

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの C57BL/6J マウスを  
用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期がん原性試験予備試験)  
報告書

試験番号 : 0895

CAS No. 140-66-9

2018 年 9 月 14 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
動物福祉	.....	i
試験委託者	.....	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	.....	iii
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
TABLES	A 1~K 3	
FIGURES	1~4	
APPENDICES	1-1~2	

## 標題

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル) フェノールの C57BL/6J マウスを用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期がん原性試験予備試験)

## 試験目的

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル) フェノールの発がん性を調査する目的で行う遺伝子改変マウス (p53 ヘテロ欠損 C57BL/6J マウス) を用いた中期がん原性試験の投与用量を決定するために、4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル) フェノールを野生型 C57BL/6J マウスに 4 週間投与して、その生体影響を検索した。

## 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) 及び OECD 化学品テストガイドライン 407 (げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験: 2008 年 10 月 3 日採択) を参考にして実施した。

## GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づく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。

## 動物福祉

本試験は、「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) を遵守した。

また、本試験は、日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で審査された (承認番号 0181)。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課  
東京都千代田区霞が関 1-2-2

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	2017年 8月 1日
動物導入日	2017年 8月 9日
群分け日	2017年 8月 16日
被験物質投与開始日	2017年 8月 17日 (雄)
	2017年 8月 18日 (雌)
被験物質投与終了日	2017年 9月 13日 (雄)
	2017年 9月 14日 (雌)
定期解剖日	2017年 9月 14日 (雄)
	2017年 9月 15日 (雌)
試験終了日	2018年 9月 14日

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの C57BL/6J マウスを  
用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期がん原性試験予備試験)  
報告書

試験番号 : 0895

本文

## 本文目次

	頁
要約 .....	1
試験材料 .....	2
- 1 被験物質の性状等 .....	2
- 1 - 1 名称等 .....	2
- 1 - 2 構造式及び分子量 .....	2
- 1 - 3 物理化学的性状等 .....	2
- 2 被験物質の使用ロット等 .....	2
- 3 使用媒体 .....	3
- 4 被験物質の特性 .....	3
- 4 - 1 同一性 .....	3
- 4 - 2 安定性 .....	3
- 5 試験動物 .....	3
試験方法 .....	4
- 1 投与 .....	4
- 1 - 1 投与経路 .....	4
- 1 - 2 被験物質の投与方法及び投与期間 .....	4
- 1 - 3 投与用量 .....	4
- 1 - 4 投与方法、投与期間及び投与用量の設定理由 .....	4
- 1 - 5 被験物質投与液の調製 .....	5
- 1 - 6 被験物質調製液の濃度及び均一性確認 .....	5
- 1 - 7 被験物質調製液の濃度安定性確認 .....	6
- 2 動物管理 .....	6
- 2 - 1 各群の使用動物数 .....	6
- 2 - 2 群分け及び個体識別方法 .....	6
- 2 - 3 飼育条件 .....	7
(1) 飼育環境 .....	7
(2) 飼料 .....	7
(3) 飲水 .....	7

- 3	観察・検査項目及び方法	7
- 3 - 1	動物の生死及び一般状態の観察	7
- 3 - 2	体重測定	8
- 3 - 3	摂餌量測定	8
- 3 - 4	尿検査	8
- 3 - 5	血液学的検査	8
- 3 - 6	血液生化学的検査	8
- 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	9
- 4	数値処理と統計方法	9
- 4 - 1	数値の取り扱いと表示	9
- 4 - 2	統計処理	10
	試験成績	11
- 1	生死状況	11
- 2	一般状態	11
- 3	体重	11
- 4	摂餌量	12
- 5	尿検査	12
- 6	血液学的検査	12
- 7	血液生化学的検査	13
- 8	病理学的検査	13
- 8 - 1	肉眼的観察	13
- 8 - 2	臓器重量	14
- 8 - 3	病理組織学的検査	14
	考察及びまとめ	16
- 1	用量 - 反応関係	16
- 2	中期がん原性試験の投与用量設定	17
	文献	18
	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	19

## 要約

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの発がん性を検索する目的で、遺伝子改変マウス(p53ヘテロ欠損マウス)を用いた中期がん原性試験を実施するにあたり、その投与用量を決定するための予備試験として、C57BL/6Jマウスを用いた強制経口投与による4週間毒性試験を実施した。

対照群1群及び被験物質投与群4群の計5群(各群雌雄10匹)を設け、被験物質の投与用量は、0(媒体対照群)、30、100、200及び300 mg/kg BWとした。投与は雌雄のC57BL/6Jマウスにオリブ油に溶解した被験物質を4週間反復強制経口投与した。投与期間中、動物の一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定を行い、投与最終週に尿検査を行った。最終投与翌日に定期解剖を実施し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

その結果、雌の300 mg/kg群で1例の死亡が認められ、腎臓病変による死亡と推察された。体重は媒体対照群と比較し、雄の300 mg/kg群及び雌の200 mg/kg群で投与2週目にやや高値であったが、試験終了時の最終体重に顕著な差はみられなかった。被験物質投与による影響は、主に腎臓、肝臓及び血液/造血系に認められた。腎臓への影響は、剖検観察で腎臓の淡色化(雌雄300 mg/kg:全例、雄200 mg/kg:1例)がみられ、雌で腎臓重量(300 mg/kg:実重量、体重比、200 mg/kg以上:体重比)が高値を示した。また、病理組織学的検査では、近位尿細管の再生(雌雄200 mg/kg以上:全例、100 mg/kg:雄8例、雌3例)がみられた。血液生化学的検査では、尿素窒素の高値(雄300 mg/kg、雌200 mg/kg以上)が認められた。肝臓への影響は、肝臓重量(雄100 mg/kg以上、雌30 mg/kg以上:実重量、体重比)の高値が認められたが、病理組織学的検査では変化はみられなかった。また、血液生化学的検査では、肝臓の障害性、脂質代謝等への影響を示唆する変化(雌雄に総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質及び $\gamma$ -GTPの高値、雄にLDH及びALPの高値等)が認められ、これらの影響は雌雄とも最低用量の30 mg/kgからみられた。血液/造血系への影響は、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値(雄300 mg/kg)など、軽度の貧血を示す変化が認められた。また、血小板数の高値(雄200 mg/kg以上)、白血球数の高値(雄200 mg/kg以上、雌300 mg/kg)がみられた。更に、脾臓重量(雄300 mg/kg:実重量、体重比、200 mg/kg以上:体重比)が高値を示した。

以上の結果より、雌の300 mg/kg群では、腎臓病変による死亡が1例認められ、雌雄300 mg/kg群に認められた近位尿細管の再生像は広範囲にみられ、尿細管への傷害も広範囲に起きたと判断できることから、300 mg/kgは26週間試験の最高用量としては高すぎると考えられた。一方、200 mg/kg群では、近位尿細管の再生像は全例にみられるものの、その程度は減弱し、体重増加の抑制はみられなかった。また、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量への影響も減弱していることから、200 mg/kgは26週間の投与に耐えうる用量であると判断した。従って、中期がん原性試験の高用量は200 mg/kg BWに設定し、以下、100 mg/kg BW、50 mg/kg BWとした。なお、陽性対照物質(2-Methoxy-5-methylaniline)の投与用量は、4週間毒性試験の結果より、雌雄とも300 mg/kg BWとした。

## 試験材料

## - 1 被験物質の性状等

## - 1 - 1 名称等 (文献 1)

名 称 : 4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール  
(4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl) phenol)

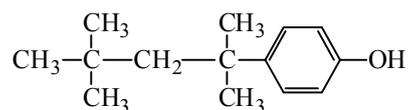
別 名 : 4-*tert*-Octylphenol

CAS No. : 140-66-9

被験物質番号 : 1238

## - 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 2)

構造式 :



化学式 : C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O

分子量 : 206.33

## - 1 - 3 物理化学的性状等 (文献 1、2)

性状 : 白色～ほとんど白色、結晶～粉末

融点 : 83

沸点 : 279

溶解性 : 水にほとんど溶けない、エタノール及びアセトンに溶けやすい

保管条件 : 室温かつ遮光

## - 2 被験物質の使用ロット等

製造元 : 東京化成工業(株)

純度 : 95.8% (東京化成工業(株) 試験成績書データ)

ロット番号 : Y8LQL

- 3 使用媒体

名 称 : オリブ油 (日本薬局方)  
製 造 元 : 丸石製薬(株)  
ロット番号 : 56011  
保 管 条 件 : 室温かつ遮光

- 4 被験物質の特性

- 4 - 1 同一性

被験物質の同一性は、被験物質の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、その測定値を文献値 (文献 3) と比較することにより確認した。

被験物質の赤外吸収スペクトルは文献値と同じ波数にピークを示したことから、被験物質は 4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールであることを確認した。

その結果は APPENDIX 1-1 に示す。

- 4 - 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。

使用開始前と使用終了後の赤外吸収スペクトルに差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であることを確認した。

その結果は APPENDIX 1-2 に示す。

- 5 試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株) (厚木飼育センター) の C57BL/6J マウス (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 52 匹を 7 週齢で導入し、8 日間を検疫と馴化を兼ねて飼育した。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 50 匹 (群分け時体重範囲、雄 : 21.9 ~ 26.3 g、雌 : 17.9 ~ 21.3 g) を選別し、試験に用いた。

なお、動物は、中期がん原性試験で使用する遺伝子改変動物の B6.129S2-Trp53<sup>tm1TyjJ</sup> マウス (p53 ヘテロ欠損マウス) の作製に用いる系統である C57BL/6J マウス (野生型)

の雌雄を使用した。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 4）。

## 試験方法

### - 1 投与

#### - 1 - 1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

#### - 1 - 2 被験物質の投与方法及び投与期間

オリブ油に溶解した被験物質を、ディスポーザブル注射筒（ニプロ(株)製、1 mL）及びフレキシブル経口ゾンデ（(有)フチガミ器械製、No.5202）を用いて、1日1回、28日間（雄：2017年8月17日～2017年9月13日、雌：2017年8月18日～2017年9月14日）、毎日12時から16時の時間帯に強制経口投与した。投与量は5 mL/kg BWとし、直前に測定した体重に基づいて個体別に算出した。

#### - 1 - 3 投与用量

投与用量は雌雄ともに、30、100、200及び300 mg/kg BWの4段階に設定した。また、媒体対照群としてオリブ油を投与する群を設けた。

#### - 1 - 4 投与方法、投与期間及び投与用量の設定理由

4週間毒性試験の投与方法及び投与用量を決定するために、2週間の予備試験（強制経口投与試験：試験番号4591、混餌投与試験：試験番号4592）を実施した。強制経口投与試験の投与用量は30、100、300、600及び1000 mg/kg BWとし、混餌投与試験の投与濃度は、強制経口投与試験における投与用量と1日当たりの推定摂餌量から算出して250、850、2500、4500及び8000 ppm（重量比 w/w）とした。混餌投与試験では、対照群を含むすべての群で多量の餌こぼしがあったことから試験方法として適さないと判断し、投与方法はオリブ油を媒体とする強制経口投与方法を選択した。

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5）に従い、4週間とした。

投与用量は、強制経口投与による 2 週間予備試験（試験番号 4591）の結果をもとに決定した。雌雄とも 600 mg/kg と 1000 mg/kg では、糞少量、外陰部周囲汚染、自発運動量減少、体温低下、衰弱などの所見がみられ、雄は投与開始後 5 日目までに、雌は 4 日目までに全匹死亡あるいは瀕死搬出した。300 mg/kg では、雄には餌こぼしが目立ち、雌の 1 匹では糞少量、体重減少、摂餌量減少がみられたが、他の動物には対照群と比較して体重及び摂餌量に差はみられなかった。血液生化学検査では、雌雄の 300 mg/kg で総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質及び  $\gamma$ -GTP の高値が、雄の 30 mg/kg 以上で ALP の高値がみられた。臓器重量では、雄の 100 mg/kg 以上と雌の 300 mg/kg で肝臓実重量と体重比の高値、雄の 300 mg/kg で腎臓実重量の高値がみられた。病理組織学的検査の結果、雌雄の腎臓に投与による影響がみられた。300 mg/kg では雌雄の全匹に近位尿細管の再生、雄の全匹に硝子円柱の出現が認められた。近位尿細管の再生は 100 mg/kg でも雌雄各 2 匹にみられたが、300 mg/kg に比較して、その程度は著しく減弱した。

以上の結果から、4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの毒性標的器官は腎臓と肝臓であると考えられた。本試験の投与用量は、多くの動物が 4 週間の投与に耐えうる用量として 300 mg/kg を最高用量とし、以下、100、30 mg/kg を設定した。なお、300 mg/kg と 100 mg/kg の間で腎臓病変の程度に大きな差がみられていることから、200 mg/kg の用量を追加した。

#### - 1 - 5 被験物質投与液の調製

被験物質を秤量し、オリブ油を加えて攪拌、溶解し、6、20、40 及び 60 mg/mL の濃度の投与液を調製した。調製した投与液は、調製液中の被験物質の安定性が確認された 8 日間以内に使用した。調製後の投与液は、投与日まで冷蔵庫（約 4℃、遮光）内で保管した。

#### - 1 - 6 被験物質調製液の濃度及び均一性確認

被験物質調製液の被験物質の濃度と均一性確認は、全調製濃度について実施した。初回調製時に調製容器内から各 7 点サンプリングし、高速液体クロマトグラフ（(株)島津製作所 LC-10）を用いて被験物質濃度を測定することで確認した。被験物質調製液中の濃度は APPENDIX 1-3、均一性は APPENDIX 1-4 に示す。

各群の平均調製濃度は、設定濃度に対して 97.9～100% の範囲にあった。また、均一性は各調製濃度ともばらつきが少なかった。従って、被験物質調製液は設定濃度に対して正確に調製されたことを確認した。

### - 1 - 7 被験物質調製液の濃度安定性確認

被験物質調製液の濃度安定性は、被験物質調製液（0.6 mg/mL 及び 60 mg/mL：投与用量として 3 mg/kg BW 及び 300 mg/kg BW に相当）を冷蔵保管（約 4 ）し、調製後 8 日間の濃度は安定であることを確認した（試験番号：8042）。本試験は、安定性を確認した濃度の範囲内で実施したため、濃度安定性確認は行わなかった。濃度安定性確認の結果は APPENDIX 1-5 に示す。

## - 2 動物管理

### - 2 - 1 各群の使用動物数

対照群 1 群及び被験物質投与群 4 群の計 5 群を設け、各群雌雄各 10 匹の動物を用いた。

群 名 称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対 照 群	10 匹（1001～1010）	10 匹（2001～2010）
30 mg/kg 群	10 匹（1101～1110）	10 匹（2101～2110）
100 mg/kg 群	10 匹（1201～1210）	10 匹（2201～2210）
200 mg/kg 群	10 匹（1301～1310）	10 匹（2301～2310）
300 mg/kg 群	10 匹（1401～1410）	10 匹（2401～2410）

### - 2 - 2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献 6）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（206 室）に収容し、室の扉に試験番号、試験動物及び飼育期間を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

### - 2 - 3 飼育条件

#### (1) 飼育環境

飼育室の環境条件及び使用したケージ等を以下に示した。飼育室の温度と湿度は、実測値(平均値±標準偏差)を< >内に示した。

温 度：  $23 \pm 2$  <  $23.1 \pm 0.1$  >

湿 度：  $55 \pm 15 \%$  <  $55 \pm 1 \%$  >

明暗サイクル： 12時間点灯(8:00～20:00) / 12時間消灯(20:00～8:00)

換気回数： 15～17回/時

ケージへの動物の収容方法： 個別飼育

ケージの材質・形状・寸法等：

ステンレス製2連網ケージ(112(W)×212(D)×120(H) mm / 匹)

飼育器材の滅菌方法： 飼育器材(ラック、ケージ、餌箱、給水ノズル、作業台車、トレイ等)は、オートクレーブを用いて滅菌(約120℃、15分以上)した。

#### (2) 飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株)製造のCRF-1固型(30kGy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料)を自由摂取させた。ただし、定期解剖前日(投与最終日)の夕方からは絶食させた。

試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物については、オリエンタル酵母工業(株)から分析データを入手し、確認後保管した。

#### (3) 飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水(神奈川県秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水ノズルから自由摂取させた。

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。

### - 3 観察・検査項目及び方法

#### - 3 - 1 動物の生死及び一般状態の観察

全動物について、毎日、投与前及び投与後に生死及び一般状態を観察した。また、定期解剖日は飼育室からの搬出時に一般状態を観察した。

### - 3 - 2 体重測定

全動物について、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。また、死亡動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。

### - 3 - 3 摂餌量測定

全動物について、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。

### - 3 - 4 尿検査

投与最終週に生存した動物のうち自然排尿した動物の新鮮尿について、尿試験紙(ウロラプスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社)を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

### - 3 - 5 血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にイソフルラン麻酔下で開腹し、腹大動脈から 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 2 に示す。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、網赤血球比、白血球数、白血球分類

### - 3 - 6 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にイソフルラン麻酔下で開腹し、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 2 に示す。

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

### - 3 - 7 病理学的検査

#### (1) 肉眼的観察

全動物について肉眼的に観察を行った。なお、定期解剖動物はイソフルラン麻酔下で腹大動脈より採血後、腹大動脈を切断し、放血することで安楽死させた。

#### (2) 臓器重量

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

測定臓器：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に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

なお、鼻腔については切歯の後端(レベル1)、切歯乳頭(レベル2)、第一臼歯の前端(レベル3)の3ヶ所(文献7)で切り出し(横断)、検査した。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓(大腿骨)、リンパ節(腋窩、鼠径等)、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸(十二指腸を含む)、大腸、肝臓、胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経(坐骨神経)、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨(胸骨、大腿骨)、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

### - 4 数値処理と統計方法

#### - 4 - 1 数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

体重はgを単位とし、小数点以下第1位まで測定し、表示した。

摂餌量はgを単位とし、給餌量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 2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。

#### - 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。

尿検査データについては、対照群と各投与群間で  $\chi^2$  検定を行った。

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。

各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、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。

## 試験成績

### - 1 生死状況

生死状況を TABLE A 1, 2 に示す。

- 雄 -

全群で動物の死亡は認められなかった。

- 雌 -

対照群で投与時の事故により 1 例の死亡が認められた。従って、対照群の有効動物数は 9 匹とした。

300 mg/kg 群で投与 4 日目 (1 週-5 日) に 1 例の死亡が認められた。その他の群では動物の死亡は認められなかった。

### - 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE B 1, 2 に示す。

- 雄 -

200 及び 300 mg/kg 群で、少数例に糞少量が散見された。その他の投与群では被験物質投与の影響と考えられる異常所見は認められなかった。

- 雌 -

300 mg/kg 群の死亡した 1 例で、投与 3 日目 (1 週-4 日) に自発運動量の減少、不整呼吸及び体温低下が認められた。

200 及び 300 mg/kg 群で、少数例に糞少量が散見された。その他の投与群では被験物質投与の影響と考えられる異常所見は認められなかった。

### - 3 体重

体重の推移を TABLE C 1~4 及び FIGURE 1, 2 に示す。

- 雄 -

300 mg/kg 群で投与 2 週目に体重の有意な高値が認められたが、投与群の体重は、ほぼ対照群と同様に推移した。

投与群の最終体重は対照群に対して、30 mg/kg 群：101 %、100 mg/kg 群：102 %、200 mg/kg 群：98 %、300 mg/kg 群：100 %であった。

- 雌 -

200 mg/kg 群で投与 2 週目に体重の有意な高値が認められたが、投与群の体重は、ほぼ対照群と同様に推移した。

投与群の最終体重は対照群に対して、30 mg/kg 群：102 %、100 mg/kg 群：101 %、200 mg/kg 群：100 %、300 mg/kg 群：101 %であった。

#### - 4 摂餌量

摂餌量の推移を TABLE D 1～4 及び FIGURE 3, 4 に示す。

##### - 雄 -

300 mg/kg 群で投与 1 週目から 3 週目にかけて摂餌量の高値が認められた。

投与期間を通しての 1 匹当たりの平均摂餌量は、対照群：3.4 g、30 mg/kg 群：3.4 g、100 mg/kg 群：3.4 g、200 mg/kg 群：3.5 g、300 mg/kg 群：3.8 g であった。

##### - 雌 -

300 mg/kg 群で投与期間を通して摂餌量の高値が認められ、100 及び 200 mg/kg 群でも摂餌量の高値が散見された。

投与期間を通しての 1 匹当たりの平均摂餌量は、対照群：3.1 g、30 mg/kg 群：2.9 g、100 mg/kg 群：3.1 g、200 mg/kg 群：3.5 g、300 mg/kg 群：3.7 g であった。

#### - 5 尿検査

尿検査の結果を TABLE E 1, 2 に示す。

##### - 雄 -

200 mg/kg 以上の群で尿蛋白の陽性度、及びケトン体の陽性例の減少が認められた。

##### - 雌 -

200 mg/kg 以上の群でケトン体の陽性例の減少、300 mg/kg 群で尿蛋白の陽性度の減少が認められた。

#### - 6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示す。

##### - 雄 -

200 mg/kg 以上の群で血小板数及び白血球数の高値、並びに MCV の低値、300 mg/kg 群でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCH の低値が認められた。

なお、200 mg/kg 群で単球比が統計学的に有意な低値を示したが、投与用量に対応した変化ではないことから、毒性学的意義は乏しいと考えられた。

##### - 雌 -

300 mg/kg 群で白血球数の高値が認められた。

なお、100 及び 200 mg/kg 群で MCH が統計学的に有意な低値を示したが、ごく軽度の

変化であり、毒性学的意義は乏しいと考えられた。

#### - 7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示す。

- 雄 -

30 mg/kg 以上の群で総コレステロール及びリン脂質の高値、100 mg/kg 以上の群でトリグリセライドの高値、並びにアルブミンの低値、200 mg/kg 以上の群で $\gamma$ -GTP 及びカルシウムの高値、並びに A/G 比の低値、300 mg/kg 群で LDH、尿素窒素及び無機リンの高値、並びに、グルコース及びクロールの低値が認められた。また、ALP は 30、100 及び 200 mg/kg で統計学的に有意な高値を示したが、300 mg/kg 群も高値傾向であった。

なお、100 mg/kg 群で総蛋白と尿素窒素が統計学的に有意な低値を示したが、投与用量に対応した変化ではないことから偶発的な変動と考えられた。また、300 mg/kg 群で総ビリルビン及び AST が有意な低値を示したが、低下性の変化であることから毒性学的意義は乏しいと考えられた。

- 雌 -

30 mg/kg 以上の群で総コレステロール及びリン脂質の高値、200 mg/kg 以上の群で総蛋白、トリグリセライド、 $\gamma$ -GTP、尿素窒素及びカルシウムの高値、並びに A/G 比及びカリウムの低値、300 mg/kg 群で無機リンの高値が認められた。

なお、30 及び 100 mg/kg 群でグルコースが統計学的に有意な高値を示したが、投与用量に対応した変化ではないことから偶発的な変動と考えられた。また、300 mg/kg 群で AST が有意な低値を示したが、低下性の変化であることから毒性学的意義は乏しいと考えられた。

#### - 8 病理学的検査

##### - 8 - 1 肉眼的観察

定期解剖時の剖検観察所見を TABLE H 1~3 に示す。

- 雄 -

300 mg/kg 群で腎臓の淡色が 10 例、200 mg/kg 群で腎臓の淡色が 1 例に認められた。その他投与群では、被験物質投与の影響と考えられる所見はみられなかった。

- 雌 -

< 途中死亡動物：300 mg/kg 群 1 匹 >

300 mg/kg 群の途中死亡動物 1 例に、肝臓の淡色が認められた。

#### < 定期解剖動物 >

300 mg/kg 群で腎臓の淡色が 9 例に認められた。その他の投与群では、被験物質投与の影響と考えられる所見はみられなかった。

#### - 8 - 2 臓器重量

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

- 雄 -

100 mg/kg 以上の群で肝臓の実重量と体重比の高値、200 mg/kg 以上の群で脾臓の体重比の高値、300 mg/kg 群で脾臓の実重量の高値、並びに心臓の実重量と体重比の低値が認められた。

なお、200 mg/kg 群で副腎の実重量と体重比が有意な高値を示したが、投与用量に対応した変化ではなかった。

- 雌 -

30 mg/kg 以上の群で肝臓の実重量と体重比の高値、200 mg/kg 以上の群で腎臓の体重比の高値、300 mg/kg 群で腎臓の実重量の高値、並びに胸腺の実重量と体重比の低値、心臓の実重量の低値が認められた。

#### - 8 3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE K 1 ~ 3 に示す。

- 雄 -

被験物質投与による影響は、腎臓に認められた。

[ 300 mg/kg 群 : 10 匹 ]

腎臓では、近位尿細管の再生 ( 重度 ) が 10 例に認められ、有意な発生増加を示した。

[ 200 mg/kg 群 : 10 匹 ]

腎臓では、近位尿細管の再生 ( 軽度 ~ 重度 ) が 10 例に認められ、有意な発生増加を示した。

[ 100 mg/kg 群 : 10 匹 ]

腎臓では、近位尿細管の再生 ( 軽度 ~ 中等度 ) が 8 例に認められ、有意な発生増加を示した。

[ 30 mg/kg 群 : 10 匹 ]

被験物質投与の影響と考えられる所見の発生増加は認められなかった。

- 雌 -

被験物質投与による影響は、腎臓に認められた。なお、死亡動物（1例）では、腎臓、肝臓及び脾臓に影響がみられた。

<途中死亡動物>

[ 300 mg/kg 群 : 1 匹 ]

腎臓では、尿管壊死（中等度）が認められた。

肝臓では、脂肪変性（重度）が認められた。

脾臓では、萎縮（軽度）が認められた。

<定期解剖例>

[ 300 mg/kg 群 : 9 匹 ]

腎臓では、近位尿管の再生（中等度～重度）が9例に認められ、有意な発生増加を示した。

[ 200 mg/kg 群 : 10 匹 ]

腎臓では、近位尿管の再生（中等度）が10例に認められ、有意な発生増加を示した。

[ 100 mg/kg 群 : 10 匹 ]

腎臓では、近位尿管の再生（軽度）が3例に認められた。

[ 30 mg/kg 群 : 10 匹 ]

被験物質投与の影響と考えられる所見の発生増加は認められなかった。

## 考察及びまとめ

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの発がん性を検索する目的で、遺伝子改変マウス(p53ヘテロ欠損マウス)を用いた中期がん原性試験を実施するにあたり、その投与用量を決定するための予備試験として、C57BL/6Jマウスを用いた強制経口投与による4週間毒性試験を実施した。

対照群1群及び被験物質投与群4群の計5群(各群雌雄10匹)を設け、被験物質の投与用量は、0(媒体対照群)、30、100、200及び300 mg/kg BWとした。投与は雌雄のC57BL/6Jマウスにオリブ油に溶解した被験物質を4週間反復強制経口投与した。投与期間中、動物の一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定を行い、投与最終週に尿検査を行った。最終投与翌日に定期解剖を実施し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

### - 1 用量 - 反応関係

雄では全群に死亡は認められなかったが、雌の300 mg/kg群で投与4日目に1例の死亡が認められた。死亡例では、剖検観察で肝臓の淡色化がみられ、病理組織学的検査では腎臓の尿細管壊死(中等度)、肝臓の脂肪変性(重度)及び脾臓の萎縮(軽度)が認められ、腎臓病変による死亡と推察された。

一般状態観察では、生存した雌雄の200及び300 mg/kg群の少数例に糞少量が散見された。体重は媒体対照群と比較し、雄の300 mg/kg群及び雌の200 mg/kg群で投与2週目にやや高値であったが、試験終了時の最終体重に顕著な差はみられなかった。

被験物質投与による影響は、主に腎臓、肝臓及び血液/造血系に認められた。

腎臓への影響として、剖検観察では雌雄の300 mg/kg群で腎臓の淡色化が全例に、200 mg/kgでも雄の1例にみられ、雌の300 mg/kg群で腎臓の実重量及び体重比、200 mg/kg以上の群で体重比が高値を示した。また、病理組織学的検査では、雌雄の200 mg/kg以上の群で近位尿細管の再生が全例に、100 mg/kg群でも雄8例、雌3例にみられ、投与用量に対応してその程度は増強し、広範囲にみられた。血液生化学的検査では、尿素窒素の高値が雄の300 mg/kg群及び雌の200 mg/kg以上の群で認められた。

肝臓への影響として、雄の100 mg/kg以上の群及び雌の30 mg/kg以上の群で、肝臓の実重量と体重比の高値が認められたが、病理組織学的検査では変化はみられなかった。また、血液生化学的検査では、肝臓の障害性、脂質代謝等への影響を示唆する変化(雌雄に総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質及び $\gamma$ -GTPの高値、雄にLDH及びALPの高値等)が認められ、これらの影響は雌雄とも最低用量の30 mg/kgからみられた。

血液/造血系への影響を示唆する変化として、血液学的検査では、雄の300 mg/kg群でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値など、軽度の貧血を示す変化が認められた。

また、血小板数の高値（雄 200 mg/kg 以上の群）、白血球数の高値（雄 200 mg/kg 以上の群、雌 300 mg/kg 群）がみられた。更に、脾臓重量は雄の 300 mg/kg 群で実重量と体重比、200 mg/kg 以上の群で体重比が高値を示した。

その他、雌雄の 300 mg/kg 群で心臓重量の低値、雌の 300 mg/kg 群で胸腺重量の低値が認められたが、病理組織学的検査ではこれらの臓器に変化はみられなかった。また、雌雄で A/G 比の低値（200 mg/kg 以上）、無機リンの高値（300 mg/kg）及びカルシウムの高値（200 mg/kg 以上）、雄でアルブミンの低値（100 mg/kg 以上）、グルコースとクロールの低値（300 mg/kg）、雌で総蛋白の高値及びカリウムの低値（200 mg/kg 以上）が認められた。

## - 2 中期がん原性試験の投与用量設定

本試験の結果より、4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの毒性標的器官は主に腎臓、肝臓及び血液/造血系であると考えられた。雌の 300 mg/kg 群では、腎臓病変による死亡が 1 例認められ、雌雄の 300 mg/kg 群に認められた近位尿細管の再生像は広範囲にみられ、尿細管への傷害も広範囲に起きたと判断できることから、300 mg/kg は 26 週間試験の最高用量としては高すぎると考えられた。一方、200 mg/kg 群では、近位尿細管の再生像は全例にみられるものの、その程度は減弱し、体重増加の抑制はみられなかった。また、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量への影響も減弱していることから、200 mg/kg は 26 週間の投与に耐えうる用量であると判断した。従って、中期がん原性試験の高用量は 200 mg/kg BW に設定し、公比 2 で除して中用量を 100 mg/kg BW、低用量を 50 mg/kg BW とした。

陽性対照物質（2-Methoxy-5-methylaniline）の投与方法及び投与用量は、ILSI/HESI 国際共同検証試験（文献 4）の方法を参考に、4 週間毒性試験（試験番号 4602）を実施し、その結果を基に設定した。4 週間毒性試験では、雌雄の C57BL/6J マウスを用いて、1 群当たり各 5 匹の動物に 0（オリブ油）、200 及び 400 mg/kg の用量で、毎日、4 週間強制経口投与した。その結果、200 mg/kg 群に対して 400 mg/kg 群では、体重推移、摂餌量及び血液学的検査結果に顕著な差は認められなかったが、雌雄の肝臓及び脾臓重量、血液生化学的検査には差がみられた。また、病理組織学的検査で、200 mg/kg 群の肝臓に媒体対照群との違いを検出できなかったが、400 mg/kg 群には肝臓の肝小葉中間帯の変性壊死が認められた。この肝臓病変では 400 mg/kg の用量は 26 週間の投与に耐えることができない用量であると判断した。従って、陽性対照物質の投与用量は 300 mg/kg BW とした。

## 文献

- 1) Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 1995. OECD SIDS. PHENOL, 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL)-. SIDS Initial Assessment Report for SIAM3. <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/140669.pdf> [accessed 2017/04/26]
- 2) 東京化成工業(株). 2017. 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol 安全データシート.
- 3) 独立行政法人 産業技術総合研究所 有機化合物スペクトルデータベース (SDBS) . p-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol. [accessed 2017/04/26] .
- 4) 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.
- 5) 「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.
- 6) 阿部正信 . 1986 . 長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立. *薬理と治療* 14: 7285-7302.
- 7) Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. *Exp Toxic Pathol.* 49: 97-104.

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。

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの C57BL/6J マウスを  
用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期がん原性試験予備試験)  
報告書

試験番号 : 0895

## TABLES

## TABLES

TABLE	A 1	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: MALE
TABLE	A 2	SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: FEMALE
TABLE	B 1	CLINICAL OBSERVATION: MALE
TABLE	B 2	CLINICAL OBSERVATION: FEMALE
TABLE	C 1	BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : MALE
TABLE	C 2	BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : FEMALE
TABLE	C 3	BODY WEIGHT CHANGES: MALE
TABLE	C 4	BODY WEIGHT CHANGES: FEMALE
TABLE	D 1	FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: MALE
TABLE	D 2	FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL NUMBERS: FEMALE
TABLE	D 3	FOOD CONSUMPTION CHANGES: MALE
TABLE	D 4	FOOD CONSUMPTION CHANGES: FEMALE
TABLE	E 1	URINALYSIS: MALE
TABLE	E 2	URINALYSIS: FEMALE
TABLE	F 1	HEMATOLOGY: MALE
TABLE	F 2	HEMATOLOGY: FEMALE
TABLE	G 1	BIOCHEMISTRY: MALE
TABLE	G 2	BIOCHEMISTRY: FEMALE

## TABLES (CONTINUED)

TABLE	H 1	GROSS FINDINGS: MALE ( ALL ANIMALS )
TABLE	H 2	GROSS FINDINGS: FEMALE ( DEAD AND MORIBUND ANIMALS )
TABLE	H3	GROSS FINDINGS: FEMALE ( SACRIFICED ANIMALS )
TABLE	I 1	ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE: MALE
TABLE	I 2	ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE: FEMALE
TABLE	J 1	ORGAN WEIGHT, RELATIVE: MALE
TABLE	J 2	ORGAN WEIGHT, RELATIVE: FEMALE
TABLE	K 1	HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: NON-NEOPLASTIC LESIONS : MALE ( ALL ANIMALS )
TABLE	K 2	HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: NON-NEOPLASTIC LESIONS : FEMALE ( DEAD AND MORIBUND ANIMALS )
TABLE	K 3	HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS: NON-NEOPLASTIC LESIONS : FEMALE ( SACRIFICED ANIMALS )

TABLE A1

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 4  
 SEX : MALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Days)													
		0-0	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	1-7	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6
Control	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
30 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
100 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
200 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
300 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0

Number of survival/ Number of effective animals  
 Survival rate (%)

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 4  
 SEX : MALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Days)													
		2-7	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5	4-6
Control	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
30 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
100 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
200 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
300 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0

Number of survival/ Number of effective animals  
 Survival rate (%)

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1 4  
SEX : MALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Days) 4-7
Control	10	10/10 100.0
30 mg/kg	10	10/10 100.0
100 mg/kg	10	10/10 100.0
200 mg/kg	10	10/10 100.0
300 mg/kg	10	10/10 100.0

Number of survival/ Number of effective animals  
Survival rate(%)

**TABLE A2**

**SURVIVAL ANIMAL NUMBERS : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 5  
 SEX : FEMALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Days)													
		0-0	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	1-7	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6
Control	10	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0
30 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
100 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
200 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
300 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	9/10 90.0								

Number of survival/ Number of effective animals  
 Survival rate (%)

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 5  
 SEX : FEMALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Days)													
		2-7	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5	4-6
Control	10	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0	9/9 100.0
30 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
100 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
200 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0	10/10 100.0
300 mg/kg	10	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0	9/10 90.0

Number of survival/ Number of effective animals  
 Survival rate (%)

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1 5  
SEX : FEMALE

SURVIVAL ANIMAL NUMBERS

Group Name	Animals At start	Administration (Days)	
		4-7	5-1
Control	10	9/ 9 100.0	9/ 9 100.0
30 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0
100 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0
200 mg/kg	10	10/10 100.0	10/10 100.0
300 mg/kg	10	9/10 90.0	9/10 90.0

Number of survival/ Number of effective animals  
Survival rate (%)

**TABLE B1**

**CLINICAL OBSERVATION : MALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : MALE

PAGE : 1

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		1-1 1	1-1 2	1-2 1	1-2 2	1-3 1	1-3 2	1-4 1	1-4 2	1-5 1	1-5 2	1-6 1	1-6 2	1-7 1	1-7 2
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	30 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	300 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

(HAN190)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : MALE

PAGE : 2

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		2-1 1	2-1 2	2-2 1	2-2 2	2-3 1	2-3 2	2-4 1	2-4 2	2-5 1	2-5 2	2-6 1	2-6 2	2-7 1	2-7 2
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	30 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10	9	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10
	300 mg/kg	10	10	9	9	9	9	10	10	10	10	9	10	10	10

(HAN190)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : MALE

PAGE : 3

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		3-1 1	3-1 2	3-2 1	3-2 2	3-3 1	3-3 2	3-4 1	3-4 2	3-5 1	3-5 2	3-6 1	3-6 2	3-7 1	3-7 2
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	30 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	300 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

(HAN190)

BAIS5

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : MALE

PAGE : 4

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		4-1 1	4-1 2	4-2 1	4-2 2	4-3 1	4-3 2	4-4 1	4-4 2	4-5 1	4-5 2	4-6 1	4-6 2	4-7 1	4-7 2
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	30 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	300 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

(HAN190)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
ALL ANIMALS

SEX : MALE

PAGE : 5

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day
		5-1
		1
OLIGO-STOOL	Control	0
	30 mg/kg	0
	100 mg/kg	0
	200 mg/kg	0
	300 mg/kg	0
NON REMARKABLE	Control	10
	30 mg/kg	10
	100 mg/kg	10
	200 mg/kg	10
	300 mg/kg	10

(HAN190)

BAIS 5

**TABLE B2**

**CLINICAL OBSERVATION : FEMALE**



STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : C 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : FEMALE

PAGE : 2

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		2-1 1	2-1 2	2-2 1	2-2 2	2-3 1	2-3 2	2-4 1	2-4 2	2-5 1	2-5 2	2-6 1	2-6 2	2-7 1	2-7 2
DEATH	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	1	1	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	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	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
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SMALL STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	1	1	2
SUBNORMAL TEMP	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	30 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10
	300 mg/kg	9	9	9	9	9	8	9	9	9	8	7	8	7	7

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : C 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : FEMALE

PAGE : 3

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		3-1 1	3-1 2	3-2 1	3-2 2	3-3 1	3-3 2	3-4 1	3-4 2	3-5 1	3-5 2	3-6 1	3-6 2	3-7 1	3-7 2
DEATH	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	1	1	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	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	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
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SMALL STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
	300 mg/kg	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
SUBNORMAL TEMP	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	30 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10	9	9	9	9	9	10	10	9	9	10	10
	300 mg/kg	8	8	8	8	8	8	8	8	9	9	9	9	9	9

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : C 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

SEX : FEMALE

PAGE : 4

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day													
		4-1 1	4-1 2	4-2 1	4-2 2	4-3 1	4-3 2	4-4 1	4-4 2	4-5 1	4-5 2	4-6 1	4-6 2	4-7 1	4-7 2
DEATH	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	1	1	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	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	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
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SMALL STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
SUBNORMAL TEMP	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	30 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	300 mg/kg	9	9	9	9	9	9	9	9	8	8	9	9	9	9

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : C 5

CLINICAL OBSERVATION (SUMMARY)  
ALL ANIMALS

SEX : FEMALE

PAGE : 5

Clinical sign	Group Name	Administration Week-day		
		5-1 1	5-1 2	5-2 1
DEATH	Control	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0
	300 mg/kg	1	1	1
LOCOMOTOR MOVEMENT DECR	Control	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0
IRREGULAR BREATHING	Control	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0
SMALL STOOL	Control	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0
OLIGO-STOOL	Control	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0
SUBNORMAL TEMP	Control	0	0	0
	30 mg/kg	0	0	0
	100 mg/kg	0	0	0
	200 mg/kg	0	0	0
	300 mg/kg	0	0	0
NON REMARKABLE	Control	9	9	9
	30 mg/kg	10	10	10
	100 mg/kg	10	10	10
	200 mg/kg	10	10	10
	300 mg/kg	9	9	9

TABLE C1

BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL

NUMBERS : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 5  
 SEX : MALE

MEAN BODY WEIGHTS AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		30 mg/kg			100 mg/kg			200 mg/kg			300 mg/kg		
	Av. Wt. <10>	No. of Surviv. <10>	Av. Wt. <10>	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. Wt. <10>	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. Wt. <10>	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. Wt. <10>	% of cont. <10>	No. of Surviv.
0-0	24.1 (10)	10/10	24.1 (10)	100	10/10	24.1 (10)	100	10/10	24.1 (10)	100	10/10	24.1 (10)	100	10/10
1-1	23.7 (10)	10/10	23.7 (10)	100	10/10	23.9 (10)	101	10/10	23.8 (10)	100	10/10	23.6 (10)	100	10/10
2-1	23.7 (10)	10/10	24.1 (10)	102	10/10	24.4 (10)	103	10/10	24.7 (10)	104	10/10	25.4 (10)	107	10/10
3-1	24.3 (10)	10/10	24.4 (10)	100	10/10	25.0 (10)	103	10/10	25.0 (10)	103	10/10	25.4 (10)	105	10/10
4-1	25.2 (10)	10/10	25.2 (10)	100	10/10	25.7 (10)	102	10/10	25.2 (10)	100	10/10	25.5 (10)	101	10/10
4-7	25.6 (10)	10/10	25.9 (10)	101	10/10	26.1 (10)	102	10/10	25.2 (10)	98	10/10	25.5 (10)	100	10/10

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

TABLE C2

BODY WEIGHT CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL

NUMBERS : FEMALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 5  
 SEX : FEMALE

MEAN BODY WEIGHTS AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		30 mg/kg			100 mg/kg			200 mg/kg			300 mg/kg		
	Av. Wt.	No. of Surviv. < 9>	Av. Wt.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. Wt.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. Wt.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. Wt.	% of cont. <10>	No. of Surviv.
0-0	19.7 ( 9)	9/ 9	19.7 (10)	100	10/10	19.7 (10)	100	10/10	19.7 (10)	100	10/10	19.7 (10)	100	10/10
1-2	19.3 ( 9)	9/ 9	19.4 (10)	101	10/10	19.4 (10)	101	10/10	19.3 (10)	100	10/10	19.5 (10)	101	10/10
2-2	19.9 ( 9)	9/ 9	19.9 (10)	100	10/10	20.1 (10)	101	10/10	21.1 (10)	106	10/10	20.6 ( 9)	104	9/10
3-2	20.1 ( 9)	9/ 9	20.0 (10)	100	10/10	20.1 (10)	100	10/10	20.6 (10)	102	10/10	20.8 ( 9)	103	9/10
4-2	20.5 ( 9)	9/ 9	20.7 (10)	101	10/10	20.8 (10)	101	10/10	21.0 (10)	102	10/10	21.2 ( 9)	103	9/10
5-1	20.8 ( 9)	9/ 9	21.3 (10)	102	10/10	21.0 (10)	101	10/10	20.9 (10)	100	10/10	21.1 ( 9)	101	9/10

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

TABLE C3

BODY WEIGHT CHANGES : MALE

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
UNIT : g  
SEX : MALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)

PAGE: 1

Group Name	Administration week - day					
	0-0	1-1	2-1	3-1	4-1	4-7
Control	24.1 ± 1.3	23.7 ± 1.2	23.7 ± 1.1	24.3 ± 0.9	25.2 ± 0.9	25.6 ± 1.1
30 mg/kg	24.1 ± 1.3	23.7 ± 1.3	24.1 ± 1.2	24.4 ± 1.0	25.2 ± 1.1	25.9 ± 1.3
100 mg/kg	24.1 ± 1.3	23.9 ± 1.3	24.4 ± 1.1	25.0 ± 0.9	25.7 ± 0.9	26.1 ± 1.0
200 mg/kg	24.1 ± 1.3	23.8 ± 1.1	24.7 ± 1.0	25.0 ± 1.0	25.2 ± 1.1	25.2 ± 1.0
300 mg/kg	24.1 ± 1.3	23.6 ± 1.3	25.4 ± 1.1 **	25.4 ± 0.9	25.5 ± 1.0	25.5 ± 0.9

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

**TABLE C4**

**BODY WEIGHT CHANGES : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
UNIT : g  
SEX : FEMALE

BODY WEIGHT CHANGES (SUMMARY)

PAGE: 2

Group Name	Administration week - day					
	0-0	1-2	2-2	3-2	4-2	5-1
Control	19.7 ± 0.9	19.3 ± 0.7	19.9 ± 1.1	20.1 ± 1.0	20.5 ± 0.8	20.8 ± 1.1
30 mg/kg	19.7 ± 0.8	19.4 ± 0.8	19.9 ± 0.6	20.0 ± 0.9	20.7 ± 0.8	21.3 ± 1.1
100 mg/kg	19.7 ± 0.8	19.4 ± 0.7	20.1 ± 0.7	20.1 ± 1.0	20.8 ± 0.8	21.0 ± 1.1
200 mg/kg	19.7 ± 0.9	19.3 ± 1.1	21.1 ± 1.0 *	20.6 ± 1.6	21.0 ± 1.1	20.9 ± 1.4
300 mg/kg	19.7 ± 0.9	19.6 ± 0.8	20.6 ± 1.2	20.8 ± 1.2	21.2 ± 1.1	21.1 ± 1.8

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

TABLE D1

FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL  
NUMBERS : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 5  
 SEX : MALE

MEAN FOOD CONSUMPTION (FC) AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		30 mg/kg			100 mg/kg			200 mg/kg			300 mg/kg		
	Av. FC.	No. of Surviv. <10>	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.
2-1	3.5 (10)	10/10	3.5 (10)	100	10/10	3.5 (10)	100	10/10	3.5 (10)	100	10/10	4.0 (10)	114	10/10
3-1	3.3 (10)	10/10	3.3 (10)	100	10/10	3.4 (10)	103	10/10	3.7 (10)	112	10/10	4.0 (10)	121	10/10
4-1	3.4 (10)	10/10	3.4 (10)	100	10/10	3.4 (10)	100	10/10	3.4 (10)	100	10/10	3.9 (10)	115	10/10
4-7	3.3 (10)	10/10	3.3 (10)	100	10/10	3.3 (10)	100	10/10	3.4 (10)	103	10/10	3.5 (10)	106	10/10

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

(B10040)

BAIS 5

**TABLE D2**

**FOOD CONSUMPTION CHANGES AND SURVIVAL ANIMAL**

**NUMBERS : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 5  
 SEX : FEMALE

MEAN FOOD CONSUMPTION (FC) AND SURVIVAL

Week-Day on Study	Control		30 mg/kg			100 mg/kg			200 mg/kg			300 mg/kg		
	Av. FC.	No. of Surviv. < 9>	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.	Av. FC.	% of cont. <10>	No. of Surviv.
2-1	3.1 ( 9)	9/ 9	3.1 (10)	100	10/10	3.3 (10)	106	10/10	3.4 (10)	110	10/10	3.5 ( 9)	113	9/10
3-1	3.1 ( 9)	9/ 9	2.9 (10)	94	10/10	3.1 (10)	100	10/10	3.7 (10)	119	10/10	3.7 ( 9)	119	9/10
4-1	3.1 ( 9)	9/ 9	2.9 (10)	94	10/10	3.0 (10)	97	10/10	3.7 (10)	119	10/10	3.9 ( 9)	126	9/10
4-7	2.9 ( 9)	9/ 9	2.9 (10)	100	10/10	2.9 (10)	100	10/10	3.1 (10)	107	10/10	3.5 ( 9)	121	9/10

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

(B10040)

BAIS 5

TABLE D3

FOOD CONSUMPTION CHANGES : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 UNIT : g  
 REPORT TYPE : A1 4  
 SEX : MALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day (effective)			
	2-1 (6)	3-1 (6)	4-1 (6)	4-7 (5)
Control	3.5 ± 0.4	3.3 ± 0.2	3.4 ± 0.2	3.3 ± 0.2
30 mg/kg	3.5 ± 0.2	3.3 ± 0.4	3.4 ± 0.3	3.3 ± 0.3
100 mg/kg	3.5 ± 0.4	3.4 ± 0.3	3.4 ± 0.3	3.3 ± 0.1
200 mg/kg	3.5 ± 0.3	3.7 ± 0.5	3.4 ± 0.4	3.4 ± 0.4
300 mg/kg	4.0 ± 0.4**	4.0 ± 0.4**	3.9 ± 0.6*	3.5 ± 0.5

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

Test of Dunnett

**TABLE D4**

**FOOD CONSUMPTION CHANGES : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
UNIT : g  
REPORT TYPE : A1 4  
SEX : FEMALE

FOOD CONSUMPTION CHANGES (SUMMARY)  
ALL ANIMALS

Group Name	Administration week-day (effective)			
	2-1 (6)	3-1 (6)	4-1 (6)	4-7 (5)
Control	3.1 ± 0.4	3.1 ± 0.3	3.1 ± 0.3	2.9 ± 0.4
30 mg/kg	3.1 ± 0.2	2.9 ± 0.3	2.9 ± 0.3	2.9 ± 0.3
100 mg/kg	3.3 ± 0.2*	3.1 ± 0.3	3.0 ± 0.3	2.9 ± 0.4
200 mg/kg	3.4 ± 0.5	3.7 ± 0.5**	3.7 ± 0.5*	3.1 ± 0.6
300 mg/kg	3.5 ± 0.5*	3.7 ± 0.7*	3.9 ± 0.9*	3.5 ± 0.5*

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

Test of Dunnett

TABLE E1

URINALYSIS : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 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+	-	±	
Control	9	0	0	0	0	0	1	8	0	4	4	1	0	0	9	0	0	0	0	0	2	3	3	1	0	0	9	0	0	0	0		
30 mg/kg	10	0	0	0	0	0	3	7	0	0	8	2	0	0	10	0	0	0	0	0	1	3	6	0	0	0	10	0	0	0	0		
100 mg/kg	10	0	0	0	0	0	0	10	0	4	5	1	0	0	10	0	0	0	0	0	4	3	2	1	0	0	10	0	0	0	0		
200 mg/kg	10	0	0	0	0	0	0	10	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0		
300 mg/kg	8	0	0	0	0	2	2	4	7	1	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0		

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

Test of CHI SQUARE

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
MEASURE. TIME : 1  
SEX : MALE

URINALYSIS

REPORT TYPE : A1

PAGE : 2

---

Group Name	NO. of Animals	Urobilinogen					CHI
		±	+	2+	3+	4+	
Control	9	9	0	0	0	0	
30 mg/kg	10	10	0	0	0	0	
100 mg/kg	10	10	0	0	0	0	
200 mg/kg	10	10	0	0	0	0	
300 mg/kg	8	8	0	0	0	0	

---

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

Test of CHI SQUARE

(HCL101)

BAIS 5

**TABLE E2**

**URINALYSIS : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 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+	-		±	+	2+
Control	9	0	0	3	1	2	1	2		0	3	4	2	0	0		9	0	0	0	0	0		0	4	3	2	0	0		9	0	0	0	0
30 mg/kg	10	0	0	0	2	1	6	1		0	2	7	1	0	0		10	0	0	0	0	0		0	4	5	1	0	0		10	0	0	0	0
100 mg/kg	10	0	0	0	1	1	0	8		1	5	3	1	0	0		10	0	0	0	0	0		2	7	0	1	0	0		10	0	0	0	0
200 mg/kg	10	0	0	0	1	0	3	6		3	5	2	0	0	0		10	0	0	0	0	0		7	3	0	0	0	0	**	10	0	0	0	0
300 mg/kg	9	0	0	1	0	1	4	3		7	2	0	0	0	0	**	9	0	0	0	0	0		9	0	0	0	0	0	**	9	0	0	0	0

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

Test of CHI SQUARE

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
MEASURE TIME : 1  
SEX : FEMALE

URINALYSIS

REPORT TYPE : A1

Group Name	NO. of Animals	Urobilinogen					CHI
		±	+	2+	3+	4+	
Control	9	9	0	0	0	0	
30 mg/kg	10	10	0	0	0	0	
100 mg/kg	10	10	0	0	0	0	
200 mg/kg	10	10	0	0	0	0	
300 mg/kg	9	9	0	0	0	0	

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

Test of CHI SQUARE

TABLE F1

HEMATOLOGY : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

PAGE : 1

Group Name	NO. of Animals	RED BLOOD CELL 10 <sup>6</sup> /μℓ		HEMOGLOBIN g/dℓ		HEMATOCRIT %		MCV f ℓ		MCH p g		MCHC g/dℓ		PLATELET 10 <sup>9</sup> /μℓ	
Control	10	10.38±	0.33	16.2±	0.4	50.2±	1.4	48.4±	0.4	15.7±	0.2	32.3±	0.4	1329±	163
30 mg/kg	10	10.31±	0.11	16.1±	0.3	50.1±	0.8	48.6±	0.4	15.6±	0.2	32.2±	0.5	1381±	26
100 mg/kg	10	10.33±	0.27	16.1±	0.4	49.8±	1.4	48.2±	0.5	15.6±	0.2	32.4±	0.4	1420±	113
200 mg/kg	9	10.35±	0.14	16.1±	0.2	49.4±	0.6	47.8±	0.3*	15.5±	0.2	32.5±	0.4	1487±	68**
300 mg/kg	10	10.10±	0.27	15.5±	0.4**	47.5±	1.3**	47.0±	0.6**	15.3±	0.1**	32.6±	0.4	1510±	97**

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

Test of Dunnett

(HCL070)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
MEASURE. TIME : 1  
SEX : MALE

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

PAGE : 2

Group Name	NO. of Animals	RETICULOCYTE %
Control	10	2.7± 0.2
30 mg/kg	10	2.5± 0.3
100 mg/kg	10	2.6± 0.2
200 mg/kg	9	2.4± 0.2
300 mg/kg	10	2.5± 0.2

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

Test of Dunnett

(HCL070)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE

REPORT TYPE : A1

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

Group Name	NO. of Animals	WBC		Differential		WBC (%)		MONO		EOSINO		BASO		OTHER	
		10 <sup>9</sup> /μl		NEUTRO		LYMPHO									
Control	10	1.36±	0.40	14.2±	4.6	82.2±	6.0	2.6±	1.8	0.8±	0.4	0.1±	0.1	0.1±	0.1
30 mg/kg	10	1.16±	0.44	16.8±	5.7	79.1±	6.3	2.8±	1.3	1.2±	0.4	0.0±	0.0	0.2±	0.2
100 mg/kg	10	1.20±	0.44	16.5±	6.4	80.4±	7.3	2.0±	1.3	1.0±	0.9	0.1±	0.1	0.1±	0.1
200 mg/kg	9	1.92±	0.50*	14.6±	4.6	83.6±	5.2	1.0±	0.5*	0.6±	0.4	0.1±	0.1	0.1±	0.1
300 mg/kg	10	3.48±	2.63**	19.2±	7.5	78.0±	6.9	2.1±	3.0	0.5±	0.2	0.0±	0.1	0.1±	0.2

Significant difference ; \* : P ≤ 0.05

\*\* : P ≤ 0.01

Test of Dunnett

TABLE F2

HEMATOLOGY : FEMALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

Group Name	NO. of Animals	RED BLOOD CELL		HEMOGLOBIN		HEMATOCRIT		MCV		MCH		MCHC		PLATELET	
		$10^6/\mu\ell$		g/dl		%		f l		pg		g/dl	$10^3/\mu\ell$		
Control	9	10.04±	0.26	16.1±	0.3	48.7±	1.3	48.5±	1.5	16.0±	0.4	33.0±	0.4	1146±	168
30 mg/kg	10	10.24±	0.24	16.3±	0.4	49.5±	1.4	48.4±	0.7	15.9±	0.3	32.8±	0.7	1244±	69
100 mg/kg	10	10.29±	0.18	16.2±	0.2	49.2±	1.0	47.9±	0.6	15.7±	0.2*	32.9±	0.4	1279±	80
200 mg/kg	10	10.22±	0.24	16.0±	0.4	49.2±	0.9	48.1±	0.8	15.7±	0.2*	32.6±	0.4	1276±	85
300 mg/kg	9	9.97±	0.33	15.7±	0.4	47.4±	1.0	47.6±	1.0	15.8±	0.3	33.1±	0.6	1200±	179

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

\*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
MEASURE. TIME : 1  
SEX : FEMALE

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

PAGE : 5

Group Name	NO. of Animals	RETICULOCYTE %	
Control	9	2.9±	0.6
30 mg/kg	10	2.9±	0.2
100 mg/kg	10	2.7±	0.4
200 mg/kg	10	2.8±	0.4
300 mg/kg	9	3.2±	0.5

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

Test of Dunnett

(HCL070)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

HEMATOLOGY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

Group Name	NO. of Animals	WBC		Differential		WBC (%)		MONO		EOSINO		BASO		OTHER	
		$10^9/\mu\ell$		NEUTRO		LYMPHO									
Control	9	2.16±	1.89	14.6±	5.5	80.6±	4.7	3.4±	2.8	1.1±	0.7	0.1±	0.1	0.2±	0.3
30 mg/kg	10	1.66±	0.75	13.2±	5.6	83.0±	6.5	2.6±	1.5	0.9±	0.7	0.2±	0.2	0.1±	0.1
100 mg/kg	10	1.40±	0.61	15.7±	9.9	80.7±	10.8	2.2±	1.2	1.3±	0.9	0.1±	0.1	0.1±	0.1
200 mg/kg	10	2.68±	1.10	13.0±	4.4	84.1±	4.1	1.6±	0.6	1.0±	0.6	0.1±	0.1	0.2±	0.2
300 mg/kg	9	3.37±	1.60*	13.7±	5.6	83.5±	6.0	1.6±	1.0	0.9±	0.3	0.0±	0.1	0.3±	0.2

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

\*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

TABLE G1

BIOCHEMISTRY : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

PAGE : 1

Group Name	NO. of Animals	TOTAL PROTEIN		ALBUMIN		A/G RATIO		T-BILIRUBIN		GLUCOSE		T-CHOLESTEROL		TRIGLYCERIDE	
		g/dl		g/dl				mg/dl		mg/dl		mg/dl		mg/dl	
Control	10	5.6±	0.1	3.2±	0.1	1.3±	0.1	0.07±	0.01	270±	32	90±	12	22±	8
30 mg/kg	10	5.5±	0.1	3.1±	0.1	1.3±	0.1	0.08±	0.01	275±	19	101±	5*	28±	11
100 mg/kg	10	5.4±	0.2*	3.1±	0.1*	1.3±	0.1	0.08±	0.01	264±	37	105±	11**	38±	17*
200 mg/kg	10	5.5±	0.1	3.0±	0.0**	1.2±	0.1**	0.06±	0.01	244±	35	138±	10**	53±	11**
300 mg/kg	10	5.6±	0.2	3.0±	0.1**	1.2±	0.1**	0.05±	0.01**	226±	21**	170±	10**	63±	12**

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

Test of Dunnett

(HCL074)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

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	10	187±	20	51±	17	17±	10	159±	34	368±	43	0.7±	0.3	70±	16
30 mg/kg	10	210±	12*	44±	5	14±	2	146±	26	444±	60**	0.6±	0.3	69±	17
100 mg/kg	10	215±	18**	215±	530	28±	40	471±	1034	501±	39**	0.8±	0.4	901±	2577
200 mg/kg	10	260±	17**	41±	10	15±	6	181±	38	438±	44**	2.3±	0.7**	71±	22
300 mg/kg	10	299±	18**	40±	11*	18±	11	230±	51**	409±	42	4.3±	0.9**	88±	39

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

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : MALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

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	10	37.5±	4.6	152±	3	4.0±	0.2	116±	2	9.2±	0.2	6.2±	1.0
30 mg/kg	10	36.9±	6.4	153±	2	4.0±	0.2	116±	2	9.2±	0.1	6.3±	1.1
100 mg/kg	10	31.2±	2.5*	153±	2	3.9±	0.3	116±	3	9.1±	0.3	6.2±	1.3
200 mg/kg	10	42.4±	5.8	153±	2	3.8±	0.2	113±	3	9.7±	0.4**	6.4±	1.4
300 mg/kg	10	55.2±	6.2**	152±	2	3.8±	0.2	109±	5**	10.4±	0.3**	8.3±	1.1**

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

Test of Dunnett

**TABLE G2**

**BIOCHEMISTRY : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

PAGE : 4

Group Name	NO. of Animals	TOTAL PROTEIN		ALBUMIN		A/G RATIO		T-BILIRUBIN		GLUCOSE		T-CHOLESTEROL		TRIGLYCERIDE	
		g/dl		g/dl				mg/dl		mg/dl		mg/dl		mg/dl	
Control	9	5.2±	0.3	3.3±	0.2	1.7±	0.1	0.10±	0.05	200±	31	72±	14	18±	8
30 mg/kg	10	5.4±	0.2	3.4±	0.1	1.8±	0.1	0.07±	0.04	245±	23**	87±	6**	23±	6
100 mg/kg	10	5.3±	0.2	3.3±	0.1	1.7±	0.1	0.06±	0.01	247±	27**	88±	5**	26±	10
200 mg/kg	10	5.5±	0.2*	3.3±	0.1	1.5±	0.1**	0.07±	0.01	202±	22	122±	12**	51±	15**
300 mg/kg	9	5.5±	0.3*	3.2±	0.1	1.4±	0.1**	0.07±	0.01	219±	24	145±	22**	50±	17**

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

\*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

(HCL074)

BAIS 5

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

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	9	150±	27	69±	35	20±	6	187±	44	485±	78	0.3±	0.7	113±	119
30 mg/kg	10	180±	11**	71±	33	33±	23	181±	60	538±	56	0.1±	0.2	73±	14
100 mg/kg	10	184±	11**	63±	16	23±	9	153±	29	551±	49	0.0±	0.1	75±	20
200 mg/kg	10	239±	25**	51±	12	24±	14	204±	30	472±	61	3.3±	1.2**	73±	9
300 mg/kg	9	263±	44**	38±	5**	14±	5	185±	23	518±	97	4.6±	1.8**	67±	15

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

\*\* :  $P \leq 0.01$

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 MEASURE. TIME : 1  
 SEX : FEMALE

BIOCHEMISTRY (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS ( 5W)

REPORT TYPE : A1

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	9	27.2±	4.5	154±	2	3.8±	0.2	115±	6	8.9±	0.2	6.4±	1.5
30 mg/kg	10	27.3±	2.7	154±	2	3.7±	0.2	114±	5	8.9±	0.3	6.6±	1.4
100 mg/kg	10	27.1±	3.0	154±	2	3.6±	0.3	114±	6	8.8±	0.2	6.4±	1.3
200 mg/kg	10	40.4±	5.8**	152±	3	3.5±	0.3*	111±	4	9.5±	0.3**	7.5±	1.4
300 mg/kg	9	42.0±	6.3**	151±	4	3.5±	0.3*	110±	6	9.8±	0.4**	8.5±	1.1**

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

Test of Dunnett

TABLE H1

GROSS FINDINGS : MALE

( ALL ANIMALS )

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : MALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
ALL ANIMALS (0- 5W)

Organ	Findings	Group Name NO. of Animals	Control 10 (%)	30 mg/kg 10 (%)	100 mg/kg 10 (%)	200 mg/kg 10 (%)
spleen	black zone		2 (20)	3 (30)	1 (10)	1 (10)
kidney	pale		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : MALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
ALL ANIMALS (0- 5W)

---

Organ	Findings	Group Name	300 mg/kg
		NO. of Animals	10 (%)
spleen	black zone		2 ( 20)
kidney	pale		10 (100)

---

(HPT080)

BAIS5

TABLE H2

GROSS FINDINGS : FEMALE  
( DEAD AND MORIBUND ANIMALS )

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : FEMALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (0- 5W)

PAGE : 1

Organ	Findings	Group Name NO. of Animals	Control 0 (%)	30 mg/kg 0 (%)	100 mg/kg 0 (%)	200 mg/kg 0 (%)
spleen	black zone		- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
liver	pale		- (-)	- (-)	- (-)	- (-)

(HPT080)

BAIS5

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : FEMALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (0- 5W)

---

Organ	Findings	Group Name	300 mg/kg
		NO. of Animals	1 (%)
spleen	black zone		1 (100)
liver	pale		1 (100)

---

(HPT080)

TABLE H3

GROSS FINDINGS : FEMALE  
( SACRIFICED ANIMALS )

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : FEMALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
SACRIFICED ANIMALS ( 5W)

Organ	Findings	Group Name NO. of Animals	Control 9 (%)	30 mg/kg 10 (%)	100 mg/kg 10 (%)	200 mg/kg 10 (%)
spleen	black zone		1 ( 11)	4 ( 40)	1 ( 10)	1 ( 10)
kidney	pale		0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)

(HPT080)

BAIS5

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : FEMALE

GROSS FINDINGS (SUMMARY)  
SACRIFICED ANIMALS ( 5W)

---

Organ	Findings	Group Name	300 mg/kg
		NO. of Animals	9 (%)
spleen	black zone		1 ( 11)
kidney	pale		9 (100)

---

(HPT080)

TABLE I1

ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : MALE

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE  
 UNIT: g

ORGAN WEIGHT:ABSOLUTE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight	THYMUS	ADRENALS	TESTES	HEART	LUNGS
Control	10	21.5± 0.9	0.035± 0.005	0.010± 0.002	0.175± 0.029	0.126± 0.011	0.124± 0.017
30 mg/kg	10	21.8± 1.1	0.033± 0.004	0.010± 0.001	0.191± 0.018	0.122± 0.010	0.117± 0.010
100 mg/kg	10	21.8± 0.7	0.034± 0.006	0.010± 0.002	0.198± 0.012	0.124± 0.009	0.120± 0.006
200 mg/kg	10	21.3± 0.8	0.031± 0.005	0.011± 0.002*	0.194± 0.011	0.114± 0.013	0.123± 0.008
300 mg/kg	10	21.5± 0.7	0.029± 0.005	0.011± 0.001	0.194± 0.007	0.106± 0.009**	0.121± 0.006

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

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE  
 UNIT: g

ORGAN WEIGHT:ABSOLUTE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

Group Name	NO. of Animals	KIDNEYS		SPLEEN		LIVER		BRAIN	
Control	10	0.292±	0.020	0.043±	0.009	0.889±	0.083	0.432±	0.015
30 mg/kg	10	0.286±	0.019	0.039±	0.003	0.956±	0.045	0.437±	0.012
100 mg/kg	10	0.302±	0.016	0.043±	0.004	1.042±	0.046**	0.442±	0.008
200 mg/kg	10	0.299±	0.022	0.047±	0.006	1.114±	0.061**	0.431±	0.019
300 mg/kg	10	0.302±	0.015	0.059±	0.008**	1.245±	0.070**	0.437±	0.008

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

Test of Dunnett

**TABLE I2**

**ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE  
 UNIT: g

ORGAN WEIGHT:ABSOLUTE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight	THYMUS	ADRENALS	OVARIES	HEART	LUNGS
Control	9	17.8± 1.1	0.045± 0.006	0.012± 0.002	0.021± 0.005	0.108± 0.011	0.112± 0.009
30 mg/kg	10	18.0± 0.8	0.044± 0.005	0.011± 0.002	0.019± 0.005	0.104± 0.007	0.109± 0.008
100 mg/kg	10	17.8± 0.9	0.043± 0.005	0.013± 0.002	0.019± 0.004	0.109± 0.007	0.112± 0.007
200 mg/kg	10	17.6± 1.1	0.040± 0.004	0.012± 0.001	0.021± 0.005	0.099± 0.007	0.108± 0.007
300 mg/kg	9	18.0± 1.3	0.037± 0.009*	0.012± 0.002	0.022± 0.009	0.098± 0.008*	0.111± 0.007

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

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : FEMALE  
UNIT: g

ORGAN WEIGHT:ABSOLUTE (SUMMARY)  
SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

PAGE : 4

Group Name	NO. of Animals	KIDNEYS		SPLEEN		LIVER		BRAIN	
Control	9	0.248±	0.022	0.048±	0.014	0.691±	0.047	0.438±	0.025
30 mg/kg	10	0.240±	0.014	0.046±	0.005	0.790±	0.040**	0.431±	0.012
100 mg/kg	10	0.251±	0.009	0.046±	0.004	0.822±	0.041**	0.437±	0.008
200 mg/kg	10	0.258±	0.017	0.050±	0.006	0.885±	0.069**	0.425±	0.012
300 mg/kg	9	0.278±	0.019**	0.053±	0.005	0.997±	0.131**	0.429±	0.014

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

Test of Dunnett

(HCL040)

BAIS 5

**TABLE J1**

**ORGAN WEIGHT, RELATIVE : MALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE  
 UNIT: %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight (g)	THYMUS	ADRENALS	TESTES	HEART	LUNGS
Control	10	21.5± 0.9	0.161± 0.022	0.045± 0.007	0.813± 0.111	0.584± 0.047	0.576± 0.069
30 mg/kg	10	21.8± 1.1	0.151± 0.021	0.044± 0.004	0.876± 0.062	0.561± 0.056	0.537± 0.036
100 mg/kg	10	21.8± 0.7	0.156± 0.031	0.044± 0.007	0.908± 0.074	0.570± 0.039	0.552± 0.043
200 mg/kg	10	21.3± 0.8	0.144± 0.026	0.053± 0.009*	0.912± 0.047	0.533± 0.058	0.578± 0.042
300 mg/kg	10	21.5± 0.7	0.136± 0.024	0.049± 0.007	0.902± 0.027	0.491± 0.034**	0.564± 0.030

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

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : MALE  
UNIT: %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

PAGE : 2

Group Name	NO. of Animals	KIDNEYS	SPLEEN	LIVER	BRAIN
Control	10	1.360± 0.085	0.200± 0.040	4.133± 0.321	2.010± 0.045
30 mg/kg	10	1.309± 0.056	0.179± 0.008	4.381± 0.154	2.004± 0.070
100 mg/kg	10	1.382± 0.060	0.198± 0.016	4.779± 0.190**	2.026± 0.075
200 mg/kg	10	1.401± 0.084	0.222± 0.021**	5.224± 0.228**	2.023± 0.075
300 mg/kg	10	1.404± 0.061	0.272± 0.033**	5.794± 0.298**	2.035± 0.084

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

Test of Dunnett

(HCL042)

BAIS 5

**TABLE J2**

**ORGAN WEIGHT, RELATIVE : FEMALE**

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE  
 UNIT: %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
 SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

Group Name	NO. of Animals	Body Weight (g)	THYMUS	ADRENALS	OVARIES	HEART	LUNGS
Control	9	17.8± 1.1	0.250± 0.035	0.065± 0.012	0.117± 0.029	0.607± 0.062	0.630± 0.043
30 mg/kg	10	18.0± 0.8	0.245± 0.027	0.060± 0.011	0.106± 0.029	0.581± 0.040	0.603± 0.026
100 mg/kg	10	17.8± 0.9	0.241± 0.031	0.071± 0.008	0.108± 0.025	0.611± 0.037	0.630± 0.038
200 mg/kg	10	17.6± 1.1	0.225± 0.024	0.068± 0.008	0.120± 0.028	0.566± 0.054	0.616± 0.040
300 mg/kg	9	18.0± 1.3	0.205± 0.051*	0.067± 0.013	0.125± 0.047	0.547± 0.069	0.618± 0.050

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

Test of Dunnett

STUDY NO. : 0895  
ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
REPORT TYPE : A1  
SEX : FEMALE  
UNIT: %

ORGAN WEIGHT:RELATIVE (SUMMARY)  
SURVIVAL ANIMALS ( 5W)

PAGE : 4

Group Name	NO. of Animals	KIDNEYS	SPLEEN	LIVER	BRAIN
Control	9	1.393± 0.086	0.267± 0.070	3.885± 0.293	2.459± 0.157
30 mg/kg	10	1.336± 0.043	0.257± 0.024	4.396± 0.142**	2.401± 0.054
100 mg/kg	10	1.406± 0.041	0.256± 0.023	4.609± 0.126**	2.454± 0.102
200 mg/kg	10	1.469± 0.082*	0.283± 0.034	5.032± 0.155**	2.424± 0.153
300 mg/kg	9	1.556± 0.171**	0.296± 0.034	5.531± 0.487**	2.398± 0.173

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

Test of Dunnett

(HCL042)

BAIS 5

TABLE K1

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :  
NON-NEOPLASTIC LESIONS : MALE  
( ALL ANIMALS )

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 5W)

Organ	Findings	Control No. of Animals on Study Grade				30 mg/kg 10				100 mg/kg 10				200 mg/kg 10					
		1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)		
(Hematopoietic system)																			
spleen	deposit of melanin	<10>				<10>				<10>				<10>					
		2 (20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (30)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
(Urinary system)																			
kidney	regeneration:renal tubule	<10>				<10>				<10>				<10>					
		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (70)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	7 (70)	2 (20)	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. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : MALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 ALL ANIMALS (0- 5W)

Organ	Findings	Group Name : 300 mg/kg			
		No. of Animals on Study : 10			
		1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)

(Hematopoietic system)

spleen		<10>			
	deposit of melanin	2	0	0	0
		( 20)	( 0)	( 0)	( 0)

(Urinary system)

kidney		<10>			
	regeneration:renal tubule	0	0	10	0 **
		( 0)	( 0)	(100)	( 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 K2

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :  
NON-NEOPLASTIC LESIONS : FEMALE  
( DEAD AND MORIBUND ANIMALS )

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 DEAD AND MORIBUND ANIMALS (0- 5W)

Organ	Findings	Group Name No. of Animals on Study	Control				30 mg/kg				100 mg/kg				200 mg/kg							
			Grade	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	0	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	0	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	0	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)
(Hematopoietic system)																						
spleen	atrophy		< 0>				< 0>				< 0>				< 0>							
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	deposit of melanin		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
(Digestive system)																						
liver	fatty change		< 0>				< 0>				< 0>				< 0>							
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
(Urinary system)																						
kidney	tubular necrosis		< 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. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 DEAD AND MORIBUND ANIMALS (0- 5W)

Organ	Findings	Group Name 300 mg/kg			
		No. of Animals on Study			
		1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)
(Hematopoietic system)					
spleen	atrophy	< 1 >			
		1 (100)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ? ( 0)
	deposit of melanin	1 (100)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ? ( 0)
(Digestive system)					
liver	fatty change	< 1 >			
		0 ( 0)	0 ( 0)	1 (100)	0 ? ( 0)
(Urinary system)					
kidney	tubular necrosis	< 1 >			
		0 ( 0)	1 (100)	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

? : Significant test is not applied, because No. of data in this group is less than 3.

TABLE K3

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :  
NON-NEOPLASTIC LESIONS : FEMALE  
( SACRIFICED ANIMALS )

STUDY NO. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS :NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 SACRIFICED ANIMALS ( 5W)

Organ	Findings	Control No. of Animals on Study 9				30 mg/kg 10				100 mg/kg 10				200 mg/kg 10				
		Grade	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)	1+ (%)	2+ (%)	3+ (%)	4+ (%)
(Respiratory system)																		
nasal cavit	respiratory metaplasia:olfactory epithelium		< 9>				<10>				<10>				<10>			
			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)	( 0)	( 0)
(Hematopoietic system)																		
spleen	deposit of melanin		< 9>				<10>				<10>				<10>			
			1	0	0	0	4	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
			( 11)	( 0)	( 0)	( 0)	( 40)	( 0)	( 0)	( 0)	( 10)	( 0)	( 0)	( 0)	( 10)	( 0)	( 0)	( 0)
	extramedullary hematopoiesis		1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			( 11)	( 0)	( 0)	( 0)	( 10)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)
(Urinary system)																		
kidney	regeneration:renal tubule		< 9>				<10>				<10>				<10>			
			0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	10	0	0 **
			( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 30)	( 0)	( 0)	( 0)	( 0)	( 100)	( 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. : 0895  
 ANIMAL : MOUSE C57BL/6J  
 REPORT TYPE : A1  
 SEX : FEMALE

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS (SUMMARY)  
 SACRIFICED ANIMALS ( 5W)

Organ	Findings	Group Name 300 mg/kg			
		No. of Animals on Study 9			
		1+	2+	3+	4+
		(%)	(%)	(%)	(%)
<b>{Respiratory system}</b>					
nasal cavit		< 9 >			
	respiratory metaplasia:olfactory epithelium	1 ( 11)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
<b>{Hematopoietic system}</b>					
spleen		< 9 >			
	deposit of melanin	1 ( 11)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
	extramedullary hematopoiesis	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
<b>{Urinary system}</b>					
kidney		< 9 >			
	regeneration:renal tubule	0 ( 0)	3 ( 33)	6 ( 67)	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

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの C57BL/6J マウスを  
用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期がん原性試験予備試験)  
報告書

試験番号 : 0895

## FIGURES

## FIGURES

- FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL
- FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL
- FIGURE 3 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL
- FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL

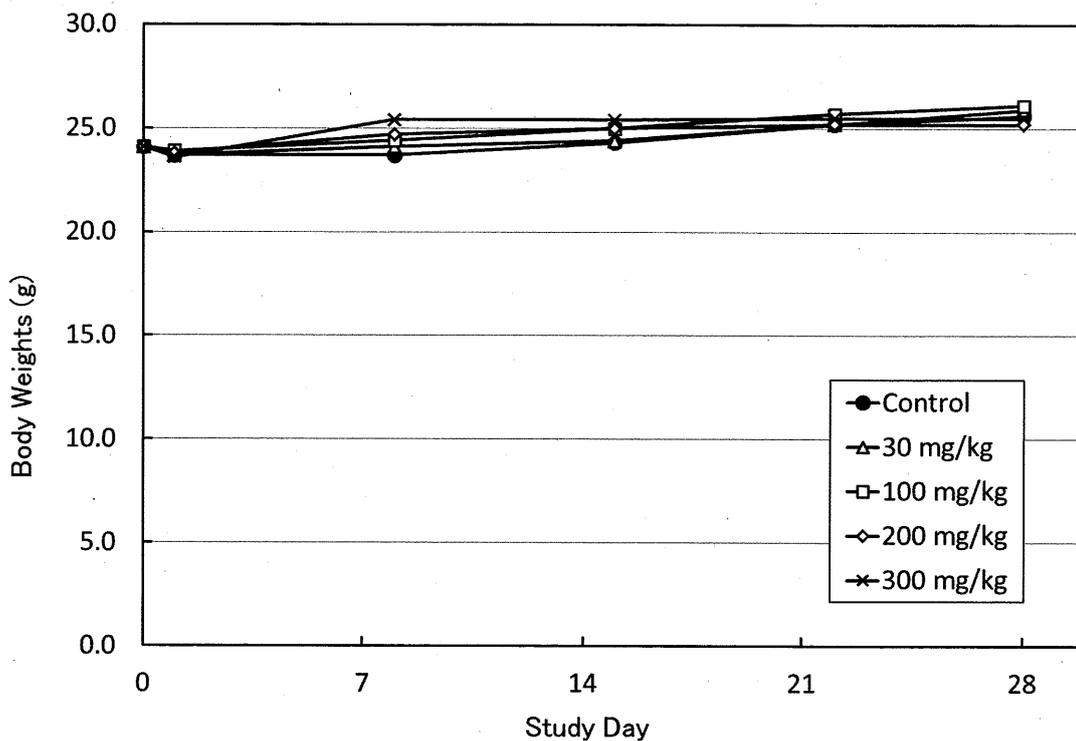


FIGURE 1 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL

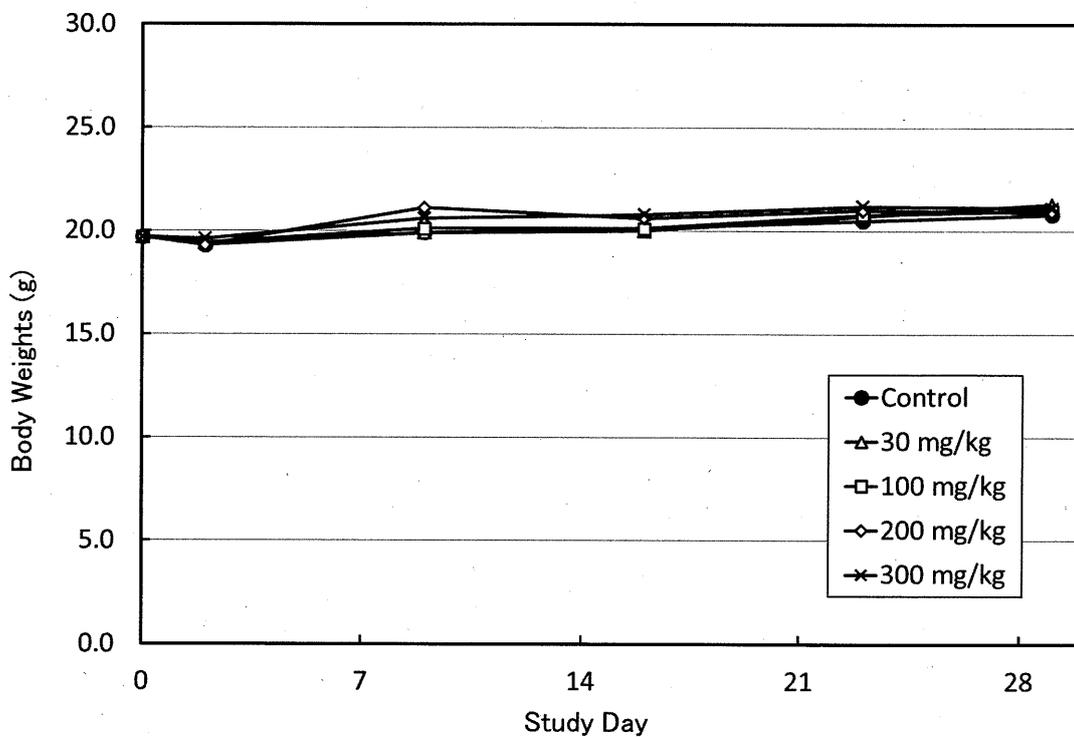


FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL

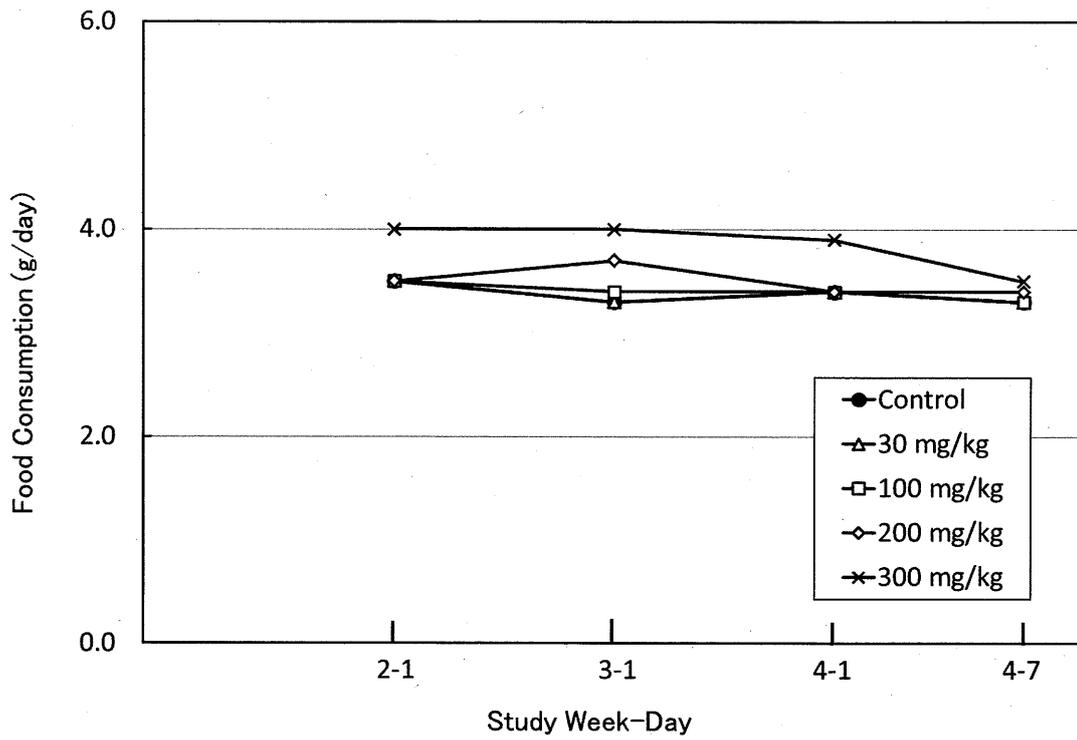


FIGURE 3 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL

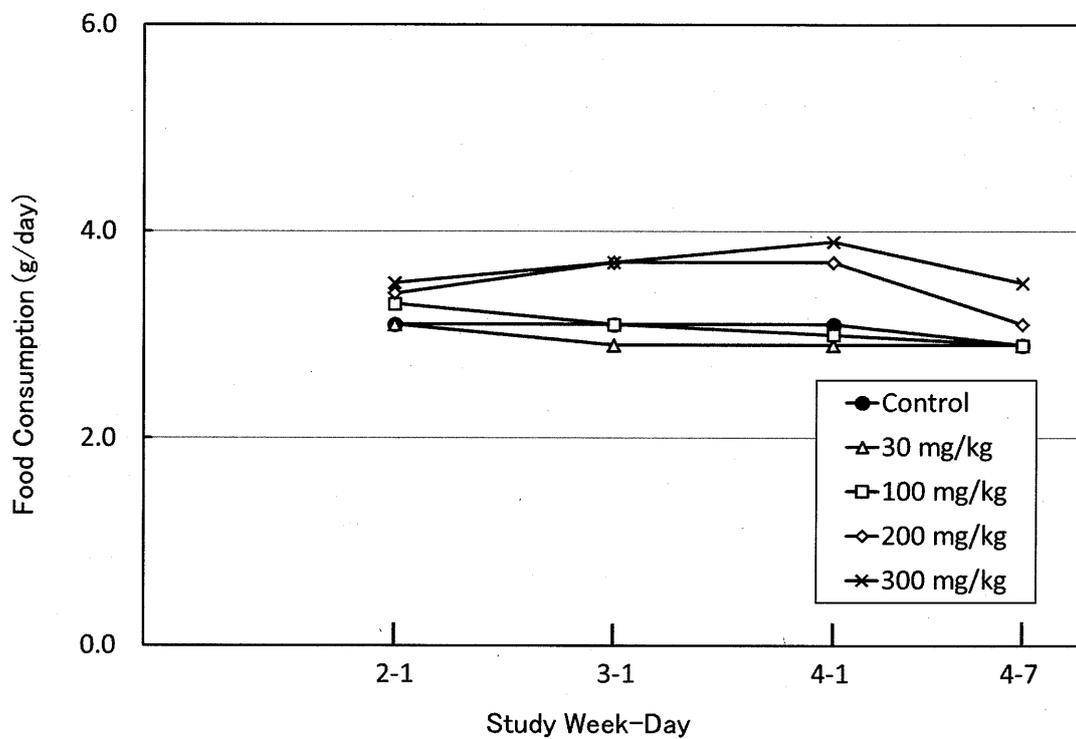


FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL

※ Study Week-Day (measurement period) :2-1 (Day 2-8), 3-1 (Day 9-15), 4-1 (Day 16-22), 4-7 (Day 23-28)

4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノールの C57BL/6J マウスを  
用いた強制経口投与による 4 週間毒性試験 (中期がん原性試験予備試験)  
報告書

試験番号 : 0895

## APPENDICES

## APPENDICES

- APPENDIX 1-1 IDENTITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY
- APPENDIX 1-2 STABILITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY
- APPENDIX 1-3 CONCENTRATION OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL)  
PHENOL IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY
- APPENDIX 1-4 HOMOGENEITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY
- APPENDIX 1-5 STABILITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE OLIVE OIL (STUDY NO. 8042)
- APPENDIX 2 METHODS, UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY  
AND BIOCHEMISTRY IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION  
STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL

APPENDIX 1-1

IDENTITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY

## IDENTITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY

Test Substance : 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl) phenol (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.)

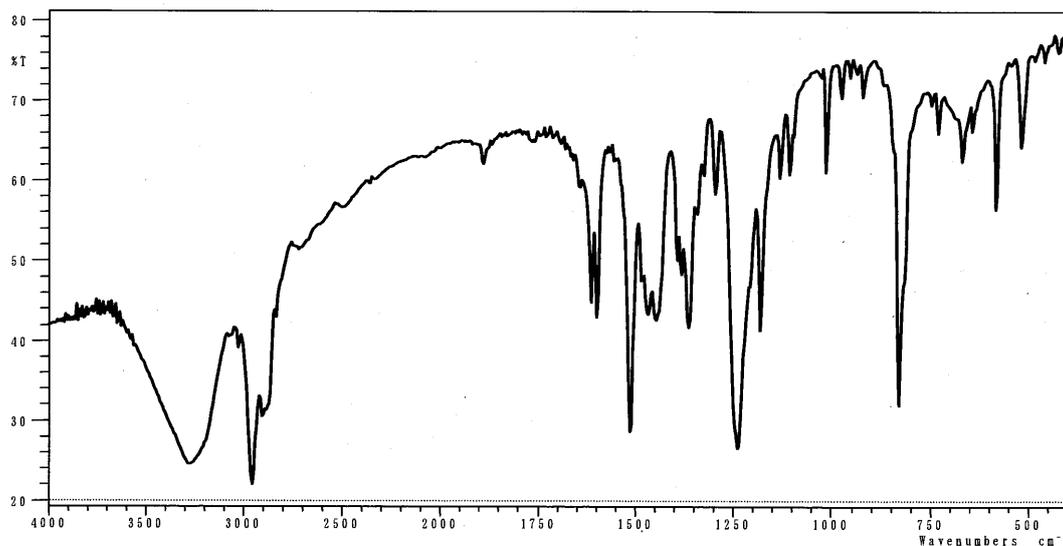
Lot No. : Y8LQL

## 1. Spectral Data

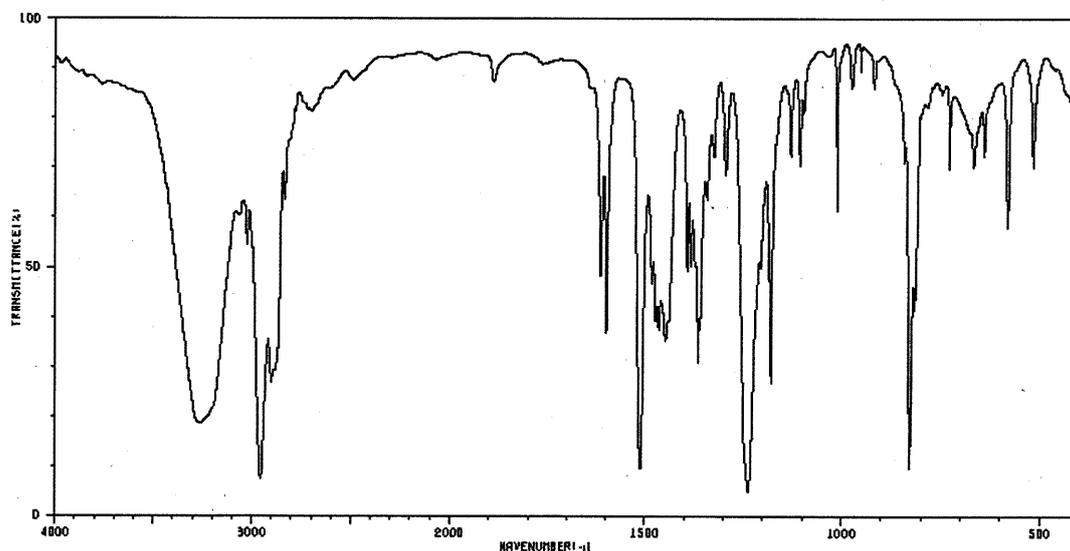
Infrared Spectrometry

Instrument : Shimadzu IRAffinity-1

Cell : KBr

Resolution : 4 cm<sup>-1</sup>

Infrared Spectrum of Test Substance



Infrared Spectrum of Literature Data\*

Result: The infrared spectrum was consistent with literature spectrum.

\* Performed by National Institute of Advanced Industrial Science and Technology.  
Spectra Database for Organic Compounds, SDDBS.  
[http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre\\_index.cgi](http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi) [accessed 2017/4/26]

2. Conclusion: The test substance was identified as 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl) phenol by infrared spectrum.

APPENDIX 1-2

STABILITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY

# STABILITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY

Test Substance : 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl) phenol (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.)

Lot No. : Y8LQL

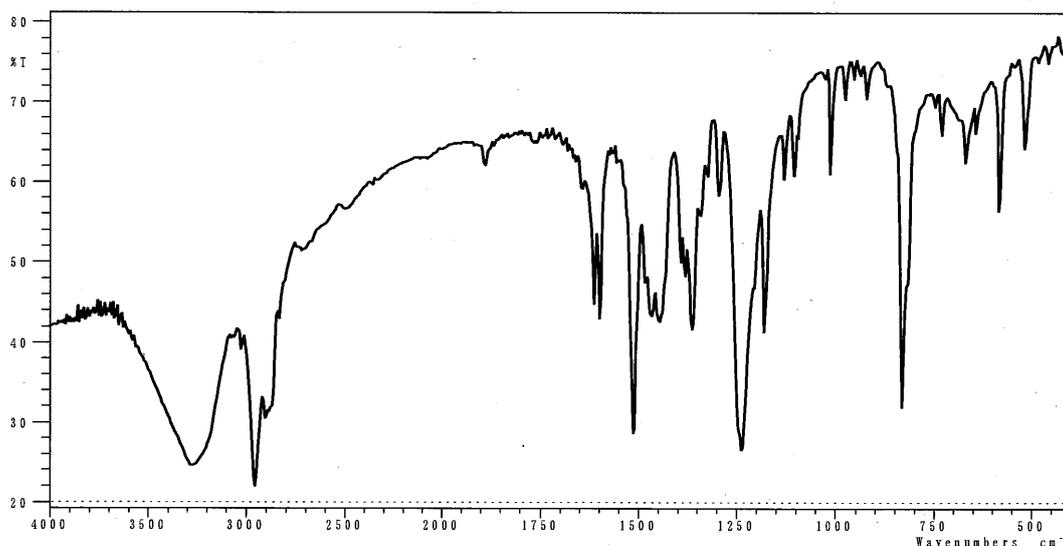
## 1. Spectral Data

### Infrared Spectrometry

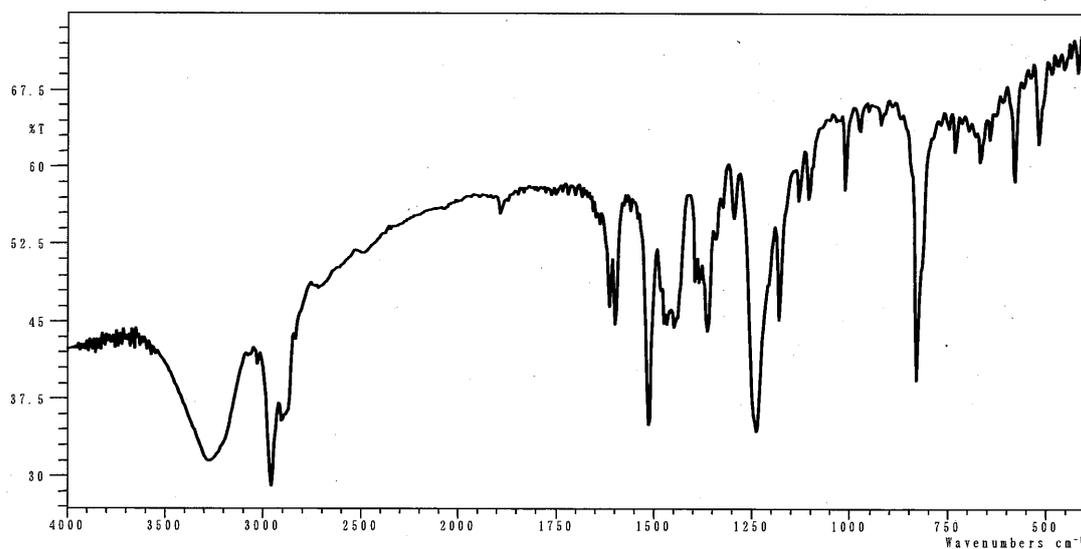
Instrument : Shimadzu IRAffinity-1

Cell : KBr

Resolution : 4 cm<sup>-1</sup>



Infrared Spectrum of Test Substance (before use)



Infrared Spectrum of Test Substance (after use)

Result: The infrared spectra were not changed before used on 2017.8.10 and after used on 2017.9.19.

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

APPENDIX 1-3

CONCENTRATION OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL)  
PHENOL IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY

CONCENTRATION OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY

Analytical Method : The samples were analyzed by high performance liquid chromatography.

Instrument : Shimadzu LC-10 High Performance Liquid Chromatograph

Column : Kinetex® 5 µm C18 100 Å (4.6 mmφ × 15 cm)

Column Temperature: 40 °C

Mobile Phase : Acetonitrile : Distilled Water = 75 : 25

Flow Rate : 1 mL/min

Detector : UV (294 nm)

Injection Volume : 10 µL

Date Analyzed	Target Concentration			
	6 <sup>a</sup>	20	40	60
2017.08.17	5.91 <sup>b</sup> (98.5) <sup>c</sup>	19.6 (97.9)	39.4 (98.6)	60.0 (100)

<sup>a</sup> mg/mL

<sup>b</sup> mg/mL (Mean measured concentration)

<sup>c</sup> % (Mean measured concentration/target concentration × 100)

APPENDIX 1-4

HOMOGENEITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY

**HOMOGENEITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY**

Analytical Method : The samples were analyzed by high performance liquid chromatography.

Instrument : Shimadzu LC-10 High Performance Liquid Chromatograph

Column : Kinetex® 5 µm C18 100 Å (4.6 mm φ × 15 cm)

Column Temperature: 40 °C

Mobile Phase : Acetonitrile : Distilled Water = 75 : 25

Flow Rate : 1 mL/min

Detector : UV (294 nm)

Injection Volume : 10 µL

Date Analyzed	Target Concentration			
	6 <sup>a</sup>	20	40	60
2017.08.17	1.36 <sup>b</sup>	2.72	1.64	1.57

<sup>a</sup> mg/mL

<sup>b</sup> Coefficient of Variation (%), (n=7)

APPENDIX 1-5

STABILITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL  
IN THE OLIVE OIL (STUDY NO. 8042)

STABILITY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL IN THE OLIVE OIL  
(STUDY NO. 8042)

Analytical Method : The samples were analyzed by high performance liquid chromatography.  
 Instrument : Shimadzu LC-10 High Performance Liquid Chromatograph  
 Column : Kinetex® 5 µm C18 100 Å (4.6 mmφ × 15 cm)  
 Column Temperature: 40 °C  
 Mobile Phase : Acetonitrile : Distilled Water = 75 : 25  
 Flow Rate : 1 mL/min  
 Detector : UV (294 nm)  
 Injection Volume : 10 µL

Date Analyzed	Target Concentration	
	0.6 <sup>a</sup>	60
2017.06.08	0.576 (100) <sup>b</sup>	56.7 (100)
2017.06.16 <sup>c</sup>	0.603 (105)	59.0 (104)

<sup>a</sup> mg/mL

<sup>b</sup> % (Percentage was based on the concentration at the date of preparation)

<sup>c</sup> The samples were stored in a dark place at refrigerated.

The data of stability of the test sample referred with the result of study No. 8042 on Japan Bioassay Research Center.

## APPENDIX 2

METHODS, UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY  
AND BIOCHEMISTRY IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION  
STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL) PHENOL

METHODS, UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY  
IN THE 4-WEEK ORAL ADMINISTRATION STUDY OF 4-(1,1,3,3-TETRAMETHYLBUTYL)  
PHENOL

Item	Method	Unit	Decimal place
<b>Hematology</b>			
Red blood cell (RBC)	Light scattering method <sup>1)</sup>	$\times 10^6/\mu\text{L}$	2
Hemoglobin(Hgb)	Cyanmethemoglobin method <sup>1)</sup>	g/dL	1
Hematocrit(Hct)	Calculated as $\text{RBC} \times \text{MCV} / 10$ <sup>1)</sup>	%	1
Mean corpuscular volume(MCV)	Light scattering method <sup>1)</sup>	fL	1
Mean corpuscular hemoglobin(MCH)	Calculated as $\text{Hgb} / \text{RBC} \times 10$ <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	Light scattering method <sup>1)</sup>	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0
Reticulocyte	Light scattering method <sup>1)</sup>	%	1
White blood cell(WBC)	Light scattering method <sup>1)</sup>	$\times 10^3/\mu\text{L}$	2
Differential WBC	Light scattering method <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) Automatic blood cell analyzer (ADVIA120 : Siemens Healthcare Diagnostics Inc.)

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