

二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験報告書

試験番号：0904

CAS No. 10102-44-0

2019年8月2日

独立行政法人 労働者健康安全機構  
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
拡散防止措置及び動物福祉	.....	i
厚生労働省担当課	.....	ii
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	.....	iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	.....	iii
陳述書	.....	iv
信頼性保証証明書	.....	v
本文	.....	vi
<b>TABLES</b>	<b>A~Q</b>	<b>2</b>
<b>FIGURES</b>	<b>1~6</b>	
<b>PHOTOGRAPHS</b>	<b>1~3</b>	
<b>APPENDICES</b>	<b>1-1~3</b>	

## 標題

二酸化窒素の p53 KO マウスを用いた吸入による中期がん原性試験

## 試験目的

二酸化窒素を遺伝子改変マウス (p53KO マウス) に 26 週間全身暴露 (経気道投与) し、そのがん原性を検索した。

## 試験法

本試験は「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」(平成 28 年度第 3 回発がん性評価ワーキンググループ: 2017 年 3 月 1 日厚生労働省) に準拠して実施した。

## GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づき試験施設等が具備すべき基準 (安衛法 GLP)」(昭和 63 年 9 月 1 日労働省告示第 76 号、最終改正平成 28 年 4 月 18 日厚生労働省告示第 208 号) に準拠し、OECD GLP (1997 年 11 月 26 日採択) を参考にして実施した。

## 拡散防止措置及び動物福祉

本試験は、「日本バイオアッセイ研究センターにおける遺伝子組換え生物使用実験安全管理規程」(平成 26 年 9 月 3 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日) 及び「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 4 月 28 日環境省告示第 88 号、最終改正平成 25 年 8 月 30 日環境省告示第 84 号)、「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」(平成 18 年 6 月 1 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、最終改正平成 27 年 2 月 20 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知) 及び「日本バイオアッセイ研究センターにおける動物実験等に関する規程」(平成 24 年 4 月 25 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日) を遵守して行った。

また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの遺伝子組換え生物使用実験安全委員会 (承認番号 2017-09) 及び日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で審査された (承認番号 0202)。

厚生労働省担当課

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

試験施設及び運営管理者

独立行政法人労働者健康安全機構  
日本バイオアッセイ研究センター  
所長 菅野 純  
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

試験開始日	2018年 2月 6日
動物導入日	2018年 2月 14日
群分け日	2018年 2月 26日
被験物質投与開始日	2018年 2月 27日
被験物質投与終了日	2018年 8月 27日
定期解剖日	2018年 8月 28,29,30,31日
試験終了日	2019年 8月 2日

二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験報告書

試験番号：0904

本文

## 本文目次

	頁
要約 .....	1
I 試験材料 .....	3
I-1 被験物質の性状等 .....	3
I-1-1 名称等 .....	3
I-1-2 化学式及び分子量 .....	3
I-1-3 物理化学的性状等 .....	3
I-2 被験物質等 .....	3
I-2-1 使用被験物質 .....	3
I-2-2 被験物質の製造量等 .....	3
I-2-3 被験物質の主な用途 .....	3
I-2-4 許容濃度等 .....	4
I-3 被験物質の特性 .....	4
I-3-1 同一性 .....	4
I-3-2 安定性 .....	4
I-4 試験動物 .....	4
II 試験方法 .....	5
II-1 投与 .....	5
II-1-1 投与経路 .....	5
II-1-2 被験物質の投与方法 .....	5
II-1-3 投与期間 .....	5
II-1-4 投与濃度 .....	5
II-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由 .....	5
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整 .....	6
II-1-7 被験物質濃度の測定 .....	6
II-2 動物管理 .....	6
II-2-1 群の構成及び各群の使用動物数 .....	6
II-2-2 群分け方法 .....	7
II-2-3 動物の個体識別 .....	7

II-2-4	動物飼育室、ならびに他試験及び異種動物との区別	7
II-2-5	飼育条件	7
(1)	飼育環境	7
(2)	飼料	8
(3)	飲水	8
II-3	観察・検査項目及び方法	8
II-3-1	動物の生死及び一般状態の観察	8
II-3-2	体重測定	8
II-3-3	摂餌量測定	9
II-3-4	尿検査	9
II-3-5	血液学的検査	9
II-3-6	血液生化学的検査	9
II-3-7	病理学的検査	9
(1)	肉眼的観察	9
(2)	臓器重量	9
(3)	病理組織学的検査	10
II-4	数値処理と統計方法	10
II-4-1	数値の取り扱いと表示	10
II-4-2	統計処理	10
III	試験成績	12
III-1	生死状況	12
III-2	一般状態	12
III-3	体重	12
III-4	摂餌量	13
III-5	尿検査	13
III-6	血液学的検査	13
III-7	血液生化学的検査	13
III-8	病理学的検査	14
III-8-1	肉眼的観察	14
III-8-2	臓器重量	14
III-8-3	病理組織学的検査	14
III-8-4	死因	16

IV	考察及びまとめ	17
IV-1	生存率、一般状態、体重、摂餌量	17
IV-2	腫瘍性病変及び腫瘍関連病変	17
IV-3	その他の影響	18
V	結論	19
VI	文献	20
VII	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	22



## 要約

二酸化窒素のがん原性を検索するために、二酸化窒素を遺伝子改変マウス (p53KO マウス) に 26 週間全身暴露 (経気道投与) して、その生態影響を検索した。

本試験は、投与群 3 群、対照群 1 群の計 4 群 (各群雌雄とも 25 匹) を設け、二酸化窒素の投与 (暴露) 濃度は、0 (対照群)、10、20 及び 40 ppm とした。投与期間は、1 日 6 時間、1 週 5 日間の全身暴露による経気道投与で 26 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、解剖時の肉眼的観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

26 週間の試験の結果、生存率、一般状態に、雌雄ともには暴露の影響はみられなかった。体重は、雄の 40 ppm 群で投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。

臓器重量測定では、雌雄の 20 ppm 以上の群で肺重量が増加した。

腫瘍の発生は、雄で 40 ppm 群の 2 匹に細気管支-肺胞上皮腺腫が発生し、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加傾向を示した。雌では、投与に起因する腫瘍性病変の増加は認められなかった。

非腫瘍性病変は、雌雄の 20 ppm 以上の群で暴露の影響がみられた。鼻腔では、嗅上皮のエオジン好性変化及び呼吸上皮のエオジン好性変化が濃度依存的な増加を示し、移行上皮の炎症、嗅上皮の萎縮及び嗅部の滲出液の増加などが認められた。鼻咽頭では、呼吸上皮のエオジン好性変化の増加が認められた。肺では、巣状の炎症性細胞浸潤の増加が認められた。

以上の結果、遺伝子改変マウス (p53KO マウス) を用いて、二酸化窒素の 26 週間の吸入による中期がん原性試験を行った結果、1) 雄 p53KO マウスに対するがん原性を示す不確実な証拠が得られた (equivocal evidence of carcinogenic activity)、2) 雌 p53KO マウスに対するがん原性を示す証拠は得られなかった (no evidence of carcinogenic activity) と結論された。

## 二酸化窒素の中期がん原性試験における主な腫瘍発生 (p53KO マウス 雄)

投与濃度 (ppm)		0	10	20	40	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺 胃 (前胃)	細気管支-肺胞上皮腺腫	0	0	0	2	↑	↑
	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1		

↑ :  $p \leq 0.05$  で有意増加 (Peto, Cochran-Armitage 検定)

## 二酸化窒素の中期がん原性試験における主な腫瘍発生 (p53KO マウス 雌)

投与濃度 (ppm)		0	10	20	40	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	1	0	0	1		
皮下組織	血管腫	0	0	1	0		
肝臓	組織球性肉腫 <sup>#</sup>	0	1	0	0		
脾臓	血管腫	0	0	1	0		

<sup>#</sup> : 悪性腫瘍

## I 試験材料

### I-1 被験物質の性状等

#### I-1-1 名称等

名 称 : 二酸化窒素 (Nitrogen dioxide)  
別 名 : 過酸化窒素 (Nitrogen peroxide)  
CAS No. : 10102-44-0  
被験物質番号 : 1288

#### I-1-2 化学式及び分子量 (文献 1)

化 学 式 :  $\text{NO}_2$   
分 子 量 : 46.0

#### I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 刺激臭のある帯赤褐色気体または茶色もしくは黄色の液体  
相対蒸気密度 : 1.58 (空気=1)  
沸 点 : 21.2 °C  
蒸 気 圧 : 96 kPa (20°C)  
溶 解 性 : 水と反応して硝酸と一酸化窒素を生じる  
保 管 条 件 : 室温、暗所

### I-2 被験物質等

#### I-2-1 使用被験物質

製 造 元 : 住友精化株式会社  
純 度 : 99.5% 以上 (住友精化株式会社 検査成績書データ)  
ロット番号 : JTB 1748040

#### I-2-2 被験物質の製造量等

経済産業省一般化学物質等の製造・輸入数量 (平成 29 年度実績) においては酸化窒素として合計で 1,000~2,000 トン未満とされている (文献 2)。

#### I-2-3 被験物質の主な用途

合成ゴム原料 (文献 3)

#### I-2-4 許容濃度等

管理濃度：未設定

日本産業衛生学会：未設定

米国産業衛生専門家会議 (ACGIH)：0.2ppm (TLV-TWA)、A4 (ヒトに対して発がん性物質として分類できない物質) (文献 4)

国際がん研究機関 (IARC)：未設定

#### I-3 被験物質の特性

##### I-3-1 同一性

被験物質の同一性は、被験物質のマスペクトルを質量分析計 (アジレントテクノロジー株 5973N) にて測定し、この測定値を文献値と比較することにより確認した (文献 5)。

その結果、被験物質のマスペクトルは文献値と同じ分子イオンピーク及びフラグメントピークを示し、被験物質は二酸化窒素であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示す。

##### I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後に、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 ((株)島津製作所 IRAffinity-1) 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ることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-2 に示す。

#### I-4 試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株) (筑波 SAS センター) の B6.129S2-Trp53 tm1Tyj/J (p53 ヘテロ欠損マウス、p53 KO マウス) マウス (SPF) の雌雄を使用した。

雄 134 匹、雌 108 匹を 6 週齢で導入し、検疫を 7 日間、馴化を 6 日間実施した後、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 100 匹 (群分け時体重範囲、雄：22.4~27.0g、雌：16.5~23.6 g) を試験に用いた。

なお、中期がん原性試験に p53 ヘテロ欠損マウスを選択した理由は、中期発がん性検索のための有用性が検証されていることによる (文献 6)。

## II 試験方法

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

#### II-1-2 被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。

#### II-1-3 投与期間

全動物において、投与期間は1日6時間、1週5日の暴露（原則として土、日曜日は暴露しない）で、2018年2月27日～2018年8月27日までの26週間とした。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、10、20及び40 ppm（体積比 v/v）の3段階に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

#### II-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は、被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」（文献7）に準拠して26週間とした。

投与時間はOECD化学品テストガイドライン451（文献8）を参考に1日6時間とした。

投与濃度は、雌雄のC57BL/6Jマウス（8週齢）を用いた4週間の予備試験（試験番号0893）結果をもとに決定した。0（対照群）、5、10、20及び40 ppmの濃度で暴露した結果、動物の死亡は認められなかった。一般状態、体重及び摂餌量は40 ppm群で影響がみられた。一般状態の観察では、暴露開始日と2日目の暴露後の観察で雌雄全匹に自発運動量の減少と不整呼吸がみられた。体重は1週目と4週目に雄で低値がみられ、摂餌量は雄では1週目と4週目に、雌では1週目に低値がみられた。臓器重量では、肺重量の高値が雌の20 ppm以上の群と雄の40 ppm群にみられた。病理組織学的検査では、鼻腔と肺に影響がみられた。鼻腔では、滲出液の貯留が40 ppmの雌雄にみられ、また、呼吸上皮のエオジン好性変化と、鼻腺の呼吸上皮化生が全ての投与群の雌雄にみられた。肺では、炎症性細胞浸潤が40 ppm群の雌雄にみられた。なお、病理組織学的検査でみられた所見の程度はすべてが軽度であった。

以上のように、二酸化窒素の4週間吸入暴露の結果、雌雄のマウスの一般状態、体重（雄のみ）、摂餌量、肺重量及び病理組織学的検査結果に影響が認められた。しかし、毒性の程度はいずれも重篤なものではなく、40 ppmの濃度で26週間に亘って動物に暴露しても、毒性兆候は示されるものの死亡を増加させることはないと考えられた。したがって、本試験の投与濃度は4週間の予備試験と同じく、40 ppmを最高濃度とし、以下20 ppm及び10 ppmを設定した。

#### II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の入った液化ボンベより得た被験物質蒸気と清浄空気を被験物質供給装置(柴田科学(株)特注)内で希釈混合し、必要な量の混合ガスを流量計及び流量調節バルブを用いて各吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は二酸化窒素測定装置((株)島津製作所 NOx-O2 測定装置 NOA-7100)で監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように被験物質混合ガスの吸入チャンバーへの供給量を調節した。

#### II-1-7 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付二酸化窒素測定装置により、暴露開始前から暴露終了後まで20分毎に測定した。

濃度測定結果をTABLE Aに示す。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（（平均値 - 設定濃度）／設定濃度×100）が3%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が2%以内であり、チャンバー内濃度は良好に管理された。

### II-2 動物管理

#### II-2-1 群の構成及び各群の使用動物数

投与群3群及び対照群1群の計4群を設け、1群当たり雌雄各25匹の動物を用いた。

各群の使用動物数と動物番号

群名称	雄 使用動物数(動物番号)	雌 使用動物数(動物番号)
対照群	25匹 (1001~1025)	25匹 (2001~2025)
10 ppm群	25匹 (1101~1125)	25匹 (2101~2125)
20 ppm群	25匹 (1201~1225)	25匹 (2201~2225)
40 ppm群	25匹 (1301~1325)	25匹 (2301~2325)

## II-2-2 群分け方法

群分けは、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で、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 9）。

群分けにより除外された動物は、投与開始が確認されるまで飼育し、試験に使用する必要のなくなったことを確認後、本試験系より外し、他の実験に使用した。

## II-2-3 動物の個体識別

動物は、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をすることで、それ以降は、群分け時に耳パンチをすることで個体識別した。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

## II-2-4 動物飼育室、ならびに他試験及び異種動物との区別

動物はバリア区域内の独立した室（検疫 517、518 室、馴化・投与 516 室）に収容し、室の扉に試験番号、試験動物、飼育期間及び遺伝子改変動物飼育中を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

## II-2-5 飼育条件

### (1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（517、518 室）、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（516 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用したケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を < > 内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX 2 に示す。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境には、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： 検 疫 室； $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 517 室： $23.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$  >

$23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 518 室： $22.6 \pm 0.0^{\circ}\text{C}$  >

吸 入 試 験 室； $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < 516 室： $22.1 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  >

吸入チャンバー内； $20 \sim 24^{\circ}\text{C}$

湿度： 検 疫 室； $55 \pm 15\%$  < 517 室： $52 \pm 1\%$  >

$55 \pm 15\%$  < 518 室： $52 \pm 1\%$  >

吸入チャンバー内； $30 \sim 70\%$ （ただし、被験物質の湿度センサーへの付着により、正常な測定ができないため、投与群の湿度は暴露中及び暴露終了後 1 時間まで測定しなかった。）

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： 検 疫 室；15～17 回／時

吸入試験室；7～9回／時  
 吸入チャンバー内；12±1回／時  
 圧力：吸入チャンバー内；0～-15×10Pa  
 ケージへの動物の収容方法：個別飼育  
 ケージの材質・形状・寸法等：
 

- 検疫期間；ステンレス製2連網ケージ（112(W)×212(D)×120(H) mm/匹）
- 馴化期間；ステンレス製6連網ケージ（95(W)×116(D)×120(H) mm/匹）
- 投与期間；ステンレス製5連網ケージ（100(W)×116(D)×120(H) mm/匹）

 飼育機材（ラック、ケージ、餌箱、給水ノズル、作業台車等）の滅菌：オートクレーブ  
 滅菌（約120℃、15分以上）

## (2) 飼料

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)製造のCRF-1固型（30kGy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料）を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、暴露中及び定期解剖前日の夕方からは絶食させた。

試験に使用する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)から分析データを入手し、確認した。

## (3) 飲水

飲水は、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、自動給水ノズルから自由摂取させた。ただし、暴露中は絶水させた。

飲水の水質は、動物試験施設として定期的（年2回）に実施している水道水の検査において、水道法に定められている水質基準に適合していることを確認した。

## II-3 観察・検査項目及び方法

### II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

全動物について、週1回、吸入暴露前の一般状態を詳細に観察した。その他の日は、暴露日は吸入暴露前後に、非暴露日は1日1回、生死及び一般状態を観察した。瀕死状態の動物は、速やかに安楽死させた。

### II-3-2 体重測定

全動物について、投与開始後は週1回投与前に体重測定を行った。また、定期解剖日には絶食後の体重（搬出時体重）を測定した。

死亡動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。



### II-3-3 摂餌量測定

全動物について、投与開始後週 1 回給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

### II-3-4 尿検査

投与期間終期まで生存している採尿可能な動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（ウロラブスティックス、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

### II-3-5 血液学的検査

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、イソフルラン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

### II-3-6 血液生化学的検査

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、イソフルラン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

### II-3-7 病理学的検査

#### (1) 肉眼的観察

全動物について肉眼的に病変の観察を行った。なお、定期解剖動物はイソフルラン麻酔下で採血後、腹大動脈を切断、放血することで安楽死させた。定期解剖は解剖を行う日ごとに、雌雄各群ほぼ同数となるよう動物番号の若い順より割り当てて実施した。

#### (2) 臓器重量

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

測定臓器：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

### (3) 病理組織学的検査

全動物について、下記の器官、組織を切り出し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡により検査した。

皮膚、鼻腔（3箇所を横断）、鼻咽頭、喉頭、気管、肺及び気管支、骨髄（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、陰、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、胸骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

## II-4 数値処理と統計方法

### II-4-1 数値の取扱いと表示

各数値データは、測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下第 2 位まで測定し、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。

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、給餌量及び残餌量を小数点以下第 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。

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 に示した単位と桁数により表示した。

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。

### II-4-2 統計処理

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

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うち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、 $\chi^2$  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  $\chi^2$  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、各群ごとの総担腫瘍臓器数について、Peto 検定（文献 10）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。

各検定は 5%の有意水準で、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。

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示した。

—雄—

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 26 週における生存動物数（生存率）は、対照群：25 匹（100%）、10 ppm 群：25 匹（100%）、20 ppm 群：25 匹（100%）、40 ppm 群：24 匹（96%）であった。

—雌—

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 26 週における生存動物数（生存率）は、対照群：24 匹（96%）、10 ppm 群：24 匹（96%）、20 ppm 群：25 匹（100%）、40 ppm 群：25 匹（100%）であった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

—雌雄—

被験物質投与の影響と思われる所見はみられなかった。

#### Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE D 1~4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

—雄—

40 ppm 群で投与期間を通して、体重増加の抑制がみられた。

最終計測日（26 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 10 ppm 群：99%、20 ppm 群：96%、40 ppm 群：92%であった。

—雌—

投与群と対照群に差はみられなかった。

最終計測日（26 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 10 ppm 群：99%、20 ppm 群：101%、40 ppm 群：100%であった。

### Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1~4 及び FIGURE 5, 6 に示した。

—雄—

40 ppm 群では投与 1 週目に低値、2 週目には高値がみられたが、各群とも投与期間を通しての平均摂餌量に顕著な差はみられなかった。

投与期間を通しての 1 匹当たりの平均摂餌量は、対照群：4.1 g、10 ppm 群：4.1 g、20 ppm 群：4.1 g、40 ppm 群：4.0 g であった。

—雌—

40 ppm 群では投与 1 週目に低値、2 週目には高値がみられたが、各群とも投与期間を通しての平均摂餌量に顕著な差はみられなかった。

投与期間を通しての 1 匹当たりの平均摂餌量は、対照群：3.8 g、10 ppm 群：3.7 g、20 ppm 群：3.8 g、40 ppm 群：3.7 g であった。

### Ⅲ-5 尿検査

尿検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

—雄—

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

—雌—

蛋白の陽性度の増加が 10 ppm 群と 40 ppm 群でみられた。しかし、病理組織学的検査では、それらの群に関連病変はみられなかった。

### Ⅲ-6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

—雌雄—

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

### Ⅲ-7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

—雄—

トリグリセライドの低値が 20 ppm 以上の群でみられた。

—雌—

グルコースの高値が 40 ppm 群でみられた。

### Ⅲ-8 病理学的検査

#### Ⅲ-8-1 肉眼的観察

解剖時の肉眼的観察結果を TABLE I 1, 2 に示す。

—雌雄—

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

#### Ⅲ-8-2 臓器重量

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

—雄—

20 ppm 以上の群で、肺の実重量と体重比の高値が認められた。

その他、40 ppm 群で肝臓の実重量の低値と脳の体重比の高値が認められたが、解剖時体重の低値による影響と判断した。

—雌—

20 ppm 以上の群で、肺の実重量と体重比の高値が認められた。

#### Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

腫瘍性病変は、腫瘍の種類別の発生数を TABLE L 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE M に、坦腫瘍動物数を TABLE N 1, 2 示す。また、転移性病変は TABLE O に、非腫瘍性病変は TABLE P 1, 2 に示す。さらに、病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1~3 に示す。

##### 1) 腫瘍性病変

—雄—

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、対照群 0 匹 (0%)、10 ppm 群 0 匹 (0%)、20 ppm 群 0 匹 (0%)、40 ppm 群 2 匹 (8%) に認められ、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

—雌—

全ての臓器において、被験物質による腫瘍の発生増加は認められなかった。

## 2) 非腫瘍性病変

—雄—

### <鼻腔>

嗅上皮では、エオジン好性変化及び萎縮の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加と程度の増強が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度、40 ppm 群が軽度から中等度であった。

移行上皮では、炎症の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

嗅部では、滲出液の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

### <鼻咽頭>

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

### <肺>

巣状の炎症性細胞浸潤の発生匹数の増加が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度から中等度、40 ppm 群が軽度であった。

### <肝臓>

脂肪変性の発生匹数の減少が 40 ppm 群で認められた。雄では体重増加の抑制及び血液生化学的検査でトリグリセライドの低値も認められていることから、暴露との関連が考えられたが、これらは減少を示す変化であることから、毒性所見とは判断しなかった。

—雌—

### <鼻腔>

嗅上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加と程度の増強が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度、40 ppm 群が軽度から中等度であった。また、萎縮の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加と程度の増強が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度、40 ppm 群が軽度から中等度であった。

移行上皮では、炎症の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

嗅部では滲出液の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

< 鼻咽頭 >

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

< 肺 >

巣状の炎症性細胞浸潤の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

### III-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE Q 1, 2 に示す。

—雌雄—

投与群に特異的な病変あるいは腫瘍による死亡の増加は認められなかった。



#### IV 考察及びまとめ

二酸化窒素のがん原性を検索するために、二酸化窒素を遺伝子改変マウス (p53KO マウス) に 26 週間全身暴露 (経気道投与) して、その生態影響を検索した。

本試験は、投与群 3 群、対照群 1 群の計 4 群 (各群雌雄とも 25 匹) を設け、二酸化窒素の投与 (暴露) 濃度は、0 (対照群)、10, 20 及び 40 ppm とした。投与期間は、1 日 6 時間、1 週 5 日間の全身暴露による経気道投与で 26 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、解剖時の肉眼的観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

##### IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

26 週間の試験の結果、生存率、一般状態に、雌雄ともに暴露の影響はみられなかった。体重は、雄の 40 ppm 群で暴露期間を通して増加抑制がみられた。

摂餌量は、雌雄とも暴露 1 週目に摂餌量の低値がみられ、2 週目には高値がみられたが、各群とも投与期間を通しての平均摂餌量に顕著な差はみられなかった。

##### IV-2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変

雄では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が、対照群、10ppm 群及び 20 ppm 群で 0 匹 (0%) に対し、40 ppm 群で 2 匹 (8%) にみられ、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

雄の細気管支 - 肺胞上皮腺腫の発生は、文献によるヒストリカルコントロールデータ (文献 11) では発生が認められず (0/433 匹、0%)、本試験の 40 ppm 群の発生率 (2/25 匹、8%) はこの値を超えていた。しかしながら、対照群との 2 群間検定 (Fisher 検定) では有意な増加は示されず、細気管支 - 肺胞上皮過形成等の腫瘍に関連する非腫瘍性病変の発生も認められていないことから、がん原性を示唆する証拠 (some evidence of carcinogenic activity) と判断するには不十分と考えられた。従って、細気管支 - 肺胞上皮腺腫の発生は、がん原性を示す不確実な証拠 (equivocal evidence of carcinogenic activity) と判断した。

雌では、全臓器において、暴露に起因して発生増加を示す腫瘍性病変は認められなかった。従って、雌ではがん原性を示す証拠は得られなかった (no evidence of carcinogenic activity) と判断した。

なお、本試験の被験物質のがん原性の評価には、National Toxicology Program の Definition of Carcinogenicity Results (文献 12) を参考にした。また、当センターで p53KO マウスを用いた 26 週間試験の初報告のため、腫瘍の発生率の評価には他施設のヒストリカルコントロー

ルデータ（文献 11）を参考にした。

#### IV-3 その他の影響

雌雄の鼻腔では、嗅上皮のエオジン好性変化及び呼吸上皮のエオジン好性変化が濃度依存的な増加を示し、移行上皮の炎症、嗅上皮の萎縮及び嗅部の滲出液等の増加が暴露群に認められた。鼻腔に対する影響は、雌雄共に 20 ppm 以上の群に認められた。

雌雄の鼻咽頭では、呼吸上皮のエオジン好性変化の増加が認められた。鼻咽頭に対する影響は、雌雄共に 40 ppm 群に認められた。

雌雄の肺では、巣状の炎症性細胞浸潤の増加が認められ、肺重量も増加した。肺に対する影響は、雌雄共に 20 ppm 以上の群に認められた。

## V 結論

遺伝子改変マウス (p53KO マウス) を用いて、二酸化窒素の 26 週間の吸入による中期がん原性試験を行った結果、二酸化窒素の発がん性について、

1. 雄 p53KO マウスに対するがん原性を示す不確実な証拠が得られた (equivocal evidence of carcinogenic activity) と結論された。
2. 雌 p53KO マウスに対するがん原性を示す証拠は得られなかった (no evidence of carcinogenic activity) と結論された。

## VI 文献

- 1) International Programme on Chemical Safety. 2013. ICSC: 0930. NITROGEN DIOXIDE. International Chemical Safety Cards . Available: <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0930.htm> [accessed 2019/07/10]
- 2) 経済産業省、一般化学物質等の製造・輸入数量（平成 29 年度実績）、Available: [https://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/files/information/volume/general/volume\\_general\\_h29.pdf](https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/information/volume/general/volume_general_h29.pdf) [accessed 2019/7/10]
- 3) 独立行政法人製品評価技術基盤機構、NITE 化学物質総合情報提供システム (NITE-CHRIP). Available : [https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip\\_search/systemTop](https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip_search/systemTop) [accessed 2019/7/10]
- 4) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2012. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices. Nitrogen dioxide.
- 5) McLafferty F.W, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
- 6) Robinson DE, MacDonald JS. 2001. Background and framework for ILSI's collaborative evaluation program on alternative models for carcinogenicity assessment. Toxicol Pathol 29 (Suppl.), 13-19.
- 7) 「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」 2017. 平成 28 年度第 3 回発がん性評価グループ（平成 29 年 3 月 1 日）資料.
- 8) Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies".Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- 9) 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適正層別方式の確立. 薬理と治療 14: 7285-7302.

- 10) 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
- 11) Storer RD, French JE, Haseman J, Hajian G, LeGrand EK, Long GG, Mixson LA, Ochoa R, Sagartz JE, Soper KA. 2001. P53<sup>+/-</sup> hemizygous knockout mouse: overview of available data. Toxicol Pathol.;29 Suppl:30-50. Review.
- 12) National Toxicology Program (NTP). Definition of Carcinogenicity Results, Available: <https://ntp.niehs.nih.gov/go/baresults>, [accessed 2019/7/16].

VII 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。

二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験報告書

試験番号 : 0904

# TABLES

## TABLES

TABLE A	CONCENTRATIONS OF NITROGEN DIOXIDE IN THE INHALATION CHAMBER OF p53 KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY
TABLE B 1	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: MALE
TABLE B 2	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: FEMALE
TABLE C 1	CLINICAL OBSERVATION: MALE
TABLE C 2	CLINICAL OBSERVATION: FEMALE
TABLE D 1	BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : MALE
TABLE D 2	BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : FEMALE
TABLE D 3	BODY WEIGHT CHANGES: MALE
TABLE D 4	BODY WEIGHT CHANGES: FEMALE
TABLE E 1	FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: MALE
TABLE E 2	FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: FEMALE
TABLE E 3	FOOD CONSUMPTION CHANGES: MALE
TABLE E 4	FOOD CONSUMPTION CHANGES: FEMALE
TABLE F 1	URINALYSIS: MALE
TABLE F 2	URINALYSIS: FEMALE
TABLE G 1	HEMATOLOGY: MALE
TABLE G 2	HEMATOLOGY: FEMALE



**TABLES (CONTINUED)**

TABLE	H 1	BIOCHEMISTRY: MALE
TABLE	H 2	BIOCHEMISTRY: FEMALE
TABLE	I 1	GROSS FINDINGS: MALE
TABLE	I 2	GROSS FINDINGS: FEMALE
TABLE	J 1	ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE: MALE
TABLE	J 2	ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE: FEMALE
TABLE	K 1	ORGAN WEIGHT, RELATIVE: MALE
TABLE	K 2	ORGAN WEIGHT, RELATIVE: FEMALE
TABLE	L 1	HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: NEOPLASTIC LESIONS: MALE
TABLE	L 2	HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: NEOPLASTIC LESIONS: FEMALE
TABLE	M	NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS: MALE
TABLE	N 1	NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED: MALE
TABLE	N 2	NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED: FEMALE
TABLE	O	HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: METASTASIS OF TUMOR: FEMALE

## TABLES (CONTINUED)

TABLE P 1 HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: NON-NEOPLASTIC LESIONS  
: MALE

TABLE P 2 HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: NON-NEOPLASTIC LESIONS  
: FEMALE

TABLE Q 1 CAUSE OF DEATH: MALE

TABLE Q 2 CAUSE OF DEATH: FEMALE

TABLE A

CONCENTRATIONS OF NITROGEN DIOXIDE  
IN THE INHALATION CHAMBER  
OF p53KO MICE IN THE 26-WEEK  
CARCINOGENICITY STUDY

CONCENTRATIONS OF NITROGEN DIOXIDE IN THE INHALATION CHAMBER  
OF p53KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY

Group Name	Concentration(ppm) Mean $\pm$ S.D.
Control	0.0 $\pm$ 0.0
10 ppm	10.3 $\pm$ 0.2
20 ppm	20.5 $\pm$ 0.3
40 ppm	40.6 $\pm$ 0.5

TABLE B1

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Weeks)													
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Control	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
10 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
20 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
40 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0
		Number of survival/ Number of effective animals Survival rate(%)													

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Weeks)												
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
Control	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
10 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
20 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
40 ppm	25	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0
		Number of survival/ Number of effective animals Survival rate(%)												

**TABLE B2**

**SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : FEMALE**



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Weeks)													
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Control	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
10 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
20 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
40 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0
		Number of survival/ Number of effective animals Survival rate(%)													

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Weeks)													
		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
Control	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	
10 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	24/25 96.0	
20 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	
40 ppm	25	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	25/25 100.0	
		Number of survival/ Number of effective animals Survival rate(%)													

TABLE C1

CLINICAL OBSERVATION : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : MALE

PAGE : 1

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		1-7	2-7	3-7	4-7	5-7	6-7	7-7	8-7	9-7	10-7	11-7	12-7	13-7	14-7
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
MORIBUND SACRIFICE	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
LOCOMOTOR MOVEMENT DECR	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
ROUGH FUR	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ABNORMAL GROWTH OF TEETH	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
MALOCCLUSION	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
IRREGULAR BREATHING	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	10 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	20 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	40 ppm	25	25	25	25	25	24	24	24	24	24	24	24	24	24

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : MALE

PAGE : 2

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day											
		15-7	16-7	17-7	18-7	19-7	20-7	21-7	22-7	23-7	24-7	25-7	26-7
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
MORIBUND SACRIFICE	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LOCOMOTOR MOVEMENT DECR	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ROUGH FUR	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ABNORMAL GROWTH OF TEETH	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MALOCCLUSION	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IRREGULAR BREATHING	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	10 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	20 ppm	25	25	25	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	40 ppm	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24

**TABLE C2**

**CLINICAL OBSERVATION : FEMALE**

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : FEMALE

PAGE : 3

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		1-7	2-7	3-7	4-7	5-7	6-7	7-7	8-7	9-7	10-7	11-7	12-7	13-7	14-7
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
DEATH	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MORIBUND SACRIFICE	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
INTERNAL MASS	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EROSION	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IRREGULAR BREATHING	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	10 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	20 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	40 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1 26

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : FEMALE

PAGE : 4

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day											
		15-7	16-7	17-7	18-7	19-7	20-7	21-7	22-7	23-7	24-7	25-7	26-7
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
DEATH	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MORIBUND SACRIFICE	Control	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
INTERNAL MASS	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EROSION	Control	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
	10 ppm	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
IRREGULAR BREATHING	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 ppm	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	20 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	24	24	24	24	24	24	23	23	23	23	23	23
	10 ppm	25	25	25	25	23	23	23	23	23	23	23	23
	20 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	40 ppm	25	25	25	25	25	25	25	25	25	24	24	24



TABLE D1

BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL

NUMBERS : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

MEAN BODY WEIGHTS AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		10 ppm		20 ppm		40 ppm				
	Av. Wt.	No. of Surviv. <25>	Av. Wt.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. Wt.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. Wt.	% of cont. <25>	No. of Surviv.
0-0	24.9 (25)	25/25	24.9 (25)	100	25/25	24.9 (25)	100	25/25	24.9 (25)	100	25/25
1-7	26.0 (25)	25/25	25.7 (25)	99	25/25	25.7 (25)	99	25/25	23.8 (25)	92	25/25
2-7	27.0 (25)	25/25	26.6 (25)	99	25/25	26.6 (25)	99	25/25	25.5 (25)	94	25/25
3-7	28.0 (25)	25/25	27.5 (25)	98	25/25	27.8 (25)	99	25/25	26.8 (25)	96	25/25
4-7	28.9 (25)	25/25	28.2 (25)	98	25/25	28.6 (25)	99	25/25	27.3 (25)	94	25/25
5-7	29.2 (25)	25/25	28.7 (25)	98	25/25	29.1 (25)	100	25/25	27.7 (25)	95	25/25
6-7	29.9 (25)	25/25	29.4 (25)	98	25/25	29.9 (25)	100	25/25	28.8 (25)	96	25/25
7-7	30.3 (25)	25/25	29.7 (25)	98	25/25	30.3 (25)	100	25/25	29.0 (25)	96	25/25
8-7	30.8 (25)	25/25	30.1 (25)	98	25/25	30.7 (25)	100	25/25	29.3 (25)	95	25/25
9-7	31.2 (25)	25/25	30.7 (25)	98	25/25	31.2 (25)	100	25/25	30.0 (24)	96	24/25
10-7	31.7 (25)	25/25	31.0 (25)	98	25/25	31.5 (25)	99	25/25	30.4 (24)	96	24/25
11-7	32.1 (25)	25/25	31.4 (25)	98	25/25	31.9 (25)	99	25/25	30.4 (24)	95	24/25
12-7	32.4 (25)	25/25	31.8 (25)	98	25/25	32.3 (25)	100	25/25	30.9 (24)	95	24/25
13-7	33.0 (25)	25/25	32.4 (25)	98	25/25	32.8 (25)	99	25/25	31.3 (24)	95	24/25
14-7	33.3 (25)	25/25	32.7 (25)	98	25/25	32.8 (25)	98	25/25	31.6 (24)	95	24/25
15-7	33.6 (25)	25/25	32.7 (25)	97	25/25	33.0 (25)	98	25/25	32.1 (24)	96	24/25
16-7	33.9 (25)	25/25	33.1 (25)	98	25/25	33.2 (25)	98	25/25	31.9 (24)	94	24/25
17-7	34.2 (25)	25/25	33.7 (25)	99	25/25	33.8 (25)	99	25/25	32.2 (24)	94	24/25
18-7	35.0 (25)	25/25	34.0 (25)	97	25/25	33.8 (25)	97	25/25	32.7 (24)	93	24/25
19-7	35.2 (25)	25/25	34.3 (25)	97	25/25	34.4 (25)	98	25/25	32.9 (24)	93	24/25
20-7	35.7 (25)	25/25	35.1 (25)	98	25/25	35.1 (25)	98	25/25	33.2 (24)	93	24/25
21-7	36.1 (25)	25/25	35.5 (25)	98	25/25	35.2 (25)	98	25/25	33.3 (24)	92	24/25
22-7	36.5 (25)	25/25	36.2 (25)	99	25/25	35.8 (25)	98	25/25	33.7 (24)	92	24/25
23-7	36.9 (25)	25/25	36.4 (25)	99	25/25	36.2 (25)	98	25/25	34.0 (24)	92	24/25
24-7	37.4 (25)	25/25	36.6 (25)	98	25/25	36.4 (25)	97	25/25	34.5 (24)	92	24/25
25-7	37.8 (25)	25/25	36.8 (25)	97	25/25	36.3 (25)	96	25/25	34.4 (24)	91	24/25
26-7	38.0 (25)	25/25	37.6 (25)	99	25/25	36.6 (25)	96	25/25	34.8 (24)	92	24/25

< >:No. of effective animals, ( ):No. of measured animals Av. Wt. : g

TABLE D2

BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL

NUMBERS : FEMALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

MEAN BODY WEIGHTS AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		10 ppm		20 ppm		40 ppm				
	Av. Wt.	No. of Surviv. <25>	Av. Wt.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. Wt.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. Wt.	% of cont. <25>	No. of Surviv.
0-0	20.6 (25)	25/25	20.6 (25)	100	25/25	20.6 (25)	100	25/25	20.6 (25)	100	25/25
1-7	21.8 (25)	25/25	21.5 (25)	99	25/25	21.6 (25)	99	25/25	20.9 (25)	96	25/25
2-7	21.9 (25)	25/25	22.2 (25)	101	25/25	22.1 (25)	101	25/25	21.7 (25)	99	25/25
3-7	22.9 (25)	25/25	22.8 (25)	100	25/25	23.1 (25)	101	25/25	22.3 (25)	97	25/25
4-7	23.4 (25)	25/25	23.3 (25)	100	25/25	23.8 (25)	102	25/25	23.2 (25)	99	25/25
5-7	23.8 (25)	25/25	23.8 (25)	100	25/25	23.8 (25)	100	25/25	23.7 (25)	100	25/25
6-7	24.4 (25)	25/25	23.8 (25)	98	25/25	24.4 (25)	100	25/25	24.0 (25)	98	25/25
7-7	24.3 (25)	25/25	24.2 (25)	100	25/25	24.7 (25)	102	25/25	24.3 (25)	100	25/25
8-7	24.7 (25)	25/25	24.7 (25)	100	25/25	24.7 (25)	100	25/25	24.7 (25)	100	25/25
9-7	24.7 (25)	25/25	24.8 (25)	100	25/25	25.3 (25)	102	25/25	25.2 (25)	102	25/25
10-7	24.7 (25)	25/25	25.0 (25)	101	25/25	25.1 (25)	102	25/25	25.1 (25)	102	25/25
11-7	25.4 (25)	25/25	25.0 (25)	98	25/25	25.3 (25)	100	25/25	25.1 (25)	99	25/25
12-7	25.2 (25)	25/25	25.3 (25)	100	25/25	25.5 (25)	101	25/25	25.0 (25)	99	25/25
13-7	25.7 (25)	25/25	25.5 (25)	99	25/25	26.0 (25)	101	25/25	25.8 (25)	100	25/25
14-7	26.1 (25)	25/25	26.0 (25)	100	25/25	25.8 (25)	99	25/25	25.8 (25)	99	25/25
15-7	26.3 (25)	25/25	26.1 (25)	99	25/25	26.3 (25)	100	25/25	26.4 (25)	100	25/25
16-7	26.1 (25)	25/25	25.9 (25)	99	25/25	26.3 (25)	101	25/25	26.0 (25)	100	25/25
17-7	26.7 (25)	25/25	26.2 (25)	98	25/25	26.6 (25)	100	25/25	26.7 (25)	100	25/25
18-7	26.9 (25)	25/25	26.9 (25)	100	25/25	26.7 (25)	99	25/25	26.8 (25)	100	25/25
19-7	27.0 (25)	25/25	26.6 (25)	99	25/25	27.1 (25)	100	25/25	27.2 (25)	101	25/25
20-7	26.8 (25)	25/25	26.5 (25)	99	25/25	27.2 (25)	101	25/25	26.8 (25)	100	25/25
21-7	27.2 (25)	25/25	26.5 (24)	97	24/25	27.4 (25)	101	25/25	26.9 (25)	99	25/25
22-7	27.3 (24)	24/25	26.9 (24)	99	24/25	27.5 (25)	101	25/25	27.3 (25)	100	25/25
23-7	27.5 (24)	24/25	27.3 (24)	99	24/25	27.7 (25)	101	25/25	27.4 (25)	100	25/25
24-7	28.1 (24)	24/25	27.4 (24)	98	24/25	28.0 (25)	100	25/25	27.6 (25)	98	25/25
25-7	28.1 (24)	24/25	27.6 (24)	98	24/25	28.4 (25)	101	25/25	27.8 (25)	99	25/25
26-7	28.0 (24)	24/25	27.8 (24)	99	24/25	28.3 (25)	101	25/25	28.1 (25)	100	25/25

< >:No. of effective animals, ( ):No. of measured animals Av. Wt. : g

TABLE D3

BODY WEIGHT CHANGES : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day							
	0-0	1-7	2-7	3-7	4-7	5-7	6-7	
Control	24.9± 1.2	26.0± 1.2	27.0± 1.5	28.0± 1.5	28.9± 1.5	29.2± 1.4	29.9± 1.6	
10 ppm	24.9± 1.2	25.7± 1.1	26.6± 1.1	27.5± 1.2	28.2± 1.3	28.7± 1.3	29.4± 1.4	
20 ppm	24.9± 1.2	25.7± 1.3	26.6± 1.2	27.8± 1.2	28.6± 1.4	29.1± 1.4	29.9± 1.3	
40 ppm	24.9± 1.2	23.8± 1.7**	25.5± 1.9**	26.8± 2.2	27.3± 2.2**	27.7± 2.4	28.8± 2.9	

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$  Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration		week-day		9-7	10-7	11-7	12-7	13-7
	7-7	8-7	7-7	8-7					
Control	30.3± 1.5	30.8± 1.7	31.2± 1.7	31.7± 1.7	32.1± 1.8	32.4± 1.9	33.0± 2.1		
10 ppm	29.7± 1.3	30.1± 1.4	30.7± 1.4	31.0± 1.7	31.4± 1.7	31.8± 1.7	32.4± 1.8		
20 ppm	30.3± 1.5	30.7± 1.3	31.2± 1.2	31.5± 1.6	31.9± 1.6	32.3± 1.7	32.8± 1.7		
40 ppm	29.0± 3.0	29.3± 3.3	30.0± 1.8*	30.4± 2.1	30.4± 2.1**	30.9± 2.2*	31.3± 2.4*		

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day							
	14-7	15-7	16-7	17-7	18-7	19-7	20-7	
Control	33.3± 2.2	33.6± 2.0	33.9± 2.4	34.2± 2.5	35.0± 2.6	35.2± 2.5	35.7± 2.8	
10 ppm	32.7± 1.8	32.7± 2.1	33.1± 2.3	33.7± 2.4	34.0± 2.2	34.3± 2.4	35.1± 2.7	
20 ppm	32.8± 2.0	33.0± 1.7	33.2± 2.0	33.8± 2.3	33.8± 3.2	34.4± 3.1	35.1± 2.6	
40 ppm	31.6± 2.4*	32.1± 2.6	31.9± 2.6**	32.2± 2.9*	32.7± 2.7*	32.9± 2.8*	33.2± 2.8**	

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration		week-day		23-7		24-7		25-7		26-7	
	21-7		22-7									
Control	36.1±	2.8	36.5±	3.1	36.9±	3.1	37.4±	3.3	37.8±	3.4	38.0±	3.4
10 ppm	35.5±	2.9	36.2±	3.2	36.4±	3.1	36.6±	3.0	36.8±	3.1	37.6±	3.3
20 ppm	35.2±	2.8	35.8±	3.1	36.2±	3.1	36.4±	3.2	36.3±	3.6	36.6±	4.0
40 ppm	33.3±	2.8**	33.7±	3.4**	34.0±	3.3**	34.5±	3.5**	34.4±	3.5**	34.8±	3.5**

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$     \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

TABLE D4

BODY WEIGHT CHANGES : FEMALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration		week-day											
	0-0		1-7	2-7	3-7	4-7	5-7	6-7						
Control	20.6±	1.7	21.8±	1.9	21.9±	1.4	22.9±	1.6	23.4±	1.4	23.8±	1.4	24.4±	1.5
10 ppm	20.6±	1.7	21.5±	1.7	22.2±	1.8	22.8±	2.0	23.3±	1.4	23.8±	1.6	23.8±	1.5
20 ppm	20.6±	1.6	21.6±	1.6	22.1±	1.4	23.1±	1.5	23.8±	1.5	23.8±	1.5	24.4±	1.2
40 ppm	20.6±	1.6	20.9±	1.6	21.7±	1.8	22.3±	1.8	23.2±	1.3	23.7±	1.4	24.0±	1.5

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration		week-day		9-7	10-7	11-7	12-7	13-7
	7-7	8-7	8-7	9-7					
Control	24.3± 1.4	24.7± 1.5	24.7± 1.5	24.7± 1.6	25.4± 1.7	25.2± 1.6	25.7± 1.7		
10 ppm	24.2± 1.6	24.7± 1.5	24.8± 1.5	25.0± 1.8	25.0± 1.7	25.3± 1.7	25.5± 1.4		
20 ppm	24.7± 1.5	24.7± 1.3	25.3± 1.6	25.1± 1.3	25.3± 1.3	25.5± 1.6	26.0± 1.3		
40 ppm	24.3± 1.7	24.7± 1.2	25.2± 1.6	25.1± 1.6	25.1± 1.4	25.0± 1.5	25.8± 1.5		

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day							
	14-7	15-7	16-7	17-7	18-7	19-7	20-7	
Control	26.1± 2.0	26.3± 1.9	26.1± 1.7	26.7± 2.0	26.9± 2.0	27.0± 1.9	26.8± 2.0	
10 ppm	26.0± 1.9	26.1± 1.7	25.9± 1.8	26.2± 2.0	26.9± 1.8	26.6± 1.7	26.5± 1.9	
20 ppm	25.8± 1.4	26.3± 1.7	26.3± 1.9	26.6± 1.5	26.7± 1.4	27.1± 1.6	27.2± 1.7	
40 ppm	25.8± 1.6	26.4± 1.6	26.0± 1.5	26.7± 1.6	26.8± 1.8	27.2± 1.7	26.8± 1.7	

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration		week-day		23-7	24-7	25-7	26-7
	21-7	22-7	21-7	22-7				
Control	27.2± 2.1	27.3± 2.0	27.5± 2.0	28.1± 2.0	28.1± 2.4	28.0± 2.3		
10 ppm	26.5± 2.2	26.9± 2.0	27.3± 1.9	27.4± 2.1	27.6± 2.1	27.8± 2.0		
20 ppm	27.4± 1.5	27.5± 1.8	27.7± 1.6	28.0± 1.9	28.4± 2.1	28.3± 1.9		
40 ppm	26.9± 1.7	27.3± 2.2	27.4± 2.3	27.6± 2.3	27.8± 2.2	28.1± 2.2		

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

TABLE E1

FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL  
NUMBERS : MALE

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
UNIT : g  
REPORT TYPE : A1 26  
SEX : MALE

MEAN FOOD CONSUMPTION (FC) AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		10 ppm			20 ppm			40 ppm		
	Av. FC.	No. of Surviv. <25>	Av. FC.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <25>	No. of Surviv.
1-7	3.8 (25)	25/25	3.9 (25)	103	25/25	3.7 (25)	97	25/25	2.6 (25)	68	25/25
2-7	3.6 (25)	25/25	3.7 (25)	103	25/25	3.7 (25)	103	25/25	4.1 (25)	114	25/25
3-7	3.8 (25)	25/25	3.8 (25)	100	25/25	3.9 (25)	103	25/25	3.8 (25)	100	25/25
4-7	3.9 (25)	25/25	3.9 (25)	100	25/25	4.0 (25)	103	25/25	3.9 (25)	100	25/25
5-7	3.8 (25)	25/25	3.9 (25)	103	25/25	4.0 (25)	105	25/25	3.9 (25)	103	25/25
6-7	3.9 (25)	25/25	4.0 (25)	103	25/25	4.1 (25)	105	25/25	3.9 (25)	100	25/25
7-7	3.9 (25)	25/25	3.9 (25)	100	25/25	4.0 (25)	103	25/25	3.7 (25)	95	25/25
8-7	3.9 (25)	25/25	4.0 (25)	103	25/25	4.0 (25)	103	25/25	3.9 (25)	100	25/25
9-7	4.0 (25)	25/25	4.0 (25)	100	25/25	4.0 (25)	100	25/25	3.8 (25)	95	24/25
10-7	4.0 (25)	25/25	3.9 (25)	98	25/25	4.1 (25)	103	25/25	4.0 (24)	100	24/25
11-7	4.0 (25)	25/25	4.1 (25)	103	25/25	4.1 (25)	103	25/25	3.9 (24)	98	24/25
12-7	4.0 (25)	25/25	4.1 (25)	103	25/25	4.2 (25)	105	25/25	4.0 (24)	100	24/25
13-7	4.0 (25)	25/25	4.0 (25)	100	25/25	4.0 (25)	100	25/25	3.9 (24)	98	24/25
14-7	4.1 (25)	25/25	4.1 (25)	100	25/25	4.1 (25)	100	25/25	4.0 (24)	98	24/25
15-7	4.0 (25)	25/25	4.0 (25)	100	25/25	4.1 (25)	103	25/25	4.0 (24)	100	24/25
16-7	4.1 (25)	25/25	4.1 (25)	100	25/25	4.2 (25)	102	25/25	4.0 (24)	98	24/25
17-7	4.1 (25)	25/25	4.1 (25)	100	25/25	4.1 (25)	100	25/25	3.9 (24)	95	24/25
18-7	4.1 (25)	25/25	4.1 (25)	100	25/25	4.1 (25)	100	25/25	4.0 (24)	98	24/25
19-7	4.1 (25)	25/25	4.1 (25)	100	25/25	4.2 (25)	102	25/25	4.0 (24)	98	24/25
20-7	4.3 (25)	25/25	4.3 (25)	100	25/25	4.3 (25)	100	25/25	4.2 (24)	98	24/25
21-7	4.4 (25)	25/25	4.3 (25)	98	25/25	4.3 (25)	98	25/25	4.0 (24)	91	24/25
22-7	4.4 (25)	25/25	4.4 (25)	100	25/25	4.4 (25)	100	25/25	4.2 (24)	95	24/25
23-7	4.3 (25)	25/25	4.3 (25)	100	25/25	4.4 (25)	102	25/25	4.2 (24)	98	24/25
24-7	4.4 (25)	25/25	4.4 (25)	100	25/25	4.5 (25)	102	25/25	4.3 (24)	98	24/25
25-7	4.4 (25)	25/25	4.4 (25)	100	25/25	4.3 (25)	98	25/25	4.2 (24)	95	24/25
26-7	4.4 (25)	25/25	4.5 (25)	102	25/25	4.4 (25)	100	25/25	4.4 (24)	100	24/25

< >:No. of effective animals, ( ) :No. of measured animals Av. FC. : g



TABLE E2

FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL  
NUMBERS : FEMALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

MEAN FOOD CONSUMPTION (FC) AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		10 ppm			20 ppm			40 ppm		
	Av. FC.	No. of Surviv. <25>	Av. FC.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <25>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <25>	No. of Surviv.
1-7	3.6 (25)	25/25	3.5 (25)	97	25/25	3.6 (25)	100	25/25	2.8 (25)	78	25/25
2-7	3.2 (25)	25/25	3.1 (25)	97	25/25	3.1 (25)	97	25/25	3.6 (25)	113	25/25
3-7	3.4 (25)	25/25	3.3 (25)	97	25/25	3.4 (25)	100	25/25	3.4 (25)	100	25/25
4-7	3.5 (25)	25/25	3.4 (25)	97	25/25	3.5 (25)	100	25/25	3.5 (25)	100	25/25
5-7	3.6 (25)	25/25	3.7 (25)	103	25/25	3.6 (25)	100	25/25	3.6 (25)	100	25/25
6-7	3.8 (25)	25/25	3.5 (25)	92	25/25	3.7 (25)	97	25/25	3.7 (25)	97	25/25
7-7	3.7 (25)	25/25	3.7 (25)	100	25/25	3.7 (25)	100	25/25	3.7 (25)	100	25/25
8-7	3.7 (25)	25/25	3.7 (25)	100	25/25	3.6 (25)	97	25/25	3.7 (25)	100	25/25
9-7	3.8 (25)	25/25	3.7 (25)	97	25/25	3.8 (25)	100	25/25	3.8 (25)	100	25/25
10-7	3.6 (25)	25/25	3.6 (25)	100	25/25	3.6 (25)	100	25/25	3.6 (25)	100	25/25
11-7	3.9 (25)	25/25	3.7 (25)	95	25/25	3.7 (25)	95	25/25	3.6 (25)	92	25/25
12-7	3.7 (25)	25/25	3.8 (25)	103	25/25	3.7 (25)	100	25/25	3.6 (25)	97	25/25
13-7	3.7 (25)	25/25	3.7 (25)	100	25/25	3.7 (25)	100	25/25	3.6 (25)	97	25/25
14-7	3.8 (25)	25/25	3.8 (25)	100	25/25	3.7 (25)	97	25/25	3.7 (25)	97	25/25
15-7	3.9 (25)	25/25	3.7 (25)	95	25/25	3.8 (25)	97	25/25	3.8 (25)	97	25/25
16-7	3.7 (25)	25/25	3.7 (25)	100	25/25	3.8 (25)	103	25/25	3.7 (25)	100	25/25
17-7	3.9 (25)	25/25	3.8 (25)	97	25/25	3.8 (25)	97	25/25	3.8 (25)	97	25/25
18-7	3.8 (25)	25/25	3.8 (25)	100	25/25	3.8 (25)	100	25/25	3.7 (25)	97	25/25
19-7	3.8 (25)	25/25	3.8 (25)	100	25/25	3.9 (25)	103	25/25	3.8 (25)	100	25/25
20-7	3.9 (25)	25/25	4.0 (25)	103	25/25	4.0 (25)	103	25/25	3.8 (25)	97	25/25
21-7	4.1 (25)	25/25	4.0 (25)	98	24/25	4.0 (25)	98	25/25	3.8 (25)	93	25/25
22-7	4.0 (25)	24/25	4.1 (24)	103	24/25	4.1 (25)	103	25/25	4.0 (25)	100	25/25
23-7	4.0 (24)	24/25	4.1 (24)	103	24/25	4.1 (25)	103	25/25	3.8 (25)	95	25/25
24-7	4.1 (24)	24/25	4.1 (24)	100	24/25	4.2 (25)	102	25/25	4.0 (25)	98	25/25
25-7	4.1 (24)	24/25	4.0 (24)	98	24/25	4.0 (25)	98	25/25	4.1 (25)	100	25/25
26-7	4.0 (24)	24/25	4.1 (24)	103	24/25	4.2 (25)	105	25/25	4.2 (25)	105	25/25

< >:No. of effective animals, ( ):No. of measured animals Av. FC. : g

TABLE E3

FOOD CONSUMPTION CHANGES : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)						
	1-7 (7)	2-7 (7)	3-7 (7)	4-7 (7)	5-7 (7)	6-7 (7)	7-7 (7)
Control	3.8± 0.2	3.6± 0.3	3.8± 0.3	3.9± 0.3	3.8± 0.2	3.9± 0.3	3.9± 0.2
10 ppm	3.9± 0.3	3.7± 0.3	3.8± 0.3	3.9± 0.3	3.9± 0.2	4.0± 0.3	3.9± 0.2
20 ppm	3.7± 0.3	3.7± 0.3	3.9± 0.3	4.0± 0.3	4.0± 0.3	4.1± 0.3	4.0± 0.3
40 ppm	2.6± 0.5**	4.1± 0.5**	3.8± 0.4	3.9± 0.4	3.9± 0.4	3.9± 0.6	3.7± 0.5

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)						
	8-7(7)	9-7(7)	10-7(7)	11-7(7)	12-7(7)	13-7(7)	14-7(7)
Control	3.9± 0.3	4.0± 0.3	4.0± 0.3	4.0± 0.2	4.0± 0.2	4.0± 0.2	4.1± 0.3
10 ppm	4.0± 0.3	4.0± 0.3	3.9± 0.3	4.1± 0.3	4.1± 0.3	4.0± 0.3	4.1± 0.3
20 ppm	4.0± 0.3	4.0± 0.2	4.1± 0.3	4.1± 0.3	4.2± 0.3	4.0± 0.3	4.1± 0.3
40 ppm	3.9± 0.6	3.8± 0.6	4.0± 0.3	3.9± 0.3	4.0± 0.4	3.9± 0.3	4.0± 0.3

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)						
	15-7(7)	16-7(7)	17-7(7)	18-7(7)	19-7(7)	20-7(7)	21-7(7)
Control	4.0± 0.3	4.1± 0.3	4.1± 0.2	4.1± 0.3	4.1± 0.3	4.3± 0.3	4.4± 0.3
10 ppm	4.0± 0.3	4.1± 0.3	4.1± 0.3	4.1± 0.3	4.1± 0.4	4.3± 0.4	4.3± 0.4
20 ppm	4.1± 0.3	4.2± 0.3	4.1± 0.3	4.1± 0.6	4.2± 0.3	4.3± 0.3	4.3± 0.3
40 ppm	4.0± 0.4	4.0± 0.3	3.9± 0.4	4.0± 0.3	4.0± 0.3	4.2± 0.4	4.0± 0.4**

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : MALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)				
	22-7 (7)	23-7 (7)	24-7 (7)	25-7 (7)	26-7 (7)
Control	4.4± 0.3	4.3± 0.3	4.4± 0.4	4.4± 0.3	4.4± 0.3
10 ppm	4.4± 0.4	4.3± 0.4	4.4± 0.4	4.4± 0.4	4.5± 0.4
20 ppm	4.4± 0.4	4.4± 0.4	4.5± 0.4	4.3± 0.5	4.4± 0.6
40 ppm	4.2± 0.4	4.2± 0.3	4.3± 0.4	4.2± 0.4	4.4± 0.4

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

**TABLE E4**

**FOOD CONSUMPTION CHANGES : FEMALE**



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)						
	1-7 (7)	2-7 (7)	3-7 (7)	4-7 (7)	5-7 (7)	6-7 (7)	7-7 (7)
Control	3.6± 0.3	3.2± 0.3	3.4± 0.4	3.5± 0.3	3.6± 0.3	3.8± 0.2	3.7± 0.3
10 ppm	3.5± 0.3	3.1± 0.4	3.3± 0.4	3.4± 0.4	3.7± 0.3	3.5± 0.4	3.7± 0.2
20 ppm	3.6± 0.4	3.1± 0.3	3.4± 0.3	3.5± 0.4	3.6± 0.4	3.7± 0.4	3.7± 0.3
40 ppm	2.8± 0.4**	3.6± 0.4**	3.4± 0.3	3.5± 0.3	3.6± 0.3	3.7± 0.3	3.7± 0.3

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)						
	8-7(7)	9-7(7)	10-7(7)	11-7(7)	12-7(7)	13-7(7)	14-7(7)
Control	3.7± 0.3	3.8± 0.2	3.6± 0.2	3.9± 0.3	3.7± 0.3	3.7± 0.4	3.8± 0.5
10 ppm	3.7± 0.3	3.7± 0.2	3.6± 0.3	3.7± 0.2**	3.8± 0.3	3.7± 0.3	3.8± 0.4
20 ppm	3.6± 0.2	3.8± 0.3	3.6± 0.2	3.7± 0.2*	3.7± 0.2	3.7± 0.2	3.7± 0.3
40 ppm	3.7± 0.3	3.8± 0.2	3.6± 0.2	3.6± 0.2**	3.6± 0.2	3.6± 0.2	3.7± 0.2

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)						
	15-7(7)	16-7(7)	17-7(7)	18-7(7)	19-7(7)	20-7(7)	21-7(7)
Control	3.9± 0.5	3.7± 0.5	3.9± 0.4	3.8± 0.5	3.8± 0.4	3.9± 0.7	4.1± 0.6
10 ppm	3.7± 0.3	3.7± 0.3	3.8± 0.3	3.8± 0.3	3.8± 0.4	4.0± 0.6	4.0± 0.6
20 ppm	3.8± 0.3	3.8± 0.3	3.8± 0.3	3.8± 0.2	3.9± 0.3	4.0± 0.3*	4.0± 0.3
40 ppm	3.8± 0.2	3.7± 0.3	3.8± 0.3	3.7± 0.2	3.8± 0.2	3.8± 0.2	3.8± 0.3

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 26  
 SEX : FEMALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day(effective)				
	22-7(7)	23-7(7)	24-7(7)	25-7(7)	26-7(7)
Control	4.0± 0.8	4.0± 0.6	4.1± 0.6	4.1± 0.7	4.0± 0.5
10 ppm	4.1± 0.5	4.1± 0.5	4.1± 0.6	4.0± 0.4	4.1± 0.5
20 ppm	4.1± 0.3	4.1± 0.3*	4.2± 0.3	4.0± 0.3	4.2± 0.3
40 ppm	4.0± 0.3	3.8± 0.3	4.0± 0.5	4.1± 0.6	4.2± 0.7

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

TABLE F1

URINALYSIS : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE

URINALYSIS

REPORT TYPE : A1

Group Name	NO. of Animals	pH_____							CHI	Protein_____					CHI	Glucose_____					CHI	Ketone body					CHI	Occult blood				CHI			
		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5		-	±	+	2+	3+		4+	-	±	+	2+		3+	4+	-	±	+		2+	3+	4+	-		±	+	2+
Control	23	0	1	7	2	5	5	3		0	13	10	0	0	0		23	0	0	0	0	0		5	10	5	3	0	0		23	0	0	0	0
10 ppm	24	0	2	5	3	7	6	1		1	13	10	0	0	0		24	0	0	0	0	0		8	10	5	1	0	0		24	0	0	0	0
20 ppm	25	0	1	6	5	8	3	2		0	16	7	2	0	0		25	0	0	0	0	0		8	10	7	0	0	0		25	0	0	0	0
40 ppm	24	0	1	6	5	5	5	2		0	14	10	0	0	0		24	0	0	0	0	0		8	11	5	0	0	0		22	2	0	0	0

Significant difference : \* : P ≤ 0.05      \*\* : P ≤ 0.01

Test of CHI SQUARE

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
MEASURE. TIME : 1  
SEX : MALE

URINALYSIS

REPORT TYPE : A1

PAGE : 2

---

Group Name	NO. of Animals	Urobilinogen				CHI
		±	+	2+	3+ 4+	
Control	23	23	0	0	0	0
10 ppm	24	24	0	0	0	0
20 ppm	25	25	0	0	0	0
40 ppm	24	24	0	0	0	0

---

Significant difference : \* : P ≤ 0.05    \*\* : P ≤ 0.01

Test of CHI SQUARE

**TABLE F2**

**URINALYSIS : FEMALE**



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE TIME : 1  
 SEX : FEMALE

URINALYSIS

REPORT TYPE : A1

Group Name	NO. of Animals	pH							CHI	Protein					CHI	Glucose					CHI	Ketone body					CHI	Occult blood			CHI
		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5		-	±	+	2+	3+		4+	-	±	+	2+		3+	4+	-	±	+		2+	3+	4+	
Control	20	0	7	6	2	2	3	0	8	7	5	0	0	0	20	0	0	0	0	0	2	13	5	0	0	0	20	0	0	0	0
10 ppm	22	0	8	8	2	3	1	0	1	13	8	0	0	0	*	22	0	0	0	0	1	17	4	0	0	0	22	0	0	0	0
20 ppm	23	0	7	3	5	2	5	1	3	12	8	0	0	0	23	0	0	0	0	0	4	15	3	1	0	0	23	0	0	0	0
40 ppm	20	0	3	5	5	3	2	2	1	13	6	0	0	0	*	20	0	0	0	0	4	13	3	0	0	0	20	0	0	0	0

Significant difference : \* : P ≤ 0.05      \*\* : P ≤ 0.01

Test of CHI SQUARE

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
MEASURE TIME : 1  
SEX : FEMALE REPORT TYPE : A1

URINALYSIS

---

Group Name	NO. of Animals	Urobilinogen				CHI
		±	+	2+	3+ 4+	
Control	20	20	0	0	0	0
10 ppm	22	22	0	0	0	0
20 ppm	23	23	0	0	0	0
40 ppm	20	20	0	0	0	0

---

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of CHI SQUARE

TABLE G1

HEMATOLOGY : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

REPORT TYPE : A1

PAGE : 1

Group Name	No. of Animals	RED BLOOD CELL 10 <sup>9</sup> /μℓ		HEMOGLOBIN g/dℓ		HEMATOCRIT %		MCV fℓ		MCH p g		MCHC g/dℓ		PLATELET 10 <sup>9</sup> /μℓ	
Control	25	10.73±	0.47	15.4±	0.6	46.6±	1.6	43.4±	1.0	14.4±	0.5	33.1±	0.4	1512±	234
10 ppm	25	10.75±	0.34	15.5±	0.4	46.7±	1.2	43.4±	0.9	14.4±	0.3	33.2±	0.4	1507±	207
20 ppm	25	10.92±	0.39	15.6±	0.4	47.1±	1.4	43.2±	1.0	14.3±	0.4	33.1±	0.5	1453±	236
40 ppm	24	10.76±	0.40	15.6±	0.4	46.9±	1.4	43.6±	0.9	14.5±	0.4	33.3±	0.4	1448±	213

Significant difference ; \* : P ≤ 0.05      \*\* : P ≤ 0.01

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
MEASURE. TIME : 1  
SEX : MALE      REPORT TYPE : A1

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
ALL ANIMALS ( 27W)

PAGE : 2

---

Group Name	NO. of Animals	RETICULOCYTE %	
Control	25	4.0±	0.5
10 ppm	25	3.8±	0.4
20 ppm	25	4.0±	0.5
40 ppm	24	4.1±	0.5

---

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$       \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE REPORT TYPE : A1

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	WBC		Differential		WBC (%)		MONO		EOSINO		BASO	
		$10^3/\mu\ell$		NEUTRO		LYMPHO							
Control	25	3.23±	1.92	12.7±	4.3	83.4±	4.6	3.0±	1.2	0.8±	0.5	0.0±	0.0
10 ppm	25	3.43±	2.10	12.2±	4.7	84.0±	4.9	3.1±	1.3	0.7±	0.6	0.0±	0.0
20 ppm	25	3.59±	2.07	13.9±	8.5	82.2±	8.7	3.0±	1.2	0.8±	0.7	0.0±	0.0
40 ppm	24	3.24±	2.07	16.7±	9.3	79.6±	9.1	2.7±	0.8	1.0±	1.0	0.0±	0.0

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

TABLE G2

HEMATOLOGY : FEMALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

REPORT TYPE : A1

Group Name	No. of Animals	RED BLOOD CELL 10 <sup>6</sup> /μl		HEMOGLOBIN g/dl		HEMATOCRIT %		MCV fl		MCH pg		MCHC g/dl		PLATELET 10 <sup>3</sup> /μl	
Control	24	10.72±	0.54	15.8±	0.5	47.4±	2.0	44.2±	0.6	14.8±	0.4	33.4±	0.5	1287±	220
10 ppm	24	10.70±	0.37	15.9±	0.4	47.3±	1.4	44.3±	0.9	14.9±	0.4	33.6±	0.5	1290±	191
20 ppm	25	10.73±	0.50	15.9±	0.7	47.5±	1.9	44.3±	1.0	14.8±	0.5	33.4±	0.6	1260±	201
40 ppm	25	10.65±	0.52	15.8±	0.6	47.6±	1.8	44.8±	1.1	14.9±	0.4	33.2±	0.8	1191±	260

Significant difference ; \* : P ≤ 0.05      \*\* : P ≤ 0.01

Test of Dunnett



STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
MEASURE. TIME : 1  
SEX : FEMALE REPORT TYPE : A1

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
ALL ANIMALS ( 27W)

PAGE : 5

---

Group Name	NO. of Animals	RETICULOCYTE %	
Control	24	4.0±	0.8
10 ppm	24	3.9±	0.5
20 ppm	25	4.2±	1.0
40 ppm	25	4.4±	1.8

---

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

(HCL070)

BAIS 6

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE REPORT TYPE : A1

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	WBC		Differential		WBC (%)		MONO		EOSINO		BASO	
		$10^3/\mu\ell$		NEUTRO		LYMPHO							
Control	24	2.76±	1.87	16.2±	7.4	79.8±	6.8	3.3±	1.3	0.6±	0.6	0.0±	0.0
10 ppm	24	3.03±	1.97	18.6±	6.4	77.7±	6.4	3.3±	1.3	0.5±	0.5	0.0±	0.0
20 ppm	25	3.54±	2.22	16.8±	7.9	79.1±	7.7	3.4±	1.5	0.7±	0.7	0.0±	0.1
40 ppm	25	2.72±	2.19	16.5±	8.4	79.6±	7.8	3.1±	1.7	0.6±	0.5	0.2±	0.9

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

TABLE H1

BIOCHEMISTRY : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE REPORT TYPE : A1

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	TOTAL PROTEIN g/dl		ALBUMIN g/dl		A/G RATIO		T-BILIRUBIN mg/dl		GLUCOSE mg/dl		T-CHOLESTEROL mg/dl		TRIGLYCERIDE mg/dl	
Control	25	5.2±	0.2	2.8±	0.2	1.2±	0.1	0.07±	0.03	212±	38	73±	14	43±	12
10 ppm	25	5.3±	0.2	2.9±	0.1	1.2±	0.1	0.06±	0.02	226±	29	76±	13	38±	11
20 ppm	24	5.2±	0.3	2.8±	0.1	1.2±	0.1	0.08±	0.04	217±	38	67±	16	33±	12**
40 ppm	24	5.2±	0.2	2.8±	0.1	1.2±	0.1	0.08±	0.03	220±	31	65±	13	31±	8**

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$       \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE REPORT TYPE : A1

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	PHOSPHOLIPID mg/dl		AST U/L		ALT U/L		LDH U/L		ALP U/L		G-GTP U/L		CK U/L	
Control	25	153±	26	76±	60	21±	12	211±	84	222±	28	0.3±	0.3	107±	93
10 ppm	25	158±	24	64±	23	22±	7	209±	55	226±	22	0.4±	0.4	144±	227
20 ppm	24	140±	32	80±	41	24±	9	215±	65	242±	34	0.5±	0.4	92±	62
40 ppm	24	142±	24	82±	49	23±	12	201±	58	235±	26	0.4±	0.3	103±	143

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$       \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE REPORT TYPE : A1

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	UREA NITROGEN mg/dl		SODIUM mEq/l		POTASSIUM mEq/l		CHLORIDE mEq/l		CALCIUM mg/dl		INORGANIC PHOSPHORUS mg/dl	
Control	25	30.5±	1.6	151±	2	4.2±	0.3	119±	4	8.9±	0.2	5.8±	0.8
10 ppm	25	31.8±	3.1	152±	2	4.1±	0.2	120±	2	8.9±	0.1	5.6±	1.0
20 ppm	24	30.9±	3.7	151±	2	4.1±	0.2	119±	2	9.0±	0.2	5.6±	1.0
40 ppm	24	30.9±	2.9	151±	2	4.2±	0.2	119±	2	9.0±	0.2	5.6±	1.0

Significant difference ; \* : P ≤ 0.05      \*\* : P ≤ 0.01

Test of Dunnett

**TABLE H2**

**BIOCHEMISTRY : FEMALE**

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

REPORT TYPE : A1

Group Name	NO. of Animals	TOTAL PROTEIN g/dl		ALBUMIN g/dl		A/G RATIO		T-BILIRUBIN mg/dl		GLUCOSE mg/dl		T-CHOLESTEROL mg/dl		TRIGLYCERIDE mg/dl	
Control	24	5.2±	0.2	2.9±	0.2	1.3±	0.1	0.07±	0.03	174±	30	63±	14	24±	10
10 ppm	24	5.2±	0.3	2.9±	0.2	1.3±	0.1	0.08±	0.03	177±	23	62±	11	23±	6
20 ppm	25	5.2±	0.3	2.9±	0.2	1.3±	0.1	0.07±	0.03	178±	33	62±	17	27±	9
40 ppm	25	5.3±	0.2	3.0±	0.2	1.3±	0.1	0.07±	0.03	197±	25*	64±	15	26±	8

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$       \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

REPORT TYPE : A1

Group Name	NO. of Animals	PHOSPHOLIPID mg/dl		AST U/L		ALT U/L		LDH U/L		ALP U/L		G-GTP U/L		CK U/L	
Control	24	131±	24	90±	36	30±	19	251±	97	363±	71	0.5±	0.3	230±	387
10 ppm	24	132±	22	89±	32	25±	5	240±	62	376±	64	0.5±	0.4	202±	274
20 ppm	25	132±	33	90±	40	25±	8	220±	54	368±	74	0.4±	0.3	224±	236
40 ppm	25	137±	27	84±	31	27±	12	220±	58	347±	58	0.7±	0.6	143±	148

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$       \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE REPORT TYPE : A1

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	UREA NITROGEN		SODIUM		POTASSIUM		CHLORIDE		CALCIUM		INORGANIC PHOSPHORUS	
		mg/dl		mEq/l		mEq/l		mEq/l		mg/dl		mg/dl	
Control	24	24.1±	3.1	151±	2	3.8±	0.3	120±	3	8.9±	0.2	6.1±	1.4
10 ppm	24	25.1±	3.2	151±	2	3.9±	0.4	120±	2	8.9±	0.3	6.0±	1.3
20 ppm	25	24.0±	3.0	151±	2	3.9±	0.4	120±	3	8.9±	0.3	6.3±	1.3
40 ppm	25	24.6±	3.0	151±	2	3.8±	0.3	119±	3	8.9±	0.3	6.0±	1.2

Significant difference ; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

TABLE I 1

GROSS FINDINGS : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name NO. of Animals	Control			
			25 (%)	10 ppm 25 (%)	20 ppm 25 (%)	40 ppm 25 (%)
thymus	atrophic		0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	1 ( 4)
spleen	black zone		1 ( 4)	3 ( 12)	1 ( 4)	2 ( 8)
stomach	glandular stomach:red zone		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)
	glandular stomach:thick		0 ( 0)	1 ( 4)	2 ( 8)	1 ( 4)
liver	nodule		0 ( 0)	4 ( 16)	0 ( 0)	0 ( 0)
	deformed		0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)
kidney	white zone		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)
	cyst		0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	1 ( 4)
Harder gl	nodule		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
peritoneum	red zone		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)

TABLE I 2

GROSS FINDINGS : FEMALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name NO. of Animals	Control			
			25 (%)	10 ppm 25 (%)	20 ppm 25 (%)	40 ppm 25 (%)
skin/app	erosion		0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	1 ( 4)
	crust		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)
subcutis	red zone		0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)
thymus	atrophic		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)
spleen	enlarged		1 ( 4)	1 ( 4)	0 ( 0)	1 ( 4)
	black zone		1 ( 4)	2 ( 8)	2 ( 8)	1 ( 4)
stomach	glandular stomach:red zone		1 ( 4)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)
	glandular stomach:thick		2 ( 8)	0 ( 0)	1 ( 4)	4 ( 16)
liver	enlarged		0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)
	nodule		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	2 ( 8)
ovary	cyst		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)

**TABLE J1**

**ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : MALE**

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE  
 UNIT: g

ORGAN WEIGHT:ABSOLUTE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight	THYMUS		ADRENALS		TESTES		HEART		LUNGS	
Control	25	33.4 ± 3.3	0.041 ±	0.008	0.012 ±	0.003	0.219 ±	0.017	0.174 ±	0.017	0.169 ±	0.018
10 ppm	25	32.8 ± 3.0	0.041 ±	0.007	0.011 ±	0.002	0.217 ±	0.015	0.172 ±	0.016	0.169 ±	0.016
20 ppm	25	32.0 ± 3.6	0.037 ±	0.010	0.012 ±	0.004	0.213 ±	0.015	0.172 ±	0.021	0.186 ±	0.019**
40 ppm	24	30.3 ± 3.3**	0.036 ±	0.008	0.011 ±	0.002	0.212 ±	0.015	0.169 ±	0.019	0.197 ±	0.023**

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$  Test of Dunnett



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE  
 UNIT : g

ORGAN WEIGHT: ABSOLUTE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

Group Name	No. of Animals	KIDNEYS		SPLEEN		LIVER		BRAIN	
Control	25	0.481 ± 0.059	0.080 ± 0.014	1.305 ± 0.195	0.477 ± 0.023				
10 ppm	25	0.465 ± 0.052	0.078 ± 0.011	1.324 ± 0.185	0.471 ± 0.017				
20 ppm	25	0.490 ± 0.078	0.079 ± 0.015	1.222 ± 0.217	0.473 ± 0.018				
40 ppm	24	0.470 ± 0.066	0.077 ± 0.014	1.147 ± 0.161*	0.473 ± 0.026				

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$     \*\* :  $P \leq 0.01$                       Test of Dunnett

**TABLE J2**

**ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : FEMALE**

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE  
 UNIT: g

ORGAN WEIGHT:ABSOLUTE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight	THYMUS		ADRENALS		OVARIES		HEART		LUNGS	
Control	24	24.4 ± 2.1	0.043 ±	0.007	0.016 ±	0.004	0.032 ±	0.009	0.149 ±	0.019	0.162 ±	0.016
10 ppm	24	24.0 ± 1.9	0.042 ±	0.006	0.015 ±	0.002	0.029 ±	0.006	0.145 ±	0.017	0.161 ±	0.013
20 ppm	25	24.4 ± 1.9	0.041 ±	0.009	0.015 ±	0.003	0.031 ±	0.007	0.148 ±	0.019	0.181 ±	0.017**
40 ppm	25	24.0 ± 2.0	0.041 ±	0.008	0.015 ±	0.002	0.031 ±	0.008	0.142 ±	0.018	0.195 ±	0.025**

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$     \*\* :  $P \leq 0.01$     Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE  
 UNIT: g

ORGAN WEIGHT:ABSOLUTE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	KIDNEYS		SPLEEN		LIVER		BRAIN	
Control	24	0.388±	0.046	0.095±	0.017	1.034±	0.155	0.487±	0.017
10 ppm	24	0.389±	0.041	0.092±	0.017	1.012±	0.139	0.485±	0.023
20 ppm	25	0.395±	0.038	0.098±	0.014	1.021±	0.150	0.481±	0.020
40 ppm	25	0.375±	0.042	0.104±	0.066	1.011±	0.153	0.477±	0.019

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$     \*\* :  $P \leq 0.01$                       Test of Dunnett

TABLE K1

ORGAN WEIGHT, RELATIVE : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE  
 UNIT : %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight (g)	THYMUS	ADRENALS	TESTES	HEART	LUNGS
Control	25	33.4 ± 3.3	0.122 ± 0.018	0.036 ± 0.011	0.663 ± 0.088	0.524 ± 0.058	0.509 ± 0.069
10 ppm	25	32.8 ± 3.0	0.126 ± 0.017	0.032 ± 0.006	0.666 ± 0.075	0.528 ± 0.069	0.516 ± 0.061
20 ppm	25	32.0 ± 3.6	0.116 ± 0.024	0.037 ± 0.013	0.677 ± 0.117	0.543 ± 0.085	0.589 ± 0.089**
40 ppm	24	30.3 ± 3.3**	0.118 ± 0.018	0.037 ± 0.007	0.708 ± 0.092	0.561 ± 0.061	0.654 ± 0.064**

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$  Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE  
 UNIT : %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	KIDNEYS	SPLEEN	LIVER	BRAIN
Control	25	1.451 ± 0.224	0.241 ± 0.046	3.905 ± 0.443	1.440 ± 0.161
10 ppm	25	1.426 ± 0.212	0.238 ± 0.036	4.031 ± 0.423	1.446 ± 0.161
20 ppm	25	1.545 ± 0.257	0.248 ± 0.043	3.812 ± 0.425	1.502 ± 0.226
40 ppm	24	1.556 ± 0.173	0.255 ± 0.041	3.799 ± 0.470	1.574 ± 0.152*

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$  Test of Dunnett

TABLE K2

ORGAN WEIGHT, RELATIVE : FEMALE



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE  
 UNIT : %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight (g)	THYMUS	ADRENALS	OVARIES	HEART	LUNGS
Control	24	24.4 ± 2.1	0.177 ± 0.022	0.065 ± 0.013	0.132 ± 0.035	0.611 ± 0.081	0.667 ± 0.072
10 ppm	24	24.0 ± 1.9	0.173 ± 0.022	0.061 ± 0.007	0.122 ± 0.024	0.608 ± 0.064	0.674 ± 0.048
20 ppm	25	24.4 ± 1.9	0.169 ± 0.035	0.062 ± 0.013	0.127 ± 0.028	0.607 ± 0.075	0.742 ± 0.063**
40 ppm	25	24.0 ± 2.0	0.170 ± 0.028	0.062 ± 0.010	0.128 ± 0.031	0.595 ± 0.078	0.813 ± 0.099**

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$  Test of Dunnett

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : FEMALE  
UNIT : %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
SURVIVAL ANIMALS ( 27W)

PAGE : 4

Group Name	NO. of Animals	KIDNEYS	SPLEEN	LIVER	BRAIN
Control	24	1.591 ± 0.177	0.388 ± 0.061	4.232 ± 0.511	2.005 ± 0.146
10 ppm	24	1.626 ± 0.149	0.387 ± 0.070	4.226 ± 0.549	2.034 ± 0.150
20 ppm	25	1.627 ± 0.175	0.404 ± 0.053	4.185 ± 0.518	1.982 ± 0.146
40 ppm	25	1.569 ± 0.183	0.432 ± 0.265	4.220 ± 0.592	1.999 ± 0.148

Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$  Test of Dunnett

(HCL042)

BAIS 6

TABLE L1

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :

NEOPLASTIC LESIONS : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of animals on Study	Control 25	10 ppm 25	20 ppm 25	40 ppm 25
{Respiratory system}						
lung	bronchiolar-alveolar adenoma		<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 2 ( 8%)
{Digestive system}						
stomach	squamous cell papilloma		<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 1 ( 4%)

< a > a : Number of animals examined at the site  
 b ( c ) b : Number of animals with neoplasm c : b / a \* 100

**TABLE L2**

**HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :**

**NEOPLASTIC LESIONS : FEMALE**

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS : NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of animals on Study	Control 25	10 ppm 25	20 ppm 25	40 ppm 25
{Integumentary system/appandage}						
subcutis	hemangioma		<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 1 ( 4%)	<25> 0 ( 0%)
{Respiratory system}						
lung	bronchiolar-alveolar adenoma		<25> 1 ( 4%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 1 ( 4%)
{Hematopoietic system}						
spleen	hemangioma		<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 1 ( 4%)	<25> 0 ( 0%)
{Digestive system}						
liver	histiocytic sarcoma		<25> 0 ( 0%)	<25> 1 ( 4%)	<25> 0 ( 0%)	<25> 0 ( 0%)

< a > a : Number of animals examined at the site  
 b ( c ) b : Number of animals with neoplasm c : b / a \* 100

TABLE M

NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE  
AND STATISTICAL ANALYSIS : MALE

STUDY No. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 SEX : MALE

NEOPLASTIC LESIONS-INCIDENCE AND STATISTICAL ANALYSIS

Group Name	Control	10 ppm	20 ppm	40 ppm
SITE : lung				
TUMOR : bronchiolar-alveolar adenoma				
Tumor rate				
Overall rates(a)	0/25( 0.0)	0/25( 0.0)	0/25( 0.0)	2/25( 8.0)
Adjusted rates(b)	0.00	0.00	0.00	8.33
Terminal rates(c)	0/25( 0.0)	0/25( 0.0)	0/25( 0.0)	2/24( 8.3)
Statistical analysis				
Peto test				
Standard method(d)	P = -----			
Prevalence method(d)	P = 0.0165* ?			
Combined analysis(d)	P = -----			
Cochran-Armitage test(e)	P = 0.0298*			
Fisher Exact test(e)		P = N. C.	P = N. C.	P = 0.2449

(HPT360A)

BAIS6

- (a): Number of tumor-bearing animals/number of animals examined at the site.  
 (b): Kaplan-Meier estimated tumor incidence at the end of the study after adjusting for intercurrent mortality.  
 (c): Observed tumor incidence at terminal kill.  
 (d): Beneath the control incidence are the P-values associated with the trend test.  
 Standard method : Death analysis  
 Prevalence method : Incidental tumor test  
 Combined analysis : Death analysis + Incidental tumor test  
 (e): The Cochran-Armitage and Fisher exact test compare directly the overall incidence rates.  
 ? : The conditional probabilities of the largest and smallest possible outcomes cannot be estimated or this P-value is beyond the estimated P-value.  
 ----- : There is no data which should be statistical analysis.  
 Significant difference : \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$   
 N. C. : Statistical value cannot be calculated and was not significant.



**TABLE N1**

**NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND  
NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED : MALE**

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : MALE

NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS - TIME RELATED

Time-related Weeks	Items	Group Name	Control	10 ppm	20 ppm	40 ppm
1 - 26	NO. OF EXAMINED ANIMALS		0	0	0	1
	NO. OF ANIMALS WITH TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF ANIMALS WITH SINGLE TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF ANIMALS WITH MULTIPLE TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF BENIGN TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF MALIGNANT TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF TOTAL TUMORS		0	0	0	0
27 - 27	NO. OF EXAMINED ANIMALS		25	25	25	24
	NO. OF ANIMALS WITH TUMORS		0	0	0	3
	NO. OF ANIMALS WITH SINGLE TUMORS		0	0	0	3
	NO. OF ANIMALS WITH MULTIPLE TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF BENIGN TUMORS		0	0	0	3
	NO. OF MALIGNANT TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF TOTAL TUMORS		0	0	0	3
1 - 27	NO. OF EXAMINED ANIMALS		25	25	25	25
	NO. OF ANIMALS WITH TUMORS		0	0	0	3
	NO. OF ANIMALS WITH SINGLE TUMORS		0	0	0	3
	NO. OF ANIMALS WITH MULTIPLE TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF BENIGN TUMORS		0	0	0	3
	NO. OF MALIGNANT TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF TOTAL TUMORS		0	0	0	3

**TABLE N2**

**NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND  
NUMBER OF TUMORS-TIME RELATED : FEMALE**

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

NUMBER OF ANIMALS WITH TUMORS AND NUMBER OF TUMORS - TIME RELATED

Time-related Weeks	Items	Group Name	Control	10 ppm	20 ppm	40 ppm
1 - 26	NO. OF EXAMINED ANIMALS		1	1	0	0
	NO. OF ANIMALS WITH TUMORS		0	1	0	0
	NO. OF ANIMALS WITH SINGLE TUMORS		0	1	0	0
	NO. OF ANIMALS WITH MULTIPLE TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF BENIGN TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF MALIGNANT TUMORS		0	1	0	0
	NO. OF TOTAL TUMORS		0	1	0	0
27 - 27	NO. OF EXAMINED ANIMALS		24	24	25	25
	NO. OF ANIMALS WITH TUMORS		1	0	1	1
	NO. OF ANIMALS WITH SINGLE TUMORS		1	0	0	1
	NO. OF ANIMALS WITH MULTIPLE TUMORS		0	0	1	0
	NO. OF BENIGN TUMORS		1	0	2	1
	NO. OF MALIGNANT TUMORS		0	0	0	0
	NO. OF TOTAL TUMORS		1	0	2	1
1 - 27	NO. OF EXAMINED ANIMALS		25	25	25	25
	NO. OF ANIMALS WITH TUMORS		1	1	1	1
	NO. OF ANIMALS WITH SINGLE TUMORS		1	1	0	1
	NO. OF ANIMALS WITH MULTIPLE TUMORS		0	0	1	0
	NO. OF BENIGN TUMORS		1	0	2	1
	NO. OF MALIGNANT TUMORS		0	1	0	0
	NO. OF TOTAL TUMORS		1	1	2	1

**TABLE O**

**HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :**

**METASTASIS OF TUMOR : FEMALE**

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS : METASTASIS OF TUMOR (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of Animals on Study	Control 25	10 ppm 25	20 ppm 25	40 ppm 25
[Hematopoietic system]						
spleen	metastasis:liver tumor		<25> 0	<25> 1	<25> 0	<25> 0
[Urinary system]						
kidney	metastasis:liver tumor		<25> 0	<25> 1	<25> 0	<25> 0
[Body cavities]						
mediastinum	metastasis:liver tumor		<25> 0	<25> 1	<25> 0	<25> 0

< a > a : Number of animals examined at the site  
 b b : Number of animals with lesion

TABLE P1

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :  
NON-NEOPLASTIC LESIONS : MALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
		No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study			
Grade		1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
[Respiratory system]																	
nasal cavit																	
		<25>				<25>				<25>				<25>			
eosinophilic change:olfactory epithelium		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	4	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 68)	( 16)	( 0)	( 0)
eosinophilic change:respiratory epithelium		5	0	0	0	5	0	0	0	20	0	0	0	2	23	0	0
		( 20)	( 0)	( 0)	( 0)	( 20)	( 0)	( 0)	( 0)	( 80)	( 0)	( 0)	( 0)	( 8)	( 92)	( 0)	( 0)
respiratory metaplasia:gland		15	0	0	0	20	0	0	0	20	0	0	0	21	0	0	0
		( 60)	( 0)	( 0)	( 0)	( 80)	( 0)	( 0)	( 0)	( 80)	( 0)	( 0)	( 0)	( 84)	( 0)	( 0)	( 0)
inflammation:transitional epithelium		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	8	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 32)	( 0)	( 0)	( 0)
atrophy:olfactory epithelium		0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	17	6	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 12)	( 0)	( 0)	( 0)	( 68)	( 24)	( 0)	( 0)
exudate:olfactory region		0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	21	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 12)	( 0)	( 0)	( 0)	( 84)	( 0)	( 0)	( 0)
nasopharynx																	
		<25>				<25>				<25>				<25>			
eosinophilic change:respiratory epithelium		3	0	0	0	1	0	0	0	5	0	0	0	11	13	0	0
		( 12)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 20)	( 0)	( 0)	( 0)	( 44)	( 52)	( 0)	( 0)
lung																	
		<25>				<25>				<25>				<25>			
hemorrhage		0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference ; \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of Animals on Study Grade	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
			25				25				25				25			
			1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
[Respiratory system]																		
lung	edema		<25>				<25>				<25>				<25>			
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
			( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)
	inflammatory cell infiltration:focal		0	0	0	0	0	0	0	0	9	1	0	0 **	19	0	0	0 **
			( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 36)	( 4)	( 0)	( 0)	( 76)	( 0)	( 0)	( 0)
[Hematopoietic system]																		
thymus	ectopic tissue		<25>				<25>				<25>				<25>			
			0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
	atrophy		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
			( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)
	cyst		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
spleen	atrophy		<25>				<25>				<25>				<25>			
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
			( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
		No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study			
Grade		1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
[Hematopoietic system]																	
spleen	deposit of melanin	<25>				<25>				<25>				<25>			
		1	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
		( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 12)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 8)	( 0)	( 0)	( 0)
[Digestive system]																	
salivary gl	atrophy	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)
	hypertrophy	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
stomach	hyperplasia:forestomach	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 8)	( 0)	( 0)	( 0)
	erosion:glandular stomach	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 8)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)
liver	angiectasis	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
		No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study			
Grade		1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
{Digestive system}																	
liver	fatty change	11 ( 44)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	10 ( 40)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	8 ( 32)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	2 ( 8)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0) **
	inflammatory cell nest	3 ( 12)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	3 ( 12)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	3 ( 12)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	4 ( 16)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
	acidophilic cell focus	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
pancreas	degeneration	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	2 ( 8)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	2 ( 8)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
		<25>				<25>				<25>				<25>			
{Urinary system}																	
kidney	malformation	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
	hydronephrosis	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of Animals on Study Grade	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
			25				25				25				25			
			1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
[Endocrine system]																		
adrenal	spindle-cell hyperplasia		10 ( 40)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	9 ( 36)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	5 ( 20)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	7 ( 28)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			
[Reproductive system]																		
semin ves	hyperplasia		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			
[Musculoskeletal system]																		
bone	osteofibrosis		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			
[Body cavities]																		
peritoneum	hemorrhage		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

TABLE P2

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :  
NON-NEOPLASTIC LESIONS : FEMALE

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of Animals on Study Grade	Control 25				10 ppm 25				20 ppm 25				40 ppm 25			
			1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)
[Integumentary system/appandage]																		
skin/app	ulcer		<25>				<25>				<25>				<25>			
			0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	
	erosion		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	
[Respiratory system]																		
nasal cavit	eosinophilic change:olfactory epithelium		<25>				<25>				<25>				<25>			
			2 ( 8)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	2 ( 8)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	11 ( 44)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	17 ( 68)	8 ( 32)
	eosinophilic change:respiratory epithelium		6 ( 24)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	5 ( 20)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	21 ( 84)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	2 ( 8)	23 ( 92)
	respiratory metaplasia:gland		25 (100)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	22 ( 88)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	24 ( 96)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	25 (100)	0 ( 0)
	inflammation:transitional epithelium		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	7 ( 28)	2 ( 8)
	atrophy:olfactory epithelium		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	17 ( 68)	2 ( 8)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
		No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study			
		Grade				Grade				Grade				Grade			
		1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
[Respiratory system]																	
nasal cavit	exudate:olfactory region	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	19	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 76)	( 0)	( 0)	( 0)
nasopharynx	eosinophilic change:respiratory epithelium	<25>				<25>				<25>				<25>			
		1	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	11	5	0	0
		( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 8)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 44)	( 20)	( 0)	( 0)
lung	inflammation	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
	inflammatory cell infiltration:focal	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	10	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 20)	( 0)	( 0)	( 0)	( 40)	( 0)	( 0)	( 0)
	accumulation:macrophage	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
[Hematopoietic system]																	
bone marrow	fatty marrow	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm				
		No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				
Grade		1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
[Hematopoietic system]																		
bone marrow	granulopoiesis: increased	<25>				<25>				<25>				<25>				
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)
thymus	atrophy	<25>				<25>				<25>				<25>				
		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
		( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	
	cyst	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	
spleen	deposit of melanin	<25>				<25>				<25>				<25>				
		1	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	
		( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 8)	( 0)	( 0)	( 0)	( 8)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	
	extramedullary hematopoiesis	2	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1	0	
		( 8)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 8)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 4)	( 0)	
[Circulatory system]																		
heart	mineralization	<25>				<25>				<25>				<25>				
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square



STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
		No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study				No. of Animals on Study			
Grade		1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
[Digestive system]																	
salivary gl	atrophy	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
	vacuolic change	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
stomach	hyperplasia:forestomach	<25>				<25>				<25>				<25>			
		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
	erosion:glandular stomach	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
liver	necrosis:focal	<25>				<25>				<25>				<25>			
		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
	inflammatory cell nest	5	0	0	0	10	0	0	0	7	0	0	0	7	0	0	0
		( 20)	( 0)	( 0)	( 0)	( 40)	( 0)	( 0)	( 0)	( 28)	( 0)	( 0)	( 0)	( 28)	( 0)	( 0)	( 0)
pancreas	vacuolic change	<25>				<25>				<25>				<25>			
		2	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		( 8)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 4)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of Animals on Study Grade	Control				10 ppm				20 ppm				40 ppm			
			25				25				25				25			
			1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
[Digestive system]																		
pancreas	degeneration		5 ( 20)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	7 ( 28)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	4 ( 16)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	7 ( 28)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			
[Urinary system]																		
kidney	hyaline droplet		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			
	hydronephrosis		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			
[Endocrine system]																		
adrenal	spindle-cell hyperplasia		25 (100)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	24 ( 96)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	24 ( 96)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	24 ( 96)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			
[Reproductive system]																		
ovary	cyst		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
			<25>				<25>				<25>				<25>			

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

STUDY NO. : 0904  
 ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 27W)

Organ	Findings	Group Name No. of Animals on Study Grade	Control 25				10 ppm 25				20 ppm 25				40 ppm 25			
			1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)
[Reproductive system]																		
uterus	atrophy		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	5 ( 20)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	4 ( 16)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	2 ( 8)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
[Musculoskeletal system]																		
bone	osteofibrosis		1 ( 4)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)

Grade 1+ : Slight 2+ : Moderate 3+ : Marked 4+ : Severe  
 < a > a : Number of animals examined at the site  
 b : Number of animals with lesion  
 ( c ) c : b / a \* 100  
 Significant difference : \* : P ≤ 0.05 \*\* : P ≤ 0.01 Test of Chi Square

**TABLE Q1**

**CAUSE OF DEATH : MALE**

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
SEX : MALE

COUSE OF DEATH (SUMMARY)  
(0- 27W)

Group Name	Control	10 ppm	20 ppm	40 ppm
Number of Dead and Moribund Animal	0	0	0	1
no microscop confirm	0	0	0	1

(B10120)

BAIS6

**TABLE Q2**

**CAUSE OF DEATH : FEMALE**

STUDY NO. : 0904  
ANIMAL : B6.129S2-Trp53tm1Tyj/J  
SEX : FEMALE

COUSE OF DEATH (SUMMARY)  
(0- 27W)

PAGE : 2

Group Name	Control	10 ppm	20 ppm	40 ppm
Number of Dead and Moribund Animal	1	1	0	0
no microscop confirm tumor d:liver	1 0	0 1	0 0	0 0

(BI0120)

BAIS6

二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験報告書

試験番号 : 0904

# FIGURES



## FIGURES

- FIGURE 1 SURVIVAL ANIMAL RATE OF MALE p53 KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)
- FIGURE 2 SURVIVAL ANIMAL RATE OF FEMALE p53 KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)
- FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE p53 KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)
- FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE p53 KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)
- FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE p53 KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)
- FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE p53 KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)

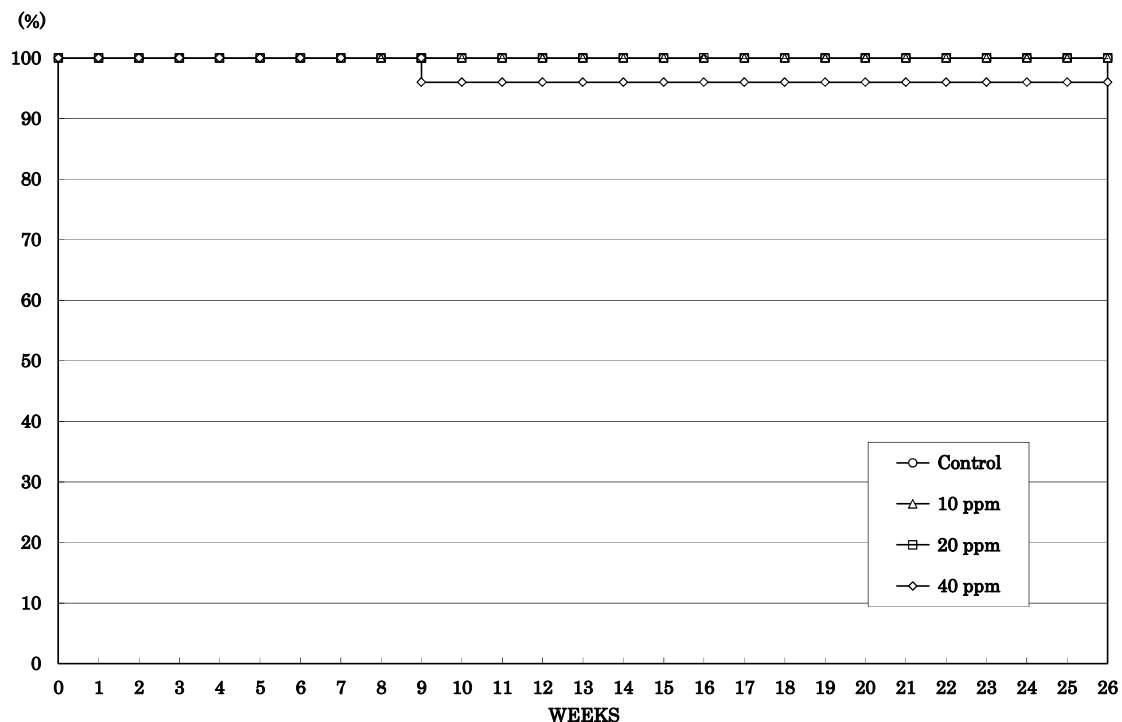


FIGURE 1 SURVIVAL ANIMAL RATE OF MALE p53KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)

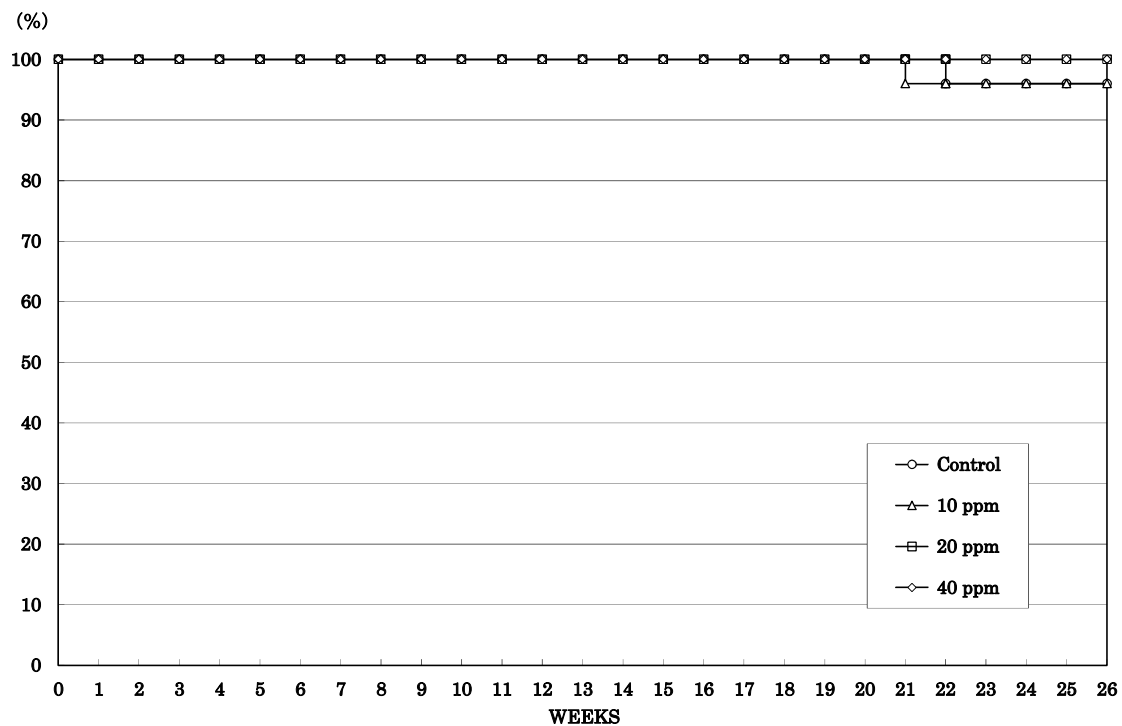


FIGURE 2 SURVIVAL ANIMAL RATE OF FEMALE p53KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)

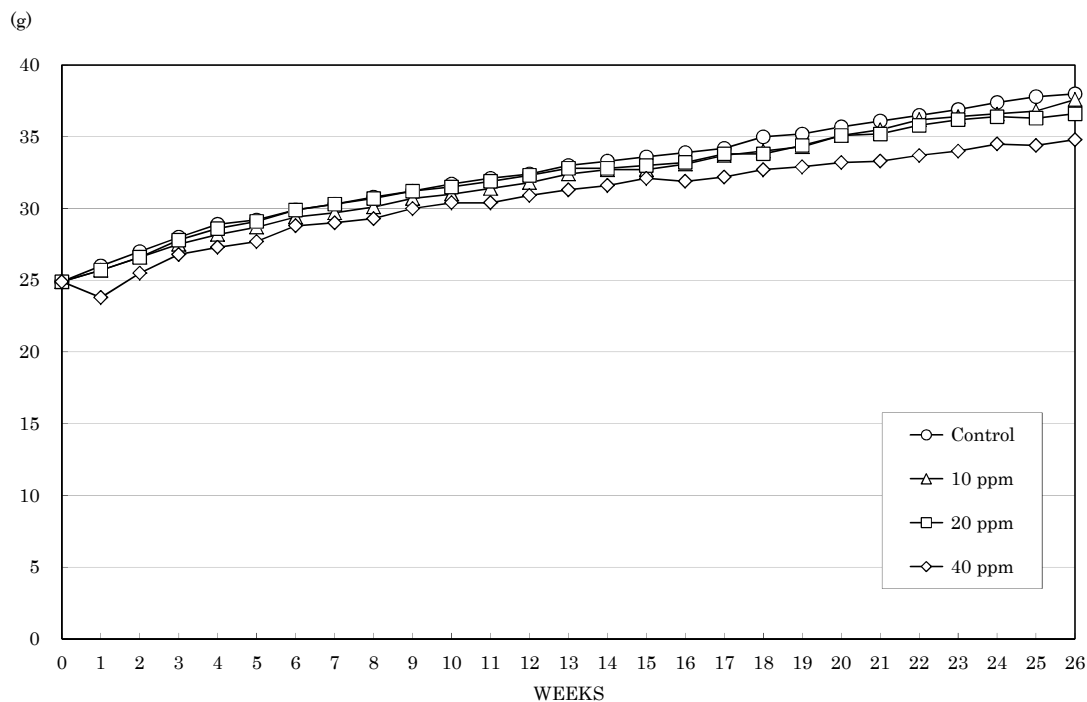


FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE p53KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)

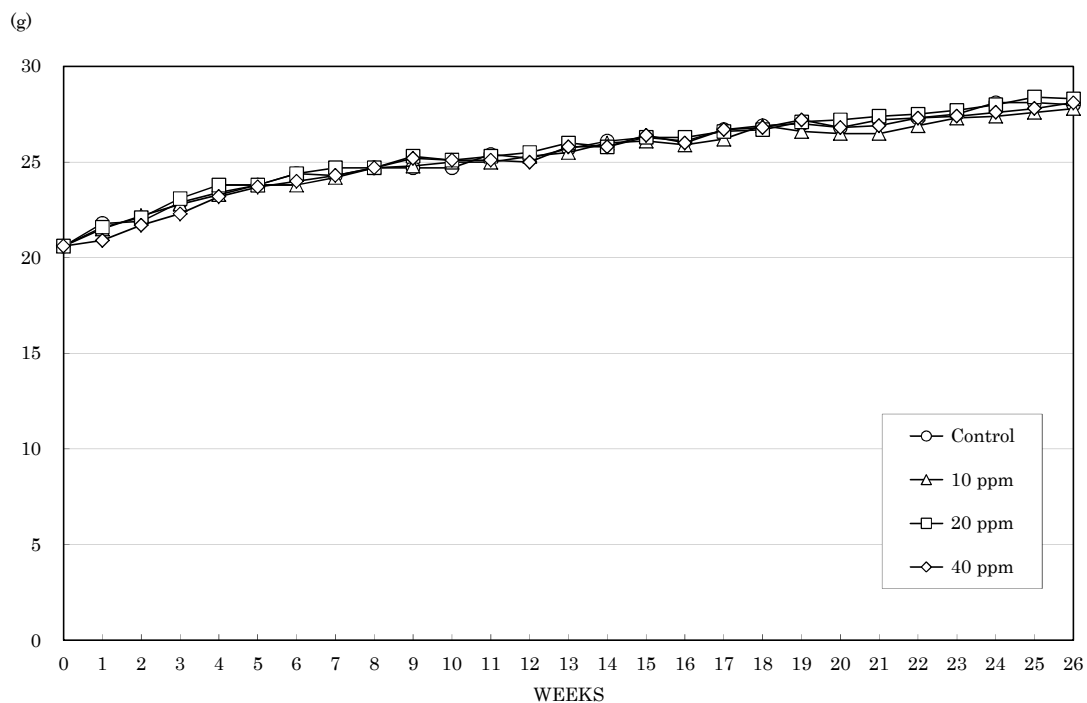


FIGURE 4 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE p53KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)

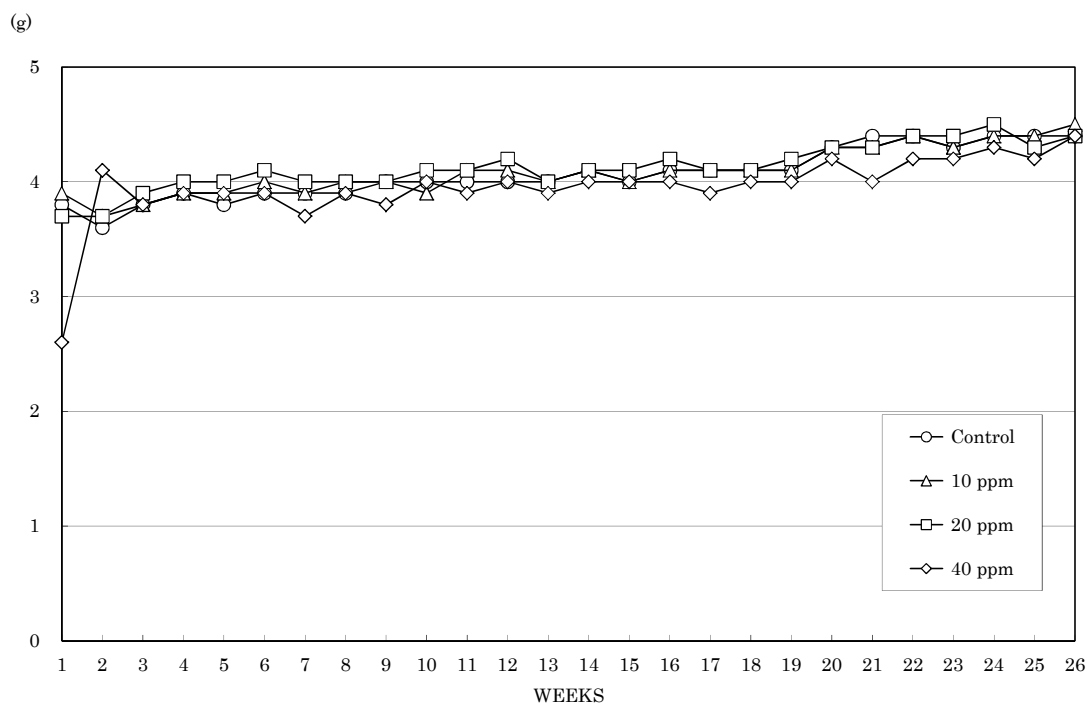


FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE p53KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)

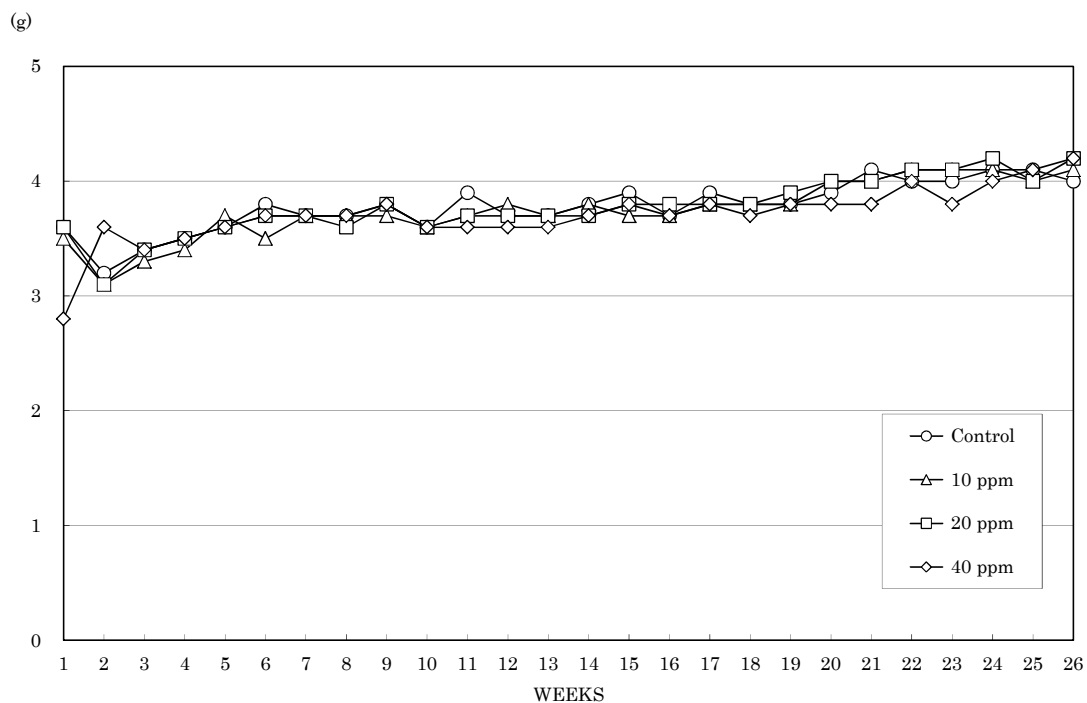
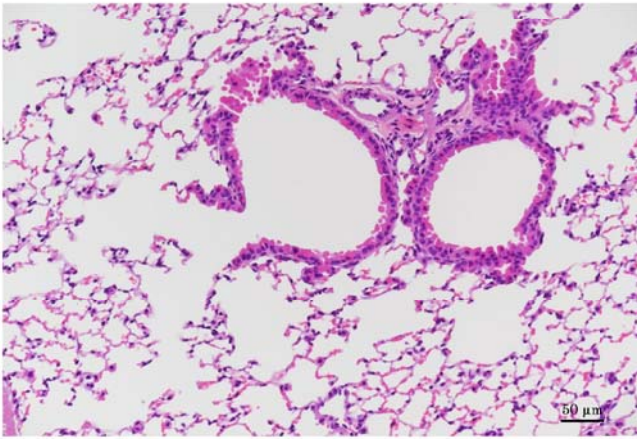


FIGURE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE p53KO MICE IN THE 26-WEEK CARCINOGENICITY STUDY OF NITROGEN DIOXIDE (INHALATION STUDY)

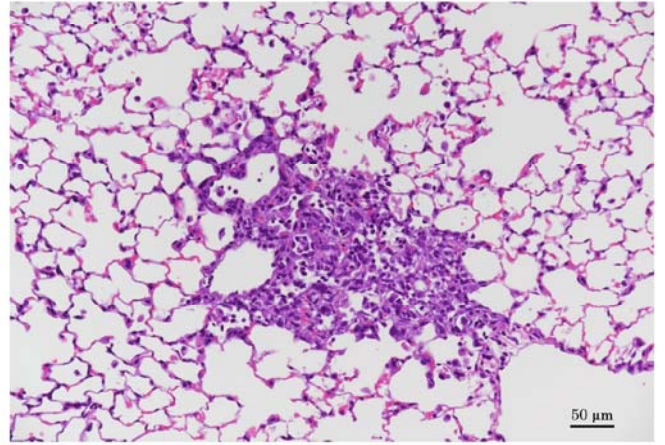
二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験報告書

試験番号 : 0904

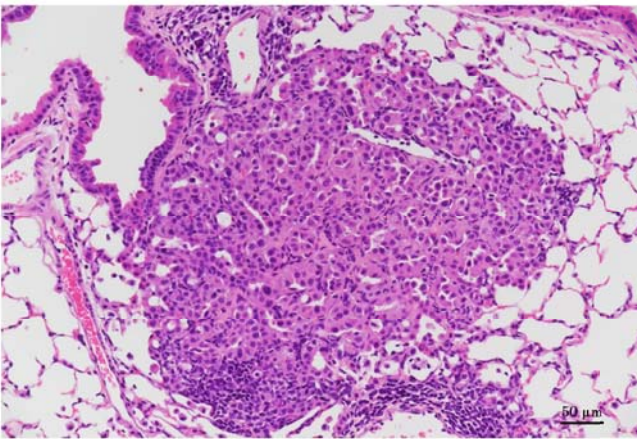
PHOTOGRAPHS



Photograph 1  
Lung: Normal.  
Mouse, Male, 0 ppm, Animal No. 0904-1001 (H&E)  
Bar: 50  $\mu$ m



Photograph 2  
Lung: Inflammatory cell infiltration focal  
Mouse, Male, 40 ppm, Animal No. 0904-1319 (H&E)  
Bar: 50  $\mu$ m



Photograph 3  
Lung: Bronchiolar-alveolar adenoma  
Mouse, Male, 40 ppm, Animal No. 0904-1311 (H&E)  
Bar: 50  $\mu$ m

二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験報告書

試験番号 : 0904

# APPENDICES

## APPENDICES

APPENDIX 1-1 IDENTITY OF NITROGEN DIOXIDE

APPENDIX 1-2 STABILITY OF NITROGEN DIOXIDE

APPENDIX 2 ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER

APPENDIX 3 METHODS, UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY  
AND BIOCHEMISTRY



APPENDIX 1-1

IDENTITY OF NITROGEN DIOXIDE

## IDENTITY OF NITROGEN DIOXIDE

Test Substance : Nitrogen dioxide (SUMITOMO SEIKA CHEMICALS Co., Ltd.)

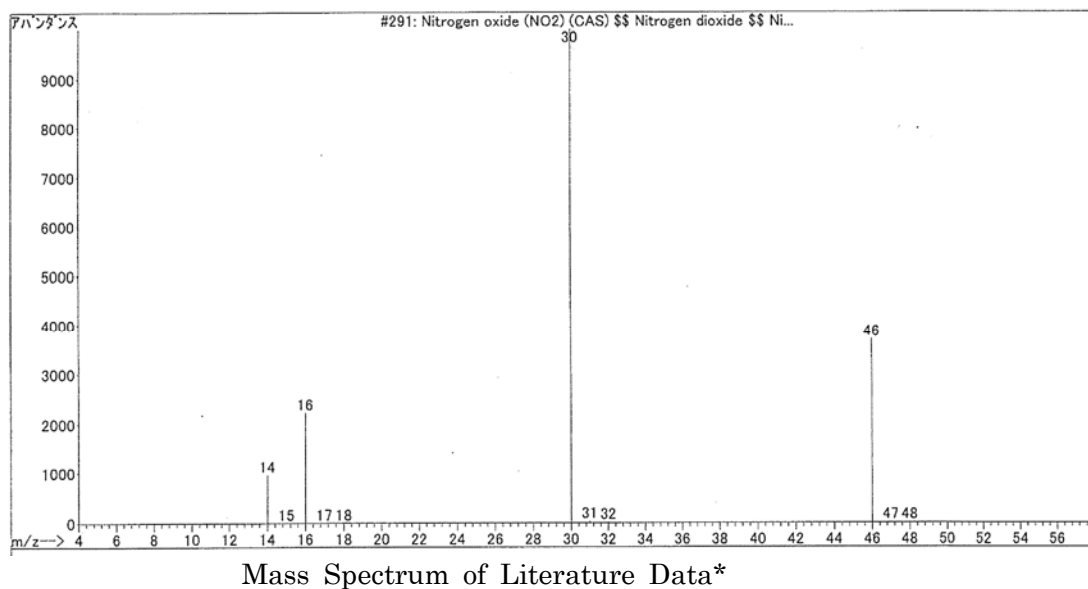
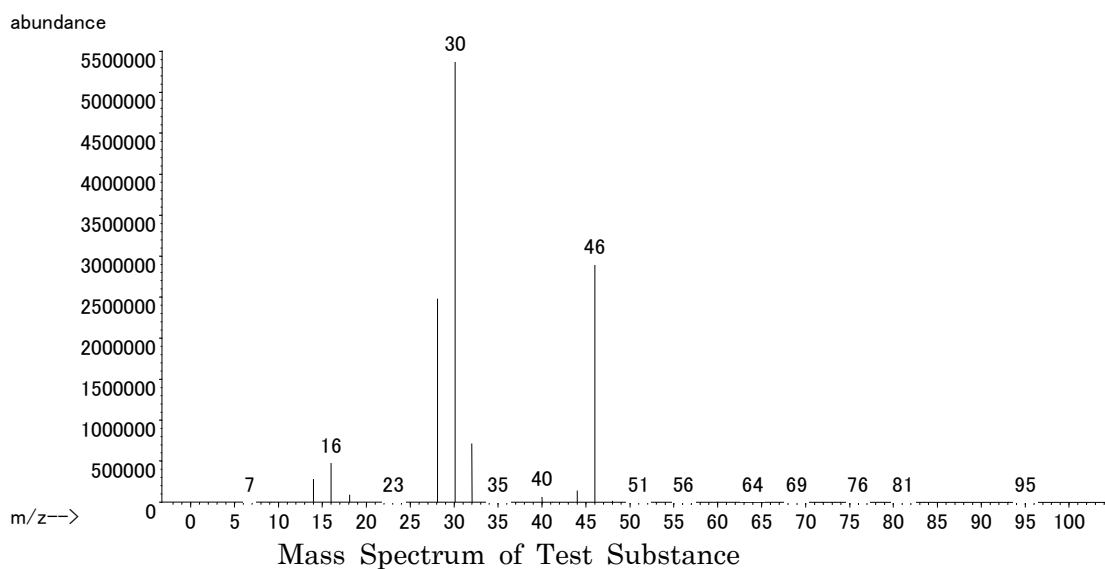
Lot No. : JTB 1748040

## 1. Mass Spectrometry

Instrument : Agilent Technologies 5973N Mass Spectrometer

Ionization : EI (Electron Ionization)

Ionization Voltage : 70eV



Result: The mass spectrum was consistent with literature spectrum.

(\*McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY:John Wiley and Sons.)

2. Conclusion: The test substance was identified as nitrogen dioxide by mass spectrum.

APPENDIX 1-2

STABILITY OF NITROGEN DIOXIDE

## STABILITY OF NITROGEN DIOXIDE

Test Substance : Nitrogen dioxide (SUMITOMO SEIKA CHEMICALS Co., Ltd.)

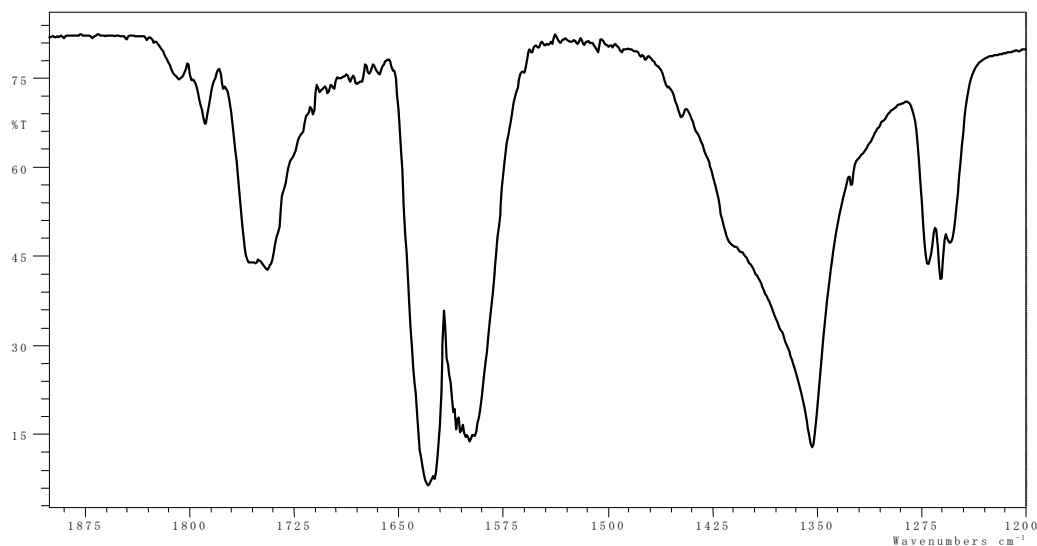
Lot No. : JTB 1748040

### 1. Infrared Spectrometry

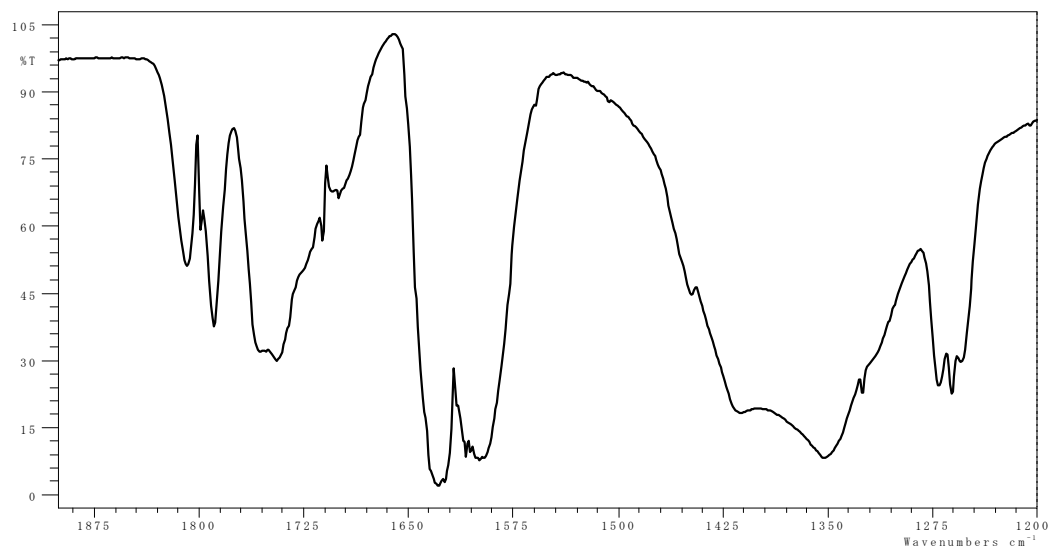
Instrument : Shimadzu IRAffinity-1

Cell : KBr Gas Cell

Resolution : 2  $\text{cm}^{-1}$



Infrared Spectrum of Test Substance (before use)



Infrared Spectrum of Test Substance (after use)

Result: The infrared spectra were not changed before used on 2018.2.26 and after used on 2018.9.3.

2. Conclusion: The test substance was stable for the period that the test substance had been used for the study.

## APPENDIX 2

### ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER

## ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER

Group Name	Temperature (°C) Mean ± S.D.	Humidity (%) Mean ± S.D.	Ventilation Rate (L/min) Mean ± S.D.	Air Change (time/h) Mean
Control	22.9 ± 0.1	58.0 ± 1.1	447.8 ± 0.9	12.1
10 ppm	22.9 ± 0.0	56.8 ± 1.8	447.3 ± 1.1	12.1
20 ppm	22.9 ± 0.0	57.7 ± 1.4	446.6 ± 1.0	12.1
40 ppm	23.0 ± 0.0	57.1 ± 1.6	446.0 ± 1.0	12.1

## APPENDIX 3

### METHODS, UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

## METHODS, UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

Item	Method	Unit	Decimal place
<b>Hematology</b>			
Red blood cell (RBC)	Hydrodynamically focussed DC detection method <sup>1)</sup>	$\times 10^6/\mu\text{L}$	2
Hemoglobin(Hgb)	SLS-Hemoglobin method <sup>1)</sup>	g/dL	1
Hematocrit(Hct)	Hydrodynamically focussed DC detection method <sup>1)</sup>	%	1
Mean corpuscular volume(MCV)	Calculated as $\text{Hct}/\text{RBC} \times 10^3$ <sup>1)</sup>	fL	1
Mean corpuscular hemoglobin(MCH)	Calculated as $\text{Hgb}/\text{RBC} \times 10^3$ <sup>1)</sup>	pg	1
Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)	Calculated as $\text{Hgb}/\text{Hct} \times 100$ <sup>1)</sup>	g/dL	1
Platelet	Hydrodynamically focussed DC detection method <sup>1)</sup>	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0
Reticulocyte	Flow cytometry method using semiconductor laser <sup>1)</sup>	%	1
White blood cell(WBC)	Flow cytometry method using semiconductor laser <sup>1)</sup>	$\times 10^3/\mu\text{L}$	2
Differential WBC	Flow cytometry method using semiconductor laser <sup>1)</sup>	%	1
<b>Biochemistry</b>			
Total protein(TP)	Biuret method <sup>2)</sup>	g/dL	1
Albumin (Alb)	BCG method <sup>2)</sup>	g/dL	1
A/G ratio	Calculated as $\text{Alb}/(\text{TP}-\text{Alb})$ <sup>2)</sup>	—	1
T-bilirubin	BOD method <sup>2)</sup>	mg/dL	2
Glucose	GlcK·G-6-PDH method <sup>2)</sup>	mg/dL	0
T-cholesterol	CE·COD·POD method <sup>2)</sup>	mg/dL	0
Triglyceride	MGLP·GK·GPO·POD method <sup>2)</sup>	mg/dL	0
Phospholipid	PLD·ChOD·POD method <sup>2)</sup>	mg/dL	0
Aspartate aminotransferase (AST)	JSCC method <sup>2)</sup>	U/L	0
Alanine aminotransferase (ALT)	JSCC method <sup>2)</sup>	U/L	0
Lactate dehydrogenase (LDH)	JSCC method <sup>2)</sup>	U/L	0
Alkaline phosphatase (ALP)	JSCC method <sup>2)</sup>	U/L	0
$\gamma$ -Glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GTP)	JSCC method <sup>2)</sup>	U/L	1
Creatine kinase (CK)	JSCC method <sup>2)</sup>	U/L	0
Urea nitrogen	Urease·GLDH method <sup>2)</sup>	mg/dL	1
Sodium	Ion selective electrode method <sup>2)</sup>	mEq/L	0
Potassium	Ion selective electrode method <sup>2)</sup>	mEq/L	1
Chloride	Ion selective electrode method <sup>2)</sup>	mEq/L	0
Calcium	OCPC method <sup>2)</sup>	mg/dL	1
Inorganic phosphorus	PNP·XOD·POD method <sup>2)</sup>	mg/dL	1

1) Automated Hematology Analyzer (XN-2000V : Sysmex Corporation)

2) Automatic analyzer (Hitachi 7080 : Hitachi,Ltd.)



## 二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による中期がん原性試験結果概要

日本バイオアッセイ研究センター

## 1 被験物質

## 1-1 名称等

名 称：二酸化窒素 (Nitrogen dioxide)  
別 名：過酸化窒素 (Nitrogen peroxide)  
CAS 番号：10102-44-0

## 1-2 化学式及び分子量 (文献 1)

化 学 式：NO<sub>2</sub>  
分 子 量：46.0

## 1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状：刺激臭のある帯赤褐色気体または茶色もしくは黄色の液体  
相対蒸気密度：1.58 (空気=1)  
蒸 気 圧：96 kPa (20℃)  
沸 点：21.2 °C  
溶 解 性：水と反応して硝酸と一酸化窒素を生じる  
保 管 条 件：室温、暗所

## 1-4 製造量等 (文献 2)

製造・輸入数量：酸化窒素として合計で1,000～2,000トン未満  
(平成29年度実績)

## 1-5 用途 (文献 3)

合成ゴム原料

## 1-6 許容濃度等

管理濃度：未設定  
日本産業衛生学会：未設定  
米国産業衛生専門家会議 (ACGIH)：0.2ppm (TLV-TWA)、A4 (ヒトに対して発がん性物質として分類できない物質) (文献4)  
国際がん研究機関 (IARC)：未設定

## 1-7 遺伝毒性

## in vitro

エームス試験：陽性 (文献5)  
チャイニーズハムスター染色体異常試験：陽性 (文献6)

チャイニーズハムスターDNA鎖切断試験：陽性（文献7）

in vivo

染色体異常試験（マウス白血球及び精母細胞）：陰性（文献8）

小核試験（マウス骨髄細胞）：陰性（文献9）

ショウジョウバエ変異原性試験：陰性（文献9、10）

## 2 目的

二酸化窒素を遺伝子改変マウス（p53KO マウス）に 26 週間全身吸入暴露（経気道投与）し、そのがん原性を検索した。

## 3 方法

投与群 3 群、対照群 1 群の計 4 群（各群：雌雄とも 25 匹）を設け、二酸化窒素の濃度は、0（対照群）、10、20 及び 40 ppm とし、1 日 6 時間、1 週 5 日間、26 週間暴露した。観察・検査項目として、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、解剖時の肉眼的観察、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

## 4 26 週間試験の投与濃度設定理由

投与濃度は、雌雄の C57BL/6J マウス（8 週齢）を用いた 4 週間の予備試験結果をもとに決定した。0（対照群）、5、10、20 及び 40 ppm の濃度で暴露した結果、動物の死亡は認められなかった。一般状態、体重及び摂餌量は 40 ppm 群で影響がみられた。一般状態の観察では、暴露開始日と 2 日目の暴露後の観察で雌雄全匹に自発運動量の減少と不整呼吸がみられた。体重は 1 週目と 4 週目に雄で低値がみられ、摂餌量は雄では 1 週目と 4 週目に、雌では 1 週目に低値がみられた。臓器重量では、肺重量の高値が雌の 20 ppm 以上の群と雄の 40 ppm 群にみられた。病理組織学的検査では、鼻腔と肺に影響がみられた。鼻腔では、滲出液の貯留が 40 ppm の雌雄にみられ、また、呼吸上皮のエオジン好性変化と、鼻腺の呼吸上皮化生が全ての投与群の雌雄にみられた。肺では、炎症性細胞浸潤が 40 ppm 群の雌雄にみられた。なお、病理組織学的検査でみられた所見の程度はすべてが軽度であった。

以上のように、二酸化窒素の 4 週間吸入暴露の結果、雌雄のマウスの一般状態、体重（雄のみ）、摂餌量、肺重量及び病理組織学的検査結果に影響が認められた。しかし、毒性の程度はいずれも重篤なものではなく、40 ppm の濃度で 26 週間に亘って動物に暴露しても、毒性兆候は示されるものの死亡を増加させることはないと考えられた。したがって、本試験の投与濃度は 4 週間の予備試験と同じく、40 ppm を最高濃度とし、以下 20 ppm 及び 10 ppm を設定した。

## 5 結果

雌雄とも生存率、一般状態に、投与の影響はみられなかった。体重は、雄の 40 ppm 群で投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。摂餌量は、雌雄の 40 ppm 群で投与 1 週目に低値、2 週目には高値がみられたが、各群とも投与期間を通しての平均摂餌量に差はみられなかった。臓器重量測定では、雌雄の 20 ppm 以上の群で肺重量が増加した。  
(生存率：図 1、体重：図 2、摂餌量：図 3)

### 病理組織学的検査の結果

—雄—

#### ① 腫瘍性病変 (表 1)

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、対照群 0 匹 (0%)、10 ppm 群 0 匹 (0%)、20 ppm 群 0 匹 (0%)、40 ppm 群 2 匹 (8%) に認められ、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、文献によるヒストリカルコントロールデータ (文献 11) では発生が認められず (0/433 匹、0%)、本試験の 40 ppm 群の発生率 (2/25 匹、8%) はこの値を超えていた。しかしながら、対照群との 2 群間検定 (Fisher 検定) では有意な増加は示されず、細気管支-肺胞上皮過形成等の腫瘍に関連する非腫瘍性病変の発生も認められていないことから、がん原性を示唆する証拠 (some evidence of carcinogenic activity) と判断するには不十分と考えられた。

#### ② 非腫瘍性病変

<鼻腔>

嗅上皮では、エオジン好性変化及び萎縮の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加と程度の増強が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度、40 ppm 群が軽度から中等度であった。

移行上皮では、炎症の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

嗅部では、滲出液の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

<鼻咽頭>

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

<肺>

巣状の炎症性細胞浸潤の発生匹数の増加が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度から中等度、40 ppm 群が軽度であった。

—雌—

#### ① 腫瘍性病変 (表 2)

被験物質投与による腫瘍の発生増加は認められなかった。

## ② 非腫瘍性病変

### <鼻腔>

嗅上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加と程度の増強が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度、40 ppm 群が軽度から中等度であった。また、萎縮の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加と程度の増強が 20 ppm 以上の群で認められ、その程度は 20 ppm 群が軽度、40 ppm 群が軽度から中等度であった。

移行上皮では、炎症の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

嗅部では滲出液の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

### <鼻咽頭>

呼吸上皮では、エオジン好性変化の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度から中等度であった。

### <肺>

巣状の炎症性細胞浸潤の発生匹数の増加が 40 ppm 群で認められ、その程度は軽度であった。

## 6 まとめ

遺伝子改変マウス (p53KO マウス) を用いて、二酸化窒素の 26 週間の吸入による中期がん原性試験を行った結果、

- 1) 雄 p53KO マウスに対するがん原性を示す不確実な証拠が得られた (equivocal evidence of carcinogenic activity) と結論された。
- 2) 雌 p53KO マウスに対するがん原性を示す証拠は得られなかった (no evidence of carcinogenic activity) と結論された。

表 1 二酸化窒素の中期がん原性試験における腫瘍発生 (p53KO マウス 雄)

投 与 濃 度 (ppm)		0	10	20	40	Peto検定	Cochran-Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	0	0	0	2	↑	↑
胃 (前胃)	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1		

↑ :  $p \leq 0.05$  で有意増加 (Peto, Cochran-Armitage 検定)

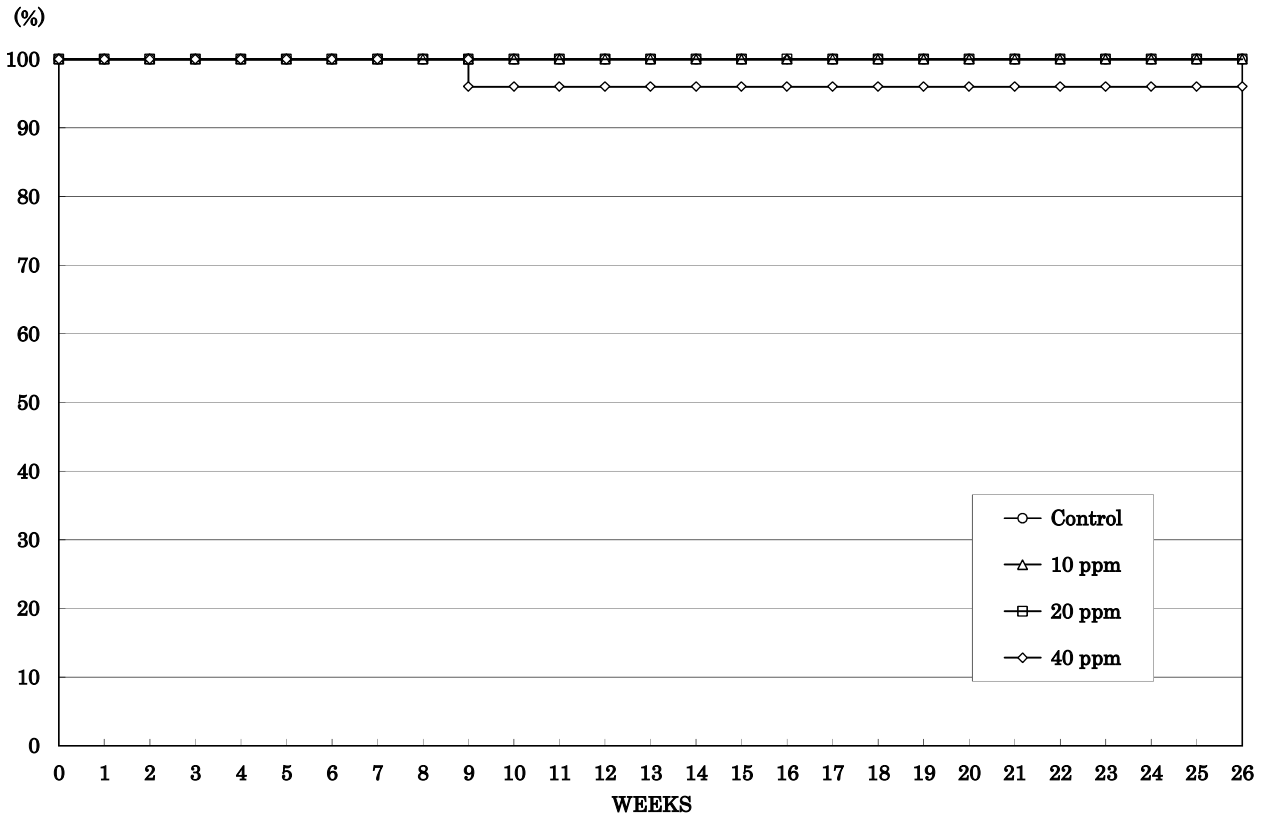
表 2 二酸化窒素の中期がん原性試験における腫瘍発生 (p53KO マウス 雌)

投 与 濃 度 (ppm)		0	10	20	40	Peto検定	Cochran-Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	1	0	0	1		
皮下組織	血管腫	0	0	1	0		
肝臓	組織球性肉腫#	0	1	0	0		
脾臓	血管腫	0	0	1	0		

上段：上皮系腫瘍      下段：非上皮系腫瘍

#：悪性腫瘍

(雄)



(雌)

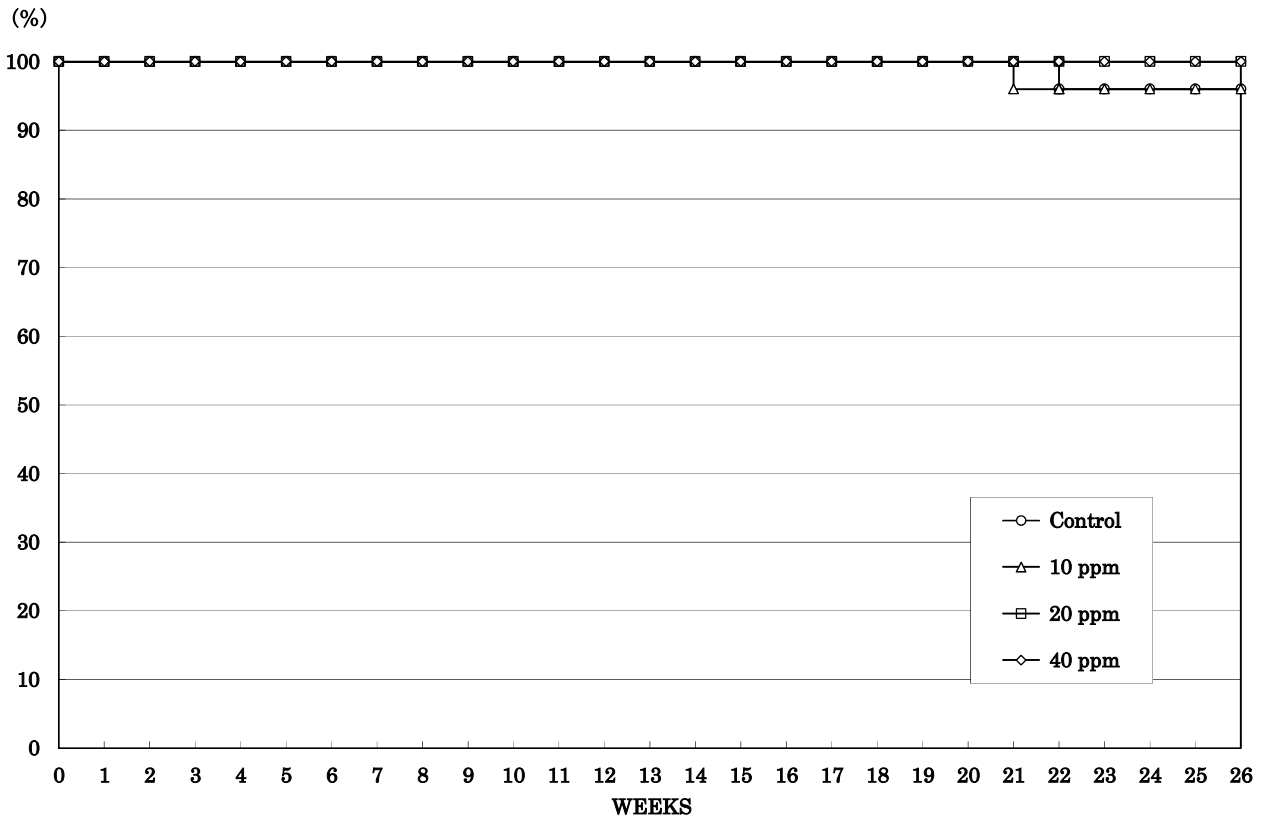
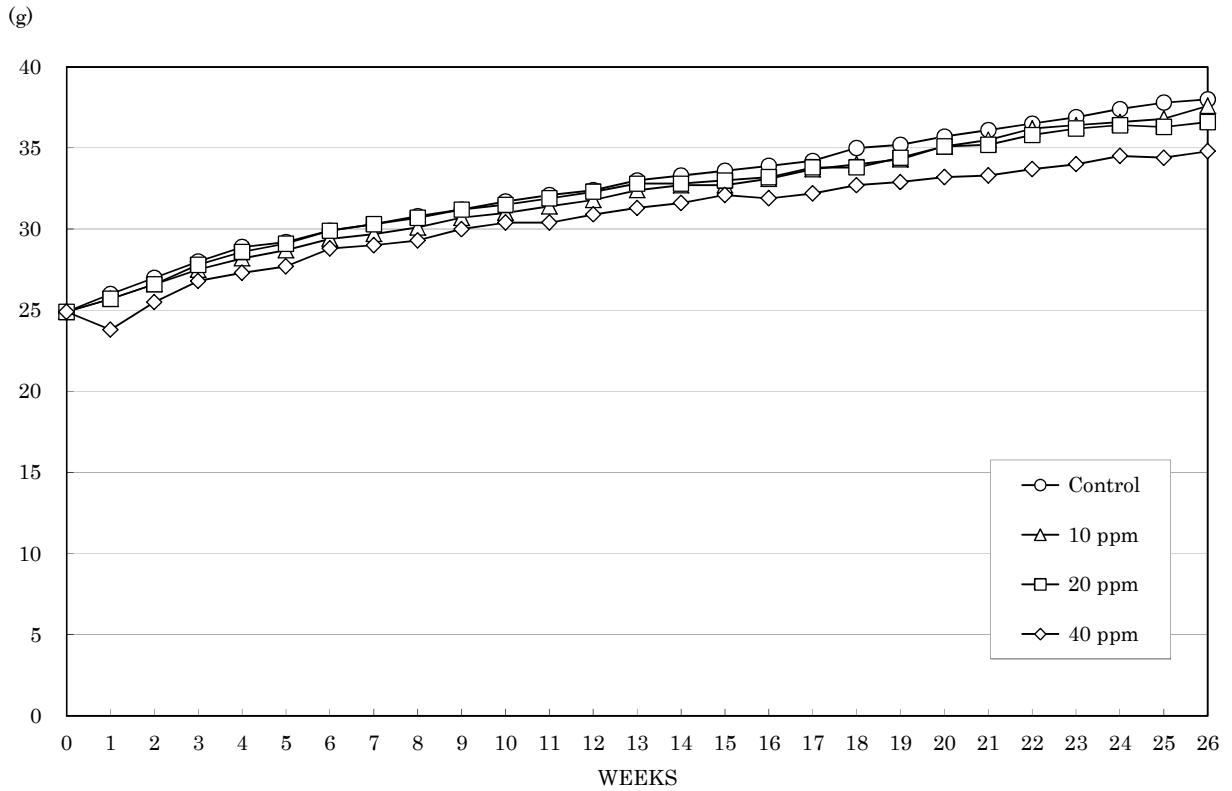


図1 二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験における生存率

(雄)



(雌)

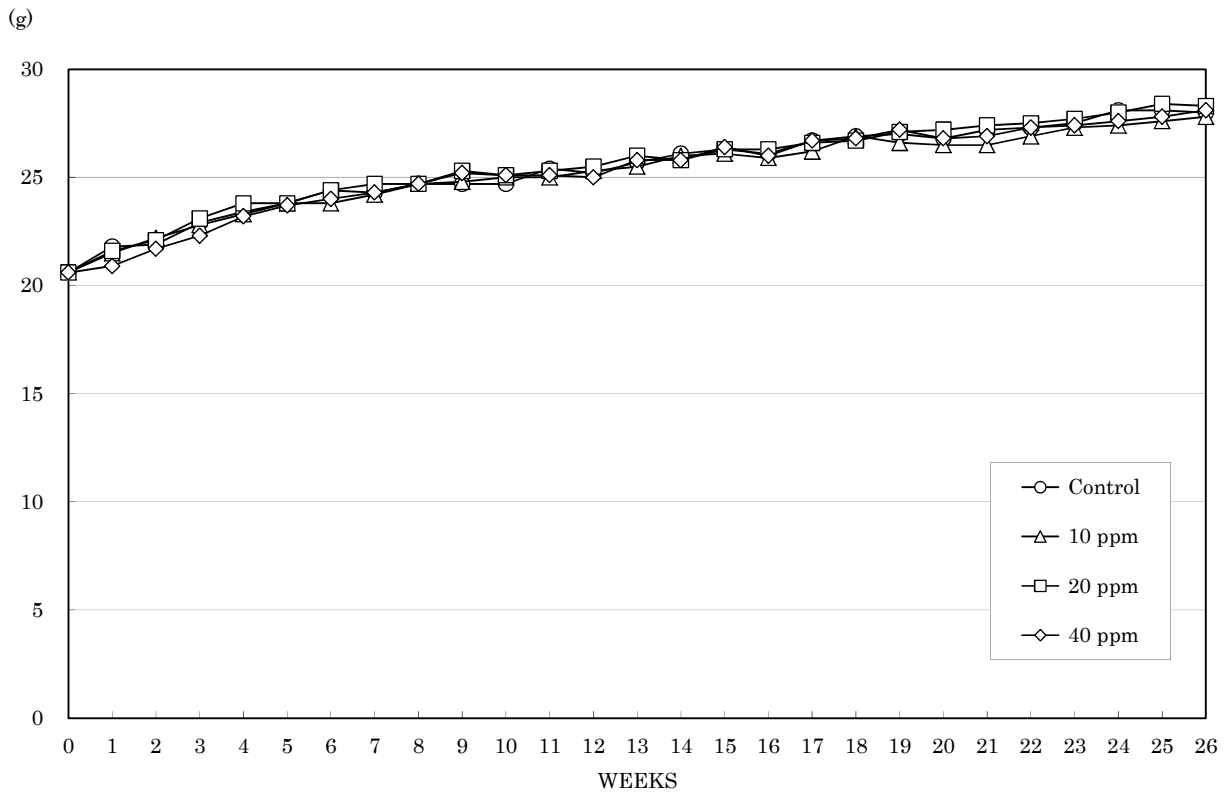
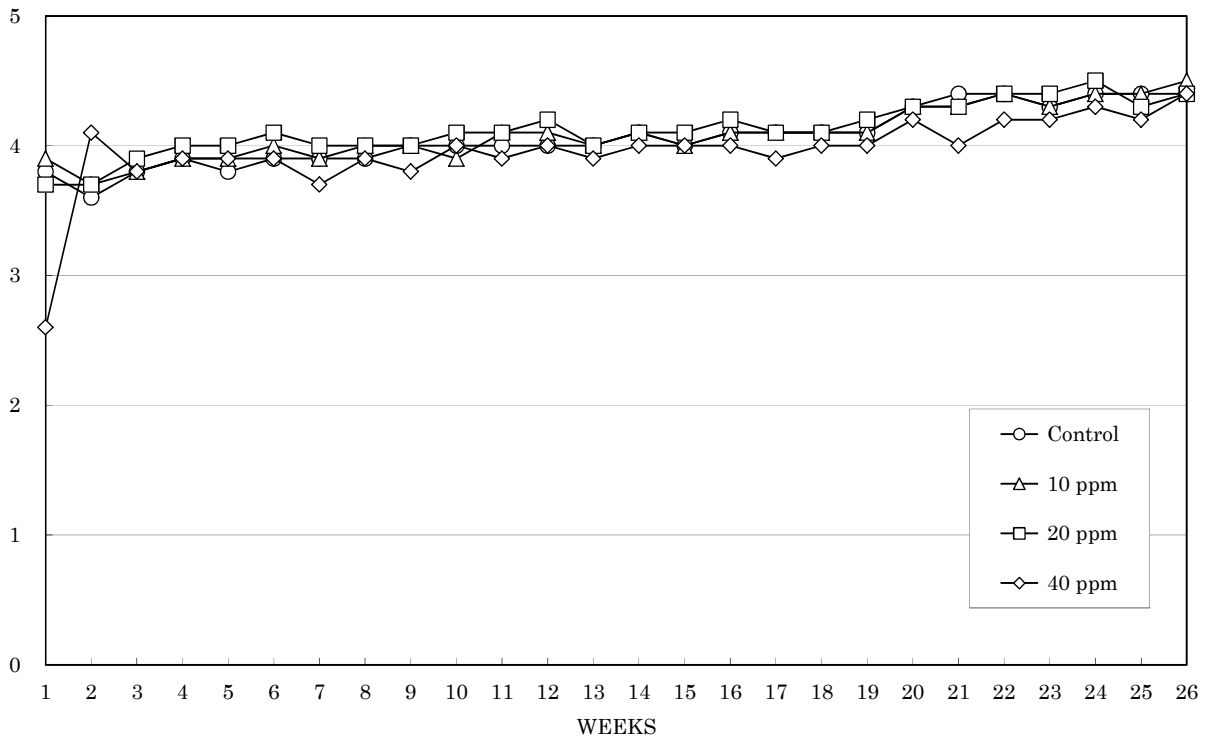


図2 二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験における体重推移

(雄)

(g)



(雌)

(g)

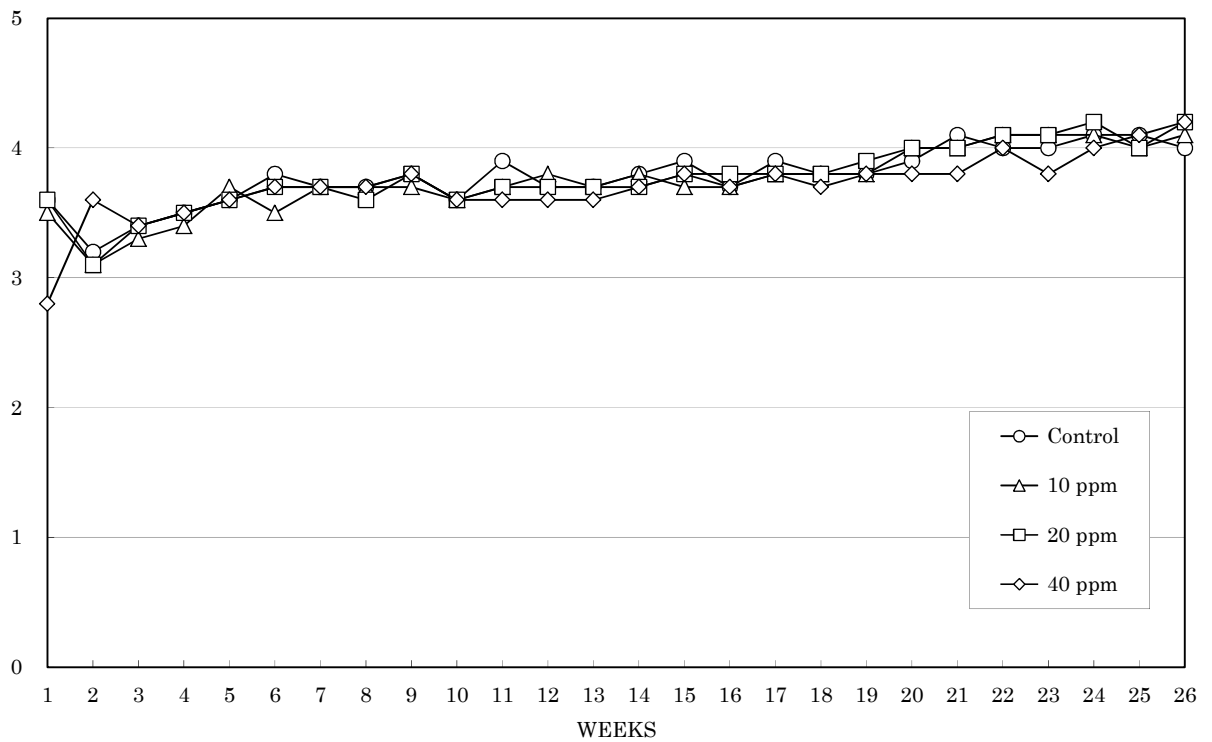


図3 二酸化窒素の p53KO マウスを用いた吸入による  
中期がん原性試験における摂餌量



## 文献

- 1) International Programme on Chemical Safety. 2013. ICSC: 0930. NITROGEN DIOXIDE. International Chemical Safety Cards
- 2) 経済産業省、一般化学物質等の製造・輸入数量（平成 29 年度実績）
- 3) 独立行政法人製品評価技術基盤機構、NITE 化学物質総合情報提供システム（NITE-CHRIP）
- 4) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2012. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices. Nitrogen dioxide.
- 5) Biggart NW, Rinehart RR (1987). Comparison between aqueous-phase and gas-phase exposure protocols for determining the mutagenic potential of nitrogen dioxide and the gas fraction of welding fumes. *Mutat Res* 188:175-184.
- 6) Tsuda H, Kushi A, Yoshida D, Goto F (1981). Chromosomal aberrations and sisterchromatid exchanges induced by gaseous nitrogen dioxide in cultured Chinese hamster cells. *Mutat Res* 89:303-309.
- 7) Görsdorf S, Appel KE, Engholm C, Obe G (1990). Nitrogen dioxide induces DNA single-strand breaks in cultured Chinese hamster cells. *Carcinogenesis* 11:37-41.
- 8) Gooch PC, Luippold HE, Creasia DA, Brewen HG (1977). Observations on mouse chromosomes following nitrogen dioxide inhalation. *Mutat Res* 48:117-120.
- 9) Victorin K, Busk L, Cederbeg H, Magnusson J, (1990). Genotoxic Activity of 1,3-butadiene and Nitrogen Dioxide and Their Photochemical Reaction Products in *Drosophila* and in the Mouse Bone Marrow Micronucleus Assay. *Mutat Res* 228:203-209.
- 10) Inoue H, Fukunaga A, Okubo S, (1981). Mutagenic effects of nitrogen dioxide combined with methylurea and ethylurea in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 88:281-290.

- 11) Storer RD, French JE, Haseman J, Hajian G, LeGrand EK, Long GG, Mixson LA, Ochoa R, Sagartz JE, Soper KA. 2001. P53<sup>+/-</sup> hemizygous knockout mouse: overview of available data. *Toxicol Pathol.*;29 Suppl:30-50. Review.