

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

試験番号：0739

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ラット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ラットに 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ラットを用いた
経口投与によるがん原性試験（混餌試験）報告書

試験番号：0739

本文

本文目次

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

- 2	動物管理	8
- 2 - 1	各群の使用動物数	8
- 2 - 2	群分け及び個体識別方法	9
- 2 - 3	飼育条件	9
(1)	飼育環境	9
(2)	飼料	9
(3)	飲水	10
- 3	観察・検査項目及び方法	10
- 3 - 1	動物の生死及び一般状態の観察	10
- 3 - 2	体重測定	10
- 3 - 3	摂餌量測定	10
- 3 - 4	血液学的検査	10
- 3 - 5	血液生化学的検査	11
- 3 - 6	尿検査	11
- 3 - 7	病理学的検査	11
(1)	剖検	11
(2)	臓器重量	11
(3)	病理組織学的検査	11
- 4	数値処理と統計方法	12
- 4 - 1	数値の取り扱いと表示	12
- 4 - 2	統計処理	12
	試験成績	14
- 1	生死状況	14
- 2	一般状態	14
- 3	体重	14
- 4	摂餌量	15
- 5	被験物質摂取量	15
- 6	血液学的検査	16
- 7	血液生化学的検査	16
- 8	尿検査	16

- 9 病理学的検査	16
- 9 - 1 剖検	16
- 9 - 2 臓器重量	17
- 9 - 3 病理組織学的検査	17
- 9 - 4 死因	19
考察及びまとめ	20
- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量、被験物質摂取量	20
- 2 腫瘍性及び腫瘍関連病変	20
- 3 その他の影響	21
- 4 他文献との比較等	21
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 F344/DuCr1Cr1j ラット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、雌雄とも 0 (対照群)、444、1333 及び 4000 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、被験物質投与群において、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、被験物質の代謝物を含む尿によると考えられる外陰部周囲の被毛の着色 (褐色) が雌雄の 1333 ppm 以上の群に認められた。体重の低値が、雌雄の 1333 ppm 以上の群で投与期間を通して認められた。摂餌量では、雌雄の 4000 ppm 群で投与期間を通して低値が認められた。

主な腫瘍性病変を付表 1, 2 に示す。雌雄とも前胃の腫瘍 (扁平上皮乳頭腫) の発生増加が 4000 ppm 群に認められ、また、雌雄の前胃には前腫瘍性病変である過形成の発生増加が 4000 ppm 群に認められた。

腫瘍以外の影響として、雌では脾臓のヘモジデリンの沈着が 1333 ppm 以上の群で増加した。

以上、F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、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。

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

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 (ラット 雄)

		投与濃度 (ppm)	0	444	1333	4000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50 ^{a)}	50	50	50		
良 性 腫 瘍	皮膚	毛嚢上皮腫	3	0	0	0		
	皮下組織	線維腫	6	5	2	4		
	皮下組織	脂肪腫	3	0	0	0		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	1	1	0	3		
	口腔	扁平上皮乳頭腫	0	0	1	0		
	舌	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	2		
	食道	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1		
	胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫	0	1	1	10 **		
	膵臓	島細胞腺腫	6	4	3	5		
	下垂体	腺腫	16	22	16	12		
	甲状腺	C - 細胞腺腫	18	12	13	9 *		
	副腎	褐色細胞腫	7	5	8	2		
精巣	間細胞腫	36	31	36	39			
悪 性 腫 瘍	脾臓	単核球性白血病	4	5	5	2		
	口腔	扁平上皮癌	1	0	0	0		
	舌	扁平上皮癌	0	0	1	1		
	胃 (前胃)	扁平上皮癌	1	0	0	0		
	甲状腺	C - 細胞癌	1	2	4	0		
	副腎	褐色細胞腫：悪性	3	1	1	2		
	舌	扁平上皮乳頭腫 + 扁平上皮癌	0	0	1	3		
	胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫 + 扁平上皮癌	1	1	1	10 **		
	耳道腺	外耳道腺腫瘍：良性 + 外耳道腺腫瘍：悪性	1	0	1	3		

a): 下垂体の検索動物数 49 匹

*: 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 (ラット 雌)

		投与濃度 (ppm)				Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		0	444	1333	4000		
		検査動物数					
良 性 腫 瘍	皮下組織	線維腫	1	0	3	1	
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	2	0	1	3	
	舌	扁平上皮乳頭腫	2	0	1	2	
	胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫	0	0	2	6 *	
	下垂体	腺腫	13	11	10	12	
	甲状腺	C - 細胞腺腫	6	5	7	4	
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	3	6	10 *	6	
	乳腺	線維腺腫	14	12	5 *	4 **	
	陰核腺	腺腫	1	0	3	0	
	悪 性 腫 瘍	脾臓	単核球性白血病	5	6	7	3
胃 (前胃)		扁平上皮癌	0	1	0	0	
下垂体		腺癌	1	1	0	3	
	胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫 + 扁平上皮癌	0	1	2	6 *	

*: 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

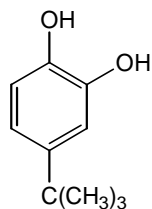
名 称 : 4-*tert*-ブチルカテコール (4-*tert*-Butylcatechol)

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4日～2010年10月27日)

STL0824 (2010年10月27日～2011年8月9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 F344/DuCrIcrlj ラット（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：112～129g、雌：92～103g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCrIcrlj 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。

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、雌雄とも 444、1333 及び 4000 ppm (重量比 w/w) の 3 段階 (公比 3) 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 0719) (文献 7) の結果をもとに設定した。13 週間試験は、F344/DuCrIjラットの雌雄に、0 (対照群)、256、640、1600、4000 及び 10000 ppm (w/w) 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 群では、雌雄とも投与期間を通して、体重増加の抑制 (最終体重は対照群に対し、雄 81%、雌 85%) と摂餌量の低値が認められた。雌雄とも多くの動物に剖検で前胃に肥厚がみられ、病理組織学的検査で全ての動物の前胃上皮に過形成がみ

られた。前胃上皮の過形成は、雌雄ともに半数以上が中等度で、残りが軽度であった。胸腺の萎縮は雄の全匹と雌の3匹にみられた。4000 ppm 群では、雌雄とも投与期間を通して、体重増加の抑制（最終体重は対照群に対し、雄 94%、雌 90%）と摂餌量の低値が認められた。病理組織学的検査では、雌雄とも多くの動物に前胃上皮の過形成がみられたが、その程度は10000 ppm 群より減弱した。1600 ppm 群では、雄でのみ僅かな体重増加の抑制（最終体重は対照群に対し、97%）がみられた。前胃上皮の過形成は雄では対照群と比較して増加し、雌では発生は認められたものの統計学的な差は認められなかった。640 ppm 以下の群では投与の影響は全く認められなかった。

以上の結果から、10000 ppm 群では、雌雄とも対照群に対して10%以上の体重増加の抑制が認められ、この濃度はがん原性の最高投与濃度としては高いと考えられた。4000 ppm 群では体重増加の抑制は10%以内であり、雌雄の10000 ppm 群でみられた胸腺の萎縮もみられなかった。前胃上皮の過形成は雌雄ともに認められたが、その程度は多くが軽度であり、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。最低濃度については、640 ppm 群でも投与の影響を認めなかったが、さらに長期の投与によって、毒性がより低濃度まで現れる可能性があるため、公比を大きくし、検索範囲を広くする必要があったと考えた。

従って、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも4000 ppm を最高投与濃度とし、以下1333及び444 ppm（公比3）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）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、444、1333 及び 4000 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週分をラット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 91.8～109%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 0719)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ラット用餌箱に充填し、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)	雌 使用動物数(動物番号)
0	対照群	50匹 (1001～1050)	50匹 (2001～2050)
1	444 ppm群	50匹 (1101～1150)	50匹 (2101～2150)
2	1333 ppm群	50匹 (1201～1250)	50匹 (2201～2250)
3	4000 ppm群	50匹 (1301～1350)	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 107 室から 206 室へ、雌は 107 室から 208 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 ± 2
 < 107 室 : 23.0 ± 0.3 、 206 室 : 23.1 ± 0.2 、 208 室 : 22.9 ± 0.1 >
 湿度 : $55 \pm 15\%$
 < 107 室 : $55 \pm 3\%$ 、 206 室 : $54 \pm 3\%$ 、 208 室 : $53 \pm 3\%$ >
 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-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、 γ -GTP、CK、尿素窒素、クレアチニン、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 週目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（マルティステイックス、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、ビリルビン、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、脾臓、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、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。

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、²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²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：39 匹（78%）、444 ppm 群：36 匹（72%）、1333 ppm 群：36 匹（72%）、4000 ppm 群：41 匹（82%）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：40 匹（80%）、444 ppm 群：40 匹（80%）、1333 ppm 群：43 匹（86%）、4000 ppm 群：43 匹（86%）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。

- 雄 -

外陰部周囲の被毛に着色（褐色）が 4000 ppm 群では 45 匹にみられた。1333 ppm 群では 2 匹に同様の着色がみられたが、444 ppm 群では、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。

- 雌 -

外陰部周囲の被毛に着色（褐色）が 4000 ppm 群では 42 匹、1333 ppm 群では 32 匹、444 ppm 群では 1 匹にみられた。

- 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 1333 ppm 以上の群に投与期間を通して認められた。444 ppm 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、444 ppm 群：101%、1333 ppm 群：95%、4000 ppm 群：94%であった。

- 雌 -

体重の低値が 1333 ppm 以上の群では全投与期間を通して、444 ppm 群では投与期間初期に認められた。

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、444 ppm 群：102%、1333 ppm 群：93%、4000 ppm 群：82%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 4000 ppm 群では投与期間を通して認められた。444 ppm 群及び 1333 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：15.2 g、444 ppm 群：15.1 g (99%)、1333 ppm 群：15.0 g (99%)、4000 ppm 群：14.4 g (95%) であった。

- 雌 -

摂餌量の低値が 4000 ppm 群では投与期間を通して認められた。444 ppm 群及び 1333 ppm 群では、主に投与期間初期に対照群と比較して低値が認められた。

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：10.9 g、444 ppm 群：10.7 g (98%)、1333 ppm 群：10.6 g (97%)、4000 ppm 群：10.1 g (93%) 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、444 ppm 群：16～39、1333 ppm 群：48～114、4000 ppm 群：144～318 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、444 ppm 群：20、1333 ppm 群：61、4000 ppm 群：183 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、444 ppm 群の被験物質摂取量に対して、1333 ppm 群で 3.1 倍、4000 ppm 群で 9.2 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 3) を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、444 ppm 群：19～39、1333 ppm 群：62～118、4000 ppm 群：197～328 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、444 ppm 群：24、1333 ppm 群：75、4000 ppm 群：228 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、444 ppm 群の被験物質摂取量に対して、1333 ppm 群で 3.1 倍、4000 ppm 群で 9.5 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 3) を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 -

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 -

MCV の低値が 4000 ppm 群に認められた。

- 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 -

-GTP と尿素窒素の高値が 4000 ppm 群に認められた。

- 雌 -

尿素窒素の高値とトリグリセライドの低値が 4000 ppm 群に認められた。

なお、4000 ppm 群の尿素窒素の平均値は対照群の値より低値であったが、これは対照群に極端な高値を示す動物が 2 匹いたためであり、統計学的には 4000 ppm 群の尿素窒素値は有意な高値であった。

- 8 尿検査

尿検査の結果を TABLE H 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 -

蛋白の陽性度の減少が 4000 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 -

前胃の結節が対照群と 444 ppm 群にそれぞれ 1 匹、1333 ppm 群に 2 匹、4000 ppm 群に 11 匹認められた。また、舌の結節が 1333 ppm 群に 1 匹、4000 ppm 群に 4 匹認められた。

- 雌 -

前胃の結節が 444 ppm 群に 1 匹、1333 ppm 群に 2 匹、4000 ppm 群に 4 匹認められた。また、子宮の結節が対照群に 2 匹、444 ppm 群に 7 匹、1333 ppm 群に 11 匹、4000 ppm 群に 7 匹認められた。

- 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 -

4000 ppm 群で、副腎、心臓、肺、腎臓、脾臓及び脳の実重量又は体重比に変化がみられたが、4000 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。

- 雌 -

1333 ppm 以上の群では測定したほとんどの臓器の実重量又は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 1, 2 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%、444 ppm 群 : 1 匹, 2%、1333 ppm 群 : 1 匹, 2%、4000 ppm 群 : 10 匹, 20%) 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 4000 ppm 群に増加がみられた。また、4000 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 0.2%) 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。前胃の扁平上皮乳頭腫および扁平上皮癌の診断は、Pathology of the Fischer Rat (文献 10)、Guides for Toxicologic Pathology, Proliferative Lesions of the

Non-Glandular and Glandular Stomach in Rats(文献 11)及び毒性病理組織学(文献 12)を参考にした。前胃の扁平上皮乳頭腫は、扁平上皮の乳頭状増殖を特徴とし、分岐した間質を伴って増殖し、異型増殖、浸潤性増殖あるいは転移を示さないものを扁平上皮乳頭腫と診断した。

<舌>

扁平上皮乳頭腫の発生(対照群:0匹,0%、444 ppm 群:0匹,0%、1333 ppm 群:0匹,0%、4000 ppm 群:2匹,4%)が4000 ppm 群のみにみられ、これ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4%、平均発生率0.3%)内であった。また、扁平上皮癌の発生(対照群:0匹,0%、444 ppm 群:0匹,0%、1333 ppm 群:1匹,2%、4000 ppm 群:1匹,2%)も1333 ppm 群と4000 ppm 群にみられたが、いずれも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0.1%)内であった。扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌を合わせた発生(対照群:0匹,0%、444 ppm 群:0匹,0%、1333 ppm 群:1匹,2%、4000 ppm 群:3匹,6%)は、Peto 検定(有病率法、死亡率法+有病率法)と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示したが、ヒストリカルコントロールデータの範囲(最小0%~最大6%、平均発生率0.4%)内であった。

<食道>

扁平上皮乳頭腫の発生(対照群:0匹,0%、444 ppm 群:0匹,0%、1333 ppm 群:0匹,0%、4000 ppm 群:1匹,2%)が4000 ppm 群のみにみられた。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極めて稀な腫瘍であった。

<耳道腺>

良性の耳道腺腫瘍と悪性の耳道腺腫瘍を合わせた発生(対照群:1匹,2%、444 ppm 群:0匹,0%、1333 ppm 群:1匹,2%、4000 ppm 群:3匹,6%)は、Peto 検定(死亡率法)で増加傾向を示し、4000 ppm 群の発生は、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4%、平均発生率0.9%)を1匹超えた。しかし、良性腫瘍の発生(対照群:1匹,2%、444 ppm 群:0匹,0%、1333 ppm 群:1匹,2%、4000 ppm 群:2匹,4%)と悪性腫瘍の発生(対照群:0匹,0%、444 ppm 群:0匹,0%、1333 ppm 群:0匹,0%、4000 ppm 群:1匹,2%)はいずれも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲(良性、悪性いずれも最小0%~最大4%)内であった。また、対照群にも発生が1匹みられていることから、良性の耳道腺腫瘍と悪性の耳道腺腫瘍を合わせた腫瘍の発生増加は、投与による影響とは考えなかった。

その他、甲状腺のC細胞腺腫の発生が、Fischer 検定で4000 ppm 群で統計的に有意な減少を示した。

2) 非腫瘍性病変

< 胃 >

前胃の過形成が 4000 ppm 群で増加した。

- 雌 -

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%、444 ppm 群:0匹, 0%、1333 ppm 群:2匹, 4%、4000 ppm 群:6匹, 12%)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 4000 ppm 群に増加がみられた。また、4000 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 4%、平均発生率 0.4%)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、前胃の扁平上皮癌の発生が 444 ppm 群の 1 匹に認められたが、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発生がみられない極めて稀な腫瘍であった。

その他、子宮の子宮内膜間質性ポリープの発生が、Fisher 検定で 1333 ppm 群で統計的に有意な増加を示したが、投与濃度に対応した増加ではなかった。また、乳腺の線維腺腫の発生が、1333 ppm 以上の群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。

2) 非腫瘍性病変

< 胃 >

前胃の過形成が 4000 ppm 群で増加した。また、腺胃の潰瘍が 4000 ppm 群で減少した。

< 脾臓 >

ヘモジデリン沈着が 1333 ppm 以上の群で増加した。

その他、下垂体の過形成が 444 ppm 群で増加したが、投与濃度に対応した増加ではなかった。

- 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。

- 雌雄 -

いずれの投与群にも、特定の病変あるいは腫瘍による死亡動物の増加はみられなかった。

考察及びまとめ

4-*tert*-ブチルカテコールのラットを用いた2年間の混餌投与による経口試験(投与濃度: 444、1333及び4000 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、被験物質の代謝物を含む尿によると考えられる外陰部周囲の被毛の着色(褐色)が雌雄の1333 ppm以上の群に認められた。体重の低値が、雌雄の1333 ppm以上の群で投与期間を通して、また、雌の444 ppm群では投与期間初期にのみ認められた。1333 ppm群と4000 ppm群の最終体重は対照群に対し、雄では1333 ppm群95%、4000 ppm群94%、雌では1333 ppm群93%、4000 ppm群82%であった。摂餌量は、雌雄の4000 ppm群で投与期間を通し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

雌雄とも、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4000 ppm群に増加がみられ、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ラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。なお、雌には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444 ppm群に1匹認められたものの、雌雄とも前胃に悪性腫瘍の有意な発生増加は示されておらず、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、前胃の扁平上皮乳頭腫の前腫瘍性変化と考えられる前胃の過形成は、雌雄とも4000 ppm群で増加を示した。前胃の過形成は、13週間毒性試験(文献7)でも発生がみられており、2年間の長期投与を行うことで、扁平上皮乳頭腫に進展したと考えられる。

雄では食道にも扁平上皮乳頭腫が4000 ppm群に1匹みられたが、この腫瘍はヒストリカルコントロールデータでは発生のみられない腫瘍であった。さらに、舌の扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌を合わせた発生は傾向検定(Peto検定、Cochran-Armitage検定)で増加傾向を示したが、これらの発生数はヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。従って、舌と食道にみられた扁平上皮腫瘍の発生もしくは発生増加と4-*tert*-ブチルカテコール投与の影響は明確ではなかった。しかし、舌と食道は4-*tert*-ブチルカテコールが直接接した臓器であり、前胃と同様に扁平上皮で構成された連続した上部消化管組織であることから、4-*tert*-ブチルカテコールの上部消化管の扁平上皮に対する投与影響も考慮する必要がある。

- 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、雌の脾臓に対する影響が認められた。

脾臓への影響として、ヘモジデリン沈着の発生が雌の 1333 ppm 以上の群で増加した。ヘモジデリンは、脾臓では生理的に老廃した赤血球の処理を行うため、正常時にも認められる(文献 13)。また、血液学的検査では MCV の低値が 4000 ppm に認められたが、病理組織学的検査では出血を示す傾向や造血の亢進を示す変化(骨髄の造血亢進や脾臓の髄外造血等)は認められなかった。

その他、血液生化学的検査で雄の 4000 ppm 群に γ -GTP と尿素窒素の高値、雌の 4000 ppm 群に尿素窒素の高値が認められたが、病理組織学的検査において肝臓や腎臓に著変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、腺胃に対する発がん性は認められなかった。

(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 15、16)。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 16)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 17)。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 15)。

結論

F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、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。

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

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ラット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. Brown HR, Hardisty JF. 1990. 3. Oral cavity, Esophagus, and Stomach. In: Pathology of the Fischer Rat (Boorman GA, Eustis SL, Elwell MR, Montgomery CA, MacKenzie WF, eds). San Diego, CA: Academic Press, 9-30.
11. Frantz JD, Betton G, Cartwright ME, Crissman JW, Macklin AW, Maronpot RR. 1991. Proliferative lesions of the non-glandular and glandular stomach in rats, GI-3. In: Guides for Toxicologic Pathology. Washington, DC: STP/ARP/AFIP, 1-20.

12. 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.
13. 伊東信行編著. 1994. 標的器官の毒性病理(3), 免疫系, 内分泌系 A. リンパ節, 扁桃, 脾臓, 胸腺. 最新毒性病理学. 東京: 中山書店, 273-280.
14. 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.
15. 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.
16. Dean BJ, Brooks TM, Hodson-Walker G, Hutson DH. 1985. Genetic toxicology testing of 41 industrial chemicals. *Mutat Res*. 153: 57-77.
17. 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

投与期間中（投与開始後 39 週目）に雄の対照群と 444 ppm 群の被験物質混合飼料の入った交換用餌箱を誤って汚染区域に搬出する事故が発生した。対照群に関しては新たに飼料を搬入し、滅菌済みの餌箱に充填し、給餌した。444 ppm 群については、当日の被験物質混合飼料の再調製が困難であったため、被験物質を混合していない飼料を対照群と同様に充填し、給餌した。翌日、再度 444 ppm の被験物質混合飼料を調製し、当該群の投与を再開した。上記対応の結果、444 ppm 群の動物が被験物質を摂取しなかつたのは 1 日のみであったため、この事故による試験結果に対する影響はなかつたと考えられる。

その他に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、 γ -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。