

最終報告書

1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルのラットを
用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験
(試験番号 96-065-2)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約	1
緒言	2
試験目的	2
試験材料および方法	
1. 被験物質	2
2. 供試動物および飼育条件	2
3. 群分けおよび個体識別	3
4. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法	3
5. 観察および検査	
1) 親動物に関する項目	
(1) 一般状態観察	4
(2) 体重および摂餌量測定	4
(3) 交配および分娩状態観察	4
(4) 臨床病理学検査	4
(5) 病理学検査	7
2) 新生児に関する項目	
(1) 産児数および性比の観察	7
(2) 外表異常および一般状態観察	8
(3) 体重測定	8
(4) 病理学検査	8
6. 統計処理	8
試験結果	
1. 反復投与毒性	
1) 死亡動物	8
2) 一般状態	8
3) 体重	8
4) 摂餌量	9
5) 雄の尿所見	9
6) 雄の血液学所見	9
7) 雄の血液生化学所見	9
8) 剖検所見	9
9) 器官重量	9
10) 病理組織学所見	9

2. 生殖発生毒性

1) 親動物に及ぼす影響

(1) 交尾率および受胎率 -----	1 0
(2) 黄体数、着床数および着床率 -----	1 0
(3) 出産率および妊娠期間 -----	1 0
(4) 分娩および哺育状態 -----	1 0

2) 新生児に及ぼす影響

(1) 生存性 -----	1 0
(2) 体重 -----	1 0
(3) 形態 -----	1 0

考察および結論

1. 反復投与毒性 -----	1 1
2. 生殖発生毒性 -----	1 1

参考文献 -----	1 2
------------	-----

添付資料

A. 図・群別平均値表

Figures 1, 2	体重 -----	1
Figures 3, 4	摂餌量 -----	3
Tables 1, 2	死亡率 -----	5
Tables 3, 4	一般状態 -----	7
Tables 5, 6	体重 -----	9
Tables 7, 8	摂餌量 -----	1 1
Table 9	尿所見 -----	1 3
Table 10	血液学所見 -----	1 5
Table 11	血液生化学所見 -----	1 6
Tables 12, 13	剖検所見 -----	1 7
Tables 14, 15	器官重量 -----	1 9
Tables 16, 17	病理組織学所見 -----	2 1
Table 18	生殖に及ぼす影響 -----	2 5
Table 19	新生児に及ぼす影響 -----	2 6
Table 20	新生児の外表所見 -----	2 7
Table 21	新生児の内臓所見 -----	2 8

要約

油、ゴム、樹脂等の溶媒として用いられている高生産既存化学物質1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルについて、ラットを用い、0、100、300および1000mg/kg/day用量で反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施した。動物は1群雌雄各10匹とし、被験物質は交配開始14日間前から雄は44日間、雌は分娩後哺育3日（41～45日間）まで投与した。

1. 反復投与毒性

雄親について、1000mg/kg群で摂餌量の減少傾向および体重増加量の有意な減少が認められた。一般状態の観察、尿検査および血液学検査では、変化は認められなかった。血液生化学検査では、1000mg/kg群で血糖および無機リンの有意な減少が認められた。病理学検査では、1000mg/kg群で副腎相対重量の有意な増加が認められた。しかし、病理組織学的には各器官に被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

一方、雌親について、1000mg/kg群で交配前期間に体重および体重増加量の有意な減少が認められた。病理学検査では変化は認められなかった。

以上の結果から、1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルのラットへの反復経口投与により、成長に対する影響、血液生化学的影響等が認められた。無影響量は、雌雄とも300mg/kg/dayと推定された。

2. 生殖発生毒性

親動物の交尾率、受胎率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率、分娩率、分娩および哺育状態に変化は認められなかった。児動物に対しても、総出産児数、新生児数、性比、出生率、体重、形態および哺育4日新生児生存率に変化は認められなかった。

したがって、雌雄親動物の生殖能および児動物の発生に対する無影響量は、いずれも1000mg/kg/dayと推定された。

緒言

1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルは、油、ゴム、樹脂等の溶媒として用いられている化学物質である。本物質の毒性について、ラットにおける単回経口LD₅₀値は8500mg/kg¹⁾で、ラットに14日間反復投与した吸入毒性試験では、鎮静、麻酔状態などの急性中毒症状の発現する3000ppm濃度で、上気道粘膜の刺激性変化、尿比重の低下傾向、軽度な肝臓重量の増加および雄の腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴の増加が認められたと報告²⁾されている。しかし、反復経口投与毒性および生殖発生毒性については、明らかにされていない。

この試験は、OECDにおける高生産既存化学物質の安全性点検プログラムの一環として、実施したものである。

試験目的

1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルを雌雄ラットに反復経口投与し、投与期間中に交[○]妊娠および分娩させ、本物質の反復投与毒性ならびに生殖発生毒性を検討する。

試験材料および方法

1. 被験物質 (Appendices 1~4)

1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステル (CAS No. 108-65-6) は、分子量132.16、融点-80℃以下、比重0.969 (20/20℃)、水および有機溶剤に可溶な無色透明の液体である。試験には、
のもの (ロット番号 純度99.9%) を
入手し、冷暗所 (4℃) で密栓保管し使用した。本物質の詳細はAppendix 1に示した。用いた被験物質は使用期間中安定であったことを確認した (Appendix 2)。被験物質は溶媒として局方精製水 (共栄製薬株式会社、ロット番号181039) を用いて所定の投与用量になるような濃度の溶液に調製して投与液とし、1日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷暗所 (4℃) で密栓保[○]管した。投与液は少なくとも7日間は安定であることが確認された (Appendix 3) ので、週1回調製し、調製後7日以内に使用した。また、初回と最後に調製した投与液について分析し、所定濃度で調製されていることを確認した (Appendix 4)。なお、被験物質の分析のうち原体の分析は、
に委託して実施した。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendices 5~8)

動物はSD系 [Crj:CD(SD)] のSPFラットを用いた。ラットは日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市下古沢795) から雄は8週齢、雌は7週齢で搬入 (雄47匹、雌47匹) し、12日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各40匹を雄は9週齢、雌は8週齢で試験に供した。投与開始時の平均体重 (体重範囲) は、雄406 (388~436)g、雌 227 (217~239)g であった。

ラットは、温度21~22℃、湿度55~60% (Appendix 5)、換気回数10回以上/時 (オールフレ

ッシュェアー方式)、照明12時間(午前6時点灯、午後6時消灯)のバリアーシステム動物室(1室)で、個体別にステンレス製金網ケージ〔260W×380D×180H(mm)〕に収容し、これをステンレス製5段のラックに配して飼育した。ただし、交尾確認後の雌は、巣作り材料〔日本チャールス・リバー株式会社、ホワイトフレーク(ロット番号8.6.18)、汚染物質の分析結果: Appendix 6〕を入れたポリカーボネート製ケージ〔265W×426D×200H(mm)〕に収容した。飼料(日本農産工業株式会社、固型飼料ラボMRストック、ロット番号961177、961270、汚染物質の分析結果: Appendix 7)と水(神奈川県営水道水を1 μ mカートリッジフィルター濾過後紫外線照射して使用、汚染物質の分析結果: Appendix 8)は、それぞれ給餌器および自動給水装置または給水瓶(ポリカーボネート製ケージの場合)により自由摂取させた。動物室の温度・湿度測定結果、飼料・水・巣作り材料の分析結果などから、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された。

3. 群分けおよび個体識別

各群の動物数は雌雄各10匹とし、各群への動物の割り付けは投与開始日(投与前)の体重に基づく層化無作為抽出法を行い、各群の体重分布が均一化するようにした。

群分け後の動物の個体識別は耳パンチ法により行い、ラックおよびケージには標識札を貼付した。

4. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

投与量設定試験として、単回投与試験および反復投与試験を実施した。単回投与試験は、ラットを1群雌雄各2匹とする6群を設け、精製水およびゴマ油の2種類の溶媒に溶解した被験物質のそれぞれ1000、2000および3000mg/kg用量を経口投与した。精製水に溶解した被験物質では、2000mg/kg以上の群で自発運動の低下、3000mg/kg群でよろめき歩行および傾眠が認められた。一方、ゴマ油に溶解した被験物質では、2000mg/kg以下の群で変化は認められず、3000mg/kg群で自発運動の低下、よろめき歩行、傾眠が認められたが、精製水に溶解した場合に比べて症状の発現が遅い傾向にあった。死亡は、いずれの溶媒に溶解した場合にも認められなかった。以上の結果から、1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルは、精製水に溶解して投与するとゴマ油に溶解した場合に比べてやや毒性が強く現れる傾向にあるものの、3000mg/kgにおいても死亡は認められず、急性毒性は弱いことが確認された。そこで、反復投与試験は、ラットを1群雌雄各4匹とし、精製水に溶解した被験物質の0、100、250、500および1000mg/kg/day用量を14日間経口投与した。投与7日の夕方から交配が成立するまで、雌雄を1:1で同居させた。その結果、一般状態、体重、摂餌量、尿所見、血液学所見、血液生化学所見、剖検および器官重量において、有意な変化は認められなかった。また、交配は全例に成立した。

以上の結果から、1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルの本試験における投与量については、試験法ガイドラインで規定された上限量の1000mg/kg/dayを最高用量とし、以下300および

100mg/kg/dayの3用量を設定した。

試験群の構成は、①溶媒投与群（以下、対照群）、②1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステル100mg/kg/day投与群（100mg/kg群）、③同300mg/kg/day投与群（300mg/kg群）、④同1000mg/kg/day投与群（1000mg/kg群）の4群とした。

投与方法は、最高用量を確実に水溶液に調製できる6ml/kgを投与液量とし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて1.67w/v%液（100mg/kg群）、5.00w/v%液（300mg/kg群）あるいは16.67w/v%液（1000mg/kg群）を、雌雄とも交配開始14日前から雄は44日間、雌は分娩後の哺育3日（41～45日間）まで、1日1回（午前中）経口投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重に基づいて算出した。対照群には、被験物質の溶媒として用いた局方精製水を同様に投与した。

5. 観察および検査

1) 親動物に関する項目

(1) 一般状態観察

投与期間中毎日、動物の生死、外観、行動等について観察した。

(2) 体重および摂餌量測定

体重の測定は、投与開始日（投与開始直前）およびその後は7日間隔で行い、さらに最終投与日と屠殺日に測定した。ただし、雌の妊娠後は、妊娠0、7、14 および 20日と哺育0 および 4日に測定した。摂餌量は、体重測定日に合わせて翌日までの24時間の飼料消費量を測定した。摂餌量の最終測定は、雄は投与43日、雌は哺育3日に行った。交配期間中は摂餌量を測定しなかった。これらの測定には、電子上皿天秤（メトラー社製、PL3000）を用いた。

(3) 交配および分娩状態観察

投与15日の午後に、雄のケージに同一群内の雌を入れて1対1の組み合わせを作り、交尾が確認されるまで連続同居させた。交尾の確認は毎朝一定時刻（9:30頃）に行い、膣栓形成あるいは膣垢中に精子が確認された日を妊娠0日とした。分娩状態の観察も同じ時刻に行い、1腹ごとに分娩の終了が確認された日を哺育0日とした。交配および分娩の観察結果から、各群について同居開始から交尾成立までの期間、交尾率〔（交尾成立動物数/同居動物数）×100〕、受胎率〔（受胎雌数/交尾成立雌数）×100〕および出産率〔（生児出産雌数/妊娠雌数）×100〕ならびに分娩の確認された例について妊娠期間（妊娠0日から分娩が確認された日までの期間）を算定した。

(4) 臨床病理学検査

雄について、以下の検査を実施した。

a. 尿検査：投与40日に新鮮尿を採取し、試験紙法（マイルス・三共株式会社、マルティスティックス®）によるpH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビンおよびウロビリノーゲンの定性的検査を行った。また、ラットを代謝ケージに収容（約3時間）して得た蓄尿について、外観の観察、比重の測定（エルマ光学株式会社、屈折計）ならびに尿沈渣の検査（ケンブリッ

ジケミカルプロダクト社、URI-CELL®液)を行った。

b. 血液学検査：供試血液の採取は投与期間終了翌日(投与開始 45 日)の解剖直前に行った。動物は採血前日の午後5時より除餌し、水のみを給与した。採血はエーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より行ない、以下の項目について検査した。なお、採取した血液は3分割し、その一部は3.8%クエン酸ナトリウム液で凝固阻止処理して血漿を得、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定に、一部は、EDTA-2K処理してその他の血液検査に供した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
①赤血球数(RBC)	電気抵抗検出方式	多項目自動血球計数装置 (E-4000 : 東亜医用電子 (株))
②血色素量(Hb)	ラウリル硫酸ナトリウム-ヘモグロビン法	
③ヘマトクリット値(Ht)	パルス検出方式	
④平均赤血球容積(MCV)	計算値	
⑤平均赤血球血色素量(MCH)	計算値	
⑥平均赤血球血色素濃度(MCHC)	計算値	
⑦白血球数(WBC)	電気抵抗検出方式	
⑧血小板数(Plat.)	電気抵抗検出方式	
⑨網状赤血球数(Ret.)	Brilliant cresyl blue 染色した塗抹標本の鏡検	
⑩プロトロンビン時間(PT)	Quick一段法	血液凝固自動測定装置 (KC-10A : 米アメルング社)
⑪活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	エラジン酸活性化法	

なお、白血球百分率算定用に血液塗抹標本を作製したが、白血球数に変化が認められなかったため、観察は実施しなかった。

c. 血液生化学検査：採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
① 総タンパク (T.P.)	Biuret 法	生化学自動分析 装置 [JCA-VX- 1000 型クリナ ライザー：日本 電子(株)]
② アルブミン (Alb.)	BCG 法	
③ A/G 比 (A/G)	計算値	
④ 血糖 (Glu.)	酵素法 (GK ¹⁾ -G6PDH ²⁾ -UV 系)	
⑤ トリグリセライド (T.G.)	酵素法 (LPL ³⁾ -GPO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
⑥ 総コレステロール (T-Cho.)	酵素法 (CES ⁶⁾ -COD ⁷⁾ -POD 系)	
⑦ 総ビリルビン (T-Bil.)	Jendrassik 法	
⑧ 尿素窒素 (BUN)	Urease-UV 法	
⑨ クレアチニン (Crea.)	Jaffé 法	
⑩ GOT (GOT)	SSCC ⁸⁾ 法	
⑪ GPT (GPT)	SSCC 法	
⑫ γ -GTP (γ -GTP)	SSCC 法	
⑬ LDH (LDH)	SSCC 法	
⑭ ALP (ALP)	GSCC ⁹⁾ 法	
⑮ コリンエステラーゼ (ChE)	BTC ¹⁰⁾ -DTNB ¹¹⁾ 法	
⑯ カルシウム (Ca)	OCPC 法	
⑰ 無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹²⁾ -XOD ¹³⁾ -POD系)	
⑱ ナトリウム (Na)	イオン電極法	電解質自動分析 装置 [NAKL-1: 東亜電波工業(株)]
⑲ カリウム (K)	イオン電極法	
⑳ 塩素 (Cl)	イオン電極法	

1) グルコキナーゼ、2) グルコース 6 リン酸脱水素酵素、3) リボプロテイン
リパーゼ、4) グリセロリン酸酸化酵素、5) ペルオキシダーゼ、6) コレス
テロールエステラーゼ、7) コレステロールオキシダーゼ、8) スカンジナピア臨
床化学会、9) ドイツ臨床化学会、10) プチリルチオコリン、11) 5,5-ジチオビ
ス-2-ニトロ安息香酸、12) プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、13) キサンチ
ンオキシダーゼ

(5) 病理学検査

雄は採血に続いて、雌は哺育4日の観察終了後に、エーテル麻酔下で放血屠殺し、次の項目を検査した。なお、対照群および300mg/kg群で各1匹認められた妊娠の成立しなかった雌については分娩予定の4日後に、1000mg/kg群で1匹認められた交配の成立しなかった雌については交配期間終了の翌日に、同様に屠殺して検査した。

- a. 剖検：全身諸器官を肉眼的に観察した。さらに、雌については、卵巢の黄体数および子宮の着床数を調べ、着床率〔(着床数/黄体数)×100〕を算定した。
- b. 器官重量測定：電子上皿天秤(メトラー社、AT 200)を用いて、雌雄の脳、下垂体、甲状腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺ならびに雄の精巣、精巣上体を秤量(絶対重量)し、屠殺日の体重を基に対体重比(相対重量)を算出した。腎臓、副腎、精巣および精巣上体は左右を一括して、下垂体、甲状腺は固定後に秤量した。
- c. 病理組織学検査：次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液(精巣および精巣上体のみブアン液)で固定した。

脳、下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺(上皮小体含む)、唾液腺、胸腺、気管、肺、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、膵臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巢、子宮、膣、大動脈(胸部)、脊髓(頸膨大部、腰膨大部)、坐骨神経、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部リンパ節、腸間膜リンパ節)、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚(背部)、乳腺(腹部)、その他肉眼的異常部位

病理組織学検査は、対照群および1000mg/kg群の全例、ならびに他の群の妊娠の成立しなかった雌雄の脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、気管、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、胃、小腸(十二指腸・空腸・回腸)、大腸(盲腸・結腸・直腸)、膵臓、膀胱、骨髓、リンパ節、坐骨神経、その他肉眼的異常部位、さらに、雄では精巣、精巣上体、前立腺、精囊、雌では卵巢、子宮、膣、乳腺について、常法に従いパラフィン切片を作製し、H・E染色を施して鏡検した。100および300mg/kg群の妊娠が成立した雌雄では、肉眼的異常部位および1000mg/kg群で毒性影響の可能性が考えられる変化の認められた雄の腎臓を検査した。また、沈着物を同定するため、一部の雌雄の脾臓については鉄染色(ベルリンブルー法)、一部の雄の腎臓についてはPAS染色を行った。組織標本のうち、対照群と1000mg/kg群の全動物および他の群の妊娠の成立しなかった雌雄のH・E染色標本は、株式会社組織科学研究所(東京都青梅市黒沢2-984-1)に委託して作製した。

2) 新生児に関する項目

(1) 産児数および性比の観察

分娩の終了後各腹の産児数(生児と死亡児の合計)を調べ、分娩率〔(総出産児数/着床数)×100〕を算定した。また、性別を肛門と生殖突起の距離の長短により判定し、群ごとの性比を算出した。

(2) 外表異常および一般状態観察

新生児について口腔内を含む外表の異常を観察した。また、毎日一般状態および生死を確認し、出生率〔(出産確認時生児数/総出産児数)×100〕および新生児生存率〔(哺育4日生児数/出産確認時生児数)×100〕を求めた。

(3) 体重測定

新生児について哺育0日および4日に雌雄別に各腹ごとの総体重を測定し、1匹当たりの平均体重を算出した。

(4) 病理学検査

死亡例はその都度、生存例は雌親の解剖時(哺育4日)にエーテル・クロロホルムで麻酔死させ、胸腹部における主要器官を肉眼的に観察した。

6. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との間の有意差(危険率5%以下)を次の方法で検定した。

体重、摂餌量、血液学および血液生化学データ、器官重量、黄体数、着床数、妊娠期間、産児数などのパラメトリックデータは、Bartlettの分散検定を行った。分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行い、その結果有意差を認めた場合、Dunnett法またはScheffé法(群の大きさが異なる場合)により対照群に対する各群の比較検定を行った。分散が一様でない場合ならびに着床率、出生率、分娩率、新生児生存率、尿検査の定性的データなどのノンパラメトリックデータはKruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合、Dunnett法またはScheffé法(群の大きさが異なる場合)により対照群に対する各群の比較検定を行った。カテゴリカルデータについては、交尾率、受胎率、出産率、出産児の性比は χ^2 検定、一般状態の変化および病理学的異常例の出現率はFisherの直接確率法を用いた。

試験結果

1. 反復投与毒性

1) 死亡動物 (Tables 1, 2, Appendices 9, 10) および一般状態 (Tables 3, 4, Appendices 11, 12)

死亡は各群の雌雄とも認められず、一般状態についても、被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。なお、散発的に認められた変化としては、脱毛が対照群で雄1匹、雌2匹、300mg/kg群で雌1匹、1000mg/kg群で雌1匹、痂皮形成が300mg/kg群で雌1匹に認められた。

2) 体重 (Figures 1, 2, Tables 5, 6, Appendices 13, 14)

1000mg/kg群の雄の体重は、投与の反復につれて対照群をやや下回って推移する傾向が認められ、投与期間中の体重増加量は有意に減少した。1000mg/kg群の雌の体重は、交配前期間の投与

15日に対照群と比べ有意な減少が認められ、交配前期間中の体重増加量も有意に減少した。

3) 摂餌量 (Figures 3, 4, Tables 7, 8, Appendices 15, 16)

1000mg/kg群の雄の摂餌量は、投与期間を通じて対照群をやや下回る傾向にあり、投与29日および36日の摂餌量には有意差が認められた。雌の摂餌量には、被験物質の投与に起因すると考えられる有意な変化は認められなかった。300mg/kg群の妊娠0日の摂餌量は対照群と比べ有意に高値を示したが、変化に用量依存性は認められなかった。

4) 雄の尿所見 (Table 9, Appendix 17)

各検査項目に、有意な変化は認められなかった。

5) 雄の血液学所見 (Table 10, Appendix 18, 背景データ: Appendix 30)

各検査項目に、被験物質の投与に起因すると考えられる有意な変化は認められなかった。100mg/kg群のプロトロンビン時間は対照群と比べ有意に高値を示したが、変化に用量依存性は認められなかった。

6) 雄の血液生化学所見 (Table 11, Appendix 19, 背景データ: Appendix 30)

1000mg/kg群で、血糖および無機リンの有意な減少が認められた。

7) 剖検所見 (Tables 12, 13, Appendices 20, 21)

雌雄とも、被験物質の投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。なお、散発的に認められた変化としては、肺の黒色/赤色点が対照群の雌雄各1匹、水腎症(左側)が100mg/kg群の雌1匹および胸腺の赤色領域が1000mg/kg群の雌1匹に認められた。

8) 器官重量 (Tables 14, 15, Appendices 16~19)

1000mg/kg群で、雄に副腎の相対重量の有意な増加が認められ、絶対重量も増加傾向を示した。なお、300mg/kg群の雄の胸腺の絶対重量は対照群に比べて有意に低値を示したが、変化に用量依存性は認められなかった。

9) 病理組織学所見 (Tables 16, 17, Appendices 20, 21, Photos 1~8)

雌雄とも、被験物質の投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、各群に散発的に認められた交配および妊娠不成立の雌雄において、生殖器系器官および下垂体に変化は認められなかった。なお、被験物質投与各群で雄の腎臓における近位尿細管上皮の好酸体の発現率が対照群と比べて全般的にやや高い傾向にあったが、有意な変化ではなく、また用量依存性傾向も認められなかった。一般状態の観察で各群に散発的に認められた脱毛/痂皮形成例

には皮膚の表皮肥厚、好中球浸潤および潰瘍、剖検で投与とは無関係に認められた肺の赤色／黒色点には出血、好中球浸潤、マクロファージの集簇、胸腺の赤色領域には出血、水腎症には腎実質の重度な萎縮が確認された。以上の変化以外にも、検査した各器官に各種の変化が観察されたが、いずれも用量依存性は認められず、背景病変と判断される変化であった。

2. 生殖発生毒性

1) 親動物に及ぼす影響 (Table 18, Appendix 26)

(1) 交尾率および受胎率

交尾不成立の雌雄が1000mg/kg群に認められたが1対のみで、交尾率に有意な変化は認められなかった。また、交尾成立までの日数および受胎率にも、対照群と比べ有意な変化が認められなかった。

(2) 黄体数、着床数および着床率

黄体数、着床数および着床率は、対照群と比べ有意な変化が認められなかった。

(3) 出産率および妊娠期間

出産率および妊娠期間は、対照群と比べ有意な変化は認められなかった。

(4) 分娩および哺育状態

各群の妊娠動物とも、分娩状態および哺育状態に異常は認められなかった。

2) 新生児に及ぼす影響 (Table 19~21, Appendix 27~29)

(1) 生存性

総出産児数、分娩率、哺育0日および4日の新生児数、性比、出生率および哺育4日生存率は、対照群と比べ有意な変化が認められなかった。新生児の一般状態にも変化は認められなかった。

(2) 体重

哺育0日および4日の新生児体重は、対照群と比べ有意な変化は認められなかった。

(3) 形態

被験物質の投与に起因すると考えられる外形および内臓の異常は認められなかった。外表異常については、1000mg/kg群で無尾が1匹 (0.6%) 認められた。内臓異常は認められなかった。内臓変異については、胸腺の頸部残留および左臍動脈遺残が総計対照群で1匹 (0.6%)、100 mg/kg群で5匹 (4.0%)、300mg/kg群で2匹 (1.9%) 認められ、1000mg/kg群では認められなかった。

考察および結論

1. 反復投与毒性

雄親、雌親とも、1000mg/kg群で毒性影響が認められた。すなわち、雄親では、体重および摂餌量とも対照群を下回る傾向にあり、投与期間中の体重増加量は有意に減少した。血液生化学検査では、血糖および無機リンの有意な減少が認められた。また、器官重量では副腎相対重量の有意な増加が認められた。しかしながら、病理組織学検査では、副腎を含む各器官に被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

したがって、血糖および無機リンの減少については、摂餌量の減少に伴う軽度な栄養障害を示唆する変化と考えられる。また、副腎相対重量の増加については、被験物質の毒性によるストレスの影響が軽度に見れたものと推察される。

一方、雌親においても、交配前期間において体重および体重増加量の有意な減少が認められた。しかし、一般状態、摂餌量、器官重量、剖検および病理組織学検査では、被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

Millerら²⁾は、1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルのラットを用いた14日間の吸入毒性試験で、急性毒性症状の発現する高濃度で肝臓および腎臓に対する軽度な影響を認めている。

本物質の生体内動態については、ラットへの投与において、血中に未変化体が検出されないことから速やかに加水分解されて1-メトキシ-2-プロパノールと酢酸が生成され^{2, 3)}、1-メトキシ-2-プロパノールはその多くが炭酸ガスとして呼気中に、一部はプロピレングリコール、1-メトキシ-2-プロパノールの硫酸およびグルクロン酸抱合体として尿中に排泄されることが報告されている^{2, 4)}。

1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルの肝臓および腎臓に対する影響は、反復投与吸入毒性試験の結果から主にその中間代謝物である1-メトキシ-2-プロパノールによるものと推定されている^{2, 5)}。しかし、1-メトキシ-2-プロパノールの毒性は弱く、ラットへの35日間反復経口投与においても、3ml/kg/dayの大量投与で肝細胞と腎臓尿細管上皮の混濁腫脹および両器官の重量増加を示すが、1ml/kg/day以下では変化を示さないことが知られており⁶⁾、最高用量1000mg/kgの1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルを反復経口投与した本試験においても、肝臓および腎臓に対する影響を示唆する変化は認められなかった。

以上の結果から、1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルのラットへの反復投与により、成長に対する影響および血液生化学的影響等が認められた。無影響量は雌雄とも300mg/kg/dayと推定された。

2. 生殖発生毒性

雄親および雌親の生殖に対する被験物質の投与による影響について、観察した各指標とも対照群と比べ有意な変化は認められなかった。また、児動物の発生に関する指標に対しても影響は認められなかった。

1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルの中間代謝物である1-メトキシ-2-プロパノールは、ラット、マウスおよびウサギを用いた経口⁷⁾および吸入投与^{8,9)}による催奇形性試験で、いずれも催奇形性は認められていないが、本試験では1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルの経口投与においても、生殖発生毒性を示唆する変化は認められなかった。

なお、本被験物質の異性体である2-メトキシ-1-プロパノール酢酸エステル¹⁰⁾あるいはその中間代謝物である2-メトキシ-1-プロパノール¹¹⁾はラットやウサギに対して催奇形性を示すが、これは1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルや1-メトキシ-2-プロパノールとは代謝が異なり、毒性を有する代謝物が生成されることによると考えられている¹²⁾。

以上の結果から、雌雄親動物の生殖能および児動物の発生に対する影響は1000mg/kg/day投与によっても認められず、無影響量はいずれも1000mg/kg/dayと推定された。

参考文献

- 1) M. L. Richardson, S. Gangolli, "The dictionary of substances and their effects", Vol. 5 (I-M), pub. by the royal society of chemistry, 1994, p. 520, Cambridge.
- 2) R. R. Miller, E. A. Hermaun, J. T. Young, L. L. Calhoun, P. E. Kastl, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **75**, 521-530 (1984).
- 3) W. T. Stott, M. J. McKenna, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **5**, 399-404 (1985).
- 4) R. R. Miller, E. A. Hermann, P. W. Langvardt, M. J. McKenna, B. A. Schwetz, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **67**, 229-237 (1983).
- 5) R. R. Miller, J. A. Ayres, L. L. Calhoun, J. T. Young, M. J. McKenna, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **61**, 368-377 (1981).
- 6) V. K. Rowe, H. C. Spencer, F. Oyen, R. L. Hollingsworth, V. A. Drill, *A. M. A. Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, **9**, 509-525 (1954).
- 7) E. G. Stenger, L. Aeppli, L. Machemer, D. Müller, J. Trokan, *Arzneim. Forsch.*, **22**, 569-574 (1972).
- 8) T. R. Hanley, Jr., L. L. Calhoun, B. L. Yano, K. S. Rao, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **4**, 784-794 (1984).
- 9) T. R. Hanley, Jr., J. T. Young, J. A. John, K. S. Rao, *Environ. Health Perspect.*, **57**, 7-12 (1984).
- 10) J. Merkle, H. -J. Klimsch, R. Jäckh, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **8**, 71-79 (1987).
- 11) J. Hellwig, H. -J. Klimsch, R. Jäckh, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **23**, 608-613 (1994).
- 12) R. R. Miller, P. W. Langvardt, L. L. Calhoun, M. A. Yahrmarkt, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **83**, 170-177 (1986).

1-メトキシ-2-プロパノール酢酸エステルのラットを
用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験
(試験番号 96-065-2)

最終報告書 添付資料 A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

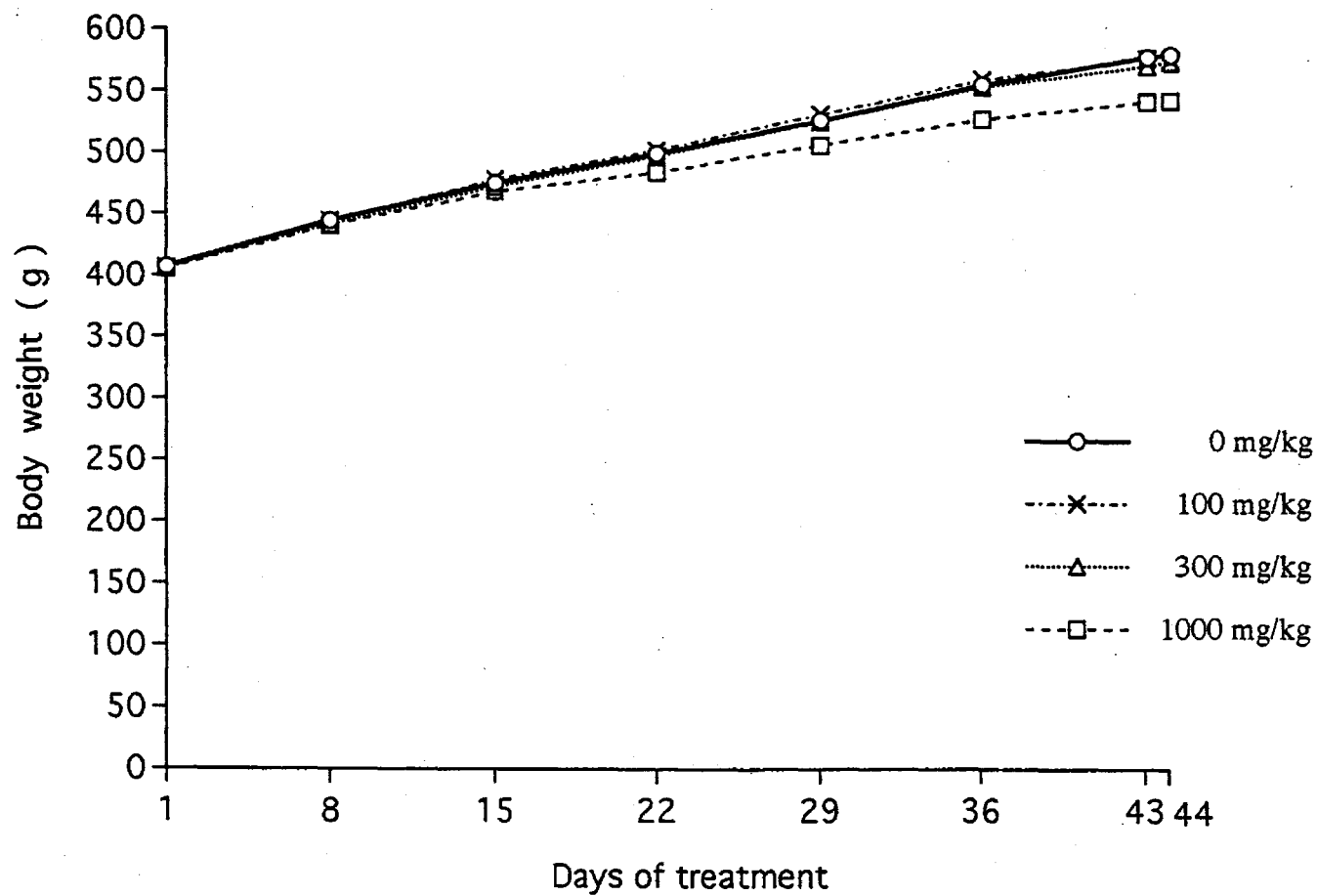


Fig.1 Body weight change in male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

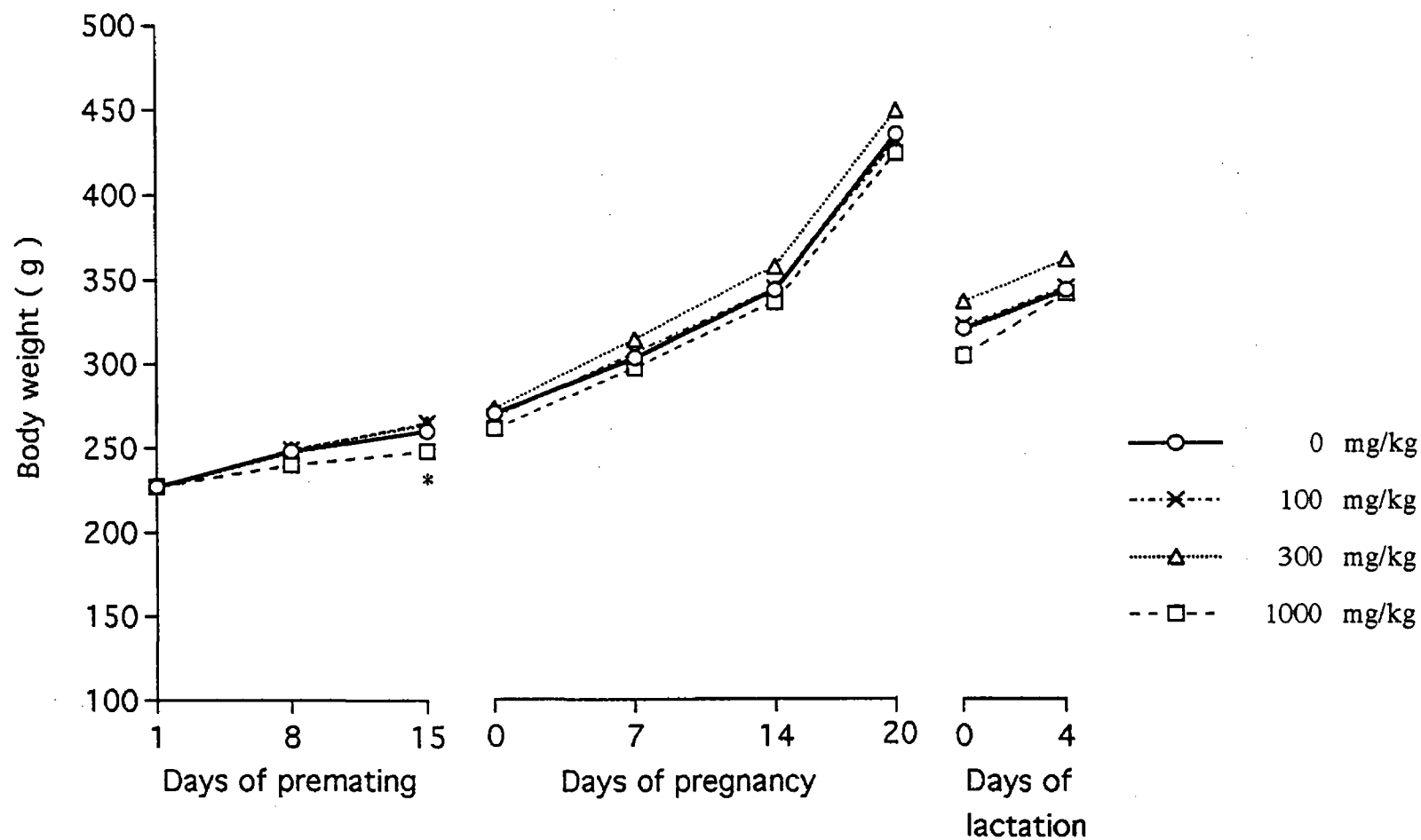


Fig. 2 Body weight change in female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Significantly different from control (* : $p < 0.05$)

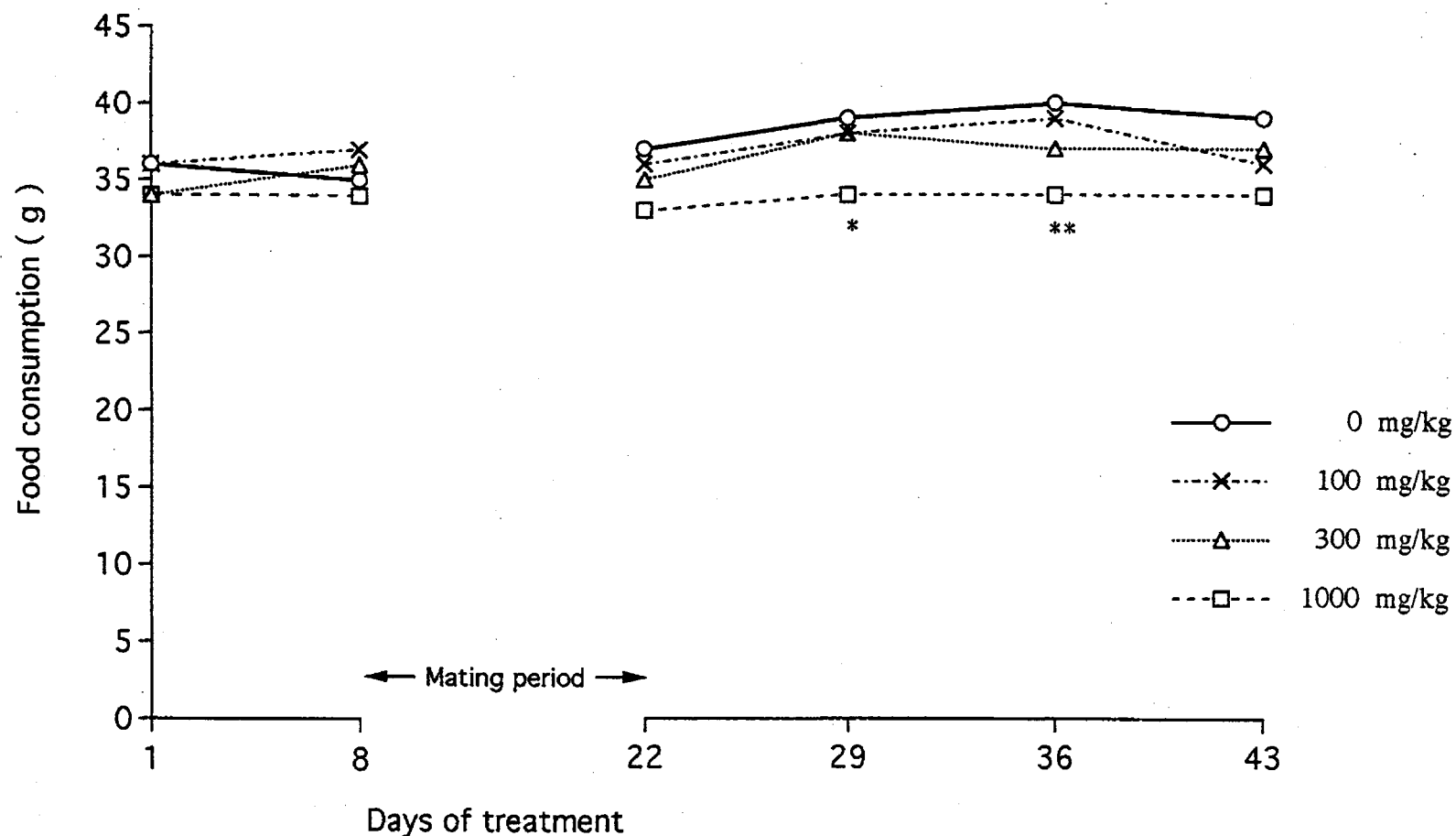


Fig. 3 Food consumption of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Significantly different from control (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

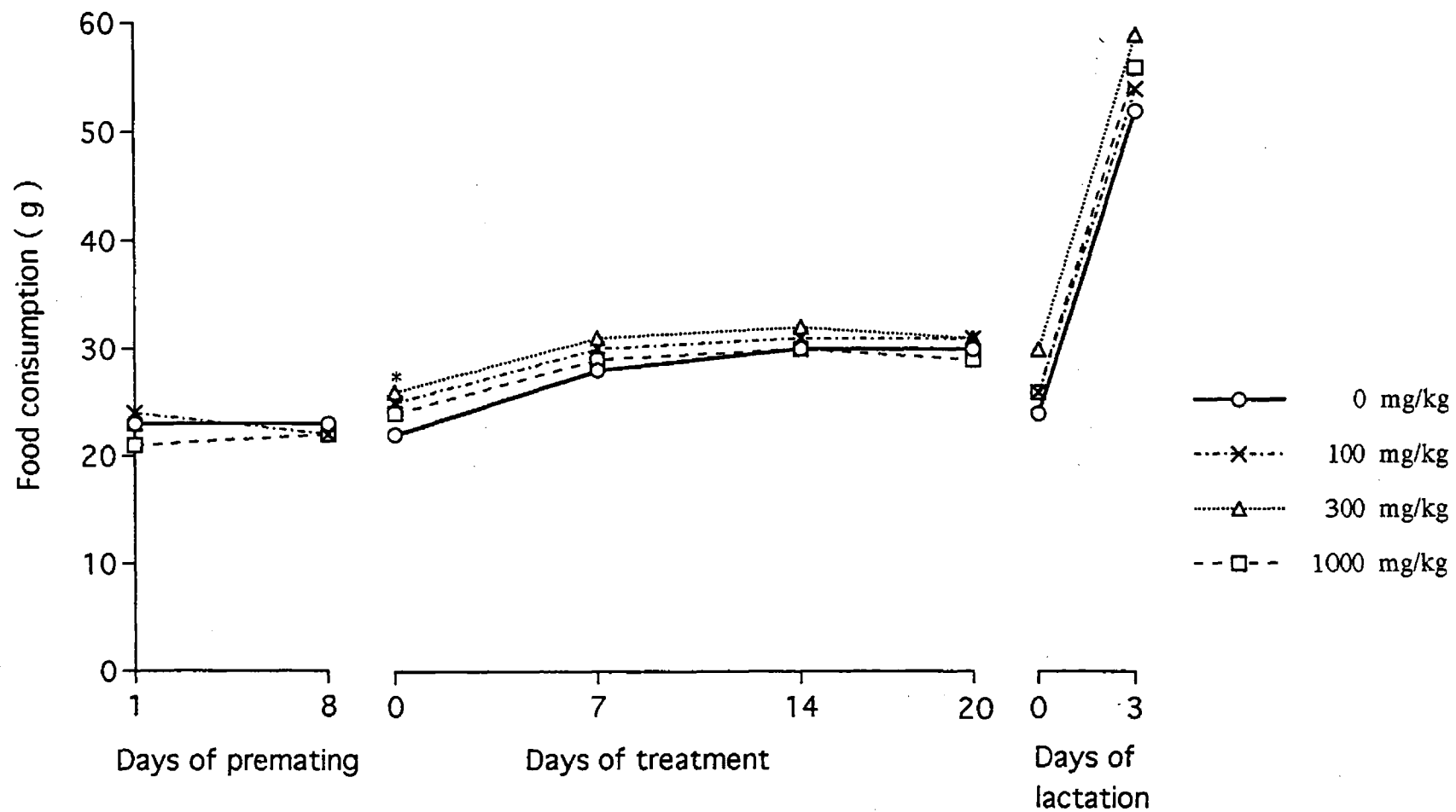


Fig. 4 Food consumption of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Significantly different from control (*: $p < 0.05$)

Table 1 Mortality rate of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals examined	10	10	10	10
No. of animals that died	0	0	0	0
Mortality (%)	0	0	0	0

Table 2 Mortality rate of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of animals examined	10	10	10	10
No. of animals that died	0	0	0	0
Mortality (%)	0	0	0	0

Table 3 Incidence of clinical signs of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Clinical sign	Dose(mg/kg)	0			100		300			1000		
		Fate			TK (Total)		TK FP (Total)			TK UC (Total)		
		No. of animals			TK (Total)		TK FP (Total)			TK UC (Total)		
Alopecia	-	8	1	(9)	10	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)
	+	1	0	(1)	0	(0)	0	0	(0)	0	0	(0)

TK : Terminal kill

FP : Failed to cause pregnancy, killed at the termination

UC : Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination

- : Negative

+ : Slight

Table 4 Incidence of clinical signs of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Clinical sign	Dose(mg/kg) Fate No. of animals	0			100		300			1000		
		TK	NP	(Total)	TK	(Total)	TK	NP	(Total)	TK	UC	(Total)
		9	1	(10)	10	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)
Alopecia	-	7	1	(8)	10	(10)	8	1	(9)	8	1	(9)
	+	2	0	(2)	0	(0)	1	0	(1)	1	0	(1)
Crust	-	9	1	(10)	10	(10)	8	1	(9)	9	1	(10)
	+	0	0	(0)	0	(0)	1	0	(1)	0	0	(0)

TK : Terminal kill

NP : Non-pregnant, killed on 26 days after copulation

UC : Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination of mating period

- : Negative

+ : Slight

Table 5 Body weights of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg)	Days of treatment								Gain 1~44
	1	8	15	22	29	36	43	44	
0	407	445	475	499	526	555	578	580	174
	± 13	± 15	± 18	± 24	± 29	± 36	± 36	± 35	± 26
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
100	406	445	478	502	531	559	577	576	171
	± 10	± 16	± 18	± 17	± 21	± 27	± 30	± 31	± 24
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
300	406	442	472	497	525	553	571	574	167
	± 13	± 23	± 26	± 32	± 33	± 36	± 38	± 38	± 27
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
1000	405	441	468	484	506	527	542	543	138**
	± 10	± 15	± 16	± 21	± 19	± 23	± 24	± 26	± 21
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)

Each value is expressed as mean±S.D. and (number of animals available).

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 6 Body weights of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

(g)

Dose (mg/kg)	Days of pre mating				Days of pregnancy				Days of lactation			
	1	8	15	Gain 1~15	0	7	14	20	Gain 0~20	0	4	Gain 0~4
0	227 ± 6 (10)	248 ± 10 (10)	260 ± 8 (10)	33 ± 10 (10)	270 ± 9 (9)	303 ± 12 (9)	343 ± 14 (9)	435 ± 20 (9)	165 ± 15 (9)	320 ± 31 (9)	343 ± 21 (9)	22 ± 20 (9)
100	227 ± 7 (10)	249 ± 9 (10)	265 ± 11 (10)	38 ± 10 (10)	268 ± 13 (10)	306 ± 14 (10)	344 ± 15 (10)	431 ± 26 (10)	163 ± 17 (10)	322 ± 26 (10)	345 ± 21 (10)	23 ± 14 (10)
300	227 ± 6 (10)	249 ± 8 (10)	264 ± 9 (10)	37 ± 9 (10)	273 ± 11 (9)	314 ± 19 (9)	357 ± 22 (9)	449 ± 30 (9)	176 ± 22 (9)	336 ± 29 (9)	361 ± 25 (9)	25 ± 13 (9)
1000	227 ± 6 (10)	240 ± 8 (10)	248* ± 9 (10)	22* ± 8 (10)	261 ± 12 (9)	297 ± 14 (9)	336 ± 17 (9)	424 ± 21 (9)	163 ± 19 (9)	304 ± 29 (9)	341 ± 18 (9)	37 ± 17 (9)

Each value is expressed as mean±S.D. and (number of animals available).

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 7 Food consumption of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Days of treatment					
	1	8	22	29	36	43
0	36 ± 3 (10)	35 ± 4 (10)	37 ± 5 (10)	39 ± 5 (10)	40 ± 4 (10)	39 ± 3 (10)
100	36 ± 3 (10)	37 ± 2 (10)	36 ± 3 (10)	38 ± 3 (10)	39 ± 4 (10)	36 ± 5 (10)
300	34 ± 4 (10)	36 ± 4 (10)	35 ± 3 (10)	38 ± 4 (10)	37 ± 2 (10)	37 ± 3 (10)
1000	34 ± 3 (10)	34 ± 1 (10)	33 ± 2 (9)	34* ± 2 (10)	34** ± 3 (10)	34 ± 3 (10)

Each value is expressed as mean±S.D. and (number of animals available).

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 8 Food consumption of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	(g/rat/day)							
	Days of pre mating		Days of pregnancy				Days of lactation	
	1	8	0	7	14	20	0	3
0	23 ± 3 (10)	23 ± 3 (10)	22 ± 3 (9)	28 ± 4 (9)	30 ± 3 (9)	30 ± 5 (9)	24 ± 11 (9)	52 ± 7 (9)
100	24 ± 2 (10)	22 ± 3 (10)	25 ± 2 (10)	30 ± 3 (10)	31 ± 4 (10)	31 ± 4 (10)	26 ± 8 (10)	54 ± 8 (10)
300	23 ± 3 (10)	23 ± 4 (10)	26* ± 3 (9)	31 ± 3 (9)	32 ± 4 (9)	31 ± 5 (9)	30 ± 4 (9)	59 ± 7 (9)
1000	21 ± 4 (10)	22 ± 3 (10)	24 ± 2 (9)	29 ± 2 (9)	30 ± 4 (9)	29 ± 2 (9)	26 ± 12 (9)	56 ± 5 (9)

Each value is expressed as mean±S.D. and (number of animals available).

* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 9 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		C	PY	Y	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	10	1	9		10		1.024 _{a)} ± 0.014					1	7	2		6	4			
100	10		10		9	1	1.021 ± 0.005						8	2		6	4			
300	10	1	9		9	1	1.028 ± 0.010				1		6	3		2	6	2		
1000	10		9	1	10		1.020 ± 0.006				1	2	4	3		6	4			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	10	10					7	3				10					10				10			
100	10	10					5	5				10					10				10			
300	10	10					5	4	1			10					10				10			
1000	10	10					6	4				9		1			10				10			

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow)

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dl), +(30mg/dl), ++(100mg/dl), +++(300mg/dl), ++++(1000mg/dl)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dl), +(0.25g/dl), ++(0.5g/dl), +++(1g/dl)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dl), +(15mg/dl), ++(40mg/dl), +++(80mg/dl)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : -(negligible), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Table 9 - 2 Urinary findings of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals											
										Mg				Ca				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	10	10				10				1	4	3	2	10				10			
100	10	10				10				2	3	4	1	10				10			
300	10	10				10				1	4	3	2	10				10			
1000	10	9			1	9			1	4	3	2	1	10				10			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells									Casts						Fat globules			
		Sq				R			S		G		H		W					
		-	+	++	+++	-	+	++	-	+	++	-	+	-	+	-	+	-	+	++
0	10	1	8	1		10			10			10		10		10		10		
100	10	2	6	2		10			10			10		10		10		10		
300	10	3	5	2		10			10			10		10		10		10		
1000	10	1	8	1		10			10			10		10		10		10		

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals	Epithelial cells	Casts
Mg(ammonium magnesium phosphate)	Sq(squamous)	G(granule)
Ca(calcium phosphate)	R(round)	H(hyaline)
Ams(amorphous)	S(spindle)	W(waxy)

Table 10

Hematological findings of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	Plat. ($10^4/\mu\text{l}$)	PT (sec)	APTT (sec)
0	10	806 ± 34	14.9 ± 0.5	44.8 ± 1.2	56 ± 1	18.5 ± 0.5	33.2 ± 0.4	36 ± 12	83 ± 18	138 ± 17	12.6 ± 0.3	18.8 ± 1.3
100	10	804 ± 36	14.8 ± 0.5	44.5 ± 1.6	55 ± 1	18.5 ± 0.6	33.3 ± 0.4	29 ± 8	75 ± 17	134 ± 21	13.0* ± 0.3	19.5 ± 0.9
300	10	803 ± 18	14.5 ± 0.4	44.0 ± 1.2	55 ± 2	18.1 ± 0.5	33.0 ± 0.6	36 ± 7	73 ± 15	144 ± 23	12.7 ± 0.2	18.6 ± 1.0
1000	10	792 ± 15	14.8 ± 0.3	44.7 ± 0.6	57 ± 2	18.7 ± 0.5	33.0 ± 0.5	30 ± 11	71 ± 14	133 ± 13	12.8 ± 0.3	19.2 ± 1.2

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 11 Blood biochemical findings of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	No. of animals	LDH (IU/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ChE (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)
0	10	129 $\pm$ 33	59 $\pm$ 6	34 $\pm$ 4	214 $\pm$ 32	0.48 $\pm$ 0.33	45 $\pm$ 7	6.22 $\pm$ 0.18	3.03 $\pm$ 0.08	0.96 $\pm$ 0.07	94 $\pm$ 18
100	10	145 $\pm$ 51	62 $\pm$ 7	33 $\pm$ 6	237 $\pm$ 42	0.34 $\pm$ 0.22	45 $\pm$ 13	6.28 $\pm$ 0.25	3.05 $\pm$ 0.12	0.94 $\pm$ 0.06	88 $\pm$ 20
300	10	158 $\pm$ 46	61 $\pm$ 7	34 $\pm$ 6	226 $\pm$ 43	0.27 $\pm$ 0.17	55 $\pm$ 21	6.37 $\pm$ 0.19	3.07 $\pm$ 0.14	0.94 $\pm$ 0.08	81 $\pm$ 18
1000	10	124 $\pm$ 28	63 $\pm$ 8	36 $\pm$ 3	192 $\pm$ 37	0.24 $\pm$ 0.18	69 $\pm$ 24	6.29 $\pm$ 0.22	3.08 $\pm$ 0.12	0.96 $\pm$ 0.06	97 $\pm$ 13
Dose (mg/kg)	No. of animals	T.G. (mg/dl)	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	10	76 $\pm$ 19	151 $\pm$ 12	0.31 $\pm$ 0.03	15.3 $\pm$ 0.9	0.51 $\pm$ 0.03	10.4 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.3	143 $\pm$ 1	4.32 $\pm$ 0.29	103 $\pm$ 1
100	10	88 $\pm$ 35	146 $\pm$ 11	0.30 $\pm$ 0.03	15.0 $\pm$ 2.2	0.53 $\pm$ 0.04	10.3 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.4	143 $\pm$ 1	4.26 $\pm$ 0.25	104 $\pm$ 1
300	10	87 $\pm$ 30	145 $\pm$ 12	0.30 $\pm$ 0.03	16.7 $\pm$ 1.9	0.55 $\pm$ 0.06	10.3 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.4	143 $\pm$ 1	4.35 $\pm$ 0.23	104 $\pm$ 1
1000	10	60 $\pm$ 28	134** $\pm$ 9	0.32 $\pm$ 0.03	15.4 $\pm$ 1.8	0.53 $\pm$ 0.07	10.2 $\pm$ 0.4	6.0* $\pm$ 0.4	144 $\pm$ 2	4.27 $\pm$ 0.10	104 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 12 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

			Dose(mg/kg)		0	100	300	1000
Organ : Findings	Grade	Fate	TK FP (T)		TK (T)	TK FP (T)		TK UC (T)
		No. of animals	9	1 (10)	10 (10)	9	1 (10)	9 1 (10)
Lung : Black spots	-		9	0 (9)	10 (10)	9	1 (10)	9 1 (10)
	+		0	1 (1)	0 (0)	0	0 (0)	0 0 (0)

-:Negative ; +:Slight ; TK:Terminal kill ; FP:Failed to cause pregnancy, killed at the termination ; UC: Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination ; T:Total

Table 13 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

			Dose(mg/kg)		0	100	300	1000
Organ : Findings	Grade	Fate	TK NP (T)		TK (T)	TK NP (T)		TK UC (T)
		No. of animals	9	1 (10)	10 (10)	9	1 (10)	9 1 (10)
Lung : Red spot	-		8	1 (9)	10 (10)	9	1 (10)	9 1 (10)
	+		1	0 (1)	0 (0)	0	0 (0)	0 0 (0)
Kidney : Hydronephrosis, left	-		9	1 (10)	9 (9)	9	1 (10)	9 1 (10)
	+++		0	0 (0)	1 (1)	0	0 (0)	0 0 (0)
Thymus : Red area	-		9	1 (10)	10 (10)	9	1 (10)	8 1 (9)
	+		0	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	1 0 (1)

-:Negative ; +:Slight +++:Severe TK:Terminal kill ; NP:Non-pregnant, killed on 26 days after copulation ; UC:Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination of mating period ; T:Total

Table 14

Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	10	542 ± 37	2.19 ± 0.08	14.88 ± 2.03	3.48 ± 0.28	0.93 ± 0.11	1.68 ± 0.14	0.42 ± 0.06	35.4 ± 6.4	14.8 ± 1.7	73.0 ± 2.4	3.72 ± 0.46	1.49 ± 0.12
	100	10	544 ± 28	2.16 ± 0.09	14.84 ± 1.53	3.40 ± 0.31	0.85 ± 0.10	1.65 ± 0.11	0.38 ± 0.06	34.0 ± 3.8	14.2 ± 1.5	69.6 ± 8.8	3.68 ± 0.21	1.54 ± 0.12
	300	10	539 ± 36	2.13 ± 0.09	14.89 ± 1.75	3.48 ± 0.36	0.93 ± 0.11	1.60 ± 0.14	0.33* ± 0.06	34.8 ± 8.3	15.0 ± 2.1	67.2 ± 6.8	3.45 ± 0.26	1.44 ± 0.12
	1000	10	511 ± 26	2.20 ± 0.10	13.98 ± 1.08	3.52 ± 0.33	0.89 ± 0.15	1.54 ± 0.11	0.37 ± 0.06	33.0 ± 3.8	14.3 ± 2.2	78.2 ± 9.5	3.53 ± 0.28	1.43 ± 0.18
Relative@	0	10	542 ± 37	0.41 ± 0.04	2.73 ± 0.20	0.64 ± 0.03	0.17 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.08 ± 0.01	6.56 ± 1.28	2.74 ± 0.36	13.52 ± 1.18	0.69 ± 0.12	0.28 ± 0.03
	100	10	544 ± 28	0.40 ± 0.02	2.73 ± 0.19	0.63 ± 0.04	0.16 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.07 ± 0.01	6.28 ± 0.82	2.62 ± 0.26	12.82 ± 1.53	0.68 ± 0.05	0.29 ± 0.03
	300	10	539 ± 36	0.40 ± 0.02	2.76 ± 0.16	0.65 ± 0.08	0.17 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.06 ± 0.01	6.48 ± 1.63	2.78 ± 0.37	12.56 ± 1.82	0.64 ± 0.03	0.27 ± 0.02
	1000	10	511 ± 26	0.43 ± 0.02	2.74 ± 0.18	0.69 ± 0.07	0.18 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.07 ± 0.01	6.44 ± 0.58	2.81 ± 0.50	15.32* ± 1.85	0.69 ± 0.04	0.28 ± 0.03

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 15

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)
Absolute	0	9	343 ± 21	1.98 ± 0.09	13.90 ± 0.96	2.03 ± 0.11	0.65 ± 0.07	1.05 ± 0.04	0.25 ± 0.08	20.0 ± 3.8	15.1 ± 2.8	79.9 ± 8.9
	100	10	345 ± 21	1.94 ± 0.08	14.05 ± 1.30	2.07 (9) ± 0.16	0.67 ± 0.10	1.07 ± 0.06	0.23 ± 0.06	20.9 ± 3.6	15.6 ± 2.5	80.6 ± 10.5
	300	9	361 ± 25	1.98 ± 0.10	15.20 ± 1.16	2.14 ± 0.20	0.65 ± 0.06	1.11 ± 0.07	0.25 ± 0.05	22.9 ± 4.0	16.1 ± 2.1	79.5 ± 9.6
	1000	9	341 ± 18	1.94 ± 0.05	14.78 ± 0.92	1.95 ± 0.15	0.61 ± 0.07	1.00 ± 0.11	0.21 ± 0.08	22.4 ± 5.5	17.1 ± 1.5	76.2 ± 8.1
Relative@	0	9	343 ± 21	0.58 ± 0.03	4.06 ± 0.26	0.59 ± 0.04	0.19 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.07 ± 0.02	5.86 ± 1.14	4.43 ± 0.93	23.33 ± 2.41
	100	10	345 ± 21	0.56 ± 0.04	4.08 ± 0.39	0.60 (9) ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.07 ± 0.02	6.07 ± 1.07	4.54 ± 0.82	23.39 ± 2.74
	300	9	361 ± 25	0.55 ± 0.03	4.21 ± 0.16	0.59 ± 0.04	0.18 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.07 ± 0.01	6.37 ± 1.18	4.44 ± 0.42	22.15 ± 3.30
	1000	9	341 ± 18	0.57 ± 0.03	4.34 ± 0.20	0.57 ± 0.04	0.18 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.06 ± 0.02	6.57 ± 1.60	5.00 ± 0.30	22.33 ± 2.03

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

(n): Available number of animals for the parameter

Table 16 - 1 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

		Dose(mg/kg)		0			100		300			1000		
Organ	Findings	Grade	Pate No. of animals	TK	FP	(T)	TK	(T)	TK	FP	(T)	TK	UC	(T)
				9	1	(10)	10	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)
Heart	Myocardial degeneration/ fibrosis	-		8	1	(9)	-	-	-	1	(1)	9	1	(10)
		+		1	0	(1)	-	-	-	0	(0)	0	0	(0)
Lung	Accumulation, foam cell/ macrophage	-		9	0	(9)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		0	1	(1)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)
	Mineralization, artery	-		5	1	(6)	-	-	-	0	(0)	7	1	(8)
		+		4	0	(4)	-	-	-	1	(1)	2	0	(2)
	Metaplasia, osseous	-		8	1	(9)	-	-	-	1	(1)	9	1	(10)
		+		1	0	(1)	-	-	-	0	(0)	0	0	(0)
	Cellular infiltration, neutrophil, focal	-		9	0	(9)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		0	1	(1)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)
Liver	Hemorrhage	-		9	0	(9)	-	-	-	1	(1)	9	1	(10)
		+		0	1	(1)	-	-	-	0	(0)	0	0	(0)
	Degeneration, fatty, hepatocyte, midzonal	-		8	1	(9)	-	-	-	1	(1)	9	1	(10)
		+		1	0	(1)	-	-	-	0	(0)	0	0	(0)
	Microgranuloma	-		7	0	(7)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		2	1	(3)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)
Pancreas	Atrophy, acinar cell, focal	-		9	1	(10)	-	-	-	1	(1)	7	1	(8)
		+		0	0	(0)	-	-	-	0	(0)	2	0	(2)
	Proliferation, ductule	-		9	1	(10)	-	-	-	1	(1)	7	1	(8)
		+		0	0	(0)	-	-	-	0	(0)	2	0	(2)
	Cellular infiltration, interstitium	-		6	1	(7)	-	-	-	0	(0)	8	1	(9)
		+		3	0	(3)	-	-	-	1	(1)	1	0	(1)
	Deposit, pigment, brown	-		9	1	(10)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		0	0	(0)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)
	Fibrosis	-		9	0	(9)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		0	1	(1)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)

-:Negative ; +:Slight ; -:Not examined ; TK:Terminal kill ; FP:Failed to cause pregnancy, killed at the termination ; UC:Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination; T:Total

Table 16 - 2 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

		Dose(mg/kg)		0			100		300			1000		
Organ	Findings	Grade	Fate No. of animals	TK FP (T)			TK (T)		TK FP (T)			TK UC (T)		
				9	1	(10)	10	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)
Kidney	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	-		8	1	(9)	8	(8)	9	1	(10)	7	1	(8)
		+		1	0	(1)	2	(2)	0	0	(0)	2	0	(2)
	Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	-		8	1	(9)	6	(6)	5	0	(5)	5	1	(6)
		+		1	0	(1)	4	(4)	4	1	(5)	4	0	(4)
	Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	-		0	0	(0)	0	(0)	0	0	(0)	0	0	(0)
		+		9	1	(10)	10	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)
	Basophilic tubules	-		4	1	(5)	6	(6)	5	0	(5)	4	1	(5)
		+		5	0	(5)	4	(4)	4	1	(5)	5	0	(5)
	Dilatation, distal/ collecting tubules, diffuse	-		8	1	(9)	10	(10)	9	1	(10)	9	1	(10)
		+		1	0	(1)	0	(0)	0	0	(0)	0	0	(0)
Prostate	Cast, hyaline	-		7	1	(8)	10	(10)	9	1	(10)	8	1	(9)
		+		2	0	(2)	0	(0)	0	0	(0)	1	0	(1)
	Cyst, simple /multiple	-		8	1	(9)	9	(9)	9	1	(10)	9	1	(10)
		+		1	0	(1)	1	(1)	0	0	(0)	0	0	(0)
	Fibrosis	-		9	1	(10)	9	(9)	9	1	(10)	9	1	(10)
		+		0	0	(0)	1	(1)	0	0	(0)	0	0	(0)
	Necrotic debris, glandular lumen	-		9	1	(10)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		0	0	(0)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)
	Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	-		7	1	(8)	-	-	-	0	(0)	7	1	(7)
		+		2	0	(2)	-	-	-	1	(1)	2	0	(2)
Adrenal	Inflammation	-		9	1	(10)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		0	0	(0)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)
	Vacuolization, zona fasciculata	-		8	1	(9)	-	-	-	1	(1)	8	1	(9)
		+		1	0	(1)	-	-	-	0	(0)	1	0	(1)
	Hemorrhage	-		9	0	(9)	-	-	-	1	(1)	9	1	(10)
		+		0	1	(1)	-	-	-	0	(0)	0	0	(0)
	Deposit, hemosiderin	-		0	0	(0)	-	-	-	0	(0)	0	0	(0)
		+		9	1	(10)	-	-	-	1	(1)	9	1	(10)
	Hematopoiesis, extramedullary	-		0	0	(0)	-	-	-	0	(0)	0	0	(0)
		+		9	1	(10)	-	-	-	1	(1)	9	1	(10)

-:Negative ; +:Slight ; -:Not examined ; TK:Terminal kill ; FP:Failed to cause pregnancy, killed at the termination ; UC:Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination ; T:Total

No abnormalities detected in the brain, pituitary, thyroid, Parathyroid, trachea, stomach, intestine, testis, epididymis, seminal vesicle, urinary bladder, sciatic nerve, bone marrow and lymph node from animals of control and 1000 mg/kg groups, and a FP animal of 300mg/kg group, and in the skin with macroscopic abnormality from one animal of control group.

Table 17 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

		Dose(mg/kg)		0		100		300		1000	
Organ	: Findings	Grade	Fate No. of animals	TK NP (T)		TK (T)		TK NP (T)		TK UC (T)	
				9	1 (10)	10 (10)		9	1 (10)	9	1 (10)
Lung	: Hemorrhage	-		8	1 { 9 }	-	-	-	1 { 1 }	9	1 { 10 }
		+		1	0 { 1 }	-	-	-	0 { 0 }	0	0 { 0 }
Liver	: Necrosis, focal	-		8	1 { 9 }	-	-	-	1 { 1 }	9	1 { 10 }
		+		1	0 { 1 }	-	-	-	0 { 0 }	0	0 { 0 }
Pancreas	: Proliferation, ductule	-		8	1 { 9 }	-	-	-	1 { 1 }	8	0 { 8 }
		+		1	0 { 1 }	-	-	-	0 { 0 }	1	1 { 2 }
Kidney	: Basophilic tubules	-		8	1 { 9 }	1* { 1 }		-	1 { 1 }	9	1 { 10 }
		+		1	0 { 1 }	0 { 0 }		-	0 { 0 }	0	0 { 0 }
	Cast, proteinous	-		9	1 { 10 }	1* { 1 }		-	1 { 1 }	8	1 { 9 }
		+		0	0 { 0 }	0 { 0 }		-	0 { 0 }	1	0 { 1 }
	Dilatation, collecting tubule, focal	-		8	1 { 9 }	1* { 1 }		-	1 { 1 }	9	1 { 10 }
		+		1	0 { 1 }	0 { 0 }		-	0 { 0 }	0	0 { 0 }
	Atrophy, parenchyma, unilateral	-		9	1 { 10 }	0 { 0 }		-	1 { 1 }	9	1 { 10 }
		+++		0	0 { 0 }	1* { 1 }		-	0 { 0 }	0	0 { 0 }
Thymus	: Hemorrhage	-		8	1 { 9 }	-	-	-	0 { 0 }	7	1 { 8 }
		+		1	0 { 1 }	-	-	-	1 { 1 }	2	0 { 2 }
Pituitary	: Cyst, Rathke's pouch, anterior lobe	-		9	1 { 10 }	-	-	-	1 { 1 }	8	1 { 9 }
		+		0	0 { 0 }	-	-	-	0 { 0 }	1	0 { 1 }
Spleen	: Deposit, hemosiderin	-		0	0 { 0 }	-	-	-	0 { 0 }	0	0 { 0 }
		+		9	1 { 10 }	-	-	-	1 { 1 }	9	1 { 10 }
	Hematopoiesis, extramedullary	-		0	0 { 0 }	-	-	-	0 { 0 }	0	0 { 0 }
		+		9	1 { 10 }	-	-	-	1 { 1 }	9	1 { 10 }
Skin	: Ulcer	-		2*	- { 2 }	-	-	0	- { 0 }	1*	- { 1 }
		+ / +++		0	- { 0 }	-	-	2*	- { 2 }	0	0 { 0 }
	Acanthosis	-		2*	- { 2 }	-	-	1*	- { 1 }	1*	- { 1 }
		+		0	- { 0 }	-	-	1*	- { 1 }	0	0 { 0 }
	Cellular infiltration, neutrophil, corium	-		2*	- { 2 }	-	-	2*	- { 2 }	0	- { 0 }
		+		0	- { 0 }	-	-	0	- { 0 }	1*	- { 1 }

-:Negative ; +:Slight ; +++:Severe ; -:Not examined ; TK:Terminal kill ; NP:Non-pregnant, killed on 26 days after copulation ; UC:Animal with unsuccessful copulation, killed at the termination of mating period ;

T:Total ; *:Examined the animals with macroscopic abnormalities in the kidney or skin

No abnormalities detected in the brain, thyroid, parathyroid, trachea, heart, stomach, intestine, adrenal, urinary bladder, ovary, uterus, vagina, sciatic nerve, bone marrow, lymph node and mammary gland from animals of control and 1000 mg/kg groups, and a NP animal of 300mg/kg group.

Table 1 8 Reproduction results of rats treated orally with 1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test

	Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of pairs mated		10	10	10	10
No. of pairs with successful copulation		10	10	10	9
Copulation index (%)		100	100	100	90
Pairing days until copulation(days, Mean±S.D.)		2.9±1.1	2.3±0.9	2.4±0.7	3.1±0.8
No. of pregnant females		9	10	9	9
Fertility index (%)		90	100	90	100
No. of corpora lutea (Mean±S.D.)		18.2±3.6	16.8±2.0	18.9±3.8	17.4±1.3
No. of implantation sites (Mean±S.D.)		17.0±1.9	16.2±1.9	17.7±1.7	17.1±0.9
Implantation index (% , Mean±S.D.)		94.7±9.2	96.7±7.2	95.2±10.2	98.3±5.0
No. of pregnant females with parturition		9	10	9	9
Gestation length (days, Mean±S.D.)		22.6±0.5	22.6±0.5	22.4±0.5	22.8±0.4
No. of pregnant females with live pups		9	10	9	9
Gestation index (%)		100	100	100	100
No. of pregnant females with live pups on day 4		9	10	9	9

Copulation index = (No. of pairs with successful copulation/No. of pairs mated) × 100

Fertility index = (No. of pregnant females/No. of pairs with successful copulation) × 100

Gestation index = (No. of females with live pups/No. of living pregnant females) × 100

Table 19

Litter results of female rats treated orally with
1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat
dose and reproductive/developmental toxicity
screening test

Dose(mg/kg)	0	100	300	1000
No. of pups born	15.8± 3.2	15.0± 2.2	16.1± 2.6	16.3± 1.0
Delivery index (%)	91.9±12.0	92.4± 5.7	91.0± 9.4	95.5± 3.9
No. of pups alive on day 0 of lactation				
Total	15.7± 3.2	14.7± 1.9	15.8± 2.7	15.9± 1.4
Male	6.7± 1.4	7.5± 2.0	7.9± 2.1	7.3± 1.9
Female	9.0± 2.7	7.2± 2.0	7.9± 2.9	8.6± 2.4
Live birth index (%)	99.4± 1.9	98.3± 2.8	97.9± 4.5	97.2± 4.5
Sex ratio (Male/Female)	0.73	1.05	1.01	0.86
No. of pups alive on day 4 of lactation				
Total	15.6± 3.1	14.5± 1.7	15.6± 3.0	15.8± 1.4
Male	6.7± 1.4	7.4± 2.1	7.8± 2.2	7.3± 1.9
Female	8.9± 2.6	7.1± 1.9	7.8± 3.1	8.4± 2.3
Viability index (%)	99.3± 2.0	98.8± 3.7	98.3± 3.4	99.3± 2.1
Body weight of live pups (g)				
on day 0				
Male	7.0± 0.8	7.4± 0.5	7.2± 0.9	7.1± 0.6
Female	6.7± 0.8	7.0± 0.4	6.6± 0.8	6.6± 0.5
on day 4				
Male	11.3± 2.1	11.9± 1.1	11.9± 1.8	10.9± 1.4
Female	11.0± 2.1	11.3± 0.9	11.2± 1.6	10.3± 1.3

Delivery index = (No. of pups born / No. of implantation sites)×100

Live birth index = (No. of live pups on day 0 / No. of pups born)×100

Viability index = (No. of live pups on day 4 / No. of live pups on day 0)×100

Sex ratio = Total No. of male pups / Total No. of female pups

Each value is expressed as Mean ± S.D., except sex ratio .

Table 20

Incidence of external findings of rats treated orally with
1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose
and reproductive/developmental toxicity screening test

Findings	Dose(mg/kg)	0	100	300	1000
External	No. of pups examined	142	150	145	147
	No. of pups with external anomalies	0	0	0	1
		(0)	(0)	(0)	(0.6±1.9)
	External anomalies				
	Anury	0	0	0	1
		(0)	(0)	(0)	(0.6±1.9)

(): No. of pups (Mean ± S.D. of individual litter percentages)

Table 21 - 1 Incidence of visceral findings of rats treated orally with
1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose
and reproductive/developmental toxicity screening test

Findings	Dose(mg/kg)	0	100	300	1000
Visceral	No. of pups examined	142	150	144	147
	No. of pups with visceral anomalies	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

(): No. of pups (Mean $\pm$ S.D. of individual litter percentages)

Table 21 - 2 Incidence of visceral findings of rats treated orally with
1-methoxy-2-propanol acetate in the combined repeat dose
and reproductive/developmental toxicity screening test

Findings	Dose(mg/kg)	0	100	300	1000
Visceral	No. of pups examined	142	150	144	147
	No. of pups with visceral variations				
		1 (0.6±1.9)	5 (4.0±6.0)	2 (1.9±5.6)	0 (0)
	Visceral variations				
	Thymic remnant in neck	1 (0.6±1.9)	4 (3.3±6.1)	2 (1.9±5.6)	0 (0)
	Presistent left umbilical artery	0 (0)	1 (0.7±2.1)	0 (0)	0 (0)

(): No. of pups(Mean ± S.D. of individual litter percentages)