

試 験 報 告 書

メタクリル酸 tert-ブチルエステルのラットを用いた経口投与による
28日間の反復投与毒性試験

(試験番号：4 L 4 3 0)

株式会社三菱化学安全科学研究所

目 次

	頁
要 約	9
緒 言	10
方 法	
1. 被験物質	11
2. 試験動物および飼育条件	11
3. 投与量および投与方法	12
4. 群構成	13
5. 観察・検査項目	13
1) 一般状態観察	13
2) 体重	13
3) 摂餌量	13
4) 血液学的検査	13
5) 血液生化学的検査	14
6) 尿検査	14
7) 病理学的検査	15
6. 統計学的解析	16
結 果	
1. 死亡動物	17
2. 一般状態	17
3. 体重	17
4. 摂餌量	17
5. 血液学的検査	17
6. 血液生化学的検査	17
7. 尿検査	18
8. 器官重量	18
9. 剖検所見	18
10. 組織所見	19
考察および結論	20

	頁
参考文献	22
補足資料 1	23
補足資料 2	24

図および群別表		頁
FIG. 1	体重	1
TABLE 1	一般状態	3
TABLE 2	体重	7
TABLE 3	摂餌量	9
TABLE 4, 5	血液学的検査	11
TABLE 6	血液生化学的検査	19
TABLE 7, 8, 9	尿検査	27
TABLE 10	器官重量	39
TABLE 11	器官重量（相対重量：対体重比）	43
TABLE 12	病理解剖所見発現頻度	47
TABLE 13	病理組織所見発現頻度	48

要 約

マタリル酸 tert-ブチルエステル¹の20, 100および500 mg/kgをSD系ラット (Crj:CD) の雌雄に28日間反復経口投与し, その毒性を検討した. 1群の動物数は雌雄各6匹とし, 対照群には溶媒 (0.1% Tween80添加 0.5% CMC-Na水溶液) のみを投与した. 対照および500 mg/kg 群については, 雌雄各6匹の回復群を設け, 投与期間終了後14日間の回復期間を設定した.

全試験期間を通して死亡は認められず, 体重および摂餌量には変化はみられなかった.

一般状態観察では, 流涎が500 mg/kg群の雌雄で認められた.

血液生化学的検査では, 総コレステロール, 総蛋白の高値が100 mg/kg 以上の群の雌雄で, アルブミンの高値が100 mg/kg群の雌と500 mg/kg群の雌雄で, また, 毒性学的意義はないとは考えられるが, ALPの低値が100 mg/kg群の雄と500 mg/kg群の雌雄で認められた.

尿検査では, 蛋白の高値が500 mg/kg群の雌雄で, 潜血の高値が100 mg/kg以上の群の雄で, ビリルビンの高値および尿沈渣における赤血球数の増加が500 mg/kg 群の雄で, 上皮細胞数の増加が500 mg/kg群の雌で認められた.

病理学的検査では, 肝臓の変化として腫大が500 mg/kg 群の雌雄で, 重量の増加および小葉中心性の肝細胞肥大が100 mg/kg群の雄と500 mg/kg群の雌雄で, 腎臓の変化として重量の増加が500 mg/kg 群の雌雄で, 近位尿細管上皮の硝子滴の増加および再生性変化である好塩基性変化が100 mg/kg以上の群の雄で認められた.

これらの変化は, 回復期間終了時には消失もしくは軽減しており, 回復傾向が認められた.

20 mg/kg群では被験物質投与に起因した変化は認められなかった.

以上の結果より, 本試験条件下におけるマタリル酸 tert-ブチルエステル¹の無影響量は, 雌雄ともに20 mg/kgであると結論した.

緒 言

OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環としてラットを用いてメタクリル酸 tert-ブチルエステルの経口投与による28日間反復投与毒性試験を実施し、生体への毒性学的影響について検討したので報告する。

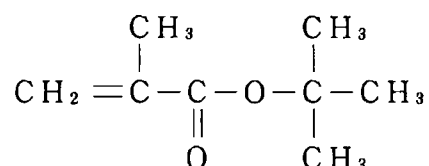
方 法

1. 被験物質

：より提供されたマクリル酸 tert-ブチルエステル（三菱レイヨン，Lot No.

純度99.8%，略称：TBMA）を使用した。被験物質は，融点-60℃以下，沸点67℃/70_{Torr}，水に0.3 %（20℃），アセトンおよびDMSOに可溶で，エステル臭を有する無色透明の液体である。なお，本ロットについては投与期間中安定であることが製造者によって確認された。

化学名 : マクリル酸 tert-ブチルエステル
化学式 : C₈H₁₄O₂
構造式 :



分子量 : 142.20
CAS No. : 585-07-9

2. 試験動物および飼育条件

SD系ラット(Crj:CD, SPF)の雌雄を日本チャールス・リバー株式会社より1994年10月19日に入手し，5日間の検疫・馴化後，健康状態が良好なものを試験に供した。投与開始3日前に動物を体重別層化無作為抽出法により，各群の平均体重がほぼ均一になるように群分けした。1群の動物数は雌雄各6匹とし，イヤープンチにより群および個体を識別した。投与開始時の週齢は雌雄とも5週齢，体重範囲は，雄が150～166 g，雌が122～141 gであった。

検疫・馴化期間を含めた全飼育期間中，温度20～25℃，湿度40～70％R. H.，換気約12回／時，照明12時間（7:00～19:00）に自動調節された飼育室を使用した。

動物は実験動物用床敷（ベータチップ：日本チャールス・リバー）を敷いたポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200Hmm）に，1ケージ当たり2匹（同性）で収容し，スチール製架台上で飼育した。飼育器材は週1回の頻度でオートクレーブ滅菌したものと交換した。

動物には、飼料として実験動物用固型飼料（MF：オリエンタル酵母工業）を、また飲水として5 μ m のフィルター濾過後、紫外線照射した水道水をそれぞれ自由摂取させた。なお、飼料は残留農薬等の汚染物質の分析値が当社の定めた濃度以下であることが保証されたものを使用した。また、飲水については水道法に準拠した水質検査を定期的に行い、その検査値が基準の範囲内であることを確認した。

3. 投与量および投与方法

各群雌雄3匹のSD系ラット（Crj:CD, SPF）を用いて7日間の投与量設定試験（用量：0, 100, 500, 1000 mg/kg）を行った結果、1000 mg/kg群および500 mg/kg群の雌雄で、肝臓および腎臓の重量増加が認められた。従って、本試験の高用量には500mg/kgを設定し、以下公比5で中用量を100 mg/kg、低用量を20 mg/kgとした。さらに溶媒（0.1% Tween80添加 0.5% CMC-Na水溶液）のみを投与する対照群を設けた。

投与期間は28日間とし、胃ゾンデを用いて毎日1回、午前中に強制経口投与した。投与液量は10 ml/kgとし、至近測定日の体重を基に算出した。対照および500mg/kg群については投与期間終了後14日間の回復期間を設けた。

投与液については、各用量毎に被験物質を 0.1% Tween80 添加 0.5% CMC-Na水溶液（Tween 80：DIFCO LABORATORIES, Lot No. 725799；CMC-Na：岩井化学薬品, Lot No. 281005）に超高速ホモジナイザー（ポリトロン：KINEMATICA）を用いて懸濁させ、所定の濃度に調製した。調製は10日に1～3回行い、投与液は投与に供するまで冷蔵保存した。なお、投与開始前に2mg/mlおよび50 mg/mlの懸濁液を調製し、被験物質が均一に分散していること、および冷蔵保存条件下において10日間安定であることをGC法によって確認した。また、第1回および最終投与に用いた各投与液の濃度は設定濃度に対して95.0～99.0%であった（補足資料1参照）。

4. 群構成

群 名	動物数（匹）			
	投与後解剖 ¹⁾		回復後解剖 ²⁾	
	雄	雌	雄	雌
対 照 群	6	6	6	6
20 mg/kg群	6	6	—	—
100 mg/kg群	6	6	—	—
500 mg/kg群	6	6	6	6

¹⁾ 投与開始日を0日とし、投与開始後28日に解剖。

²⁾ 14日間の回復期間終了後に解剖。

5. 観察・検査項目

1) 一般状態観察

全例について生死および外観・行動等を投与前および投与後に毎日観察した。さらに、毎週1回触診を含む詳細な観察を行った。

2) 体重

全例について投与開始日（投与開始後0日とする）およびその後毎週1回、電子上皿天秤（EB-6200S：島津製作所）を用いて測定した。

3) 摂餌量

全ケージについて投与開始日およびその後は毎週1回、前記天秤を用いて風袋込み重量を測定し、各期間毎の摂餌量から1匹当たりの1日の平均摂餌量を算出した。

4) 血液学的検査

各計画解剖時に、非絶食状態の全対象動物について、チオペンタールナトリウム（ラボナール：田辺製薬）の腹腔内投与による麻酔下で後大静脈より採血し、次の項目を検査した。h)およびi)の測定には、3.13%クエン酸ナトリウム水溶液を用いて凝固阻止後、遠心分離して得られた血漿を用い、その他の項目の測定にはEDTA-2Kにより凝固阻止した血液を用いた。

項 目	測 定／算 出 法
a) 赤血球数	シースフローDCインピーダンス検出法
b) 白血球数	RF/DC インピーダンス検出法
c) 血小板数	シースフローDCインピーダンス検出法
d) ヘモグロビン濃度 (HB CONC.)	SLS ヘモグロビン法
e) ヘマトクリット値 (HT)	赤血球パルス波高値検出法
f) 白血球百分率	Wright染色塗抹標本について測定
g) 網状赤血球数	アルゴリズムを用いたフローサイトメトリ法
h) プロトロンビン時間 (PT)	Quick 一段法
i) 活性化部分トロンボプラスチン 時間 (APTT)	活性化セファロプラスチン法
j) 平均赤血球容積 (MCV)	a), e)より算出
k) 平均赤血球血色素量 (MCH)	a), d)より算出
l) 平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	d), e)より算出

a)～e)は多項目自動血球分析装置 (NE-4500 : 東亜医用電子), f)は血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG-70A : 立石電機), g)は自動網赤血球測定装置 (R-2000 : 東亜医用電子), h)およびi)は血液凝固自動測定装置 (KC10A : アメルング社) により測定した。

5) 血液生化学的検査

血液学的検査と同時に採取した血液を室温で約30分間放置した後, 3000r. p. m. (最大遠心加速度: 1570 g) で10分間遠心分離し, 得られた血清を用いて下記の項目を自動分析装置 (日立736-10形: 日立製作所) により測定した。

項 目	測 定／算 出 法
a) 総蛋白	Biuret法
b) アルブミン	BCG 法
c) A/G比	a), b)より算出
d) グルコース	酵素-UV法 (GK-G6PDH法)
e) トリグリセライド	酵素法 (LPL-GK-G3PO-POD法)
f) 総コレステロール (TOTAL CHOL.)	酵素法 (CES-CO-POD法)
g) 尿素窒素	酵素-UV法 (Urease-GLDH法)
h) クレアチニン (CREATININ)	Jaffé法
i) カルシウム	O-CPC法
j) 無機リン (INORGANIC PHOS.)	UV法
k) GOT	UV-Rate法 (SSCC改良法)
l) GPT	UV-Rate法 (SSCC改良法)
m) γ -GTP	γ -グルタミル・p-ニトロアニリド基質法 (SSCC改良法)
n) ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (GSCC改良法)
o) ナトリウム (NA)	イオン選択電極法
p) カリウム (K)	イオン選択電極法
q) クロール (CL)	イオン選択電極法

6) 尿検査

投与開始後24日に全動物の新鮮尿を採取し, 次のa)～g)の項目を検査した。その結果, 100 および500mg/kg群で潜血, 蛋白, ビリルビンの高値がみられたため, 沈渣の

顕微鏡的検査を行った。また、21時間蓄積尿を採取し、下記のi)～m)の項目を検査した。

さらに、回復開始後12日にも全動物について投与期間と同様にa)～m)の項目を検査した。

項 目	測 定／算 出 法
a) pH	a)～g) : 試験紙法 (マルティスティックス, マイルス・三共)
b) 潜血	
c) 蛋白	
d) 糖	
e) ケトン体	
f) ビリルビン	
g) ウロビリノーゲン	
h) 沈渣	鏡検法 (Sternheimer-Malbin染色)
i) 尿量	メスシリンダーで測定
j) 比重	屈折法
k) ナトリウム (NA)	炎光光度法
l) カリウム (K)	炎光光度法
m) クロール (CL)	電量滴定法

a)～g)は尿分析器 (クリニテック100 : マイルス・三共), j)は尿比重計 (ユリコンー S : アタゴ), k)およびl)は全自動炎光光度計 (FLAME-30C/AD-3 : 日本分光メディカル), m)はクロライドメーター (Model 925 : コーニングメディカル) により測定した。

7) 病理学的検査

(1) 病理解剖検査

投与および回復期間終了時の全動物について、採血後に腹大動脈切断により放血致死させ、剖検した。

(2) 器官重量

投与および回復期間終了時の全動物について、脳、肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、精巣または卵巣の重量を電子上皿天秤 (ED-H60 : 島津製作所) を用いて測定した。さらに、解剖日の体重を基に相対重量 (対体重比) を算出した。

(3) 病理組織学的検査

投与および回復期間終了時の全動物について、脳、下垂体、眼球 (ハーダー腺を含む)、肺、胃、甲状腺 (上皮小体を含む)、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、膀胱、精巣または卵巣、骨髓 (大腿骨) を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液 (眼球およびハーダー腺は Davidson の溶液) で固定後、保存した。

雌雄とも投与期間終了時の対照および 500 mg/kg群の心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎について、常法に従いヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し鏡検した。その結果、雌雄の肝臓および雄の腎臓に被験物質投与に起因すると思われる変化が認められたため、投与期間終了時の他の群と回復期間終了時の当該臓器についても同様に検査を実施した。

6. 統計学的解析

計量データはBartlett法による等分散の検定を行い、分散が一様の場合是一元配置分散分析を、一様でない場合はKruskal-WallisのH検定を行った。群間に有意な差が認められた場合で各群の例数が一定ならば Dunnettの方法、不定ならば Schefféの方法により平均値または順位の多重比較検定を行った。計数データはArmitageの χ^2 検定により検定した。有意水準は5 %以下とした。以下に検定の対象となる項目を示す。

(1) 多重比較検定

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿定量検査（尿量、比重、ナトリウム、カリウム、クロール）、器官重量

(2) Armitageの χ^2 検定

尿定性検査（pH、潜血、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン）
尿沈渣

結 果

1. 死亡動物

全試験期間を通して死亡は認められなかった。

2. 一般状態 (TABLE 1)

投与開始後 7 日目から流涎が 500mg/kg 群の雌雄で認められた。本変化は投与直後に発現し、数分後には消失していた。また回復期間には認められなかった。

3. 体重 (FIG. 1, TABLE 2)

全ての被験物質投与群で対照群と同様な推移を示した。

4. 摂餌量 (TABLE 3)

全ての被験物質投与群で対照群と同様な推移を示した。

5. 血液学的検査 (TABLE 4, 5)

投与期間および回復期間終了時の検査において、いずれの群にも被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

なお、投与期間終了時の検査において、プロトロンビン時間の短縮が 500mg/kg 群の雌で認められたが、軽微な変化であり、生理的変動の範囲内の変化であると判断した。また、回復期間終了時の検査では、血小板数の増加が 500mg/kg 群の雄で認められたが、本変化は投与期間終了時には認められなかったことから、被験物質投与と関連のない偶発性の変化と判断した。

6. 血液生化学的検査 (TABLE 6)

投与期間終了時の検査において、総コレステロールおよび総蛋白の高値が 100 および 500mg/kg 群の雌雄、アルブミンの高値が 100mg/kg 群の雌および 500mg/kg 群の雌雄で認められた。また、ALP の低値が 20 および 100mg/kg 群の雄と 500mg/kg 群の雌雄で認められた。

回復期間終了時の検査では、総コレステロール、総蛋白およびアルブミンの高値

が500mg/kg群の雄で認められた。なお、カリウムの高値が500mg/kg群の雄で認められたが投与期間終了時には認められなかったことから、被験物質投与との関連性のない偶発性の変化と判断した。

7. 尿検査 (TABLE 7, 8, 9)

投与期間終了時の検査において、蛋白の高値が500mg/kg群の雌雄、ビリルビンの高値が同群の雄で認められ、また、潜血の高値が100および500mg/kg 群の雄で認められた。蛋白の高値については、回復期間終了時にも500mg/kg群の雌で認められた。

沈渣では、赤血球数の増加が500mg/kg群の雄、上皮細胞数の増加が500mg/kg群の雌で認められた。これらの変化のうち、赤血球数の増加は回復期間終了時にも500mg/kg 群の雄で認められた。

その他、投与期間終了時の沈渣において、白血球数の減少が20mg/kg 群の雄で、リン酸アンモニウム・マグネシウムおよび上皮細胞数の減少が20mg/kg 群の雌で認められた。しかし、これらの変化は500mg/kg群では認められないことから、被験物質投与とは関連のない変化であると判断した。また、回復期間終了時の検査では、ケトン体の高値が500mg/kg群の雌で認められたが、本変化は投与期間終了時には認められなかったことから、被験物質投与と関連のない偶発性の変化と考えられた。

8. 器官重量 (TABLE 10, 11)

投与期間終了時に、肝臓の実重量の増加が500mg/kg群の雌雄、相対重量の高値が100mg/kg群の雄および500mg/kg群の雌雄で認められた。特に、500mg/kg群の雄2例の実重量は対照群の約2倍であった。また、腎臓の実重量および相対重量の高値が500mg/kg群の雌雄で認められた。

回復期間終了時には、肝臓の実重量および相対重量の高値が500mg/kg群の雌雄で認められ、腎臓の実重量の増加が500mg/kg群の雌雄、相対重量の高値が500mg/kg群の雄で認められた。なお、いずれの値も、投与期間終了時より低かった。

9. 剖検所見 (TABLE 12)

投与期間終了時の検査では、肝臓の軽度から中等度の腫大が500mg/kg群の雄3例、雌5例に認められた。回復期間終了時には肝臓の軽度の腫大が500mg/kg群の雌1例

に認められた。その他偶発性変化として、肝臓の横隔膜面結節および腎臓の腎盂腔の拡張が各 1 例に認められた。

10. 組織所見 (TABLE 13)

投与期間終了時の検査で被験物質投与に起因すると思われる変化が肝臓および腎臓に認められた。

肝臓では、小葉中心性の肝細胞肥大が100mg/kg群の雄 4 例と500mg/kg群の雌雄全例に認められた。肥大した肝細胞の細胞質は弱好酸性で、微細顆粒状を呈していた。

腎臓では、近位尿細管上皮の硝子滴が対照群を含む雄の全群で認められたが、100mg/kg群の雄 2 例と500mg/kg群の雄 4 例では明らかに増加していた。さらに、近位尿細管上皮の好塩基性変化が100 mg/kg 群の雄 1 例と500mg/kg群の雄 3 例に認められた。この変化は皮質で巣状にみられ、好塩基性化した上皮細胞は腫大し、有糸分裂像もしばしば観察された。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時に発現していた変化のうち肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大と腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴の増加は認められなかった。しかし、近位尿細管上皮の好塩基性変化は500mg/kg群の雄 5 例に認められた。なお、剖検時に肝臓の軽度の腫大が500mg/kg群の雌 1 例でみられたが、組織学的に異常は認められなかった。

その他、対照群あるいは被験物質投与群で種々の変化が散見されたが、その発現状況には用量との関連はなく、偶発変化と判断した。

考察および結論

メタクリル酸 tert-ブチルエステルを雌雄のSD系ラットに28日間反復投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察した。また、14日間の回復期間を設け、現れた変化の回復性を検討した。

被験物質投与により、流涎が500mg/kg群に認められた。流涎は、投与後数分で消失する一過性の変化であることや回復期間には認められなかったことから、被験物質の刺激性に起因したものと考えられる。

被験物質投与に起因した変化が100mg/kg以上の投与群の肝臓および腎臓に発現し、それに伴うと思われる血液生化学的検査値および尿検査値の変動が認められた。

肝臓では、重量の増加および腫大が認められ、組織学的検査では小葉中心性の肝細胞肥大として認められた。小葉中心性の肝細胞肥大は、一般に種々の薬物投与によって薬物代謝酵素の誘導が惹起された際に認められる変化であり、適応現象と考えられている¹⁾。また、血液生化学的検査では、総コレステロール、アルブミンおよび総蛋白の高値も認められており、肝臓での蛋白等の合成能の亢進が示唆された。なお、回復期間終了時には、肝重量の増加や上記生化学的検査値の高値は継続して認められたが、その程度は軽減していることや肝細胞肥大が認められなかったことから、回復性は良好であると考えられる。

腎臓では、雄で重量の増加および近位尿細管の硝子滴の増加が認められた。近位尿細管の硝子滴の増加は、種々の薬物や化学物質の投与によって雄ラットに特異的に発現する $\alpha_2\text{U}$ グロブリン腎症^{2, 3)}の特徴的变化である。 $\alpha_2\text{U}$ グロブリン腎症では硝子滴の増加とともに尿細管上皮が変性、脱落し、好塩基性の尿細管上皮の出現を特徴とする再生性変化が起こることが知られており²⁾、本試験においても同様の変化が観察された。尿検査で認められた潜血の高値と尿沈渣の赤血球数の増加は、いずれも尿細管の変化に関連したものと考えられる。また、雌においては組織障害性の変化は認められなかったが、腎重量の増加および尿沈渣の上皮細胞数の増加が認められ、被験物質の腎臓に対する影響が示唆された。回復期間終了時にも腎重量の増加および尿沈渣の赤血球数の増加が認められたが、いずれもその程度は軽減していた。また、組織学的検査においても、投与期間終了時に雄でみられた近位尿細管の硝子滴の増加は認められず、尿細管の再生性変化のみが認められたことから、回復性は良好であると判断し

た。

その他、尿蛋白の高値が500mg/kg群の雌雄で、尿中ビリルビンの高値が同群の雄で認められた。尿中ビリルビンの変動については、その程度が極めて軽微であることや肝機能障害を示唆するGOT やGPT 等の血清酵素の上昇あるいは病理組織学的変化が認められないことから、毒性学的意義は低いと思われる。

なお、ALPの低値が20mg/kg 以上の投与群の雄および500mg/kg群の雌で認められた。本変化は、臨床的に意義のある方向への変化ではなかったが、雌雄で同様の傾向がみられたことから、被験物質投与の影響であることは否定しがたい。ただし、当研究所の背景データと比較した場合、雄の対照群の値は通常の値に比べ高く、また雄の20mg/kg 群の値は背景データの範囲内であることから、少なくとも20mg/kg 群でみられたALPの有意な低値は被験物質投与に起因した変化ではないものと判断した（補足資料2 参照）。

雌の20mg/kg 群では被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

以上のことから、本試験条件下におけるメタクリル酸 tert-ブチルエステルの無影響量は雌雄ともに20 mg/kgであると結論した。

参考文献

- 1) Gopinath, C., Prentis, D. E., and Lewis, D. J. 1987. The liver. pp 43-60.
In : Atlas of experimental toxicological pathology. MTP press limited,
Lancaster.
- 2) Greaves, P. 1990. Urinary tract, Kideny, Hyaline droplets. pp 532-538.
In : Histopathology of preclinical toxicity studies. Elsevier, Amsterdam.
- 3) Swenberg, J. A., Short, B., Broghoff, S., Strasser, J., and Charbonneau,
M. 1989. The comparative pathobiology of $\alpha_2\mu$ -globulin nephropathy.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 97 : 35-46.

補足資料 1

1. 投与液の分析結果

1) 投与液の安定性および均一性

2および50mg/mlの投与液を用いて、10日間の安定性確認を実施した。その結果を下表に示す。なお、調製日の分析では均一性も確認した。

単位：mg/ml		
設定濃度	投与液調製日	調製後10日
2	1.95	1.95
	1.95	
	1.93	1.92
	Mean±S. D. C. V. 値	1.94 ±0.0115 0.593%
50	49.0	49.5
	48.8	
	48.4	48.9
	Mean±S. D. C. V. 値	48.7±0.306 0.628%

2) 投与液の濃度確認

第1回および最終投与に用いた投与液の濃度確認を実施した。その結果を下表に示す。

第1回投与時		単位：mg/ml		
設定濃度	2	10	50	
分析結果	1.88	9.61	47.7	
	1.91	9.61	47.9	
	Mean	1.90(95.0)	9.61(96.1)	47.8(95.6)
最終投与時				
設定濃度	2	10	50	
分析結果	1.97	9.89	49.6	
	1.97	9.88	49.3	
	Mean	1.97(98.5)	9.89(98.9)	49.5(99.0)

かっこ内は設定値に対する割合(%)を示す。

補足資料 2

本試験におけるALP活性の変動に関する考察

1. 対照群のALP活性の高値について

一般的にALP活性は、骨および肝障害がみられる際に上昇する。一方、これらの障害を伴わないALP活性の生理的な変動要因として、以下の①、②が考えられる。

- ① 骨の形成に伴い、若齢動物では高い活性を示し、加齢に伴って低下する。特に、急激な成長時期には、個体間のばらつきが大きくなる。
- ② ラットの血中ALP活性は、小腸由来のALPが影響を及ぼし、摂餌によって著しく高い活性を示すことが知られている。そのため、各個体の摂餌条件によってその値が大きく変動する。

今回血液生化学的検査を実施した8週齢の動物は、成長過程の動物であることや、非絶食下という採血条件であったことから、高いALP活性を示す動物が存在する状況にあった。背景データにおいても各試験のALP活性の平均値は、509 から764 IU/lであり、試験毎のばらつきが大きい。

以上のことから、本試験における雄の対照群のALP活性値は、当研究所の背景データの平均値に比べ有意に高かったものの ($P<0.05$)、肝臓や骨の障害を示唆する変化がみられないことから生理的な変動内の変化であると考えた。

2. 投与群のALP活性の低値について

雄の全投与群に認められたALP活性の低下は、活性値の上昇ではないことから、毒性学的意義のある変化とは考えられないが、雄と同様の傾向は軽度ながら雌の500 mg/kg 群にもみられていることから、TBMA投与による何らかの影響は否定できない。しかし、雄の20 mg/kg群の活性値は当研究所の背景データの範囲内であることや、背景データの平均値との間に有意な差が認められないことから、同群の有意な低値は前述のように対照群の値が高かったことによるものであり、投与との関連はないと判断した。これらのことからTBMA投与によるALP活性への影響は、100mg/kg群以上であると判断した。

(注) 本試験の各群の平均値と背景データの平均値との比較は、等分散性をF検定により行い、等分散であった場合にはStudent のt検定、等分散でない場合にはWelch のt検定で行った。

A L P (雄) の背景データ

(単位: IU/L)

試験番号	個別データ	平均	SD	試験番号	個別データ	平均	SD
4L056	1050 832 548 546 960 489	738	241.0	4L216	625 607 629 569 446 567	574	68.1
4L073	533 479 536 727 558 670	584	94.3	4L279	881 572 696 655 854 664	720	121.4
4L076	509 474 431 427 540 673	509	91.5	4L422	626 649 526 601 700 360	577	120.8
4L135	492 721 497 766 483 496	576	130.7	4L427	801 460 448 499 379 811	566	189.7
4L136	734 834 708 698 854 758	764	65.5	4L436	619 510 488 621 624 555	570	60.8
4L140	470 738 573 631 539 493	574	98.7	4L526	650 590 850 374 513 553	588	158.2
4L142	483 617 637 654 511 466	561	83.9	背景データ平均 SD	608 139.9		

本試験(4L430) のデータおよび背景データの平均との比較 (*:P<0.05, **:P<0.01)

0 mg/kg	698 712 822 529 960 640	20 mg/kg	637 556 508 445 549 395	100mg/kg	553 529 384 460 423 560	500mg/kg	397 381 498 452 417 497
平均 SD	727 * 149.1		515 86.1		485 * 73.3		440 ** 50.2

図および群別表

BODY WEIGHT (G)

STUDY NO. 4L430CE0

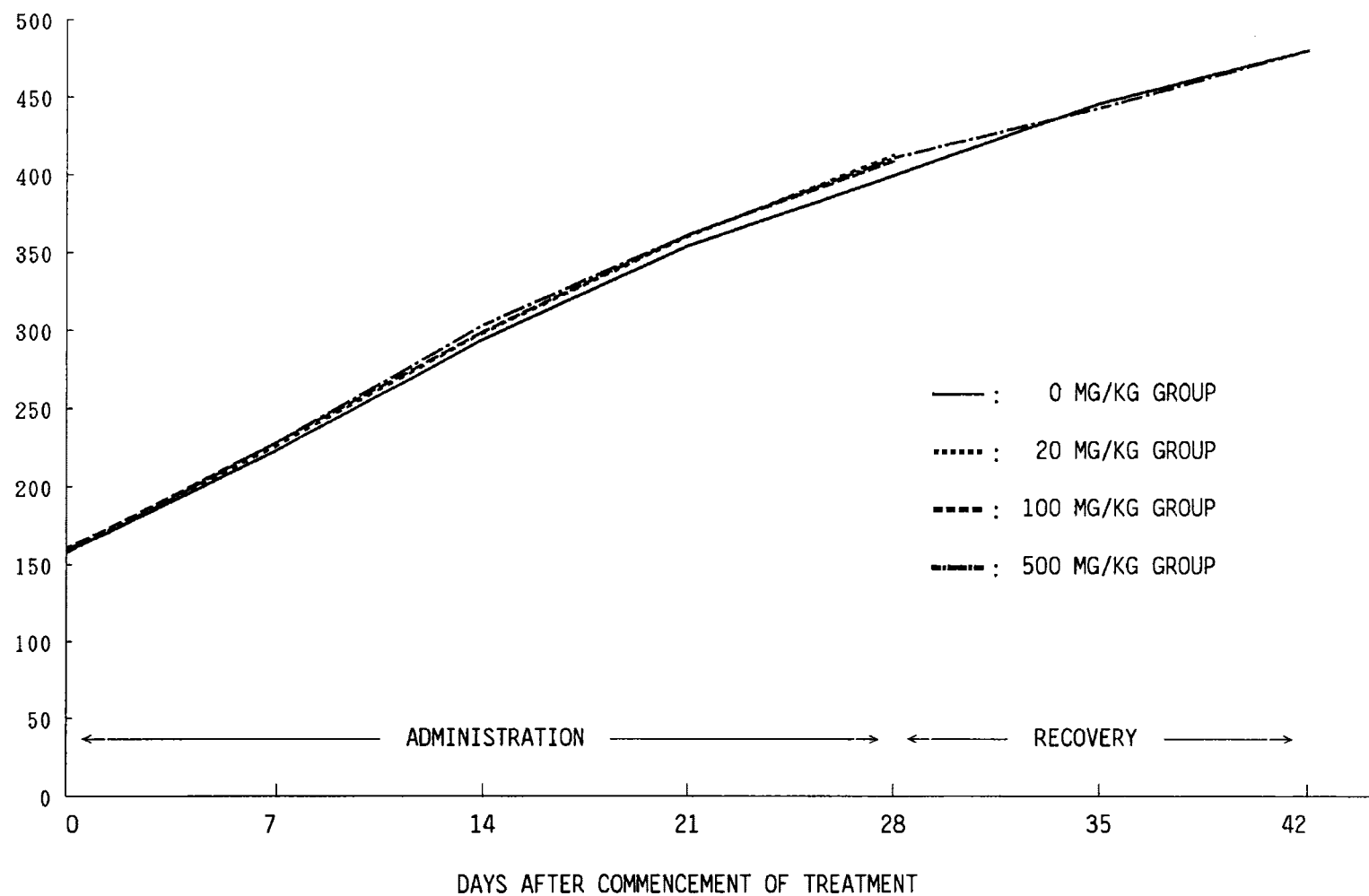


FIG. 1 - M BODY WEIGHT CHANGES IN RATS TREATED ORALLY WITH TBMA FOR 28 DAYS. [MALE]

BODY WEIGHT (G)

STUDY NO. 4L430CEO

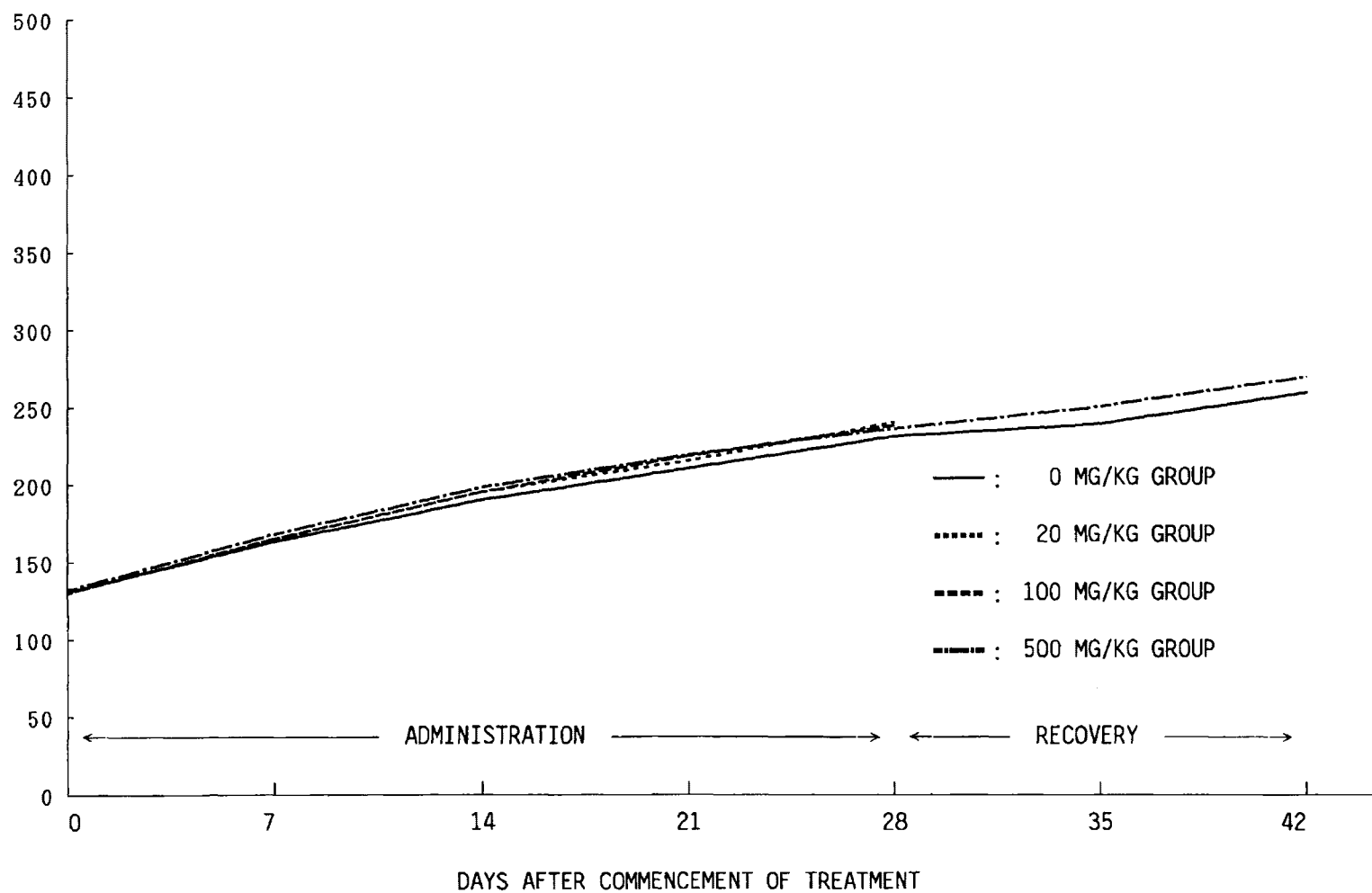


FIG. 1 - F BODY WEIGHT CHANGES IN RATS TREATED ORALLY WITH TBMA FOR 28 DAYS. [FEMALE]

TABLE 1 - M - 1
INCIDENCE OF CLINICAL SIGNS
TEST ARTICLES : TBMA
SEX : MALE

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL (MG/KG)	CLINICAL SIGNS	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT																					
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
0	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	NO ABNORMALITY	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
20	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
100	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	NO ABNORMALITY	12	12	12	12	12	12	12	11	12	11	11	11	11	10	8	8	5	6	4	5	6	7
	SAL(A) +	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	2	4	4	7	6	8	7	6	5
SAL(A) , SALIVATION AFTER ADMINISTRATION; + , SLIGHT.																							

SAL(A) , SALIVATION AFTER ADMINISTRATION; + , SLIGHT.

TABLE 1 - M - 2
INCIDENCE OF CLINICAL SIGNS
TEST ARTICLES : TBMA
SEX : MALE

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL (MG/KG)	CLINICAL SIGNS	DAYS AFTER COMMENCEMENT / CESSATION OF TREATMENT																				
		22	23	24	25	26	27	28/0	29/1	30/2	31/3	32/4	33/5	34/6	35/7	36/8	37/9	38/10	39/11	40/12	41/13	42/14
0	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
20	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6														
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6														
100	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6														
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6														
500	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	3	2	5	2	4	3	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	SAL(A) +	9	10	6	10	8	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SAL(A) ++	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

SAL(A) , SALIVATION AFTER ADMINISTRATION; + , SLIGHT; ++ , MODERATE.

TABLE 1 - F - 1
INCIDENCE OF CLINICAL SIGNS
TEST ARTICLES : TBMA
SEX : FEMALE

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL (MG/KG)	CLINICAL SIGNS	DAYS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT																					
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
0	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	NO ABNORMALITY	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
20	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
100	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	NO ABNORMALITY	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	11	12	12	12	7	9	9	7	8	7	4	6
	SAL(A) +	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	5	3	3	5	4	5	8	6

SAL(A) , SALIVATION AFTER ADMINISTRATION; + , SLIGHT.

TABLE 1 - F - 2
INCIDENCE OF CLINICAL SIGNS
TEST ARTICLES : TBMA
SEX : FEMALE

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL (MG/KG)	CLINICAL SIGNS	DAYS AFTER COMMENCEMENT / CESSATION OF TREATMENT																				
		22	23	24	25	26	27	28/0	29/1	30/2	31/3	32/4	33/5	34/6	35/7	36/8	37/9	38/10	39/11	40/12	41/13	42/14
0	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
20	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6														
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6														
100	NUMBER OF ANIMALS	6	6	6	6	6	6	6														
	NO ABNORMALITY	6	6	6	6	6	6	6														
500	NUMBER OF ANIMALS	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	NO ABNORMALITY	6	5	4	8	4	5	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	SAL(A) +	6	7	8	4	8	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SAL(A) , SALIVATION AFTER ADMINISTRATION; + , SLIGHT.																						

SAL(A) , SALIVATION AFTER ADMINISTRATION; + , SLIGHT.

TABLE 2 - M - 1
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE

STUDY NO. 4L430CEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT / CESSATION OF TREATMENT						
		0	7	14	21	28/ 0	35/ 7	42/14
0	MEAN	158.	223.	294.	354.	399.	445.	479.
	S.D.	4.4	6.6	9.3	12.7	19.6	19.7	26.0
	N	12	12	12	12	12	6	6
20	MEAN	159.	226.	298.	360.	412.		
	S.D.	2.3	7.1	12.6	16.5	22.2		
	N	6	6	6	6	6		
100	MEAN	160.	228.	299.	361.	408.		
	S.D.	2.8	4.4	8.6	18.6	28.9		
	N	6	6	6	6	6		
500	MEAN	157.	228.	303.	361.	410.	442.	479.
	S.D.	4.6	8.2	13.5	21.5	31.5	22.9	27.3
	N	12	12	12	12	12	6	6

TABLE 2 - F - 1
 BODY WEIGHT - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 4L430CEO

UNIT : G

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT / CESSATION OF TREATMENT						
		0	7	14	21	28/ 0	35/ 7	42/14
0	MEAN	131.	163.	190.	210.	231.	239.	259.
	S.D.	4.9	5.8	8.1	10.2	11.1	10.6	10.7
	N	12	12	12	12	12	6	6
20	MEAN	130.	165.	195.	215.	240.		
	S.D.	3.7	8.1	11.1	12.1	15.9		
	N	6	6	6	6	6		
100	MEAN	130.	165.	195.	218.	238.		
	S.D.	4.4	5.7	14.3	21.6	28.2		
	N	6	6	6	6	6		
500	MEAN	132.	168.	198.	219.	236.	250.	269.
	S.D.	5.6	7.4	11.4	11.7	16.2	12.7	19.2
	N	12	12	12	12	12	6	6

TABLE 3 - M - 1
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE

STUDY NO. 4L430CEO

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT / CESSATION OF TREATMENT					
		7	14	21	24	35/ 7	38/10
0	MEAN	22.1	27.3	28.8	28.1	30.0	29.9
	S.D.	0.43	0.75	0.93	1.73	1.91	1.70
	N	6	6	6	6	3	3
20	MEAN	22.9	27.7	30.2	29.9		
	S.D.	1.42	1.79	2.06	2.04		
	N	3	3	3	3		
100	MEAN	23.2	28.5	29.1	28.7		
	S.D.	0.91	1.59	2.15	2.69		
	N	3	3	3	3		
500	MEAN	23.4	28.7	29.4	29.3	30.7	29.8
	S.D.	0.85	1.11	0.99	1.68	1.45	0.90
	N	6	6	6	6	3	3

TABLE 3 - F - 1
 FOOD CONSUMPTION - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE

STUDY NO. 4L430CEO

UNIT : G/ANIMAL/DAY

DOSE LEVEL MG/KG		DAYS AFTER COMMENCEMENT / CESSATION OF TREATMENT					
		7	14	21	24	35/ 7	38/10
0	MEAN	15.9	17.7	18.1	18.4	18.8	18.9
	S.D.	0.70	0.71	0.98	1.24	0.98	1.21
	N	6	6	6	6	3	3
20	MEAN	16.4	18.4	19.1	19.5		
	S.D.	0.32	0.53	1.30	0.87		
	N	3	3	3	3		
100	MEAN	16.3	18.6	18.9	18.4		
	S.D.	0.82	1.55	2.32	2.12		
	N	3	3	3	3		
500	MEAN	16.6	18.0	18.3	17.7	20.7	19.9
	S.D.	1.26	0.45	0.66	0.98	1.22	1.06
	N	6	6	6	6	3	3

TABLE 4 - FS - M - 1
HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
TEST ARTICLES : TBMA
SEX : MALE
ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		RBC COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	HT (%)	HB CONC. (G/DL)	RETICULO- CYTE COUNT (%)	MCV (μm^3)	MCH (PG)	MCHC (%)	PLATELET COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	PT (SEC)	APTT (SEC)
0	MEAN	710.	43.3	14.6	32.	61.0	20.6	33.8	110.5	13.0	17.8
	S.D.	19.2	1.30	0.47	2.6	0.68	0.29	0.37	13.24	0.26	1.23
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	715.	43.4	14.5	35.	60.7	20.3	33.5	107.8	13.1	17.6
	S.D.	17.9	0.94	0.33	3.9	0.83	0.43	0.43	12.54	0.25	1.13
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	713.	42.5	14.2	33.	59.6	19.9	33.4	104.1	12.8	18.1
	S.D.	11.4	0.69	0.34	5.2	1.62	0.68	0.35	10.15	0.20	0.68
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	705.	42.2	14.2	37.	59.8	20.1	33.6	103.3	12.9	17.7
	S.D.	28.1	1.23	0.43	6.5	1.01	0.50	0.32	18.40	0.33	1.44
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

TABLE 4 - FS - F - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CED

DOSE LEVEL MG/KG		RBC COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	HT (%)	HB CONC. (G/DL)	RETICULO- CYTE COUNT (%)	MCV (μm^3)	MCH (PG)	MCHC (%)	PLATELET COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	PT (SEC)	APTT (SEC)
0	MEAN	739.	43.1	14.9	28.	58.3	20.2	34.5	98.1	13.7	15.2
	S.D.	20.7	1.82	0.62	2.9	1.20	0.44	0.19	10.13	0.28	0.94
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	720.	42.5	14.8	27.	59.0	20.5	34.7	93.2	13.6	15.8
	S.D.	13.8	0.89	0.31	3.9	0.73	0.28	0.19	7.52	0.37	1.47
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	744.	43.3	14.9	23.	58.3	20.1	34.4	93.9	13.5	14.7
	S.D.	45.8	1.96	0.67	5.9	1.92	0.49	0.42	12.51	0.23	1.51
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	718.	41.6	14.2	30.	57.9	19.8	34.2	94.7	13.0	15.6
	S.D.	26.7	1.69	0.60	3.1	0.72	0.44	0.71	6.09	0.49	1.65
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , $P < 0.01$.

TABLE 4 - RS - M - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		RBC COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	HT (%)	HB CONC. (G/DL)	RETICULO- CYTE COUNT (%)	MCV (μm^3)	MCH (PG)	MCHC (%)	PLATELET COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	PT (SEC)	APTT (SEC)
0	MEAN	753.	43.6	14.9	29.	57.9	19.8	34.2	93.9	13.2	18.0
	S.D.	17.6	0.97	0.39	2.4	0.99	0.42	0.46	8.47	0.23	0.51
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	771.	43.7	14.9	28.	56.7	19.3	34.1	105.3*	13.2	17.6
	S.D.	9.9	0.88	0.26	1.8	1.27	0.40	0.17	5.65	0.50	0.85
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , $P < 0.05$.

TABLE 4 - RS - F - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		RBC COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	HT (%)	HB CONC. (G/DL)	RETICULO- CYTE COUNT (%)	MCV (μm^3)	MCH (PG)	MCHC (%)	PLATELET COUNT ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	PT (SEC)	APTT (SEC)
0	MEAN	738.	41.4	14.4	25.	56.1	19.5	34.6	85.1	13.7	15.4
	S.D.	18.5	1.17	0.44	2.2	0.97	0.41	0.23	17.72	0.25	1.56
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	722.	40.7	14.0	26.	56.3	19.4	34.4	97.5	13.8	16.6
	S.D.	26.2	1.78	0.57	6.4	1.39	0.45	0.51	17.32	0.42	1.10
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

TABLE 5 - FS - M - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		WBC COUNT ($\times 10^4/L$)	DIFFERENTIAL COUNT OF LEUKOCYTES (% OF TOTAL COUNTED CELLS)					
			LYMPHO- CYTES	NEUTROPHILS SEGMENTED	BAND	EOSINO- PHILS	BASO- PHILS	MONO- CYTES
0	MEAN	123.	93.	4.	1.	1.	0. ^{\$}	3.
	S.D.	27.3	3.9	2.2	0.8	0.5	0.0	2.1
	N	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	114.	91.	8.	0.	0.	0.	1.
	S.D.	11.3	2.2	3.1	0.8	0.5	0.0	1.0
	N	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	114.	95.	3.	0.	1.	0.	1.
	S.D.	23.1	1.6	1.6	0.4	1.2	0.0	1.2
	N	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	126.	91.	6.	1.	1.	0.	2.
	S.D.	17.3	4.2	3.2	0.5	0.5	0.0	1.6
	N	6	6	6	6	6	6	6

^{\$} , STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 5 - FS - F - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		WBC COUNT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	DIFFERENTIAL COUNT OF LEUKOCYTES (% OF TOTAL COUNTED CELLS)					
			LYMPHO- CYTES	NEUTROPHILS SEGMENTED	BAND	EOSINO- PHILS	BASO- PHILS	MONO- CYTES
0	MEAN	105.	92.	5.	1.	1.	\$	2.
	S.D.	18.7	3.6	2.3	0.8	0.9	0.0	2.1
	N	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	106.	93.	3.	0.	2.	0.	2.
	S.D.	42.7	2.9	2.6	0.4	2.3	0.0	2.4
	N	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	102.	92.	3.	0.	2.	0.	3.
	S.D.	12.5	4.5	2.1	0.4	1.9	0.0	3.3
	N	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	103.	93.	3.	0.	1.	0.	3.
	S.D.	24.8	3.9	2.8	0.4	1.5	0.0	2.7
	N	6	6	6	6	6	6	6

\$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 5 - RS - M - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CE0

DOSE LEVEL MG/KG		WBC COUNT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	DIFFERENTIAL COUNT OF LEUKOCYTES (% OF TOTAL COUNTED CELLS)					
			LYMPHO- CYTES	NEUTROPHILS SEGMENTED	BAND	EOSINO- PHILS	BASO- PHILS	MONO- CYTES
0	MEAN	75.	83.	14.	1.	1.	\$	2.
	S.D.	12.2	3.7	2.8	0.8	0.5	0.0	1.6
	N	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	88.	82.	13.	0.	0.	0.	4.
	S.D.	14.0	4.1	4.3	0.5	0.5	0.0	1.7
	N	6	6	6	6	6	6	6

\$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 5 - RS - F - 1
 HEMATOLOGY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CE0

DOSE LEVEL MG/KG		WBC COUNT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	DIFFERENTIAL COUNT OF LEUKOCYTES (% OF TOTAL COUNTED CELLS)					
			LYMPHO- CYTES	NEUTROPHILS		EOSINO- PHILS	BASO- PHILS	MONO- CYTES
				SEGMENTED	BAND			
0	MEAN	86.	90.	7.	1.	0.	\$	2.
	S.D.	20.4	5.2	3.9	0.8	0.8	0.0	1.8
	N	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	70.	87.	9.	1.	1.	0.	2.
	S.D.	12.1	5.0	4.0	1.0	0.8	0.0	1.5
	N	6	6	6	6	6	6	6

\$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 6 - FS - M - 1
CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
TEST ARTICLES : TBMA
SEX : MALE
ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	UREA NITROGEN (MG/DL)	CREATININ (MG/DL)	GLUCOSE (MG/DL)	TOTAL CHOL. (MG/DL)	TRI- GLYCERIDE (MG/DL)	TOTAL PROTEIN (G/DL)	ALBUMIN (G/DL)	A/G RATIO
0	MEAN	99.	28.	\$	727.	16.9	0.5	154.	66.	239.	6.44	3.66	1.32
	S.D.	15.7	1.0	0.0	149.1	1.75	0.05	7.7	3.7	92.9	0.113	0.066	0.048
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	101.	28.	0.	515.	16.5	0.5	149.	71.	195.	6.21	3.56	1.35
	S.D.	19.5	6.7	0.4	86.1	1.60	0.05	3.5	4.7	98.5	0.355	0.205	0.089
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	107.	31.	0.	485.	17.9	0.5	153.	77.*	178.	6.83*	3.80	1.25
	S.D.	38.4	12.5	0.0	73.3	2.48	0.05	1.9	6.7	68.0	0.215	0.062	0.072
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	102.	30.	1.	440.	15.8	0.4	153.	99.**	165.	7.18**	3.96**	1.24
	S.D.	23.4	7.8	0.5	50.2	1.63	0.05	8.5	11.0	66.2	0.140	0.106	0.067
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05 ; ** , P<0.01 ; \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 6 - FS - M - 2
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		CALCIUM	INORGANIC PHOS.	NA	K	CL
		(MG/DL)	(MG/DL)	(MEQ/L)	(MEQ/L)	(MEQ/L)
0	MEAN	9.7	9.4	143.	4.5	100.
	S.D.	0.06	0.38	0.8	0.41	0.8
	N	6	6	6	6	6
20	MEAN	9.6	9.4	144.	4.4	101.
	S.D.	0.24	0.36	0.8	0.15	1.5
	N	6	6	6	6	6
100	MEAN	9.9	9.7	143.	4.6	101.
	S.D.	0.16	0.40	0.4	0.26	0.8
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	10.0	9.3	143.	4.5	99.
	S.D.	0.29	0.41	0.6	0.40	0.8
	N	6	6	6	6	6

TABLE 6 - FS - F - 1
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	UREA NITROGEN (MG/DL)	CREATININ (MG/DL)	GLUCOSE (MG/DL)	TOTAL CHOL. (MG/DL)	TRI- GLYCERIDE (MG/DL)	TOTAL PROTEIN (G/DL)	ALBUMIN (G/DL)	A/G RATIO
0	MEAN	87.	23.	\$	339.	16.1	\$	154.	62.	57.	6.46	3.77	1.40
	S.D.	14.5	4.4	0.0	83.0	2.71	0.04	5.0	7.5	35.3	0.293	0.204	0.078
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	82.	22.	0.	339.	16.7	0.5	151.	69.	82.	6.58	3.84	1.41
	S.D.	15.4	1.7	0.4	47.8	1.24	0.04	5.9	14.1	44.5	0.340	0.178	0.027
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	92.	23.	0.	291.	16.6	0.5	150.	**	54.	*	*	1.42
	S.D.	7.1	4.0	0.0	62.2	2.81	0.04	11.1	85.	16.5	0.228	0.075	0.069
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	97.	19.	1.	241.	15.5	0.5	147.	**	57.	**	**	1.44
	S.D.	25.7	3.9	0.5	39.4	2.25	0.00	9.9	98.	35.1	0.285	0.098	0.067
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05 ; ** , P<0.01 ; \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 6 - FS - F - 2
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		CALCIUM	INORGANIC PHOS.	NA	K	CL
		(MG/DL)	(MG/DL)	(MEQ/L)	(MEQ/L)	(MEQ/L)
0	MEAN	9.4	8.3	143.	4.1	102.
	S.D.	0.35	0.71	0.8	0.24	2.0
	N	6	6	6	6	6
20	MEAN	9.4	8.3	143.	4.1	102.
	S.D.	0.10	0.19	0.9	0.12	1.0
	N	6	6	6	6	6
100	MEAN	9.6	8.6	143.	4.3	102.
	S.D.	0.24	0.43	1.1	0.12	0.8
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	9.4	8.1	144.	4.1	102.
	S.D.	0.26	0.55	0.6	0.27	2.1
	N	6	6	6	6	6

TABLE 6 - RS - M - 1
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	UREA NITROGEN (MG/DL)	CREATININ (MG/DL)	GLUCOSE (MG/DL)	TOTAL CHOL. (MG/DL)	TRI- GLYCERIDE (MG/DL)	TOTAL PROTEIN (G/DL)	ALBUMIN (G/DL)	A/G RATIO
0	MEAN	106.	34.	0. \$	579.	22.0	0.5	156.	66.	167.	6.74	3.55	1.12
	S.D.	23.6	4.8	0.0	136.5	1.15	0.05	6.3	6.9	66.9	0.275	0.062	0.069
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	108.	37.	0.	535.	21.6	0.4	161.	81. *	199.	7.12 *	3.70 *	1.09
	S.D.	33.2	7.4	0.0	94.9	0.82	0.05	11.2	12.9	51.8	0.295	0.115	0.041
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , $P < 0.05$; \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 6 - RS - M - 2
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CE0

DOSE LEVEL MG/KG			INORGANIC			
		CALCIUM (MG/DL)	PHOS. (MG/DL)	NA (MEQ/L)	K (MEQ/L)	CL (MEQ/L)
0	MEAN	9.4	7.2	144.	4.3	101.
	S.D.	0.18	0.52	0.6	0.21	1.4
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	9.6	7.7	143.	4.6*	100.
	S.D.	0.19	0.20	0.8	0.22	1.2
	N	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05.

TABLE 6 - RS - F - 1
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CE0

DOSE LEVEL MG/KG		GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	UREA NITROGEN (MG/DL)	CREATININ (MG/DL)	GLUCOSE (MG/DL)	TOTAL CHOL. (MG/DL)	TRI- GLYCERIDE (MG/DL)	TOTAL PROTEIN (G/DL)	ALBUMIN (G/DL)	A/G RATIO
0	MEAN	90.	28.	\$ 0.	350.	20.8	0.4	149.	64.	77.	6.79	3.80	1.28
	S.D.	18.6	2.9	0.0	71.1	3.20	0.04	11.8	3.9	15.8	0.377	0.240	0.044
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	90.	26.	0.	360.	20.9	0.5	160.	69.	90.	7.00	3.88	1.24
	S.D.	23.2	4.2	0.0	91.0	3.53	0.08	10.7	12.2	37.2	0.410	0.221	0.044
	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

\$ / STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 6 - RS - F - 2
 CLINICAL CHEMISTRY - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CED

DOSE LEVEL MG/KG		CALCIUM (MG/DL)	INORGANIC PHOS. (MG/DL)	NA (MEQ/L)	K (MEQ/L)	CL (MEQ/L)
0	MEAN	9.3	6.8	144.	4.1	103.
	S.D.	0.20	1.13	0.5	0.60	1.5
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	9.5	7.0	143.	4.0	102.
	S.D.	0.26	0.91	0.4	0.24	1.7
	N	6	6	6	6	6

TABLE 7 - C1 - M - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 3 WEEKS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	PH						PROTEIN (MG/DL)					GLUCOSE (G/DL)					KETONES (MG/DL)					BILIRUBIN			OCCULT BLOOD					UROBILINOGEN (EU/DL)					
		6.5	7	7.5	8	8.5	9	-	TR	30	100	≥300	-	0.1	0.25	0.5	≥1	-	5	15	40	≥80	-	1+	2+	3+	-	TR	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8
0	12	1	0	0	2	8	1	0	1	7	3	1	12	0	0	0	0	0	8	4	0	0	12	0	0	0	10	2	0	0	0	10	2	0	0	0
20	6	0	0	0	3	2	1	0	0	2	4	0	6	0	0	0	\$ 0	0	2	4	0	0	6	0	0	\$ 0	6	0	0	0	0	3	3	0	0	0
100	6	0	0	1	0	5	0	0	0	2	4	0	6	0	0	0	\$ 0	0	6	0	0	0	6	0	0	\$ 0	3	1	2	0	*	6	0	0	0	0
500	12	0	0	1	6	4	1	0	0	1	2	9***	12	0	0	0	\$ 0	0	4	8	0	0	8	4	0	*	3	0	5	3	1***	8	4	0	0	0

- , NEGATIVE ; TR , TRACE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05 ; *** , P<0.001 ; \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 7 - C1 - F - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 3 WEEKS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	PH						PROTEIN (MG/DL)					GLUCOSE (G/DL)					KETONES (MG/DL)					BILIRUBIN				OCCULT BLOOD					UROBILINOGEN (EU/DL)				
		6	6.5	7	7.5	8	8.5	-	TR	30	100	≥300	-	0.1	0.25	0.5	≥1	-	5	15	40	≥80	-	1+	2+	3+	-	TR	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8
0	12	0	1	1	1	6	3	2	4	5	0	1	12	0	0	0	0	4	7	1	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	0	9	3	0	0	0
20	6	0	0	1	0	0	5	1	3	2	0	0	6	0	0	0	\$ 0	3	3	0	0	0	6	0	0	\$ 0	6	0	0	0	\$ 0	4	2	0	0	0
100	6	1	0	0	0	1	4	0	3	1	0	2	6	0	0	0	\$ 0	1	4	1	0	0	6	0	0	\$ 0	5	0	1	0	0	5	1	0	0	0
500	12	5	1	0	0	0	6	0	1	3	3	** 5	12	0	0	0	\$ 0	1	8	3	0	0	12	0	0	\$ 0	9	1	0	1	1	5	7	0	0	0

- , NEGATIVE ; TR , TRACE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01 ; \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 7 - C2 - M - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 1 WEEKS AFTER CESSATION OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	PH		PROTEIN (MG/DL)					GLUCOSE (G/DL)					KETONES (MG/DL)					BILIRUBIN			OCCULT BLOOD					UROBILINOGEN (EU/DL)					
		8	8.5	-	TR	30	100	≥300	-	0.1	0.25	0.5	≥1	-	5	15	40	≥80	-	1+	2+	3+	-	TR	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8
0	6	2	4	0	0	2	3	1	6	0	0	0	0	0	3	3	0	0	6	0	0	0	4	1	1	0	0	6	0	0	0	0
500	6	2	4	0	0	1	5	0	6	0	0	0	0	0	3	3	0	0	5	1	0	0	3	0	2	1	0	6	0	0	0	0

- , NEGATIVE ; TR , TRACE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.
 \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 7 - C2 - F - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 1 WEEKS AFTER CESSATION OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	PH								PROTEIN (MG/DL)					GLUCOSE (G/DL)					KETONES (MG/DL)					BILIRUBIN			OCCULT BLOOD				UROBILINOGEN (EU/DL)					
		6	6.5	7	7.5	8	8.5	9	-	TR	30	100	≥300	-	0.1	0.25	0.5	≥1	-	5	15	40	≥80	-	1+	2+	3+	-	TR	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8
0	6	0	0	0	0	2	4	0	3	2	1	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0
500	6	1	0	2	0	1	0	2	0	0	5	1	0	6	0	0	0	0	1	5	0	0	0	5	1	0	0	5	0	1	0	0	3	3	0	0	0

- , NEGATIVE ; TR , TRACE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05 ; ** , P<0.01 ; \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 8 - C1 - M - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 3 WEEKS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		SPECIFIC GRAVITY	VOLUME (ML/DAY)	NA (MEQ)	K (MEQ)	CL (MEQ)
0	MEAN	1.052	16.1	1.52	3.88	2.01
	S.D.	0.0117	5.58	0.457	0.605	0.355
	N	12	12	12	12	12
20	MEAN	1.049	17.4	1.73	3.92	2.08
	S.D.	0.0135	5.06	0.319	0.524	0.304
	N	6	6	6	6	6
100	MEAN	1.060	13.9	1.47	3.97	1.96
	S.D.	0.0070	2.73	0.429	0.619	0.428
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	1.064	15.9	1.73	4.02	2.14
	S.D.	0.0127	4.03	0.411	0.764	0.465
	N	12	12	12	12	12

TABLE 8 - C1 - F - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 3 WEEKS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		SPECIFIC GRAVITY	VOLUME (ML/DAY)	NA (MEQ)	K (MEQ)	CL (MEQ)
0	MEAN	1.060	9.8	1.15	2.42	1.26
	S.D.	0.0144	3.87	0.184	0.308	0.148
	N	12	12	12	12	12
20	MEAN	1.053	10.5	0.99	2.42	1.24
	S.D.	0.0143	2.98	0.219	0.338	0.213
	N	6	6	6	6	6
100	MEAN	1.053	14.5	1.19	2.71	1.45
	S.D.	0.0246	9.03	0.232	0.633	0.328
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	1.073	8.9	0.91	2.23	1.13
	S.D.	0.0165	2.66	0.221	0.329	0.178
	N	12	12	12	12	12

TABLE 8 - C2 - M - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 1 WEEKS AFTER CESSATION OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430003

DOSE LEVEL MG/KG		SPECIFIC GRAVITY	VOLUME (ML/DAY)	NA (MEQ)	K (MEQ)	CL (MEQ)
0	MEAN	1.059	16.0	1.32	4.10	1.83
	S.D.	0.0135	2.95	0.296	0.526	0.269
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	1.056	18.5	1.67	4.34	1.97
	S.D.	0.0082	4.57	0.326	0.514	0.279
	N	6	6	6	6	6

TABLE 8 - C2 - F - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 1 WEEKS AFTER CESSATION OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		SPECIFIC GRAVITY	VOLUME (ML/DAY)	NA (MEQ)	K (MEQ)	CL (MEQ)
0	MEAN	1.071	8.4	0.91	2.59	1.09
	S.D.	0.0099	2.42	0.072	0.487	0.240
	N	6	6	6	6	6
500	MEAN	1.070	9.8	1.03	2.71	1.21
	S.D.	0.0174	2.37	0.231	0.211	0.141
	N	6	6	6	6	6

TABLE 9 - C1 - M - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 3 WEEKS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	AMP CRYSTALS				RED BLOOD CELLS				WHITE BLOOD CELLS				EPITHELIAL CELLS				HYALINE CAST				SPERM			
		-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+
0	12	3	6	3	0	7	5	0	0	6	6	0	0	0	10	2	0	8	4	0	0	3	9	0	0
20	6	1	2	1	2	3	3	0	0	6	0	0	0*	0	5	1	0	4	2	0	0	3	3	0	0
100	6	2	3	1	0	5	1	0	0	3	3	0	0	0	5	0	1	5	1	0	0	3	3	0	0
500	12	2	8	2	0	3	4	4	1*	7	5	0	0	0	10	2	0	9	3	0	0	5	7	0	0

- , NEGATIVE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.
 AMP , AMMONIUM MAGNESIUM PHOSPHATE.
 * SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05.

TABLE 9 - C1 - F - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 3 WEEKS AFTER COMMENCEMENT OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CED

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	AMP CRYSTALS				RED BLOOD CELLS				WHITE BLOOD CELLS				EPITHELIAL CELLS				HYALINE CAST			
		-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+
0	12	6	6	0	0	11	0	1	0	9	3	0	0	0	12	0	0	12	0	0	0
20	6	6	0	0	*	6	0	0	0	2	3	1	0	2	4	0	*	6	0	0	\$
100	6	4	2	0	0	5	1	0	0	4	2	0	0	0	5	1	0	5	1	0	0
500	12	6	6	0	0	10	0	2	0	5	6	1	0	0	8	4	*	11	1	0	0

- , NEGATIVE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.

AMP , AMMONIUM MAGNESIUM PHOSPHATE.

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , $P < 0.05$; \$, STATISTICAL ANALYSIS IMPOSSIBLE.

TABLE 9 - C2 - M - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 1 WEEKS AFTER CESSATION OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	AMP CRYSTALS				RED BLOOD CELLS				WHITE BLOOD CELLS				EPITHELIAL CELLS				HYALINE CAST				SPERM			
		-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+
0	6	0	5	1	0	5	1	0	0	4	2	0	0	0	4	2	0	3	3	0	0	0	5	1	0
500	6	0	4	2	0	0	6	0	0	2	4	0	0	0	4	2	0	2	4	0	0	0	6	0	0

- , NEGATIVE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.
 AMP , AMMONIUM MAGNESIUM PHOSPHATE.
 * SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 9 - C2 - F - 1
 URINALYSIS - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 1 WEEKS AFTER CESSATION OF TREATMENT

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG	NUMBER EXAMINED	AMP CRYSTALS				WHITE BLOOD CELLS				EPITHELIAL CELLS				HYALINE CAST			
		-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+
0	6	3	3	0	0	6	0	0	0	2	4	0	0	6	0	0	0
500	6	5	0	1	0	4	1	1	0	2	3	1	0	5	1	0	0

- , NEGATIVE ; 1+ , SLIGHT ; 2+ , MODERATE ; 3+ , SEVERE.
 AMP , AMMONIUM MAGNESIUM PHOSPHATE.

TABLE 10 - FS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)	ADRENALS (MG)	SPLEEN (G)	TESTES (G)
0	MEAN	398.	2.11	676.	15.97	2.81	63.0	0.84	3.21
	S.D.	24.7	0.079	76.3	1.227	0.189	4.37	0.029	0.134
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	411.	2.08	814.	17.23	3.01	64.5	0.95	3.19
	S.D.	22.0	0.063	193.2	2.284	0.161	6.57	0.130	0.116
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	406.	2.14	660.	19.25	3.13	61.4	0.83	3.28
	S.D.	28.1	0.057	105.3	2.023	0.241	8.84	0.090	0.159
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	419.	2.12	823.	26.42	3.56	60.8	0.89	3.23
	S.D.	40.8	0.048	132.5	4.796	0.332	9.77	0.087	0.145
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 10 - FS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)	ADRENALS (MG)	SPLEEN (G)	OVARIES (MG)
0	MEAN	236.	1.91	500.	8.72	1.69	67.3	0.49	102.4
	S.D.	11.3	0.063	93.1	0.464	0.082	4.93	0.057	5.81
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	241.	1.92	561.	9.26	1.71	72.8	0.53	93.1
	S.D.	15.2	0.055	102.1	1.012	0.090	13.54	0.049	11.59
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	238.	1.89	529.	9.07	1.76	62.1	0.48	94.6
	S.D.	28.4	0.089	68.8	1.241	0.168	6.32	0.042	11.41
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	238.	1.89	559.	11.97**	2.00**	68.4	0.54	111.8
	S.D.	21.6	0.049	75.4	1.748	0.124	10.12	0.088	18.15
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 10 - RS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)	ADRENALS (MG)	SPLEEN (G)	TESTES (G)
0	MEAN	482.	2.13	494.	19.10	3.09	60.9	0.87	3.53
	S.D.	22.2	0.082	73.4	1.071	0.196	6.55	0.073	0.203
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	479.	2.14	544.	21.99*	3.46*	61.9	0.87	3.64
	S.D.	26.6	0.056	140.6	2.750	0.272	9.26	0.104	0.278
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05.

TABLE 10 - RS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (ABSOLUTE) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN (G)	THYMUS (MG)	LIVER (G)	KIDNEYS (G)	ADRENALS (MG)	SPLEEN (G)	OVARIES (MG)
0	MEAN	257.	1.93	445.	9.27	1.78	65.6	0.57	103.8
	S.D.	10.4	0.080	114.5	0.556	0.073	8.35	0.099	15.55
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	269.	1.97	509.	11.19**	1.97**	72.2	0.56	116.7
	S.D.	19.3	0.069	82.2	1.256	0.122	6.12	0.065	22.75
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , P<0.01.

TABLE 11 - FS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS ($\times 10^{-3}$)	ADRENALS ($\times 10^{-3}$)	SPLEEN	TESTES
0	MEAN	398.	0.53	171.	4.02	0.71	15.9	0.21	0.81
	S.D.	24.7	0.037	24.1	0.147	0.041	1.11	0.013	0.047
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	411.	0.51	197.	4.18	0.73	15.8	0.23	0.78
	S.D.	22.0	0.031	42.8	0.377	0.034	1.77	0.026	0.050
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	406.	0.53	162.	4.74 [*]	0.77	15.1	0.21	0.81
	S.D.	28.1	0.030	19.8	0.366	0.060	2.05	0.021	0.067
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	419.	0.51	196.	6.27 ^{**}	0.85 ^{**}	14.5	0.21	0.78
	S.D.	40.8	0.051	27.2	0.555	0.046	2.18	0.010	0.064
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , * , P<0.05 ; ** , P<0.01.

TABLE 11 - FS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (4 WEEK)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS	ADRENALS ($\times 10^{-3}$)	SPLEEN	OVARIES ($\times 10^{-3}$)
0	MEAN	236.	0.81	212.	3.69	0.72	28.6	0.21	43.5
	S.D.	11.3	0.053	37.6	0.145	0.041	2.37	0.029	3.79
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
20	MEAN	241.	0.80	233.	3.84	0.71	30.5	0.22	38.9
	S.D.	15.2	0.063	40.3	0.232	0.052	6.86	0.013	5.55
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
100	MEAN	238.	0.80	223.	3.81	0.74	26.3	0.21	40.1
	S.D.	28.4	0.077	9.7	0.162	0.045	2.40	0.024	5.18
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	238.	0.80	235.	5.02	0.84	29.1	0.23	47.1
	S.D.	21.6	0.062	15.7	0.433	0.057	6.14	0.024	7.54
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , $P < 0.01$.

TABLE 11 - RS - M - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : MALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CE0

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS	ADRENALS ($\times 10^{-3}$)	SPLEEN	TESTES
0	MEAN	482.	0.44	102.	3.96	0.64	12.7	0.18	0.73
	S.D.	22.2	0.023	13.3	0.210	0.037	1.03	0.012	0.050
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	479.	0.45	114.	4.58**	0.72**	12.9	0.18	0.76
	S.D.	26.6	0.021	27.4	0.426	0.038	1.59	0.021	0.056
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , $P < 0.01$.

TABLE 11 - RS - F - 1
 ORGAN WEIGHT (RELATIVE : PERCENTAGE OF BODY WEIGHT) - GROUP MEAN VALUES
 TEST ARTICLES : TBMA
 SEX : FEMALE
 ANIMALS KILLED ON SCHEDULE (RECOVERY)

STUDY NO. 4L430CEO

DOSE LEVEL MG/KG		FINAL BODY WEIGHT (G)	BRAIN	THYMUS ($\times 10^{-3}$)	LIVER	KIDNEYS	ADRENALS ($\times 10^{-3}$)	SPLEEN	OVARIES ($\times 10^{-3}$)
0	MEAN	257.	0.75	173.	3.61	0.69	25.6	0.22	40.6
	S.D.	10.4	0.048	41.4	0.155	0.034	3.83	0.032	7.11
	N	6	6	6	6	6	6	6	6
500	MEAN	269.	0.74	189.	4.16**	0.74	27.1	0.21	43.6
	S.D.	19.3	0.049	26.8	0.212	0.033	3.52	0.018	8.88
	N	6	6	6	6	6	6	6	6

* SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM CONTROL VALUE , ** , $P < 0.01$.

TABLE 12
INCIDENCE OF NECROPSY FINDINGS
TEST ARTICLES : TBMA

STUDY NO. 4L430CEO

Period		:	4 Week								Recovery			
Sex		:	Male				Female				Male		Female	
Organ	Dose level(mg/kg)	:	0	20	100	500	0	20	100	500	0	500	0	500
Findings	Number of animals	:	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Liver														
Enlargement	(+)		0	0	0	2	0	0	0	5	0	0	0	1
	(++)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Hepatodiaphragmatic nodule			0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Kidney														
Pyelectasis	(+)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

+ , Slight; ++ , Moderate.

TABLE 13
INCIDENCE OF HISTOLOGICAL FINDINGS
TEST ARTICLES : TBMA

STUDY NO. 4L430CEO

Period		:	4 Week								Recovery			
Sex		:	Male				Female				Male		Female	
Organ	Dose level(mg/kg)	:	0	20	100	500	0	20	100	500	0	500	0	500
Findings	Number of animals	:	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Liver														
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	(+)		0	0	4	6	0	0	0	6	0	0	0	0
Fatty change, focal	(+)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis, focal	(+)		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney														
Hyaline droplet, tubular epithelium	(+)		3	3	4	1	0	*	*	0	5	4	*	*
	(++)		0	0	2	4	0	*	*	0	0	0	*	*
Basophilic change, tubular epithelium, proximal	(+)		0	0	1	3	0	*	*	0	0	5	*	*
Cyst	(+)		1	0	1	0	2	*	*	0	0	0	*	*
Pyelectasis	(+)		1	0	0	0	0	*	*	0	0	0	*	*
Heart														
			ND	*	*	ND	ND	*	*	ND	*	*	*	*
Spleen														
			ND	*	*	ND	ND	*	*	ND	*	*	*	*
Adrenal														
			ND	*	*	ND	ND	*	*	ND	*	*	*	*

+ , Slight; ++ , Moderate; * , Not examined; ND , No abnormalities were detected.