

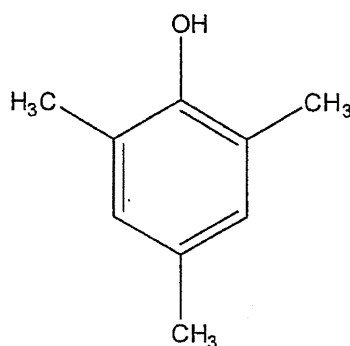
2,4,6-Trimethylphenol

2,4,6-トリメチルフェノール

[CAS No. 527-60-6]

Molecular formula: C₉H₁₂O

Molecular weight: 136.20



ABSTRACT

1. Material and method

Purity	: 99.8%
Test species/strain	: Rat/Crl:CD(SD)
Test method	: OECD Test Guideline 422
Route	: Oral (gavage)
Dosages	: 0, 10, 60, 300 mg/kg
Dosages for recovery	: 0, 300 mg/kg
Number of animals/group	: Males, 12 (5 for recovery) ; females, 12; satellite females, 5
Vehicle	: 0.1w/v% Tween 80 + 0.5w/v% Sodium carboxymethylcellulose solution
Administration period	: Males, 42 days Females, from 14 days before mating to day 4 of lactation Females (satellite), 42 days
Recovery period	: Males, 14 days Females (satellite), 14 days
Terminal killing	: Males, day 43 of treatment and day 15 of recovery Females, day 5 of lactation Females (satellite), day 15 of recovery Offspring, day 4 after birth
GLP	: Yes

2. Results

Repeated dose toxicity

2,4,6-Trimethylphenol was studied for oral toxicity in rats in accordance with the OECD guideline on combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test at dosages of 0, 10, 60, and 300 mg/kg/day.

No deaths occurred in any of the treated groups. In the 300 mg/kg group, salivation in both sexes and abnormal gait in females were noted as post-dose symptoms. Histopathological examination revealed squamous hyperplasia in the forestomach in the 60 and 300 mg/kg groups of both sexes, and edema in the forestomach in one male were noted. In addition, foveola hyperplasia and erosion in the glandular stomach in the 300 mg/kg group were noted. Almost all the changes disappeared after a 14-day recovery period.

Reproductive and developmental toxicity

The compound had no effects on reproductive parameters such as the estrous cycle, mating index, fertility index, numbers of corpora lutea or implantations, implantation index, delivery index, gestation index, gestation length, parturition, or maternal behavior. On the examination of neonates, there were no significant differences in the number of offspring or live offspring, sex ratio, live birth index, or viability index on day 4. No abnormal findings ascribable to the compound were found in the external features, clinical signs, body weights or necropsy of the offspring.

3. Evaluation

It was concluded from the above results that NOEL and NOAEL for the repeated dose toxicity of 2,4,6-Trimethylphenol were 10 mg/kg/day for both sexes, and that the NOEL and NOAEL for the reproductive/developmental toxicity were 300 mg/kg/day for parental animals and offspring.

2, 4, 6-トリメチルフェノールのラットを用いる 反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

Combined Repeated Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test of 2,4,6-Trimethylphenol by Oral Administration in Rats

要約

2, 4, 6-トリメチルフェノールは、製造者の化学物質等安全データシートに記述によればマウスの経口投与によるLD₅₀値が10000 mg/kg、皮膚、眼、粘膜を強く刺激し、炎症や薬傷を引き起こすことが報告されている。しかし、反復投与および生殖発生毒性についての知見はない。2, 4, 6-トリメチルフェノールを10, 60 および 300 mg/kg/dayの用量でSD系ラット（1群雌雄各12匹、雌はサテライト動物として対照群および300 mg/kg群に各5匹を追加）に交配前14日から交配を経て、雄は42日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育4日、雌サテライト動物は雄と同様に42日間までそれぞれ経口投与し、反復投与毒性および生殖発生毒性について検討した。本試験はOECD TG422に従い実施したものである。

1. 反復投与毒性

一般毒性学的な主要な変化として、300 mg/kg群で投与後の流涎が雌雄、歩行異常が雌で認められた。病理学的検査では、胃の変化として前胃扁平上皮の過形成が60および300 mg/kg群の雌雄で認められ、雄1例は水腫を伴っていた。さらに、腺胃の胃小窩上皮の過形成およびびらんが300 mg/kg群で認められた。これらの変化は2週間の回復期間により消失した。

2. 生殖発生毒性

親動物に対し性周期、交尾率、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩および哺育行動、新生児に対しては出産児数、出生児数、出生率、性比、新生児の4日生存率、外表、一般状態、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上のように、2, 4, 6-トリメチルフェノールの本試験条件下における無影響量（NOEL）および無毒性量（NOAEL）は次のように判断される。すなわち、反復投与毒性に関し、雌雄の動物に対するNOELおよびNOAELは、前胃扁平上皮の過形成が60 mg/kg以上の群の雌雄で認められたことから10 mg/kg/dayと考えられる。生殖発生毒性に関し、雌雄の親動物ならびにF1児動物に対するNOELおよびNOAELは、変化が認められなかったことから300 mg/kg/dayと考えられる。

方法

1. 被験物質

2, 4, 6-トリメチルフェノール（ロット番号 FHF01, 純度 99.8%, 融点 74.0°C）は水に微溶（1.2g/L）で、アルコールおよびエーテルには可溶な白色微細の針状結晶である。被験物質は冷蔵、暗所、密栓容器にて保存し、試験期間中安定であることを確認した。投与液の調製には、被験物質を用量毎に所定量秤量し、媒体（0.1w/v% Tween80 添加 0.5w/v% CMC-Na, Tween80：関東化学, CMC-Na：和光純薬）を加えながら懸濁した。投与液中の被験物質の安定性を、投与開始前に調製後8日間安定であることを確認した。投与液は投与に供するまで冷蔵・暗所・密栓保存条件下で保存し、調製後7日以内に使用した。また、投与開始前日に投与液中の被験物質濃度が設定濃度±10%以内、C.V.値が10%以内（上層、中層、下層）であることを確認した。

2. 試験動物

日本チャールス・リバー（厚木生産所）から入手した雌雄のSD系ラット（Crj:CD(SD),SPF）を5日間検疫・馴化した。その後も馴化を継続し、一般状態に異常のない動物を試験に供した。投与開始前日に体重層別化無作為抽出法により、1群あたり雌雄各12匹に振り分けた。さらに、雌サテライト動物（回復動物）として対照群および300 mg/kg群に各5匹の雌を追加した。投与開始時の週齢は雌雄とも9週齢、体重範囲は雄293～338g、雌が190～235gであった。検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通じて、温度22±3°C、相対湿度55±20%、換気約6～20回/時、照明12時間/日（7:00-19:00）に自動調節した飼育室を使用した。動物飼育には、妊娠・哺育期間を除く期間はステンレス製つり下げ式金網製ケージを、妊娠・哺育期間は実験動物用床敷（ベータチップ：日本チャールス・リバー）を敷いたポリカーボネート製ケージを使用した。交配期間は雌雄各1匹、哺育期間は1腹、検疫・馴化期間を含むその他の期間は1匹ずつ収容した。動物には、放射線滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1：オリエンタル酵母工業）と、5μmのフィルタ一濾過後、紫外線照射した水道水を自由に摂取させた。

3. 投与量および投与方法

投与用量は14日間反復投与毒性試験の結果を参考に決定した。すなわち、被験物質を0, 100, 300, 600および1000 mg/kgの用量で、1群雌雄各3匹のSD系ラ

ットに 14 日間反復経口投与した。その結果、被験物質に起因すると考えられる変化が多数認められ、その詳細を次に示す。

一般状態では腹臥位、自発運動の低下および歩行異常が 600 および 1000 mg/kg 群の雌雄、さらに呼吸不整が 1000 mg/kg 群の雌雄に認められた。体重では投与期間を通して、摂餌量では投与初期に、いずれも 600 および 1000 mg/kg の雌雄で低値が認められた。血液生化学検査では ALAT の高値が 600 mg/kg 群の雄、1000 mg/kg 群の雌雄、ALP の低値、総コレステロールおよびトリグリセライドの高値が 1000 mg/kg 群の雌に認められた。器官重量では、肝臓重量の高値が 1000 mg/kg 群の雌雄で認められた。剖検では、前胃の壁の肥厚、胃の境界縁の肥厚、前胃粘膜あるいは胃の境界縁の黄色化が 600 および 1000 mg/kg 群の雌雄、前胃あるいは腺胃粘膜のびらん・潰瘍が 600 mg/kg 群の雄、1000 mg/kg 群の雌、盲腸の膨満が 600 および 1000 mg/kg 群の雄、1000 mg/kg 群の雌で認められた。また、胃の境界縁の肥厚が 300 mg/kg 群の雄、胸腺の小型が 1000 mg/kg 群の雄で認められた。

これらの結果および本試験の投与期間を考慮し、本試験の高用量は明らかな毒性発現が予想される 300 mg/kg とし、以下公比約 5 で減じ、中用量は 60 mg/kg、低用量は 10 mg/kg の 3 用量を設定した。また、媒体のみを投与する対照群を設けた。

投与経路は経口とした。投与期間は雄で交配前 14 日間および交配期間を経て剖検前日までの計 42 日間、雌では交配前 14 日間、交配期間、妊娠期間および分娩を経て哺育 4 日までとした。なお、雌サテライト動物は交配は行わず雄と同様に 42 日間投与した。また、対照群と 300 mg/kg 群の雄各 5 匹および同群の雌サテライト動物各 5 匹は、投与期間終了後 14 日間の回復期間を設けた。

投与の際はラット用胃ゾンデを用いて 1 日 1 回、13:00 までに強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とし、至近日に測定した体重に基づいて算出した。

4. 反復投与毒性に関する観察・検査項目

1) 一般状態

全例について、生死、外観、行動等を投与前および投与後に毎日観察した。回復動物は 1 日 1 回午前中に観察した。

2) 行動検査

雌雄全例について、詳細な症状観察（ホームケージ内、ハンドリング時、オープンフィールドでの観察）を、投与開始前日に 1 回、投与期間中は 1 回/週、いずれも午後に行った。雌雄とも各群 5 匹を選抜し、機能検査（刺激に対する反応性、握力）および自発運動の測定を、投与第 6 週の午後に 1 回行った。握力はデジタルフォースゲージ（DPS-5：イマダ）、自発運動量には SUPERMEX（室町機械）を用いて測定した。投与期間中の自発運動量の検査において、測定開始 10 分～20 分の運動量が 60

mg/kg 群の雄、総運動量が 60 および 300 mg/kg 群の雄で対照群と比べ高値を示したため、回復動物の雄について第 8 週に自発運動量を測定した。

3) 体重および摂餌量

雄では第 1, 8, 15, 22, 29, 36, 42 および 43 日、さらに回復動物では第 50 および 56 日に測定した。雌では第 1, 8 および 15 日、交尾した雌は妊娠 0, 7, 14 および 20 日、分娩した雌は哺育 0 および 4 日に測定した。雌サテライト動物は雄と同様の頻度で測定した。摂餌量は、交配期間を除き体重測定日に測定し、各測定日間の 1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。

4) 血液学検査

雄では第 42 日、雄回復動物および雌サテライト動物では第 56 日、雌では哺育 4 日に、全生存動物を 16 時間以上絶食させた。測定対象動物（採血動物）は、雄は 5 例、雄回復動物および雌サテライト動物は全例、雌は分娩日の早い順に 5 例とした。これらの動物は、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で、後大静脈より採血した。採取した血液を用いて以下に示す項目を測定した。

EDTA-2K により抗凝固処理し、赤血球数（球状化処理二次元レーザー FCM 法）、ヘモグロビン濃度（シアノメトヘモグロビン法）、ヘマトクリット値（球状化処理二次元レーザー FCM 法）、網赤血球数（RNA 染色によるレーザー FCM 法）、血小板数（球状化処理二次元レーザー FCM 法）、白血球数（酸性界面活性剤によるレーザー FCM 法）を多項目自動血球分析装置（ADVIA120：バイエル メディカル）、白血球百分率（Wright 染色塗抹標本）を血液細胞自動分析装置（MICROX HEG-50、HEG-50V：オムロン）を用いて測定した。また、検査結果から平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）を算出した。血液の一部を 3.2w/v% クエン酸三ナトリウム水溶液で抗凝固処理し、遠心分離して得られた血漿からプロトロンビン時間（PT）および活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）（光散乱検出方式）を、血液凝固自動分析装置（CA-510：シスメックス）を用いて測定した。

5) 血液生化学検査

計画解剖日に採取した血液の一部を室温・遮光下で約 30 分間静置後遠心分離し、得られた血清を用いて以下の項目を測定した。

ASAT および ALAT（UV-rate 法（JSCC 改良法））、 γ -GT（ γ -グルタミンス-p-ニトロアニリド基質法（JSCC 改良法））、ALP（p-ニトロフェニルリン酸基質法（JSCC 改良法））、総ビリルビン（酵素法（BOD 法））、尿素窒素（酵素-UV 法（Urease-LEDH 法））、クレアチニン（酵素法（Creatininase-POD 法））、グルコース（酵素-UV 法（HK-G6PDH 法））、総コレステロール（酵素法（CO-HMMPS 法））、トリグリセライド（酵素法

(GPO-HMMPS 法, グリセリン消去法), 総蛋白 (Biuret 法), アルブミン (BCG 法), A/G 比 (総蛋白およびアルブミンより算出), カルシウム (OCPC 法), 無機リン (酵素法 PNP-XOD-POD 法), ナトリウム, カリウムおよびクロール (イオン選択電極法) を自動分析装置 (TBA-200FR: 東芝) を用いて測定した。

6) 雄の尿検査

雄について, 第 38 日の投与前に各用量群 5 匹の新鮮尿を採取し, pH, 蛋白, グルコース, ケトン体, ビリルビン, 潜血およびウロビリノーゲン (試験紙法, マルティスティックス: パイエル メディカル) を自動尿分析器 (クリニテック 100: パイエル メディカル) により測定した。被験物質の影響が疑われる変化が認められなかったため, 尿沈渣, 蓄積尿を用いた検査, 回復動物の尿検査は行わなかった。

7) 病理学検査

雌雄全例について, 解剖日にペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で, 腹大動脈の切断・放血により安楽死させて解剖した。また, 分娩しなかった雌は交尾確認後 26 日に上記方法で安楽死させた後, 同様に解剖した。計画解剖動物のうち, 血液学検査の対象動物と同じ雌雄 5 匹 (回復・サテライト動物は全例) の脳, 心臓, 肝臓, 腎臓, 副腎, 胸腺, 脾臓, 精巣および精巣上体の重量を測定した。ただし, 精巣および精巣上体は雄全例について測定した。また, 解剖日の体重を基に相対重量 (対体重比) を算出した。さらに雌雄全例については上記の器官に加えて, 下垂体, リンパ節 (下顎・腸間膜), 気管, 肺, 胃, 腸管 (十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸), 甲状腺・上皮小体, 膀胱, 精のう, 前立腺腹葉, 卵巣, 子宮, 膈, 骨髄 (大腿骨), 坐骨神経, 脊髄および肉眼的異常部位を採取し, 10v/v% 中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し, 保存した。ただし, 精巣および精巣上体はブアン液で固定後, 保存した。病理組織学検査は, 対照群と 300 mg/kg 群の投与後解剖動物のうち, 雌雄各 5 例 (血液学検査および器官重量測定対象動物と同様) の上記器官, 対照群を含む全動物の肉眼的異常部位および非妊娠雌の卵巣について, 常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し, 鏡検した。その結果, 300 mg/kg 群の雌雄において前胃扁平上皮および腺胃胃小窩上皮の過形成が認められた。追加検査として, 対照群および 300 mg/kg 群の投与終了後検査動物の胃について, アルシアンブルー・過ヨウ素酸シッフ (AB-PAS) 染色標本を作製し, 鏡検した。また, 回復期間終了時の剖検動物, ならびに 10 および 60 mg/kg 群のうち雌雄とも上記の各 5 例を選抜し, 胃についてヘマトキシリン・エオジン染色と AB-PAS 染色標本を作製し, 鏡検した。

5. 生殖発生毒性に関する観察・検査

1) 生殖機能検査

投与開始日から交配開始日まで雌の膈垢を毎日午前

中に採取, 性周期を検査し, 平均性周期日数および異常性周期動物の発現率を算出した。交配前の投与期間終了後, 各群内で雄 1 雌 1 の交配对を設け, 投与第 15 日 (交配開始日) の 16:00 頃から最大 13 日間昼夜同居させた。交尾確認は毎日午前中に行い, 膈栓形成あるいは膈垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし, その日を妊娠 0 日とした。交配した対は雌雄を分離し, 以後の検査に供した。これらの結果から, 交尾所要日数 (交配開始後, 交尾成立までに要した日数), 交尾成立までに逸した発情期の回数, 交尾率 [(交尾動物数 / 同居動物数) $\times 100$], 受胎率 [(受胎動物数 / 交尾動物数) $\times 100$] を算出した。

2) 分娩・哺育状態

交尾が確認された雌は全例を自然分娩させ, 分娩状態を観察した。午前 9 時の時点で分娩が完了している動物を当該日分娩とし, その日を哺育 0 日とした。なお, 午後 4 時の時点で分娩が完了した動物は翌日に哺育 0 日の観察を行った。交尾確認後 25 日を経ても分娩しない場合は, 非分娩雌とした。分娩した動物は新生児を生後 4 日 (哺育 4 日) まで哺育させ, 授乳, 営巣, 食殺の有無等の哺育状態を毎日観察した。母動物は剖検時に卵巣および子宮を摘出し, 黄体数および着床数を検査した。これらの結果から, 妊娠期間 (妊娠 0 日から分娩完了日までの期間), 出産率 [(生児出産雌数 / 受胎雌数) $\times 100$], 着床率 [(着床数 / 黄体数) $\times 100$], 分娩率 [(総出産児数 / 着床数) $\times 100$] を算出した。

3) 新生児の観察・検査

(1) 新生児の観察

哺育 0 日に出産児数 (出産生児数, 死産児数), 性別および外表異常の有無を検査した。その後は, 一般状態, 死亡の有無を哺育 4 日まで毎日観察した。哺育 0 および 4 日の生存児数から出生率 [(出産生児数 / 総出産児数) $\times 100$], 新生児の 4 日の生存率 [(哺育 4 日生児数 / 出産生児数) $\times 100$] を算出した。

(2) 体重

生後 0 および 4 日に全生存児を個体ごとに測定した。

(3) 剖検

生後 4 日に全生存児の口腔を含む外表を検査した後, 親動物と同様に安楽死させ, 剖検した。死亡児については 10v/v% 中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬, 固定した後, 実体顕微鏡下で剖検した。ただし, 食殺で検査に耐えられないものを除いた。

6. 統計解析

計量データについて, パラメトリックデータは Bartlett 法による等分散性の検定を行い, 分散が等しい場合は一元配置分散分析を行った。分散が等しくない場合およびノンパラメトリックデータは Kruskal-Wallis の検定を行った。群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法または Dunnett 型の多重比較を行った。計数データのうち尿検査は Kruskal-Wallis の検定を行い,

有意差が認められた場合は Dunnett 型の多重比較を、病理組織所見は Wilcoxon の順位検定で対照群との 2 群間比較を行った。その他の計数データは Fisher の直接確率法により検定した。回復動物の 2 群間(対照群と 300 mg/kg 群)の計量データは F 検定により等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は Student の t 検定、分散が等しくない場合は Welch の t 検定を行った。計数データは Wilcoxon の順位検定で対照群との 2 群間比較を行った。各検定の有意水準は 5%とした。新生児に関するデータは各母動物ごとに算出した平均値を標本単位とした。

結果

1. 反復投与毒性

1) 一般状態

雌雄とも死亡は認められなかった。

投与後症状として、流涎が 300 mg/kg 群の雄 3 例、雌 8 例、歩行異常が雌 5 例、自発運動低下が雌 1 例に認められた。流涎は投与期間中に散見されたが、連続する変化ではなかった。歩行異常は妊娠および哺育期間中に一過性的変化として認められた。自発運動低下は妊娠 20 日に認められた。また、痂皮形成(左前肢)が 300 mg/kg 群の雄 1 例に認められたが、偶発的な変化と判断した。

2) 行動検査

詳細な症状観察および機能検査では被験物質の影響と考えられる変化は雌雄とも認められなかった。なお、投与終了後の一般状態観察でみられた歩行異常は、午後実施した詳細な症状観察では認められず、各個体ともすぐに回復する一過性的変化と考えられる。

自発運動量の測定では、投与第 6 週の検査で測定開始 10 分～20 分の運動量が 60 mg/kg 群、総運動量が 60 および 300 mg/kg 群の雄で対照群と比べ有意な高値を示した。このため回復動物において第 8 週の検査を行った結果、いずれの測定においても有意差は認められなかった。雌では被験物質に起因する変化は認められなかった。

動物を新しい環境に置いた場合、動物はそれを探索しようと周囲を偵察するように嗅いだり触ったりしながら歩き回り、測定初期は運動量が多いが、その後は安定し減少する運動パターンをとる。差の認められた群では極端な高値を示したのではなく、正常な運動パターンを示しているものと判断されたことから、毒性学的意義に乏しい変化と考えられる。

3) 体重

被験物質の影響と考えられる変化は雌雄とも認められなかった。

なお、10 mg/kg 群の雌で哺育 0 日の体重が一過性的な高値を示した。

4) 摂餌量

被験物質の影響と考えられる変化は雌雄とも認め

れなかった。

なお、10 mg/kg 群の雌で妊娠 7 日および 14 日の摂餌量が高値を示したが、60 および 300 mg/kg 群では差がないことから、偶発的な変化と判断した。

5) 血液学検査 (Table 1)

被験物質の影響と考えられる変化は雌雄とも認められなかった。

なお、回復期間終了後の検査で、リンパ球比率の高値が雄、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が雌でみられたが、投与期間終了後の検査では認められないことから、偶発的な変化と判断した。

6) 血液生化学検査 (Table 2)

被験物質の影響と考えられる毒性変化は雌雄とも認められなかった。

投与期間終了後の検査では、300 mg/kg 群の雌でナトリウムの低値がみられたが、関連する他のパラメータに変化がないことから、毒性学的に意義のない変化と考えられる。回復期間終了後の検査では、総蛋白の高値、A/G 比の低値がいずれも雌でみられたが、投与期間終了後の検査では認められないことから、偶発的な変化と判断した。

7) 雄の尿検査

被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

8) 器官重量 (Table 3)

被験物質の影響と考えられる変化は雌雄とも認められなかった。

なお、回復期間終了後の検査で、副腎の実重量の低値が雌でみられたが、投与期間終了後の検査および相対重量で差がないことから、偶発的な変化と考えられる。

9) 剖検所見

被験物質の影響と考えられる変化は雌雄とも認められなかった。

なお、投与後解剖動物の剖検の結果、対照群を含む各群でいくつかの肉眼的変化が認められたが、それらはラットでは非特異的に発現する変化であり、その発現状況に明らかな群差がみられないことから、被験物質とは関連のない変化と判断した。

10) 病理組織所見 (Table 4)

被験物質の影響と考えられる変化が雌雄の胃に認められた。

前胃の変化として、扁平上皮過形成が投与後解剖動物の 60 mg/kg 群の雄 2 例、雌 1 例、300 mg/kg 群の雄 5 例、雌 2 例で認められた。この変化は、300 mg/kg 群の雄 1 例では前胃全体に軽度認められたが、その他の例では前胃境界線を主体とし軽微な変化であった。また、前胃の水腫が 300 mg/kg 群の雄 1 例で認められた。腺胃

の変化として、腺胃胃小窩上皮の過形成が投与後解剖動物の 300 mg/kg 群の雄 3 例、雌 2 例で認められ、AB-PAS 染色により腺胃の表層粘液が減少していた。このうち雄 1 例では腺胃 globule leukocyte の増加、雌 1 例では腺胃のびらんが認められた。回復後解剖動物では、前述のような胃の変化は認められなかった。

なお、この他種々の組織変化が投与後解剖動物の対照群を含む各群で認められたが、それらはラットでは非特異的に発現する変化であり、その発現状況に明らかな群差がみられないことから、被験物質とは関連のない変化と判断した。

2. 生殖発生毒性

1) 生殖機能 (Table 5)

性周期検査では、各群の平均性周期日数に変化はなく、被験物質による性周期の延長あるいは短縮はみられず、異常性周期を示す動物も認められなかった。

交配の結果、交尾所要日数の延長が 300 mg/kg 群で認められた。しかし、300 mg/kg 群全例で平均性周期日数の 1 性周期 (4 日間) 以内に交尾が確認され、交配最初の発情期を逸していないことから、偶発的な変化と考えられた。その他、交配対全例が交尾し、交尾率、交尾成立までに逸した発情期の回数、ならびに受胎率のいずれにも被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

また、非妊娠動物が 60 および 300 mg/kg 群の各 1 例で認められた。相手雄の剖検の結果、両側性の精巣および精巣上体の小型がみられ、病理組織学的には精巣の精細管の萎縮および精巣上体管内精子減少が認められたことから、非妊娠の要因は雄に起因するものであった。同系統の雄動物では、前述と同様な変化が稀に認められ、本試験では 300 mg/kg 群で多発したものではないことから、偶発的な変化と考えられる。

2) 分娩・哺育状態 (Table 6)

妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率および分娩率のいずれにも被験物質の影響と考えられる変化は認められず、母動物の分娩および哺育行動に関する異常も認められなかった。

3) 新生児に及ぼす影響

(1) 新生児の観察 (Table 6)

出産児数、出産生児数、性比、出生率、新生児の 4 日生存率および一般状態のいずれにも被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

なお、新生児の外表検査の結果、短尾と鎖肛の合併が対照群の 1 例、無尾が 300 mg/kg 群の 1 例に認められたが、発現状況から自然発生性の変化と判断した。

(2) 体重 (Table 6)

雌雄の体重および体重増加量とも被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

(3) 剖検

生後 4 日の生存児の剖検および死亡児の剖検では、被

験物質に起因する異常所見は認められなかった。

考察

1. 反復投与毒性

雌雄とも死亡は認められなかった。投与後の症状として 300 mg/kg 群で、流涎が雌雄、歩行異常が雌で散見された。流涎については被験物質が有する刺激性作用に起因するものと考えられる。さらに歩行異常は先に行った用量設定試験の 600 および 1000 mg/kg 群の雌雄でも観察されていることから、被験物質に起因する変化と考えられる。しかし、この変化は連続する症状でなくいずれも一過性の変化であること、詳細な症状観察、機能検査などの行動検査の項目では異常は観察されなかったことから、神経毒性を疑わせるものではないと考えられる。

病理学的検査の結果、前胃扁平上皮の過形成が 60 および 300 mg/kg 群の雌雄で認められ、雄 1 例は水腫を伴っていた。腺胃の変化としては胃小窩上皮の過形成およびびらんが 300 mg/kg 群で認められた。前胃扁平上皮の過形成は種々の化学物質の経口投与によって誘発され、水腫を伴うこともある [2]。腺胃胃小窩上皮の過形成はびらんや潰瘍などの障害を受けた粘膜の修復像として認められる^{2,3)}。被験物質は皮膚、眼、粘膜を強く刺激し、炎症や薬傷を引き起こすことが報告されている¹⁾ことから、被験物質の胃への刺激性を示唆するものと考えられる。回復後解剖動物ではこれらの変化は認められず、いずれの変化も被験物質の投与を中止することで回復するものと考えられる。

その他、行動検査、体重、摂餌量、血液学検査、血液生化学検査、雄の尿検査および器官重量では被験物質に起因する変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

性周期、交尾率、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩状態および哺育の観察において、被験物質に起因する変化は認められなかった。新生児の検査においても出産児数、出産生児数、性比、出生率および新生児の 4 日生存率、さらに一般状態、外表検査、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。したがって、被験物質は次世代の発生および発育へ影響を及ぼすものではないと考えられる。

被験物質の類似物質である 2, 3, 6-トリメチルフェノールのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験 (用量: 100, 300 および 1000 mg/kg) の報告⁴⁾では、1000 mg/kg で歩行失調や流涎、体重増加の抑制、摂餌量減少、各種検査から溶血や肝臓の薬物代謝酵素誘導を示唆する変化、前胃の扁平上皮のびまん性過形成など種々の変化が認められている。300 mg/kg では流涎、体重増加の抑制、摂餌量減少などがみられているが、肝臓および胃

とも病理組織学的な変化は認められていない。よって、無影響量は 100 mg/kg/day と結論している。被験物質における 60 および 300 mg/kg の用量では前胃扁平上皮の過形成が雌雄で認められており、投与期間の違いなどを考慮してもその影響の程度としては、被験物質（2, 4, 6-トリメチルフェノール）>2, 3, 6-トリメチルフェノールと考えられる。なお、本試験条件下において 300 mg/kg 以上の用量では被験物質を投与していないが、用量設定試験の結果、1000 mg/kg の用量でも溶血を示唆するような血液学的変化は認められなかった。このことから、被験物質は刺激性作用を主体とした変化の現われる可能性が高いと考えられる。

以上のように、2, 4, 6-トリメチルフェノールの本試験条件下における無影響量（NOEL）および無毒性量（NOAEL）は次のように判断される。すなわち、反復投与毒性に関し、雌雄の動物に対する NOEL および NOAEL は、前胃扁平上皮の過形成が 60 mg/kg 以上の群の雌雄で認められたことから 10 mg/kg/day と考えられる。生殖発生毒性に関し、雌雄の親動物ならびに F1 児動物に対する NOEL および NOAEL は、変化が認められなかったことから 300 mg/kg/day と考えられる。

文献

- 1) 化学物質等安全データシート, 2, 4, 6-トリメチルフェノール, 東京化成工業株式会社, 2000.
- 2) Gopinath C, Prentice DE, Lewis DJ. The alimentary system and pancreas. Stomach. In: Gopinath C, Prentice DE, Lewis DJ, editors. Atlas of experimental toxicological pathology. Lancaster: MTP Press; 1987. p.64-5.
- 3) Greaves P. V II. Digestive System 1. Stomach (glandular). Non-neoplastic lesions. In: Greaves P editor. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 2000. p.343-6.
- 4) 大原直樹ら, 2, 3, 6-トリメチルフェノールのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告, 化学物質点検推進連絡協議会, 1999, p.550-560.

連絡先

試験責任者 :

試験担当者 :

㈱三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所
〒314-0255 茨城県神栖市砂山 14
Tel 0479-46-2871 Fax 0479-46-2874

Correspondence

Authors :

Kashima Laboratory
Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.,
14 Sunayama, Kamisu-shi, Ibaraki, 314-0255,
Japan
Tel +81-479-46-2871 Fax+81-479-46-2874

本報告書は、平成 19 年度ハザードデータ評価委員会（独立行政法人製品評価技術基盤機構）で評価後、修正・加筆された。

Table 1 Hematological examination in rats treated orally with 2,4,6-Trimethylphenol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Dose level(mg/kg)	Administration period				Recovery period	
		0	10	60	300	0	300
Male							
Number of animals		5	5	5	5	5	5
RBC($\times 10^6/\mu\text{L}$)		8.736 \pm 0.369	8.540 \pm 0.147	8.580 \pm 0.178	8.664 \pm 0.258	8.718 \pm 0.247	8.946 \pm 0.216
Hemoglobin(g/dL)		15.48 \pm 0.34	15.36 \pm 0.39	15.74 \pm 0.48	15.52 \pm 0.41	15.40 \pm 0.52	15.78 \pm 0.46
Hematocrit(%)		45.72 \pm 0.69	45.70 \pm 1.29	46.26 \pm 0.96	45.92 \pm 1.48	44.78 \pm 1.44	45.94 \pm 1.20
Reticulocyte(%)		2.64 \pm 0.27	2.92 \pm 0.31	2.66 \pm 0.37	2.54 \pm 0.58	2.70 \pm 0.23	2.42 \pm 0.19
MCV(fL)		52.38 \pm 2.40	53.52 \pm 1.78	53.90 \pm 1.85	52.98 \pm 1.74	51.40 \pm 1.53	51.36 \pm 1.68
MCH(pg)		17.72 \pm 0.80	17.98 \pm 0.57	18.36 \pm 0.85	17.92 \pm 0.47	17.66 \pm 0.50	17.64 \pm 0.60
MCHC(%)		33.80 \pm 0.28	33.58 \pm 0.18	34.02 \pm 0.47	33.84 \pm 0.85	34.38 \pm 0.23	34.32 \pm 0.22
Platelet($\times 10^3/\mu\text{L}$)		1173.2 \pm 154.3	1161.6 \pm 52.0	1197.8 \pm 84.2	1169.6 \pm 82.6	1067.0 \pm 56.9	1053.2 \pm 18.9
PT(sec)		21.18 \pm 6.29	18.90 \pm 1.64	17.42 \pm 2.24	17.88 \pm 1.00	19.38 \pm 2.17	22.40 \pm 3.98
APTT(sec)		20.88 \pm 3.23	19.54 \pm 0.98	18.22 \pm 2.20	19.38 \pm 0.54	20.06 \pm 0.72	20.56 \pm 3.08
WBC($\times 10^3/\mu\text{L}$)		9.002 \pm 1.810	9.076 \pm 3.044	11.262 \pm 3.028	8.656 \pm 3.712	6.688 \pm 1.269	7.210 \pm 2.007
Differential leukocyte counts (%)							
Lymphocyte		84.30 \pm 5.36	88.34 \pm 5.58	87.12 \pm 5.07	85.32 \pm 4.59	70.80 \pm 7.19	82.70 \pm 8.07*
Neutrophilic Segmented		14.50 \pm 6.48	10.06 \pm 4.87	12.68 \pm 4.73	12.68 \pm 3.00	25.60 \pm 6.50	14.50 \pm 8.74
Neutrophilic Band		0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.40 \pm 0.55
Eosinophil		1.20 \pm 1.79	1.00 \pm 1.00	0.20 \pm 0.45	1.40 \pm 1.95	0.80 \pm 0.45	1.00 \pm 0.71
Basophil		0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Monocyte		0.00 \pm 0.00	0.60 \pm 0.55	0.00 \pm 0.00	0.60 \pm 0.89	2.80 \pm 1.92	1.40 \pm 1.34
Female							
Number of animals		5	5	5	5	5	5
RBC($\times 10^6/\mu\text{L}$)		7.480 \pm 0.168	7.528 \pm 0.261	7.480 \pm 0.546	7.246 \pm 0.274	8.042 \pm 0.376	8.278 \pm 0.266
Hemoglobin(g/dL)		14.18 \pm 0.33	14.46 \pm 0.40	14.78 \pm 0.93	13.58 \pm 0.36	14.98 \pm 0.59	15.78 \pm 0.75
Hematocrit(%)		41.96 \pm 0.76	42.44 \pm 1.15	43.24 \pm 1.97	40.62 \pm 0.98	42.32 \pm 1.27	44.26 \pm 1.97
Reticulocyte(%)		6.14 \pm 0.77	5.58 \pm 2.26	6.64 \pm 2.60	6.28 \pm 1.00	2.66 \pm 0.82	2.40 \pm 0.38
MCV(fL)		56.10 \pm 1.66	56.38 \pm 1.31	57.92 \pm 2.34	56.08 \pm 1.52	52.68 \pm 1.54	53.50 \pm 0.93
MCH(pg)		18.96 \pm 0.65	19.20 \pm 0.31	19.78 \pm 0.40	18.78 \pm 0.61	18.62 \pm 0.58	19.08 \pm 0.43
MCHC(%)		33.82 \pm 0.41	34.04 \pm 0.36	34.16 \pm 1.26	33.50 \pm 0.40	35.40 \pm 0.44	35.64 \pm 0.38
Platelet($\times 10^3/\mu\text{L}$)		1111.8 \pm 65.3	1304.2 \pm 112.8	1173.0 \pm 117.0	1167.8 \pm 137.5	1072.8 \pm 58.1	1171.6 \pm 157.0
PT(sec)		17.04 \pm 0.43	16.66 \pm 0.38	16.62 \pm 0.43	16.80 \pm 0.39	15.58 \pm 0.49	15.10 \pm 0.43
APTT(sec)		15.14 \pm 1.23	15.14 \pm 0.57	14.92 \pm 2.03	14.88 \pm 1.20	15.86 \pm 0.51	13.72 \pm 0.74**
WBC($\times 10^3/\mu\text{L}$)		8.600 \pm 1.358	9.552 \pm 0.585	9.346 \pm 2.529	9.998 \pm 2.801	7.000 \pm 2.100	6.344 \pm 1.923
Differential leukocyte counts (%)							
Lymphocyte		75.90 \pm 12.88	78.10 \pm 10.71	76.38 \pm 14.27	63.74 \pm 9.37	84.98 \pm 5.93	81.20 \pm 5.67
Neutrophilic Segmented		21.10 \pm 10.83	18.10 \pm 8.06	19.82 \pm 10.25	30.04 \pm 7.55	11.82 \pm 5.09	15.80 \pm 6.98
Neutrophilic Band		0.80 \pm 0.84	0.20 \pm 0.45	0.00 \pm 0.00	0.20 \pm 0.45	0.00 \pm 0.00	0.20 \pm 0.45
Eosinophil		1.60 \pm 1.52	0.80 \pm 1.30	0.60 \pm 0.89	1.00 \pm 1.00	0.80 \pm 0.84	0.60 \pm 0.55
Basophil		0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Monocyte		0.60 \pm 1.34	2.80 \pm 2.68	3.20 \pm 4.87	5.02 \pm 3.32	2.40 \pm 1.14	2.20 \pm 1.79

Values are expressed as Mean \pm S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 2 Blood chemical examination in rats treated orally with 2,4,6-Trimethylphenol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex	Dose level(mg/kg)	Administration period				Recovery period	
		0	10	60	300	0	300
Male							
	Number of animals	5	5	5	5	5	5
	ASAT(U/L)	118.8 ± 30.1	95.8 ± 3.8	97.6 ± 21.7	94.8 ± 17.1	159.8 ± 132.5	93.4 ± 14.0
	ALAT(U/L)	36.4 ± 14.1	26.2 ± 5.5	26.8 ± 2.5	37.0 ± 7.3	70.6 ± 94.8	28.4 ± 5.7
	GT(U/L)	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5	0.8 ± 0.8	1.8 ± 0.8	1.6 ± 0.5
	ALP(U/L)	401.2 ± 50.3	362.4 ± 88.5	377.6 ± 63.4	352.0 ± 105.4	369.0 ± 58.9	357.6 ± 100.4
	Total bilirubin(mg/dL)	0.02 ± 0.04	0.02 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	Urea nitrogen(mg/dL)	15.28 ± 1.13	14.80 ± 2.24	14.46 ± 1.00	14.48 ± 1.97	12.32 ± 1.12	11.38 ± 1.39
	Creatinine(mg/dL)	0.26 ± 0.05	0.22 ± 0.04	0.24 ± 0.05	0.24 ± 0.05	0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.00
	Glucose(mg/dL)	119.4 ± 12.2	122.2 ± 13.7	133.0 ± 9.7	138.0 ± 16.4	131.4 ± 12.0	130.8 ± 8.0
	Total chol.(mg/dL)	43.8 ± 14.4	55.0 ± 8.0	61.2 ± 13.2	57.2 ± 12.8	67.0 ± 16.4	63.8 ± 13.7
	Triglyceride(mg/dL)	12.2 ± 5.2	23.4 ± 15.8	21.6 ± 11.2	23.0 ± 9.9	29.4 ± 3.4	33.6 ± 14.1
	Total protein(g/dL)	6.40 ± 0.22	6.56 ± 0.54	6.60 ± 0.29	6.26 ± 0.38	6.78 ± 0.28	6.90 ± 0.39
	Albumin(g/dL)	2.86 ± 0.09	2.82 ± 0.13	2.82 ± 0.08	2.78 ± 0.19	2.96 ± 0.09	3.08 ± 0.08
	A/G ratio	0.806 ± 0.030	0.760 ± 0.073	0.738 ± 0.033	0.804 ± 0.065	0.780 ± 0.033	0.804 ± 0.031
	Calcium(mg/dL)	9.86 ± 0.27	10.02 ± 0.22	10.10 ± 0.31	9.90 ± 0.32	9.68 ± 0.46	9.92 ± 0.19
	Inorganic phos.(mg/dL)	8.68 ± 0.67	8.28 ± 0.19	8.24 ± 0.76	8.22 ± 0.23	6.78 ± 0.31	6.78 ± 0.36
	Na(mmol/L)	148.0 ± 0.7	147.2 ± 0.8	147.0 ± 0.7	147.0 ± 0.7	146.6 ± 1.1	146.8 ± 0.8
	K(mmol/L)	4.68 ± 0.08	4.54 ± 0.27	4.50 ± 0.20	4.60 ± 0.19	4.60 ± 0.16	4.36 ± 0.30
	Cl(mmol/L)	106.2 ± 1.1	105.8 ± 0.8	105.2 ± 0.4	105.0 ± 1.2	105.2 ± 0.8	105.4 ± 1.1
Female							
	Number of animals	5	5	5	5	5	5
	ASAT(U/L)	99.4 ± 17.6	105.4 ± 25.1	90.0 ± 18.2	125.8 ± 92.3	77.4 ± 7.1	83.4 ± 14.9
	ALAT(U/L)	37.4 ± 3.0	39.2 ± 9.0	32.8 ± 7.6	49.0 ± 20.2	21.2 ± 2.4	28.8 ± 9.2
	GT(U/L)	0.6 ± 0.5	0.6 ± 0.5	0.8 ± 0.4	1.4 ± 0.5	2.2 ± 0.8	2.2 ± 1.3
	ALP(U/L)	222.4 ± 49.4	235.2 ± 67.9	241.2 ± 61.2	205.2 ± 73.2	145.0 ± 28.0	171.2 ± 50.7
	Total bilirubin(mg/dL)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.04	0.00 ± 0.00
	Urea nitrogen(mg/dL)	21.10 ± 3.68	20.22 ± 1.19	17.08 ± 3.23	18.82 ± 2.72	14.27 ± 0.72	15.44 ± 1.63
	Creatinine(mg/dL)	0.32 ± 0.04	0.32 ± 0.04	0.30 ± 0.00	0.30 ± 0.00	0.32 ± 0.04	0.32 ± 0.04
	Glucose(mg/dL)	127.8 ± 13.6	125.2 ± 12.9	126.2 ± 8.6	141.2 ± 13.6	134.2 ± 18.1	131.4 ± 14.6
	Total chol.(mg/dL)	68.0 ± 6.6	77.6 ± 17.3	58.2 ± 5.0	84.6 ± 13.9	72.0 ± 21.8	83.6 ± 19.2
	Triglyceride(mg/dL)	37.2 ± 8.1	45.0 ± 12.3	29.2 ± 14.2	46.2 ± 15.3	10.4 ± 6.2	12.6 ± 4.1
	Total protein(g/dL)	7.06 ± 0.47	7.18 ± 0.08	6.86 ± 0.30	6.90 ± 0.27	7.22 ± 0.26	7.70 ± 0.28*
	Albumin(g/dL)	3.14 ± 0.30	3.18 ± 0.11	3.10 ± 0.16	3.08 ± 0.13	3.40 ± 0.12	3.42 ± 0.11
	A/G ratio	0.800 ± 0.066	0.806 ± 0.053	0.826 ± 0.074	0.812 ± 0.047	0.898 ± 0.044	0.792 ± 0.044**
	Calcium(mg/dL)	10.92 ± 0.41	11.12 ± 0.40	11.00 ± 0.64	10.82 ± 0.32	10.16 ± 0.38	10.34 ± 0.49
	Inorganic phos.(mg/dL)	9.28 ± 0.57	9.46 ± 1.28	9.62 ± 1.48	8.82 ± 0.66	6.34 ± 0.76	7.10 ± 1.13
	Na(mmol/L)	146.4 ± 0.9	145.2 ± 0.4	145.0 ± 1.6	143.8 ± 0.8**	145.0 ± 1.2	146.0 ± 1.0
	K(mmol/L)	4.62 ± 0.22	4.64 ± 0.43	4.38 ± 0.24	4.28 ± 0.13	4.26 ± 0.21	4.26 ± 0.26
	Cl(mmol/L)	103.4 ± 2.5	102.8 ± 1.1	104.4 ± 1.7	103.2 ± 1.3	106.8 ± 1.3	106.2 ± 1.1

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

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

Sex	Dose level(mg/kg)	Administration period				Recovery period	
		0	10	60	300	0	300
Male							
Number of animals	5	5	5	5	5	5	
Final body weight(g)	433.4 ± 39.2(7) ^{a)}	451.1 ± 43.2(12)	446.8 ± 28.5(12)	429.3 ± 44.7(7)	467.0 ± 6.1	452.2 ± 31.8	
Absolute organ weight							
Brain(g)	2.048 ± 0.200	2.146 ± 0.046	2.140 ± 0.031	2.146 ± 0.263	2.128 ± 0.049	2.148 ± 0.061	
Thymus(mg)	266.6 ± 38.5	355.8 ± 48.9	392.4 ± 94.7	337.4 ± 120.9	325.6 ± 65.3	314.4 ± 62.3	
Heart(g)	1.452 ± 0.168	1.416 ± 0.191	1.634 ± 0.181	1.340 ± 0.131	1.558 ± 0.131	1.568 ± 0.064	
Liver(g)	10.324 ± 0.779	11.776 ± 2.508	12.660 ± 1.035	11.634 ± 1.244	11.878 ± 0.696	11.900 ± 0.638	
Spleen(g)	0.743 ± 0.081	0.860 ± 0.097	0.840 ± 0.087	0.832 ± 0.131	0.784 ± 0.082	0.756 ± 0.100	
Kidneys(g)	2.824 ± 0.204	2.948 ± 0.341	3.352 ± 0.394	2.984 ± 0.257	3.190 ± 0.264	3.082 ± 0.235	
Adrenals(mg)	66.24 ± 12.16	61.16 ± 15.17	67.72 ± 12.60	56.54 ± 5.78	57.20 ± 11.04	65.46 ± 8.56	
Testes(g)	3.290 ± 0.478(7)	3.242 ± 0.315(12)	3.179 ± 0.609(12)	3.089 ± 0.704(7)	3.472 ± 0.243	3.402 ± 0.357	
Epididymides(g)	1.214 ± 0.187(7)	1.269 ± 0.124(12)	1.245 ± 0.233(12)	1.246 ± 0.209(7)	1.362 ± 0.100	1.268 ± 0.057	
Relative organ weight							
Brain(g%)	0.492 ± 0.057	0.504 ± 0.061	0.462 ± 0.032	0.514 ± 0.045	0.456 ± 0.011	0.480 ± 0.046	
Thymus(mg%)	64.32 ± 12.28	82.84 ± 8.52	84.58 ± 20.22	80.40 ± 24.95	69.82 ± 14.42	69.86 ± 15.31	
Heart(g%)	0.348 ± 0.031	0.330 ± 0.032	0.354 ± 0.039	0.324 ± 0.034	0.332 ± 0.028	0.348 ± 0.033	
Liver(g%)	2.472 ± 0.139	2.708 ± 0.257	2.730 ± 0.033	2.796 ± 0.095	2.544 ± 0.214	2.636 ± 0.053	
Spleen(g%)	0.176 ± 0.021	0.200 ± 0.010	0.182 ± 0.011	0.202 ± 0.022	0.170 ± 0.016	0.168 ± 0.025	
Kidneys(g%)	0.676 ± 0.040	0.688 ± 0.049	0.724 ± 0.063	0.722 ± 0.088	0.686 ± 0.055	0.682 ± 0.035	
Adrenals(mg%)	15.88 ± 2.91	14.06 ± 2.30	14.72 ± 3.37	13.60 ± 0.88	12.26 ± 2.45	14.48 ± 1.64	
Testes(g%)	0.767 ± 0.147(7)	0.722 ± 0.066(12)	0.713 ± 0.139(12)	0.717 ± 0.135(7)	0.742 ± 0.044	0.756 ± 0.086	
Epididymides(g%)	0.281 ± 0.051(7)	0.283 ± 0.022(12)	0.279 ± 0.050(12)	0.289 ± 0.038(7)	0.292 ± 0.023	0.284 ± 0.023	
Female							
Number of animals	5	5	5	5	5	5	
Final body weight(g)	305.2 ± 32.2	308.6 ± 29.7	294.4 ± 11.9	296.6 ± 15.6	305.2 ± 56.2	277.6 ± 29.7	
Absolute organ weight							
Brain(g)	1.920 ± 0.091	2.042 ± 0.050	1.938 ± 0.083	1.968 ± 0.142	2.004 ± 0.036	1.966 ± 0.067	
Thymus(mg)	309.8 ± 40.9	395.0 ± 169.7	330.2 ± 71.5	296.6 ± 55.2	395.2 ± 157.2	353.0 ± 67.3	
Heart(g)	1.068 ± 0.079	1.096 ± 0.085	1.020 ± 0.051	1.044 ± 0.120	1.036 ± 0.135	1.022 ± 0.108	
Liver(g)	10.436 ± 1.085	10.378 ± 0.878	9.616 ± 0.532	10.916 ± 0.677	8.112 ± 1.469	7.850 ± 1.178	
Spleen(g)	0.782 ± 0.097	0.776 ± 0.132	0.754 ± 0.038	0.730 ± 0.136	0.594 ± 0.074	0.614 ± 0.102	
Kidneys(g)	2.396 ± 0.611	2.170 ± 0.155	2.066 ± 0.146	2.098 ± 0.214	2.000 ± 0.184	1.946 ± 0.205	
Adrenals(mg)	81.90 ± 12.76	74.10 ± 7.36	72.46 ± 15.37	68.80 ± 10.11	79.90 ± 9.87	63.88 ± 7.60*	
Relative organ weight							
Brain(g%)	0.636 ± 0.084	0.666 ± 0.056	0.658 ± 0.022	0.666 ± 0.054	0.670 ± 0.099	0.712 ± 0.072	
Thymus(mg%)	101.50 ± 8.05	130.64 ± 63.42	111.66 ± 20.39	99.90 ± 16.70	129.06 ± 45.40	129.08 ± 32.49	
Heart(g%)	0.354 ± 0.027	0.356 ± 0.036	0.348 ± 0.026	0.350 ± 0.026	0.342 ± 0.051	0.366 ± 0.023	
Liver(g%)	3.422 ± 0.127	3.376 ± 0.302	3.268 ± 0.199	3.680 ± 0.186	2.658 ± 0.098	2.820 ± 0.176	
Spleen(g%)	0.256 ± 0.034	0.254 ± 0.054	0.256 ± 0.015	0.244 ± 0.034	0.200 ± 0.037	0.220 ± 0.016	
Kidneys(g%)	0.788 ± 0.126	0.704 ± 0.039	0.702 ± 0.029	0.708 ± 0.051	0.666 ± 0.087	0.702 ± 0.029	
Adrenals(mg%)	26.88 ± 3.62	24.08 ± 1.80	24.60 ± 5.17	23.10 ± 2.19	25.90 ± 6.04	23.12 ± 3.02	

a) Number of animals examined.

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 4 Histopathological findings in rats treated orally with 2,4,6-Trimethylphenol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Sex		Administration period				Recovery period	
Organ	Dose level (mg/kg)	0	10	60	300	0	300
Finding	Number of animals	7	12	12	7	5	5
Male		(Grade)					
Heart		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Degeneration, myocardium	1+	2			1		
Lymph node, mandibular		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Lymph node, mesenteric		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Thymus		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Spleen		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Bone marrow, femur		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Trachea		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Hyperplasia, mucosal epithelium	1+	0			1		
Lung (and bronchus)		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Accumulation, foam cell, alveolus	1+	2			1		
Hemorrhage	1+	2			1		
Mineralization, arterial wall	1+	1			1		
Stomach		<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>
Cyst, forestomach	1+	0	0	1	0	0	0
Edema, forestomach	1+	0	0	0	1	0	0
Hyperplasia, foveola, glandular stomach	1+	0	0	0	2	0	0
	2+	0	0	0	1	0	0
Hyperplasia, squamous, forestomach	1+	0	0	2	4	0	0
	2+	0	0	0	1	0	0
Increase, globule leukocyte, glandular stomach	1+	0	0	0	1	0	0
Small intestine, duodenum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Small intestine, jejunum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Small intestine, ileum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Large intestine, cecum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Hyperplasia, mucosal epithelium, diffuse	1+	0			2		
Large intestine, colon		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Large intestine, rectum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Liver		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Necrosis, hepatocyte, focal	1+	0			1		
Kidney		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Basophilic tubule, proximal tubule	1+	4			4		
Cast, hyaline	1+	1			1		
Cyst	1+	1			0		
Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	1+	1			2		
Mineralization, medulla	1+	0			1		
Urinary bladder		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>

< > : Number of animals examined.

Grade; 1+ : slight, 2+ : moderate, 3+ : severe, total : total of positive grade

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 4 (Continued)

Sex		Administration period				Recovery period	
Organ	Dose level (mg/kg)	0	10	60	300	0	300
Finding	Number of animals	7	12	12	7	5	5
Male		(Grade)					
Testis		<6>	<0>	<1>	<6>	<0>	<0>
Atrophy, seminiferous tubule	1+	2		0	0		
	2+	0		0	1		
	3+	0		1	0		
Epididymis		<6>	<0>	<2>	<6>	<0>	<0>
Cell debris, duct	1+	1		0	0		
Decrease, sperm, duct	1+	1		0	0		
	2+	0		1	1		
Granuloma, spermatic	1+	0		1	0		
Seminal vesicle		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Prostate		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Cell infiltration, lymphocyte, interstitium	1+	4			1		
Pituitary		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Cystic dilatation, Rathke's pouch	1+	1			0		
Thyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Ultimobranchial remnant	1+	3			3		
Parathyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Adrenal		<5>	<0>	<0>	<5>		
Brain		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Spinal cord		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Sciatic nerve		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Skin (and subcutis)		<0>	<0>	<0>	<1>	<0>	<0>
Erosion	1+				1		

< > : Number of animals examined.

Grade; 1+ : slight, 2+ : moderate, 3+ : severe, total : total of positive grade

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 4 (Continued)

Sex	Organ	Dose level (mg/kg)	Administration period				Recovery period	
			0	10	60	300	0	300
	Finding	Number of animals	12	12	11	11	5	5
Female (Grade)								
	Heart		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Lymph node, mandibular		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Lymph node, mesenteric		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Thymus		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Spleen		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Bone marrow, femur		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Trachea		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Lung (and bronchus)		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Hemorrhage	1+	1			2		
	Stomach		<5>	<5>	<5>	<5>	<5>	<5>
	Erosion, glandular stomach	1+	0	0	0	1	0	0
	Hyperplasia, foveola, glandular stomach	1+	0	0	0	2	0	0
	Hyperplasia, squamous, forestomach	1+	0	0	1	2	0	0
	Small intestine, duodenum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Small intestine, jejunum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Small intestine, ileum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Large intestine, cecum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Hyperplasia, mucosal epithelium, diffuse	1+	1			1		
	Large intestine, colon		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Large intestine, rectum		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Liver		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Cell infiltration, inflammatory, focal	1+	1			0		
	Kidney		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Basophilic tubule, proximal tubule	1+	4			1		
	Cast, hyaline	1+	1			0		
	Dilatation, pelvis	2+	1			0		
	Mineralization, medulla	1+	1			0		
	Urinary bladder		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Ovary		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Uterus		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Vagina		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Pituitary		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Aberrant craniopharyngeal tissue	1+	1			0		
	Thyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
	Ectopic thymic tissue	1+	0			1		
	Ultimobranchial remnant	1+	4			5		

<> : Number of animals examined.

Grade; 1+ : slight, 2+ : moderate, 3+ : severe, total : total of positive grade

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 4 (Continued)

Sex		Administration period				Recovery period	
Organ	Dose level (mg/kg)	0	10	60	300	0	300
Finding	Number of animals	12	12	11	11	5	5
Female	(Grade)						
Parathyroid		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Adrenal		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Hypertrophy, cortical cell, glomerular zone	1+	0			1		
Brain		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Spinal cord		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Sciatic nerve		<5>	<0>	<0>	<5>	<0>	<0>
Skin (and subcutis)		<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<0>

<> : Number of animals examined.

Grade; 1+ : slight, 2+ : moderate, 3+ : severe, total : total of positive grade

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 5 Fertility and pregnancy data in rats treated orally with 2,4,6-Trimethylphenol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level(mg/kg)	Administration period			
	0	10	60	300
Number of pairs examined	12	12	12	12
Estrous cycle	4.00 ± 0.00	4.08 ± 0.29	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00
Irregular estrous cycle	0/12	0/12	0/12	0/12
Number of pairs with successful mating	12	12	12	12
Mating index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of pregnant females	12	12	11	11
Fertility index (%) ^{b)}	100.0	100.0	91.7	91.7
Pairing days until mating	2.0 ± 1.2	3.2 ± 3.3	2.3 ± 1.1	3.3 ± 0.8*
Number of estrous stages without mating	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

a) Mating index (%) = (Number of pairs with successful mating/number of pairs examined)×100

b) Fertility index (%) = (Number of pregnant animals/number of pairs with successful mating)×100

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 6 Delivery and litter data in rats treated orally with 2,4,6-Trimethylphenol in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose level(mg/kg)	Administration period			
	0	10	60	300
Number of females examined	12	12	11	11
Number of females with live pups	12	12	11	11
Gestation index (%) ^{a)}	100.0	100.0	100.0	100.0
Gestation length (days)	22.4 ± 0.5	22.3 ± 0.5	22.7 ± 0.5	22.5 ± 0.5
Number of corpora lutea	16.8 ± 2.4	15.2 ± 3.4	15.2 ± 2.2	16.7 ± 1.5
Number of implantation sites	15.4 ± 1.4	14.2 ± 4.2	13.5 ± 3.5	15.8 ± 1.7
Implantation index (%) ^{b)}	92.50 ± 8.82	91.59 ± 12.98	88.15 ± 17.06	94.63 ± 5.99
Delivery index (%) ^{c)}	93.73 ± 6.63	95.82 ± 4.15	91.94 ± 12.57	92.98 ± 6.08
Number of pups delivered	14.4 ± 1.3	13.6 ± 4.1	12.7 ± 3.9	14.7 ± 2.1
Number of live pups on day 0	14.3 ± 1.4	13.5 ± 4.0	12.7 ± 3.9	14.7 ± 2.1
Live birth index (%) ^{d)}	99.41 ± 2.05	99.48 ± 1.79	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
Sex ratio (male/female)	1.06(89/84)	0.85(75/88)	0.97(69/71)	1.25(90/72)
Number of live pups on day 4	14.2 ± 1.6	13.3 ± 3.8	12.6 ± 3.9	14.7 ± 2.1
Viability index on day 4 (%) ^{e)}	98.72 ± 4.45	99.04 ± 2.24	99.39 ± 2.02	100.00 ± 0.00
Body weight of pups (g)				
on day 0 male	6.7 ± 0.7	7.0 ± 0.8	7.4 ± 0.9	7.1 ± 0.6
female	6.4 ± 0.7	6.6 ± 0.8	6.3 ± 2.0	6.6 ± 0.6
on day 4 male	10.9 ± 1.4	11.4 ± 1.7	12.0 ± 1.9	11.0 ± 1.2
female	10.3 ± 1.4	10.8 ± 1.7	11.5 ± 1.7	10.3 ± 1.3

a) Gestation index (%) = (Number of females with live pups/number of pregnant females)×100

b) Implantation index (%) = (Number of implantation sites/number of corpora lutea)×100

c) Delivery index (%) = (Number of pups delivered/number of implantation sites)×100

d) Live birth index (%) = (Number of live pups on day 0/number of pups delivered)×100

e) Viability index (%) = (Number of live pups on day 4/number of live pups on day 0)×100

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$