

4-*tert*-ブチルカテコールのマウスを用いた  
経口投与によるがん原性試験（混餌試験）報告書

試験番号：0740

CAS No. 98 29 3

2013年 9月 30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
試験法	.....	i
GLP 対応	.....	i
動物福祉	.....	i
試験委託者	.....	i
試験施設及び運営管理者	.....	ii
試験日程	.....	ii
試験関係者一覧	.....	ii
試資料の保管	.....	iv
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	.....	iv
陳述書	.....	v
信頼性保証証明書	.....	vi
本文	.....	vii
TABLES	A 1~R 2	
FIGURES	1~6	
PHOTOGRAPHS	1~3	
APPENDICES	1-1~3	

## 標題

4-*tert*-ブチルカテコールのマウスを用いた経口投与によるがん原性試験（混餌試験）

## 試験目的

4-*tert*-ブチルカテコールをマウスに 104 週間経口（混餌）投与し、がん原性を検索した。

## 試験法

本試験は、平成 9 年 3 月 11 日付け、基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準」に準拠し、OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験 1981 年 5 月 12 日採択）に準じて実施した。

## GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

## 動物福祉

本試験は、平成 18 年 4 月 28 日付け、環境省告示第 88 号「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、平成 18 年 6 月 1 日付け、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」及び平成 18 年 11 月 27 日付け、日本バイオアッセイ研究センター制定「動物実験に関する指針」を遵守した。また、本試験計画書は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で承認された。

## 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  
東京都千代田区霞が関 1-2-2

4-*tert*-ブチルカテコールのマウスを用いた  
経口投与によるがん原性試験（混餌試験）報告書

試験番号：0740

# 本文

## 本文目次

	頁
要約 .....	1
試験材料 .....	3
- 1 被験物質の性状等 .....	3
- 1 - 1 名称等 .....	3
- 1 - 2 構造式及び分子量 .....	3
- 1 - 3 物理化学的性状等 .....	3
- 2 被験物質の使用ロット等 .....	3
- 3 被験物質の特性・同一性、安定性 .....	4
- 3 - 1 特性・同一性 .....	4
- 3 - 2 安定性 .....	4
- 4 試験動物 .....	4
試験方法 .....	5
- 1 投与 .....	5
- 1 - 1 投与経路 .....	5
- 1 - 2 被験物質の投与方法 .....	5
- 1 - 3 投与期間 .....	5
- 1 - 4 投与濃度 .....	5
- 1 - 5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由 .....	5
- 1 - 6 被験物質混合飼料の調製方法 .....	6
- 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 .....	6
- 1 - 8 被験物質混合飼料中の被験物質の安定性 .....	7
- 1 - 9 被験物質の摂取量 .....	7

- 2	動物管理	7
- 2 - 1	各群の使用動物数	7
- 2 - 2	群分け及び個体識別方法	8
- 2 - 3	飼育条件	8
(1)	飼育環境	8
(2)	飼料	8
(3)	飲水	9
- 3	観察・検査項目及び方法	9
- 3 - 1	動物の生死及び一般状態の観察	9
- 3 - 2	体重測定	9
- 3 - 3	摂餌量測定	9
- 3 - 4	血液学的検査	9
- 3 - 5	血液生化学的検査	10
- 3 - 6	尿検査	10
- 3 - 7	病理学的検査	10
(1)	剖検	10
(2)	臓器重量	10
(3)	病理組織学的検査	10
- 4	数値処理と統計方法	11
- 4 - 1	数値の取り扱いと表示	11
- 4 - 2	統計処理	11
	試験成績	13
- 1	生死状況	13
- 2	一般状態	13
- 3	体重	13
- 4	摂餌量	14
- 5	被験物質摂取量	14
- 6	血液学的検査	15
- 7	血液生化学的検査	15
- 8	尿検査	15

- 9 病理学的検査	15
- 9 - 1 剖検	15
- 9 - 2 臓器重量	16
- 9 - 3 病理組織学的検査	16
- 9 - 4 死因	18
考察及びまとめ	19
- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量、被験物質摂取量	19
- 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変	19
- 3 その他の影響	20
- 4 他文献との比較等	20
結論	22
文献	23
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	25

## 要約

4-*tert*-ブチルカテコールのがん原性を検索する目的で B6D2F1/Crlj マウスを用いた混餌経口投与による 2 年間 (104 週間) の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、雌雄各群とも 50 匹とし、合計 400 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、雄は 1250、2500 及び 5000 ppm、雌は 2500、5000 及び 10000 ppm (重量比 w/w) とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

試験の結果、生存率は、雌雄とも対照群と比較して差はみられなかった。一般状態の観察では、雌雄とも被験物質の投与と関連のある所見は認められなかった。体重の低値が、雄の 5000 ppm と雌の 5000 ppm 以上の群で投与期間を通して、また、雄の 2500 ppm 群では投与期間中期に、雌の 2500 ppm 群では投与初期から終期にかけて認められた。摂餌量は、雄では 2500 ppm 以上の群で主に投与期間中期に、雌では 5000 ppm 以上の群で投与期間初期から終期にかけて低値が認められた。

主な腫瘍性病変を付表 1, 2 に示す。雄では前胃の腫瘍 (扁平上皮乳頭腫) の発生増加が 5000 ppm 群に認められた。雌には腫瘍の発生増加は認められなかった。

腫瘍以外の影響として、雄では、腺胃の過形成の発生増加と程度の増強がすべての投与群で認められた。また、雄の 5000 ppm 群と雌の 5000 ppm 以上の群で複数の臓器におけるアミロイド沈着の増加が認められた。

以上、B6D2F1/Crlj マウスを用いて、4-*tert*-ブチルカテコールの 2 年間 (104 週間) にわたる混餌経口投与によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められ、雄マウスに対するがん原性を示す証拠であると考えられた。

雌では、腫瘍の発生増加は認められなかった。



付表 1 4-tert-ブチルカテコールのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雄)

		投与濃度 (ppm)	0	1250	2500	5000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫 瘍	肺	細気管支 肺胞上皮腺腫	5	5	8	4		
	胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫	0	0	2	5 *		
	肝臓	血管腫	2	4	1	1		
	肝臓	肝細胞腺腫	7	12	11	8		
悪性 腫 瘍	肺	細気管支 肺胞上皮癌	4	1	4	3		
	リンパ節	悪性リンパ腫	3	8	7	2		
	胃 (前胃)	扁平上皮癌	0	1	0	0		
	胃 (腺胃)	腺癌	0	0	0	1		
	肝臓	組織球性肉腫	3	0	2	4		
	肝臓	肝細胞癌	12	10	7	5		
	胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫+ 扁平上皮癌	0	1	2	5 *		

\* : p 0.05 で有意                      \*\* : p 0.01 で有意                      ( Fisher 検定 )  
: p 0.05 で有意増加                      : p 0.01 で有意増加                      ( Peto, Cochran-Armitage 検定 )  
: p 0.05 で有意減少                      : p 0.01 で有意減少                      ( Cochran-Armitage 検定 )

付表 2 4-tert-ブチルカテコールのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雌)

		投与濃度 (ppm)	0	2500	5000	10000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫 瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	5	0 *	2	1		
	胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫	0	2	1	0		
	下垂体	腺腫	5	6	2	0 *		
	卵巣	嚢胞腺腫	4	1	0	1		
	ハーダー腺	腺腫	3	3	0	0		
悪性 腫 瘍	皮下組織	線維肉腫	3	0	0	1		
	リンパ節	悪性リンパ腫	16	19	17	9		
	肝臓	組織球性肉腫	3	0	1	0		
	子宮	組織球性肉腫	15	10	8	12		

\* : p 0.05 で有意                      \*\* : p 0.01 で有意                      ( Fisher 検定 )  
: p 0.05 で有意増加                      : p 0.01 で有意増加                      ( Peto, Cochran-Armitage 検定 )  
: p 0.05 で有意減少                      : p 0.01 で有意減少                      ( Cochran-Armitage 検定 )

## 試験材料

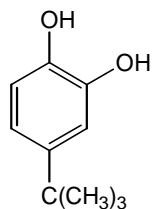
## - 1 被験物質の性状等

## - 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

## - 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式 :



分 子 量 : 166.22

## - 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  
 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

## - 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : PEK3567 (2009年8月26日～2010年11月3日)  
 STL0824 (2010年11月3日～2011年8月30日)  
 製 造 元 : 和光純薬工業(株)  
 グ レ ー ド : 和光特級  
 純 度 : PEK3567 : 99.2 %  
 STL0824 : 100 %  
 (和光純薬工業(株)検査成績書データ)

### - 3 被験物質の特性・同一性、安定性

#### - 3 - 1 特性・同一性

被験物質の同一性は、ロットごとに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 に示す。

#### - 3 - 2 安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに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 に示す。

### - 4 試験動物

動物は、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 B6D2F1/Crlj マウス（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 227 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 200 匹（群構成時体重範囲、雄：21.7～25.6g、雌：17.6～20.5g）を選別し、試験に用いた。

なお、B6D2F1/Crlj マウス（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。

## 試験方法

### - 1 投与

#### - 1 - 1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

#### - 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 7 日毎に実施した。

#### - 1 - 3 投与期間

投与期間は 104 週間とし、さらに、それぞれの動物の定期解剖前日まで連続投与した。

#### - 1 - 4 投与濃度

投与濃度は、雄は 1250、2500 及び 5000 ppm、雌は 2500、5000 及び 10000 ppm (重量比 w/w) の 3 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。

#### - 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、がん原性試験による調査の基準(安衛法)(文献 5)及び OECD 化学品テストガイドライン 451(発癌性試験)(文献 6)に従い、2 年間(104 週間)とした。

投与濃度は、経口投与による 13 週間毒性試験(混餌試験、試験番号 0720)(文献 7)の結果をもとに設定した。13 週間試験は、B6D2F1/Crlj マウスの雌雄に、0(対照群)、625、1250、2500、5000 及び 10000 ppm の濃度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。

以前に実施した 13 週間試験の結果では、10000 ppm を含む全ての投与群で雌雄とも死亡はみられなかった。10000 ppm では、雄で体重増加の抑制(最終体重は対照群に対し、83%)及び摂餌量の低値が認められ、病理組織学的検査では、すべての動物に胸腺の萎縮がみられ、血液学的検査では、MCV 及び MCH の低値、網赤血球比の高値、血液生化学的検査では、

ALPの高値と総蛋白及び総ビリルビンの低値がみられた。雌では、体重増加の抑制傾向（最終体重は対照群に対し、95%）が認められ、血液学的検査ではヘモグロビン濃度とヘマトクリット値の低値、血液生化学的検査では総コレステロール及びリン脂質の高値と総ビリルビンの低値がみられた。5000 ppm群では、雄で体重増加の抑制傾向（最終体重は対照群に対し、94%）がみられたが、血液学的検査及び血液生化学的検査のパラメーターに変化はみられず、胸腺の萎縮がみられたのは1匹のみだった。雌では、体重増加の抑制は認められず、ヘマトクリット値の僅かな低値がみられたのみだった。2500 ppm以下の群では雌雄ともに対照群と比較して差は認められなかった。

以上の結果から、雄の10000 ppm群では対照群と比較して10%以上の体重増加抑制が認められることから、がん原性の最高投与濃度としては高いと考えられた。5000 ppm群では体重増加の抑制がみられるものの、その程度は対照群に対して10%以内であり、他に動物の生存率に影響を与えると思われる所見も認められないことから、雄の最高投与濃度は5000 ppmが妥当であると考えた。雌では、10000 ppm群で体重増加の抑制がみられたが、その程度は対照群に対して10%以内であり、また、血液学的検査及び血液生化学的検査でみられた変化はいずれも軽度と考えられ、この濃度で2年間の長期投与を行っても動物の生存率に影響を与えないと判断した。最低投与濃度については、雌雄ともに投与の影響が認められない2500 ppm以下の濃度と考えた。

従って、がん原性試験の投与濃度は、雄は、5000 ppmを最高投与濃度とし、以下2500及び1250 ppm（公比2）に決定した。雌は、10000 ppmを最高投与濃度とし、以下5000及び2500 ppm（公比2）に決定した。

#### - 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) SS-251、CS-20 または HP-20M）で攪拌混合し、設定した濃度の被験物質混合飼料を調製した。初めに粉末飼料と被験物質を攪拌混合し、20000 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、1250、2500、5000及び10000 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、投与開始日前日より2週に1回調製し、1週分をマウス用餌箱に充填して翌日より動物に与えた。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。

#### - 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は、初回調製時及び3ヶ月ごとに、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)

島津製作所 LC-10)を用いて測定し、確認した。なお、初回調製時のサンプリングは各調製濃度における均一性の確認を合わせて行った。

その結果、各群の平均調製濃度は、設定濃度に対して 94.2～108%の範囲にあった。また、均一性は各調製濃度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 に示す。

#### - 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、13 週間毒性試験(試験番号 0720)において、150 ppm と 15000 ppm の被験物質混合飼料で確認した。すなわち、150 ppm と 15000 ppm の被験物質混合飼料をマウス用餌箱に充填し、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(8 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(株島津製作所 LC-10)を用いて測定した。調製時と保管期間後の被験物質濃度を比較した結果、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 に示す。

#### - 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。

### - 2 動物管理

#### - 2 - 1 各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

群番号	群名称	雄 使用動物数(動物番号)	群名称	雌 使用動物数(動物番号)
0	対照群	50 匹 (1001～1050)	対照群	50 匹 (2001～2050)
1	1250 ppm 群	50 匹 (1101～1150)	2500 ppm 群	50 匹 (2101～2150)
2	2500 ppm 群	50 匹 (1201～1250)	5000 ppm 群	50 匹 (2201～2250)
3	5000 ppm 群	50 匹 (1301～1350)	10000 ppm 群	50 匹 (2301～2350)

## - 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 200 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 8)。

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。

動物はバリア区域内の独立した室に収容し、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。なお、試験中途において、雄は 106 室から 207 室へ、雌は 106 室から 209 室へ移動した(2011 年 6 月 22 日)。

## - 2 - 3 飼育条件

### (1) 飼育環境

動物は、全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 :  $23 \pm 2$   
< 106 室 :  $22.9 \pm 0.3$  、 207 室 :  $23.0 \pm 0.1$  、 209 室 :  $23.0 \pm 0.1$  >

湿度 :  $55 \pm 15\%$   
< 106 室 :  $56 \pm 2\%$ 、 207 室 :  $54 \pm 2\%$ 、 209 室 :  $55 \pm 1\%$  >

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 (112(W) × 212(D) × 120(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-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。ただし、定期解剖前日の夕方からは飼料を

摂取させなかった。

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。

#### - 3 観察・検査項目及び方法

##### - 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死及び瀕死の確認を毎日1回、また、一般状態の詳細な観察は週1回行った。

##### - 3 - 2 体重測定

体重測定は、投与開始後14週間は週1回、それ以降は4週に1回(104週にも測定)行った。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖動物の搬出時にも体重(搬出時体重)を測定した。

##### - 3 - 3 摂餌量測定

摂餌量は、投与開始後14週間は週1回、それ以降は4週に1回(104週にも測定)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。

##### - 3 - 4 血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりEDTA-2カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法はAPPENDIX 3に示す。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、



平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、  
血小板数、網赤血球比、白血球数、白血球分類

### - 3 - 5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示す。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CK、尿素窒素、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

### - 3 - 6 尿検査

投与 104 週の検査時まで生存した動物から新鮮尿を採取し、尿試験紙（ウロラプスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

### - 3 - 7 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：副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

#### (3) 病理組織学的検査

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後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓（大腿骨）、リンパ節（腋窩、鼠径等）、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、胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、

前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、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 数値処理と統計方法

##### - 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、小数点以下第 1 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。

血液学的検査、血液生化学的検査は APPENDIX 3 に示した単位と精度により表示した。

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。

##### - 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。病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査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。

病理組織学的検査の非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1～4 に分け、

<sup>2</sup>検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との<sup>2</sup>検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの担腫瘍動物数について、Peto 検定（文献 9）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(注)を用いて、死亡率法（コンテックス 3, 4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0, 1, 2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法 + 有病率法（コンテックス 0~4 の総計で検定）を行った。

各群雌雄ごとに検査数が 2 以下の項目については、検定より除外した。

各検定は 5%の有意水準で、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、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。

注：Peto 検定に用いるコンテックス

0：定期解剖動物にみつかった腫瘍

1：死亡 / 瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分 1 だと思いが、確かでない腫瘍

3：多分 4 だと思いが、確かでない腫瘍

4：死亡 / 瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

## 試験成績

### - 1 生死状況

生死状況を TABLE A 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示す。

#### - 雄 -

各投与群の投与終了時の生存率は対照群とほぼ同様であった。

各群の 104 週における生存動物数 (生存率) は、対照群 : 32 匹 (64%)、1250 ppm 群 : 32 匹 (64%)、2500 ppm 群 : 33 匹 (66%)、5000 ppm 群 : 40 匹 (80%) であった。

#### - 雌 -

各投与群の投与終了時の生存率は対照群とほぼ同様であった。

各群の 104 週における生存動物数 (生存率) は、対照群 : 20 匹 (40%)、2500 ppm 群 : 29 匹 (58%)、5000ppm 群 : 22 匹 (44%)、10000 ppm 群 : 21 匹 (42%) であった。

### - 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE B 1, 2 に示す。

#### - 雌雄 -

いずれの投与群にも、被験物質投与と関連があると考えられる所見は認められなかった。

### - 3 体重

体重の推移を TABLE C 1~4、及び FIGURE 3, 4 に示す。

#### - 雄 -

体重の低値が 5000 ppm 群では投与期間を通して、2500 ppm 群では投与開始後 30 週から 82 週に認められた。1250 ppm 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 : 90%、2500 ppm 群 : 93%、5000 ppm 群 : 79% であった。

#### - 雌 -

体重の低値が 5000 ppm 以上の群では全投与期間を通して、2500 ppm 群では投与開始後 1 週から 90 週までの間に認められた。

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、2500 ppm 群 : 97%、5000 ppm 群 : 90%、10000 ppm 群 : 77% であった。

#### - 4 摂餌量

摂餌量の推移を TABLE D 1~4 及び FIGURE 5, 6 に示す。

- 雄 -

摂餌量の低値が 5000 ppm 群では投与開始後 10 週から 82 週、2500 ppm 群では投与開始後 46 週から 66 週の間認められた。1250 ppm 群では対照群とほぼ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 : 4.2g、1250 ppm 群 : 4.2g (100%)、2500 ppm 群 : 4.1g (98%)、5000 ppm 群 : 4.0g (95%) であった。

- 雌 -

摂餌量の低値が 5000 ppm 以上の群では投与開始後 1 週から 90 週までの間に認められた。2500 ppm 群では、対照群とほぼ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 : 3.8g、2500 ppm 群 : 3.8g (100%)、5000 ppm 群 : 3.6g (95%)、10000 ppm 群 : 3.4g (89%) であった。

#### - 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 に示す。

- 雄 -

各投与群の被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、1250 ppm 群 : 110~202、2500 ppm 群 : 217~397、5000 ppm 群 : 499~802 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 : 139、2500 ppm 群 : 280、5000 ppm 群 : 613 であった。全投与期間にわたって平均した各投与群の被験物質摂取量の比率は、1250 ppm 群の被験物質摂取量に対して、2500 ppm 群で 2.0 倍、5000 ppm 群で 4.4 倍であり、それぞれの群の被験物質摂取量は設定濃度比 (公比 2) をほぼ反映した値であった。

- 雌 -

各投与群の被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、2500 ppm 群 : 281~455、5000 ppm 群 : 588~885、10000 ppm 群 : 1303~1794 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、2500 ppm 群 : 352、5000 ppm 群 : 711、10000 ppm 群 : 1496 であった。全投与期間にわたって平均した各投与群の被験物質摂取量の比率は、2500 ppm 群の被験物質摂取量に対して、5000 ppm 群で 2.0 倍、10000 ppm 群で 4.3 倍であり、それぞれの群の被験物質摂取量は設定濃度比 (公比 2) をほぼ反映した値であった。

- 6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示す。

- 雄 -

血小板数の高値と好酸球比の低値が 5000 ppm 群で認められた。

- 雌 -

赤血球数と血小板数の高値、MCV と MCH の低値が 10000 ppm 群で認められた。

なお、5000 ppm 群で好中球比の低値が認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示す。

- 雄 -

投与群に被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

- 雌 -

総ビリルビンとトリグリセライドの低値、CK の高値が 10000 ppm 群に認められた。

- 8 尿検査

尿検査の結果を TABLE H 1, 2 に示す。

- 雄 -

蛋白の陽性度の減少が 5000 ppm 群に認められた。

なお、pH の上昇が 2500 ppm でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 雌 -

蛋白の陽性度の減少が 10000 ppm 群に認められた。

- 9 病理学的検査

- 9 - 1 剖検

剖検所見を TABLE I 1 ~ 6 に示す。

- 雄 -

前胃の結節が 1250 ppm 群に 1 匹、2500 ppm 群に 4 匹、5000 ppm 群に 5 匹認められた。

- 雌 -

投与群に被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

### - 9 - 2 臓器重量

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

- 雄 -

5000 ppm 群で、精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳の実重量や体重比に変化がみられたが、5000 ppm 群の搬出時体重は対照群と比較して低値であり、これらの臓器重量の変化は体重の低値に関連したものと考えられた。

なお、1250 ppm 群で精巣と腎臓の体重比の高値がみられたが、2500 ppm では変化はみられず、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 雌 -

10000 ppm 群で、副腎、心臓、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の実重量や体重比、5000 ppm 群で脳の体重比に変化がみられたが、これらの群の搬出時体重は対照群と比較して低値であり、これらの臓器重量の変化は体重の低値に関連したものと考えられた。

### - 9 - 3 病理組織学的検査

検査結果のうち非腫瘍性病変を TABLE L 1～6 に示す。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数の結果を TABLE M 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を TABLE N 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE O 1, 2 に、転移性病変を TABLE P 1, 2 に示す。また、腫瘍のうち統計学的に有意差が認められた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ(検査総匹数と腫瘍発生匹数、試験ごとの平均発生率(%)と発生率(最小%～最大%))を TABLE Q に示す。また、病理組織学的所見の代表例を写真 1～3 に示す。

- 雄 -

#### 1) 腫瘍性病変

< 胃 >

前胃の扁平上皮乳頭腫の発生(対照群:0匹, 0%、1250 ppm 群:0匹, 0%、2500 ppm 群:2匹, 4%、5000 ppm 群:5匹, 10%)は Peto 検定(有病率法)と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 5000 ppm 群に増加がみられた。また、2500 ppm 群と 5000 ppm 群における発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲(最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.3%)を超えた。従って、前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加は投与による影響と考えられた。また、前胃の扁平上皮癌が 1250 ppm で 1 匹発生したが、この発生は低濃度のみでの発生であり、かつヒストリカルコントロールデータの範囲(最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.04%)内であった。前胃の扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌の診断は毒性病理組織学を参考にした(文献 10)。扁平上皮乳頭腫は主に内腔に有茎性に突出する腫瘍であり、扁平上皮が樹枝状に分岐した間質を伴って増殖していたもので、腫瘍細胞の異型性が乏しく、浸潤性の増殖や転移のみられないものを扁平上皮乳頭腫と判断した。ま

た、腺胃の腺癌が 5000 ppm 群の 1 匹に認められ、この腺癌は腺胃の幽門部にみられた。腺胃の腺癌は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない極めて稀な腫瘍であった。

その他、肝臓の肝細胞癌の発生が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

## 2) 非腫瘍性病変

### < 胃 >

腺胃の過形成が 1250 ppm 以上の群で発生が増加し、その程度も増強した。腺胃の過形成は通常加齢により、前胃との境界部から胃底腺部に認められる変化であり、対照群にも認められる変化であるが、投与群では通常みられる過形成に加え、幽門部の上皮の増殖が認められた。その他、アミロイド沈着の発生が 5000 ppm 群で増加した。アミロイド沈着はアミロイド蛋白が血管壁や組織内に沈着する変化である。

### < 精巣 >

アミロイド沈着の発生が 5000 ppm 群で増加した。

その他、精巣の鉍質沈着の発生減少が 5000 ppm 群にみられた。

- 雌 -

## 1) 腫瘍性病変

投与群に被験物質投与によると考えられる腫瘍の発生増加はみられなかった。

なお、肺の細気管支 - 肺胞上皮腺腫の発生が 2500 ppm 群において Fisher 検定で統計的に有意な減少を示し、下垂体の腺腫が 10000 ppm 群において Fisher 検定で統計的に有意な減少を示し、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。また、ハーダー腺の腺腫が Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

## 2) 非腫瘍性病変

### < 肺 >

アミロイド沈着の発生が 10000 ppm 群で増加した。

### < 胃 >

アミロイド沈着の発生が 5000 ppm 以上の群で増加した。その他、腺胃の過形成の程度の減弱が 5000 ppm 群にみられた。

### < 大腸 >

アミロイド沈着の発生が 10000 ppm 群で増加した。



< 肝臓 >

アミロイド沈着の発生が 10000 ppm 群で増加した。

その他、腎臓の癒痕の程度の増強が 5000 ppm 群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。また、脾臓の随外造血の程度の減弱が 2500 ppm 群と 5000 ppm 群にみられた。

- 9 - 4 死因

病理学的にみた死亡 / 瀕死の原因を TABLE R 1, 2 に示す。

- 雄 -

投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

- 雌 -

アミロイドーシスによる死亡 / 瀕死が 10000 ppm 群でみられた (対照群 0 匹に対し、10000 ppm 群 6 匹)。その他、投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

なお、アミロイドーシスを死因とした雌の 6 匹は、アミロイド沈着が全身にみられ、肺への沈着の程度が比較的強いものであった。

## 考察及びまとめ

4-*tert*-ブチルカテコールのマウスを用いた2年間の混餌投与による経口試験(投与濃度:雄:1250、2500及び5000 ppm、雌:2500、5000及び10000 ppm)によって、下記の結果を得た。

### - 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量、被験物質摂取量

生存率は、雌雄とも対照群と比較して差はみられなかった。一般状態の観察では、雌雄とも被験物質の投与と関連のある所見は認められなかった。体重の低値が、雄の5000 ppmと雌の5000 ppm以上の群で投与期間を通して、また、雄の2500 ppm群では投与期間中期に、雌の2500 ppm群では投与初期から終期にかけて認められた。各投与群の最終体重は対照群に対し、雄では、5000 ppm群79%、2500 ppm群93%、雌では、10000 ppm群77%、5000 ppm群90%であった。摂餌量は、雄では2500 ppm群と5000 ppm群で主に投与期間中期に、雌では5000 ppm以上の群で投与期間初期から終期にかけて低値が認められた。各群の平均被験物質摂取量は、設定濃度比を反映した値であった。

### - 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雄では4-*tert*-ブチルカテコールの混餌投与により前胃の扁平上皮乳頭腫が増加傾向(Peto検定(有病率法)とCochran-Armitage検定)を示し、Fisher検定で5000 ppm群に増加がみられ、かつ、2500 ppmと5000 ppm群のその発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた。従って、前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加は雄マウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。なお、前胃の扁平上皮由来の悪性腫瘍である扁平上皮癌の発生が1250 ppm群に1匹認められたものの、前胃に悪性腫瘍の有意な発生増加は示されず、がん原性を示す「明らかな証拠」とするには不十分と判断した。また、腺胃では、前腫瘍性病変である腺胃の過形成がすべての投与群で発生増加を示したが、腫瘍性病変の発生は、腺癌が5000 ppm群に1匹みられたのみであった。この腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータにはみられない腫瘍であり、前腫瘍性病変と同様に幽門部に発生がみられたことから投与の影響を考慮する必要がある。

雌では、4-*tert*-ブチルカテコールの混餌投与による腫瘍または腫瘍関連病変の発生増加は認められなかった。

### - 3 その他の影響

4-*tert* ブチルカテコールの混餌経口投与により、雌雄の胃、雄の精巢、雌の肺、大腸、肝臓への影響が認められた。

アミロイド沈着の増加が雄の 5000 ppm 群と雌の 5000 ppm 以上の群の胃に認められ、この変化は雄の 5000 ppm 群の精巢、雌の 10000 ppm 群の肺、大腸及び肝臓にも認められた。アミロイド沈着は多くの系統のマウスに加齢性病変として認められることが知られており、沈着する臓器は脳、脊髄、骨、骨髄を除いたほとんどの臓器に認められることが報告されている（文献 11）。また、本試験の対照群にもアミロイド沈着は認められている。従って、これらの変化は、4-*tert* ブチルカテコールの投与により加齢性病変を増強したものと考えられた。

その他、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査において幾つかのパラメーターに変化が認められたが、病理組織学的にこれらに関連する所見は認められなかった。

### - 4 他文献との比較等

#### (1) がん原性等

F344 ラット雄を用いた中期発がん試験の報告がある（文献 14）。この試験では、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン（MNNG）によりイニシエーションしたラットに 15000 ppm の 4-*tert* ブチルカテコールを 52 週間反復経口投与（混餌）した。その結果、MNNG によるイニシエーションのみの群と比較すると前胃の扁平上皮癌の発生が有意に増加した。また、腺胃においても、幽門部の腺腫様過形成の発生が有意に増加し、腺癌も数匹にみられた。従って、4-*tert* ブチルカテコールはラットの前胃と腺胃に発がんプロモーション作用を示すと報告している。なお、イニシエーション処理を行わず 4-*tert* ブチルカテコールのみを投与した群には前胃の過形成はすべての動物にみられ、かつ、腫瘍性病変の発生は前胃の乳頭腫が 1 匹にみられた。

以上の結果より、本試験で認められた 4-*tert* ブチルカテコールの前胃に対するがん原性は 4-*tert* ブチルカテコールの持つプロモーション作用により惹起されたと解釈された。なお、本試験においては、雄マウスの腺胃に前癌病変と考えられる過形成がみられたが、腺胃に腫瘍の明らかな発生増加はみられなかった。

#### (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、WP2uvrA 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 13、14）。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 14) 一方、マウスリンパ腫細胞 L5178Y を用いた遺伝子突然変異試験では、陽性を示した(文献 15)。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髄細胞、マウスに 14 週間混餌投与した場合の末梢血の両者とも陰性であった(文献 13)。

## 結論

B6D2F1/Crlj マウスを用いて、4-*tert*-ブチルカテコールの 2 年間 (104 週間) にわたる経口投与によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄に前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められ、雄マウスに対するがん原性を示す証拠であると考えられた。

雌では、腫瘍の発生増加は認められなかった。

## 文献

1. 化学工業日報社 . 2013 . 16313 の化学商品 . 東京 : 化学工業日報社 , 783-784 .
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. 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準. 基発第 144 号, 平成 9 年 3 月 11 日.
6. OECD. 1981. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies", Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
7. 日本バイオアッセイ研究センター . 2009. 4-*tert*-ブチルカテコールのマウスを用いた経口投与による 13 週間毒性試験(混餌試験)報告書. 神奈川 : 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 .
8. 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 .
9. Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. Lyon: IARC. IARC Monographs Suppl 2:311-426.
10. 真鍋淳, 松沼尚史, 高橋道人, 立松正衛, 西川秋佳 . 2000 . 各論 4 章, 消化管 . 毒性病理組織学 (日本毒性病理学会編) . 名古屋 : 日本毒性病理学会 , 153-178 .
11. HogenEsch H, Gruys E, Higuchi K. 1996. Senile amyloidosis. In: Pathology of the aging mouse, Vol 1 (Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, Carlton WW, Sundberg JP, Ward JM eds). Washington, DC: ILSI press, 237-244.

12. Hirose M, Yamaguchi S, Fukushima S, Hasegawa R, Takahashi S, Ito N. 1989. Promotion by dihydroxybenzene derivatives of *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine-induced F344 rat forestmach and glandular. *Cancer Research*. 49:5143-5147.
13. 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 B6C3F<sub>1</sub> Mice. Toxicity Report Series 70. Research Triangle Park, NC : National Toxicology Program.
14. Dean BJ, Brooks TM, Hodson-Walker G, Hutson DH. 1985. Genetic toxicology testing of 41 industrial chemicals. *Mutat Res*. 153: 57-77.
15. 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.

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

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。

なお、血液生化学的検査のAST、ALT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CKについては、測定単位がIU/LからU/Lに変更されたため、本報告書はそれぞれ、新単位を記載した。