

4-*tert*-ブチルカテコールのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験（混餌試験）報告書

試験番号：0709

CAS No. 98-29-3

2009年 7月 31日

中 央 労 働 災 害 防 止 協 会
日本バイオアッセイ研究センター

目次

標題		i
試験目的		i
試験委託者		i
試験施設及び運営管理者		i
試験日程		i
試験関係者一覧		ii
試資料の保管		iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付		iii
陳述書		iv
本文		v
TABLES	A 1～H 2	
FIGURES	1～4	
APPENDICES	1-1～2-3	

標題

4-*tert* ブチルカテコールのラットを用いた経口投与による 2 週間毒性試験(混餌試験)

試験目的

4-*tert* ブチルカテコールの経口投与によるがん原性試験の投与濃度決定試験(13 週間試験)の予備試験として、4-*tert* ブチルカテコールをラットに 2 週間経口(混餌)投与して、その生体影響を検索した。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課
東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2

試験施設及び運営管理者

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
副所長 長野 嘉介
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

試験開始日	2008 年 6 月 9 日
動物導入日	2008 年 6 月 12 日
群構成日	2008 年 6 月 26 日
被験物質投与開始日	2008 年 6 月 26 日
被験物質投与終了日	2008 年 7 月 10 日
定期解剖日	2008 年 7 月 10 日
試験終了日	2009 年 7 月 31 日

4-*tert*-ブチルカテコールのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験（混餌試験）報告書

試験番号：0709

本文

本文目次

	頁
要約	1
I 試験材料	2
I-1 被験物質の性状等	2
I-1-1 名称等	2
I-1-2 構造式及び分子量	2
I-1-3 物理化学的性状等	2
I-2 被験物質の使用ロット等	2
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性	3
I-3-1 特性・同一性	3
I-3-2 安定性	3
I-4 試験動物	3
II 試験方法	4
II-1 投与	4
II-1-1 投与経路	4
II-1-2 被験物質の投与方法	4
II-1-3 投与期間	4
II-1-4 投与濃度	4
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	4
II-1-6 被験物質混合飼料の調製方法	5
II-1-7 調製時における被験物質混合飼料中の被験物質の濃度及び均一性 ..	5
II-1-8 被験物質混合飼料中の被験物質の安定性	5
II-1-9 被験物質の摂取量	6
II-2 動物管理	6
II-2-1 各群の使用動物数	6
II-2-2 群分け及び個体識別方法	6
II-2-3 飼育条件	6
(1) 飼育環境	6
(2) 飼料	7
(3) 飲水	7

II-3 観察・検査項目及び方法	7
II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察	7
II-3-2 体重測定	8
II-3-3 摂餌量測定	8
II-3-4 血液学的検査	8
II-3-5 血液生化学的検査	8
II-3-6 病理学的検査	8
(1) 剖検	8
(2) 臓器重量	8
(3) 臓器の採取及び保存	8
(4) 病理組織学的検査	9
II-4 数値処理と統計方法	9
II-4-1 数値の取り扱いと表示	9
II-4-2 統計処理	9
III 試験成績	10
III-1 生死状況	10
III-2 一般状態	10
III-3 体重	10
III-4 摂餌量	11
III-5 被験物質摂取量	11
III-6 病理学的検査	12
III-6-1 剖検	12
III-6-2 臓器重量	12
IV 考察及びまとめ	13
IV-1 用量-反応関係	13
IV-2 他の文献との比較	14
(1) 毒性	14
(2) 遺伝毒性	14
IV-3 13週間試験の濃度決定	14
V 文献	16
VI 予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 及び試験計画書に従わなかつたこと	17

要約

4-*tert*-ブチルカテコールの F344/DuCrI_{CrIj} ラットを用いた経口投与による 2 年間（104 週間）のがん原性試験のための予備試験である 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群の構成で、雌雄各群とも 5 匹とし、合計 60 匹を用いた。被験物質の投与は、4-*tert*-ブチルカテコールを混合した飼料を動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は、雌雄とも 0（対照群）、1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm（重量比 w/w）とした。観察、検査として、一般状態の観察、剖検、体重、摂餌量及び臓器重量の測定を行った。

4-*tert*-ブチルカテコールの投与の結果、雌雄ともすべての群に死亡動物は認められなかった。一般状態の観察では、雌雄とも 20000 ppm 群で糞小粒がみられた。体重は、雄の 10000 ppm 以上の群と雌の 20000 ppm 群で、全投与期間を通して低値が認められ、また、雄の 5000 ppm 群は最終計測日、雌の 10000 ppm 群は投与開始後 7 日目に低値を示した。摂餌量は、雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 20000 ppm 群では全投与期間、雌の 5000 ppm と 10000 ppm 群では、投与開始後 4 日目のみ低値がみられた。剖検では、雌雄ともに投与の影響は認められなかったが、雄の脾臓実重量及び体重比の低値が全ての投与群で認められた。また、卵巣の実重量または体重比の低値が雌の 10000 ppm 以上の群で認められた。

以上の結果より、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 10000 ppm を最高投与濃度とし、以下 4000、1600、640 及び 256 ppm（公比 2.5）に設定した。

I 試験材料

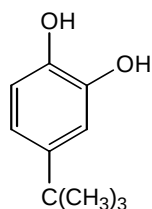
I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称 : 4-*tert*-ブチルカテコール (4-*tert*-Butylcatechol)
別 名 : 4-*tert*-ブチルピロカテコール
CAS No. : 98-29-3

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式 :



分 子 量 : 166.22

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1、2)

性 状 : 白色～うすい赤褐色の固体
比 重 : 1.049(60/25℃)
融 点 : 53 °C
溶 解 性 : 水に難溶、エタノール、アセトンに易溶
保 管 条 件 : 室温で暗所に保管

I-2 被験物質の使用ロット等

製 造 元 : 和光純薬工業(株)
グ レード : 和光特級
純 度 : 100.0%
ロット番号 : WKH4921

I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性は、マススペクトルを質量分析計（㈱日立製作所 M-80B）を用いて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（㈱島津製作所 FTIR-8200PC）を用いて測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは、文献値（文献 3）と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値（文献 4）と同じ波数にピークが認められ、被験物質は 4-*tert*-ブチルカテコールであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示した。

I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後にクロマトグラムを高速液体クロマトグラフ（㈱島津製作所 LC-10）を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であったことを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-2 に示した。

I-4 試験動物

動物は、4-*tert*-ブチルカテコールのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、日本チャールス・リバー（株）（厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795）の F344/DuCrIj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 37 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 30 匹（群構成時体重範囲、雄：120～132g、雌：94～105g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrIj ラット（SPF）を選択した理由は、遺伝的に安定していること、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

II 試験方法

II-1 投与

II-1-1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

II-1-2 被験物質の投与方法

投与は、被験物質を粉末飼料に添加し、設定濃度に調製した被験物質混合飼料を粉末飼料用給餌器に充填し、動物に自由摂取させた。なお、被験物質混合飼料の交換は週に 2 回実施した。

II-1-3 投与期間

投与期間は 2 週間とし、定期解剖日まで連続投与した。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は、1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm（重量比 w/w）の 5 段階（公比 2）に設定した。なお、対照群として粉末飼料のみの群を設けた。

II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

被験物質は、常温で固体であり、かつ、水に難溶であるため、混餌による経口投与とした。

投与期間は、がん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間毒性試験）の投与濃度を決定するために 2 週間とした。

2 週間試験の投与濃度は文献を参考に決定した。米国 NTP が実施した 14 週間試験結果(文献 5)から、長期試験（がん原性試験）の最大耐量は 5000 ppm 付近であると推察された。

従って、本試験では、5000 ppm を中間用量として設定し、1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm の 5 段階の濃度（公比 2）を設定した。

Ⅱ－1－6 被験物質混合飼料の調製方法

粉末飼料（オリエンタル酵母工業(株)製 CRF-1）と被験物質をスパイラルミキサー（関東混合機工業(株) CS-20 あるいは HP20M）で攪拌混合し、20000 ppm と 10000 ppm の被験物質混合飼料を調製した。この 20000 ppm 被験物質混合飼料を更に粉末飼料と攪拌混合し、5000、2500 及び 1250 ppm の被験物質混合飼料を調製した。試験における濃度の表示は ppm(w/w)とした。また、被験物質混合飼料の調製は、投与開始前日に行った。調製量は全投与期間（2 週間）分とし、初回投与分をラット用餌箱に充填して翌日より動物に投与した。残余は各濃度毎にビニール袋に小分け密封し、使用時まで冷蔵で保管した。

Ⅱ－1－7 調製時における被験物質混合飼料中の被験物質の濃度及び均一性

被験物質混合飼料中の被験物質の濃度及び均一性は、初回調製時に各投与濃度ごとに調製容器内の被験物質混合飼料を 7 点サンプリングし、高速液体クロマトグラフ（株式会社島津製作所 LC-10）を用いて測定し、確認した。

その結果、各群の平均調製濃度は、設定濃度に対して 102～108%の範囲にあった。また、均一性は各群ともばらつきが少なかった。従って、被験物質混合飼料は、設定濃度に対して正確に調製されたことを確認した。

その結果を、濃度については APPENDIX 2-1、均一性については APPENDIX 2-2 に示した。

Ⅱ－1－8 被験物質混合飼料中の被験物質の安定性

被験物質混合飼料中の被験物質の安定性は、投与開始前に、最低投与濃度の 1250 ppm と最高投与濃度の 20000 ppm の被験物質混合飼料で確認した。すなわち、ラット用餌箱に充填した 1250 ppm と 20000 ppm の被験物質混合飼料を動物飼育室内で室温保管（8 日間）したものと、ビニール袋詰めにして密封し、冷蔵保管（11 日間）したものについて、調製時と保管期間後の被験物質濃度を高速液体クロマトグラフ（株式会社島津製作所 LC-10）を用いて測定し、それぞれの濃度を比較することにより確認した。

その結果、調製時の濃度を 100 %とした時に、室温保管（8 日間）では、1250 ppm:93.4 %、20000 ppm:93.5 %、冷蔵保管（11 日間）では、1250 ppm:97.5 %、20000 ppm:102 %であり、給餌期間中及び冷蔵保管中における被験物質混合飼料中の被験物質は安定であった。

その結果を APPENDIX 2-3 に示した。

Ⅱ－1－9 被験物質の摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より、動物の体重（kg）当たりの被験物質 1 日摂取量（mg/kg 体重/日）を算出した。

Ⅱ－2 動物管理

Ⅱ－2－1 各群の使用動物数

投与群 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、各群雌雄各 5 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対 照 群	5 匹（1001～1005）	5 匹（2001～2005）
1250 ppm 群	5 匹（1101～1105）	5 匹（2101～2105）
2500 ppm 群	5 匹（1201～1205）	5 匹（2201～2205）
5000 ppm 群	5 匹（1301～1305）	5 匹（2301～2305）
10000 ppm 群	5 匹（1401～1405）	5 匹（2401～2405）
20000 ppm 群	5 匹（1501～1505）	5 匹（2501～2505）

Ⅱ－2－2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めない動物から体重の中央値に近い雌雄各 30 匹を選別し、体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献 6）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（雌雄とも 208 室）に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

Ⅱ－2－3 飼育条件

（1）飼育環境

動物は、飼育期間を通して以下の環境で飼育した。飼育室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を＜ ＞内に記した。飼育室内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温 度 : $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ $< 22.9 \pm 0.1^{\circ}\text{C} >$
 湿 度 : $55 \pm 15\%$ $< 53 \pm 1\% >$
 明暗サイクル : 12 時間点灯(8:00~20:00)/12 時間消灯(20:00~8:00)
 換気回数 : 15~17 回/時
 ケージへの動物の収容方法 : 単飼
 ケージの材質・形状・寸法等 :
 ステンレス製 2 連網ケージ (170(W)×294(D)×176(H) mm/匹)

(2) 飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株) (千葉工場：千葉県千葉市美浜区新港 8-2) の CRF-1 (30KGy- γ 線照射滅菌飼料) 固型または粉末飼料を使用した。検疫期間については固型飼料を固型飼料給餌器により自由摂取させた。馴化期間については CRF-1 粉末飼料を粉末飼料給餌器により自由摂取させた。投与期間は、各投与群には所定の濃度に CRF-1 粉末飼料を用いて調製した被験物質混合飼料を、対照群には CRF-1 粉末飼料のみを粉末飼料給餌器により自由摂取させた。

なお、試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物についてはオリエンタル酵母工業(株)から分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。また、飼料中の夾雑物は試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した。

(3) 飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水(神奈川県秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(財)食品薬品安全センター秦野研究所(神奈川県秦野市落合 729-5)に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行った。一般状態の詳細な観察は、投与開始後 4 (1 週 4 日)、7 (1 週 7 日)、11 (2 週 4 日)、14 (2 週 7 日) 日目に行った。

Ⅱ－3－2 体重測定

測定時に生存する全動物について、投与開始後 4（1 週 4 日）、7（1 週 7 日）、11（2 週 4 日）、14（2 週 7 日）日目に体重を測定した。

Ⅱ－3－3 摂餌量測定

測定時に生存する全動物について、体重測定に合わせて週 2 回、給餌量、残餌量及び餌こぼし量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

Ⅱ－3－4 血液学的検査

検査を実施しなかった。

Ⅱ－3－5 血液生化学的検査

検査を実施しなかった。

Ⅱ－3－6 病理学的検査

（1）剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

（2）臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

（3）臓器の採取及び保存

全動物について下記に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺（左肺に固定液を注入した）、骨髓（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、腔、乳腺、脳、脊髓、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

(4) 病理組織学的検査

検査を実施しなかった。

II-4 数値処理と統計方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは、測定機器の精度に合わせて表示した。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量、残餌量及び餌こぼし量を小数点以下第 1 位まで測定し、給餌量値から残餌量値及び餌こぼし量を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

被験物質の体重 kg 当たりの 1 日摂取量は、摂餌量に被験物質の設定濃度を乗じ、体重で除した値を mg/kg 体重 / 日を単位として小数点以下第 1 位を四捨五入し、整数値の 1 の位までを表示した。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し表示した。臓器重量体重比は、臓器実重量値を搬出時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は、上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

II-4-2 統計処理

各群の有効動物数は、供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数とした。

各検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

体重、摂餌量及び臓器重量の測定値は、対照群を基準群として、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は、Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には、各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には、Dunnett 型の多重比較を行った。

各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5% 及び 1% の有意水準の表示を行った。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE A 1, 2 に示した。

—雌雄—

雌雄ともすべての群に死亡動物はみられなかった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE B 1, 2 に示した。

—雄—

20000 ppm 群で糞小粒が投与前半に全動物にみられたが、投与後半には減少し、投与終了時には 1 匹に認められたのみであった。その他、口周囲の汚染が 1 匹にみられた。10000 ppm 以下の群では一般状態に変化はみられなかった。

—雌—

20000 ppm 群で糞小粒が投与期間を通してほとんどの動物にみられ、尿による外陰部周囲の汚染が 2 匹、口周囲の汚染が 1 匹にみられた。10000 ppm 以下の群では、尿による外陰部周囲の汚染が 10000 ppm と 2500 ppm 群でそれぞれ 1 匹ずつみられた。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE C 1～4、及び FIGURE 1, 2 に示した。

—雄—

20000 ppm 群と 10000 ppm 群では、全投与期間を通して体重の低値が認められた。5000 ppm 群でも、最終計測日において低値が認められた。2500 ppm 以下の群では、対照群と同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各投与群の体重は、対照群に対して、1250 ppm 群：97%、2500 ppm 群：98%、5000 ppm 群：95%、10000 ppm 群：84%、20000 ppm 群：68%であった。

—雌—

20000 ppm 群では、全投与期間を通して体重の低値が認められた。10000 ppm 以下の群では、10000 ppm 群の投与開始後 7 日目の低値を除き対照群と同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各投与群の体重は、対照群に対して、1250 ppm 群：98%、2500 ppm 群：97%、5000 ppm 群：95%、10000 ppm 群：95%、20000 ppm 群：77%であった。

III-4 摂餌量

摂餌量を TABLE D 1~4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

—雄—

5000 ppm 以上の群ではほぼ全投与期間を通して、摂餌量の低値が認められた。2500 ppm 以下の群では対照群と同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：13.8 g、1250 ppm 群：13.4 g（97%）、2500 ppm 群：13.4 g（97%）、5000 ppm 群：12.4 g（90%）、10000 ppm 群：10.1 g（73%）、20000 ppm 群：8.4 g（61%）であった。

—雌—

20000 ppm 群では、全投与期間を通して、摂餌量の低値が認められた。5000 ppm と 10000 ppm 群では投与開始後 4 日目にのみ摂餌量の低値が認められた。2500 ppm 以下の群では対照群と同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：10.3 g、1250 ppm 群：10.2 g（99%）、2500 ppm 群：9.9 g（96%）、5000 ppm 群：9.3 g（90%）、10000 ppm 群：9.0 g（87%）、20000 ppm 群：6.9 g（67%）であった。

III-5 被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を TABLE E 1, 2 に示した。

—雄—

各投与群の被験物質摂取量（mg/kg 体重/日）は、1250 ppm 群：94~110、2500 ppm 群：194~218、5000 ppm 群：367~405、10000 ppm 群：587~784、20000 ppm 群：814~1653 の範囲にあった。また、各投与群における全投与期間を通しての平均被験物質摂取量（mg/kg 体重/日）は、1250 ppm 群：102、2500 ppm 群：206、5000 ppm 群：389、10000 ppm 群：707、20000 ppm 群：1397 であった。各投与群の被験物質摂取量の比率は初回測定時（投与開始後 4 日目）の 5000 ppm 以上の群で設定濃度比（2.0）を下回ったが、それ以外では設定濃度比に近い値を示した。

—雌—

各投与群の被験物質摂取量（mg/kg 体重/日）は、1250 ppm 群：100~115、2500 ppm 群：196~221、5000 ppm 群：391~438、10000 ppm 群：686~902、20000 ppm 群：896~1726 の範囲にあった。また、各投与群における全投与期間を通しての平均被験物質摂取量（mg/kg 体重/日）は、1250 ppm 群：108、2500 ppm 群：213、5000 ppm 群：409、10000 ppm 群：802、20000 ppm 群：1447 であった。各投与群の被験物質摂取量の比率は初回測定時（投与開始後 4 日目）の 5000 ppm 以上の群で設定濃度比（2.0）を下回ったが、それ以外では設定濃度比に近い値を示した。

Ⅲ－6 病理学的検査

Ⅲ－6－1 剖検

剖検所見を TABLE F 1, 2 に示した。

－雌雄－

被験物質投与による変化は認められなかった。

Ⅲ－6－2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量を TABLE G 1, 2 に、体重比を TABLE H 1, 2 に示した。

－雄－

脾臓の実重量と体重比の低値がすべての投与群で認められた。

その他、5000 ppm 以上の群で、胸腺、副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓または脳の実重量や体重比に変化がみられたが、5000 ppm 以上の群の搬出時体重は低値であり、これらの臓器重量の変化は、搬出時体重の低値に関連した変化と考えた。

－雌－

卵巣の実重量の低値が 10000 ppm 以上の群、体重比の低値が 20000 ppm 群で認められた。

その他、10000 ppm 以上の群で、副腎、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓または脳の実重量や体重比に変化がみられたが、これらの臓器重量の変化は、搬出時体重の低値に関連した変化と考えた。

IV 考察及びまとめ

4-*tert*-ブチルカテコールの F344/DuCrIjCrIj ラットを用いた経口投与による 2 年間(104 週間) のがん原性試験のための予備試験である 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。被験物質の投与は、4-*tert*-ブチルカテコールを混合した飼料を自由摂取させることにより行った。1 群当たりの動物数は雌雄各 5 匹とし、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも 0 (対照群)、1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm (w/w) とした。観察、検査として、一般状態の観察、剖検、体重、摂餌量及び臓器重量の測定を行った。

IV-1 用量-反応関係

4-*tert*-ブチルカテコールの投与の結果、雌雄ともすべての群に死亡動物は認められなかった。

一般状態の観察では、雌雄とも 20000 ppm 群で糞小粒がみられた。

体重は、雄の 10000 ppm 以上の群と雌の 20000 ppm 群で、全投与期間を通して低値が認められた。また、雄の 5000 ppm 群は最終計測日、雌の 10000 ppm 群は投与開始後 7 日目に低値がみられた。投与終了時の体重は対照群に対し、雄は 1250 ppm 群：97%、2500 ppm 群：98%、5000 ppm 群：95%、10000 ppm 群：84%、20000 ppm 群：68%、雌は 1250 ppm 群：98%、2500 ppm 群：97%、5000 ppm 群：95%、10000 ppm 群：95%、20000 ppm 群：77%であった。

摂餌量は、雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 20000 ppm 群では全投与期間、雌の 5000 ppm と 10000 ppm 群では、投与開始後 4 日目のみ低値がみられた。

平均被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、雄では、1250 ppm 群：102、2500 ppm 群：206、5000 ppm 群：389、10000 ppm 群：707、20000 ppm 群：1397 であり、雌では、1250 ppm 群：108、2500 ppm 群：213、5000 ppm 群：409、10000 ppm 群：802、20000 ppm 群：1447 であった。各投与群の被験物質摂取量の比率は設定濃度比に近い値を示したが、雌雄ともに投与開始後 4 日目においては 5000 ppm 以上の群で設定濃度比 (2.0) を下回った。これは、投与初期に摂餌量の低値があったためと考えられた。

剖検では、雌雄ともに投与の影響は認められなかったが、雄の脾臓の実重量及び体重比の低値がすべての投与群でみられた。また、雌の 10000 ppm 以上の群では、卵巣の実重量または体重比の低値がみられた。ただし、これらの臓器重量変化の毒性学的意義は明らかではなかった。

IV-2 他の文献との比較

(1)毒性

ラットの雌雄に 0 (対照群)、3125、6250、12500、25000 及び 50000 ppm (w/w) の 4-*tert*-ブチルカテコールを、15 日間反復経口投与(混餌)した NTP の報告 (文献 5) では、50000 ppm 群の動物は全身状態悪化のため、投与開始後 8 日目に雌雄ともすべての動物が切迫屠殺された。また、6250 ppm 以上の群の最終体重は雌雄とも、対照群より低く、摂餌量は飼料中の 4-*tert*-ブチルカテコールの濃度が高くなるにつれて低下した。臓器重量では、25000 ppm の雌雄の群で胸腺の重量低下がみられた。雌雄の 12500 ppm 以上の群には解剖時に瘦削がみられた。25000 ppm と 50000 ppm 群では、腎臓、肝臓、胃について病理組織学的検査が実施されたが、投与に関連した所見はみられなかった。NTP は、この試験結果をもとに 14 週間反復経口投与(混餌)試験の最高投与濃度を 12500 ppm に決定した。

(2)遺伝毒性

4-*tert*-ブチルカテコールの微生物を用いる復帰突然変異試験では、ネズミチフス菌 TA97、TA98、TA100、TA102、TA104、TA1535、TA1537、TA1538 菌株、大腸菌 WP2、WP2*uvrA* 菌株及び酵母菌 JD1 株において、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果を示した (文献 5、7)。また、ラット培養肝細胞を用いた染色体異常試験で陰性の結果を示した (文献 7) 一方、マウスリンパ腫の培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験では、陽性を示した (文献 8)。

げっ歯類を用いる小核試験においては、ラットに 1 回腹腔内投与した場合の骨髓細胞、マウスに混餌により 14 週間投与した場合の末梢血の両者とも陰性であった (文献 5)。

IV-3 13 週間試験の濃度決定

13 週間試験の投与濃度は、本試験と NTP が実施した 14 週間の混餌経口投与試験 (文献 5) の結果をもとに設定した。本試験は、F344/DuCrI_{Cr}Ij ラットの雌雄に、0 (対照群)、1250、2500、5000、10000 及び 20000 ppm の被験物質混合飼料を自由摂取させることによって行った。その結果、20000 ppm では、体重増加の抑制 (投与終了時：雄 68%、雌 77%) が認められた。10000 ppm では、投与終了時の体重は対照群と比較して雄 84%、雌 95%であり、雄の体重抑制が 10%を超えているが、一般状態に異常は認められなかった。NTP の試験では 12500 ppm の濃度での 14 週間投与により体重増加抑制が 23%あるものの動物の死亡がないことから、10000 ppm の濃度でも 13 週間の投与に耐えると考えられた。従って、13 週間試験の最高投与濃度は、10000 ppm が適当であると考えた。また、NTP が実施した 14 週間試験では雌雄とも最低投与濃度の 781 ppm まで病理組織学的変化 (前胃の角化亢進) が認められている。このため、無毒性量の情報を得るには、それ以下の

濃度の設定が必要と考えられた。

以上より、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 10000 ppm を最高投与濃度とし、以下 4000、1600、640 及び 256 ppm（公比 2.5）に設定した。

V 文献

1. 化学工業日報社. 2006. 14906 の化学商品. 東京：化学工業日報社, 775.
2. 和光純薬工業(株). 2007. MSDS No. JW021085, 製品安全データシート.
3. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY : John Wiley and Sons.
4. 和光純薬工業(株). 2008. 4-*t*-ブチルピロカテコール, 赤外吸収スペクトル.
5. NTP. 2002. NTP Technical Report on Toxicity Studies of *p-tert*-Butylcatechol (CAS No. 98-29-3). Administered in Feed to F344/N Rats and B6C3F₁ Mice. Toxicity Report Series 70. Research Triangle Park, NC : National Toxicology Program.
6. 阿部正信. 1986. 長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立. 薬理と治療 14 : 7285-7302.
7. Dean BJ, Brooks TM, Hodson-Walker G, Hutson DH. 1985. Genetic toxicology testing of 41 industrial chemicals. Mutat Res. 153: 57-77.
8. McGregor DB, Riach CG, Brown A, Edwards I, Reynolds D, West K, Willington S. 1988. Reactivity of catecholamines and related substances in the mouse lymphoma L5178Y cell assay for mutagens. Environ Mutagen. 11: 523-544.

VI 予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたこと

本試験において、予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたことはなかつた。