

2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタジオールジイソブチレートの
ラットを用いた反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：2076（115-016）

財 団 法 人
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

目 次

1. 要 約	1 頁
2. 試 験 題 目	2
3. 試 験 目 的	2
4. 試 験 番 号	2
9. 被 験 物 質	4
10. 試験材料および方法	6
11. 試 験 結 果	14
12. 考察および結論	18
13. 参 考 文 献	20

Figures, Tables and Reference data

Figure 1 Body weight change of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Figure 2 Body weight change of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Figure 3 Food consumption of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Figure 4 Food consumption of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Table 1 Mortality of rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Table 2-1 Body weight change of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Table 2-2 Body weight change of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Table 3-1 Food consumption of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Table 3-2 Food consumption of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Table 4	Hematology of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate
Table 5	Blood chemistry of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate
Table 6-1	Absolute and relative organ weight of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate
Table 6-2	Absolute and relative organ weight of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate
Table 7-1	Summary of gross findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (successful pregnancy, male)
Table 7-2	Summary of gross findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (day 4 of lactation, female)
Table 7-3	Summary of gross findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (not copulation, male)
Table 8-1	Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (successful pregnancy, male)
Table 8-2	Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (day 4 of lactation, female)
Table 8-3	Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (not copulation, male)
Table 8-4	Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (not copulation, female)
Table 8-5	Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (non-pregnancy, male)
Table 8-6	Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (non-pregnancy, female)
Table 9	Copulation and fertility results in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate
Table 10	Findings of delivery in dams(F0) treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate
Table 11	Body weight change of pups(F1) from rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate
Table 12-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (sacrificed, male)
Table 12-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (sacrificed, female)

1. 要 約：

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタジオールジイソブチレートの0（溶媒対照群）、30、150 および 750 mg/kg/dayをラットの交配前14日から交配期間、妊娠期間および哺育3日まで連続経口投与し、反復投与毒性に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 反復投与毒性

一般状態には被験物質投与の影響は認められず、死亡例も観察されなかった。

雄の 750 mg/kg群で体重増加抑制が認められ、摂餌量が雌の 750 mg/kg群で増加した。

雄の血液学的検査では、被験物質投与の影響と考えられる変化はなかった。血液化学的検査では、150 および 750 mg/kg群でクレアチニンおよび総ビリルビンの増加が認められ、腎臓および肝臓への影響が示唆された。

器官重量は雄の 150および 750 mg/kg群で肝臓重量が増加し、さらに 750 mg/kg群で腎臓重量が増加した。雌では 750 mg/kg群で肝臓重量が増加した。

剖検所見では、雄の 750 mg/kg群で肝臓の褐色化が認められた。

組織学所見では、雄の 150 mg/kg以上の投与群で腎臓の尿細管上皮の好塩基性化および硝子滴変性の程度の増強が認められ、さらに 750 mg/kg群で近位尿細管上皮の壊死、線維化、遠位尿細管の腔拡張、肝臓の脂肪化の減少および肝細胞の腫脹が認められた。

2) 生殖発生毒性

交尾能、受胎能および性周期観察では、被験物質投与の影響は認められなかった。

分娩時観察では、妊娠動物の全例が正常に分娩し哺育期間を通じ被験物質投与の影響は認められなかった。また、新生児の外表検査でも被験物質投与によると考えられる異常はなく、体重も哺育4日まで順調に増加した。死産児、哺育4日までの死亡児および哺育4日の剖検では被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった。

以上の結果から、2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタジオールジイソブチレートの反復投与毒性は、雌雄ともに 150 mg/kg以上の投与で認められ、最大無影響量を雌雄ともに 30 mg/kg/day と判断した。また、雌雄の生殖に及ぼす影響および児動物の発生・発育に及ぼす影響は、750 mg/kg/day 投与によっても認められず、最大無影響量を雌雄ともに750 mg/kg/day と判断した。

2. 試 験 題 目 : 2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタジオールジイソブチレートのラットを用いた反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

3. 試 験 目 的 : 既存化学物質の毒性学的性質を評価する為のOECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験、Extended Steering Group Document No. 3」(1990年3月22日)に従って、ラットを用いて一般毒性学的影響に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。
なお、試験の実施は環企研第 233号、衛生第38号、63基局第 823号(昭和63年11月18日)の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」の基準を満たすものとした。

9. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタジオールジイソブチレート
- 2) CAS No. 6 8 4 6 - 5 0 - 0
- 3) ロット番号
- 4) 純 度 99.7%
- 5) 提供先
- 6) 製造年月日 平成 4 年 8 月 1 日
- 7) 使用期限 3 カ月間
- 8) 保管条件 密閉
- 9) 一 般 名 CS - 1 6
- 10) 化 学 名 2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタジオールジイソブチレート
- 11) 化学構造

$$\begin{array}{c}
 \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{c} \text{CH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \end{array} \\
 \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{CH}_3 \quad \text{O} \\ | \quad | \quad || \\ \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \begin{array}{c} \text{CH} \\ | \\ \text{CH} \end{array} \text{C} \text{CH}_2 \text{O} \text{C} \text{CH} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \\
 \quad \quad \quad | \\
 \quad \quad \quad \text{CH}_3
 \end{array}$$
- 12) 分 子 式 $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_4$
- 13) 分 子 量 286.41
- 14) 物質の状態 液体
- 15) 色 無色透明

- | | |
|----------------------------|---|
| 16) 臭 | 高級アルコール臭 |
| 17) 融点／沸点 | -70℃／ 280℃ |
| 18) 溶 解 性 | 0.042 wt% (水) |
| 19) 比 重 | 0.944 (20℃) |
| 20) 蒸 気 圧 | 12 Torr (150℃) |
| 21) 取り扱い上の注意 | 取り扱い中は必要に応じて適切な保護メガネ、保護手袋、保護マスクを着用し、取り扱い後は手洗いおよびうがいを充分行う。 |
| 22) 被験物質保管および
残余被験物質の処理 | 投与終了後、約 2g を安評センターに保管し、残りは廃棄した。 |

なお、実測した結果は Reference data 2 に示した。

10. 試験材料および方法：

1) 供試動物

供試したSD系ラット（Slc:SD, SPF）は、日本エスエルシー株式会社（静岡県浜松市）から生後7週齢の雌雄各70匹を平成4年10月19日に購入した。

動物を8日間検疫・馴化飼育した後、雌雄各48匹を8週齢で群分けして試験に用いた。

群分け終了時の体重は、雄で257～293 g、雌で168～181 gであった。

2) 種属選択理由

OECDガイドラインにおいてラットの使用が指示されている。系統は、性周期、繁殖性および遺伝的安定性を考慮して選んだ。

3) 飼 育

動物は、温度22～26℃、湿度45～65%、換気回数15回／時間、照度150～300 lux、照明時間12時間（午前7時点灯、午後7時消灯）に設定されたバリアシステムの飼育室（W 5.7 × D 10.0 × H 2.5 m、142.5 m³）で飼育した。

株式会社 東京技研サービス（東京都府中市）の自動水洗式飼育機（W 691.0 × D 79.0 × H 195.0 cm）を使用し、アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 15.8 × D 23.8 × H 16.0 cm、飼育ケージ・スペース 6.017 cm³）に動物を1匹ずつ収容し飼育した。但し、交配期間中は、雄をアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm、飼育ケージ・スペース 14.720 cm³）に収容し飼育した。妊娠18日以降の母動物は哺育4日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ（W 36.8 × D 25.0 × H 16.0 cm）に哺育トレイおよび巣作り材料（アルファードライ）を入れて飼育した。飼育ケージは隔週1回、給餌器は週1回交換した。

飼料は、オリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区）製造のNMF固型飼料（放射線滅菌飼料）を使用し、飼育期間中自由に摂取させた。本試験に使用した飼料中の汚染物質の分析は、オリエンタル酵母工業株式会社が財団法人 日本食品分析センター（東京都渋谷区）に依頼し実施した。その分析成績書は、Reference data 3 に示した。

飲水は、水道水を自由に摂取させた。水道水の分析は1年に4回、財団法人 静岡県生活科学検査センター（静岡県浜松市）で実施し、その水質検査成績書はReference data 4 に示した。供給した飼料、水および巣作り材料には試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった。

なお、動物の飼育期間中、データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

4) 群分け

動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように平成4年10月27日に群分けした。

動物の識別は個体別に耳パンチをするとともにケージごとに動物標識番号 (Animal ID-No.) をつけた。

5) 試験群の構成

1 対照群および3 被験物質投与群の計4 群とした。

性	試験群	用 量 (mg/kg)	動物数	動 物 番 号
雄	1	0 (対照群) *	12	1001 ~ 1012
	2	30	12	1101 ~ 1112
	3	150	12	1201 ~ 1212
	4	750	12	1301 ~ 1312
雌	1	0 (対照群) *	12	2001 ~ 2012
	2	30	12	2101 ~ 2112
	3	150	12	2201 ~ 2212
	4	750	12	2301 ~ 2312

* コーンオイルのみを投与した。

6) 用量設定理由

本試験に先立って用量設定のための2週間投与試験（用量：0、500、750 および 1,000 mg/kg）を実施した（Reference data 7）。

その結果、雌雄の 500 mg/kg以上の投与群で肝臓重量の高値が認められ、750 mg/kg 以上の投与群で肝臓および副腎重量の高値が認められた。

以上の結果から、本試験の最高用量を 750 mg/kgに設定し、以下公比5にて除し、中用量を 150 mg/kg、低用量を 30 mg/kg に設定した。

7) 被験物質の調製、濃度分析

必要量の被験物質をコーンオイル（ナカライテスク株式会社、京都府京都市）に溶解し、6、30および150 mg/mlの指定濃度に調製した。調製後は、使用時まで冷蔵庫に保存した。調製液中の被験物質は Reference data 5 に示した如く、2 (w/v) %溶液の場合、冷暗条件下で少なくとも7日間安定であることが確認されていることから、調製は1週間に1回以上の頻度で実施し、調製後7日以内に使用した。

投与液の濃度分析は、調製開始時に調製した各群のバッチから無作為にサンプルを抽出し実施した。その結果、Reference data 6 に示した如く94.0～98.0%の範囲で適切に調製されており問題はなかった。

8) 投与方法および投与期間

投与経路は、OECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」で指示されている投与経路に準じて強制経口投与を選択した。

投与容量は、体重100 g当り0.5 mlとし、個体別に測定した最新体重に基づいて算出した。胃ゾンデを用いて毎日1回（7日/週）強制経口投与した。対照群にはコーンオイルのみを同様に投与した。

雄の投与期間は、交配前14日から交配期間14日間および交配期間終了後16日間の連続44日間とした。雌の投与期間は、交配前14日間と交配期間中（交尾成立まで最長14日間）ならびに交尾成立雌の妊娠期間を通じて分娩後の哺育3日まで（40～53日間）とした。なお、交尾の成立しなかった雌は交配期間終了後の解剖前日まで44日間、妊娠不成立の雌は妊娠25日の解剖前日まで40日間投与した。

9) 観察および検査項目

a. 一般状態の観察

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察した。

b. 体重測定

雄では、投与0（投与開始日）、7、14、21、28、35、42および44日（剖検日）に測定した。雌では、投与0（投与開始日）、7、14および21日に測定し、交尾の成立しなかった雌はそれ以後の投与28、35、42および44日に測定した。また、交尾成立後の雌は、妊娠0、7、14および21日に、分娩した雌は哺育0および4日に測定した。

c. 摂餌量の測定

雄では、投与0（投与開始日）、7、14、28、35、42および43日（剖検前日）に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの間の摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出した。雌では、投与0（投与開始日）、7および14日に、交尾の成立しなかった雌はそれ以降の投与28、35および42日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出した。また、交尾成立の雌は妊娠0、7、14および21日に、分娩した雌は哺

育0および4日に測定し、測定日から次の測定日までの間の摂餌量を求め平均1日摂餌量を算出した。なお、交配期間中の摂餌量は測定しなかった。

d. 交 配

交配前8日間（交配開始日を含めて9日間）の性周期観察を行った雌を同群内の雄のケージに入れ1対1で最長2週間毎晩同居させた。翌朝、膣垢中の精子確認をもって交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。

性周期観察は交尾成立日まで行い、発情期から次の発情期までの間の日数を性周期日数として平均性周期を算出した。

交配結果から、各群について交尾率 $\left[\left(\text{交尾成立動物数} / \text{同居動物数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

e. 自然分娩時および新生児の観察

自然分娩時に分娩状態の観察を行い、分娩が完了した日を哺育0日として哺育日を起算した。また、妊娠期間（哺育0日の年月日から妊娠0日の年月日を減じた日数）、受胎率 $\left[\left(\text{受胎動物数} / \text{交尾成立動物数} \right) \times 100 \right]$ 、出産率 $\left[\left(\text{生児出産雌数} / \text{妊娠雌数} \right) \times 100 \right]$ 、着床率 $\left[\left(\text{着床痕数} / \text{妊娠黄体数} \right) \times 100 \right]$ 、分娩率 $\left[\left(\text{出産児数} / \text{着床痕数} \right) \times 100 \right]$ 、出生率 $\left[\left(\text{出產生児数} / \text{出産児数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

新生児は出産後、出産児数（生存児＋死亡児）を調べ、性別を判定するとともに外形異常の有無を調べた。また、哺育0および4日に雌雄別の同腹児重量を測定し、雌雄別1匹当りの平均重量を算出した。

哺育4日目に新生児全例を屠殺し、主要器官の肉眼観察を行った。哺育期間中の死亡児も同様に主要器官の肉眼観察を行った。また、新生児の4日生存率 $\left[\left(\text{哺育4日生児数} / \text{出產生児数} \right) \times 100 \right]$ を算出した。

f. 臨床検査

各群の雄全例について剖検時に実施した。

動物を約16時間絶食させた後、エーテルで麻酔後開腹し、腹部大動脈から採血した。

・血液学的検査：

検査には初血を用いた。総合血液学検査装置 THMS II 6000（テクニコン社、米国）を用いて下記の項目を測定した（EDTA-3K添加血液）。

ヘマトクリット値	(HCT)	全赤血球の容積より補正
ヘモグロビン量	(HGB)	シアンメトヘモグロビン法
赤血球数	(RBC)	暗視野板法
平均赤血球容積	(MCV)	RBC, HCTより算出
平均赤血球血色素量	(MCH)	HGB, RBCより算出

平均赤血球血色素濃度	(MCHC)	HGB, HCTより算出
血 小 板 数	(PLT)	暗視野板法
白 血 球 数	(WBC)	暗視野板法
白 血 球 百 分 率		フローサイトケミストリー法

白血球百分率は上述の機器で測定したが、別途血液塗抹標本を作製し、メイ・グリュンワルドギムザ染色して保管した。

網状赤血球数 (RC) 比率の算定については網赤血球染色用ガラス毛细管キャピロット (テルモ株式会社、東京都渋谷区) で染色後、血液塗抹標本を作製した。各群とも貧血傾向が認められなかったため、鏡検は行わなかった。

・血液化学的検査：

検査にはクリーンミール (株式会社ヤトロン、東京都千代田区) に血液を採取し、30分間放置後 3,000 r. p. m で7分間遠心分離して得た血清を用いた。多項目生化学自動分析装置 Centrifichem ENCORE II (ベーカー社、米国) および EKTACHEM 700N (コダック社、米国) を用いて下記の項目を測定した。

総 蛋 白	(T. protein)	ビューレット法
ア ル ブ ミ ン	(Albumin)	B. C. G. 法
A/G	(A/G)	計算値
血 糖	(Glucose)	グルコースオキシダーゼ法
尿 素 窒 素	(BUN)	ウレアーゼ改良法
クレアチニン*	(Creatinine)	Jaffe' 法
総 ビ リ ル ビ ン	(T-Bilirubin)	ジアゾ色素法
グルタミン酸オキザロ酢酸 トランスアミナーゼ*	(GOT)	Karmen改良法
グルタミン酸ピルビン酸 トランスアミナーゼ*	(GPT)	Karmen改良法
γ-グルタミルトランス ペプチダーゼ*	(Gamma-GTP)	Szasz 改法
カ リ ウ ム	(Potassium)	電極法
塩 素	(Chloride)	電極法
カ ル シ ウ ム	(Calcium)	アルセナゾⅢ色素法
無 機 リ ン	(I. phosphate)	モリブデン酸アンモニウム法

* 印の項目は、ENCORE II で、他は EKTACHEM で測定した。

g. 剖検および器官重量

下記に該当する動物について病理解剖を実施し、器官重量を測定した。

解剖では動物の外観、口腔、鼻孔および頭蓋腔、骨格、脳および脊髄の外観と切断面、胸腔、腹腔および骨盤腔とその内臓、頸部の組織および器官を検査し、すべての肉眼的異常について、部位、大きさ、硬さなどを記録した。

雄動物：

44日間投与後、約16時間の絶食させた後エーテル麻酔後安楽死させ、主要器官の肉眼的観察を行った後、胸腺、肝臓、腎臓、精巣および精巣上体重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また、全動物の胸腺、肝臓、腎臓、脳、心臓、脾臓、副腎、精囊、前立腺、下垂体および異常病変部組織（肺、皮膚の塊）を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、精巣および精巣上体はブアン氏液で固定した。

自然分娩した雌：

哺育4日にエーテル麻酔後放血安楽死させ、主要器官の肉眼的観察を行った後、胸腺、肝臓、腎臓および卵巣重量を測定し器官重量・体重比（相対重量）を算出した。また、全動物の胸腺、肝臓、腎臓、卵巣、脳、心臓、脾臓、副腎、下垂体および異常病変部組織（肺）を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

交尾の成立しなかった雌：

44日間投与後、エーテル麻酔後放血安楽死させ、主要器官の肉眼的観察を行った後、皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、腔、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

自然分娩の認められなかった雌：

妊娠25日に、エーテル麻酔後放血安楽死させ、主要器官の肉眼的観察を行った後、皮膚、乳腺、リンパ節、唾液腺、胸骨、大腿骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺および上皮小体、舌、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、腔、眼球、ハーダー腺、脳、下垂体および脊髄を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。着床痕が認められない動物は妊娠不成立と判定した。

h. 病理組織学検査

下記に該当する動物について組織学検査を実施した。

株式会社 組織科学研究所（東京都青梅市）でパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。鏡検は安評センターで実施し、病変の種類および程度について記録した。

妊娠を成立させた雄：

対照群と高用量群全例の脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣および異常病変部組織（肺；1例、皮膚の塊；1例）。なお、150 mg/kg 以上の投与群で肝臓重量が、750 mg/kg 群で腎臓重量がそれぞれ増加したため、30および150 mg/kg群の全例の肝臓および腎臓についても組織学検査を実施した。

自然分娩した雌：

対照群と高用量群全例の脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣および異常病変部組織（肺；1例）。なお、750 mg/kg 群で肝臓重量が増加し、雄で腎臓重量の増加が認められたため、30および150 mg/kg群の全例の肝臓および腎臓についても組織学検査を実施した。

交尾の成立しなかった雌雄：

全例の脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、腔、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺および下垂体。

妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌：

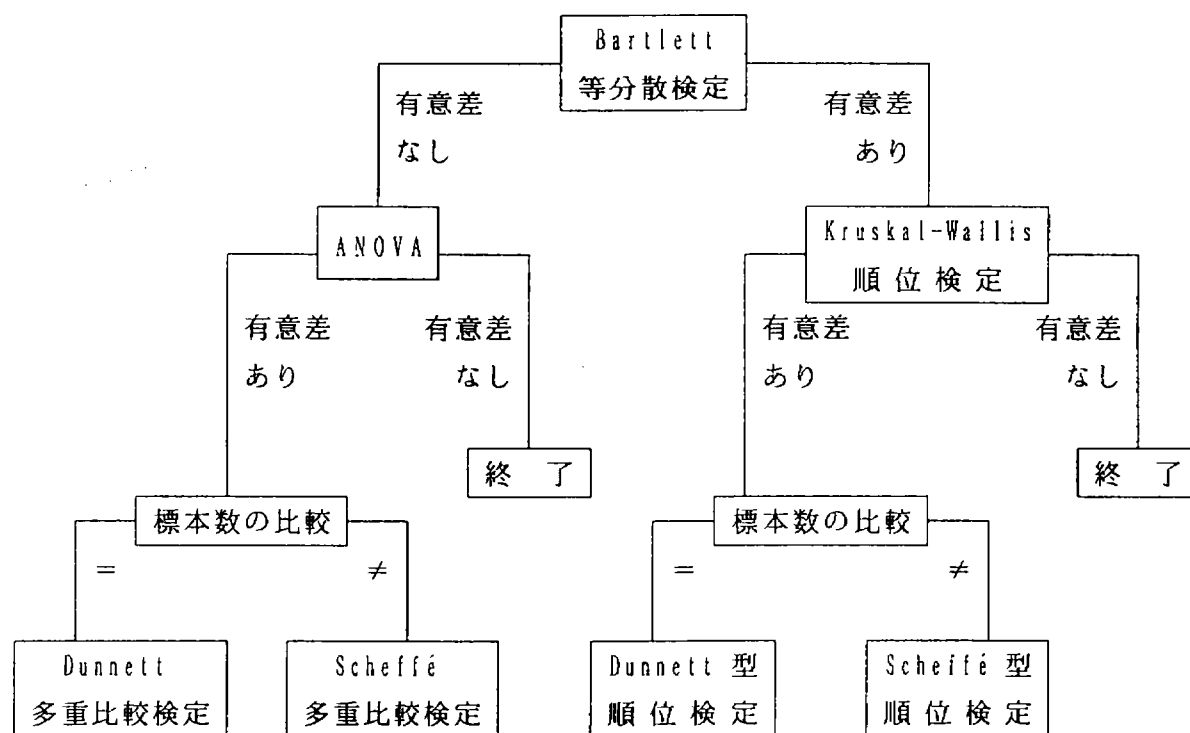
全例の脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、腔、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺および下垂体。

10) データの記録および統計解析

本試験の諸データは、コンピュータ・システムを用いて記録し、試験成績については下記の方法により統計解析を行った。

なお、哺育期間中の新生児に関する成績は1母体当りの平均を1標本とした。有意水準は* : $P < 0.05$ および** : $P < 0.01$ の2段階とした。

体重、摂餌量、黄体数、着床痕数、出産児数、性比、平均性周期、妊娠期間、着床率、分娩率、出生率、外形異常発現率、新生児の4日生存率、器官重量、器官重量・体重比（相対重量）、血液学的および血液化学的検査値については多重比較検定³⁾を用いた。最初に Bartlett の等分散検定を実施した。等分散の場合は一元配置分散分析を行った。分散が有意で各群の標本数が同数の場合は Dunnett の多重比較検定、各群の標本数が異なる場合は Scheffé の多重比較検定で対照群と各投与群間の有意差を検定した。Bartlett の等分散検定で不等分散の場合は Kruskal-Wallis の順位検定を実施した。有意で各群の標本数が同数の場合は Dunnett の順位検定、各群の標本数が異なる場合は Scheffé の順位検定で対照群と各投与群間の有意差を検定した。



出産率、交尾率および受胎率については χ^2 検定^{4, 5)}を用いた。

病理学検査の異常所見頻度については Fisher の直接確率検定法⁵⁾を用いた。但し、病理組織学検査の肝臓および腎臓で認められた所見については累積カイ二乗検定を実施した。

11. 試験結果：

1) 反復投与毒性

a. 死亡および一般状態 (Table 1, Appendix 1-1-1 ~ 1-2-12)

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの投与群にも観察されなかった。

一般状態の観察では、皮下部の腫瘤が雄の 750 mg/kg 群で投与 6 から 7 週目に 1 例観察された。雌では、眼分泌物が対照群で哺育 3 日目に、30 mg/kg 群で哺育 2 から 4 日目に、750 mg/kg 群で妊娠 2 から 5 日目および 13 日目にそれぞれ 1 例観察された。

b. 体重 (Figure 1 ~ 2, Table 2-1 ~ 2-2, Appendix 2-1-1 ~ 2-2-12)

雄では、750 mg/kg 群で対照群に比べて投与期間を通じ体重が減少傾向を示し、投与 0 から 42 日の体重増加量も減少した。

雌では、各群の体重は同様な増加推移を示し、対照群と被験物質投与群との間で差は認められなかった。

c. 摂餌量 (Figure 3 ~ 4, Table 3-1 ~ 3-2, Appendix 3-1-1 ~ 3-2-12)

雄では、対照群と投与群との間に差は認められなかった。

雌では、750 mg/kg 群で妊娠 0 から 7 日および 7 から 14 日の間、対照群に比べて摂餌量が増加し、妊娠 0 から 21 日の累積摂餌量も対照群に比べて増加した。

d. 雄の血液学的検査 (Table 4, Appendix 4)

すべての投与群で、対照群に比べて好中球比率の減少およびリンパ球比率の増加が認められたが、ほぼ対照群の変動の範囲内（対照群の 2 標準偏差の範囲）であった。その他、30 および 150 mg/kg 群で対照群に比べ、MCV が僅かに減少したが、用量に関連した変化ではなかった。なお、各投与群とも貧血傾向が認められなかったことから、網状赤血球比率の算定は行わなかった。

e. 雄の血液化学的検査 (Table 5, Appendix 5)

すべての投与群で、対照群に比べて無機リンの増加が認められた。さらに、150 mg/kg 以上の投与群でクレアチニン、総ビリルビン、アルブミン、A/G およびカルシウムの増加、GOT および γ -GTP 活性の減少が、また、750 mg/kg 群では、総蛋白の増加、GPT 活性および塩素の減少がそれぞれ認められた。その他、30 および 150 mg/kg 群でカリウムの増加が、30 mg/kg 群では γ -GTP 活性の増加が認められたが、用量に関連した変化ではなかった。

f. 器官重量 (Table 6-1 ~ 6-2、Appendix 6-1-1 ~ 6-4-4)

雄では、対照群に比べ 150 および 750 mg/kg 群で肝臓の相対重量が増加し、さらに 750 mg/kg 群で肝臓の実重量、腎臓の実重量および相対重量が増加した。その他、30 mg/kg 群で胸腺重量の減少が認められたが、用量に関連した変化ではなかった。

雌では、対照群に比べ、750 mg/kg 群で肝臓の実重量および相対重量がともに増加した。

g. 剖検所見 (Table 7-1 ~ 7-3、Appendix 7-1 ~ 7-2)

妊娠の成立した雄：

被験物質投与群に発生数の多い所見として、肝臓の褐色化が 750mg/kg 群で11例中6例に観察された。その他、自然発生性と考えられる病変として、肝臓の瘢痕が 30 mg/kg 群の1例に、胸腺の赤色化、肺の有色斑／区域（褐色）および皮膚の塊（腫瘤）が 750 mg/kg 群でそれぞれ1例に観察された。

哺育4日の母動物（自然分娩動物）：

被験物質投与群に発生数のやや多い所見として、腎臓の緑色化が 150 および 750 mg/kg 群でそれぞれ11例中1例に観察された。その他、自然発生性と考えられる病変として、胸腺の褐色化が 150 mg/kg 群の1例に、赤色斑／区域が対照群の1例に、赤色化が対照群および 150 mg/kg 群の各1例に、肺の有色斑／区域（褐色）が150 および750 mg/kg 群の各1例に観察された。

交尾の成立しなかった雌雄：

150 および 750 mg/kg 群の雌雄各1例に認められた。雌雄とも生殖器系器官の異常は認められなかったが、750 mg/kg 群の雄で肝臓の褐色化が観察された。

妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌：

30 mg/kg 群で雌雄各1例に認められた。雌雄ともに異常所見は観察されなかった。

h. 病理組織学所見 (Table 8-1 ~ 8-6、Appendix 8-1 ~ 8-6)

妊娠を成立させた雄：

被験物質投与の影響が示唆される所見として腎臓および肝臓に認められた。すなわち、腎臓の尿細管上皮の好塩基性化が対照群で軽度11例 (Photo. 1)、30 mg/kg群の軽度9例、150 mg/kg群の軽度8例、中等度3例および750 mg/kg群で軽度1例、中等度9例および高度1例 (Photo. 2) 観察され、硝子滴変性が対照群で軽度11例、中等度1例、30 mg/kg群で軽度9例、中等度2例、150 mg/kg群で軽度6例、中等度5例および750 mg/kg群で軽度1例、中等度10例観察された。また、近位尿細管上皮の壊死が750 mg/kg群のみに軽度8例 (Photo. 3)、中等度3例観察され、遠位尿細管の腔拡張が750 mg/kg群で軽度5例、線維化が同群で軽度4例および中等度1例観察された。肝臓では、肝細胞の軽度の腫脹が750 mg/kg群で6例 (Photo. 4) 観察された。投与群に減少を示す所見として、肝臓の脂肪化 (Photo. 5) が対照群で11例、30mg/kg群で8例、150 mg/kg群で6例および750 mg/kg群で3例観察された。いずれも軽度の変化であった。

また、肝臓の肝細胞増殖巣 (Photo. 6) および皮膚の線維肉腫 (Photo. 7) が750 mg/kg群の同一個体に観察された。

その他の所見は、対照群との間に差異は認められず、自然発生的な病変であった。すなわち、心臓の肉芽巣、脾臓の色素沈着、肝臓の小肉芽巣、腎臓の好酸性小体・蛋白様円柱および副腎の皮質の空胞化などが認められた。

哺育4日の母動物 (自然分娩動物)：

被験物質投与による影響が示唆される所見は観察されなかった。観察された所見は、脾臓の色素沈着および造血亢進、胸腺の出血および萎縮、肝臓の脂肪化・小肉芽巣および髄外造血亢進、腎臓の石灰沈着・蛋白様円柱および遠位尿細管の腔拡張および副腎皮質の空胞化などでいずれも自然発生性病変と考えられた。

交尾の成立しなかった雌雄：

雌雄各2例の内、雄の750 mg/kg群の1例に腎臓の尿細管上皮の好塩基性化・硝子滴変性・近位尿細管上皮の壊死および線維化が、肝臓では肝細胞の腫脹などが観察された。その他、雄1例、雌2例に脾臓の色素沈着あるいは腎臓の好酸性小体などの変化が観察された。

妊娠を成立させなかった雄および妊娠不成立の雌：

雌雄各1例では、心臓の肉芽巣、脾臓の色素沈着、肝臓の細胞浸潤および腎臓の好酸性小体などの変化が観察された。

2) 生殖発生毒性

a. 交尾および受胎能 (Table 9、Appendix 9-1-1 ~ 9-2-4)

交尾は、対照群および 30 mg/kg 群で全例成立した。150 および 750 mg/kg 群ではそれぞれ 1 組が交尾不成立で、交尾率はそれぞれ 91.7% であった。

受胎は、対照群、150 および 750 mg/kg 群の交尾成立した雌の全例で成立し、30 mg/kg 群では 12 例中 11 例 (91.7%) で成立した。

性周期観察では、いずれの群もほぼ 4 ~ 5 日の性周期を示したが、対照群および 150 mg/kg 群の各 1 例に偽妊娠と考えられる性周期の停止 (連続した発情休止期像) が交配直後から認められた。このうち、対照群の 1 例は性周期の停止が 12 日間続いた後交尾が成立したが、150 mg/kg 群の 1 例は交配期間を通じて性周期が停止し交尾の成立には至らなかった。その他、750 mg/kg 群の平均性周期は対照群の 4.6 日に比べて 4.1 日と短く統計学的有意差が認められた。

b. 分娩および哺育 (Table 10、Appendix 10-1 ~ 11-4)

分娩状態には異常は観察されず、各群の妊娠期間、黄体数、着床痕数、出産児数、出產生児数、性比、4 日生存児数および死産児数はほぼ同様な値を示し、出産率、着床率、分娩率、出生率および 4 日生存率に群間差は認められなかった。

c. 新生児の形態、体重および剖検所見 (Table 11~12、Appendix 10-1 ~ 12-2-4)

新生児の外表検査では、異常は 1 例も観察されなかった。

哺育期間中の体重では、対照群に比べて哺育 4 日の体重が 750 mg/kg 群の雄で増加傾向を示し、雌で増加した。

哺育 4 日までの死亡児の剖検では、肺の赤色化が対照群の 1 例に観察されたのみであった。

哺育 4 日の剖検では、胸腺の頸部残留および肝臓の奇形結節 (過形成) が散見された。

12. 考察および結論：

1) 反復投与毒性

死亡例は、投与期間を通じ雌雄いずれの投与群にも認められず、一般状態にも被験物質投与の影響は認められなかった。

体重については、雄の 750 mg/kg 群で投与期間を通じて減少傾向が認められ、軽微ながら被験物質投与の影響が考えられた。雌では被験物質投与の影響は認められなかった。摂餌量については、雌の 750 mg/kg 群の妊娠 0 から 14 日の間で増加が認められたが、被験物質投与との関連は明きらかでなかった。雄では被験物質投与の影響を示唆する変化はなかった。

血液学的検査では、被験物質投与の影響は認められなかった。血液化学的検査では、150 および 750 mg/kg 群で総蛋白、クレアチニンおよび総ビリルビンの増加が認められ、腎臓および肝臓への影響が示唆された。その他、30 mg/kg 以上の投与群で無機リンの増加、150 mg/kg 以上の投与群でアルブミン、A/G およびカルシウムの増加、GOT および γ -GTP 活性の減少、さらに 750 mg/kg 群で GPT 活性および塩素の減少が認められたが、特定臓器における変化を示唆するものとは考えられなかった。

器官重量では、雄の 150 および 750 mg/kg 群で肝臓の相対重量が増加し、さらに 750 mg/kg 群で肝臓の実重量、腎臓の実重量および相対重量が増加した。雌の 750 mg/kg 群では、肝臓の実重量および相対重量が増加した。これらの重量変化は被験物質投与に起因した変化と考えられた。

剖検所見では、雄の 750 mg/kg 群で肝臓の褐色化が、雌の 150 mg/kg 以上の投与群で腎臓の緑色化が認められた。組織学検査では、雄の 150 mg/kg 以上の投与群で腎臓の尿細管上皮の好塩基性化の程度が増強し、750 mg/kg 群では高頻度に観察された。また、硝子滴変性が 150 および 750 mg/kg 群で程度が増強し、近位尿細管上皮の壊死、線維化および遠位尿細管の腔拡張が 750 mg/kg 群のみに観察された。投与群の腎臓に高頻度に観察された尿細管上皮の様々な病変は雄のみに観察され、その発生機序については明確ではないが腎臓を通じての排泄機構に性差があることにより雄のみに障害が観察されたものとする。なお、剖検所見で、雌の腎臓の緑色化が 150 および 750 mg/kg 群にそれぞれ 1 例観察されたが、これに相当する組織学的変化は観察されなかった。

肝臓では、雄の 750 mg/kg 群に脂肪化の減少および肝細胞の軽度の腫脹が認められた。この変化は肝臓重量が増加した雌の 750 mg/kg 群では認められず、肝臓における障害の発現機構にも性差のあることが示唆された。また、肝細胞増殖巣および皮膚の線維肉腫が 750 mg/kg 群の同一例に観察されたが、これらについては 1 例のみであり、被験物質投与の影響の有無については判断できなかった。

交尾および妊娠不成立の動物の剖検および組織学所見では、不妊の原因と考えられる異常所見は認められず、被験物質投与との関連はないものと考えられた。その他認められた組織学的変化は、いずれも自然発生的な病変と考えられた。

以上のことから、2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタンジオールジイソブチレート¹⁾の反復投与による標的器官は、肝臓および腎臓と考えられ、雄では、150 mg/kg/day 以上の投与群でクレアチニンおよび総ビリルビンの増加、肝臓重量の増加、腎臓における尿細管上皮の好塩基性化の程度の増加および硝子滴変性が、さらに、750 mg/kg/day 投与で体重増加抑制、総蛋白、クレアチニンおよび総ビリルビンの増加、腎臓の重量増加、肝臓の褐色化、近位尿細管上皮の壊死ならびに線維化、遠位尿細管の腔拡張、肝細胞腫脹が認められた。雌では、750 mg/kg/day 投与で摂餌量の増加および肝臓重量の増加が認められた。したがって、最大無影響量は雄では 30 mg/kg/day、雌では150 mg/kg/day と判断される。

2) 生殖発生毒性

交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。性周期観察では、750 mg/kg 群の平均性周期が対照群の 4.6日に比べて 4.1日と短く統計学的有意差が認められたが、平均 4.0日の動物が 750 mg/kg群に片寄ったことによるものであり、当センター（過去3年間：平均4.0～4.4日）と比較して差はなかった。

分娩時観察では、妊娠動物の全例が正常に分娩し、新生児の外表検査でも被験物質投与の影響は認められなかった。また、新生児の生存率に群間差はなく、体重も哺育4日まで順調に増加し、死産児、死亡児および哺育4日の剖検でも被験物質投与による影響は認められなかった。

以上のことから、2, 2, 4-トリメチル-1, 3-ペンタンジオールジイソブチレート¹⁾投与による雌雄の生殖に及ぼす影響および児動物の発生・発育に及ぼす影響は、750 mg/kg/day 投与によっても認められず、最大無影響量はともに750 mg/kg/day と判断される。

13. 参 考 文 献 :

- 1) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document. No. 3 (1990).
- 2) Govt. Reports Announcements & Index: Information profiles on potential occupational hazards: Glycols. NTIS/PB89-215776 (1982).
- 3) Shayne, C. G. and Carrol, S. W. : Statics and Experimental Design For Toxicologists. Telford Press (1986).
- 4) 佐久間昭 : 薬効評価 I - 計画と解析 - 、東京大学出版会 (1977) 。
- 5) 石居 進 : 生物統計学入門、培風館 (1975) 。

Figures, Tables

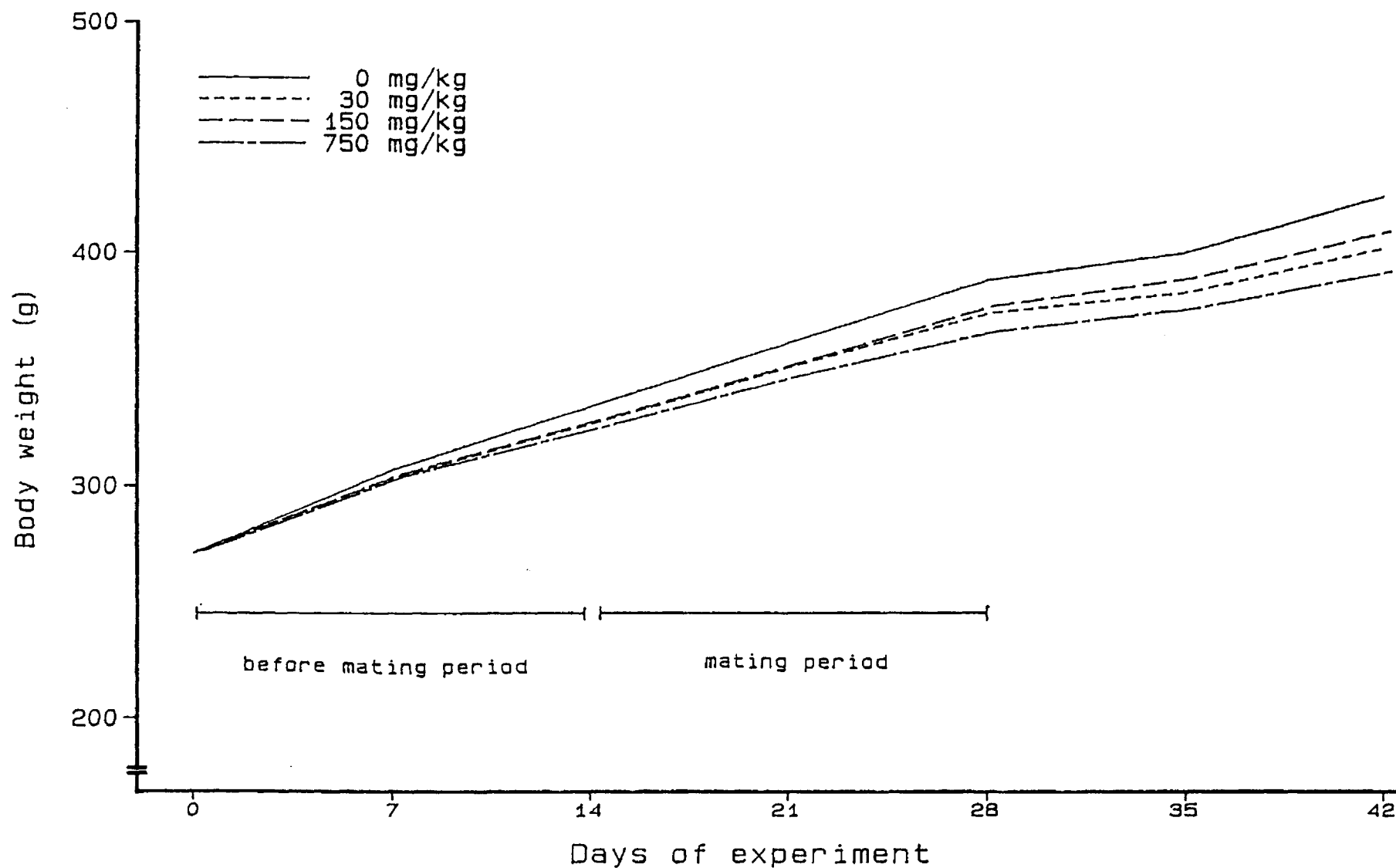


Figure 1

Body weight change of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate

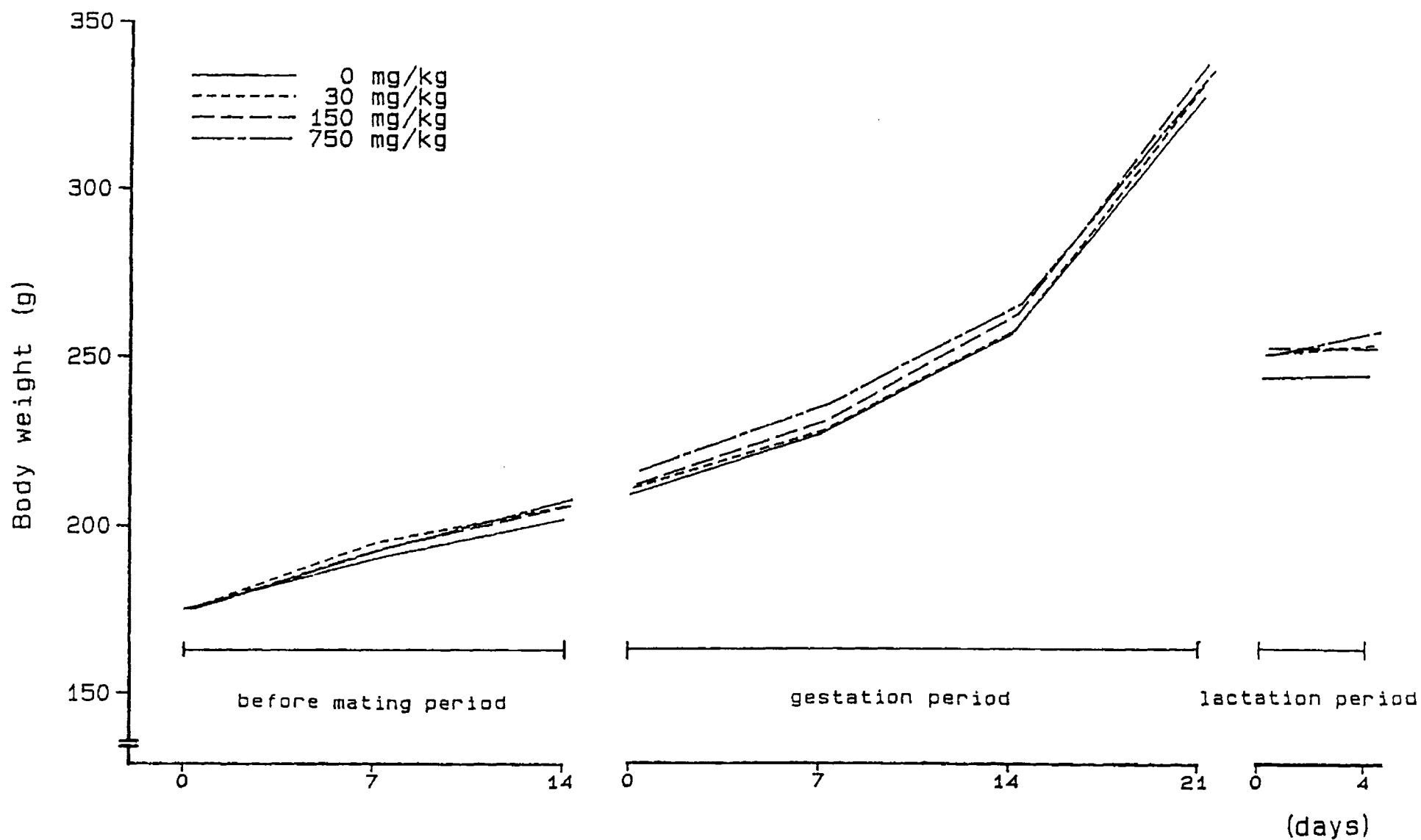


Figure 2

Body weight change of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate

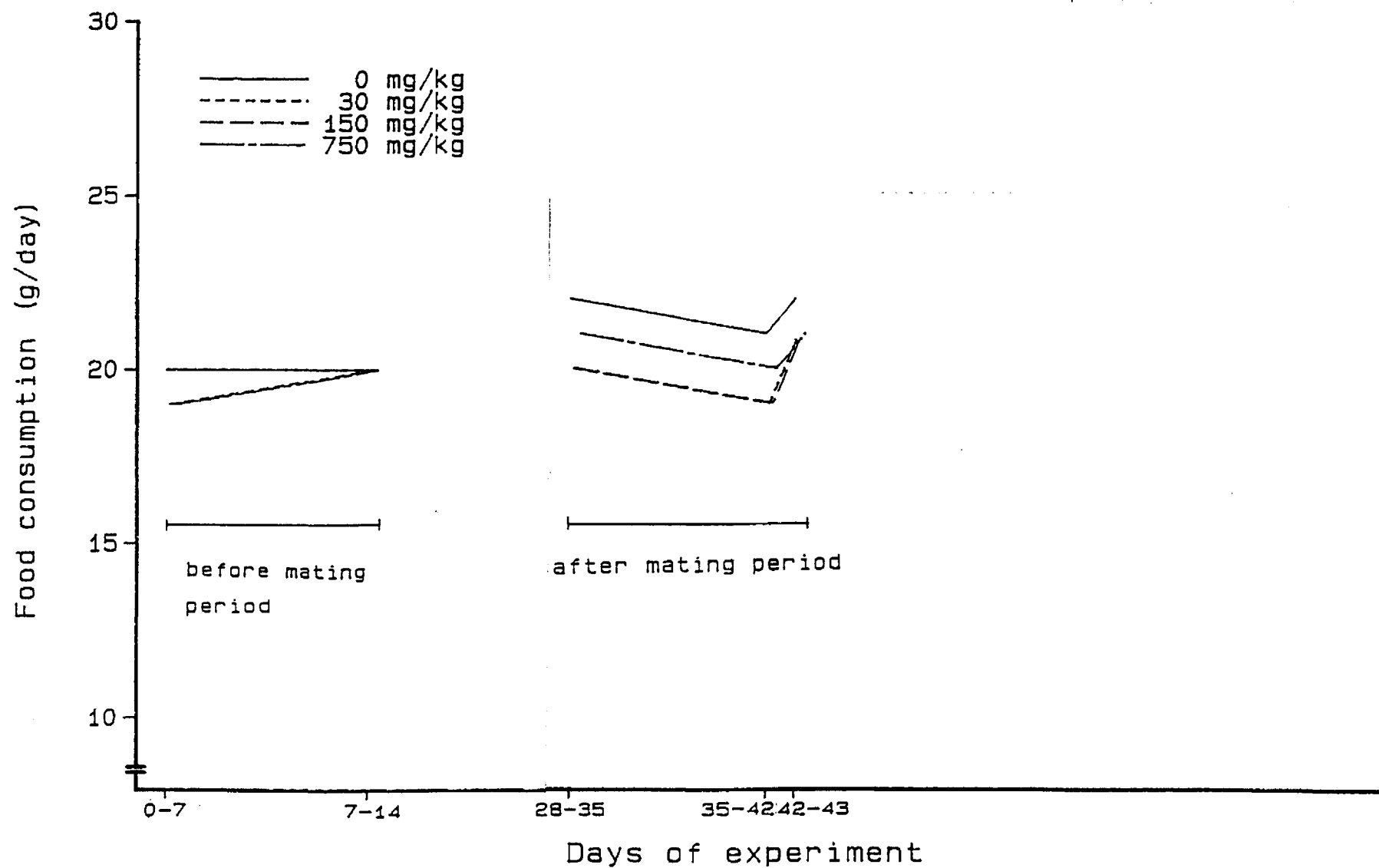


Figure 3

Food consumption of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076

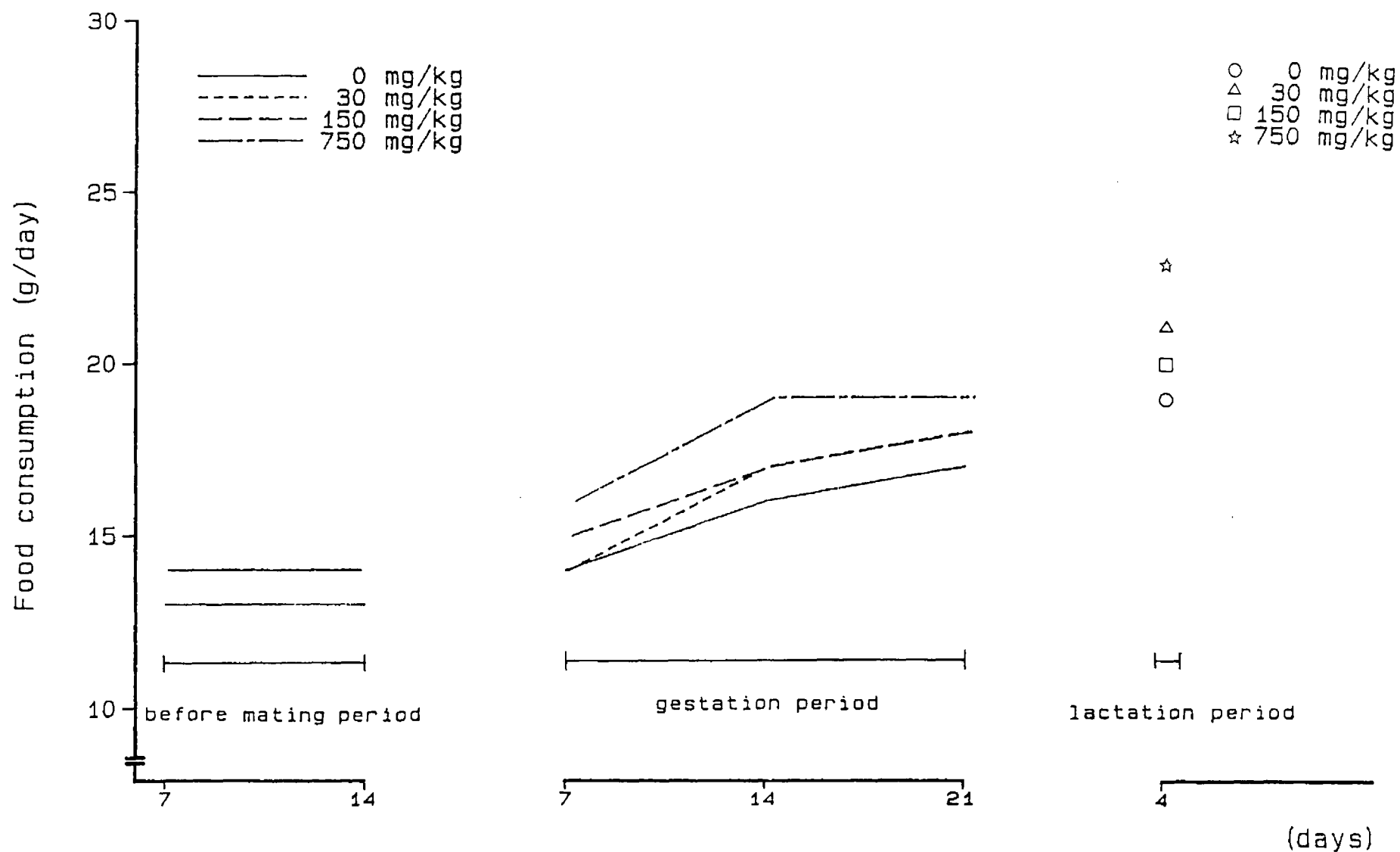


Figure 4

Food consumption of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate

Table 1

Mortality of rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Sex	Male				Female			
Dose level (mg/kg)	0	30	150	750	0	30	150	750
No. of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12
No. of dead animals	0	0	0	0	0	0	0	0
Mortality(%)	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2-1 Body weight change of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

		Unit : g			
Dose level		0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of animals		12	12	12	12
Days of experiment	0	271 ± 9.7	272 ± 9.6	272 ± 8.8	272 ± 8.7
	7	307 ± 15.5	304 ± 16.5	305 ± 11.0	304 ± 15.3
	14	334 ± 21.5	327 ± 20.0	328 ± 12.6	325 ± 19.6
	21	361 ± 23.1	351 ± 22.3	352 ± 13.9	347 ± 22.1
	28	388 ± 25.7	374 ± 24.0	377 ± 17.0	366 ± 25.2
	35	400 ± 28.9	383 ± 27.3	389 ± 21.8	376 ± 29.0
	42	424 ± 30.6	402 ± 29.0	409 ± 25.5	392 ± 31.7
Gain	0-42	153 ± 24.8	130 ± 22.6	137 ± 22.4	120 ± 27.0 **

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; **: P<0.01

Table 2-2 Body weight change of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Unit : g				
Dose level	0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
Before mating period				
No. of animals	12	12	12	12
Days of experiment	0 175 ± 3.0	175 ± 3.1	175 ± 3.7	175 ± 3.2
	7 190 ± 3.7	195 ± 5.2	193 ± 5.7	193 ± 5.2
	14 202 ± 4.8	206 ± 9.3	206 ± 6.8	208 ± 5.8
Gain 0-14	27 ± 5.7	31 ± 8.1	31 ± 5.3	33 ± 5.7
Gestation period				
No. of dams	12	11	11	11
Days of gestation	0 209 ± 13.0	211 ± 9.6	212 ± 7.3	216 ± 8.4
	7 227 ± 9.5	228 ± 7.3	231 ± 7.7	236 ± 9.0
	14 257 ± 10.6	258 ± 10.2	263 ± 11.0	266 ± 11.7
	21 327 ± 24.8	332 ± 15.4	338 ± 17.9	335 ± 18.3
Gain 0-21	118 ± 21.3	121 ± 13.0	126 ± 13.1	119 ± 15.9
Lactation period				
No. of dams	12	11	11	11
Days of lactation	0 244 ± 15.5	251 ± 13.0	253 ± 14.2	251 ± 16.6
	4 245 ± 15.4	254 ± 9.4	253 ± 14.7	258 ± 13.3
Gain 0-4	2 ± 8.7	3 ± 9.2	0 ± 6.8	6 ± 9.6

Values are expressed as Mean±S.D.

Table 3-1

Food consumption of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

		Unit : g/day			
Dose level		0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of animals		12	12	12	12
Days of experiment	0- 7	20 $\pm$ 2.0	19 $\pm$ 2.2	20 $\pm$ 1.8	19 $\pm$ 1.9
	7-14	20 $\pm$ 1.9	20 $\pm$ 2.9	20 $\pm$ 1.7	20 $\pm$ 2.5
	28-35	22 $\pm$ 2.2	20 $\pm$ 1.3	20 $\pm$ 2.0	21 $\pm$ 2.3
	35-42	21 $\pm$ 2.3	19 $\pm$ 1.6	19 $\pm$ 1.8	20 $\pm$ 1.4
	42-43	22 $\pm$ 3.0N	21 $\pm$ 1.9	21 $\pm$ 1.2	21 $\pm$ 2.8
	Cumulative consumption				
	0-14	285 $\pm$ 27.3	275 $\pm$ 28.0	276 $\pm$ 22.0	274 $\pm$ 30.1
	28-43	320 $\pm$ 31.4	295 $\pm$ 19.6	299 $\pm$ 24.9	306 $\pm$ 27.4

Values are expressed as Mean $\pm$ S.D.

N : Non parametric analysis

Table 3-2

Food consumption of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Unit : g/day									
Dose level		0 mg/kg		30 mg/kg		150 mg/kg		750 mg/kg	
Before mating period									
No. of animals		12		12		12		12	
Days of experiment		0- 7	13 $\pm$ 1.2	14 $\pm$ 1.2		14 $\pm$ 1.3		14 $\pm$ 1.1	
		7-14	13 $\pm$ 1.6	14 $\pm$ 1.7		14 $\pm$ 1.1		14 $\pm$ 0.8	
Cumulative consumption		0-14	186 $\pm$ 16.7	193 $\pm$ 14.6		190 $\pm$ 15.1		195 $\pm$ 12.2	

Gestation period									
No. of dams		12		11		11		11	
Days of gestation		0- 7	14 $\pm$ 1.7	14 $\pm$ 1.4		15 $\pm$ 1.7		16 $\pm$ 1.3 *	
		7-14	16 $\pm$ 1.3	17 $\pm$ 1.3		17 $\pm$ 1.7		19 $\pm$ 1.8 *	
		14-21	17 $\pm$ 1.2	18 $\pm$ 1.5		18 $\pm$ 1.7		19 $\pm$ 1.7	
Cumulative consumption		0-21	334 $\pm$ 21.1	339 $\pm$ 25.2		348 $\pm$ 33.4		372 $\pm$ 28.2 *	

Lactation period									
No. of dams		12		11		11		11	
Days of lactation		0- 4	19 $\pm$ 5.4	21 $\pm$ 2.8		20 $\pm$ 4.0		23 $\pm$ 4.3	

Values are expressed as Mean $\pm$ S.D.

Significantly different from control group; *: P<0.05

Table 4

Hematology of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Day: 44

Dose level	0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
HCT(%)	47.9 ± 2.3	48.1 ± 1.8	47.5 ± 1.2	46.8 ± 1.9
HGB(g/dl)	14.9 ± 0.5	15.1 ± 0.6	15.0 ± 0.4	14.8 ± 0.7
RBC (× 10 ⁶ /mm ³)	9.35 ± 0.43	9.57 ± 0.38	9.43 ± 0.24	9.17 ± 0.42
MCV (μm ³)	51.2 ± 0.5N	50.2 ± 1.4 *	50.4 ± 1.2 **	51.1 ± 1.1
MCH(pg)	15.9 ± 0.3	15.8 ± 0.5	15.9 ± 0.4	16.2 ± 0.5
MCHC(%)	31.1 ± 0.7	31.4 ± 0.4	31.5 ± 0.3	31.6 ± 0.5
PLT (× 10 ³ /mm ³)	1122 ± 90	1112 ± 109	1111 ± 110	1149 ± 111
WBC (× 10 ³ /mm ³)	4.9 ± 1.2	5.7 ± 1.0	5.6 ± 0.8	5.2 ± 1.1
Differential leukocyte counts(%)				
NEUT	27 ± 6	20 ± 3 **	22 ± 4 *	21 ± 5 **
LYMPH	70 ± 7	77 ± 4 **	75 ± 5 *	76 ± 5 **
MONO	2 ± 1	1 ± 0	2 ± 0	1 ± 1
EOSN	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
BASO	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
LUC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Values are expressed as Mean±S.D.

NEUT : Neutrophil LYMPH : Lymphocyte MONO : Monocyte EOSN : Eosinophil BASO : Basophil

LUC : Large unstained cells

Significantly different from control group; *: P<0.05 **: P<0.01

N : Non parametric analysis

Table 5

Blood chemistry of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Day: 44

Dose level	0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12
T.protein(g/dl)	5.90 $\pm$ 0.24	5.97 $\pm$ 0.22	6.09 $\pm$ 0.19	6.28 $\pm$ 0.30 **
Albumin(g/dl)	3.47 $\pm$ 0.24	3.55 $\pm$ 0.20	3.75 $\pm$ 0.20 **	3.91 $\pm$ 0.27 **
A/G	1.43 $\pm$ 0.14	1.47 $\pm$ 0.10	1.60 $\pm$ 0.11 **	1.65 $\pm$ 0.13 **
Glucose(mg/dl)	150 $\pm$ 19	140 $\pm$ 10	143 $\pm$ 12	136 $\pm$ 16
BUN(mg/dl)	13.6 $\pm$ 2.0	13.5 $\pm$ 2.2	13.2 $\pm$ 2.1	14.5 $\pm$ 1.7
Creatinine(mg/dl)	0.58 $\pm$ 0.06	0.61 $\pm$ 0.06	0.66 $\pm$ 0.07 **	0.76 $\pm$ 0.07 **
T.bilirubin(mg/dl)	0.09 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.03 **	0.18 $\pm$ 0.05 **
GOT(U/l)	47 $\pm$ 14	48 $\pm$ 7	37 $\pm$ 9 *	33 $\pm$ 10 **
GPT(U/l)	22 $\pm$ 11N	20 $\pm$ 6	19 $\pm$ 13	14 $\pm$ 6 *
Gamma-GTP(U/l)	3.2 $\pm$ 0.5	3.7 $\pm$ 0.4 *	2.6 $\pm$ 0.5 **	2.4 $\pm$ 0.5 **
Potassium(mmol/l)	4.72 $\pm$ 0.36	5.07 $\pm$ 0.42 *	5.09 $\pm$ 0.35 *	4.84 $\pm$ 0.34
Chloride(mmol/l)	105.6 $\pm$ 1.2	105.1 $\pm$ 1.2	104.6 $\pm$ 1.7	103.4 $\pm$ 1.1 **
Calcium(mg/dl)	9.65 $\pm$ 0.16	9.74 $\pm$ 0.15	9.92 $\pm$ 0.14 **	10.22 $\pm$ 0.27 **
I.phosphate(mg/dl)	5.78 $\pm$ 0.39	6.92 $\pm$ 0.44 **	6.91 $\pm$ 0.37 **	7.02 $\pm$ 0.39 **

Values are expressed as Mean $\pm$ S.D.

Significantly different from control group; *: P<0.05 **: P<0.01

N : Non parametric analysis

Table 6-1

Absolute and relative organ weight of male rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Dose level		0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of animals examined		12	12	12	12
Body weight	(g)	402 ± 28	383 ± 28	388 ± 22	370 ± 30
Absolute organ weight					
Thymus	(mg)	409 ± 101	338 ± 60 *	341 ± 53	340 ± 57
Liver	(g)	12.83 ± 1.64	11.96 ± 1.50	13.25 ± 1.08	14.46 ± 1.56 *
Kidneys	(g)	2.68 ± 0.23N	2.56 ± 0.15	2.68 ± 0.20	3.12 ± 0.42 *
Testes	(g)	3.38 ± 0.11	3.45 ± 0.20	3.46 ± 0.17	3.39 ± 0.24
Epididymides	(g)	1.25 ± 0.18	1.24 ± 0.11	1.23 ± 0.11	1.22 ± 0.15
Relative organ weight					
Thymus	(mg%)	101.533 ± 23.572	88.354 ± 15.572	88.064 ± 12.940	92.314 ± 16.801
Liver	(g%)	3.183 ± 0.216	3.110 ± 0.175	3.417 ± 0.183 *	3.899 ± 0.207 **
Kidneys	(g%)	0.666 ± 0.038N	0.669 ± 0.033	0.692 ± 0.039	0.841 ± 0.072 **
Testes	(g%)	0.845 ± 0.052	0.906 ± 0.092	0.896 ± 0.077	0.919 ± 0.087
Epididymides	(g%)	0.313 ± 0.041	0.325 ± 0.032	0.317 ± 0.028	0.331 ± 0.030

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; *: P<0.05 **: P<0.01

N : Non parametric analysis

Table 6-2

Absolute and relative organ weight of female rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Dose level		0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of animals examined		12	11	11	11
Body weight	(g)	245 ± 15	254 ± 9	253 ± 15	258 ± 13
Absolute organ weight					
Thymus	(mg)	202 ± 64	243 ± 59	230 ± 42	229 ± 57
Liver	(g)	9.47 ± 1.21	9.72 ± 0.87	9.76 ± 1.10	11.73 ± 1.25 **
Kidneys	(g)	1.69 ± 0.11	1.71 ± 0.09	1.70 ± 0.19	1.78 ± 0.16
Ovaries	(mg)	103 ± 13	103 ± 17	107 ± 12	101 ± 15
Relative organ weight					
Thymus	(mg%)	81.757 ± 24.171	95.505 ± 22.179	90.680 ± 14.638	89.354 ± 23.550
Liver	(g%)	3.862 ± 0.407	3.825 ± 0.322	3.843 ± 0.247	4.545 ± 0.325 **
Kidneys	(g%)	0.692 ± 0.046	0.674 ± 0.035	0.670 ± 0.062	0.692 ± 0.058
Ovaries	(mg%)	41.987 ± 5.557	40.590 ± 6.745	42.385 ± 4.913	39.546 ± 7.604

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; **: P<0.01

Table 7-1. Summary of gross findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (successful pregnancy)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	30	150	750
No. of animals necropsied		12	11	11	11
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	reddish	0	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	colored patch/zone	0	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	brown	0	0	0	6
	scarred	0	1	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM					
skin	mass	0	0	0	1

Table 7-2. Summary of gross findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (day 4 of lactation)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	30	150	750
No. of animals necropsied		12	11	11	11
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	brown	0	0	1	0
	red patch/zone	1	0	0	0
	reddish	1	0	1	0
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	colored patch/zone	0	0	1	1
URINARY SYSTEM					
kidney	green	0	0	1	1

Table 7-3. Summary of gross findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (not copulation)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	30	150	750
No. of animals necropsied	0	0	1	1
Organ_____ Findings_____				
DIGESTIVE SYSTEM				
liver brown	-	-	0	1

Table 8-1. Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (successful pregnancy)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				30				150				750			
No. of animals sacrificed		12				11				11				11			
No. of animals necropsied		12				11				11				11			
No. of animals examined histologically		12				11				11				11			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																	
heart		(12)				(0)				(0)				(11)			
	granulation	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(12)				(0)				(0)				(11)			
	deposit of pigment	-	12	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	0	0
thymus		(12)				(0)				(0)				(11)			
	hemorrhage	-	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(0)				(0)				(0)				(1)			
	accumulation of foamy cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	infiltration/cellular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(12)				(11)				(11)				(11)			
	infarct	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	deposit of calcium	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	deposit of pigment	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	fatty change	-	11	0	0	-	8	0	0	-	6	0	0	-	3**	0	0
	swelling of liver cells	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	6**	0	0
	granulation	-	3	1	0	-	2	0	0	-	0	0	0	-	2	0	0
	infiltration/cellular	-	1	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	fibrosis	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	foci/hyperplastic	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(12)				(11)				(11)				(11)			
	basophilic change	-	11	0	0	-	9	0	0	-	8	3	0	-	1	9**	1
	cyst	-	1	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	deposit of calcium	-	0	0	0	-	2	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0
	eosinophilic body	-	12	0	0	-	11	0	0	-	10	0	0	-	11	0	0
	hyaline droplet	-	11	1	0	-	9	2	0	-	6	5	0	-	1	10**	0
	necrosis	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	8**	3	0
	protein cast	-	3	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
	tubular dilatation	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	5*	0	0
	fibrosis	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	4*	1	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

Significantly different from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 8-1. -continued Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (successful pregnancy)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0				30				150				750			
No. of animals sacrificed		12				11				11				11			
No. of animals necropsied		12				11				11				11			
No. of animals examined histologically		12				11				11				11			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(12)				(0)				(0)				(11)			
	vacuolic change	-	12	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	0	0
INTEGUMENTARY SYSTEM																	
skin		(0)				(0)				(0)				(1)			
	#fibrosarcoma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
 =: benign #: malignant
 (): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 8-2. Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (day 4 of lactation)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				30				150				750			
No. of animals sacrificed		12				11				11				11			
No. of animals necropsied		12				11				11				11			
No. of animals examined histologically		12				11				11				11			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen		(12)				(0)				(0)				(11)			
	deposit of pigment	-	12	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	0	0
	hematopoiesis, increased	-	11	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	0	0
thymus		(12)				(0)				(0)				(11)			
	hemorrhage	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
	atrophy	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
RESPIRATORY SYSTEM																	
lung		(0)				(0)				(0)				(1)			
	hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver		(12)				(11)				(11)				(11)			
	fatty change	-	4	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	granulation	-	2	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0	-	4	0	0
	infiltration/cellular	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	extramedullary hematopoiesis	-	2	0	0	-	3	0	0	-	2	0	0	-	2	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney		(12)				(11)				(11)				(11)			
	basophilic change	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	cyst	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
	deposit of calcium	-	3	0	0	-	1	0	0	-	3	0	0	-	1	0	0
	protein cast	-	5	0	0	-	4	0	0	-	7	0	0	-	4	0	0
	tubular dilatation	-	12	0	0	-	11	0	0	-	11	0	0	-	11	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																	
adrenal gland		(12)				(0)				(0)				(11)			
	vacuolic change	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
 =: benign #: malignant
 (): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 8-3. Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (not copulation)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0				30				150				750			
No. of animals not copulation	0				0				1				1			
No. of animals necropsied	0				0				1				1			
No. of animals examined histologically	0				0				1				1			
Organ Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																
spleen									(1)				(1)			
deposit of pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																
liver									(1)				(1)			
fatty change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	0	0
swelling of liver cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
granulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
URINARY SYSTEM																
kidney									(1)				(1)			
basophilic change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	1	0
eosinophilic body	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	1	0	0
hyaline droplet	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	1	0
necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
ENDOCRINE SYSTEM																
adrenal gland									(1)				(1)			
vacuolic change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
 =: benign #: malignant
 (): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 8-4. Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (not copulation)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0				30				150				750			
No. of animals not copulation		0				0				1				1			
No. of animals necropsied		0				0				1				1			
No. of animals examined histologically		0				0				1				1			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
HEMATOPOIETIC SYSTEM																	
spleen										(1)				(1)			
	deposit of pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	hematopoiesis, increased	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM																	
liver										(1)				(1)			
	infiltration/cellular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	0	0
URINARY SYSTEM																	
kidney										(1)				(1)			
	deposit of calcium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	-	1	0	0
	tubular dilatation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	1	0	0
	lymphocytic infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 8-5. Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (non-pregnancy)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0				30				150				750			
No. of animals non-pregnancy	0				1				0				0			
No. of animals necropsied	0				1				0				0			
No. of animals examined histologically	0				1				0				0			
Organ Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM																
heart					(1)											
granulation	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
HEMATOPOIETIC SYSTEM																
spleen					(1)											
deposit of pigment	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
URINARY SYSTEM																
kidney					(1)											
basophilic change	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
eosinophilic body	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
hyaline droplet	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
ENDOCRINE SYSTEM																
adrenal gland					(1)											
vacuolic change	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked
 =: benign #: malignant
 (): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 8-6. Summary of histological findings in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (non-pregnancy)

Exp. No. 2076 (115-016)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				30				150				750			
No. of animals non-pregnancy	0				1				0				0			
No. of animals necropsied	0				1				0				0			
No. of animals examined histologically	0				1				0				0			
Organ_____ Findings_____	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
DIGESTIVE SYSTEM																
liver					(1)											
infiltration/cellular	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
URINARY SYSTEM																
kidney					(1)											
tubular dilatation	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 9 Copulation and fertility results in rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Dose level	0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	12	11	11
No. of pregnant females	12	11	11	11
Copulation index (%) a)	100	100	91.7	91.7
Fertility index (%) b)	100	91.7	100	100
Estrus cycle (days) (Mean±S.D.)	4.6±0.5	4.3±0.6	4.3±0.4	4.1±0.3 *

a) : (Number of animals with successful copulation / number of animals mated) x 100

b) : (Number of pregnant animals / number of animals with successful copulation) x 100

Significantly different from control group; *: P<0.05

Table 10 Findings of delivery in dams(F0) treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Dose level	0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of dams observed	12	11	11	11
No. of dams delivered live pups	12	11	11	11
Duration of gestation (Mean±S.D.)	21.8±0.6	21.6±0.5	21.4±0.5	21.6±0.5
No. of total corpora lutea (Mean±S.D.)	177(14.8±1.9)	166(15.1±2.1)	161(14.6±1.7)	154(14.0±1.6)
No. of total implants (Mean±S.D.)	154(12.8±3.3)N	147(13.4±1.3)	150(13.6±1.3)	143(13.0±2.4)
No. of total pups born (Mean±S.D.)	150(12.5±3.5)N	139(12.6±1.7)	145(13.2±1.3)	132(12.0±2.3)
No. of total live pups born (Mean±S.D.)	150(12.5±3.5)N	138(12.5±1.6)	145(13.2±1.3)	132(12.0±2.3)
Male	70(5.8±2.0) f)	66(6.0±1.8)	66(6.0±1.6) f)	53(4.8±1.5)
Female	80(6.7±2.1)	72(6.6±1.8) g)	79(7.2±2.4)	79(7.2±1.5)
Sex ratio (Male/Female)	0.88(70/ 80)N	0.92(66/ 72)	0.84(66/ 79)	0.67(53/ 79)
No. of total live pups on day 4 (Mean±S.D.)				
Male	68(5.7±1.8)	65(5.9±1.7)	65(5.9±1.6)	52(4.7±1.4)
Female	80(6.7±2.1)	71(6.5±1.9)	79(7.2±2.4)	78(7.1±1.6)
No. of total dead pups born (Mean±S.D.)	0	1(0.1±0.3)	0	0
Gestation index (%) a)	100	100	100	100
Implantation index (% ,Mean±S.D.) b)	88.8±23.5N	89.4± 9.7	93.6± 6.8	93.1±14.1
Delivery index (% ,Mean±S.D.) c)	95.6± 9.9N	94.6± 9.1	96.8± 4.9	93.5±14.0
Live birth index (% ,Mean±S.D.) d)	100.0± 0.0N	99.4± 2.0	100.0± 0.0	100.0± 0.0
Viability index on day 4 (% ,Mean±S.D.) e)				
Male	97.7± 5.5	99.0± 3.3	98.5± 5.0	98.7± 4.3
Female	100.0± 0.0N	98.5± 5.0	100.0± 0.0	98.7± 4.3

a) : (Number of females with live pups / number of pregnant females) x 100

b) : (Number of implants / number of corpora lutea) x 100

c) : (Number of pups born / number of implants) x 100

d) : (Number of live pups born / number of pups born) x 100

e) : (Number of live pups on day 4 after birth / number of live pups born) x 100

f) : Includes live pups died before observations

g) : Includes a pup retained on day 1 after birth

N : Non parametric analysis

Table 11 Body weight change of pups(F1) from rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

Exp. No. 2076(115-016)

Unit : g

Dose level		0 mg/kg	30 mg/kg	150 mg/kg	750 mg/kg
No. of litters		12	11	11	11
Male					
Days after birth	0	5.8 ± 0.7	5.6 ± 0.4	5.5 ± 0.4	5.9 ± 0.6
	4	8.2 ± 1.8N	8.6 ± 0.9	8.4 ± 0.7	9.3 ± 1.1
Female					
Days after birth	0	5.5 ± 0.7	5.3 ± 0.5	5.2 ± 0.3	5.6 ± 0.5
	4	7.6 ± 1.2	8.2 ± 1.0	8.0 ± 0.7	8.9 ± 1.2 *

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; *: P<0.05

N : Non parametric analysis

Table 12-1 Summary of gross findings of pups(F1) from rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate (sacrificed) Exp. No. 2076(115-016)

Sex: male

Dose level (mg/kg)	0	30	150	750	
No. of pups necropsied	68	65	65	52	
Organ_____ Findings_____					
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	0	2	1	0

Table 12-2 Summary of gross findings of pups(F1) from rats treated with 2,2,4-trimethyl-1,3- pentanediol diisobutyrate (sacrificed) Exp. No. 2076(115-016)

Sex: female

Dose level (mg/kg)	0	30	150	750
No. of pups necropsied	80	71	79	78
Organ_____ Findings_____				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus thymic remnant in the neck	0	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver malformative nodule	0	0	1	0