

Table 1 Hematology of male rats treated orally with 6-tert-butyl-2,4-xyleneol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level	0 mg/kg	6 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
HCT(%)	45.8 ± 1.3	46.2 ± 1.8	45.2 ± 1.2	43.9 ± 1.3 **
HGB(g/dl)	14.6 ± 0.4	14.8 ± 0.5	14.5 ± 0.4	14.1 ± 0.4 **
RBC(×10 ⁶ /mm ³)	8.04 ± 0.28	8.32 ± 0.27 *	8.15 ± 0.27	7.72 ± 0.20 **
MCV(μm ³)	56.9 ± 1.9	55.5 ± 2.3	55.5 ± 1.7	57.0 ± 1.8
MCH(pg)	18.2 ± 0.6	17.8 ± 0.6	17.8 ± 0.4	18.3 ± 0.5
MCHC(%)	31.9 ± 0.5	32.1 ± 0.3	32.1 ± 0.5	32.1 ± 0.4
PLT(×10 ³ /mm ³)	1000 ± 80	1020 ± 78	987 ± 70	1046 ± 73
WBC(×10 ³ /mm ³)	8.9 ± 2.1	10.1 ± 2.5	10.9 ± 2.5 *	8.1 ± 1.9
Differential leukocyte counts(%)				
NEUT	21 ± 4	24 ± 5	19 ± 4	25 ± 5 *
LYMPH	76 ± 5	74 ± 5	79 ± 5	72 ± 5 *
MONO	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 1	1 ± 0
EOSN	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	2 ± 1
BASO	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
LUC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Reticulocyte(‰)	25 ± 15	41 ± 16 *	37 ± 14	42 ± 15 *

NEUT : Neutrophil LYMPH : Lymphocyte MONO : Monocyte EOSN : Eosinophil BASO : Basophil

LUC : Large unstained cells

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *:P<0.05 **:P<0.01

Table 2 Blood chemistry of male rats treated orally with 6-tert-butyl-2,4-xyleneol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level	0 mg/kg	6 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
Γ-protein(g/dl)	5.88 ± 0.29	5.95 ± 0.19	6.19 ± 0.23 **	6.25 ± 0.21 **
Albumin(g/dl)	3.42 ± 0.17	3.42 ± 0.14	3.61 ± 0.22 *	3.61 ± 0.16
A/G	1.39 ± 0.08	1.36 ± 0.08	1.40 ± 0.11	1.36 ± 0.06
Glucose(mg/dl)	168 ± 18	157 ± 15	156 ± 16	150 ± 26
BUN(mg/dl)	13.5 ± 1.9N	12.7 ± 1.8	13.7 ± 3.2	11.8 ± 1.1
Creatinine(mg/dl)	0.57 ± 0.05	0.64 ± 0.10	0.64 ± 0.06	0.61 ± 0.05
T.bilirubin(mg/dl)	0.15 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.14 ± 0.04
GOT(U/l)	44 ± 5	40 ± 6	37 ± 5 **	36 ± 5 **
GPT(U/l)	16 ± 2	16 ± 4	14 ± 2	16 ± 4
γ-GTP(U/l)	0.1 ± 0.1N	0.1 ± 0.2	0.3 ± 0.3 *	0.8 ± 0.4 **
Potassium(mmol/l)	4.54 ± 0.14	4.35 ± 0.33	4.33 ± 0.24	4.10 ± 0.30 **
Chloride(mmol/l)	105.8 ± 1.5	107.1 ± 1.1 *	106.9 ± 1.0 *	106.9 ± 1.1 *
Calcium(mg/dl)	10.52 ± 0.31	9.83 ± 0.30 **	10.28 ± 0.21 *	9.96 ± 0.23 **
I.phosphate(mg/dl)	6.42 ± 0.40N	6.34 ± 0.80	7.10 ± 0.34 **	6.07 ± 0.28

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from control group; *:P<0.05 **:P<0.01

N : Non parametric analysis

れた所見として、肝臓の肥大が30および150 mg/kg群で1および9例に観察された。その他自然発生性と考えられる所見として、肺の有色斑/区域(褐色)、肝臓の変形(分葉異常)、腹腔内の塊(脂肪壊死)、腎臓の嚢胞および瘢痕、精巣および精巣上体の萎縮が30または150 mg/kg群で単発性に認められ、肝臓の黄色化が対照群で2例に認められた。哺育4日の雌では、被験物質投与群に多く観察された所見として、胸腺の萎縮が6、30および150 mg/kg群でそれぞれ1、2および1例、肝臓の白色斑/区域および副腎の肥大が150 mg/kg群で各2例、腎臓の淡明化が6および150 mg/kg群で各1例観察された。その他単発

性に発生した所見として、胸腺の赤色斑/区域、小腸の有色斑/区域(黄色)、肝臓の奇形結節(過形成)、淡明化および赤色化、腎臓の腎盂拡大および肥大、被毛の菲薄化が被験物質投与群で単発性に認められた。妊娠を成立させなかった雄および妊娠が成立しなかった雌では、異常所見は観察されなかった。全児死亡の認められた雌では、哺育4日までに全児死亡が認められた雌は30および150 mg/kg群でそれぞれ1および3例であった。肝臓の肥大および赤色斑/区域が150 mg/kg群でそれぞれ3例(全例)および2例観察された。その他観察された心臓の瘢痕、胸腺の有色斑/区域(褐色)、肺の黒色斑/区域およ

Table 3 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 6-tert-butyl-2,4-xyleneol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level	0 mg/kg	6 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg
No. of animals examined	12	12	12	12
Body weight (g)	507 ± 22	504 ± 38	508 ± 38	496 ± 33
Absolute organ weight				
Thymus (mg)	314 ± 90	342 ± 120	315 ± 85	304 ± 94
Liver (g)	14.89 ± 1.60	15.38 ± 1.77	16.55 ± 2.49	19.22 ± 2.92 **
Kidneys (g)	3.21 ± 0.24	3.28 ± 0.31	3.32 ± 0.31	3.64 ± 0.24 **
Testes (g)	3.32 ± 0.26	3.63 ± 0.24	3.62 ± 0.37	3.42 ± 0.40
Epididymides (g)	1.25 ± 0.11	1.26 ± 0.09	1.24 ± 0.06	1.16 ± 0.13
Relative organ weight				
Thymus (mg%)	61.532 ± 15.465	68.282 ± 25.990	61.983 ± 15.853	60.682 ± 16.518
Liver (g%)	2.930 ± 0.233	3.045 ± 0.203	3.251 ± 0.304 *	3.856 ± 0.387 **
Kidneys (g%)	0.634 ± 0.059	0.650 ± 0.042	0.655 ± 0.047	0.735 ± 0.059 **
Testes (g%)	0.656 ± 0.072	0.722 ± 0.063	0.717 ± 0.090	0.691 ± 0.087
Epididymides (g%)	0.247 ± 0.026	0.250 ± 0.025	0.245 ± 0.017	0.235 ± 0.027

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; *:P<0.05 **:P<0.01

Table 4 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 6-tert-butyl-2,4-xyleneol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level	0 mg/kg	6 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg
No. of animals examined	11	12	11	7
Body weight (g)	335 ± 17	309 ± 29	318 ± 38	312 ± 24
Absolute organ weight				
Thymus (mg)	186 ± 68	102 ± 46	156 ± 96	126 ± 55
Liver (g)	13.72 ± 1.31	12.35 ± 2.19	13.42 ± 1.96	16.34 ± 2.75
Kidneys (g)	2.11 ± 0.11N	2.11 ± 0.16	2.14 ± 0.16	2.62 ± 0.75
Ovaries (mg)	108 ± 23	105 ± 12	106 ± 16	104 ± 11
Relative organ weight				
Thymus (mg%)	55.164 ± 18.680	32.470 ± 12.210	47.169 ± 26.027	40.129 ± 16.015
Liver (g%)	4.088 ± 0.274N	3.981 ± 0.507	4.212 ± 0.349	5.264 ± 0.927 **
Kidneys (g%)	0.630 ± 0.028N	0.686 ± 0.077	0.686 ± 0.118	0.848 ± 0.259 **
Ovaries (mg%)	32.286 ± 6.341	34.419 ± 5.451	33.936 ± 8.576	33.599 ± 4.545

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; *:P<0.05 **:P<0.01

N : Non parametric analysis

び結節，胃の白色斑／区域，小腸の白色化，肝臓の白色化，腎臓の黒色化，肥大および淡明化，副腎の肥大が単発性に認められた。

8) 病理組織学検査 (Table 5,6)

死亡例は 150 mg/kg 群で 2 例認められた。脾臓の色素沈着，肺の血管中膜肥厚，舌および食道の錯角化症，肝臓の硝子滴変性，小葉中心性壊死，単細胞壊死，小葉中心性肝細胞腫脹，腎臓の硝子滴変性，顆粒状蛋白円柱，乳腺の増生が 2 例ともに観察された。妊娠を成立させた雄では，対照群に比較して 150 mg/kg 群で明らかに多い発生を

示した所見として，小葉中心性肝細胞腫脹が 12 例中 9 例に観察された。また，被験物質投与群でやや増加傾向のみられた所見として，副腎の空胞化が認められた。その他認められた所見は，対照群と被験物質投与群との間で発現数に差はなかった。6 および 30 mg/kg 群について胸腺，肝臓，腎臓および副腎を鏡検した結果，肝臓および腎臓には異常所見はなかった。哺育 4 日の雌では，対照群に比較して 150 mg/kg 群で明らかに多い発生を示した所見として，小葉中心性肝細胞腫脹が観察された。また，被験物質投与群でやや増加傾向のみられた所見として，胸腺の萎縮が観察された。対照群に認められず 150 mg/kg 群のみに複数例の

Table 5 Summary of histological findings in male rats treated orally with 6-tert-butyl-2,4-xyleneol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level (mg/kg)		0			6			30			150			
No. of animals sacrificed		11			12			12			12			
No. of animals necropsied		11			12			12			12			
No. of animals examined histologically		11			12			12			12			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	
CARDIOVASCULAR SYSTEM														
heart		(11)				(0)				(0)				(12)
	infiltration/cellular	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	- 1 0 0
HEMATOPOIETIC SYSTEM														
spleen		(11)				(0)				(0)				(12)
	deposit of pigmen	-	11	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	- 12 0 0
RESPIRATORY SYSTEM														
lung		(0)				(0)				(0)				(1)
	accumulation of foamy cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	- 1 0 0
	perivascular cell infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	- 1 0 0
	medial hypertrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	- 1 0 0
DIGESTIVE SYSTEM														
liver		(11)				(12)				(12)				(12)
	fatty change	-	9	0	0	-	10	0	0	-	10	0	0	- 10 0 0
	swelling of liver cells	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	- 9 0 0**
	granulation	-	7	0	0	-	6	0	0	-	8	0	0	- 4 0 0
	infiltration/cellular	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	- 1 0 0
	lymphocytic infiltration	-	1	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	- 1 0 0
	malformation	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	- 0 0 0
peritoneum		(0)				(0)				(1)				(0)
	granulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	- - - -
URINARY SYSTEM														
kidney		(11)				(12)				(12)				(12)
	basophilic change	-	10	0	0	-	11	0	0	-	8	0	0	- 9 2 0
	cyst	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	- 0 0 0
	degeneration	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	- 0 0 0
	eosinophilic body	-	5	1	1	-	4	4	0	-	5	1	0	- 8 1 1
	hyaline drople	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	- 1 0 0
	protein cast	-	0	0	0	-	1	0	0	-	1	0	0	- 0 0 0
	tubular dilatation	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	- 0 0 0
	lymphocytic infiltration	-	1	0	0	-	4	0	0	-	5	0	0	- 2 0 0
	scarring	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	- 0 0 0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Significantly different from control group; **: $P \leq 0.01$

Table 5 (continued)

Dose level (mg/kg)		0			6			30			150						
No. of animals sacrificed		11			12			12			12						
No. of animals necropsied		11			12			12			12						
No. of animals examined histologically		11			12			12			12						
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3				
REPRODUCTIVE SYSTEM																	
testes		(11)			(0)			(0)			(12)						
atrophy		-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0		
focal atrophy		-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0		
granulation		-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0		
interstitial cell hyperplasia		-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0		
epididymis		(0)			(0)			(0)			(1)						
atrophy		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0		
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(11)			(12)			(12)			(12)						
vacuolic change		-	3	0	0	-	6	0	0	-	7	0	0	-	8	0	0
fat infiltration		-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0
hypertrophy		-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
osseous metaplasia		-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
 =: benign #: malignant
 (): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

発生を示した所見として、肝臓の小葉中心性細胞壊死、肉芽巣、腎臓の乳頭部 PAS 陽性顆粒沈着、顆粒状蛋白円柱および近位尿細管の壊死が観察された。その他認められた所見は、対照群と被験物質投与群との間で発現数に差はなかった。6 および 30 mg/kg 群について胸腺、肝臓、腎臓および副腎を鏡検した結果、肝臓および腎臓の異常所見はなく、胸腺の萎縮が 150 mg/kg 群と同程度の発生を示した。妊娠を成立させなかった雄は対照群で 1 例認められ、脾臓の色素沈着、肝臓の脂肪化、腎臓の好塩基性化および副腎の空胞化が観察された。妊娠が成立しなかった雌は対照群で 1 例認められ、心臓の細胞浸潤、脾臓の色素沈着および肝臓の肉芽巣が観察された。全児死亡の認められた雌では、30 および 150 mg/kg 群でそれぞれ 1 および 3 例認められた。全動物において胸腺の萎縮、脾臓の色素沈着、舌の錯角化症および肝臓の脂肪化が観察され、さらに 150 mg/kg 群で肺の出血、食道の錯角化症、肝臓の細胞分裂、小葉中心性肝臓細胞壊死、単細胞壊死、肝細胞腫脹、腎臓の蛋白円柱、尿細管好塩基化、細胞分裂、尿細管拡張、近位尿細管の壊死および空胞化がそれぞれ 3 例中 2 ないし 3 例に観察された。

2. 生殖発生毒性

1) 交尾および受胎能 (Table 7)

交尾は、すべての群で全例成立した。
 受胎は、対照群で 1 組が不成立であり、その他の被験物質投与群では全例が成立した。性周期観察では、偽妊娠(連続した発情休止期像)も観察されず、いずれの群もほぼ 4~5 日の性周期を示し、平均性周期に群間差は認められなかった。

2) 分娩および哺育 (Table 8)

妊娠期間は各群で平均 22.5~22.9 日の範囲であり、分娩時間の延長も認められなかった。150 mg/kg 群で 9 匹の新生児を娩出し分娩中に死亡した動物が 1 例観察され、剖検時の子宮内検査において子宮内残留胎児が 6 匹確認された。また、同群で対照群に比べ着床痕数が減少した。哺育期間中に全児死亡の認められた動物が 4 例観察された。その他、150 mg/kg 群で対照群に比べ哺育 4 日の生存率が雌雄とも低値傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。対照群、6 および 30 mg/kg 群では、分娩状態の異常は観察されず、黄体数、着床痕数、性比、出産率、着床率、分娩率、出生率および新生児の哺育 4 日生存率に群間差は認められなかった。

3) 新生児の形態、体重および剖検所見

いずれの群にも外表異常は観察されなかった。哺育 4 日までの体重は雌雄ともに群間差は認められなかった。哺育 4 日までの死亡児の剖検では、胸腺の頸部残留が被験物質投与群で散見されたのみであった。哺育 4 日の生存児の剖検では、胸腺の頸部残留、肝臓の白色斑/区域、淡明化および腎盂拡大が対照群、6 および 30 mg/kg 群で単発性に認められた。

考察

1. 反復投与毒性

死亡例は雌の 150 mg/kg 群で妊娠 23 日に 2 例(1 例は分娩中に死亡)観察された。剖検で肝臓の肥大が、病理組織学検査で肝臓を中心とする異常所見が認められたことか