例みられた。50 mg/kg 群では、投与 3 日以降の投与後に一過性の流涎が 11 例みられた。

1.1.2 雌(Table 2-1 および 2-2, Appendix 2-1~2-5)

死亡および瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

一般状態観察において、対照群, 1.5 および 5 mg/kg 群では異常はみられなかった。15 mg/kg 群では、投与 7 日以降の投与後に一過性の流涎が 4 例みられた。50 mg/kg 群では、投与 3 日以降の投与後に一過性の流涎が 12 例みられた。

1.2 回復期間

1.2.1 雄(Table 1-3, Appendix 1-1~1-5)

死亡および瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

一般状態観察において、いずれの群にも異常はみられなかった。

1.2.2 雌(Table 2-3, Appendix 2-1~2-5)

死亡および瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

一般状態観察において、いずれの群にも異常はみられなかった。

2. 体重

2.1 投与期間

2.1.1 雄(Table 3, Fig.2, Appendix 3-1~3-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも、対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

2.1.2 雌(Table 4, Fig.3, Appendix 4-1~4-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも、対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

2.2 回復期間

2.2.1 雄(Table 3, Fig.2, Appendix 3-1~3-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも、対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみ

られなかった。

2.2.2 雌(Table 4, Fig.3, Appendix 4-1~4-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも, 対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

3. 摂餌量

3.1 投与期間

3.1.1 雄(Table 5, Fig.4, Appendix 5-1~5-5)

1.5 および 5 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。15 および 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 3 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

3.1.2 雌(Table 6, Fig.5, Appendix 6-1~6-5)

1.5 および 5 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 3 日に摂餌量の有意な低値がみられた。

なお, 15 および 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 17 日に摂餌量の有意な高値がみられたが, 一過性の変化であり, 毒性学的影響とは考えられなかった。

3.2 回復期間

3.2.1 雄(Table 5, Fig.4, Appendix 5-1~5-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも, 対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。

3.2.2 雌(Table 6, Fig.5, Appendix 6-1~6-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも, 対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。

4. 摂水量

4.1 投与期間

4.1.1 雄(Table 7, Fig.6, Appendix 7-1~7-5)

1.5 および 5 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定日の摂水量にも有意差はみられなかった。15 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 17 日に摂水量の有意な高値がみられた。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 3~24 日に摂水量の有意な高値がみられた。

4.1.2 雌(Table 8, Fig.7, Appendix 8-1~8-5)

1.5, 5 および 15 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定日の摂水量にも有意差はみられなかった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 10 日に摂水量の有意な高値がみられた。

4.2 回復期間

4.2.1 雄(Table 7, Fig.6, Appendix 7-1~7-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも, 対照群と比べていずれの測定日の摂水量にも有意差はみられなかった。

4.2.2 雌(Table 8, Fig.7, Appendix 8-1~8-5)

1.5, 5 および 50 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定日の摂水量にも有意差はみられなかった。なお, 15 mg/kg 群では, 対照群と比べて回復 10 日に摂水量の有意な低値がみられたが, 投与量に依存した変化ではないことから, 毒性学的影響とは考えられなかった。

5.尿検査

5.1 投与期間終了前

5.1.1 雄(Table 9-1 および 9-2, Appendix 9-1~9-5)

1.5 および 5 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿量および比重に有意差はみられなかった。15 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿量の有意な高値がみられた。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿量の有意な高値および尿比重の有意な低値がみられた。

色調, pH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンおよび沈渣は, 1.5, 5 および 15 mg/kg 群では対照群とほぼ同程度であった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて pH および蛋白質の低値傾向がみられた。

5.1.2 雌(Table 10-1 および 10-2, Appendix 10-1~10-5)

1.5 および 5 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿量および比重に有意差はみられなかった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿量の有意な高値がみられた。

なお, 15 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿比重の有意な高値がみられたが, 投与量に依存した変化ではなかった。

色調, pH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンおよび沈渣は, 1.5, 5 および 15 mg/kg 群では対照群とほぼ同程度であった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて pH の低値傾向がみられた。

5.2 回復期間終了前

5.2.1 雄(Table 11-1 および 11-2, Appendix 11-1~11-5)

1.5, 5 および 15 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿量および比重に有意差はみられなかった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて尿量の有意な高値および尿比重の有意な低値がみられた。

色調, pH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンおよび沈渣は, 1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも対照群とほぼ同程度であった。

5.2.2 雌(Table 12-1 および 12-2, Appendix 12-1~12-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも, 対照群と比べて尿量および比重に有意差はみられな

った。

色調, pH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンおよび沈渣は, 1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも対照群とほぼ同程度であった。

6. 血液学検査

6.1 投与期間終了時

6.1.1 雄(Table 13, Appendix 13-1~13-5)

1.5 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。5, 15 および 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて APTT およびフィブリノーゲン濃度の有意な低値がみられた。

なお, 15 および 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて MCH の有意な低値がみられたが, 赤血球数, ヘモグロビン量およびヘマトクリット値に差が認められなかったことから, 毒性学的影響とは考えられなかった。

6.1.2 雌(Table 14, Appendix 14-1~14-5)

1.5 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。15 mg/kg 群では, 対照群と比べてフィブリノーゲン濃度の有意な低値がみられた。50 mg/kg 群では, 対照群と比べてフィブリノーゲン濃度の有意な低値, PT の有意な高値がみられた。

その他, 5 mg/kg 群では, 対照群と比べて血小板数の有意な低値がみられた。15 mg/kg 群では, 対照群と比べて MCHC および血小板数の有意な低値がみられた。また, 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて MCH および MCHC の有意な低値がみられた。なお, 5 および 15 mg/kg 群で認められた血小板数の有意な低値は, 対照群との差はわずかであること, ならびに投与量に依存した変化ではないことから, 投与に基づく変化ではないと判断された。また, 15 mg/kg 群で認められた MCHC の有意な低値ならびに 50 mg/kg 群で認められた MCH および MCHC の有意な低値は, 赤血球数, ヘモグロビン量およびヘマトクリット値に差が認められなかったことから, 毒性学的影響とは考えられなかった。

6.2 回復期間終了時

6.2.1 雄(Table 15, Appendix 15-1~15-5)

1.5 および 5 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。15 および 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて赤血球数, ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の有意な低値がみられた。

6.2.2 雌(Table 16, Appendix 16-1~16-5)

1.5, 5 および 15 mg/kg 群では, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べてヘモグロビン量およびヘマトクリット値の有意な低値がみられた。

7. 血液生化学検査

7.1 投与期間終了時

7.1.1 雄(Table 17, Appendix 17-1~17-5)

1.5 mg/kg 群では、対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。5 mg/kg 群では、対照群と比べて総蛋白およびトリグリセライドの有意な低値、AST、尿素窒素および無機リンの有意な高値がみられた。15 mg/kg 群では、対照群と比べて総蛋白、アルブミン量およびトリグリセライドの有意な低値、AST、A/G、総ビリルビン、尿素窒素および無機リンの有意な高値がみられた。50 mg/kg 群では、対照群と比べて総蛋白、アルブミン量、総コレステロール、トリグリセライドおよびNaの有意な低値、AST、A/G、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニンおよび無機リンの有意な高値がみられた。

その他、5 mg/kg 群でALTの有意な高値が認められたが、対照群との差はわずかであること、ならびに投与量に依存した変化ではないことから、投与に基づく変化ではないと判断された。

7.1.2 雌(Table 18, Appendix 18-1~18-5)

1.5 および 5 mg/kg 群では、対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。15 mg/kg 群では、対照群と比べて総蛋白、アルブミン量、総コレステロール、トリグリセライドおよびCaの有意な低値、 γ -GTPの有意な高値がみられた。50 mg/kg 群では、対照群と比べて総蛋白、アルブミン量、トリグリセライド、KおよびCaの有意な低値、総コレステロールの低値傾向、 γ -GTPおよび総ビリルビンの有意な高値がみられた。

7.2 回復期間終了時

7.2.1 雄(Table 19, Appendix 19-1~19-5)

1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも、対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。

7.2.2 雌(Table 20, Appendix 20-1~20-5)

5, 15 および 50 mg/kg 群では、対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。1.5 mg/kg 群では、対照群と比べてブドウ糖の有意な低値がみられたが、対照群との差はわずかであること、ならびに投与量に依存した変化ではないことから、投与に基づく変化ではないと判断された。

8. 剖検

8.1 投与期間終了時

8.1.1 雄(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

対照群、1.5 および 5 mg/kg 群では、いずれにも異常はみられなかった。50 mg/kg 群では、両側精巣と両側精巣上体の萎縮が6例みられた。15 mg/kg 群では、右精巣上体尾部に黄白色結節が1例みられたが、投与量に依存した変化ではないことから、偶発例と判断された。また、50 mg/kg 群では、肝臓の褪色がみられたが、1例のみであった。

8.1.2 雌(Table 22, Appendix 22-1~22-5)

対照群, 1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも, いずれにも異常はみられなかった。

8.2 回復期間終了時

8.2.1 雄(Table 23, Appendix 23-1~23-5)

対照群, 1.5 および 15 mg/kg 群では, いずれにも異常はみられなかった。50 mg/kg 群では, 両側精巣の萎縮が 6 例, 両側精巣上体の萎縮が 4 例みられた。

その他, 5 mg/kg 群では, 両側精巣と両側精巣上体の萎縮が 1 例みられたが, 投与量に依存した変化ではないことから, 偶発例と判断された。

8.2.2 雌(Table 24, Appendix 24-1~24-5)

対照群, 1.5, 5 および 15 mg/kg 群では, いずれにも異常はみられなかった。50 mg/kg 群では, 右腎臓の小型化が 1 例みられたが, 投与期間終了時には認められなかった所見であることから, 偶発例と判断された。

9. 器官重量

9.1 投与期間終了時

9.1.1 雄(Table 25, Appendix 25-1~25-5)

剖検日の体重において, 1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

器官重量において, 1.5 および 5 mg/kg 群では対照群と比べて各器官の絶対重量ならびに相対重量に有意差はみられなかった。15 mg/kg 群では, 対照群と比べて肝臓の相対重量の有意な高値がみられた。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて精巣および精巣上体の絶対重量ならびに精巣の相対重量の有意な低値, 肝臓の絶対重量ならびに相対重量の有意な高値がみられた。

その他, 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて心臓の絶対重量の有意な低値がみられたが, 絶対重量と相対重量に関連した変化は認められないことから, 投与に基づく変化ではないと判断された。

9.1.2 雌(Table 26, Appendix 26-1~26-5)

剖検日の体重において, 1.5, 5 および 15 mg/kg 群では対照群と比べて有意差はみられなかった。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて剖検日の体重の有意な低値がみられた。

器官重量において, 1.5 および 5 mg/kg 群では対照群と比べて各器官の絶対重量ならびに相対重量に有意差はみられなかった。15 mg/kg 群では, 対照群と比べて肝臓の絶対重量ならびに相対重量の有意な高値がみられた。50 mg/kg 群では, 対照群と比べて卵巣の絶対重量の有意な低値, 肝臓の絶対重量ならびに肝臓, 腎臓および副腎の相対重量の有意な高値がみられた。

その他, 50 mg/kg 群では, 対照群と比べて胸腺の絶対重量の有意な低値がみられたが, 絶対重量と相対重量に関連した変化は認められないことから, 投与に基づく変化ではないと判断された。

9.2 回復期間終了時

9.2.1 雄(Table 27, Appendix 27-1~27-5)

剖検日の体重において、1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

器官重量において、1.5, 5 および 15 mg/kg 群では対照群と比べて各器官の絶対重量ならびに相対重量に有意差はみられなかった。50 mg/kg 群では、対照群と比べて精巣上体の絶対重量ならびに相対重量の有意な低値、精巣の絶対重量ならびに相対重量の低値傾向がみられた。

9.2.2 雌(Table 28, Appendix 28-1~28-5)

剖検日の体重において、1.5, 5, 15 および 50 mg/kg 群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

器官重量において、1.5 および 5 mg/kg 群では対照群と比べて各器官の絶対重量ならびに相対重量に有意差はみられなかった。15 mg/kg 群では、対照群と比べて肝臓の相対重量の有意な高値がみられた。50 mg/kg 群では、対照群と比べて肝臓の絶対重量ならびに相対重量の有意な高値がみられた。

10. 病理組織学検査

10.1 投与期間終了時

10.1.1 雄(Table 29-1 および 29-2, Appendix 29-1~29-5)

肝臓：50 mg/kg 群では、門脈周囲性肝細胞肥大が 4 例みられ(Photo 1), その程度はごく軽度～軽度であった。

精巣：50 mg/kg 群では、精細管萎縮およびライディヒ細胞の過形成が 6 例みられ(Photo 2), それらの程度は精細管萎縮が中等度, ライディヒ細胞の過形成がごく軽度であった。

精巣上体：50 mg/kg 群では、精巣上体管腔内の精子減少が 6 例みられ(Photo 3), その程度は高度であった。

なお、肝臓における門脈周囲性肝細胞肥大、精巣における精細管萎縮およびライディヒ細胞の過形成、精巣上体における精巣上体管腔内の精子減少は、50 mg/kg 群で対照群と比べて有意差が認められた。

その他の変化として以下に示した所見が得られた。

心臓：対照群では、限局性の組織球浸潤が 1 例みられた。50 mg/kg 群では、限局性の組織球浸潤が 1 例みられた。

肺：対照群では、結晶物質沈着が 1 例、泡沫細胞集簇が 1 例みられた。50 mg/kg 群では、泡沫細胞集簇が 3 例、細胞浸潤が 1 例みられた。

肝臓：対照群では、微小肉芽腫が 6 例、髓外造血が 1 例みられた。1.5 mg/kg 群では、微小肉芽腫が 5 例みられた。5 mg/kg 群では、微小肉芽腫が 5 例みられた。15 mg/kg 群では、微小肉芽腫が 2 例、肝細胞壊死巣が 1 例みられた。50 mg/kg 群では、微小肉芽腫が 1 例、髓外造血が 1 例、門脈周囲性肝細胞空胞化が 1 例みられた。

胃：対照群では、粘膜層、筋層、漿膜への炎症性細胞浸潤が 1 例みられた。

盲腸：50 mg/kg 群では、粘膜に炎症性細胞浸潤が1例みられた。

脾臓：対照群では、髓外造血が1例みられた。

腎臓：対照群では、尿細管上皮硝子滴変性が1例みられた。50 mg/kg 群では、尿細管上皮好塩基性変化が1例みられた。

精巣：15 mg/kg 群では、グループ3の精細管にステップ19精子細胞の残留が1例みられた。

精巣上皮：15 mg/kg 群では、間質に炎症細胞浸潤が1例、精子肉芽腫が2例みられた。

前立腺：対照群では、リンパ球様細胞浸潤が1例みられた。

なお、これらの変化は、対照群でも通常観察される変化であることから、偶発的変化と判断された。

その他には、対照群および50 mg/kg 群では、気管、膵臓、舌下腺、顎下腺、食道、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、胸腺、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、膀胱、精囊、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、大脳、小脳、延髄、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨(胸骨、大腿骨)、骨髓(胸骨、大腿骨)および乳腺に異常はみられなかった。

10.1.2 雌(Table 30, Appendix 30-1~30-5)

肝臓：50 mg/kg 群では、門脈周囲性肝細胞肥大が1例みられ、その程度はごく軽度であった。その他の変化として以下に示した所見が得られた。

心臓：対照群では、限局性の組織球浸潤が1例みられた。

肝臓：対照群では、微小肉芽腫が3例、門脈周囲性肝細胞の空胞化が4例みられた。1.5 mg/kg 群では、微小肉芽腫が2例、門脈周囲性肝細胞の空胞化が2例みられた。5 mg/kg 群では、微小肉芽腫が2例、門脈周囲性肝細胞の空胞化が1例みられた。15 mg/kg 群では、微小肉芽腫が2例、門脈周囲性肝細胞の空胞化が6例みられた。50 mg/kg 群では、門脈周囲性肝細胞の空胞化が5例みられた。

脾臓：対照群では、髓外造血が1例みられた。

腎臓：対照群では、限局性の尿細管拡張が1例、皮髓境界部に鈣質沈着が1例みられた。50 mg/kg 群では、尿細管上皮の空胞変性が1例みられた。

甲状腺：50 mg/kg 群では、異所性胸腺が1例みられた。

なお、これらの変化は、対照群でも通常観察される変化であることから、偶発的変化と判断された。

その他には、対照群および50 mg/kg 群では、肺、気管、膵臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、膀胱、卵巣、子宮、膈、下垂体、副腎、上皮小体、大脳、小脳、延髄、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨(胸骨、大腿骨)、骨髓(胸骨、大腿骨)および乳腺に異常はみられなかった。

10.2 回復期間終了時

10.2.1 雄(Table 31, Appendix 31-1~31-5)

精巣：50 mg/kg 群では、精細管萎縮が6例みられ、その程度はごく軽度~軽度であった。なお、5 mg/kg 群では、精細管萎縮が1例みられたが、15 mg/kg 群において認められなかったこ

とから偶発的变化と判断された。

精巣上体：50 mg/kg 群では，精巣上体管腔内の精子減少が6例みられ，その程度は高度であった。

なお，精巣における精細管萎縮，精巣上体における精巣上体管腔内の精子減少は，50 mg/kg 群で対照群と比べて有意差が認められた。

その他の変化として以下に示した所見が得られた。

肝臓：対照群では，微小肉芽腫が3例みられた。1.5 mg/kg 群では，微小肉芽腫が4例みられた。5 mg/kg 群では，微小肉芽腫が4例みられた。15 mg/kg 群では，微小肉芽腫が3例みられた。50 mg/kg 群では，微小肉芽腫が4例みられた。

なお，これらの変化は，対照群でも通常観察される変化であることから，偶発的变化と判断された。

10.2.2 雌(Table 32, Appendix 32-1~32-5)

肝臓：対照群では，微小肉芽腫が2例みられた。5 mg/kg 群では，微小肉芽腫が4例みられた。15 mg/kg 群では，微小肉芽腫が2例みられた。50 mg/kg 群では，微小肉芽腫が2例，門脈周囲性肝細胞の空胞化が1例みられた。

なお，これらの変化は，対照群でも通常観察される変化であることから，偶発的变化と判断された。

考察

P-tert-ブチルトルエンを雌雄ラットに28日間経口投与し、その毒性について検討した。一部の動物については、14日間の回復期間を設けた。投与量は、50 mg/kg を最高用量とし、以下15, 5 および 1.5 mg/kg とした。対照として媒体(コーンオイル)投与群を設けた。

死亡および瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

一般状態観察では、15 mg/kg 以上の群の雌雄で投与後に一過性の流涎がみられたが、流涎に関連すると考えられる他の変化はみられないことから、被験物質の刺激性に基づく変化と判断され、毒性症状とはみなさなかった。

体重推移には、投与に起因する変化はみられなかった。

摂餌量では、15 mg/kg 群の雄と 50 mg/kg 群の雌雄で投与期間の初期に摂餌量の低値がみられた。しかし、回復期間中には、この変化は消失した。

摂水量では、15 mg/kg 群の雄で投与期間の中期に摂水量の高値がみられた。50 mg/kg 群の雄で投与期間を通して摂水量の高値が、雌で投与期間の中期に摂水量の高値がみられた。しかし、回復期間中には、これらの変化は消失した。

尿検査では、15 mg/kg 群の雄で尿量の高値がみられた。50 mg/kg 群の雌雄で尿量の高値および pH の低値傾向、雄で尿比重および蛋白質の低値あるいは低値傾向がみられた。これらの変化は、摂水量の増加と関連した変化と考えられる。なお、回復期間終了前には、50 mg/kg 群の雄で尿量の高値および尿比重の低値がみられた。

血液学検査において、5 mg/kg 群の雄で APTT およびフィブリノーゲン濃度の低値、15 mg/kg 群の雄で APTT およびフィブリノーゲン濃度の低値、雌でフィブリノーゲン濃度の低値、50 mg/kg 群の雄で APTT およびフィブリノーゲン濃度の低値、雌でフィブリノーゲン濃度の低値、PT の高値がみられた。したがって、5 mg/kg 群の雄ならびに 15 mg/kg 以上の群の雌雄で凝固系に影響が認められ、肝臓における病理組織学変化との関連が窺われた。回復期間終了時には、15 および 50 mg/kg 群の雄で赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低値、50 mg/kg 群の雌でヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低値がみられ、投与期間終了時には認められなかった貧血を窺わせる変化が新たにみられた。

血液生化学検査において、5 mg/kg 群の雄で総蛋白およびトリグリセライドの低値、AST の高値がみられた。15 mg/kg 群の雄で総蛋白、アルブミン量およびトリグリセライドの低値、AST、A/G および総ビリルビンの高値、雌で総蛋白、アルブミン量、総コレステロールおよびトリグリセライドの低値、 γ -GTP の高値、50 mg/kg 群の雄で総蛋白、アルブミン量、総コレステロールおよびトリグリセライドの低値、AST、A/G および総ビリルビンの高値、雌で総蛋白、アルブミン量およびトリグリセライドの低値、総コレステロールの低値傾向、 γ -GTP、総ビリルビンの高値がみられた。器官重量では、15 mg/kg 群の雄で肝臓の相対重量の高値が、雌で肝臓の絶対重量ならびに相対重量の高値が、50 mg/kg 群の雄で肝臓の絶対重量ならびに相対重量の高値が、雌で肝臓の絶対重量ならびに相対重量の高値がみられた。また、病理組織学検査では、肝臓において 50 mg/kg 群で門脈周囲性肝細胞肥大が雌雄にみられており、P-tert-ブチルトルエンは肝臓に影響を及ぼすと考えられる。回復期間終了時には、上記の血液生化学検査の変化お

よび肝臓の病理組織学変化は消失したものの、15 mg/kg 群の雌で肝臓の相対重量の高値、50 mg/kg 群の雌で肝臓の絶対重量ならびに相対重量の高値がみられた。

血液生化学検査において、5 mg/kg 群の雄で尿素窒素および無機リンの高値、15 mg/kg 群の雄で尿素窒素および無機リンの高値、雌で Ca の低値、50 mg/kg 群の雄で Na の低値、尿素窒素、クレアチニンおよび無機リンの高値、雌で K および Ca の低値がみられた。また、50 mg/kg 群の雌で腎臓の相対重量の高値がみられた。したがって、腎臓の病理組織学的変化はみられないものの、P-tert-ブチルトルエンは腎臓に影響を及ぼすと考えられる。回復期間終了時には、上記の血液生化学検査の変化および雌における腎臓の相対重量の変化は消失した。

剖検において、投与期間終了時に 50 mg/kg 群の雄で両側精巣と両側精巣上体の萎縮が 6 例みられた。また、器官重量において、50 mg/kg 群の雄で精巣および精巣上体の絶対重量ならびに精巣の相対重量の低値がみられた。病理組織学検査においても、50 mg/kg 群の雄で精巣に精細管萎縮およびライディヒ細胞の過形成が 6 例、精巣上体に精巣上体管腔内の精子減少が 6 例みられた。以上のことから、P-tert-ブチルトルエンは精巣および精巣上体に影響を及ぼすと考えられる。回復期間終了時にも、50 mg/kg 群の雄で両側精巣の萎縮が 6 例、両側精巣上体の萎縮が 4 例みられた。50 mg/kg 群の雄で精巣上体の絶対重量ならびに相対重量の低値、精巣の絶対重量ならびに相対重量の低値傾向がみられた。病理組織学検査においても、50 mg/kg 群の雄で精巣に精細管萎縮が 6 例、精巣上体に精巣上体管腔内の精子減少が 6 例みられた。したがって、P-tert-ブチルトルエンによる精巣および精巣上体への影響は、14 日間の回復期間では回復しないと考えられる。

その他の器官には、投与期間終了時に器官重量において 50 mg/kg 群の雌で卵巣の絶対重量の低値、副腎の相対重量の高値がみられた。これらの器官には、病理組織学的変化はみられないものの、P-tert-ブチルトルエンの影響は否定できない。

以上のことから、P-tert-ブチルトルエンは肝臓、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣および副腎に影響を及ぼすことが示唆された。当試験条件下における P-tert-ブチルトルエンの一般毒性学的無影響量は、雄では 5 mg/kg 投与により APTT およびフィブリノーゲン濃度の低値が認められたことから 1.5 mg/kg/day、雌では 15 mg/kg 投与によりフィブリノーゲン濃度の低値が認められたことから 5 mg/kg/day と考えられる。

文献

- 1) : P-tert-ブチルトルエンの調製液の安定性確認試験(試験番号: 100918P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 2) : P-tert-ブチルトルエンのラットを用いる経口投与による簡易生殖毒性試験(試験番号: 100918)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)

Table 1-1 General signs of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of administration																													
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
toluene,p-tert-butyl	1.5	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	5	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
	15	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12	10	12	11	12	10	12	11	12	12	12	10	12	10	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	1	0	2	0	1	0	0	0	2	0	2	
	50	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
Normal		12	12	12	12	12	11	12	9	12	9	12	11	12	5	12	8	12	7	12	7	12	8	12	6	12	5	12	8	12	7	
Salivation		0	0	0	0	0	1	0	3	0	3	0	1	0	7	0	4	0	5	0	5	0	4	0	6	0	7	0	4	0	5	

Pre: before administration, Post: after administration.

Table 1-2 General signs of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of administration																				Total [‡]								
			16		17		18		19		20		21		22		23		24		25			26		27		28		29 ^{a)}	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-
toluene,p-tert-butyl	1.5	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-
	5	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	-
	15	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	9	12	8	12	10	12	9	12	10	12	8	12	10	12	10	12	10	12	11	12	9	12	8	12	10	12	12	-
Salivation		0	3	0	4	0	2	0	3	0	2	0	4	0	2	0	2	0	2	0	1	0	3	0	4	0	2	0	7	7	
50	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	Normal	12	4	12	4	12	7	12	3	12	5	12	3	12	5	12	4	12	5	12	6	12	5	12	5	12	6	12	12	-	
	Salivation	0	8	0	8	0	5	0	9	0	7	0	9	0	7	0	8	0	7	0	6	0	7	0	7	0	6	0	11	11	

Pre: before administration, Post: after administration.

a): Day 1 of recovery.

‡: Number of males showing abnormal signs at least once between days 1 and 29 of administration.

Table 1-3 General signs of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of recovery													
			2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Control	0	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
toluene,p-tert-butyl	1.5	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	5	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	15	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	50	Number of males	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Table 2-1 General signs of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration																													
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Control	0	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
toluene,p-tert-butyl	1.5	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	5	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	15	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	11	12	11	12	11	12	12	12	12	11	12	12	12	10	12	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	
	50	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Normal		12	12	12	12	12	11	12	9	12	8	12	10	12	5	12	8	12	4	12	6	12	7	12	5	12	5	12	6	12		
Salivation		0	0	0	0	0	1	0	3	0	4	0	2	0	7	0	4	0	8	0	6	0	5	0	7	0	7	0	6	0		

Pre: before administration, Post: after administration.

Table 2-2 General signs of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration																				Total [†]							
			16		17		18		19		20		21		22		23		24		25			26		27		28		29 ^{a)}
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre
Control	0	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
toluene,p-tert-butyl	1.5	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	5	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	15	Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	9	12	12	12	9	12	11	12	11	12	10	12	10	12	11	12	10	12	11	12	11	12	11	12	12	12	12
		Salivation	0	3	0	0	0	3	0	1	0	1	0	2	0	2	0	1	0	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	4
50		Number of females	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	4	12	8	12	5	12	5	12	6	12	2	12	3	12	3	12	5	12	7	12	7	12	4	12	6	12	-
		Salivation	0	8	0	4	0	7	0	7	0	6	0	10	0	9	0	9	0	7	0	5	0	5	0	8	0	6	0	12

Pre: before administration, Post: after administration.

a): Day 1 of recovery.

‡: Number of females showing abnormal signs at least once between days 1 and 29 of administration.

Table 2-3 General signs of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of recovery													
			2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Control	0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
toluene,p-tert-butyl	1.5	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	5	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	15	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	50	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Table 3 Body weights of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control	toluene,p-tert-butyl			
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of males	12	12	12	12	12
Days of administration					
1	174 ± 7	174 ± 7	174 ± 6	174 ± 7	174 ± 7
4	196 ± 9	194 ± 9	194 ± 10	192 ± 10	189 ± 14
8	227 ± 12	223 ± 14	224 ± 13	224 ± 14	221 ± 16
11	247 ± 14	244 ± 17	244 ± 16	246 ± 16	239 ± 18
15	278 ± 16	273 ± 19	273 ± 20	279 ± 20	271 ± 21
18	298 ± 19	291 ± 22	294 ± 23	301 ± 22	289 ± 22
22	321 ± 21	312 ± 25	316 ± 26	320 ± 26	307 ± 25
25	335 ± 22	326 ± 27	330 ± 29	333 ± 27	320 ± 26
28	349 ± 25	338 ± 27	342 ± 34	344 ± 29	327 ± 29
Number of males	6	6	6	6	6
Days of recovery					
1	350 ± 23	332 ± 32	345 ± 35	356 ± 41	332 ± 36
4	363 ± 24	345 ± 35	357 ± 34	371 ± 42	344 ± 40
8	384 ± 23	364 ± 36	374 ± 35	394 ± 43	364 ± 40
11	395 ± 22	373 ± 38	383 ± 31	406 ± 44	377 ± 39
14	405 ± 20	382 ± 36	392 ± 31	420 ± 43	386 ± 38

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 4 Body weights of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control	toluene,p-tert-butyl			
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of females	12	12	12	12	12
Days of administration					
1	141 ± 6	141 ± 6	140 ± 6	141 ± 6	141 ± 6
4	150 ± 8	152 ± 7	151 ± 6	150 ± 6	148 ± 7
8	166 ± 11	164 ± 9	165 ± 8	165 ± 8	164 ± 7
11	175 ± 11	173 ± 9	175 ± 8	175 ± 10	175 ± 7
15	189 ± 12	185 ± 10	188 ± 7	188 ± 12	187 ± 8
18	199 ± 15	194 ± 12	197 ± 10	199 ± 14	198 ± 12
22	211 ± 16	205 ± 12	208 ± 12	208 ± 16	204 ± 13
25	220 ± 16	213 ± 12	215 ± 12	214 ± 18	210 ± 14
28	226 ± 18	219 ± 11	222 ± 14	220 ± 19	212 ± 16
Number of females	6	6	6	6	6
Days of recovery					
1	221 ± 15	221 ± 10	224 ± 10	219 ± 19	212 ± 24
4	230 ± 18	227 ± 11	234 ± 15	228 ± 18	223 ± 16
8	239 ± 18	238 ± 12	241 ± 14	237 ± 15	233 ± 15
11	245 ± 17	241 ± 15	247 ± 14	240 ± 14	239 ± 13
14	249 ± 17	243 ± 16	248 ± 15	244 ± 17	249 ± 19

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 5 Food consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl				
mg/kg	0		1.5	5	15	50	
Number of males	12		12	12	12	12	
Days of administration							
3	19 ± 2		18 ± 1	18 ± 2	16 ± 2 **	16 ± 3 **	
10	20 ± 1		19 ± 2	19 ± 2	21 ± 2	22 ± 2	
17	22 ± 2		20 ± 2	21 ± 2	23 ± 3	23 ± 1	
24	20 ± 3		19 ± 2	21 ± 3	22 ± 3	21 ± 2	
Number of males	6		6	6	6	6	
Days of recovery							
3	23 ± 2		22 ± 1	23 ± 1	23 ± 3	21 ± 3	
10	25 ± 2		23 ± 2	23 ± 2	25 ± 3	23 ± 2	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control group (**: P<0.01).

Table 6 Food consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl			
	0		1.5	5	15	50
mg/kg	0		1.5	5	15	50
Number of females	12		12	12	12	12
Days of administration						
3	14 ± 1	13 ± 1	13 ± 2	13 ± 1	12 ± 2 *	
10	14 ± 2	14 ± 2	13 ± 1	16 ± 2	16 ± 2	
17	15 ± 1	15 ± 2	15 ± 1	17 ± 2 **	17 ± 2 *	
24	15 ± 1	14 ± 2	16 ± 2	16 ± 2	15 ± 1	
Number of females	6		6	6	6	6
Days of recovery						
3	18 ± 2	17 ± 3	18 ± 2	17 ± 2	18 ± 2	
10	20 ± 2	16 ± 2	17 ± 2	17 ± 3	18 ± 2	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 7 Water consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl			
	0		1.5	5	15	50
mg/kg	0		1.5	5	15	50
Number of males	12		12	12	12	12
Days of administration						
3	24 ± 2	24 ± 2	26 ± 3	25 ± 3	27 ± 4 *	
10	28 ± 4	28 ± 4	29 ± 5	31 ± 3	35 ± 3 **	
17	31 ± 4	32 ± 8	34 ± 7	38 ± 8 *	39 ± 5 **	
24	31 ± 4	32 ± 7	32 ± 8	35 ± 7	42 ± 5 **	
Number of males	6		6	6	6	6
Days of recovery						
3	34 ± 5	33 ± 6	36 ± 7	36 ± 6	40 ± 5	
10	37 ± 5	33 ± 5	36 ± 7	38 ± 6	38 ± 3	

Each value shows mean (mL/day) ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 8 Water consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl					
	0		1.5	5	15	50		
mg/kg	0		1.5	5	15	50		
Number of females	12		12	12	12	12		
Days of administration								
3	22 ± 3		20 ± 2	21 ± 3	20 ± 2	21 ± 4		
10	23 ± 4		22 ± 4	23 ± 3	24 ± 2	27 ± 4 *		
17	26 ± 5		24 ± 3	24 ± 4	24 ± 4	28 ± 5		
24	28 ± 6		25 ± 5	26 ± 5	24 ± 3	29 ± 6		
Number of females	6		6	6	6	6		
Days of recovery								
3	30 ± 6		26 ± 4	26 ± 4	24 ± 2	28 ± 2		
10	32 ± 4		26 ± 6	25 ± 4	22 ± 4 **	31 ± 7		

Each value shows mean (mL/day) ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 9-1 Urinary examination of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl			
	0	1.5	5	15	50	
mg/kg	0	1.5	5	15	50	
Number of males	6	6	6	6	6	
Volume (mL): Mean±S.D.	7.7 ± 3.2	9.5 ± 6.5	8.9 ± 4.2	15.4 ± 4.8 *	17.5 ± 3.5 **	
Specific gravity: Mean±S.D.	1.062 ± 0.018	1.049 ± 0.016	1.057 ± 0.014	1.045 ± 0.012	1.034 ± 0.006 **	
Color						
Light yellow	6	6	6	6	6	
pH						
5.5	0	0	0	0	1	
6.0	0	0	0	0	2	
6.5	0	0	0	0	1	
8.5	0	3	3	3	2	
9.0	6	3	3	3	0	
Protein						
10~20 mg/dL	0	0	1	1	1	
30 mg/dL	0	2	2	1	4	
100 mg/dL	6	3	2	4	1	
300 mg/dL	0	1	1	0	0	
Glucose						
Negative	6	6	6	6	6	
Ketone body						
Negative	1	2	2	2	4	
Slight	4	4	2	3	1	
Moderate	1	0	2	1	1	
Bilirubin						
Negative	6	6	6	6	6	
Occult blood						
Negative	5	6	6	6	6	
Trace	1	0	0	0	0	
Urobilinogen						
Normal	6	6	6	6	6	

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 9-2 Urinary examination of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	toluene,p-tert-butyl				
	Control	1.5	5	15	50
mg/kg	0				
Number of males	6	6	6	6	6
Urinary sediments					
Epithelial cells					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	5	6
21~100 cells/100 fields	0	0	0	1	0
Erythrocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Leukocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Casts					
Not observed	6	6	6	6	6
Crystals					
Not observed	4	4	5	3	4
Observed	2	2	1	3	2

Table 10-1 Urinary examination of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	toluene,p-tert-butyl				
	Control	1.5	5	15	50
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of females	6	6	6	6	6
Volume (mL): Mean±S.D.	8.7 ± 3.6	6.7 ± 2.6	7.5 ± 2.1	7.4 ± 1.4	15.6 ± 5.0 **
Specific gravity: Mean±S.D.	1.039 ± 0.015	1.049 ± 0.014	1.051 ± 0.004	1.059 ± 0.004 *	1.030 ± 0.004
Color					
Light yellow	6	6	6	6	6
pH					
5.5	0	0	0	0	1
6.0	0	0	0	2	0
6.5	0	0	0	0	2
7.0	0	1	0	1	0
7.5	0	0	1	0	2
8.0	0	1	1	1	0
8.5	5	2	4	1	1
9.0	1	2	0	1	0
Protein					
Negative	0	1	0	0	0
10~20 mg/dL	2	0	1	0	2
30 mg/dL	3	3	2	4	4
100 mg/dL	1	2	3	2	0
Glucose					
Negative	6	6	6	6	6
Ketone body					
Negative	5	3	5	1	5
Slight	1	3	1	5	1
Bilirubin					
Negative	6	6	6	6	6
Occult blood					
Negative	6	6	6	6	6
Urobilinogen					
Normal	6	6	6	6	6

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 10-2 Urinary examination of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	toluene,p-tert-butyl				
	Control	1.5	5	15	50
mg/kg	0				
Number of females	6	6	6	6	6
Urinary sediments					
Epithelial cells					
0~20 cells/100 fields	5	6	6	5	5
21~100 cells/100 fields	1	0	0	1	1
Erythrocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Leukocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Casts					
Not observed	6	6	6	6	6
Crystals					
Not observed	4	1	3	4	4
Observed	2	5	3	2	2

Table 11-1 Urinary examination of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl		
	0	1.5	5	15	50
mg/kg					
Number of males	6	6	6	6	6
Volume (mL): Mean±S.D.	10.4 ± 1.8	10.4 ± 3.6	17.5 ± 7.1	14.8 ± 5.3	20.2 ± 5.6 **
Specific gravity: Mean±S.D.	1.060 ± 0.009	1.056 ± 0.010	1.044 ± 0.020	1.049 ± 0.011	1.035 ± 0.011 **
Color					
Light yellow	6	6	6	6	6
pH					
8.0	0	0	0	1	1
8.5	3	0	5	3	4
9.0	3	6	1	2	1
Protein					
Negative	0	0	1	0	0
10~20 mg/dL	1	0	2	2	3
30 mg/dL	2	3	2	1	2
100 mg/dL	2	3	1	3	1
300 mg/dL	1	0	0	0	0
Glucose					
Negative	6	6	6	6	6
Ketone body					
Negative	4	3	5	3	6
Slight	2	3	1	3	0
Bilirubin					
Negative	6	6	6	6	6
Occult blood					
Negative	6	6	5	5	6
Trace	0	0	1	1	0
Urobilinogen					
Normal	6	6	6	6	6

Significantly different from control group (**: P<0.01).

Table 11-2 Urinary examination of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	toluene,p-tert-butyl				
	Control	1.5	5	15	50
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of males	6	6	6	6	6
Urinary sediments					
Epithelial cells					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Erythrocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Leukocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Casts					
Not observed	6	6	6	6	6
Crystals					
Not observed	0	3	3	2	3
Observed	6	3	3	4	3

Table 12-1 Urinary examination of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl			
	0	1.5	5	15	50	
mg/kg	0	1.5	5	15	50	
Number of females	6	6	6	6	6	
Volume (mL): Mean±S.D.	13.2 ± 4.3	8.8 ± 1.6	10.7 ± 2.8	8.9 ± 1.0	13.3 ± 4.3	
Specific gravity: Mean±S.D.	1.038 ± 0.018	1.053 ± 0.015	1.048 ± 0.015	1.049 ± 0.011	1.035 ± 0.009	
Color						
Light yellow	6	6	6	6	6	
pH						
6.0	1	0	0	0	2	
6.5	0	0	0	1	0	
7.0	0	0	1	0	0	
7.5	1	0	0	0	1	
8.0	0	0	0	1	0	
8.5	0	1	1	3	2	
9.0	4	5	4	1	1	
Protein						
Negative	0	0	2	0	2	
10~20 mg/dL	3	0	4	2	1	
30 mg/dL	3	5	0	2	3	
100 mg/dL	0	1	0	2	0	
Glucose						
Negative	6	6	6	6	6	
Ketone body						
Negative	6	6	6	3	5	
Slight	0	0	0	3	1	
Bilirubin						
Negative	6	6	6	6	6	
Occult blood						
Negative	6	6	5	6	6	
Trace	0	0	1	0	0	
Urobilinogen						
Normal	6	6	6	6	6	

Table 12-2 Urinary examination of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control	toluene,p-tert-butyl			
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of females	6	6	6	6	6
Urinary sediments					
Epithelial cells					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Erythrocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Leukocytes					
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6	6
Casts					
Not observed	6	6	6	6	6
Crystals					
Not observed	2	3	3	3	4
Observed	4	3	3	3	2

Table 13 Hematological examination of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl				
	0		1.5	5	15	50	
mg/kg							
Number of males	6		6	6	6	6	
RBC	(10 ³ /μL)	743 ± 22	751 ± 23	754 ± 30	708 ± 177	766 ± 21	
HGB	(g/dL)	14.7 ± 0.5	15.0 ± 0.5	14.7 ± 0.5	13.6 ± 3.3	14.5 ± 0.3	
HCT	(%)	43.4 ± 1.7	44.0 ± 1.5	43.9 ± 1.9	40.9 ± 9.4	43.3 ± 0.7	
MCV	(fL)	58.4 ± 0.8	58.7 ± 0.8	58.2 ± 0.8	58.1 ± 2.2	56.6 ± 1.0	
MCH	(pg)	19.7 ± 0.4	20.0 ± 0.3	19.5 ± 0.3	19.2 ± 0.3 *	19.0 ± 0.2 **	
MCHC	(g/dL)	33.8 ± 0.6	34.1 ± 0.2	33.6 ± 0.4	33.0 ± 0.9	33.5 ± 0.4	
PLT	(10 ⁴ /μL)	110.8 ± 6.3	105.2 ± 11.7	100.6 ± 18.5	100.5 ± 9.3	100.3 ± 8.4	
RET	(%)	33 ± 5	28 ± 4	30 ± 5	59 ± 66	28 ± 6	
PT	(sec.)	19.8 ± 5.7	18.2 ± 2.6	16.3 ± 2.1	17.0 ± 1.9	17.8 ± 1.1	
APTT	(sec.)	34.8 ± 4.8	33.9 ± 3.6	29.1 ± 2.2 *	29.2 ± 4.4 *	28.9 ± 1.6 *	
FIB	(mg/dL)	226 ± 14	211 ± 12	203 ± 20 *	190 ± 14 **	172 ± 13 **	
WBC	(10 ³ /μL)	57 ± 15	76 ± 38	71 ± 13	80 ± 42	79 ± 24	
Differential leukocyte (%)							
Lymphocyte		92.0 ± 4.7	91.7 ± 4.3	92.7 ± 2.6	89.3 ± 9.6	92.8 ± 2.9	
Neutrophil		7.3 ± 4.5	7.3 ± 4.7	6.2 ± 2.5	9.8 ± 8.5	6.2 ± 2.5	
Eosinophil		0.3 ± 0.5	0.5 ± 0.5	0.5 ± 0.8	0.5 ± 0.8	0.3 ± 0.5	
Basophil		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
Monocyte		0.3 ± 0.5	0.5 ± 0.5	0.7 ± 0.8	0.3 ± 0.5	0.7 ± 0.8	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 14 Hematological examination of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group mg/kg	Control		toluene,p-tert-butyl									
	0		1.5		5		15		50			
Number of females	6		6		6		6		6			
RBC (10 ⁴ /μL)	760 ± 53		762 ± 43		765 ± 32		788 ± 18		797 ± 86			
HGB (g/dL)	15.4 ± 0.7		15.3 ± 0.6		15.4 ± 0.6		15.4 ± 0.3		15.3 ± 1.9			
HCT (%)	44.1 ± 2.3		44.6 ± 2.3		45.1 ± 2.1		45.1 ± 0.7		45.1 ± 5.3			
MCV (fL)	58.1 ± 1.4		58.6 ± 1.1		58.9 ± 0.8		57.2 ± 1.2		56.6 ± 2.2			
MCH (pg)	20.3 ± 0.5		20.1 ± 0.4		20.1 ± 0.5		19.5 ± 0.6		19.2 ± 1.1 *			
MCHC (g/dL)	34.8 ± 0.2		34.3 ± 0.5		34.2 ± 0.5		34.0 ± 0.5 *		33.8 ± 0.6 **			
PLT (10 ⁴ /μL)	116.9 ± 9.3		109.0 ± 4.9		97.5 ± 9.6 *		98.0 ± 14.6 *		101.5 ± 14.5			
RET (%)	26 ± 4		26 ± 6		24 ± 6		22 ± 3		21 ± 3			
PT (sec.)	14.6 ± 0.8		14.8 ± 0.5		14.2 ± 0.3		15.5 ± 0.6		15.9 ± 0.8 **			
APTT (sec.)	24.6 ± 3.3		25.2 ± 1.9		23.2 ± 0.8		24.7 ± 2.2		26.8 ± 1.8			
FIB (mg/dL)	203 ± 14		212 ± 41		185 ± 16		150 ± 12 **		148 ± 16 **			
WBC (10 ² /μL)	85 ± 29		78 ± 23		64 ± 8		69 ± 12		62 ± 35			
Differential leukocyte (%)												
Lymphocyte	93.5 ± 1.5		94.5 ± 3.6		94.3 ± 2.3		95.2 ± 1.7		95.5 ± 2.3			
Neutrophil	5.5 ± 2.1		4.8 ± 3.3		4.7 ± 1.6		4.0 ± 1.8		3.7 ± 2.3			
Eosinophil	0.5 ± 0.8		0.2 ± 0.4		0.5 ± 0.5		0.5 ± 0.8		0.5 ± 0.5			
Basophil	0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0			
Monocyte	0.5 ± 0.5		0.5 ± 0.5		0.5 ± 0.5		0.3 ± 0.5		0.3 ± 0.5			

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 15 Hematological examination of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl				
	0		1.5	5	15	50	
mg/kg							
Number of males	6		6	6	6	6	
RBC	(10 ¹² /μL)	812 ± 19	805 ± 21	770 ± 35	769 ± 34 *	762 ± 29 *	
HGB	(g/dL)	15.3 ± 0.6	15.1 ± 0.3	14.7 ± 0.5	14.4 ± 0.5 *	14.2 ± 0.5 **	
HCT	(%)	45.3 ± 1.6	44.6 ± 1.0	43.7 ± 1.4	42.8 ± 1.3 *	42.5 ± 1.2 **	
MCV	(fL)	55.8 ± 1.5	55.4 ± 0.7	56.8 ± 2.2	55.7 ± 1.7	55.8 ± 0.9	
MCH	(pg)	18.8 ± 0.5	18.7 ± 0.2	19.1 ± 1.0	18.8 ± 0.7	18.6 ± 0.6	
MCHC	(g/dL)	33.7 ± 0.5	33.8 ± 0.2	33.7 ± 0.6	33.7 ± 0.4	33.4 ± 0.6	
PLT	(10 ⁹ /μL)	105.0 ± 13.6	98.3 ± 6.4	108.2 ± 12.4	112.5 ± 7.2	105.6 ± 7.7	
RET	(%)	35 ± 3	32 ± 7	31 ± 8	35 ± 6	38 ± 5	
PT	(sec.)	16.1 ± 2.0	15.9 ± 1.8	16.9 ± 2.1	17.5 ± 3.9	16.1 ± 2.0	
APTT	(sec.)	32.9 ± 3.7	31.4 ± 2.4	33.6 ± 3.0	33.1 ± 2.3	34.8 ± 2.7	
FIB	(mg/dL)	236 ± 16	223 ± 18	233 ± 22	235 ± 14	221 ± 16	
WBC	(10 ⁹ /μL)	75 ± 19	81 ± 26	71 ± 17	74 ± 16	67 ± 19	
Differential leukocyte (%)							
Lymphocyte		94.0 ± 4.0	92.7 ± 3.0	93.0 ± 2.8	93.7 ± 2.6	94.0 ± 1.1	
Neutrophil		5.0 ± 3.6	6.3 ± 3.7	6.3 ± 2.6	5.7 ± 2.5	5.0 ± 1.3	
Eosinophil		0.3 ± 0.5	0.5 ± 0.8	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.5 ± 0.5	
Basophil		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
Monocyte		0.7 ± 0.8	0.5 ± 0.8	0.3 ± 0.5	0.5 ± 0.8	0.5 ± 0.5	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 16 Hematological examination of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl									
	0		1.5		5		15		50			
mg/kg												
Number of females	6		6		6		6		6			
RBC (10 ⁴ /μL)	795 ± 32		804 ± 37		776 ± 15		783 ± 23		765 ± 33			
HGB (g/dL)	15.4 ± 0.3		15.4 ± 0.4		15.1 ± 0.3		15.2 ± 0.4		14.4 ± 0.5 **			
HCT (%)	44.5 ± 1.4		44.7 ± 1.2		43.9 ± 0.7		44.4 ± 1.4		41.9 ± 1.5 **			
MCV (fL)	55.9 ± 1.5		55.7 ± 1.2		56.6 ± 1.4		56.7 ± 0.8		54.8 ± 1.1			
MCH (pg)	19.3 ± 0.6		19.2 ± 0.6		19.5 ± 0.4		19.4 ± 0.3		18.8 ± 0.6			
MCHC (g/dL)	34.6 ± 0.5		34.4 ± 0.5		34.4 ± 0.3		34.3 ± 0.3		34.3 ± 0.4			
PLT (10 ⁴ /μL)	113.6 ± 8.3		101.4 ± 9.5		107.3 ± 7.7		100.7 ± 10.2		102.0 ± 8.5			
RET (%)	26 ± 4		31 ± 5		25 ± 5		26 ± 5		30 ± 4			
PT (sec.)	14.8 ± 0.4		14.3 ± 0.6		14.5 ± 0.5		14.7 ± 0.5		14.1 ± 0.8			
APTT (sec.)	22.6 ± 1.7		24.2 ± 1.9		22.4 ± 2.0		23.0 ± 1.6		23.8 ± 1.1			
FIB (mg/dL)	204 ± 14		202 ± 12		203 ± 26		192 ± 10		198 ± 13			
WBC (10 ² /μL)	52 ± 8		66 ± 20		57 ± 17		61 ± 17		73 ± 15			
Differential leukocyte (%)												
Lymphocyte	95.3 ± 1.8		94.2 ± 3.3		94.2 ± 3.5		95.5 ± 1.9		96.7 ± 0.8			
Neutrophil	3.8 ± 1.5		5.0 ± 3.0		5.3 ± 3.6		3.7 ± 1.6		2.7 ± 0.8			
Eosinophil	0.2 ± 0.4		0.5 ± 0.5		0.2 ± 0.4		0.3 ± 0.5		0.3 ± 0.8			
Basophil	0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0		0.0 ± 0.0			
Monocyte	0.7 ± 0.5		0.3 ± 0.5		0.3 ± 0.5		0.5 ± 0.8		0.3 ± 0.5			

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (**: P<0.01).

Table 17 Blood chemical examination of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl				
	0		1.5	5	15	50	
mg/kg							
Number of males	6		6	6	6	6	
AST (IU/L)	74.8 ± 9.0		80.0 ± 8.6	97.5 ± 13.1 **	95.1 ± 7.4 *	107.2 ± 14.6 **	
ALT (IU/L)	29.8 ± 5.6		29.2 ± 4.8	41.1 ± 9.6 *	33.7 ± 4.1	35.8 ± 9.6	
ALP (IU/L)	571.3 ± 100.1		535.1 ± 54.9	644.1 ± 118.2	619.3 ± 133.8	581.5 ± 103.9	
γ-GTP (IU/L)	0.61 ± 0.17		0.56 ± 0.06	0.54 ± 0.15	0.58 ± 0.19	0.70 ± 0.11	
TP (g/dL)	5.2 ± 0.2		5.1 ± 0.2	4.9 ± 0.2 *	4.6 ± 0.2 **	4.5 ± 0.2 **	
Alb (g/dL)	2.82 ± 0.08		2.79 ± 0.11	2.69 ± 0.08	2.62 ± 0.14 **	2.58 ± 0.08 **	
A/G	1.18 ± 0.08		1.24 ± 0.09	1.24 ± 0.07	1.36 ± 0.07 **	1.34 ± 0.09 **	
T-Bil (mg/dL)	0.11 ± 0.02		0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02 **	0.18 ± 0.03 **	
UN (mg/dL)	10.8 ± 1.6		12.3 ± 2.0	15.0 ± 2.3 **	14.2 ± 2.1 *	27.2 ± 2.6 **	
CRE (mg/dL)	0.26 ± 0.02		0.24 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.25 ± 0.03	0.33 ± 0.04 **	
Glu (mg/dL)	107.7 ± 11.9		112.6 ± 8.4	111.5 ± 3.3	124.0 ± 10.9	114.4 ± 9.4	
T-Cho (mg/dL)	42.6 ± 6.7		49.0 ± 9.4	42.7 ± 4.9	34.1 ± 7.4	28.0 ± 7.0 **	
TG (mg/dL)	51.6 ± 19.3		39.7 ± 20.5	25.1 ± 11.7 *	14.0 ± 8.5 **	13.6 ± 10.3 **	
Na (mEq/L)	147.1 ± 1.0		147.4 ± 1.4	146.5 ± 1.9	146.4 ± 1.2	144.2 ± 1.2 **	
K (mEq/L)	4.48 ± 0.08		4.57 ± 0.25	4.63 ± 0.14	4.56 ± 0.34	4.53 ± 0.21	
Cl (mEq/L)	107.9 ± 1.7		107.8 ± 1.3	107.7 ± 2.0	109.8 ± 1.9	108.1 ± 1.0	
Ca (mg/dL)	9.5 ± 0.2		9.4 ± 0.3	9.3 ± 0.3	9.2 ± 0.3	9.0 ± 0.3	
IP (mg/dL)	7.7 ± 0.4		8.1 ± 0.6	8.4 ± 0.3 *	8.4 ± 0.3 *	8.8 ± 0.5 **	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 18 Blood chemical examination of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	mg/kg	toluene,p-tert-butyl				
		Control	1.5	5	15	50
Number of females		0	6	6	6	6
AST	(IU/L)	85.1 ± 12.6	81.0 ± 7.2	86.4 ± 14.0	87.1 ± 13.3	94.5 ± 13.1
ALT	(IU/L)	22.1 ± 3.9	23.8 ± 8.0	23.4 ± 2.2	21.5 ± 2.8	22.9 ± 4.0
ALP	(IU/L)	387.3 ± 57.9	365.1 ± 81.9	395.9 ± 56.2	390.3 ± 79.5	380.9 ± 62.1
γ-GTP	(IU/L)	0.69 ± 0.13	0.81 ± 0.22	1.06 ± 0.16	1.96 ± 0.57 **	2.58 ± 1.32 **
TP	(g/dL)	5.3 ± 0.4	5.3 ± 0.3	5.3 ± 0.2	4.8 ± 0.2 **	4.8 ± 0.2 *
Alb	(g/dL)	3.08 ± 0.24	2.94 ± 0.32	2.98 ± 0.14	2.73 ± 0.14 *	2.72 ± 0.14 *
A/G		1.36 ± 0.04	1.26 ± 0.19	1.32 ± 0.08	1.34 ± 0.07	1.30 ± 0.05
T-Bil	(mg/dL)	0.13 ± 0.01	0.16 ± 0.04	0.14 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.20 ± 0.03 **
UN	(mg/dL)	14.3 ± 1.7	15.0 ± 0.9	13.6 ± 1.9	13.6 ± 2.4	21.6 ± 8.1
CRE	(mg/dL)	0.27 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.26 ± 0.04	0.27 ± 0.03	0.30 ± 0.04
Glu	(mg/dL)	103.6 ± 13.8	105.7 ± 5.7	115.7 ± 7.4	114.6 ± 10.4	120.7 ± 17.2
T-Cho	(mg/dL)	50.3 ± 5.6	48.5 ± 7.5	59.5 ± 9.5	34.8 ± 8.8 *	36.4 ± 16.3
TG	(mg/dL)	25.8 ± 9.2	20.0 ± 8.0	19.8 ± 6.4	8.5 ± 2.0 **	10.1 ± 2.2 *
Na	(mEq/L)	146.9 ± 1.4	147.5 ± 0.9	147.0 ± 1.2	145.8 ± 1.2	147.0 ± 2.4
K	(mEq/L)	4.48 ± 0.15	4.33 ± 0.14	4.35 ± 0.22	4.30 ± 0.23	4.04 ± 0.17 **
Cl	(mEq/L)	107.2 ± 0.7	108.7 ± 1.0	108.4 ± 0.7	107.8 ± 1.6	109.0 ± 2.4
Ca	(mg/dL)	10.1 ± 0.3	9.9 ± 0.1	9.8 ± 0.3	9.3 ± 0.2 **	9.6 ± 0.3 **
IP	(mg/dL)	8.0 ± 0.3	7.9 ± 0.6	7.5 ± 0.9	8.5 ± 0.4	8.1 ± 0.5

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 19 Blood chemical examination of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group mg/kg	Control		toluene,p-tert-butyl				
	0		1.5	5	15	50	
Number of males	6		6	6	6	6	
AST (IU/L)	86.8 ± 15.0	85.0 ± 6.5	83.2 ± 12.9	93.4 ± 9.0	78.8 ± 11.2		
ALT (IU/L)	30.6 ± 4.5	32.7 ± 6.8	30.9 ± 3.9	32.9 ± 4.1	28.2 ± 2.6		
ALP (IU/L)	478.8 ± 77.8	478.5 ± 48.4	499.1 ± 107.4	426.7 ± 61.7	446.9 ± 68.3		
γ-GTP (IU/L)	0.49 ± 0.07	0.54 ± 0.20	0.42 ± 0.19	0.57 ± 0.13	0.53 ± 0.17		
TP (g/dL)	5.4 ± 0.2	5.2 ± 0.2	5.3 ± 0.2	5.3 ± 0.2	5.2 ± 0.2		
Alb (g/dL)	2.84 ± 0.11	2.82 ± 0.19	2.77 ± 0.14	2.79 ± 0.13	2.74 ± 0.12		
A/G	1.11 ± 0.05	1.20 ± 0.14	1.11 ± 0.06	1.14 ± 0.05	1.12 ± 0.03		
T-Bil (mg/dL)	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.02		
UN (mg/dL)	15.9 ± 2.0	15.6 ± 1.1	16.5 ± 2.2	16.5 ± 2.5	18.0 ± 2.1		
CRE (mg/dL)	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.03	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.04		
Glu (mg/dL)	112.2 ± 8.9	109.6 ± 10.4	116.1 ± 9.9	112.2 ± 10.3	112.4 ± 6.7		
T-Cho (mg/dL)	59.3 ± 15.1	48.8 ± 8.0	49.5 ± 9.4	60.7 ± 15.5	61.6 ± 10.7		
TG (mg/dL)	46.0 ± 20.6	45.2 ± 31.2	46.5 ± 21.0	49.3 ± 25.3	39.4 ± 11.1		
Na (mEq/L)	148.3 ± 1.1	147.9 ± 1.6	148.5 ± 0.5	148.7 ± 1.0	147.8 ± 1.2		
K (mEq/L)	4.52 ± 0.21	4.51 ± 0.35	4.52 ± 0.22	4.45 ± 0.24	4.48 ± 0.23		
Cl (mEq/L)	108.4 ± 1.1	107.5 ± 1.7	108.1 ± 0.5	107.8 ± 0.5	108.0 ± 1.1		
Ca (mg/dL)	9.5 ± 0.1	9.6 ± 0.2	9.6 ± 0.1	9.6 ± 0.2	9.7 ± 0.2		
IP (mg/dL)	7.3 ± 0.7	7.7 ± 0.5	7.6 ± 0.6	7.8 ± 0.4	7.9 ± 0.4		

Each value shows mean ± S.D.

Table 20 Blood chemical examination of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group mg/kg	toluene,p-tert-butyl				
	Control 0	1.5	5	15	50
Number of females	6	6	6	6	6
AST (IU/L)	93.7 ± 15.8	89.8 ± 11.0	90.3 ± 7.8	83.1 ± 11.9	85.5 ± 11.5
ALT (IU/L)	25.1 ± 5.8	22.9 ± 3.7	24.8 ± 4.6	24.5 ± 6.4	24.7 ± 3.8
ALP (IU/L)	318.6 ± 59.9	261.6 ± 101.4	327.9 ± 154.5	298.7 ± 103.4	269.2 ± 76.3
γ-GTP (IU/L)	0.85 ± 0.23	0.68 ± 0.22	0.78 ± 0.24	1.19 ± 0.52	1.06 ± 0.28
TP (g/dL)	5.8 ± 0.5	5.8 ± 0.2	5.7 ± 0.4	5.5 ± 0.3	5.5 ± 0.3
Alb (g/dL)	3.21 ± 0.26	3.19 ± 0.17	3.14 ± 0.23	3.06 ± 0.20	3.09 ± 0.17
A/G	1.26 ± 0.12	1.24 ± 0.09	1.23 ± 0.15	1.24 ± 0.03	1.27 ± 0.09
T-Bil (mg/dL)	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.01
UN (mg/dL)	17.3 ± 3.2	18.2 ± 1.9	19.5 ± 2.4	16.7 ± 1.8	18.7 ± 2.3
CRE (mg/dL)	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.32 ± 0.04
Glu (mg/dL)	113.8 ± 11.0	98.3 ± 4.8 *	111.5 ± 1.8	110.5 ± 7.5	111.4 ± 7.5
T-Cho (mg/dL)	62.4 ± 4.7	63.7 ± 15.1	74.0 ± 19.4	59.6 ± 13.4	83.2 ± 16.2
TG (mg/dL)	16.8 ± 7.1	16.6 ± 7.0	34.4 ± 25.9	29.7 ± 14.1	22.8 ± 6.8
Na (mEq/L)	149.7 ± 0.8	149.0 ± 0.7	150.1 ± 1.5	149.2 ± 1.5	149.9 ± 1.2
K (mEq/L)	4.48 ± 0.18	4.49 ± 0.40	4.45 ± 0.28	4.34 ± 0.18	4.19 ± 0.15
Cl (mEq/L)	109.1 ± 0.6	109.6 ± 0.8	109.6 ± 0.9	109.6 ± 1.2	109.4 ± 0.6
Ca (mg/dL)	10.1 ± 0.2	10.1 ± 0.2	10.0 ± 0.3	10.0 ± 0.3	10.2 ± 0.2
IP (mg/dL)	7.7 ± 0.5	7.9 ± 0.6	7.8 ± 0.5	7.9 ± 0.6	7.9 ± 0.8

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05).

Table 21 Necropsy findings of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	toluene,p-tert-butyl				
	Control	1.5	5	15	50
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of males	6	6	6	6	6
Findings					
Normal	6	6	6	5	0
Liver					
Pale in color	0	0	0	0	1
Testis					
Atrophy (right and left)	0	0	0	0	6
Epididymis					
Atrophy (right and left)	0	0	0	0	6
Yellow white nodule (cauda, right)	0	0	0	1	0

Table 22 Necropsy findings of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control	toluene,p-tert-butyl			
		mg/kg	1.5	5	15
Number of females	6	6	6	6	6
Findings					
Normal	6	6	6	6	6

Table 23 Necropsy findings of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl

Group	Control		toluene, p-tert-butyl		
	0	1.5	5	15	50
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of males	6	6	6	6	6
Findings					
Normal	6	6	5	6	0
Testis					
Atrophy (right and left)	0	0	1	0	6
Epididymis					
Atrophy (right and left)	0	0	1	0	4

Table 24 Necropsy findings of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene, p-tert-butyl

Group	Control		toluene, p-tert-butyl		
	0	1.5	5	15	50
mg/kg	0	1.5	5	15	50
Number of females	6	6	6	6	6
Findings					
Normal	6	6	6	6	5
Kidney					
Small in size (right)	0	0	0	0	1

Table 25 Organ weights of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group mg/kg	Control		toluene,p-tert-butyl				
	0		1.5	5	15	50	
Number of males	6		6	6	6	6	
Body weight (g)	334 ± 26	329 ± 19	321 ± 35	312 ± 16	302 ± 24		
Brain (g)	1.92 ± 0.07	1.89 ± 0.06	1.91 ± 0.03	1.92 ± 0.04	1.85 ± 0.06		
Brain (g%)	0.58 ± 0.06	0.58 ± 0.04	0.60 ± 0.08	0.61 ± 0.03	0.62 ± 0.06		
Pituitary (mg)	11.2 ± 1.8	11.9 ± 1.3	11.4 ± 2.2	10.7 ± 1.0	10.5 ± 1.4		
Pituitary (mg%)	3.3 ± 0.3	3.7 ± 0.4	3.5 ± 0.4	3.4 ± 0.2	3.5 ± 0.3		
Thyroids (mg)	17.7 ± 3.1	18.3 ± 2.2	17.2 ± 3.3	16.1 ± 2.1	14.3 ± 2.4		
Thyroids (mg%)	5.3 ± 0.7	5.6 ± 0.6	5.3 ± 0.7	5.2 ± 0.7	4.8 ± 1.1		
Thymus (g)	0.55 ± 0.14	0.50 ± 0.14	0.49 ± 0.04	0.46 ± 0.09	0.39 ± 0.07		
Thymus (g%)	0.17 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.13 ± 0.02		
Heart (g)	1.11 ± 0.07	1.12 ± 0.10	1.11 ± 0.16	1.10 ± 0.05	0.97 ± 0.05 *		
Heart (g%)	0.33 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.32 ± 0.02		
Liver (g)	9.85 ± 1.02	9.97 ± 1.15	10.05 ± 1.49	11.03 ± 0.87	13.71 ± 0.47 **		
Liver (g%)	2.94 ± 0.15	3.02 ± 0.19	3.12 ± 0.15	3.53 ± 0.16 **	4.56 ± 0.30 **		
Spleen (g)	0.63 ± 0.06	0.59 ± 0.06	0.59 ± 0.06	0.63 ± 0.04	0.54 ± 0.08		
Spleen (g%)	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.19 ± 0.03	0.20 ± 0.01	0.18 ± 0.02		
Kidneys (g)	2.41 ± 0.17	2.42 ± 0.16	2.40 ± 0.34	2.38 ± 0.15	2.23 ± 0.17		
Kidneys (g%)	0.73 ± 0.02	0.74 ± 0.05	0.75 ± 0.04	0.76 ± 0.05	0.74 ± 0.06		
Adrenals (mg)	47.6 ± 6.9	50.0 ± 8.7	49.2 ± 9.2	44.4 ± 3.1	47.0 ± 7.8		
Adrenals (mg%)	14.2 ± 1.1	15.2 ± 2.3	15.3 ± 1.8	14.3 ± 1.0	15.7 ± 3.3		
Testes (g)	2.84 ± 0.30	2.75 ± 0.25	2.79 ± 0.28	2.95 ± 0.23	0.98 ± 0.08 **		
Testes (g%)	0.85 ± 0.07	0.84 ± 0.09	0.87 ± 0.08	0.95 ± 0.07	0.33 ± 0.05 **		
Epididymides (g)	0.73 ± 0.08	0.75 ± 0.11	0.79 ± 0.06	0.80 ± 0.10	0.56 ± 0.08 **		
Epididymides (g%)	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.19 ± 0.02		

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 26 Organ weights of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control		toluene,p-tert-butyl				
	0		1.5	5	15	50	
mg/kg							
Number of females	6		6	6	6	6	
Body weight (g)	220 ± 15		207 ± 14	205 ± 12	204 ± 19	191 ± 11 **	
Brain (g)	1.83 ± 0.07		1.80 ± 0.04	1.85 ± 0.02	1.80 ± 0.08	1.81 ± 0.08	
(g%)	0.84 ± 0.07		0.87 ± 0.06	0.90 ± 0.06	0.89 ± 0.06	0.95 ± 0.07	
Pituitary (mg)	13.0 ± 2.1		11.9 ± 1.8	12.9 ± 1.6	11.6 ± 0.7	11.5 ± 1.9	
(mg%)	6.0 ± 0.9		5.8 ± 0.9	6.3 ± 0.9	5.7 ± 0.6	6.0 ± 0.8	
Thyroids (mg)	14.3 ± 2.5		14.4 ± 2.3	15.7 ± 3.9	13.7 ± 1.8	13.8 ± 2.8	
(mg%)	6.6 ± 1.4		7.0 ± 1.2	7.7 ± 2.3	6.7 ± 0.7	7.1 ± 1.1	
Thymus (g)	0.46 ± 0.09		0.41 ± 0.04	0.48 ± 0.04	0.38 ± 0.08	0.34 ± 0.08 *	
(g%)	0.21 ± 0.03		0.20 ± 0.02	0.23 ± 0.01	0.19 ± 0.05	0.18 ± 0.05	
Heart (g)	0.75 ± 0.07		0.75 ± 0.09	0.74 ± 0.07	0.71 ± 0.08	0.66 ± 0.04	
(g%)	0.34 ± 0.01		0.36 ± 0.03	0.36 ± 0.01	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.02	
Liver (g)	6.35 ± 0.45		6.45 ± 0.67	7.47 ± 0.61	8.72 ± 0.91 **	10.19 ± 1.05 **	
(g%)	2.90 ± 0.07		3.13 ± 0.38	3.64 ± 0.18	4.28 ± 0.20 **	5.32 ± 0.31 **	
Spleen (g)	0.52 ± 0.13		0.52 ± 0.12	0.51 ± 0.08	0.44 ± 0.04	0.42 ± 0.07	
(g%)	0.24 ± 0.05		0.26 ± 0.08	0.25 ± 0.04	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.04	
Kidneys (g)	1.64 ± 0.16		1.49 ± 0.12	1.57 ± 0.09	1.63 ± 0.15	1.71 ± 0.12	
(g%)	0.75 ± 0.04		0.72 ± 0.04	0.77 ± 0.05	0.80 ± 0.02	0.90 ± 0.09 **	
Adrenals (mg)	66.3 ± 5.9		63.2 ± 2.1	62.8 ± 4.0	61.3 ± 5.4	66.4 ± 4.9	
(mg%)	30.2 ± 2.0		30.7 ± 2.4	30.7 ± 2.3	30.3 ± 4.1	34.8 ± 1.8 *	
Ovaries (mg)	86.9 ± 10.3		83.9 ± 19.7	73.0 ± 9.6	70.3 ± 8.6	62.2 ± 5.4 **	
(mg%)	39.7 ± 4.6		40.6 ± 9.0	35.6 ± 4.3	34.7 ± 4.8	32.5 ± 1.7	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 27 Organ weights of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group mg/kg	Control		toluene,p-tert-butyl			
	0		1.5	5	15	50
Number of males	6		6	6	6	6
Body weight (g)	381 ± 18		359 ± 38	366 ± 27	393 ± 42	360 ± 37
Brain (g)	1.93 ± 0.06		1.91 ± 0.13	1.99 ± 0.08	2.01 ± 0.08	1.97 ± 0.05
(g%)	0.51 ± 0.03		0.53 ± 0.04	0.55 ± 0.02	0.51 ± 0.05	0.55 ± 0.06
Pituitary (mg)	10.9 ± 1.1		11.2 ± 2.6	11.8 ± 1.5	12.2 ± 2.1	13.3 ± 1.5
(mg%)	2.9 ± 0.3		3.1 ± 0.4	3.3 ± 0.6	3.1 ± 0.6	3.7 ± 0.3
Thyroids (mg)	18.6 ± 3.4		16.8 ± 4.3	17.1 ± 2.2	17.9 ± 3.1	17.4 ± 2.6
(mg%)	4.9 ± 0.8		4.7 ± 1.2	4.7 ± 0.7	4.6 ± 1.0	4.9 ± 1.1
Thymus (g)	0.49 ± 0.11		0.43 ± 0.09	0.47 ± 0.08	0.43 ± 0.09	0.48 ± 0.09
(g%)	0.13 ± 0.03		0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.02
Heart (g)	1.20 ± 0.04		1.12 ± 0.12	1.24 ± 0.10	1.32 ± 0.21	1.20 ± 0.17
(g%)	0.32 ± 0.02		0.31 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.33 ± 0.03
Liver (g)	10.37 ± 0.93		9.37 ± 1.01	10.35 ± 0.35	11.08 ± 1.69	10.51 ± 0.95
(g%)	2.72 ± 0.16		2.61 ± 0.08	2.83 ± 0.16	2.81 ± 0.26	2.93 ± 0.13
Spleen (g)	0.73 ± 0.07		0.65 ± 0.11	0.74 ± 0.13	0.78 ± 0.14	0.71 ± 0.11
(g%)	0.19 ± 0.01		0.18 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02
Kidneys (g)	2.46 ± 0.20		2.40 ± 0.39	2.48 ± 0.14	2.71 ± 0.24	2.60 ± 0.33
(g%)	0.65 ± 0.05		0.67 ± 0.07	0.68 ± 0.05	0.69 ± 0.05	0.72 ± 0.07
Adrenals (mg)	54.1 ± 3.3		51.2 ± 6.9	57.7 ± 4.2	53.9 ± 7.0	51.5 ± 4.3
(mg%)	14.2 ± 1.0		14.5 ± 2.8	15.9 ± 2.1	13.8 ± 1.7	14.5 ± 2.2
Testes (g)	2.90 ± 0.22		2.95 ± 0.21	2.68 ± 0.94	3.20 ± 0.33	1.40 ± 0.12
(g%)	0.76 ± 0.07		0.83 ± 0.08	0.72 ± 0.23	0.81 ± 0.02	0.39 ± 0.05
Epididymides (g)	1.06 ± 0.09		1.01 ± 0.09	0.91 ± 0.23	1.04 ± 0.08	0.64 ± 0.07 **
(g%)	0.28 ± 0.03		0.28 ± 0.01	0.25 ± 0.05	0.27 ± 0.02	0.18 ± 0.02 **

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (**: P<0.01).

Table 28 Organ weights of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group mg/kg	Control		toluene,p-tert-butyl			
	0		1.5	5	15	50
Number of females	6		6	6	6	6
Body weight (g)	229 ± 17		225 ± 13	231 ± 15	229 ± 16	230 ± 15
Brain (g)	1.86 ± 0.09		1.88 ± 0.06	1.90 ± 0.09	1.82 ± 0.05	1.91 ± 0.08
	(g%)	0.82 ± 0.08	0.84 ± 0.06	0.83 ± 0.07	0.80 ± 0.06	0.83 ± 0.05
Pituitary (mg)	15.1 ± 2.5		14.3 ± 1.9	14.4 ± 1.6	13.5 ± 2.5	13.4 ± 2.5
	(mg%)	6.6 ± 1.0	6.4 ± 0.9	6.2 ± 0.8	5.9 ± 0.7	5.9 ± 1.2
Thyroids (mg)	15.0 ± 4.1		15.6 ± 2.6	17.6 ± 4.0	17.5 ± 4.0	15.8 ± 2.7
	(mg%)	6.6 ± 1.9	6.9 ± 1.0	7.7 ± 1.9	7.7 ± 2.0	7.0 ± 1.6
Thymus (g)	0.37 ± 0.07		0.41 ± 0.05	0.41 ± 0.10	0.41 ± 0.09	0.49 ± 0.12
	(g%)	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.04	0.18 ± 0.03	0.21 ± 0.05
Heart (g)	0.78 ± 0.02		0.76 ± 0.02	0.81 ± 0.08	0.81 ± 0.07	0.82 ± 0.05
	(g%)	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.02
Liver (g)	6.23 ± 0.57		6.03 ± 0.48	6.37 ± 0.52	6.83 ± 0.64	7.22 ± 0.71 *
	(g%)	2.73 ± 0.21	2.68 ± 0.17	2.76 ± 0.17	2.99 ± 0.11 *	3.14 ± 0.16 **
Spleen (g)	0.49 ± 0.05		0.53 ± 0.09	0.53 ± 0.05	0.56 ± 0.10	0.58 ± 0.06
	(g%)	0.22 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.23 ± 0.02	0.24 ± 0.04	0.25 ± 0.02
Kidneys (g)	1.67 ± 0.10		1.67 ± 0.13	1.71 ± 0.13	1.73 ± 0.10	1.72 ± 0.14
	(g%)	0.74 ± 0.07	0.74 ± 0.05	0.74 ± 0.03	0.76 ± 0.04	0.75 ± 0.07
Adrenals (mg)	68.4 ± 9.9		66.4 ± 3.6	65.0 ± 4.5	72.8 ± 10.8	72.6 ± 11.1
	(mg%)	30.0 ± 4.5	29.6 ± 2.8	28.2 ± 0.5	32.0 ± 5.1	31.6 ± 3.9
Ovaries (mg)	83.2 ± 9.0		87.5 ± 13.9	70.6 ± 9.4	87.5 ± 24.3	81.1 ± 16.5
	(mg%)	36.4 ± 4.2	38.9 ± 6.0	30.7 ± 4.6	38.7 ± 12.0	35.3 ± 6.5

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (*: P<0.05, **: P<0.01).

Table 29-1 Histopathological findings of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control					toluene,p-tert-butyl																								
	0					1.5					5					15					50									
mg/kg	6					6					6					6					6									
Number of males	6					6					6					6					6									
Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+
Findings																														
Heart	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Cellular infiltration, histiocyte, focal	5	1	1	0	0	0																			5	1	1	0	0	0
Lung	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Deposit, crystalline	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0
Accumulation, foam cell	5	1	1	0	0	0																			3	3	3	0	0	0
Cellular infiltration	6	0	0	0	0	0																			5	1	1	0	0	0
Liver	[6]						[6]						[6]						[6]						[6]					
Microgranuloma	0	6	6	0	0	0	1	5	4	1	0	0	1	5	3	2	0	0	4	2	0	2	0	0	5	1	0	1	0	0
Hematopoiesis, extramedullary	5	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0
Necrosis, hepatocyte, focal	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0
Vacuolization, hepatocyte, periportal	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0
Hypertrophy, hepatocyte, periportal	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	2	4	3	1	0	0
Stomach																														
Cellular infiltration, inflammatory cell, mucosa/muscle layer/serosa	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Cellular infiltration, inflammatory cell, mucosa/muscle layer/serosa	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0
Cecum	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Cellular infiltration, inflammatory cell, mucosa	6	0	0	0	0	0																			5	1	0	1	0	0
Spleen	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Hematopoiesis, extramedullary	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N: No abnormality detected.

A: Abnormality detected.

[]: No. of males examined.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Significantly different by dose response test (##: P<0.01).

Table 29-2 Histopathological findings of male rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control					toluene,p-tert-butyl																								
	0					1.5					5					15					50									
mg/kg	6					6					6					6					6									
Number of males	6					6					6					6					6									
Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+
Findings																														
Kidney	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Hyaline droplet, tubular epithelium	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0
Basophilic change, tubular epithelium	6	0	0	0	0	0																			5	1	1	0	0	0
Testis	[6]						[6]						[6]						[6]						[6]					
Atrophy, seminiferous tubule	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	6	0
Hyperplasia, Leydig's cell	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	6	0	0	0
Retention, step 19 spermatid, group 3	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Epididymis	[6]						[6]						[6]						[6]						[6]					
Decrease, sperm	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6
Cellular infiltration, inflammatory cell, interstitium	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Granuloma, spermatic	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	2	0	0	6	0	0	0	0	0
Prostate	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Cellular infiltration, lymphoid cell	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N: No abnormality detected.

A: Abnormality detected.

[]: No. of males examined.

No remarkable changes were seen in trachea, pancreas, sublingual gland, submandibular gland, esophagus, duodenum, jejunum, ileum, colon, rectum, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, urinary bladder, seminal vesicle, pituitary, adrenal, thyroid, parathyroid, cerebrum, cerebellum, medulla oblongata, spinal cord, sciatic nerve, eyeball, Harderian gland, bone (sternum and femur), bone marrow (sternum and femur) and mammary gland.

Examined liver, testis and epididymis in the 1.5, 5 and 15mg/kg groups.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Significantly different by dose response test (##: P<0.01).

Table 30 Histopathological findings of female rats on termination of administration period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control					toluene,p-tert-butyl																								
	0					1.5					5					15					50									
mg/kg	6					6					6					6					6									
Number of females	6					6					6					6					6									
Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+
Findings																														
Heart	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Cellular infiltration, histiocyte, focal	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0
Liver	[6]						[6]						[6]						[6]						[6]					
Microgranuloma	3	3	2	1	0	0	4	2	0	2	0	0	4	2	2	0	0	0	4	2	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Vacuolization, hepatocyte, periportal	2	4	3	1	0	0	4	2	2	0	0	0	5	1	1	0	0	0	0	6	6	0	0	0	1	5	4	1	0	0
Hypertrophy, hepatocyte, periportal	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0
Spleen	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Hematopoiesis, extramedullary	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0
Kidney	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Dilatation, urinary tubule, focal	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0
Mineralization, cortico-medullary junction	5	1	1	0	0	0																			6	0	0	0	0	0
Degeneration, vacuolar, tubular epithelium	6	0	0	0	0	0																			5	1	0	1	0	0
Thyroid	[6]						[0]						[0]						[0]						[6]					
Ectopic, thymic tissue	6	0	0	0	0	0																			5	1	1	0	0	0

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N: No abnormality detected.

A: Abnormality detected.

[]: No. of females examined.

No remarkable changes were seen in lung, trachea, pancreas, sublingual gland, submandibular gland, esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, urinary bladder, ovary, uterus, vagina, pituitary, adrenal, parathyroid, cerebrum, cerebellum, medulla oblongata, spinal cord, sciatic nerve, eyeball, Harderian gland, bone (sternum and femur), bone marrow (sternum and femur) and mammary gland.

Examined liver in the 1.5, 5 and 15mg/kg groups.

Table 31 Histopathological findings of male rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control					toluene,p-tert-butyl																										
	0					1.5					5					15					50											
mg/kg	6					6					6					6					6											
Number of males	6					6					6					6					6											
Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+		
Findings																																
Liver	[6]						[6]						[6]						[6]						[6]							
Microgranuloma	3	3	2	1	0	0	2	4	1	3	0	0	2	4	2	2	0	0	3	3	2	1	0	0	2	4	3	1	0	0		
Testis	[6]						[6]						[6]						[6]						[6]							
Atrophy, seminiferous tubule	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	6	2	4	0	0	**##
Epididymis	[6]						[6]						[6]						[6]						[6]							
Decrease, sperm	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	6	0	0	0	6	**##

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N: No abnormality detected.

A: Abnormality detected.

[]: No. of males examined.

Examined liver, testis and epididymis.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Significantly different by dose response test (##: P<0.01).

Table 32 Histopathological findings of female rats on termination of recovery period in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

Group	Control				toluene,p-tert-butyl																										
	0				1.5				5				15				50														
mg/kg	6				6				6				6				6														
Number of females	6				6				6				6				6														
Grade	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	N	A	±	+	2+	3+	
Findings																															
Liver	[6]				[6]				[6]				[6]				[6]														
Microgranuloma	4	2	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	2	4	4	0	0	0	0	4	2	2	0	0	0	4	2	2	0	0	0
Vacuolization, hepatocyte, periportal	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	1	0	0	0	

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N: No abnormality detected.

A: Abnormality detected.

[]: No. of females examined.

Examined only liver.

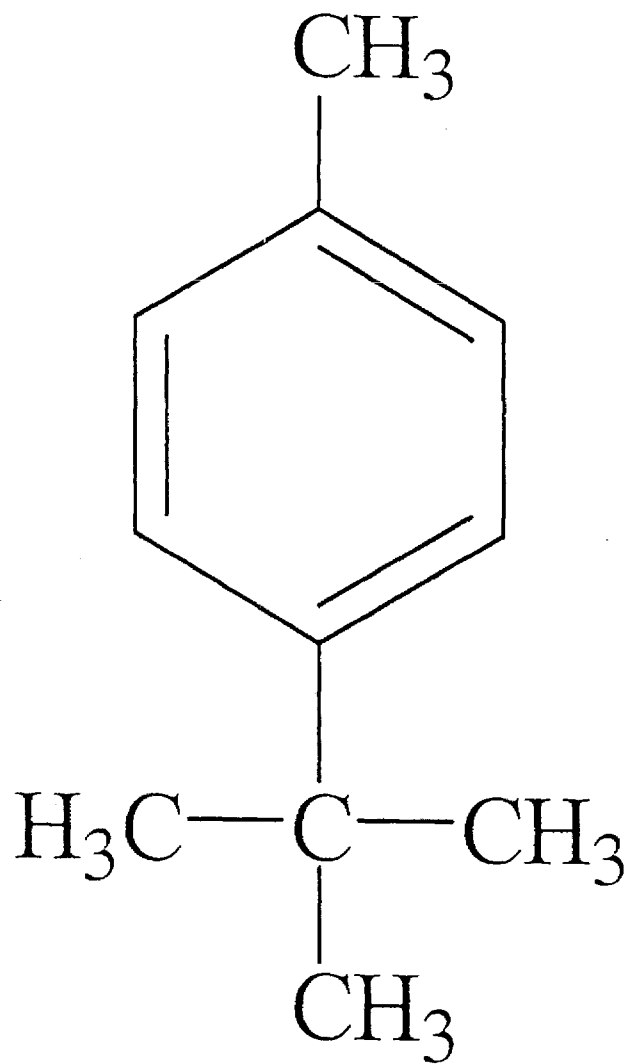


Fig. 1 Chemical structure of toluene,p-tert-butyl

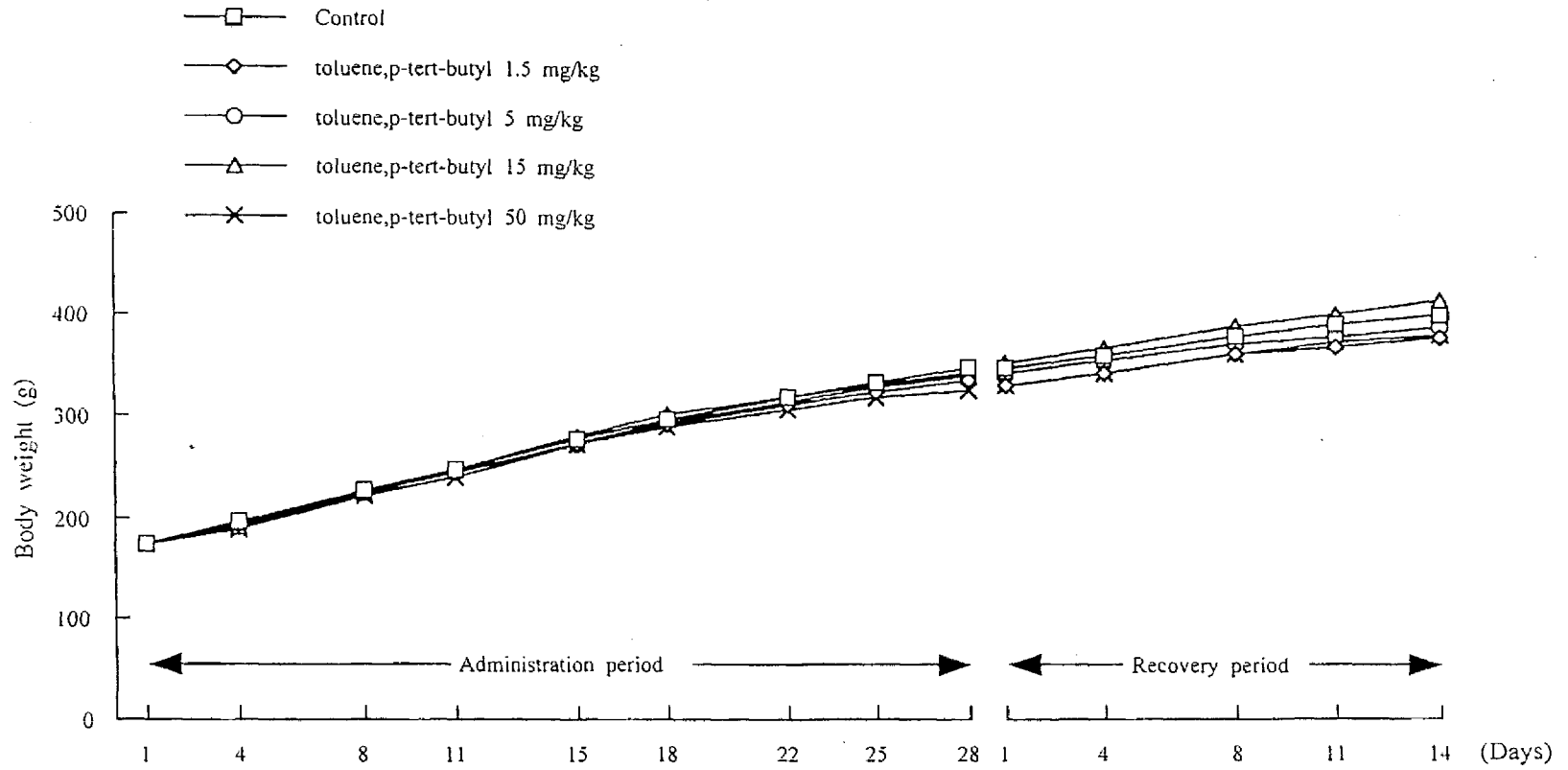


Fig. 2 Body weights of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

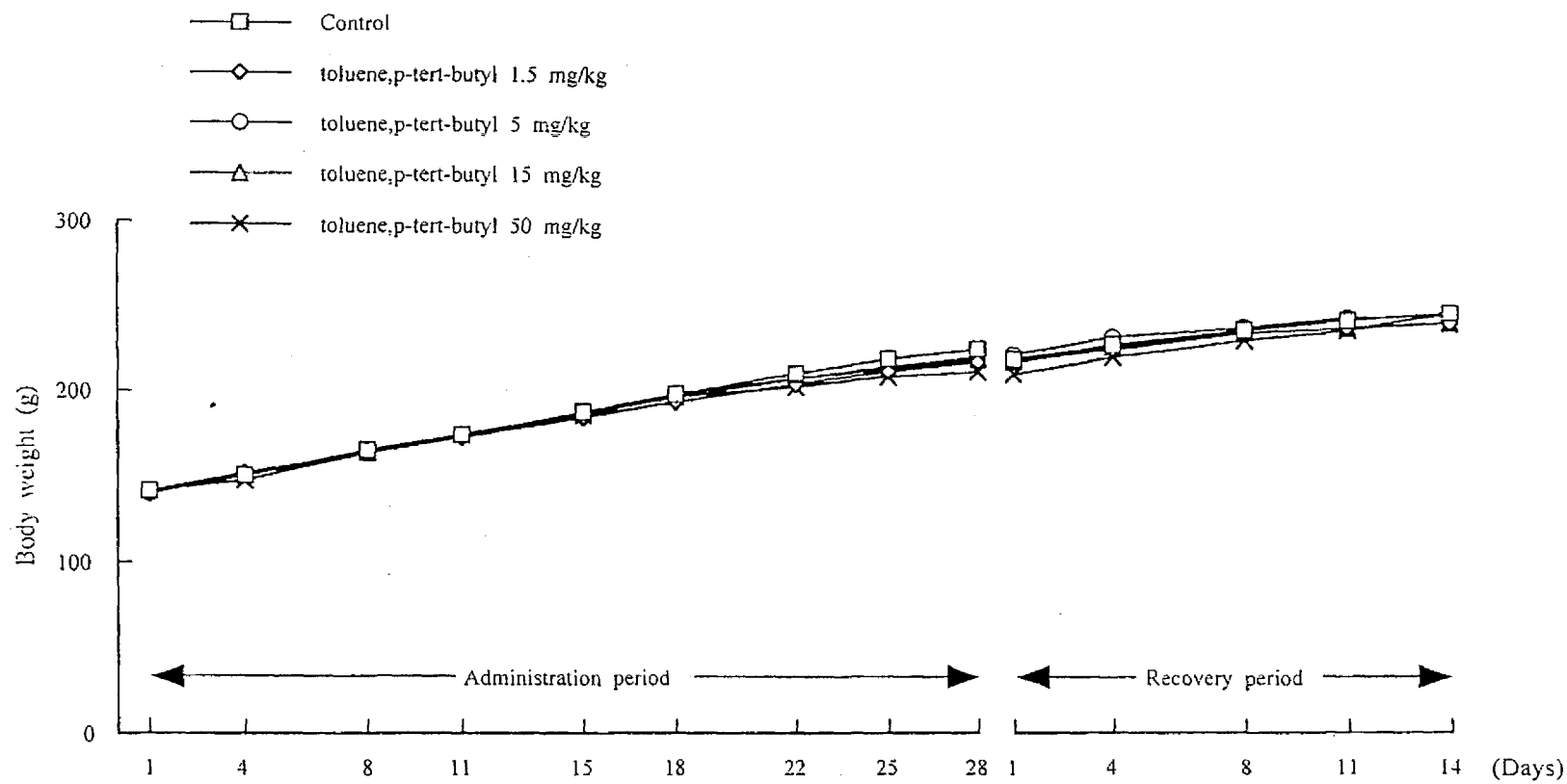


Fig. 3 Body weights of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

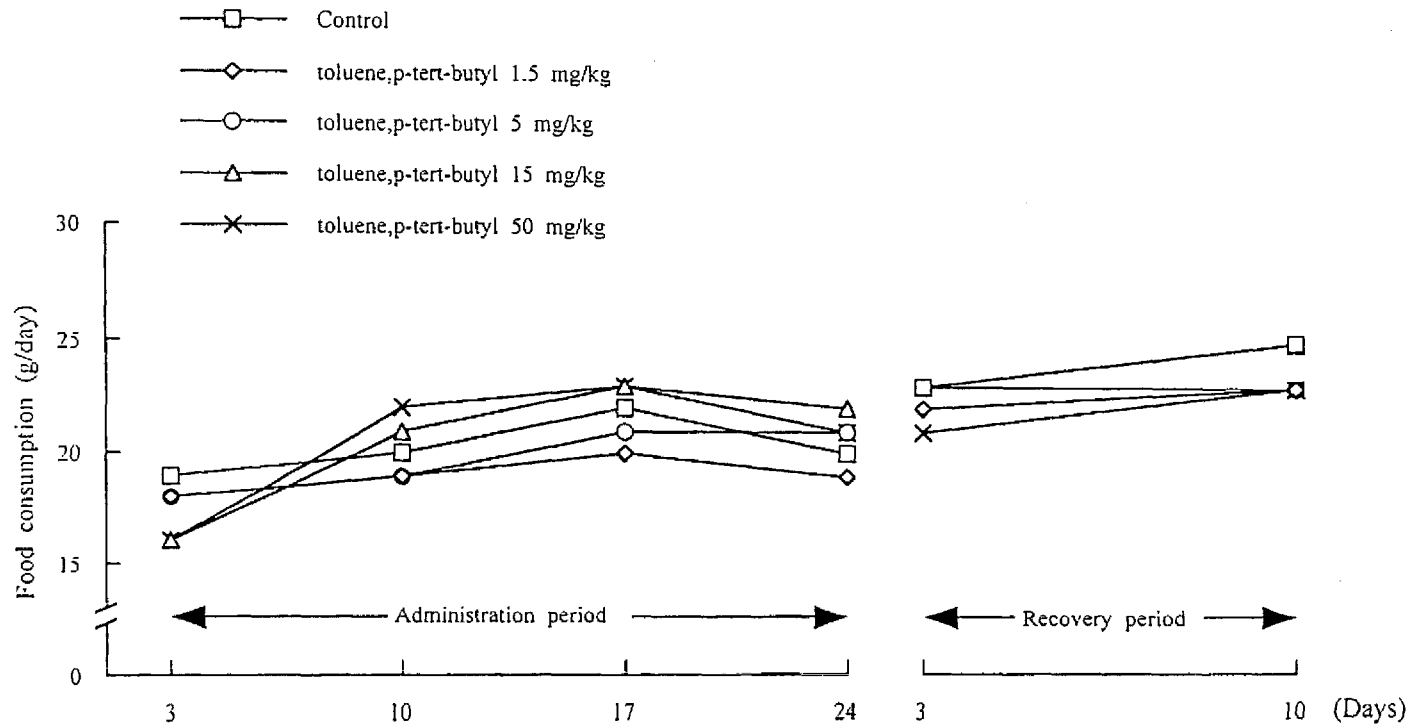


Fig. 4 Food consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

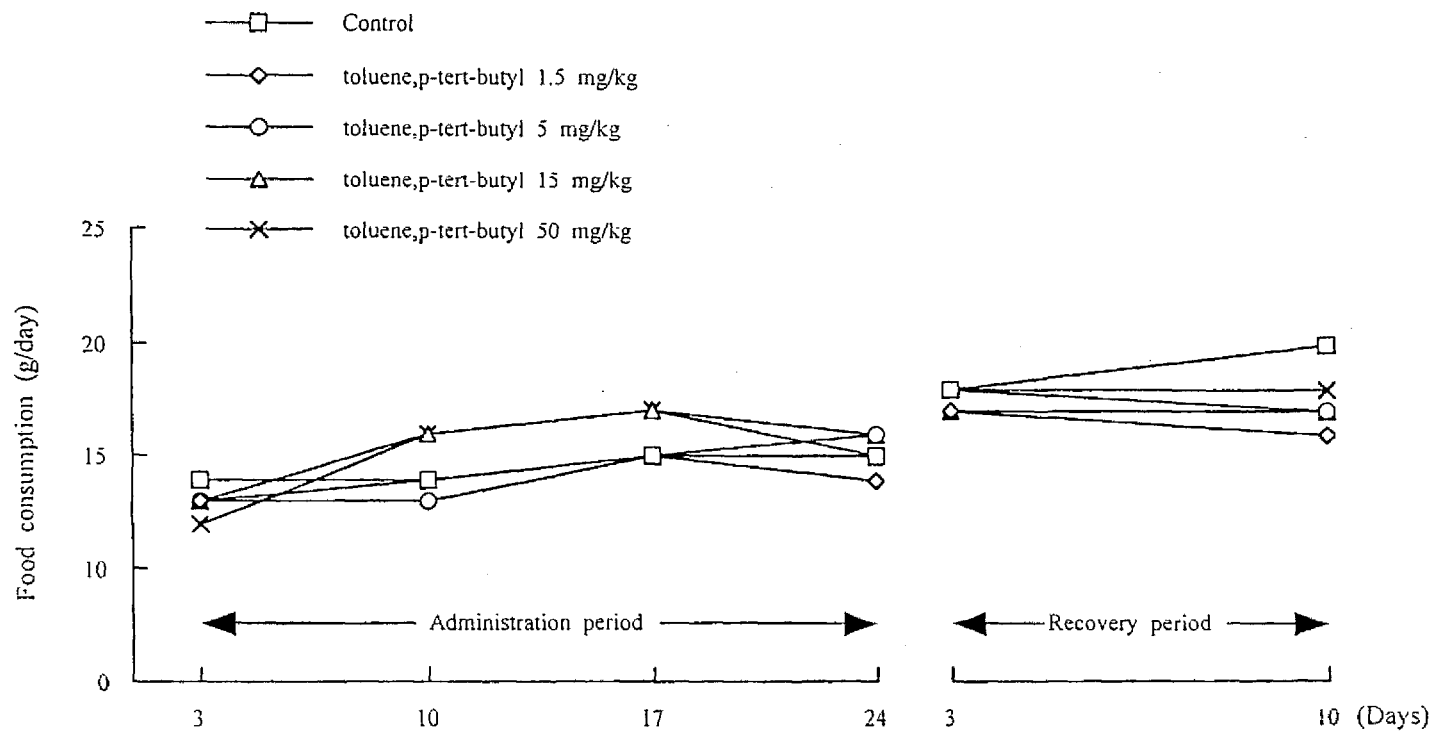


Fig. 5 Food consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

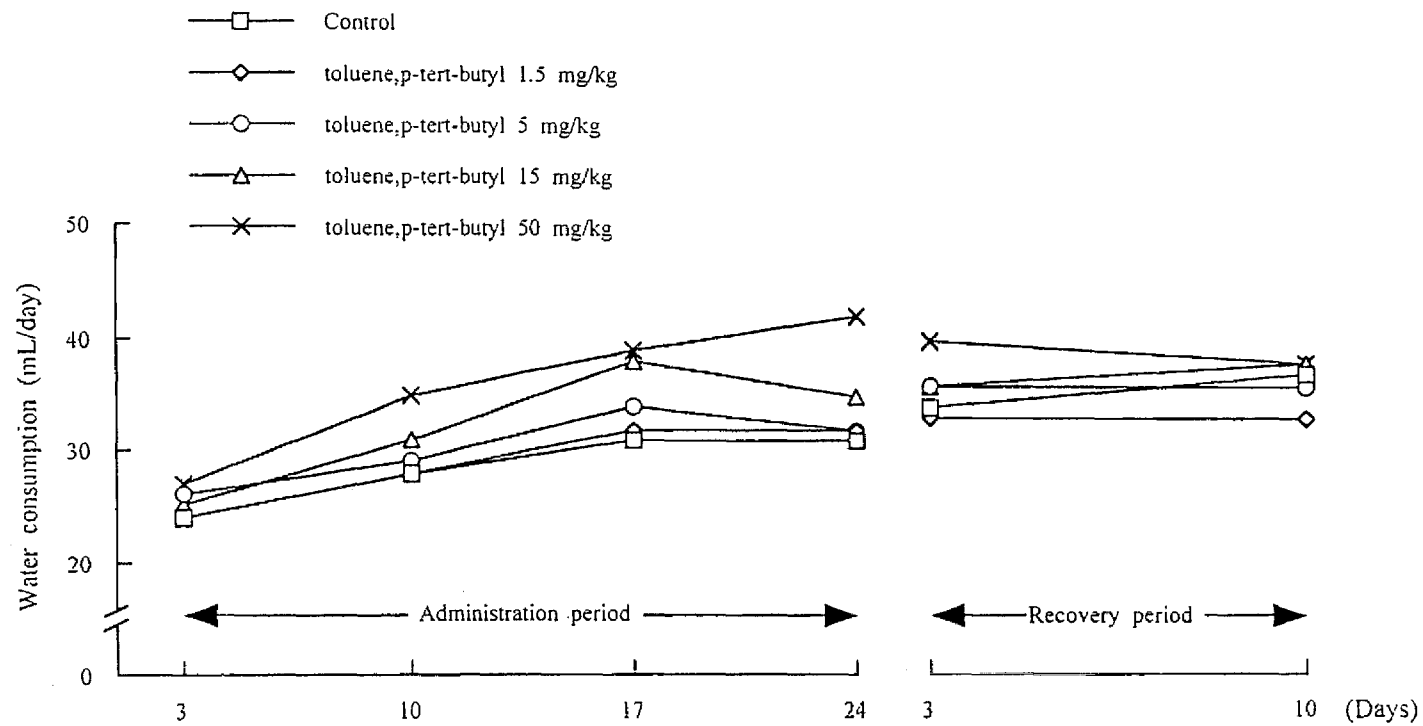


Fig. 6 Water consumption of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl

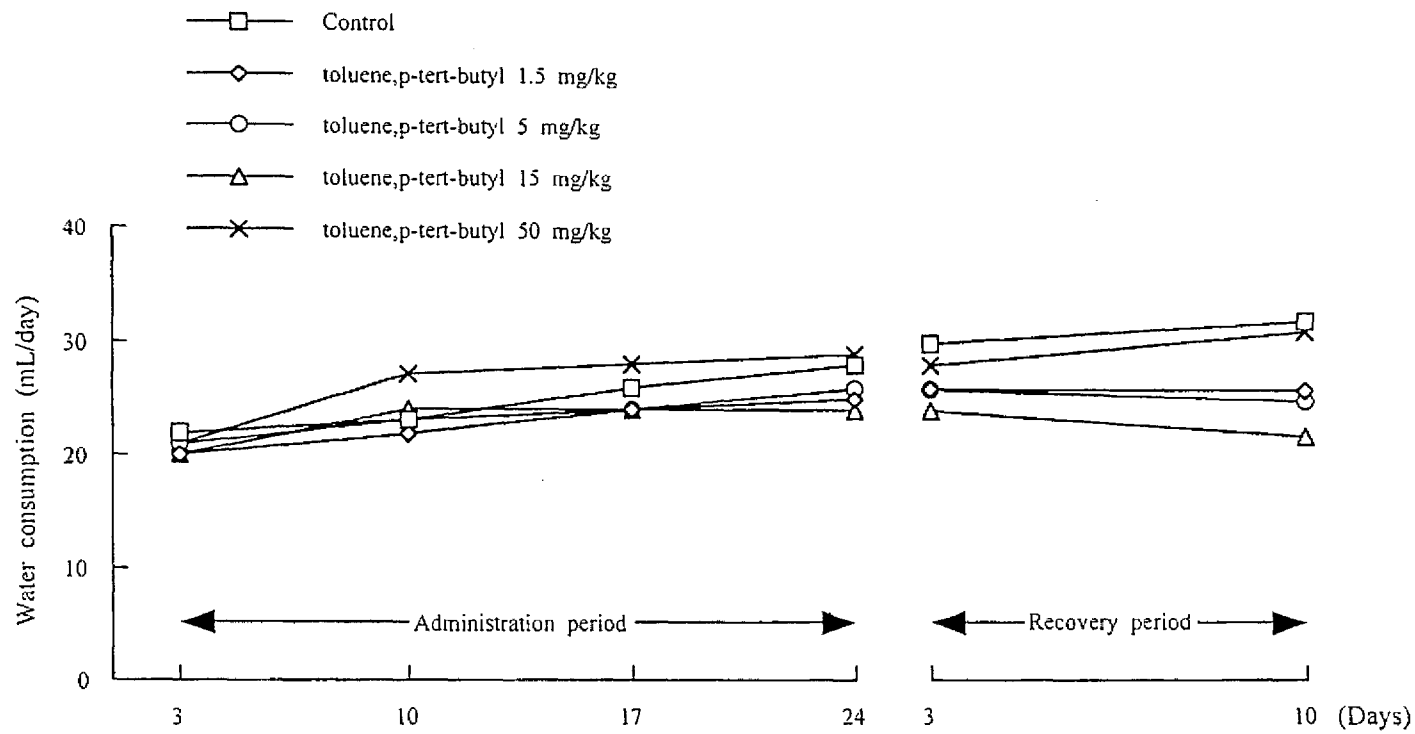


Fig. 7 Water consumption of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of toluene,p-tert-butyl