

2-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオールの
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：1812（115-004）

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	13
12. 考察および結論	16
13. 参 考 文 献	18

Figures, Tables and References data

Figure 1 Body weight change of male rats treated with Trimethylolpropane

Figure 2 Body weight change of female rats treated with Trimethylolpropane

Figure 3 Food consumption of male rats treated with Trimethylolpropane

Figure 4 Food consumption of female rats treated with Trimethylolpropane

Table 1 Mortality of rats treated with Trimethylolpropane

Table 2-1 Body weight change of male rats treated with Trimethylolpropane

Table 2-2 Body weight change of female rats treated with Trimethylolpropane

Table 3-1 Food consumption of male rats treated with Trimethylolpropane

Table 3-2 Food consumption of female rats treated with Trimethylolpropane

Table 4 Hematology of male rats treated with Trimethylolpropane

Table 5 Blood chemistry of male rats treated with Trimethylolpropane

Table 6-1 Absolute and relative organ weight of male rats treated with Trimethylolpropane

Table 6-2 Absolute and relative organ weight of female rats treated with Trimethylolpropane

Table 7-1 Summary of gross findings (45 days experiment, male)

Table 7-2 Summary of gross findings (sacrificed, female)

Table 8-1 Summary of histological findings (sacrificed, male)

Table 8-2 Summary of histological findings (sacrificed, female)

Table 9 Copulation and fertility results in rats treated with Trimethylolpropane

Table 10 Findings of delivery in dams(F0) and observations on their pups(F1)

Table 11 External observations on live pups(F1)

Table 12 Body weight change of pups(F1) from rats treated with
Trimethylolpropane

1. 要 約：

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、2-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール（トリメチロールプロパン）の 12.5, 50, 200 および 800 mg/kg/day をラットに交配前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、一般毒性学的影响に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

1) 反復投与毒性

死亡例は雌雄ともに投与期間を通じ、いずれの投与群にも観察されず、一般状態にも被験物質投与の影響は認められなかった。

体重では、雌雄の 800 mg/kg 群で交配前期間に低値が認められた。飼料摂取量では、雌雄ともに群間に差は認められず被験物質投与の影響は認められなかった。

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。また、生化学検査でも、特定臓器の障害を示唆する数値の変動は認められなかった。

器官重量では、800 mg/kg 群の雄で肝臓重量の増加が、雌で増加傾向が認められた。

雄の剖検所見では、800 mg/kg 群で12例中3例に肝臓の肥大が観察された。

病理組織学検査では、肝臓の肥大を裏付ける明確な形態学的変化は認められなかった。

腎臓の所見として、尿細管上皮の軽度の好塩基性化が雌の 800 mg/kg 群で10例中5例に観察されたが、分布および程度の上で軽度なこと、ならびに雄の全例に観察されていることから、被験物質投与の影響によるか否かは明確でなかった。

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、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。死産児または哺育4日目までの死亡児ならびに哺育4日目の剖検では、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-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオールの明らかな反復投与毒性は、800 mg/kg/day 投与の雌雄で認められた体重の増加抑制、肝臓重量の増加または増加傾向および肝臓の肥大と考えられ、最大無影響量は 200 mg/kg/day と推定される。また、生殖・発生に及ぼす影響は、800 mg/kg/day 投与によっても認められなかった。

2. 試 験 題 目 : 2-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール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」（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。
4. 試 験 番 号 : 1 8 1 2 (115-004)

9. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 2-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール
- 2) CAS No. 77-99-6
- 3) ロット番号
- 4) 純 度 99.9 %
- 5) 製造場所
- 6) 製造年月日 平成 3 年 6 月
- 7) 保管条件 密閉
- 8) 一 般 名 Trimethylolpropane (TMP)
- 9) 化 学 名 2-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール
- 10) 化学構造
- $$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{C}-\text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$$
- 11) 分 子 式 $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_3$
- 12) 分 子 量 134.18
- 13) 物質の状態 結晶状フレーク
- 14) 色 白色
- 15) 臭 無臭
- 16) 融 点 $59\sim 61\text{ }^\circ\text{C}$

17) 沸 点	292 °C
18) 溶 解 性	水によく溶ける。
19) 安 定 性	常温・常圧の保管条件下で安定であり、重合および分解しない。
20) 分配係数 (Octanol/Water)	$\log P_{ow} = -0.47$ at 26 °C
21) 比 重	1.176 (20°C / 4 °C)
22) 蒸 気 圧	6.7kpa at 210 °C
23) pH	5.2 (250g/l (water))
24) 取り扱い上の注意	取り扱い中は、保護メガネ，保護手袋および防塵マスクを着用し、 取り扱い後は手洗いおよびうがいを充分行う。
25) 被験物質の保管	投与終了後、約 2.5g を安評センターに保管し、残りは焼却処分 した。なお、被験物質の特性に関する情報は『Reference data 2』 に示した。

1 0. 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9週齢の雌雄各125匹を平成3年9月30日に購入した。

動物は8日間検疫・馴化飼育した後、全例を10週齢で群分けに用いた。

群分け時の体重は、雄で304~343 g, 雌で196~226 gであった。

2) 種属選択理由

供試したラットの系統は、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22~24℃, 湿度50~60%, 換気回数20回/時間, 照明度150~300lux, 照明時間12時間 (午前7時点灯、午後7時消灯) に設定された飼育室 (8×8×2.5 m、160 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 (D 79×W 486 × H 160 cm) を使用し、金属製前面・床網目飼育ケージ (D 23.8×W 15.8×H 16.0 cm, 株式会社 東京技研サービス) に動物を1匹ずつ収容し飼育した。但し、自然分娩母体は、妊娠18日以降哺育4日まで金属製前面・床網目飼育ケージ (D 25.0×W 36.8×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、安評センター標準操作手順書に従い交換した。飼育室の衛生管理は、標準操作手順書に従い行った。

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。

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3年10月8日に群分けした。

動物の識別は個体別に耳に入れ墨をするとともにケージごとに安評センター動物標識番号 (Animal ID-No.) をつけた。

5) 試験群の構成

試験群の構成は1対照群および4被験物質投与群の計5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	12.5	12	1101 ~ 1112
	3	50	12	1201 ~ 1212
	4	200	12	1301 ~ 1312
	5	800	12	1401 ~ 1412
雌	1	0 (対照群)*	12	2001 ~ 2012
	2	12.5	12	2101 ~ 2112
	3	50	12	2201 ~ 2212
	4	200	12	2301 ~ 2312
	5	800	12	2401 ~ 2412

* 局方注射用蒸留水のみを投与した。

6) 用量設定理由

本試験の用量は先に実施したラットを用いた反復投与毒性／生殖発生毒性併合予備試験（試験番号 1795）の結果を参考にして決定した。

すなわち、0, 10, 100および 1,000 mg/kgを雄および雌に2週間連続経口投与した結果、100 mg/kg 以上の投与群の雄ならびに 1,000 mg/kg 群の雌で体重増加抑制が認められ、摂餌量でも 1,000 mg/kg群の雄で低値が認められた。また、1,000 mg/kg 群の雄では肝臓の実重量および相対重量がともに増加した。

以上の結果から、本試験の投薬期間が長期間になることを考慮し、最高用量として 800 mg/kg を設定し、以下公比4にて除し、200, 50 および 12.5 mg/kg を設定した。

7) 被験物質の調製、濃度分析

被験物質の必要量を注射用蒸留水に溶解し、16 (w/v) %溶液を調製した。

これを原液とし、注射用蒸留水で順次希釈し、各群の投与溶液を調製した。調製後は、使用時まで冷蔵庫に保存した。

被験物質調製液の安定性は 0.2, 20 (w/v) %溶液の場合、冷蔵保存で1週間以上安定であることが確認されている『Reference data 5』ため、調製は1週間に1回実施した。

被験物質調製液の濃度分析は、各群の調製液について、調製開始時に調製した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、99.6～104 %の範囲で適切に調製されており問題はなかった『Reference data 6』。

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。

雄の投与期間は、交配前14日から交配期間を通じて交配期間終了後の解剖前日までの45日間とした。雌の投与期間は、交配前14日間、交配期間および妊娠期間を通じて哺育3日まで（40～52日間）とした。なお、交尾不成立の雌は交配期間終了後の解剖前日まで45日間投与した。

9) 観察および検査項目

a. 一般状態の観察

毎日行い、異常の有無を記録した。

b. 体重測定

雄では、投与開始日と投与 7, 14, 21, 28, 35, 42および46日（剖検日）に測定した。雌では、交配前および交配期間中は、投与開始日と投与 7 および14日に、それ以後は7日毎に測定した。交尾成立後の雌は、妊娠 0, 7, 14, 21 日および哺育 1, 4 日に測定した。

c. 飼料摂取量の測定

雄では、交配前期間中の投与 7 および14日に測定した。雌では、交配前期間中の投与 7 および14日、妊娠期間中は妊娠 7, 14 および21日に、また哺育期間中は哺育 4 日に摂取量を測定し、それぞれの測定期間の1日平均摂取量を算出した。

d. 交 配

交配前14日間の性周期観察を行った雌と同群内の雄を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。

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、妊娠期間、妊娠率、出産率、分娩率、出生率を算出した。

朝の観察で分娩が完了している場合は、その日を哺育1日として哺育日を起算した。従って、妊娠期間は前日を分娩日（哺育0日）として計算した。

新生児は出産後、出産児数および死産児数を調べ、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1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。死産児および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。

・血液学検査：

血液学検査には初血を用いた。THMS H6000（米国テクニコン社）を用いて下記の項目を測定した（EDTA-3K添加血液）。

白血球数	(WBC)	暗視野板法
赤血球数	(RBC)	暗視野板法
ヘモグロビン量	(HGB)	シアンメトヘモグロビン法
ヘマトクリット値	(HCT)	全赤血球の容積より補正
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
白血球百分率		フローサイトケミストリー法

網状赤血球数（RC）についてはキャピロット（テルモ株式会社、東京都渋谷区）で染色後、血液塗抹標本作製し鏡検した。

・生化学検査：

生化学検査には血清を用いた。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	(TP)	ビュレット法
ア ル ブ ミ ン	(Alb)	B. C. G. 法
A/G比	(A/G)	計算値
血 糖	(Glu)	ヘキシキナーゼ法
尿 素 窒 素	(BUN)	ウレアーゼ改良法
ク レ ア チ ニ ン	(Crea)	Jaffe' 法
総 ビ リ ル ビ ン	(T-Bili)	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)	Wroblewski and LaDue改良法
γ-グルタミルトランス ペプチダーゼ	(γ-GTP)	酵素法
カ ル シ ウ ム	(Ca)	アリザリン法
無 機 リ ン	(IP)	モリブデンブルー法
カ リ ウ ム	(K)	電極法
塩 素	(Cl)	電極法

g. 病理学検査

・病理解剖および器官重量：

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。

①交尾不成立の雌、自然分娩の認められない雌および全児死亡の母動物：

交尾不成立の雌は交配終了後の雄の剖検時に、自然分娩の認められない雌は妊娠25日に、また、全児死亡の母動物は全児死亡の認められた日にそれぞれエーテル麻酔下で放血屠殺後剖検した。

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、胃および十二指腸、小腸、大腸、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、陰、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に固定した。

着床痕が認められない動物は不妊と判定した。

②雄および自然分娩した雌：

雄については交配終了後、雌は哺育4日にエーテル麻酔後放血屠殺し、主要器官の肉眼的観察を行った後、肝臓、腎臓、胸腺、精巣上体、卵巣および精巣重量を測定し、器官重量・体重比を算出した。また、全動物の重量測定器官、脳、心臓、脾臓、副腎、精嚢、前立腺、下垂体および肉眼所見で変化が認められた器官・組織（肺）を10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。なお、精巣および精巣上体はブアン氏液に固定した。

雌については、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

・病理組織学検査：

下記の①～③に該当する動物について組織学検査を実施した。

常法に従って株式会社 関東組織形態研究所（埼玉県与野市）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。

①全児死亡の認められた雌のすべての固定器官。

②交尾成立した雄および自然分娩した雌の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、精巣および異常病変部組織（肺）。

なお、雌の 800 mg/kg群で腎臓の尿細管上皮の好塩基性化の発生数の増加が認められたため、12.5, 50および 200 mg/kg群の雌の腎臓についても行った。

③交尾不成立および妊娠不成立の雌雄全例の脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膈、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、下垂体および異常病変部組織（腹腔内の塊）。

10) データの記録および統計分析

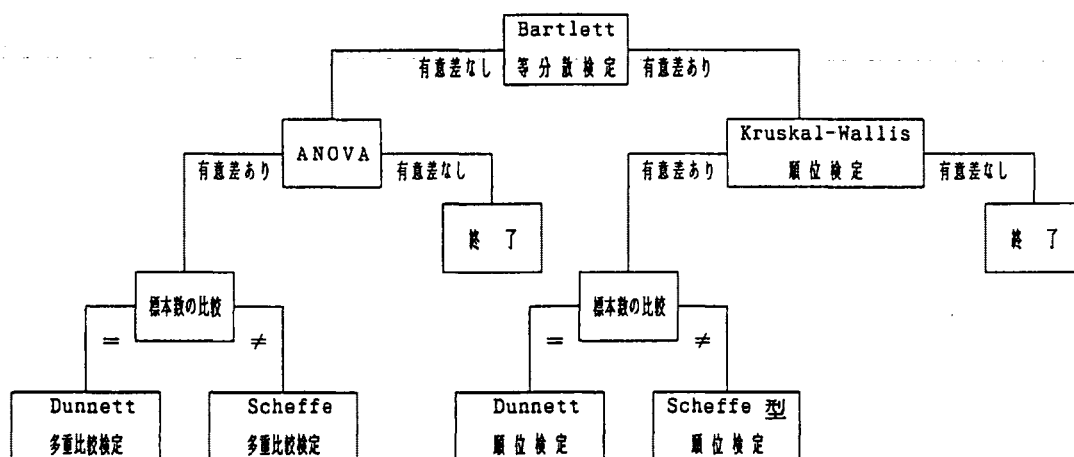
本試験の諸データは、安評センターのコンピュータ・システムを用いて記録し、試験成績については下記の方法により統計分析を行った。

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。

・多重比較検定⁵⁾ :

体重、飼料摂取量、黄体数、着床痕数、出産児数、死産児数、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、血液および生化学検査値

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 Scheffe の多重比較検定で対照群と各投薬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 Scheffe の順位検定で対照群と各投薬群間の有意差を検定した。



・ χ^2 検定^{6, 7)} :

出産率、交尾率、妊娠率

・Fisherの直接確率検定法⁷⁾

病理組織学検査

1 1. 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 ~ 1-2-15)

死亡例は、雌雄ともに投与期間を通じ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、雌雄とも被験物質投与による変化は認められなかった。自然発生性の所見として切歯異常（上顎切歯折れ）が雄の 50 mg/kg 群で投与6および7週目に、雌の 200 mg/kg群で投与2および7週目にそれぞれ1例観察された。

b. 体重 (Figure 1 ~ 2, Table 2-1 ~ 2-2, Appendix 2-1-1 ~ 2-2-15)

雄では 800 mg/kg群で投与14日目に低値が認められた。雌では 800 mg/kg群で投与14日目までの体重増加量に低値が認められた。雌の妊娠期間および哺育期間では対照群と被験物質投与群との間に統計学的有意差は認められなかった。

c. 飼料摂取量 (Figure 3 ~ 4, Table 3-1 ~ 3-2, Appendix 3-1-1 ~ 3-2-15)

雌雄ともに各群の摂餌量はほぼ同様に推移し、対照群と被験物質投与群との間に統計学的有意差は認められなかった。

d. 雄の血液学的検査 (Table 4, Appendix 4)

すべての被験物質投与群で対照群に比べ MCHおよび MCHC が減少した。また、800 mg/kg 群では HGBの減少が認められた。しかし、いずれも生理的変動の範囲内の値で用量相関性のない変化であった。

e. 雄の生化学検査 (Table 5, Appendix 5)

50 mg/kg以上の投与群で対照群に比べ尿素窒素が増加し、200 および 800 mg/kg群で総蛋白、アルブミンおよび A/Gの増加が認められた。さらに 800 mg/kg群では血糖およびカルシウムが増加した。その他、800 mg/kg 群で総ビリルビンの増加、12.5および 200 mg/kg 群でγ-GTPの増加、12.5, 50および 200 mg/kg群で無機リンの減少および塩素の増加が認められたが、いずれも軽微な変化か、用量相関性のない変化であった。

f. 器官重量 (Table 6-1 ~ 6-2, Appendix 6-1-1 ~ 6-4-5)

雄では、800 mg/kg 群で対照群に比べ肝臓の実重量および相対重量がともに増加した。雌では、統計学的有意差は認められないものの、800 mg/kg 群で肝臓の実重量および相対重量がともに増加傾向を示した。

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

雄では、肝臓の肥大が 800 mg/kg群で12例中3例に観察された。その他、自然発生性の病変と考えられる所見として、肺の赤色斑／区域が対照群, 50, 200 および 800 mg/kg群にそれぞれ1例、腹腔内の塊（脂肪壊死）が 50 mg/kg 群に1例観察された。

なお、これらの動物のうち、交尾不成立は 200 mg/kg群に2例、妊娠不成立は 12.5 および 50 mg/kg 群に各1例、800 mg/kg 群に2例認められたが、生殖器系器官に異常は認められなかった。また、交尾不成立の雌は 200 mg/kg群に2例認められたが、異常所見は観察されなかった。妊娠不成立の雌は 12.5 および 50 mg/kg 群に各1例、800 mg/kg 群に2例認められたが、被験物質投与の影響と考えられる異常所見は観察されなかった。哺育4日の母動物の剖検では、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。

自然発生性の病変と考えられる所見として、脾臓の癒着およびリンパ節の肥大が 200 mg/kg群にそれぞれ1例、肺の有色斑／区域が 12.5 mg/kg 群に4例、50 mg/kg群に2例、200 mg/kg 群に1例および 800 mg/kg群に3例観察され、また、肝臓の奇形結節が対照群に2例、50および 200 mg/kg群にそれぞれ1例に観察された。

h. 病理組織学検査 (Table 8-1 ~ 8-2, Appendix 8-1 ~ 8-7)

交尾成立した雄および自然分娩した雌は、対照群, 12.5, 50, 200 および 800 mg/kg群でそれぞれ 12, 11, 11, 10, 10 例および 12, 10, 11, 10, 10 例であった。

被験物質投与の影響が示唆される所見として、雌の腎臓で軽度の尿細管上皮の好塩基性化が 50 mg/kg 群に1例、200 mg/kg 群に2例および 800 mg/kg群に5例観察され、そのうち 800 mg/kg群で統計学的有意差が認められた。その他の所見は、対照群との間に差異はなかった。すなわち、脾臓の色素沈着が雌雄の全例に、造血亢進が雌の多数例に観察された。副腎の空胞化は雄の全例に、雌では少数例に観察された。胸腺の萎縮および扁平上皮化生、肺の泡沫細胞出現は雌の少数例に観察された。肝臓の脂肪化が雌雄の一部の例に、細胞浸潤が雄の多数例に観察された。また、腎臓では尿細管上皮の好塩基性化および好酸性小体が雄の全例に、石灰沈着が雌雄の多数例に、リンパ球浸潤が雄の一部の例に、硝子滴変性が雄の少数例に、蛋白円柱が雄の多数例に観察され、雌では単発性に観察された。心臓の細胞浸潤および心筋変性が雄で少数例に観察された。その他の所見は、単発性の発生であった。

交尾不成立動物は、200 mg/kg 群の雌雄各2例に認められた。脾臓の色素沈着、肝臓の脂肪化および細胞浸潤、腎臓の尿細管上皮好塩基性化が雌雄に、心臓の細胞浸潤および心筋変性、腎臓の好酸性小体、前立腺の分泌亢進および副腎の空胞化が雄に、また、腎臓の石灰沈着が雌に観察された。

妊娠不成立の動物は、12.5および 50 mg/kg 群で雌雄各1例、800 mg/kg 群で雌雄各2例に認められた。これらの動物では、心臓の細胞浸潤、脾臓の色素沈着、肝臓の脂肪化および細胞浸潤、腹腔内の脂肪壊死、腎臓の尿細管上皮の好塩基性化および石灰沈着が雌雄に、腎臓の好酸性小体、蛋白円柱および線維化、前立腺の前立腺炎などが雄に、胸腺の出血、脾臓の赤血球造血低下、腎臓のリンパ球浸潤および心臓の心筋変性が雌に観察された。

12.5 mg/kg群に認められた全児死亡の母動物では、脾臓の色素沈着、リンパ節の形質細胞増生、胸腺の萎縮、小腸（パイエル板）の石灰沈着、腎臓の尿細管上皮の好塩基性化および石灰沈着、乳腺の増生などが観察された。

2) 生殖発生毒性

a. 交尾および受胎能 (Table 9, Appendix 9-1-1 ~ 9-2-5)

交尾は、200 mg/kg群を除き対照群を含むすべての群で全例成立した。200 mg/kg 群では2組が交尾不成立で、交尾率は83.3%であった。この雌2例は交配期間を通じて発情休止期像が認められ偽妊娠と考えられた。受胎は、対照群および200 mg/kg群の交尾成立の雌全例で成立し、12.5および50 mg/kg 群ではそれぞれ12例中11例、800 mg/kg 群では12例中10例で成立した。

性周期観察では、200 mg/kg 群の3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）が認められたが、その他の動物は規則的な周期を示した。

b. 分娩および哺育 (Table 10, Appendix 10-1 ~ 11-5)

分娩時観察では、いずれの指標においても対照群と被験物質投与群との間に統計学的有意差は認められなかった。すなわち、各群の妊娠期間、黄体数、着床痕数、出産児数、出産生児数、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。

その他、12.5 mg/kg群の1腹で全児死亡が認められ、哺育3日目に剖検したが、異常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 ~ 12-2-5)

新生児の外表検査では、頭部の皮下出血が800 mg/kg群の1例に観察されたのみで、その他異常は観察されなかった。

哺育1日および4日目の体重には雌雄ともに群間に差はなく統計学的有意差は認められなかった。

死産児および哺育4日までの死亡児の剖検では、主要器官に異常は認められなかった。哺育4日目の剖検では、肝臓の奇形結節が用量に関係なく散見されたほか、800 mg/kg 群の1例に肝臓の有色斑／区域が認められた。

1 2. 考察および結論：

1) 反復投与毒性

死亡例は雌雄ともに投与期間を通じ、いずれの投与群にも観察されず、一般状態にも被験物質投与の影響は認められなかった。

体重では、雌雄の 800 mg/kg 群で交配前期間に低値が認められ、被験物質投与の影響と考えられたが、雌の妊娠および哺育期間では被験物質投与の影響は認められなかった。飼料摂取量では、雌雄ともに群間に差はみられず被験物質投与の影響は認められなかった。

雄の血液学的検査では、いずれの検査項目においても被験物質投与の影響と考えられる変化はなかった。生化学検査では、50 mg/kg 以上の投与群で尿素窒素の増加が認められたが、数値的には軽度な変化で腎臓の機能的・器質的障害を示唆するものではなかった。また、200 および 800 mg/kg 群でアルブミンが増加し、それに伴い総蛋白および A/G が増加したが、数値的には軽度の変化で、GOT、GPT および γ -GTP など肝障害により高値を示す項目に変化もなく、特定臓器の障害は示唆されなかった。その他、800 mg/kg 群で血糖およびカルシウムに増加が認められたが、起因は明らかでなかった。

器官重量では、800 mg/kg 群の雄で肝臓の実重量および相対重量の増加が、また、雌では増加傾向が認められた。この変化は、雄の剖検時に僅かな発生数ではあるが肝臓の肥大が 12 例中 3 例に認められており、被験物質投与の影響と考えられた。

病理組織学検査では、肝臓の肥大を裏付ける明確な形態学的変化は認められず、光顕所見には現われない程度の機能的増大によるものと考えられた。その他、雌の腎臓で尿細管上皮の軽度の好塩基性化が 800 mg/kg 群で 10 例中 5 例に観察され、発生数の増加が認められた。しかし、この腎臓の変化は分布および程度の上で軽度なことから、ならびに雄の全例に観察されていることから、被験物質投与の影響によるか否かは明確でなかった。その他観察された所見は、いずれも自然発生的病変と考えられた。交尾不成立、妊娠不成立および全児死亡の親動物では、それぞれの原因に関連すると考えられる異常所見は認められなかった。

以上のことから、2-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオールの明らかな反復投与毒性は、800 mg/kg/day 投与の雌雄で認められた体重の増加抑制、肝臓重量の増加または増加傾向および肝臓の肥大と考えられ、最大無影響量は 200 mg/kg/day と推定する。

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ず、性周期観察でも偽妊娠動物を除き規則的な周期が認められた。

分娩時観察では、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。死産児または哺育4日目までの死亡児および新生児の哺育4日目の剖検では、被験物質投与によると考えられる異常所見は認められなかった。

以上のことから、2-エチル-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオールの生殖・発生に及ぼす影響は、800 mg/kg/day 投与によっても認められなかった。

13. 参 考 文 献 :

- 1) OECD guideline for testing of chemicals: Extended Steering Group Document, No. 3 (1990).
- 2) Giuseppe, F. and Franco, S.: Gas chromatographic analysis of adipic acid-diol and triol-based polyesters. J. Chromatogr., 287, 323~328 (1984).
- 3) Jphn, F. W., Martin, P., Paul, S., David, H. and David, E. U.: High temperature decomposition of military specification L-23699 synthetic aircraft lubricants. J. Fir. Sci. 5, 162-177 (1987).
- 4) Govt. Reports Announcements & Index: Thermal degradation of model urethane form-
An analytical study. NTIS/PB83-248666 (1983).
- 5) Shayne, C. G. and Carrol, S.W.: Statics and Experimental Design For
Toxicologists. Telford Press (1986).
- 6) 佐久間昭 : 薬効評価 I - 計画と解析 -, 東京大学出版会 (1977) 。
- 7) 石居 進 : 生物統計学入門、培風館 (1975) 。

Figures, Tables

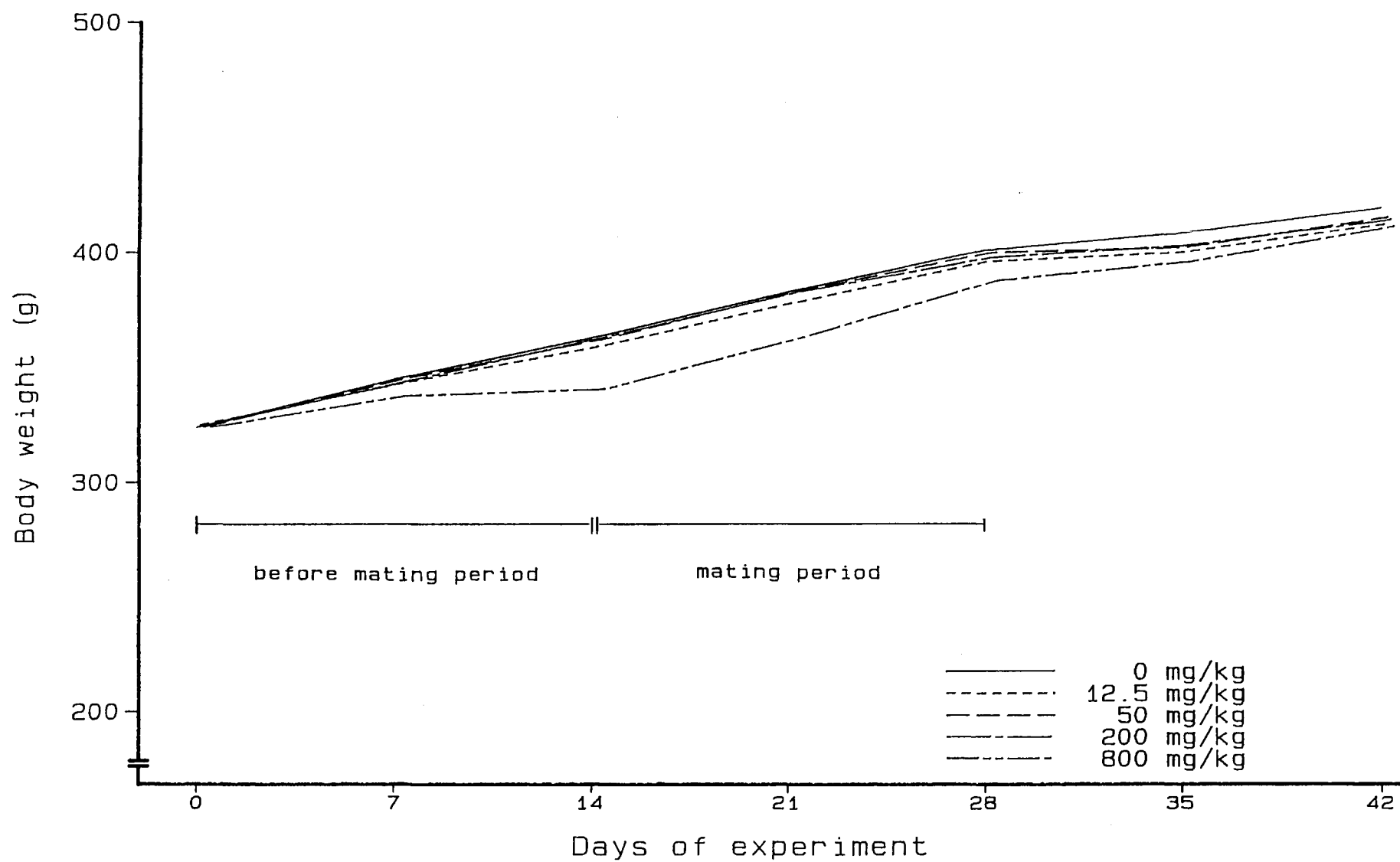


Figure 1

Body weight change of male rats treated with Trimethylolpropane

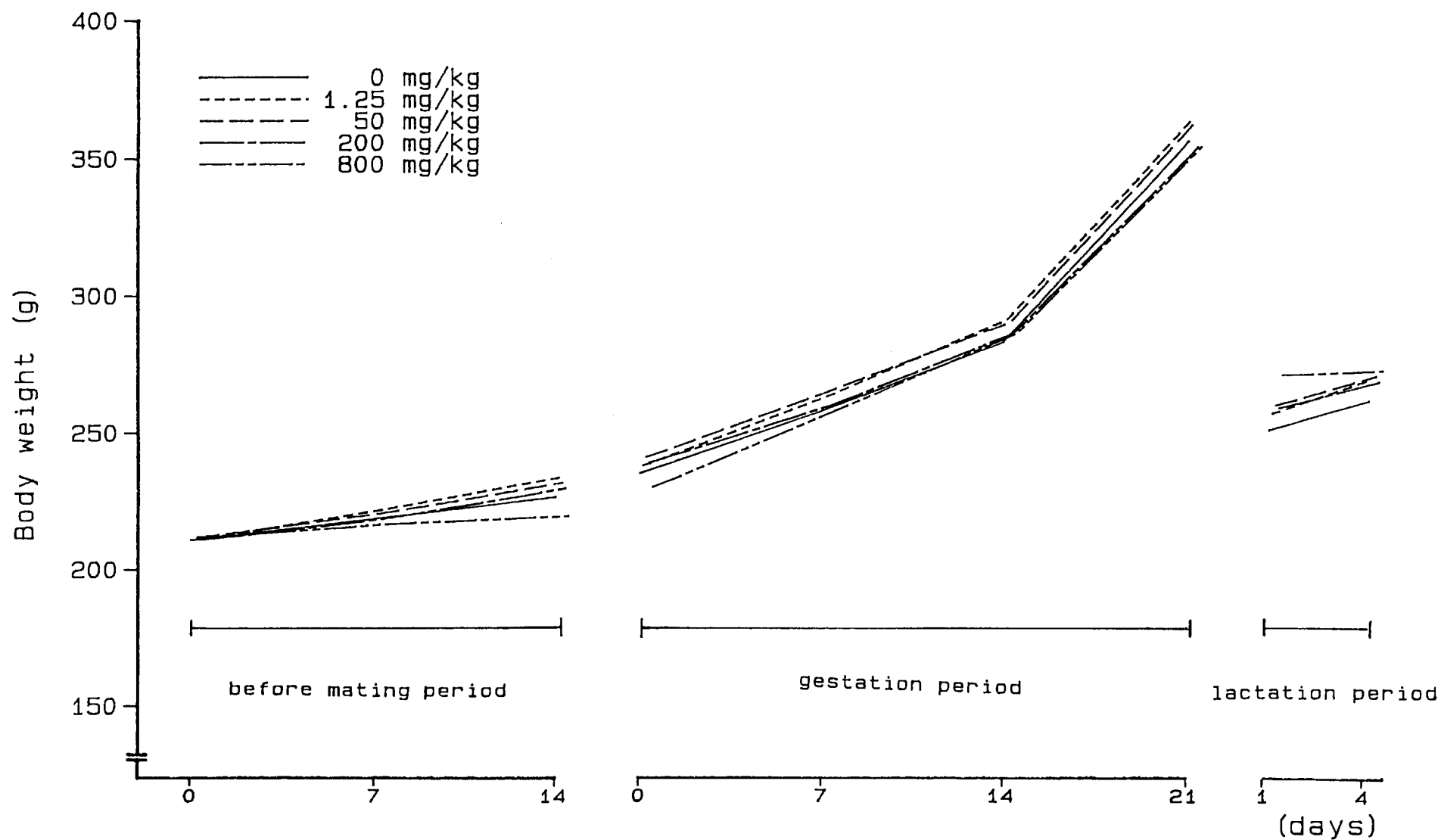


Figure 2
Body weight change of female rats treated with Trimethylolpropane

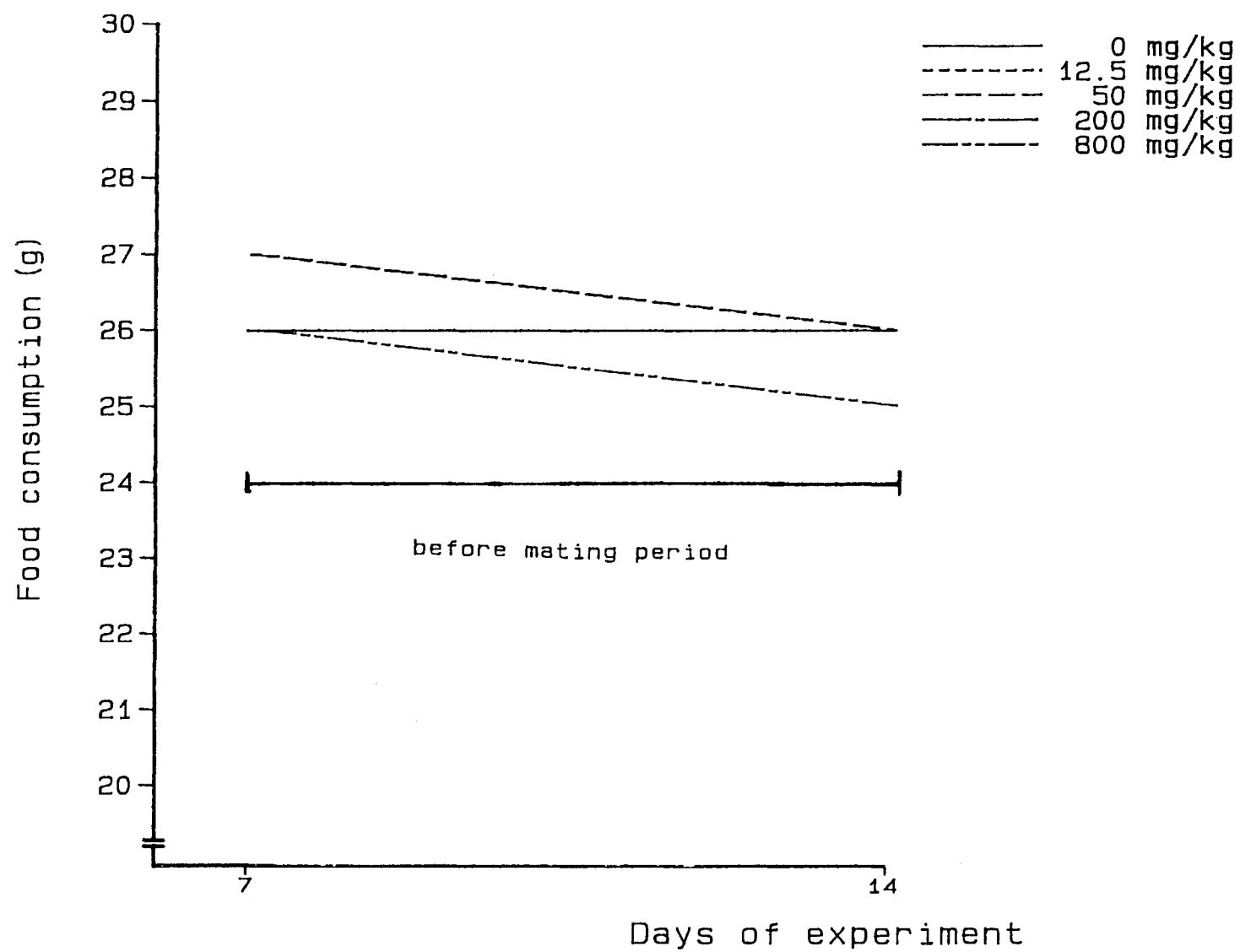


Figure 3

Food consumption of male rats treated with Trimethylolpropane

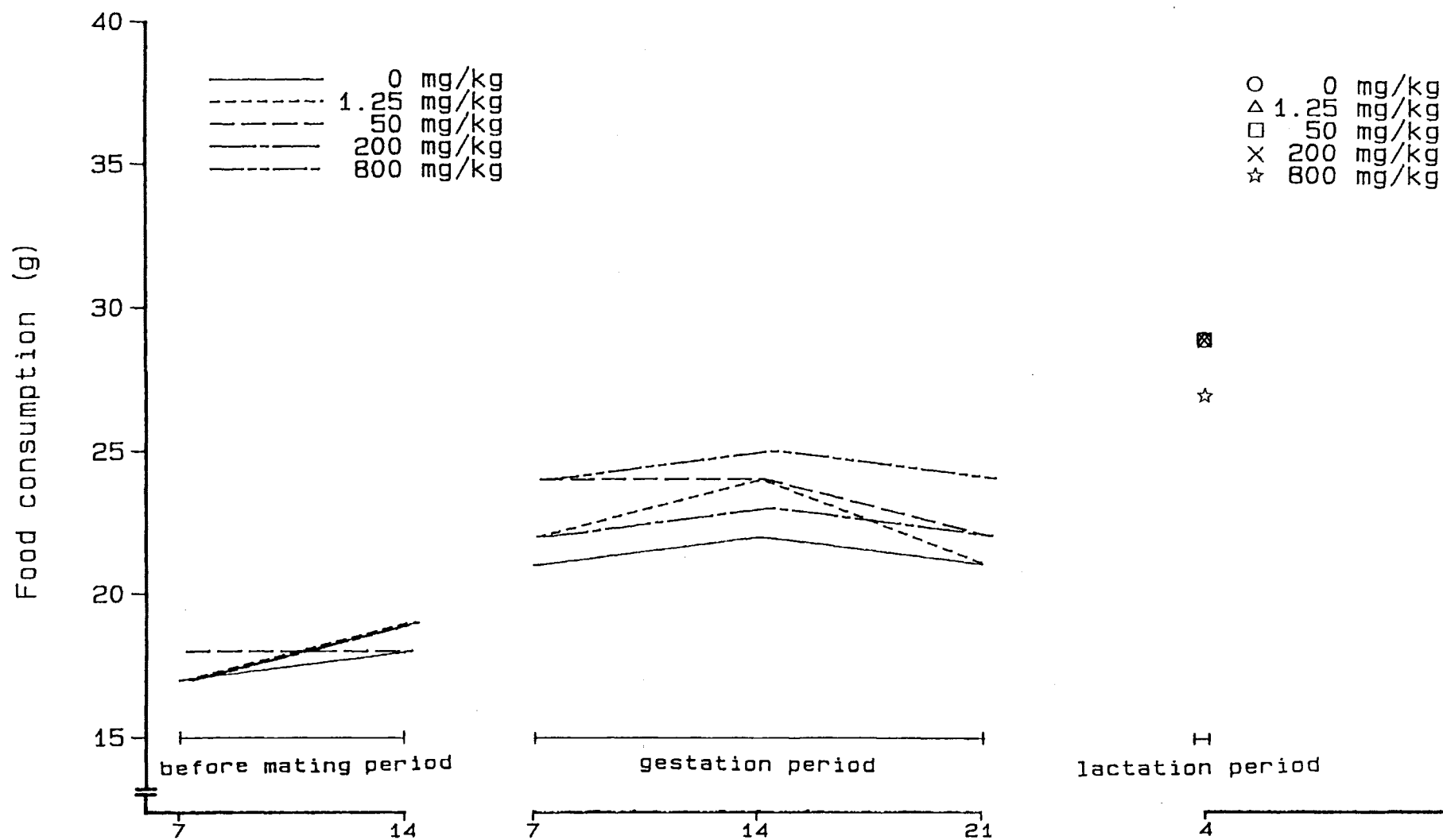


Figure 4

Food consumption of female rats treated with Trimethylolpropane

Mortality of rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

[illegible]

Table 2-1 Body weight change of male rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

Unit : g					
Dose level	0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12	12
Days of experiment	0				
	324 ± 9.7	325 ± 9.7	324 ± 10.4	325 ± 8.1	324 ± 9.5
	7				
	345 ± 18.4	343 ± 11.7	345 ± 13.1	344 ± 13.3	338 ± 11.8
	14				
	363 ± 25.4	359 ± 15.5	362 ± 18.5	363 ± 18.2	341 ± 14.8 *
	21				
	383 ± 22.9	378 ± 18.0	383 ± 21.2	383 ± 21.8	363 ± 15.3
	28				
	401 ± 24.2	396 ± 20.0	400 ± 22.5	398 ± 23.5	388 ± 13.9
	35				
	408 ± 28.4	400 ± 22.4	402 ± 25.9	403 ± 27.7	396 ± 16.4
	42				
	419 ± 29.8	412 ± 20.9	415 ± 27.9	414 ± 28.7	411 ± 18.5
Gain 0-42	95 ± 25.2	87 ± 17.9	91 ± 21.9	89 ± 23.7	86 ± 16.6

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; *: P<0.05

Table 2-2

Body weight change of female rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

		Unit : g				
Dose level		0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
Before mating period						
No. of animals		12	12	12	12	12
Days of experiment	0	211 ± 7.7	211 ± 7.0	212 ± 6.8	211 ± 8.0	212 ± 6.6
	7	219 ± 9.0	222 ± 10.2	221 ± 5.7	219 ± 9.5	217 ± 4.9
	14	227 ± 13.8	234 ± 11.7	232 ± 10.0	230 ± 11.5	220 ± 7.3
	Gain 0-14	16 ± 9.0	23 ± 6.8	20 ± 7.4	19 ± 7.2	8 ± 6.7 *
Gestation period						
No. of dams		12	11	11	10	10
Days of gestation	0	235 ± 14.3N	238 ± 11.3	241 ± 9.2	239 ± 21.8	230 ± 8.7
	7	258 ± 17.7	263 ± 12.0	265 ± 14.0	260 ± 17.2	258 ± 10.5
	14	283 ± 18.8	291 ± 15.3	290 ± 13.8	286 ± 18.2	286 ± 11.6
	21	356 ± 23.9	364 ± 19.7	363 ± 17.5	354 ± 22.3	354 ± 16.5
	Gain 0-21	121 ± 12.7	126 ± 11.8	121 ± 14.7	114 ± 11.3	124 ± 16.8
Lactation period						
No. of dams		12	11	11	10	10
Days of lactation	1	251 ± 20.2	257 ± 19.6	260 ± 18.2	259 ± 16.1	271 ± 16.1
	4	262 ± 17.8	270 ± 15.4 (10)	271 ± 14.6	269 ± 15.0	273 ± 12.3
	Gain 1-4	12 ± 8.5	11 ± 10.1 (10)	10 ± 7.5	10 ± 5.8	2 ± 7.4

Values are expressed as Mean±S.D.

Values in parentheses are expressed number of dams measured

Significantly different from control group; *: P<0.05

N : Non parametric analysis

Table 3-1

Food consumption of male rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

Unit : g/day						
Dose level		0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of animals		12	12	12	12	12
Days of experiment	1-7	26 ± 3.0	27 ± 1.5	27 ± 1.4	26 ± 2.1	26 ± 2.3
	8-14	26 ± 3.3	26 ± 2.4	26 ± 2.4	26 ± 2.1	25 ± 1.9
Cumulative consumption	1-14	364 ± 42.6	368 ± 26.4	366 ± 22.8	362 ± 28.2	360 ± 28.7

Values are expressed as Mean±S.D.

Table 3-2

Food consumption of female rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

		Unit : g/day				
Dose level		0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
Before mating period						
No. of animals		12	12	12	12	12
Days of experiment	1-7	17 $\pm$ 1.5	17 $\pm$ 1.5	18 $\pm$ 1.3	17 $\pm$ 1.3	17 $\pm$ 1.2
	8-14	18 $\pm$ 2.3	19 $\pm$ 1.7	18 $\pm$ 1.8	19 $\pm$ 1.3	19 $\pm$ 1.4
Cumulative consumption		1-14 240 $\pm$ 25.6	250 $\pm$ 20.7	252 $\pm$ 19.2	250 $\pm$ 16.4	253 $\pm$ 15.7

Gestation period						
No. of dams		12	11	11	10	10
Days of gestation	7	21 $\pm$ 4.0N	22 $\pm$ 2.5	24 $\pm$ 3.5	22 $\pm$ 2.4	24 $\pm$ 1.1
	14	22 $\pm$ 2.3	24 $\pm$ 2.5	24 $\pm$ 3.8	23 $\pm$ 2.6	25 $\pm$ 2.3
	21	21 $\pm$ 2.8	21 $\pm$ 5.1	22 $\pm$ 4.4	22 $\pm$ 3.7	24 $\pm$ 3.2
Cumulative consumption		7-21 64 $\pm$ 5.4	68 $\pm$ 7.3	70 $\pm$ 9.0	67 $\pm$ 5.5	73 $\pm$ 4.9

Lactation period						
No. of dams		12	10	11	10	10
Days of lactation		4 29 $\pm$ 4.2	29 $\pm$ 5.0	29 $\pm$ 3.1	29 $\pm$ 4.9	27 $\pm$ 2.6

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

N : Non parametric analysis

Table 4

Hematology of male rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

Day: 45

Dose level	0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12	12
HCT(%)	44.3 $\pm$ 1.5	45.6 $\pm$ 1.3	45.0 $\pm$ 2.0	45.5 $\pm$ 1.6	44.4 $\pm$ 1.8
HGB(g/dl)	14.7 $\pm$ 0.4	14.8 $\pm$ 0.3	14.4 $\pm$ 0.4	14.5 $\pm$ 0.5	14.2 $\pm$ 0.5 **
RBC($\times 10^6/\text{mm}^3$)	9.14 $\pm$ 0.38	9.48 $\pm$ 0.31	9.24 $\pm$ 0.57	9.27 $\pm$ 0.25	9.13 $\pm$ 0.31
MCV(μm^3)	48.5 $\pm$ 1.4	48.1 $\pm$ 1.0	48.8 $\pm$ 1.4	49.1 $\pm$ 1.6	48.6 $\pm$ 1.5
MCH(pg)	16.1 $\pm$ 0.6	15.6 $\pm$ 0.4 *	15.7 $\pm$ 0.6 *	15.6 $\pm$ 0.4 *	15.6 $\pm$ 0.5 *
MCHC(%)	33.2 $\pm$ 0.6	32.4 $\pm$ 0.4 **	32.1 $\pm$ 0.6 **	31.8 $\pm$ 0.6 **	32.0 $\pm$ 0.4 **
PLT($\times 10^3/\text{mm}^3$)	1133 $\pm$ 159	1101 $\pm$ 80	1170 $\pm$ 90	1150 $\pm$ 109	1137 $\pm$ 96
WBC($\times 10^3/\text{mm}^3$)	7.9 $\pm$ 2.3N	7.8 $\pm$ 0.9	6.2 $\pm$ 1.5	7.3 $\pm$ 1.2	8.7 $\pm$ 1.8
Differential leukocyte counts(%)					
NEUT	23 $\pm$ 8	23 $\pm$ 5	25 $\pm$ 5	23 $\pm$ 5	22 $\pm$ 6
LYMPH	73 $\pm$ 8	73 $\pm$ 6	71 $\pm$ 6	73 $\pm$ 5	74 $\pm$ 6
MONO	2 $\pm$ 0	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1
EOSN	1 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 0
BASO	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
LUC	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Reticulocyte(‰)	19 $\pm$ 8	15 $\pm$ 5	12 $\pm$ 4	15 $\pm$ 7	15 $\pm$ 6

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

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

LUC : Large unstained cells

N : Non parametric analysis

Table 5

Blood chemistry of male rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

Day: 45

Dose level	0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of animals	12	12	12	12	12
Glucose(mg/dl)	157 $\pm$ 8N	159 $\pm$ 10	165 $\pm$ 20	148 $\pm$ 12	170 $\pm$ 12 *
T.bilirubin(mg/dl)	0.27 $\pm$ 0.01	0.26 $\pm$ 0.01	0.26 $\pm$ 0.02	0.28 $\pm$ 0.01	0.28 $\pm$ 0.02 *
BUN(mg/dl)	14.0 $\pm$ 1.6	15.4 $\pm$ 2.6	16.7 $\pm$ 2.9 *	16.3 $\pm$ 2.7 *	17.8 $\pm$ 1.8 **
Creatinine(mg/dl)	0.58 $\pm$ 0.06	0.61 $\pm$ 0.08	0.65 $\pm$ 0.06	0.65 $\pm$ 0.06	0.60 $\pm$ 0.08
T.protein(g/dl)	6.00 $\pm$ 0.18	6.02 $\pm$ 0.20	6.02 $\pm$ 0.14	6.19 $\pm$ 0.18 *	6.24 $\pm$ 0.18 **
Albumin(g/dl)	3.21 $\pm$ 0.16	3.26 $\pm$ 0.12	3.25 $\pm$ 0.13	3.43 $\pm$ 0.16 **	3.45 $\pm$ 0.16 **
A/G	1.15 $\pm$ 0.07	1.18 $\pm$ 0.05	1.18 $\pm$ 0.05	1.25 $\pm$ 0.06 **	1.24 $\pm$ 0.07 **
Potassium(mmol/l)	4.87 $\pm$ 0.19N	4.77 $\pm$ 0.26	4.83 $\pm$ 0.46	4.97 $\pm$ 0.19	4.74 $\pm$ 0.41
Chloride(mmol/l)	104.0 $\pm$ 0.7	106.4 $\pm$ 0.9 **	106.5 $\pm$ 1.2 **	105.7 $\pm$ 0.9 **	103.9 $\pm$ 1.3
Calcium(mg/dl)	9.48 $\pm$ 0.16	9.56 $\pm$ 0.24	9.49 $\pm$ 0.22	9.40 $\pm$ 0.25	9.80 $\pm$ 0.20 **
① I.phosphate(mg/dl)	6.01 $\pm$ 0.29	5.43 $\pm$ 0.40 **	5.44 $\pm$ 0.34 **	5.43 $\pm$ 0.37 **	6.18 $\pm$ 0.53
GOT(U/l)	40 $\pm$ 17N	38 $\pm$ 6	38 $\pm$ 6	44 $\pm$ 7	38 $\pm$ 4
GPT(U/l)	21 $\pm$ 11N	20 $\pm$ 3	16 $\pm$ 5	15 $\pm$ 5	18 $\pm$ 4
Gamma-GTP(U/l)	0.2 $\pm$ 0.3	0.6 $\pm$ 0.3 **	0.3 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.4 **	0.4 $\pm$ 0.4

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 Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

Dose level		0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of animals examined		12	12	12	12	12
Body weight	(g)	394 $\pm$ 30	387 $\pm$ 20	390 $\pm$ 26	391 $\pm$ 28	382 $\pm$ 16
Absolute organ weight						
Thymus	(mg)	328 $\pm$ 86	306 $\pm$ 43	329 $\pm$ 74	317 $\pm$ 65	322 $\pm$ 63
Liver	(g)	11.55 $\pm$ 1.23	11.15 $\pm$ 0.80	11.46 $\pm$ 1.02	11.87 $\pm$ 1.59	13.92 $\pm$ 1.07 **
Kidneys	(g)	2.67 $\pm$ 0.31	2.64 $\pm$ 0.25	2.55 $\pm$ 0.17	2.72 $\pm$ 0.34	2.76 $\pm$ 0.25
Testes	(g)	3.47 $\pm$ 0.17N	3.34 $\pm$ 0.25	3.39 $\pm$ 0.25	3.43 $\pm$ 0.14	3.55 $\pm$ 0.37
Epididymides	(g)	1.27 $\pm$ 0.13	1.19 $\pm$ 0.10	1.20 $\pm$ 0.11	1.23 $\pm$ 0.14	1.19 $\pm$ 0.11
Relative organ weight						
Thymus	(mg%)	82.768 $\pm$ 19.676	79.061 $\pm$ 10.958	84.445 $\pm$ 18.331	81.051 $\pm$ 14.699	84.188 $\pm$ 15.029
Liver	(g%)	2.926 $\pm$ 0.192	2.882 $\pm$ 0.141	2.934 $\pm$ 0.140	3.029 $\pm$ 0.233	3.647 $\pm$ 0.215 **
Kidneys	(g%)	0.675 $\pm$ 0.050	0.682 $\pm$ 0.059	0.656 $\pm$ 0.051	0.693 $\pm$ 0.047	0.722 $\pm$ 0.052
Testes	(g%)	0.882 $\pm$ 0.062	0.864 $\pm$ 0.069	0.869 $\pm$ 0.059	0.882 $\pm$ 0.055	0.929 $\pm$ 0.083
Epididymides	(g%)	0.322 $\pm$ 0.031	0.307 $\pm$ 0.029	0.307 $\pm$ 0.024	0.315 $\pm$ 0.032	0.312 $\pm$ 0.031

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

Significant difference from control group; **: P<0.01

N : Non parametric analysis

Table 6-2

Absolute and relative organ weight of female rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

Dose level		0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of animals examined		12	10	11	10	10
Body weight	(g)	262 ± 18	270 ± 15	271 ± 15	269 ± 15	273 ± 12
Absolute organ weight						
Thymus	(mg)	157 ± 50	182 ± 46	184 ± 64	192 ± 59	210 ± 38
Liver	(g)	10.54 ± 1.10	10.63 ± 0.99	11.00 ± 0.92	10.98 ± 1.27	11.54 ± 0.62
Kidneys	(g)	1.82 ± 0.21	1.86 ± 0.17	1.93 ± 0.13	1.85 ± 0.12	2.03 ± 0.18
Ovaries	(mg)	100 ± 13	102 ± 15	101 ± 11	96 ± 13	99 ± 10
Relative organ weight						
Thymus	(mg%)	59.339 ± 17.847	67.472 ± 17.464	67.380 ± 20.988	71.242 ± 20.690	76.879 ± 11.882
Liver	(g%)	4.014 ± 0.295	3.926 ± 0.246	4.066 ± 0.285	4.075 ± 0.337	4.237 ± 0.300
Kidneys	(g%)	0.695 ± 0.059	0.689 ± 0.046	0.714 ± 0.058	0.688 ± 0.049	0.744 ± 0.077
Ovaries	(mg%)	37.968 ± 4.574	37.690 ± 4.334	37.582 ± 4.560	35.625 ± 3.602	36.335 ± 4.233

Values are expressed as Mean±S.D.

Table 7-1. Summary of gross findings (45 days experiment)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals necropsied	12	12	12	12
Organ_____ Findings_____				
RESPIRATORY SYSTEM				
lung red patch/zone	1	0	1	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver enlarged	0	0	0	0
abdominal cavity mass	0	0	1	0

Table 7-1. -continued Summary of gross findings (45 days experiment)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Male

Dose level	(mg/kg)	800
No. of animals necropsied		12
Organ	Findings	
RESPIRATORY SYSTEM		
lung	red patch/zone	1
DIGESTIVE SYSTEM		
liver	enlarged	3
abdominal cavity	mass	0

Table 7-2. Summary of gross findings (sacrificed)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals necropsied	12	10	11	10
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen adhesion	0	0	0	1
lymph node enlarged	0	0	0	1
RESPIRATORY SYSTEM				
lung colored patch/zone	0	4	2	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver malformative nodule	2	0	1	1

Table 7-2. -continued Summary of gross findings (sacrificed)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	800
No. of animals necropsied	10
Organ Findings	
HEMATOPOIETIC SYSTEM	
spleen adhesion	0
lymph node enlarged	0
RESPIRATORY SYSTEM	
lung colored patch/zone	3
DIGESTIVE SYSTEM	
liver malformative nodule	0

Table 8-1. Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals initially in study	12	11	11	10
No. of animals necropsied	12	11	11	10
No. of animals examined histologically	12	0	0	0
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart	(12)	(0)	(0)	(0)
degeneration of myocardium	- 3 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
infiltration/cellular	- 2 1 0	- - - -	- - - -	- - - -
fibrosis	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(12)	(0)	(0)	(0)
deposit of pigment	- 12 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
follicular atrophy	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
RESPIRATORY SYSTEM				
lung	(1)	(0)	(0)	(0)
hemorrhage	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
granulation	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(12)	(0)	(0)	(0)
fatty change	- 4 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
granulation	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
infiltration/cellular	- 7 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
URINARY SYSTEM				
kidney	(12)	(0)	(0)	(0)
basophilic change	- 10 2 0	- - - -	- - - -	- - - -
cyst	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
deposit of calcium	- 6 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
deposit of pigment	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
eosinophilic body	- 12 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
hyaline droplet	- 1 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
protein cast	- 6 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
tubular dilatation	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
lymphocytic infiltration	- 4 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
fibrosis	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
hypertrophy	- 2 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland	(12)	(0)	(0)	(0)
vacuolic change	- 12 0 0	- - - -	- - - -	- - - -

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

Table 8-1. -continued Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		800			
No. of animals initially in study		10			
No. of animals necropsied		10			
No. of animals examined histologically		10			
Organ	Findings	T	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM					
heart		(10)			
	degeneration of myocardium	-	2	0	0
	infiltration/cellular	-	2	0	0
	fibrosis	-	0	0	0
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
spleen		(10)			
	deposit of pigment	-	10	0	0
	follicular atrophy	-	1	0	0
RESPIRATORY SYSTEM					
lung		(1)			
	hemorrhage	-	0	0	0
	granulation	-	1	0	0
DIGESTIVE SYSTEM					
liver		(10)			
	fatty change	-	3	0	0
	granulation	-	2	0	0
	infiltration/cellular	-	4	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney		(10)			
	basophilic change	-	7	3	0
	cyst	-	0	0	0
	deposit of calcium	-	5	0	0
	deposit of pigment	-	1	0	0
	eosinophilic body	-	10	0	0
	hyaline droplet	-	2	0	0
	protein cast	-	3	0	0
	tubular dilatation	-	2	0	0
	lymphocytic infiltration	-	2	0	0
	fibrosis	-	1	0	0
	hypertrophy	-	0	0	0
ENDOCRINE SYSTEM					
adrenal gland		(10)			
	vacuolic change	-	10	0	0

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 (sacrificed)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	12.5	50	200
No. of animals initially in study	12	10	11	10
No. of animals necropsied	12	10	11	10
No. of animals examined histologically	12	10	11	10
Organ Findings	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3	T 1 2 3
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart	(12)	(0)	(0)	(0)
infiltration/cellular	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen	(12)	(0)	(0)	(0)
deposit of pigment	- 12 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
hematopoiesis, increased	- 5 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
thymus	(12)	(0)	(0)	(0)
atrophy	- 2 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
squamous metaplasia	- 2 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
RESPIRATORY SYSTEM				
lung	(0)	(0)	(0)	(0)
hemorrhage	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
accumulation of foamy cells	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
inflammation	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
inflammatory infiltration	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(12)	(0)	(0)	(0)
fatty change	- 2 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
hepatodiaphragmatic nodule	- 2 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
URINARY SYSTEM				
kidney	(12)	(10)	(11)	(10)
basophilic change	- 0 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0	- 2 0 0
deposit of calcium	- 10 0 0	- 9 0 0	- 11 0 0	- 9 0 0
protein cast	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0
tubular dilatation	- 0 0 0	- 0 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0
fibrosis	- 0 0 0	- 1 0 0	- 0 0 0	- 1 0 0
ENDOCRINE SYSTEM				
adrenal gland	(12)	(0)	(0)	(0)
cytological alteration	- 0 0 0	- - - -	- - - -	- - - -
vacuolic change	- 3 0 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 < 0.01

Table 8-2. -continued Summary of histological findings (sacrificed)

Exp. No. 1812 (115-004)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	800
No. of animals initially in study	10
No. of animals necropsied	10
No. of animals examined histologically	10
Organ Findings	T 1 2 3

CARDIOVASCULAR SYSTEM

heart	(10)				
infiltration/cellular	-	1	0	0	

HEMATOPOIETIC SYSTEM

spleen	(10)				
deposit of pigment	-	10	0	0	
hematopoiesis, increased	-	7	0	0	
thymus	(10)				
atrophy	-	0	0	0	
squamous metaplasia	-	0	0	0	

RESPIRATORY SYSTEM

lung	(3)				
hemorrhage	-	1	0	0	
accumulation of foamy cells	-	3	0	0	
inflammation	-	1	0	0	
inflammatory infiltration	-	1	0	0	

DIGESTIVE SYSTEM

liver	(10)				
fatty change	-	4	0	0	
hepatodiaphragmatic nodule	-	0	0	0	

URINARY SYSTEM

kidney	(10)				
basophilic change	-	5**	0	0	
deposit of calcium	-	9	0	0	
protein cast	-	1	0	0	
tubular dilatation	-	0	0	0	
fibrosis	-	0	0	0	

ENDOCRINE SYSTEM

adrenal gland	(10)				
cytological alteration	-	1	0	0	
vacuolic change	-	3	0	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 < 0.01

Table 9

Copulation and fertility results in rats treated with Trimethylolpropane

Exp. No. 1812(115-004)

Dose level	0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of pairs mated	12	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	12	12	10	12
No. of pregnant females	12	11	11	10	10
Copulation index (%) a)	100	100	100	83.3	100
Fertility index (%) b)	100	91.7	91.7	100	83.3
Estrus cycle (days) (Mean $\pm$ S.D.)	4.1 $\pm$ 0.2N	4.1 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.1

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

N : Non parametric analysis

Table 10

Findings of delivery in dams(F0) and observations on their pups(F1)

Exp. No. 1812(115-004)

Dose level	0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of dams observed	12	11	11	10	10
No. of dams delivered live pups	12	11	11	10	10
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	21.1 $\pm$ 0.3	21.2 $\pm$ 0.4	21.1 $\pm$ 0.3	21.3 $\pm$ 0.5	21.6 $\pm$ 0.5
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	181(15.1 $\pm$ 1.5)	174(15.8 $\pm$ 1.2)	169(15.4 $\pm$ 1.1)	150(15.0 $\pm$ 1.7)	149(14.9 $\pm$ 1.5)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	173(14.4 $\pm$ 1.8)	167(15.2 $\pm$ 1.1)	162(14.7 $\pm$ 0.8)	141(14.1 $\pm$ 1.7)	140(14.0 $\pm$ 1.6)
No. of total pups (Mean $\pm$ S.D.)	163(13.6 $\pm$ 1.7)	157(14.3 $\pm$ 1.3)	150(13.6 $\pm$ 1.4)	134(13.4 $\pm$ 1.6)	128(12.8 $\pm$ 1.8)
No. of total live pups (Mean $\pm$ S.D.)	162(13.5 $\pm$ 1.7)	157(14.3 $\pm$ 1.3)	150(13.6 $\pm$ 1.4)	134(13.4 $\pm$ 1.6)	128(12.8 $\pm$ 1.8)
Male	83(6.9 $\pm$ 1.6)	76(6.9 $\pm$ 1.6)	67(6.1 $\pm$ 2.6)	63(6.3 $\pm$ 1.2)	52(5.2 $\pm$ 2.2)
Female	79(6.6 $\pm$ 2.3)	81(7.4 $\pm$ 2.2)	83(7.5 $\pm$ 2.7)	71(7.1 $\pm$ 1.6)	76(7.6 $\pm$ 1.4)
Sex ratio (Male/Female)	1.05(83/ 79)	0.94(76/ 81)	0.81(67/ 83)	0.89(63/ 71)	0.68(52/ 76)
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)					
Male	83(6.9 $\pm$ 1.6)	69(6.3 $\pm$ 2.6)	66(6.0 $\pm$ 2.6)	61(6.1 $\pm$ 1.1)	49(4.9 $\pm$ 2.4)
Female	78(6.5 $\pm$ 2.2)	72(6.5 $\pm$ 3.0)	80(7.3 $\pm$ 2.5)	69(6.9 $\pm$ 1.7)	72(7.2 $\pm$ 1.4)
No. of total dead pups (Mean $\pm$ S.D.)	1(0.1 $\pm$ 0.3)	0	0	0	0
Gestation index (%) a)	100	100	100	100	100
Implantation index (%) b)	95.6	96.0	95.9	94.0	94.0
Delivery index (%) c)	94.2	94.0	92.6	95.0	91.4
Birth index (%) d)	93.6	94.0	92.6	95.0	91.4
Viability index on day 4 (%) e)					
Male	100N	90.8	98.5	96.8	94.2
Female	98.7N	88.9	96.4	97.2	94.7

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

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

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

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

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

N : Non parametric analysis

Table 11

External observations on live pups(F1)

Exp. No. 1812(115-004)

Dose level	0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of dams	12	11	11	10	10
No. of live pups examined	162	157	150	134	128
No. of live pups with external anomalies (% Mean±S.D.)	0	0	0	0	1(0.8) (0.1±0.3)
Type and incidence of external anomalies (%) a)					
Total	0	0	0	0	1
Hypodermic hemorrhage	0	0	0	0	1(0.8)

a) : (Number of live pups with external anomalies / number of live pups examined) x 100

Table 12 Body weight change of pups(F1) from rats treated with Trimethylolpropane Exp. No. 1812(115-004)

Dose level		0 mg/kg	12.5 mg/kg	50 mg/kg	200 mg/kg	800 mg/kg
No. of litters		12	11	11	10	10
Male						
Days after birth	1	5.7 ± 0.2	5.7 ± 0.3	5.6 ± 0.3	5.5 ± 0.5	5.5 ± 0.3
	4	7.4 ± 0.7N	7.4 ± 0.3 (10)	7.3 ± 1.0	7.5 ± 0.9	6.8 ± 1.1
Female						
Days after birth	1	5.5 ± 0.3	5.3 ± 0.2	5.2 ± 0.3	5.3 ± 0.4	5.1 ± 0.3
	4	7.1 ± 0.7	7.0 ± 0.3 (10)	6.8 ± 0.7	7.2 ± 0.9	6.5 ± 1.0

Values are expressed as Mean±S.D.

Values in parentheses are expressed number of litters measured

N : Non parametric analysis