

厚生省生活衛生局 殿

試 験 報 告 書

グリセリン三酢酸エステルのラットを用いた
経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

(試験番号： 6L674)

株式会社三菱化学安全科学研究所

目次

要 約	8
緒 言	9
材料および方法	10
1. 被験物質	10
2. 試験動物	10
3. 動物飼育	10
4. 投 与	11
5. 群構成	12
6. 反復投与毒性に関する観察・検査	12
6.1 一般状態	12
6.2 体 重	12
6.3 摂餌量	12
6.4 雄の血液学検査	12
6.5 雄の血液生化学検査	13
6.6 病理学検査	14
7. 生殖発生毒性に関する観察・検査	15
7.1 生殖機能	15
7.2 分娩および哺育状態	15
7.3 新生児の観察・検査	15
8. 統計学的解析	16
結 果	17
1. 反復投与毒性	17
1.1 一般状態	17
1.2 体 重	17
1.3 摂餌量	17
1.4 雄の血液学検査	17
1.5 雄の血液生化学検査	17
1.6 器官重量	17

1.7 剖検所見	18
1.8 病理組織所見	18
2. 生殖発生毒性	19
2.1 生殖機能	19
2.2 分娩および哺育状態	19
2.3 新生児への影響	19
考察および結論	20
参考文献	22

図および群別表

要 約

グリセリン三酢酸エステルを 40, 200 および 1000 mg/kg/day の用量で SD 系ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕の雌雄に交配前 14 日から交配を経て雄は計 44 日間、雌は妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し、反復投与毒性および生殖発生毒性について検討した。1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし、対照群には媒体（3%アラビアゴム水溶液）のみを投与した。

1. 反復投与毒性

一般状態、体重および摂餌量に被験物質の影響は認められなかった。また、剖検、器官重量、病理組織学検査、雄の血液学検査および血液生化学検査のいずれにおいても被験物質に起因する変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

親動物の交尾率、受胎率、黄体数、着床数、着床率、分娩率、出産率、妊娠期間、分娩および哺育行動には被験物質に起因する変化は認められなかった。また、出産児数、出產生児数、性比、出生率、新生児の 4 日生存率、外表、一般状態、体重および剖検のいずれにおいても被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下におけるグリセリン三酢酸エステルの反復投与毒性に関する無影響量は雌雄とも 1000 mg/kg/day、生殖発生毒性に関する無影響量についても、親動物および児動物ともに 1000 mg/kg/day と考えられる。

緒言

グリセリン三酢酸エステルは短鎖脂肪酸エステルで、アセテート繊維用可塑剤、食品添加物、化粧品工業における香料の固定剤などの製造に使用され、その他に医療の分野では局所殺菌剤、また最近では非経口栄養剤への利用が検討されている¹⁾。毒性情報としては、眼に対して刺激があり²⁾、ラットの皮下投与による LD₅₀ 値は 3.25 g/kg³⁾、また経口投与では 6.4 - 12.8 g/kg との報告がある⁴⁾。

今回、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、ラットを用いて反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施し、生体への一般毒性学的影響および生殖・発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

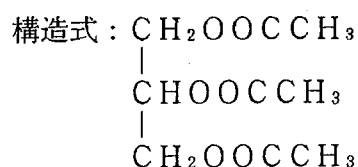
材料および方法

1. 被験物質

から提供されたグリセリン三酢酸エステル（別名：トリアセチン，CAS No. 102-76-1，ロット番号 純度 98.2%）を室温，暗所で保管し，使用した．被験物質は下記の化学名，構造式，分子量を有する凝固点 -62°C ，沸点 258°C ，比重 1.161，水にわずかに溶け，アセトンおよび DMSO に溶けやすい無臭または微かな臭いがある無色透明の液体である．

被験物質の安定性は，被験物質供給者より安定性を保証する資料を入手し，確認した（添付資料）．

化学名：グリセリルトリアセテート



分子量：218.21

2. 試験動物

日本チャールス・リバー(株)から 1996 年 10 月 30 日に SD 系ラット [Crj:CD(SD) IGS, SPF] 雌雄各 52 匹を入手した．

動物入荷後，6 日間検疫・馴化し，いずれの動物も健康状態が良好であることを確認した．投与開始前日に体重別層化無作為抽出法によって各群の体重がほぼ均一となるように群分けした．1 群の動物数は雌雄各 12 匹とした．投与開始時の週齢は雌雄とも 9 週齢，体重範囲は雄が 317～375 g，雌が 203～240 g であった．

耳パンチ法によって動物を個体識別した．ケージには試験番号，被験物質名，動物番号，性別，用量，動物種および系統を記載したラベルを付けた．

3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通じて，温度 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ （実測値 21 ～ 25°C ）相対湿度 $55 \pm 15\%$ （実測値 31 ～ 62%），換気約 12 回／時，照明 12 時間／日

(7:00-19:00) に設定した飼育室を使用した。

動物は、実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー(株)）を敷いたポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200H mm, トキワ科学器械(株)）に，ケージあたり群分け後は1匹，交配期間は雌雄各1匹，哺育期間は1腹で収容し，スチール製架台（トキワ科学器械(株)）上に配置して飼育した。給餌にはステンレス製固型飼料用給餌器（トキワ科学器械(株)）を，給水にはポリカーボネート製給水瓶（700 ml, トキワ科学器械(株)）を使用した。ケージ（含床敷），給餌器および給水瓶はオートクレーブ滅菌し，週1回交換した。

動物には，オートクレーブ滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1，オリエンタル酵母工業(株)）と，5 μ m のフィルター濾過後，紫外線照射した水道水を自由に摂取させた。飼料と飲用水は週1回交換した。

飼料はロットごとに，床敷は定期的に，残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所で定めた基準に適合していることを確認した。また，飲用水は水道法に準拠した水質検査を定期的実施し，分析値が基準に適合していることを確認している。

4. 投 与

投与経路はガイドラインに従って，経口投与とした。投与期間は雌雄とも交配前14日間，交配期間，および雄は剖検前日までの計44日間，雌は交尾後，妊娠，分娩を経て哺育3日まで（41～48日間）とし，胃ゾンデを用いて1日1回，午前中に強制経口投与した。ただし，未交尾および分娩しなかった雌は剖検前日まで（41～43日間）投与した。

投与用量は予備試験の結果を参考に決定した。すなわち，被験物質を100，300および1000 mg/kg の用量でSD系ラットに14日間反復投与した結果，1000 mg/kg 群でも雌雄ともに被験物質による明確な毒性変化は認められなかったことから，高用量を1000 mg/kg とし，以下公比5で200および40 mg/kg の3用量を設定した。また，対照群には媒体（3%アラビアゴム水溶液）のみを投与した。投与液量は5 ml/kg とし，至近日に測定した体重に基づいて算出した。

被験物質は各用量ごとにスターラーを用いてアラビアゴム（純正化学(株)：ロット番号3L1257）の3%水溶液に懸濁した。投与液は3日間に1回調製し，投与に供する

まで冷蔵保存し、調製後3日以内に使用した。投与液中の被験物質の均一性および冷蔵保存条件下での3日間の安定性は、投与開始前に8から200 mg/ml の範囲で確認した。また、初回調製時に各用量群の投与液を分析し、設定濃度の±10%以内であることを確認した（添付資料）。

5. 群構成

群 名	雄		雌	
	動物数	動物番号	動物数	動物番号
対 照	12	00101～00112	12	50101～50112
40 mg/kg	12	00201～00212	12	50201～50212
200 mg/kg	12	00301～00312	12	50301～50312
1000 mg/kg	12	00401～00412	12	50401～50412

6. 反復投与毒性に関する観察・検査

6.1 一般状態

1日2回（投与前、後）観察した。

6.2 体 重

雌雄とも投与開始日、投与開始後3, 7, 14 日およびその後週1回、交尾した雌は妊娠0, 7, 14, 20 日および哺育0, 4 日に電子上皿天秤（EB-6200S, EB-3200S, EB-5000：（株）島津製作所）を用いて測定した（交尾確認日を妊娠0日、分娩確認日を哺育0日とした）。また、雄では投与開始日の体重を基準に、雌では交配前期間、妊娠期間および哺育期間をそれぞれ投与開始日、妊娠0日および哺育0日の体重を基準に体重増加量を算出した。

6.3 摂餌量

雌雄とも投与開始日、投与開始後3, 7, 14 日およびその後雄は交配期間中を除き週1回、交尾した雌は妊娠0, 7, 14, 20 日および哺育0, 4 日に上記天秤を用いて風袋込み重量を測定し、1匹あたりの1日平均摂餌量を算出した。

6.4 雄の血液学検査

雄の全生存動物について、解剖日の前日から約21時間絶食させ、チオペンタール

ナトリウム（ラボナール，田辺製薬(株)）の腹腔内投与による麻酔下で，後大静脈より採取した血液の一部を，凝固阻止剤 EDTA-2K で処理し，下記の項目を検査した。

項 目	方 法
(1) 赤血球数 (RBC)	シースフロー DC インピーダンス検出法
(2) ヘモグロビン濃度 (Hb)	SLS ヘモグロビン法
(3) ヘマトクリット値 (Ht)	赤血球パルス波高値検出法
(4) 平均赤血球容積 (MCV)	(1), (3)より算出
(5) 平均赤血球血色素量 (MCH)	(1), (2)より算出
(6) 平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	(2), (3)より算出
(7) 網状赤血球数	アルゴリズムを用いたフローサイトメトリ法
(8) 血小板数 (PLT)	シースフロー DC インピーダンス検出法
(9) 白血球数 (WBC)	RF/DC インピーダンス検出法
(10) 白血球百分率	Wright 染色塗抹標本について測定

測定機器

- (1)～(3), (8), (9) : NE-4500, 東亜医用電子(株)
 (7) : R-2000, 東亜医用電子(株)
 (10) : MICROX HEG-70A, オムロン(株)

6.5 雄の血液生化学検査

雄の全生存動物について，解剖日に採取した血液を室温で約 30 分間静置後遠心分離し，得られた血清を用いて下記の項目を測定した。

項 目	方 法
(1) ASAT (GOT)	UV-Rate 法(SSCC 改良法)
(2) ALAT (GPT)	UV-Rate 法(SSCC 改良法)
(3) γ GT	γ -グルタミル・p-ニトロアニリド基質法(SSCC 改良法)
(4) ALP	p-ニトロフェニル酸基質法(GSCC 改良法)
(5) 総ビリルビン	Jendrassik 改良法
(6) 尿素窒素	酵素-UV 法(Urease-GLDH 法)
(7) クレアチニン	Jaffé 法
(8) グルコース	酵素-UV 法(GK-G6PDH 法)
(9) 総コレステロール	酵素法(CES-CO-POD 法)
(10) トリグリセライド	酵素法(LPL-GK-G3PO-POD 法)
(11) 総蛋白	Biuret 法
(12) アルブミン	BCG 法
(13) A/G 比	(11)および(12)より算出
(14) カルシウム	OCPC 法
(15) 無機リン	UV 法
(16) ナトリウム (Na)	イオン選択電極法
(17) カリウム (K)	イオン選択電極法
(18) クロール (Cl)	イオン選択電極法

測定機器：日立736-10形，(株)日立製作所

6.6 病理学検査

1) 病理解剖検査

雌雄とも最終投与日の翌日に、全生存動物をチオペンタールナトリウムの腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後剖検した。未交尾雌は他の雌と同時期に、非分娩雌は交尾確認後 26 日に剖検した。死亡動物は発見後すみやかに剖検した。

2) 器官重量

全生存動物について下記の器官重量を電子上皿天秤 (AEG-120, (株)島津製作所) を用いて測定した。また、解剖日の体重に基づいて相対重量 (対体重比) を算出した。

肝臓, 腎臓, 副腎, 胸腺, 脾臓, 精巣, 精巣上体

3) 病理組織学検査

全動物の下記の器官・組織を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、死亡動物以外の動物の眼球およびハーダー腺はダビドソン液、精巣および精巣上体はブアン液で固定した。

脳, 下垂体, 眼球・ハーダー腺, 胸腺, 肺, 食道, 胃, 腸管 (十二指腸～直腸),
甲状腺・上皮小体, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 膀胱, 精巣, 精巣上体,
卵巢, 子宮, 膣, 骨髓 (大腿骨), 坐骨神経, 脊髓, 肉眼的異常部位

病理組織学検査は、対照群と 1000 mg/kg 群の雌雄全例の下記の器官・組織、全動物の肉眼的異常部位を常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。死亡動物は下記の器官・組織に加え、胸腺および肺も検査した。

脳, 心臓, 胃, 十二指腸, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣, 精巣上体, 非妊娠雌の卵巢

検査の結果、1000 mg/kg 群で被験物質に起因すると思われる変化が認められなかったため、他の投与群の検査は実施しなかった。

7. 生殖発生毒性に関する観察・検査

7.1 生殖機能

各群内で雄1雌1の交配対を設け、投与開始後14日の夕方から最長7日間昼夜同居させ、雌の膣垢を毎日午前中に採取し、ギムザ染色して鏡検した。膣栓あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。

これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 交尾所要日数：交配開始後、交尾成立までに要した日数
- (2) 交尾成立までに逸した発情期の回数
- (3) 交尾率(%)： $(\text{交尾動物数} / \text{同居動物数}) \times 100$
- (4) 受胎率(%)： $(\text{受胎動物数} / \text{交尾動物数}) \times 100$

7.2 分娩および哺育状態

交尾した雌は全例を自然分娩させた。午前9時の時点で分娩が完了している動物を当該日分娩とし、その日を哺育0日とした。分娩状態を観察した後、新生児を生後4日(哺育4日)まで哺育させ、授乳、営巣、食殺の有無等の哺育状態を毎日観察した。

母動物は剖検時に卵巣および子宮を摘出して黄体数および着床数を検査した。肉眼的に着床が認められない非分娩動物の子宮は2% KOH 水溶液に浸漬し、着床の有無を確認した。

これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 妊娠期間：妊娠0日から出産が確認された日までの期間
- (2) 出産率(%)： $(\text{生児出産雌数} / \text{受胎雌数}) \times 100$
- (3) 着床率(%)： $(\text{着床数} / \text{黄体数}) \times 100$
- (4) 分娩率(%)： $(\text{総出産児数} / \text{着床数}) \times 100$

7.3 新生児の観察・検査

1) 新生児の観察

哺育0日に出産児数(出產生児数、死産児数)、性別および外表異常の有無を検査した。その後は、一般状態、死亡の有無等を哺育4日まで毎日観察した。哺育0および4日の生存児数から、次の項目を算出した。

- (1) 出生率(%)： $(\text{出產生児数} / \text{総出産児数}) \times 100$
- (2) 新生児の4日生存率(%)： $(\text{哺育4日生児数} / \text{出產生児数}) \times 100$

2) 体 重

哺育0および4日に全生存児を個体ごとに測定した。また、哺育0日の体重を基準に体重増加量を算出した。

3) 剖 検

哺育4日に全生存児の口腔を含む外表を検査した後、親動物と同様にして安楽死させ、剖検した。死亡動物は食殺等で検査に耐えないものを除き10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬、固定した後、実体顕微鏡下で剖検した。

8. 統計学的解析

計量データは、Bartlett 法による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は一元配置分散分析、分散が等しくない場合は Kruskal-Wallis の検定を行った。群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法または Dunnett 型の多重比較を行った。ただし、下記の*印の項目は Kruskal-Wallis の検定から行った。計数データのうち、病理組織所見は $a \times b$ の χ^2 検定を行い、有意差が認められた場合は Armitage の χ^2 検定により対照群と各被験物質群間の比較を行った。その他の計数データは Fisher の直接確率法により検定した。有意水準は5%以下とした。新生児に関するデータは、各母動物毎に算出した平均値を統計単位とした。なお、非妊娠動物の交尾確認後の体重、摂餌量および器官重量、未交尾の雌および生存児を有しない母動物の器官重量は評価の対象から除外した。統計学的解析の対象項目は下記のとおりである。

多重比較検定： 体重、体重増加量、摂餌量、血液学検査、血液生化学検査、器官重量、交尾所要日数*、交尾成立までに逸した発情期の回数*、妊娠期間*、黄体数、着床数、着床率*、分娩率*、出産児数、出生率*、新生児の4日生存率*

χ^2 検定および Armitage の χ^2 検定： 病理組織所見

Fisher の直接確率法： 交尾率、受胎率、出産率、性比（雄／雌）

結 果

1. 反復投与毒性

1.1 一般状態 (Table 1, 2)

1000 mg/kg 群の雄 1 例 (No. 00402) が投与開始後 32 日に死亡したが、死亡に関連する一般状態の変化は認められなかった。

軟便が 1000 mg/kg 群の雄 1 例、四肢または腹部の脱毛が 40, 200 および 1000 mg/kg 群の雌雄で 1～3 例に認められたが、軟便は 1 日のみの発現であり、脱毛も 1000 mg/kg 群で多発する傾向はみられなかったことから、偶発的な変化と判断した。

なお、対照群の雄 1 例 (00112) が投与開始後 28 日に胃ゾンデの一部を噛み切り、飲み込む事故が発生したため、その時点で試験系から除外した。

1.2 体重 (Fig 1, 2, Table 3-6)

雌雄とも全期間を通して体重および体重増加量ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

1.3 摂餌量 (Fig 3, 4, Table 7-8)

雌雄とも全期間を通して対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

1.4 雄の血液学検査 (Table 9)

桿状核球比が 40 および 1000 mg/kg 群で有意な低値を示したが、背景データの範囲内 (0 - 1 %, 1991-1996 年) の値であり、白血球百分率のその他の項目にも有意な変化は認められなかったことから、偶発的な変化と判断した。

1.5 雄の血液生化学検査 (Table 10)

クレアチニンが 40 および 1000 mg/kg 群で有意な低値を示したが、背景データの範囲内 (0.49 - 0.60 mg/dl, 1991-1996年) の変化であった。また、無機リンが 200 mg/kg 群で有意な高値を示したが 1000 mg/kg 群では有意な差は認められなかったことから偶発的な変化と判断した。その他の検査項目には有意な変化は認められなかった。

1.6 器官重量 (Table 11-14)

雌雄ともにいずれの器官においても、絶対重量および相対重量ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

1.7 剖検所見 (Table 20)

投与終了後解剖動物では、脾臓の白色斑および食道の結節が 40 mg/kg 群の雌に、精巣または精巣上体の小型化が対照および 200 mg/kg 群に認められた。また、腎盂拡張が対照群の雌雄および 200 mg/kg 群の雄に、皮膚の脱毛が 40, 200 および 1000 mg/kg 群の雌雄に散見されたが、いずれも 1 例のみの発現であり、被験物質との関連はない変化と判断した。

1000 mg/kg 群の雄の死亡例 (00402) では、胸腺の出血、肺、肝臓、腎臓のうっ血が認められた。

1.8 病理組織所見 (Table 21)

投与終了後解剖動物では、対照あるいは被験物質投与群で心臓の限局性の心筋変性／線維化、肝臓の小肉芽腫、壊死巣および限局性の脂肪化、腎臓の好塩基性尿細管、腎盂拡張および間質の限局性炎症性細胞浸潤、精巣の精細管の萎縮および精巣上体の精子の減少が認められたが、いずれもラットでしばしば認められる自然発生性の変化であり、1000 mg/kg 群で多発する所見もなく、発現頻度にも対照群との間に有意な差は認められなかったことから、被験物質とは関連のない偶発病変と判断した。

肉眼的異常部位の対応する変化として、白色斑の認められた 40 mg/kg 群の雌 1 例の脾臓では、壊死巣および炎症性細胞浸潤が認められた。また、皮膚の脱毛部位では、表皮の肥厚が 1000 mg/kg 群の雄 1 例に認められたが、他の 3 例には変化は認められなかった。食道の結節が認められた 40 mg/kg 群の雌 1 例は粘膜下の出血巣であり、投与時の物理的刺激によるものと考えられた。なお、非妊娠の卵巣には異常は認められなかった。

1000 mg/kg 群の雄の死亡例 (00402) では、胸腺の出血が認められたが、死因につながる変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

2.1 生殖機能 (Table 15)

未交尾動物が対照群で1対観察されただけで、他のほとんどの交配対は交配開始後5日以内に雌が発情期を示して交尾し、交尾率、交尾所要日数および交尾成立までに逸した発情期の回数ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。また、非妊娠動物が対照群で1例観察されたのみであり、受胎率にも対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

2.2 分娩および哺育状態 (Table 16)

非分娩動物が200 mg/kg 群で1例(50303)認められたが、その他の母動物はいずれも交尾確認後22または23日に正常な分娩を示し、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、分娩率および出産率ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。また、各群いずれの母動物にも哺育行動に異常は認められなかった。なお、非分娩動物では子宮内に着床痕1個のみが観察された。

2.3 新生児への影響

1) 生存率 (Table 17)

死産児あるいは生後の死亡児が対照、40、200 および 1000 mg/kg 群でそれぞれ3、6、5、1例観察されたが、出産児数、出産生児数、性比、出生率および新生児の4日生存率ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

2) 外表および一般状態

下顎、腹部および四肢の浮腫が40 mg/kg 群の1腹(50206)で4例、哺育1～2日に観察され、いずれも生後3日までに死亡した。その他の動物には外表および一般状態ともに異常は認められなかった。

3) 体重 (Table 18, 19)

各被験物質投与群の雌雄ともに対照群とほぼ同様な体重および体重増加量を示し、有意差は認められなかった。

4) 剖 検

生存動物ではいずれの群にも異常は認められなかった。死亡動物では、腎盂拡張が40 mg/kg 群の1腹(50210)で1例のみに観察された。

考察および結論

グリセリン三酢酸エステルを 40, 200 および 1000 mg/kg の用量で SD 系ラットの雌雄に交配前 14 日から交配を経て雄は計 44 日間, 雌は妊娠, 分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し, 反復投与毒性および生殖発生毒性について検討した。

1. 反復投与毒性

一般状態, 体重および摂餌量には雌雄ともに被験物質の影響は認められなかった。また, 投与終了後の雌雄の剖検, 器官重量, 病理組織学検査, 雄の血液学検査および血液生化学検査においても被験物質に起因する変化は認められなかった。

1000 mg/kg 群で雄 1 例が死亡したが, 一般状態, 体重をはじめ, 病理組織学検査においても死因につながる所見は認められず, 原因を特定することはできなかった。しかし, 同群では他に死亡は観察されず, 他の動物にはいずれの検査においても被験物質による毒性を示す変化は認められなかったことから, 被験物質に起因するものではないと判断した。

被験物質は短鎖脂肪酸エステルで, 経口投与による毒性は弱いと考えられており²⁾, LD₅₀値は 6.4 - 12.8 g/kg と極めて高い⁴⁾。また, 飼料中の脂肪をこの脂肪酸エステルに置き換え, その食餌含有量を 55%にしても, ラットは良好な状態で成長することが報告されている⁵⁾。本試験においても, 1000 mg/kg 群でも被験物質による毒性を示唆する変化は認められなかった。

2. 生殖発生毒性

親動物の検査では, 交尾率, 受胎率, 黄体数, 着床数, 着床率, 分娩率, 出産率, 妊娠期間, 分娩および哺育行動ともに被験物質の影響を示唆する変化は認められなかった。また, 出生児の検査でも出産児数, 出生生児数, 性比, 出生率, 新生児の 4 日生存率, 外表, 一般状態, 体重および剖検のいずれにおいても被験物質に起因する変化は認められなかった。したがって, 被験物質による親動物の生殖機能, 分娩・哺育機能および次世代の発育への影響はないと考えられる。

以上のように, 本試験では 1000 mg/kg 群でも反復投与による一般毒性学的影響は認められず, また生殖・発生に及ぼす影響も認められなかった。したがって, 本

試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雌雄とも 1000 mg/kg/day, 生殖発生毒性に関する無影響量についても, 親動物および児動物ともに 1000 mg/kg/day と考えられる.

参 考 文 献

- 1) J.W. Bailey, M.W. Haymond and J.M. Miles, Triacetin : A Potential parenteral nutrient, J. Parenter. Enteral. Nutr., 15, 32-36(1991).
- 2) 後藤 稠, 池田正之, 原 一郎編, “エステル類, 産業中毒便覧 (増補版), ”医歯薬出版株式会社, 東京, 1984, pp.889-993.
- 3) W.F. Oettingen, The aliphatic acids and their esters: Toxicity and potential dangers, Arch. Ind. Health, 21, 28-65(1960).
- 4) D.W. Fassett, "XLI. Esters, Industrial Hygiene and Toxicology," 2nd revised edition, Vol. 2, eds. by F.A. Patty, Interscience Publishers, New York, 1963, pp.1847-1934.
- 5) W.M. Cox, The nutritive value of pure fatty acid esters, J. Biol. Chem., 103, 777-790(1933).

図 お よ び 群 別 表

目 次

Fig. 1	体重 (雄)	1
Fig. 2	体重 (雌)	2
Fig. 3	摂餌量 (雄)	3
Fig. 4	摂餌量 (雌)	4
Table 1	一般状態 (雄)	5
Table 2	一般状態 (雌)	8
Table 3	体重 (雄)	14
Table 4	体重 (雌)	16
Table 5	体重増加量 (雄)	19
Table 6	体重増加量 (雌)	21
Table 7	摂餌量 (雄)	24
Table 8	摂餌量 (雌)	26
Table 9	血液学検査 (雄)	29
Table 10	血液生化学検査 (雄)	31
Table 11	器官重量 (雄: 絶対重量)	33
Table 12	器官重量 (雌: 絶対重量)	34
Table 13	器官重量 (雄: 相対重量)	35
Table 14	器官重量 (雌: 相対重量)	36
Table 15	生殖機能検査	37
Table 16	分娩成績	38
Table 17	生存率 (F ₁ 動物)	39
Table 18	体重 (F ₁ 動物)	40
Table 19	体重増加量 (F ₁ 動物)	42
Table 20	剖検所見	44
Table 21	病理組織所見	46

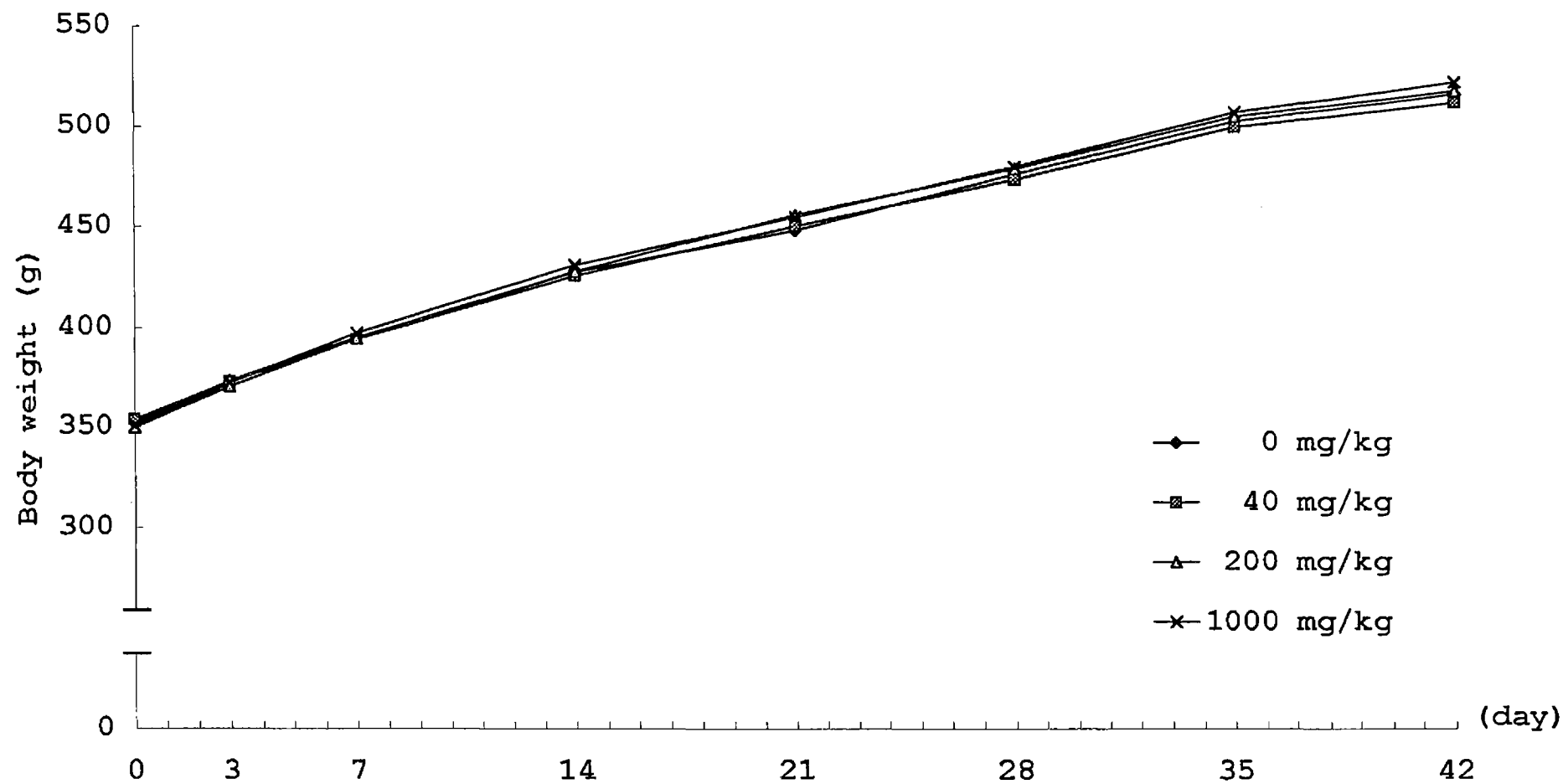


Fig. 1 Body weight changes of male rats treated orally with Triacetin

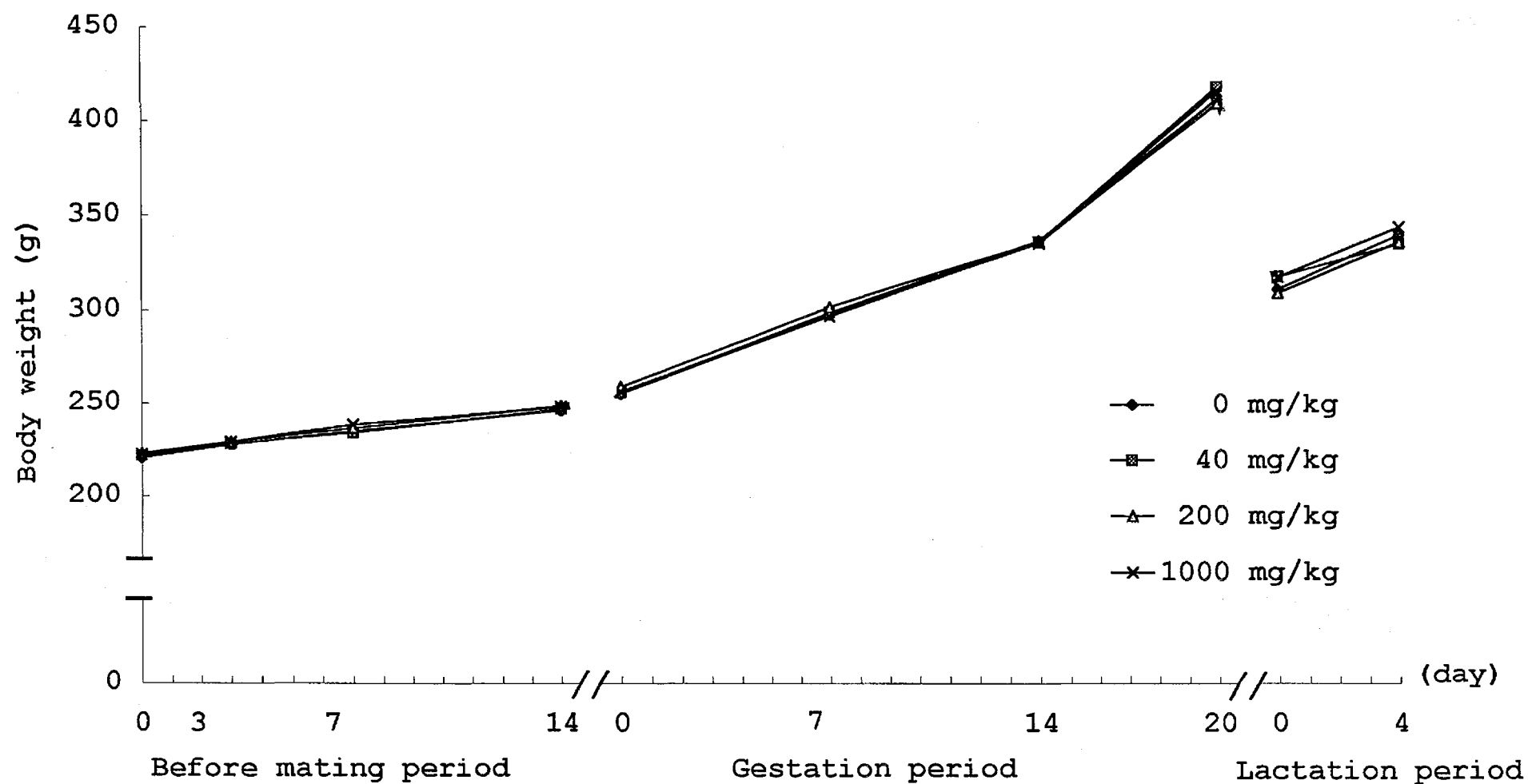


Fig. 2 Body weight changes of female rats treated orally with Triacetin

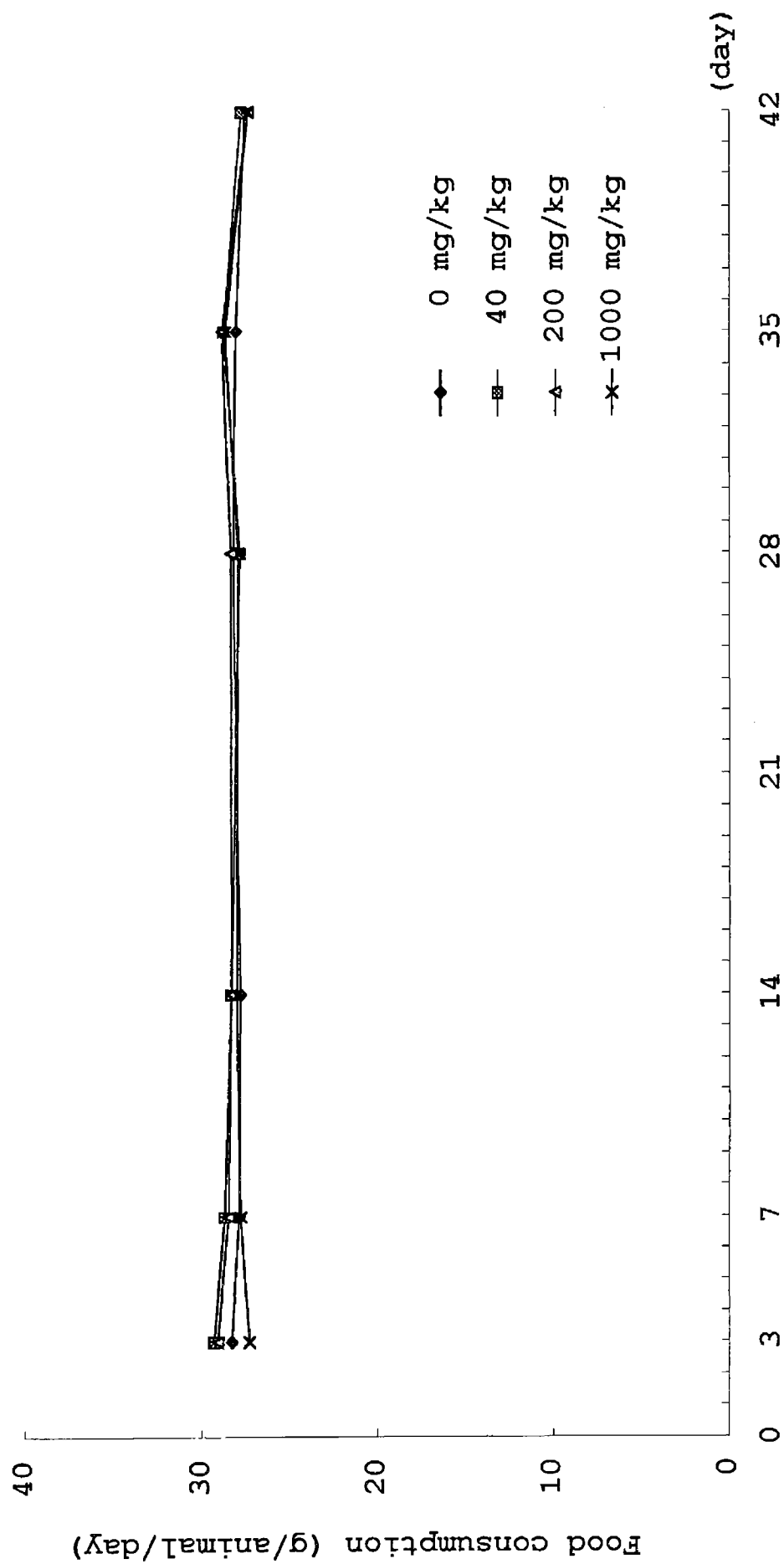


Fig. 3 Food consumption changes of male rats treated orally with Triacetin

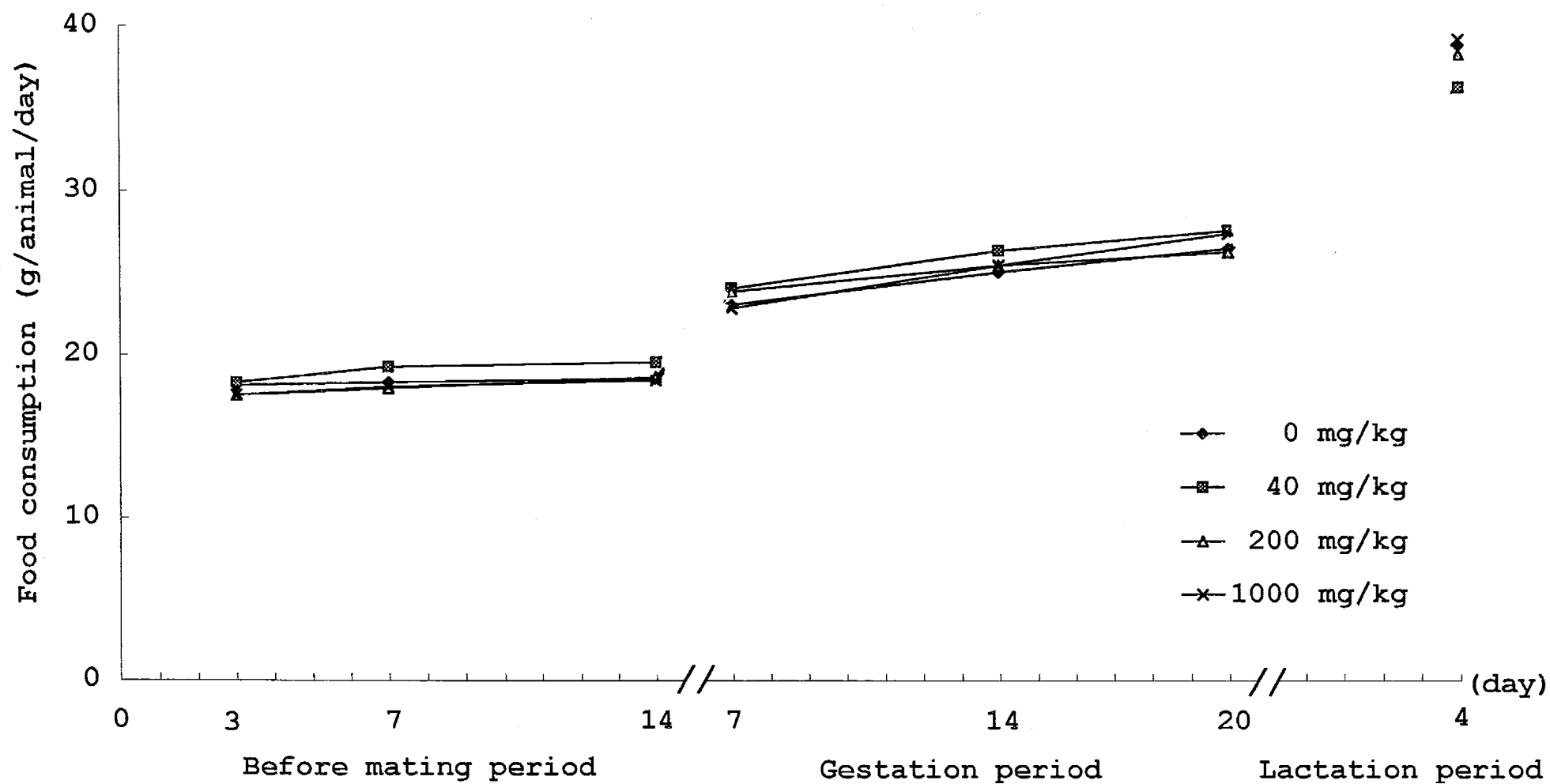


Fig. 4 Food consumption changes of female rats treated orally with Triacetin

Table 1A

Study No. 6L674

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Triacetin 0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 40	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Loose stool				1											

Table 1B

Study No. 6L674

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day 15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
Triacetin 0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	Accident														1											
Triacetin 40	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11
	Loss of fur																							1	1	1
Triacetin 1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11
	No abnormality	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
	Death																		1							
	Loss of fur	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Table 1B
Table Continued

Study No. 6L674

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day				
		40	41	42	43	44
Triacetin 0	Number of animals	11	11	11	11	11
	No abnormality	11	11	11	11	11
Triacetin 40	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	11	11	11	11	11
	Loss of fur	1	1	1	1	1
Triacetin 1000	Number of animals	11	11	11	11	11
	No abnormality	9	9	9	9	9
	Loss of fur	2	2	2	2	2

Table 2A

Study No. 6L674

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Triacetin 0	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 40	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11
	Loss of fur									1	1	1	1	1	1	1
Triacetin 200	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 2B

Study No. 6L674

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
		15																									
Triacetin 0	Number of animals	8	8	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	No abnormality	8	8	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Triacetin 40	Number of animals	6	6	3																							
	No abnormality	5	5	2																							
	Loss of fur	1	1	1																							
Triacetin 200	Number of animals	11	11	4	1	1	1																				
	No abnormality	10	10	4	1	1	1																				
	Loss of fur	1	1																								
Triacetin 1000	Number of animals	9	8	4	1	1	1																				
	No abnormality	9	8	4	1	1	1																				

Table 2B
Table Continued
Clinical Sign (F0 Mating) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day 40	41
Triacetin 0	Number of animals No abnormality	1 1	1 1

Table 2C

Study No. 6L674

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Triacetin 0	Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	6		
	No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	6		
Triacetin 40	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5		
	No abnormality	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	5		
	Loss of fur	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
Triacetin 200	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5	1	1
	No abnormality	11	11	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	10	10	4	1	1
	Loss of fur	1	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1		
Triacetin 1000	Number of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7		

Table 2C
Table Continued
Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day	
		25	26
Triacetin 200	Number of animals	1	1
	No abnormality	1	1

Table 2D

Study No. 6L674

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	/Day				
		0	1	2	3	4
Triacetin 0	Number of animals	10	10	10	10	10
	No abnormality	10	10	10	10	10
Triacetin 40	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	11	11	11	11	11
	Loss of fur	1	1	1	1	1
Triacetin 200	Number of animals	11	11	11	11	11
	No abnormality	9	9	9	9	9
	Loss of fur	2	2	2	2	2
Triacetin 1000	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12

Table 3A

Study No. 6L674

Body Weight (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	3	7	14
Triacetin 0	Mean	352.2	373.2	394.8	427.3
	S.D.	14.4	20.1	24.9	33.6
	n	12	12	12	12
Triacetin 40	Mean	353.8	372.7	394.2	425.3
	S.D.	13.8	16.0	19.7	29.1
	n	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	349.9	370.3	394.3	427.5
	S.D.	16.9	19.3	24.6	33.3
	n	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	350.5	372.1	397.2	430.8
	S.D.	15.6	16.1	19.3	22.3
	n	12	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 3B

Study No. 6L674

Body Weight (F0 Mating) - Summary						Unit : g
Sex : Male						
Test Substance						
Dose(mg/kg)	/Day	21	28	35	42	
Triacetin 0	Mean	447.7	475.4	501.8	515.2	
	S.D.	38.7	42.4	45.2	46.7	
	n	12	12	11	11	
Triacetin 40	Mean	449.7	472.8	498.7	511.1	
	S.D.	31.5	33.9	34.8	36.4	
	n	12	12	12	12	
Triacetin 200	Mean	455.3	478.2	504.0	516.8	
	S.D.	38.0	43.7	49.1	56.4	
	n	12	12	12	12	
Triacetin 1000	Mean	454.4	479.2	506.2	521.0	
	S.D.	20.9	24.4	28.2	36.2	
	n	12	12	11	11	
Significantly different from control		: *, P<0.05; **, P<0.01.				

Table 4A

Study No. 6L674

Body Weight (F0 before Mating) - Summary
Sex : Female

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	3	7	14
Triacetin 0	Mean	220.4	227.7	234.7	245.8
	S.D.	8.6	8.5	8.4	12.1
	n	12	12	12	12
Triacetin 40	Mean	222.4	227.9	234.1	246.8
	S.D.	5.5	7.5	10.8	12.3
	n	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	222.8	229.0	236.4	248.5
	S.D.	8.1	8.5	8.0	8.7
	n	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	222.2	229.0	238.2	247.9
	S.D.	5.2	7.9	10.7	9.3
	n	12	12	12	12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 4B

Study No. 6L674

Body Weight (F0 Gestation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	7	14	20
Triacetin 0	Mean	254.9	297.2	336.0	411.0
	S.D.	7.7	15.2	20.9	31.7
	n	10	10	10	10
Triacetin 40	Mean	255.4	298.4	335.3	417.3
	S.D.	12.0	13.1	13.6	16.6
	n	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	258.5	301.4	335.3	408.3
	S.D.	12.2	14.0	17.5	31.1
	n	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	256.1	296.5	334.7	415.3
	S.D.	13.1	15.4	17.4	24.8
	n	12	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 4C

Study No. 6L674

Body Weight (F0 Lactation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	4
Triacetin 0	Mean	310.4	339.1
	S. D.	23.3	23.1
	n	10	10
Triacetin 40	Mean	316.8	334.2
	S. D.	20.0	18.4
	n	12	12
Triacetin 200	Mean	308.4	335.2
	S. D.	25.3	18.7
	n	11	11
Triacetin 1000	Mean	316.7	343.2
	S. D.	20.0	20.5
	n	12	12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 5A

Study No. 6L674

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Male Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	3	7	14
Triacetin 0	Mean	0.0	21.0	42.6	75.2
	S.D.	0.0	7.3	13.7	23.2
	n	12	12	12	12
Triacetin 40	Mean	0.0	18.8	40.3	71.4
	S.D.	0.0	5.9	10.6	19.7
	n	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	0.0	20.3	44.4	77.6
	S.D.	0.0	4.9	10.5	18.8
	n	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	0.0	21.6	46.7	80.3
	S.D.	0.0	4.0	7.8	10.7
	n	12	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 5B

Study No. 6L674

Body Weight Gain (F0 Mating) - Summary
Sex : Male Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	21	28	35	42
Triacetin 0	Mean	95.5	123.3	147.6	161.0
	S.D.	28.4	32.2	36.4	39.4
	n	12	12	11	11
Triacetin 40	Mean	95.8	119.0	144.8	157.3
	S.D.	23.0	25.6	27.2	28.3
	n	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	105.3	128.3	154.1	166.8
	S.D.	23.9	29.8	35.5	43.0
	n	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	103.9	128.7	153.1	167.9
	S.D.	11.8	17.2	23.6	31.4
	n	12	12	11	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 6A

Study No. 6L674

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary
 Sex : Female Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	3	7	14
Triacetin 0	Mean	0.0	7.3	14.3	25.3
	S.D.	0.0	5.2	6.6	11.7
	n	12	12	12	12
Triacetin 40	Mean	0.0	5.5	11.7	24.4
	S.D.	0.0	5.4	8.2	9.5
	n	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	0.0	6.2	13.6	25.7
	S.D.	0.0	4.1	4.8	6.8
	n	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	0.0	6.8	16.0	25.8
	S.D.	0.0	4.4	6.8	6.6
	n	12	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 6B

Study No. 6L674

Body Weight Gain (F0 Gestation) - Summary
Base : Day 0 of Gestation

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	7	14	20
Triacetin 0	Mean	0.0	42.3	81.1	156.1
	S.D.	0.0	10.5	15.6	27.1
	n	10	10	10	10
Triacetin 40	Mean	0.0	43.0	79.9	161.9
	S.D.	0.0	6.5	9.7	15.1
	n	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	0.0	42.9	76.8	149.8
	S.D.	0.0	8.7	12.6	28.2
	n	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	0.0	40.4	78.6	159.3
	S.D.	0.0	8.7	10.5	16.2
	n	12	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 6C

Study No. 6L674

Body Weight Gain (F0 Lactation) - Summary
 Base : Day 0 of Lactation

Unit : g

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	0	4
Triacetin 0	Mean	0.0	28.7
	S. D.	0.0	13.0
	n	10	10
Triacetin 40	Mean	0.0	17.3
	S. D.	0.0	16.5
	n	12	12
Triacetin 200	Mean	0.0	26.8
	S. D.	0.0	9.4
	n	11	11
Triacetin 1000	Mean	0.0	26.5
	S. D.	0.0	9.5
	n	12	12

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 7A

Study No. 6L674

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	3	7	14
Triacetin 0	Mean	28.3	27.9	27.8
	S.D.	2.7	3.1	3.7
	n	12	12	12
Triacetin 40	Mean	29.3	28.7	28.3
	S.D.	1.8	2.5	2.7
	n	12	12	12
Triacetin 200	Mean	29.1	28.5	28.3
	S.D.	2.2	2.6	3.1
	n	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	27.3	27.8	28.0
	S.D.	2.4	2.5	2.8
	n	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 7B

Study No. 6L674

Food Consumption (F0 Mating) - Summary
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	28	35	42
Triacetin 0	Mean	28.2	28.0	27.5
	S.D.	3.2	3.3	2.6
	n	12	11	11
Triacetin 40	Mean	27.8	28.7	27.7
	S.D.	2.3	2.4	1.7
	n	12	12	12
Triacetin 200	Mean	28.3	28.8	27.3
	S.D.	2.5	2.7	3.3
	n	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	27.9	28.6	27.3
	S.D.	2.8	2.9	3.9
	n	12	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 8A

Study No. 6L674

Food Consumption (FO before Mating) - Summary
Sex : Female

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	3	7	14
Triacetin 0	Mean	18.1	18.3	18.5
	S.D.	1.5	1.5	1.2
	n	12	12	12
Triacetin 40	Mean	18.3	19.2	19.5
	S.D.	1.7	2.0	1.8
	n	12	12	12
Triacetin 200	Mean	17.5	17.9	18.6
	S.D.	1.3	0.9	1.4
	n	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	17.5	18.0	18.4
	S.D.	0.7	0.9	0.8
	n	12	12	12

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 8B

Study No. 6L674

Food Consumption (F0 Gestation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	7	14	20
Triacetin 0	Mean	23.0	25.0	26.4
	S.D.	2.1	2.3	2.0
	n	10	10	10
Triacetin 40	Mean	24.0	26.3	27.5
	S.D.	1.7	2.0	2.1
	n	12	12	12
Triacetin 200	Mean	23.8	25.4	26.2
	S.D.	2.1	2.6	2.6
	n	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	22.8	25.4	27.3
	S.D.	2.0	1.8	2.2
	n	12	12	12

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 8C

Study No. 6L674

Food Consumption (F0 Lactation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose(mg/kg)	/Day	4
Triacetin 0	Mean S. D. n	38.8 7.6 10
Triacetin 40	Mean S. D. n	36.2 4.3 12
Triacetin 200	Mean S. D. n	38.2 3.7 11
Triacetin 1000	Mean S. D. n	39.1 3.4 12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 9 Hematology - Summary

Male D001

Test Substance Dose(mg/kg)		RBC x10 ⁴ / μ l	Hb g/dl	Ht %	MCV fl	MCH pg	MCHC %	Reticulocyte Ratio ‰	PLT x10 ⁴ / μ l
Triacetin 0	Mean	860.4	15.87	46.55	54.17	18.46	34.08	21.73	93.86
	S.D.	36.4	0.53	1.57	2.06	0.61	0.49	2.80	9.49
	n	11	11	11	11	11	11	11	11
Triacetin 40	Mean	868.2	16.02	47.32	54.53	18.47	33.86	22.03	100.41
	S.D.	24.9	0.38	1.55	2.18	0.61	0.92	2.16	6.48
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	862.3	15.82	46.59	54.08	18.36	33.98	20.95	96.28
	S.D.	27.8	0.46	1.58	2.02	0.67	0.78	2.75	8.63
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	860.0	15.71	45.98	53.48	18.26	34.17	21.56	96.25
	S.D.	35.2	0.54	2.11	1.43	0.49	0.76	2.55	12.20
	n	11	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 9 Hematology - Summary

		Male				D001		
Test Substance Dose (mg/kg)		WBC	Lymphocyte	Neutrophilic Segmented	Neutrophilic Band	Eosinophil	Basophil	Monocyte
		$\times 10^2 / \mu l$	%	%	%	%	%	%
Triacetin 0	Mean	88.02	81.4	8.9	0.7	1.3	0.0	7.7
	S.D.	19.97	5.9	3.6	0.8	1.1	0.0	4.3
	n	11	11	11	11	11	11	11
Triacetin 40	Mean	84.83	82.4	9.1	0.1*	1.3	0.0	7.2
	S.D.	11.11	6.0	4.7	0.3	1.3	0.0	3.0
	n	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	98.82	81.3	9.0	0.3	0.7	0.0	8.8
	S.D.	26.64	5.9	3.0	0.6	0.7	0.0	4.5
	n	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	87.85	81.5	9.0	0.0**	0.7	0.0	8.8
	S.D.	14.85	5.9	3.4	0.0	1.1	0.0	2.8
	n	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 10 Blood Chemistry - Summary

Male D001

Test Substance Dose (mg/kg)		ASAT (GOT) U/l	ALAT (GPT) U/l	γ -GT U/l	ALP U/l	Total Bilirubin mg/dl	Urea Nitrogen mg/dl	Creatinine mg/dl	Glucose mg/dl	Total Cholesterol mg/dl	Triglyceride mg/dl
Triacetin 0	Mean	90.5	27.0	0.0	293.3	0.16	16.99	0.58	145.8	60.1	73.7
	S. D.	20.2	8.5	0.0	71.7	0.07	1.67	0.06	14.8	12.3	30.4
	n	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
Triacetin 40	Mean	93.4	23.9	0.0	311.6	0.17	17.09	0.51**	151.8	53.4	68.4
	S. D.	13.6	3.4	0.0	61.5	0.05	2.18	0.03	17.2	4.2	31.5
	n	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	92.8	26.7	0.0	280.1	0.20	17.66	0.56	150.7	65.5	67.3
	S. D.	14.4	4.1	0.0	40.4	0.00	3.33	0.14	19.8	10.7	31.4
	n	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	97.1	23.5	0.0	267.1	0.13	16.54	0.49**	143.5	56.5	58.0
	S. D.	16.8	2.5	0.0	58.3	0.05	1.62	0.03	12.4	9.8	22.0
	n	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 10 Blood Chemistry - Summary

		Male D001							
Test Substance		Total Protein	Albumin	A/G Ratio	Calcium	Inorganic Phosphorus	Na	K	Cl
Dose (mg/kg)		g/dl	g/dl		mg/dl	mg/dl	mmol/l	mmol/l	mmol/l
Triacetin 0	Mean	6.85	3.29	0.925	9.40	7.45	143.4	4.37	100.6
	S.D.	0.24	0.10	0.026	0.25	0.46	0.9	0.13	2.0
	n	11	11	11	11	11	11	11	11
Triacetin 40	Mean	6.79	3.32	0.958	9.35	7.72	143.1	4.50	99.9
	S.D.	0.25	0.08	0.061	0.22	0.47	1.4	0.16	1.0
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	6.86	3.32	0.938	9.48	8.05*	142.9	4.43	99.5
	S.D.	0.21	0.09	0.054	0.31	0.60	0.8	0.18	1.8
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	6.69	3.27	0.958	9.40	7.94	143.1	4.44	100.6
	S.D.	0.41	0.15	0.045	0.30	0.40	1.4	0.21	1.7
	n	11	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 11

Study No. 6L674

Organ Weight - Summary
Sex : Male

Test Substance Dose(mg/kg)		F. B. W. (g)	Thymus (mg)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidneys (g)	Adrenals (mg)	Testes (g)	Epididy. (g)
Triacetin 0	Mean	506.7	368.9	13.692	0.809	2.962	56.11	3.219	1.194
	S. D.	47.5	95.8	2.283	0.084	0.346	9.04	0.660	0.202
	n	11	11	11	11	11	11	11	11
Triacetin 40	Mean	501.1	371.8	13.311	0.780	2.952	58.81	3.308	1.232
	S. D.	37.9	75.9	1.606	0.144	0.273	11.39	0.158	0.097
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	507.6	348.9	13.855	0.843	3.148	59.32	3.370	1.238
	S. D.	55.6	134.5	2.120	0.154	0.376	5.02	0.418	0.130
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	512.4	395.6	13.252	0.778	3.166	61.28	3.515	1.285
	S. D.	35.3	110.0	1.775	0.101	0.371	7.75	0.314	0.082
	n	11	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 12

Study No. 6L674

Organ Weight - Summary
Sex : Female

Test Substance Dose(mg/kg)		F. B. W. (g)	Thymus (mg)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidneys (g)	Adrenals (mg)
Triacetin 0	Mean	337.9	268.8	14.093	0.716	2.173	72.91
	S.D.	21.8	51.2	1.582	0.119	0.151	6.77
	n	10	10	10	10	10	10
Triacetin 40	Mean	333.7	313.9	14.275	0.730	2.028	80.06
	S.D.	18.3	78.1	0.935	0.178	0.351	8.67
	n	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	333.5	254.5	13.902	0.699	2.148	73.11
	S.D.	19.0	62.9	0.798	0.070	0.090	9.27
	n	11	11	11	11	11	11
Triacetin 1000	Mean	341.0	303.4	14.653	0.695	2.103	74.08
	S.D.	20.2	72.0	1.202	0.120	0.175	5.56
	n	12	12	12	12	12	12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 13

Study No. 6L674

Relative Organ Weight - Summary
Sex : Male

Unit : g/100gBW

Test Substance Dose(mg/kg)		F. B. W. (g)	Thymus (x10 ⁻³)	Liver	Spleen	Kidneys	Adrenals (x10 ⁻³)	Testes	Epididy.
Triacetin 0	Mean	506.7	73.25	2.687	0.160	0.585	11.08	0.645	0.238
	S.D.	47.5	19.28	0.231	0.013	0.052	1.51	0.152	0.049
	n	11	11	11	11	11	11	11	11
Triacetin 40	Mean	501.1	74.33	2.654	0.153	0.592	11.75	0.664	0.247
	S.D.	37.9	14.88	0.224	0.023	0.059	2.10	0.049	0.014
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	507.6	67.68	2.719	0.165	0.619	11.81	0.672	0.247
	S.D.	55.6	21.86	0.190	0.017	0.043	1.52	0.096	0.031
	n	12	12	12	12	12	12	12	12
Triacetin 1000	Mean	512.4	76.64	2.579	0.152	0.618	11.95	0.689	0.251
	S.D.	35.3	18.05	0.219	0.017	0.057	1.20	0.076	0.022
	n	11	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 14

Study No. 6L674

Relative Organ Weight - Summary
Sex : Female

Unit : g/100gBW

Test Substance Dose(mg/kg)		F. B. W. (g)	Thymus (x10 ⁻³)	Liver	Spleen	Kidneys	Adrenals (x10 ⁻³)
Triacetin 0	Mean	337.9	79.68	4.171	0.212	0.644	21.60
	S.D.	21.8	15.22	0.401	0.031	0.054	1.91
	n	10	10	10	10	10	10
Triacetin 40	Mean	333.7	93.58	4.281	0.219	0.607	24.00
	S.D.	18.3	20.10	0.226	0.057	0.095	2.30
	n	12	12	12	12	12	12
Triacetin 200	Mean	333.5	75.79	4.177	0.210	0.645	22.03
	S.D.	19.0	15.86	0.266	0.025	0.025	3.39
	n	11	11	11	11	11	11
Triacetin 1000	Mean	341.0	88.98	4.296	0.203	0.618	21.73
	S.D.	20.2	20.26	0.215	0.024	0.039	1.56
	n	12	12	12	12	12	12

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 15

Study No. 6L674

 Reproductive Performance (F0) - Summary
 Mating Stage : 1st

Test Substance Dose(mg/kg)	Number of Pairs	Mating Period		Copulation Index(%)	Fertility Index(%)
		Number of Estrus	Day of Conceiving		
Triacetin 0	Mean	0.0	2.6	91.7	90.9
	S.D.	0.0	1.4		
	n	12	11	a) (11/12)	b) (10/11)
Triacetin 40	Mean	0.0	2.3	100.0	100.0
	S.D.	0.0	1.4		
	n	12	12	(12/12)	(12/12)
Triacetin 200	Mean	0.1	3.4	100.0	100.0
	S.D.	0.3	1.4		
	n	12	12	(12/12)	(12/12)
Triacetin 1000	Mean	0.1	3.0	100.0	100.0
	S.D.	0.3	1.7		
	n	12	12	(12/12)	(12/12)

a): Number of copulated females / Number of pairs
 b): Number of pregnant females / Number of copulated females
 Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 16

Study No. 6L674

Delivery Data (F0) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)		Gestation Length (days)	Number of Corpora Lutea	Number of Implantation Sites	Total Number of Offspring	Implantation Index (%)	Delivery Index (%)	Gestation Index (%)
Triacetin 0	Mean	22.6	16.6	15.3	14.4	90.15	94.83	100.0
	S.D.	0.5	1.8	4.4	4.1	23.23	7.22	(10/10) a)
	n	10	10	10	10	10	10	
Triacetin 40	Mean	22.4	16.3	16.0	15.3	98.17	95.11	100.0
	S.D.	0.5	1.9	1.7	2.1	4.75	4.83	(12/12)
	n	12	12	12	12	12	12	
Triacetin 200	Mean	22.4	16.3	14.7	14.3	89.49	90.17	91.7
	S.D.	0.5	1.6	4.4	4.6	26.36	28.52	(11/12)
	n	11	12	12	12	12	12	
Triacetin 1000	Mean	22.6	16.8	15.8	14.6	93.84	92.62	100.0
	S.D.	0.5	1.9	1.4	1.4	4.77	3.52	(12/12)
	n	12	12	12	12	12	12	

a): Number of pregnant animals delivered live offspring / number of pregnant animals
Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 17

Study No. 6L674

Litter Size and Viability Index (F1) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)		Total Number of Offspring at Birth			Number of Live Offspring at Birth			Number of Live Offspring on Day 4						Viability Index (%)	
								before Culling			after Culling				
		M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	Day 0	Day 4
Triacetin 0	Mean	8.0	6.3	14.4	7.9	6.3	14.2	7.9	6.2	14.1				98.71	99.38
	S.D.	2.8	2.6	4.1	2.7	2.6	4.1	2.7	2.4	4.1				2.72	1.98
	n (M/F)	10 (80/63)	10	10	10 (79/63)	10	10	10 (79/62)	10	10				10	10
Triacetin 40	Mean	7.2	8.1	15.3	7.2	8.1	15.3	7.1	7.7	14.8				100.00	97.17
	S.D.	2.5	2.5	2.1	2.5	2.5	2.1	2.4	2.4	1.7				0.00	6.26
	n (M/F)	12 (86/97)	12	12	12 (86/97)	12	12	12 (85/92)	12	12				12	12
Triacetin 200	Mean	8.4	7.3	15.6	8.4	7.1	15.5	8.1	7.1	15.2				98.86	98.30
	S.D.	2.5	2.8	0.8	2.5	2.7	0.8	2.8	2.7	0.8				2.54	2.92
	n (M/F)	11 (92/80)	11	11	11 (92/78)	11	11	11 (89/78)	11	11				11	11
Triacetin 1000	Mean	6.8	7.8	14.6	6.8	7.8	14.6	6.8	7.7	14.5				100.00	99.41
	S.D.	2.5	2.5	1.4	2.5	2.5	1.4	2.5	2.5	1.4				0.00	2.05
	n (M/F)	12 (82/93)	12	12	12 (82/93)	12	12	12 (82/92)	12	12				12	12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 18

Study No. 6L674

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling / after Culling	
		0	4
Triacetin 0	Mean	7.1	11.1
	S. D.	0.6	1.7
	n	10	10
Triacetin 40	Mean	6.8	10.8
	S. D.	0.6	1.3
	n	12	12
Triacetin 200	Mean	6.5	10.2
	S. D.	0.6	0.5
	n	11	11
Triacetin 1000	Mean	7.1	11.3
	S. D.	0.6	1.0
	n	10	12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 18

Study No. 6L674

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
Sex : Female

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling / after Culling	
		0	4
Triacetin 0	Mean	6.7	10.7
	S.D.	0.6	1.6
	n	10	10
Triacetin 40	Mean	6.4	10.4
	S.D.	0.6	1.2
	n	12	12
Triacetin 200	Mean	6.3	9.8
	S.D.	0.6	0.7
	n	11	11
Triacetin 1000	Mean	6.7	10.9
	S.D.	0.6	1.1
	n	10	12

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 19

Study No. 6L674

Body Weight Gain of Offspring (F1 after Culling) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance		before Culling	after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0 - 4	
Triacetin 0	Mean	4.0	
	S. D.	1.1	
	n	10	
Triacetin 40	Mean	4.0	
	S. D.	0.9	
	n	12	
Triacetin 200	Mean	3.7	
	S. D.	0.5	
	n	11	
Triacetin 1000	Mean	4.5	
	S. D.	0.7	
	n	10	

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 19

Study No. 6L674

Body Weight Gain of Offspring (F1 after Culling) - Summary
 Sex : Female

Unit : g

Test Substance		before Culling	after Culling
Dose (mg/kg)	/Day	0 - 4	
Triacetin 0	Mean	4.0	
	S. D.	1.1	
	n	10	
Triacetin 40	Mean	3.9	
	S. D.	0.8	
	n	12	
Triacetin 200	Mean	3.4	
	S. D.	0.5	
	n	11	
Triacetin 1000	Mean	4.4	
	S. D.	0.6	
	n	10	

Significantly different from control

: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Table 20 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex	Male					Female		
	Test Substance	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin
	Dose (mg/kg)	0	40	200	1000	0	40	200	1000
	Number of Animals	11	12	12	11	12	12	12	12
	Number of Animals Examined :	<11>	<12>	<12>	<11>	<12>	<12>	<12>	<12>
Spleen									
White patch		0	0	0	0	0	1	0	0
Esophagus									
Nodule		0	0	0	0	0	1	0	0
Kidney									
Dilatation, pelvis		1	0	1	0	1	0	0	0
Testis									
Small		1	0	1	0	0	0	0	0
Epididymis									
Small		1	0	0	0	0	0	0	0
Skin									
Loss of hair		0	0	1	1	0	1	1	0

Table 20 Necropsy Findings - Summary Death or Moribund Sacrifice

Organ	Sex Test Substance Dose (mg/kg) Number of Animals Number of Animals Examined :	Male				Female			
		Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin
Findings		0	40	200	1000	0	40	200	1000
		0	0	0	1	0	0	0	0
		<0>	<0>	<0>	<1>	<0>	<0>	<0>	<0>
Thymus									
Hemorrhage		0	0	0	1	0	0	0	0
Lung									
Congestion		0	0	0	1	0	0	0	0
Liver									
Congestion		0	0	0	1	0	0	0	0
Kidney									
Congestion		0	0	0	1	0	0	0	0

Table 21 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice

Organ Findings	Sex	:	Male					Female		
	Test Substance	:	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin
	Dose (mg/kg)	:	0	40	200	1000	0	40	200	1000
	Number of Animals	:	11	12	12	11	12	12	12	12
Heart			<11>	< 0>	< 0>	<11>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Myocardial degeneration/fibrosis, focal	1	1				3	0			0
	2	0				0	0			0
	3	0				0	0			0
Spleen			<11>	< 0>	< 0>	<11>	<12>	< 1>	< 0>	<12>
Inflammatory cell infiltration, focal	1	0				0	0	1		0
	2	0				0	0	0		0
	3	0				0	0	0		0
Necrosis, focal	1	0				0	0	1		0
	2	0				0	0	0		0
	3	0				0	0	0		0
Esophagus			< 0>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>
Hemorrhage, focal	1							1		
	2							0		
	3							0		
Stomach			<11>	< 0>	< 0>	<11>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Duodenum			<11>	< 0>	< 0>	<11>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Liver			<11>	< 0>	< 0>	<11>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Fatty change, hepatocyte, focal	1	1				0	0			0
	2	0				0	0			0
	3	0				0	0			0
Microgranuloma	1	5				6	0			0
	2	0				0	0			0
	3	0				0	0			0
Necrosis, focal	1	0				0	0			2
	2	0				0	0			0
	3	0				0	0			0

<> . Number of animals examined

1 . Slight; 2 , Moderate; 3 , Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 21 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice

Organ	Findings	Sex Test Substance Dose (mg/kg) Number of Animals	Male					Female		
			Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin
			0	40	200	1000	0	40	200	1000
			11	12	12	11	12	12	12	12
Kidney			<11>	< 0>	< 1>	<11>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
	Basophilic tubule	1	2		0	2	2			1
		2	0		0	0	0			0
		3	0		0	0	0			0
	Dilatation, pelvis	1	1		1	0	1			0
		2	0		0	0	0			0
		3	0		0	0	0			0
	Inflammatory cell infiltration, interstitium, focal	1	1		0	0	2			0
		2	0		0	0	0			0
		3	0		0	0	0			0
Testis			<11>	< 0>	< 1>	<11>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
	Atrophy, seminiferous tubule, diffuse	1	1		1	0				
		2	0		0	0				
		3	0		0	0				
Epididymis			<11>	< 0>	< 0>	<11>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
	Decrease in sperm	1	1			0				
		2	0			0				
		3	0			0				
Ovary			< 0>	< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>
Adrenal			<11>	< 0>	< 0>	<11>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Brain			<11>	< 0>	< 0>	<11>	<12>	< 0>	< 0>	<12>
Skin			< 0>	< 0>	< 1>	< 1>	< 0>	< 1>	< 1>	< 0>
	Acanthosis	1			0	1		0	0	
		2			0	0		0	0	
		3			0	0		0	0	

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 21 Histological Findings - Summary Death or Moribund Sacrifice

Organ Findings	Sex	:	Male				Female			
	Test Substance	:	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin	Triacetin
	Dose (mg/kg)	:	0	40	200	1000	0	40	200	1000
	Number of Animals	:	0	0	0	1	0	0	0	0
Heart			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Thymus			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Hemorrhage, diffuse		1				1				
		2				0				
		3				0				
Spleen			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Lung			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Stomach			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Duodenum			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Liver			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Kidney			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Testis			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Epididymis			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Adrenal			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Brain			< 0>	< 0>	< 0>	< 1>	< 0>	< 0>	< 0>	< 0>

<> . Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.