食薬セ研第１０－１６３４号

２０００年　８月１４日

N,N-ジメチルメタンアミンのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

厚生省生活衛生局　委託

財団法人食品薬品安全センター

秦　野　研　究　所

【目　　次】

頁

要　約 …… 1

緒　言 …… 3

方　法 …… 4

1．被験物質 …… 4

2．投与検体の調製 …… 4

3．使用動物および飼育条件 …… 4

4．群分けおよび個体識別 …… 5

5．投与量、群構成、投与期間および投与方法 …… 5

6．観察方法 …… 7

7．統計解析 …… 10

結　果 …… 11

1．一般毒性所見 …… 11

1）一般状態 …… 11

2）体重 …… 11

3）摂餌量 …… 11

4）性周期 …… 11

5）尿検査 …… 11

6）血液学検査所見 …… 12

7）血液生化学検査所見 …… 12

8）病理学検査所見 …… 12

2．生殖発生毒性所見 …… 15

1）親動物所見 …… 15

2）出生児所見 …… 16

考　察 …… 17

文　献 …… 20

Tables　　(Table 1～Table 21)

【要　　約】

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、*N,N*-ジメチルメタンアミン（以下、TMA）の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行った。すなわち、TMA の 0（媒体）、8、40 および 200 mg/kg を Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD)IGS] ラットの雌雄（各13匹／群）に交配前 2 週間ならびに交配期間 2 週間を通して経口投与し、さらに雄では交配期間終了後 2 週間、雌では妊娠期間を通して分娩後哺育 4 日まで投与を継続して、親動物に対する反復投与毒性および生殖能力ならびに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。結果は以下のように要約される。

1．一般毒性所見

200 mg/kg 投与群において雄に 2 例、雌に 1 例の死亡が認められた。

主な一般状態の変化として、雌雄ともに 200 mg/kg 投与群で異常呼吸音および投与直後の流涎がみられた。また、同群の雄では体重の増加抑制傾向がみられ、摂餌量も減少した。雄の 200 mg/kg 投与群においては総蛋白濃度およびアルブミン濃度の減少が認められた。200 mg/kg 投与群の雌雄では胃腸管に潰瘍および炎症性変化、粘膜上皮の過形成や粘膜下織の水腫がみられた。その他の生殖器官を含む主要器官には被験物質の投与の影響と考えられる変化は観察されなかった。

雌の体重および摂餌量、性周期、雌雄の器官重量、尿検査結果および血液学検査結果には被験物質投与の影響はなかった。

2．生殖発生毒性所見

1）親動物所見

雌雄動物の交尾率、受胎率には、TMA 投与の影響は認められなかった。

また、分娩および哺育状態の異常は観察されず、産児数、分娩率、妊娠期間、妊娠黄体数、着床数ならびに着床率には TMA 投与の影響はなかった。

2）出生児所見

生児出生率、出産生児数、哺育 4 日の生児数、新生児の 4 日の生存率、性比、生児の体重および形態に TMA 投与の影響はなかった。

3．評価

以上の試験成績から、本試験条件下では雌雄とも TMA の 200 mg/kg 投与群では胃腸管粘膜の著しい病理学変化ならびに死亡等が認められる事から一般毒性に関する無作用量は 40 mg/kg/day、生殖発生毒性的な変化はいずれの投与群でも認められなかった事から無作用量は雌雄共に 200 mg/kg/day、また、産児に対する無作用量も 200 mg/kg/day であると判断される。

【緒　　言】

N,N-ジメチルメタンアミン（以下、TMA）は、砂糖大根から砂糖、ベタインを抽出した残余中から主として抽出される鎖式脂肪族化合物である[1]。TMA 複合体は植物、動物、特に魚の組織中に大量に存在し、ヒトおよび動物では腸内酵素によって生成され、通常、肝臓において代謝を受け、ジメチルアミンあるいはトリメチルアミンオキシドになって尿中に排出される[2]。ヒトでは、この代謝酵素（トリメチルアミンオキシダーゼ）の先天性欠損症が知られており、その特徴的な臭気から魚臭病と呼ばれている[3]。

1984年、インドのボパールで起きた殺虫剤製造工場での事故によって、大気中に大量のメチルイソシアニド（以下、MIC）が放出されたために、多数の死者が発生し、その後もこの地方で不妊、流産、死産、早産の発現率が増加した事例は、近年における最大の環境汚染事故として有名である[4]。後年行われた動物実験の結果から、MIC には発癌性および生殖毒性があることが報告されている[5]。本試験の被験物質である TMA は MIC の主要代謝物であるが[6]、妊娠マウスに TMA を投与すると胎児期および出生後の発育抑制が特に雄で強く認められたとする報告もある[7]。しかし、TMA の反復投与毒性および生殖発生毒性についての報告はない。

今回、OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として TMA の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験（以下、併合試験）を行い、同化合物の雌雄ラットに及ぼす一般毒性ならびに生殖発生毒性的影響について検討したので、その結果を報告する。

【方　　法】

1．被験物質

被験物質として*N,N*-ジメチルメタンアミン（以下、TMA）を用いた。被験物質の英名は*N,N*-dimethylmethanamineであり、CAS No.：75-50-3 、分子量：59.11、分子式：C_3H_9N、のガス体である。TMA の構造式を以下に示す。

構造式　$(CH_3)_3N$

本試験には、　　より提供された TMA の水溶液（ロット番号：　　含有量：30.8 wt%）を用いた。TMA の水溶液は無色透明で、不純物として10ppm以下のジメチルアミンを含有していた。受領した被験物質は、入手後、使用時まで被験物質保管室において冷蔵保管した。試験に使用した被験物質の残余について、提供者により再度、品質試験を実施した結果、試験期間中の被験物質の安定性が確認された(Appendix E) 。

2．投与検体の調製

投与に使用した検体は、供給された 30.8 wt% 水溶液を日局注射用水（光製薬株式会社、製造番号：9707SA）にて希釈し、いずれの用量においても1回の投与液量が 10 mL/kg 体重になるように濃度を調整した。調製した検体は、冷蔵、遮光下で保管し、調製後7日以内に投与した。なお、0.08 および10 %(w/v) の濃度の調製液については、冷蔵、遮光条件下で少なくとも8日間安定であることが、併合試験に先立って実施された「*N,N*-ジメチルメタンアミンのラットにおける急性経口投与毒性試験（試験計画番号:A-98-023）」において確認されており (Appendix A)、また、試験中に調製した投与検体[0.08、0.40、2.00 %(w/v)]には所定濃度の TMA が含有されていたことを確認した(Appendix B)。注射用水中の TMA 濃度の測定法の概略を Appendix C に示した。なお、本投与検体は溶液であることから均一性試験は実施しなかった。

3．使用動物および飼育条件

試験には、雌雄とも7週齢にて購入（入荷日：雌雄ともに1999年2月10日）した日本チャールス・リバー㈱筑波飼育センター生産の Sprague-Dawley 系ラット（Crj:CD (SD)IGS、

SPF)を使用した。購入した動物は、入荷後2週間、馴化と検疫を兼ねて予備飼育し試験に供した。なお、動物の入荷、検疫ならびに群分け時の体重範囲を Appendix D に示した。

検疫期間中、毎日全ての雌動物の膣垢塗抹標本を作製し性周期を観察した。各動物は基準温度 24±1℃、基準湿度 50～65%、換気回数約15回／時ならびに照明12時間（午前7時 ～ 午後7時）に制御された飼育室で、金属製金網床ケージ（220 × 270 × 190 mm）に個別に収容して飼育し、固型飼料（CE-2、日本クレア㈱）および水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取させた。妊娠14日（交尾確認日＝妊娠0日）以後の雌動物については、プラスチック製ラット用繁殖ケージ（350 × 400 × 180 mm）に収容し、床敷として紙パルプ製チップ（ALPHA-dri、加商㈱）を適宜供給した。なお、飼育期間中、飼育室の温度は 23.5～26.0℃、湿度は 50～69%の範囲にあったが、基準温度ならびに基準湿度からの逸脱はいずれも1時間以内であった。供給した飼料、飲料水および床敷には試験に支障を来す可能性のある混入物は認められなかった。

4．群分けおよび個体識別

雄は検疫終了日の体重をもとに、雌は規則的に4日あるいは5日で性周期を回帰している動物を選択し、さらに検疫終了日の体重を考慮して、体重別層化無作為抽出法により群分けし、各群とも雌雄各13匹を配した。

群分け後これらの全ての動物は、耳パンチにより個体を識別した。また、個体識別を容易にする目的で群毎に色の異なるカードを各飼育ケージに掛け、これに試験計画番号および個体識別番号を記入した。なお、産児は個体を識別しなかった。

5．投与量、群構成、投与期間および投与方法

TMA の投与量は、投与量設定のために実施した予備試験の結果を参考に設定した。

予備試験の投与量は、急性経口投与毒性予備試験の結果をもとに設定した。急性経口投与毒性予備試験では、250 、500 ならびに 1000 mg/kg のTMA を各群雌雄各3匹のラットに投与した。その結果、500 mg/kg 投与群では雄で1例、雌で2例、1000 mg/kg 投与群では雄で2例、雌で3例の死亡が認められた。250 mg/kg 以上の投与群の生存例においても体重の増加抑制がみられた。また、一般状態の変化として、500 mg/kg 以上の投与群で異常姿勢、体温の低下、鎮静等の所見が認められた。死亡例の剖検所見においては腹水、胃粘膜の肥厚および赤色化、腸管の赤色化ならびに腎臓の皮質の淡色化等がみられた。被

験物質の水溶液は強アルカリ性で皮膚への腐食性を有することから、急性経口投与毒性予備試験において認められた消化管の変化や腹水は、被験物質の刺激性による影響と考えられた。250 mg/kg の単回投与では体重の増加抑制のみが観察され、一般状態の変化、消化管への影響は明確ではなかったが、反復投与することにより、一般状態の著しい変化、消化管の毒性が重篤になる可能性が予想されたことから、反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合予備試験の高用量を急性経口投与毒性予備試験の低用量の約2分の1量である100 mg/kg と設定した。中用量以下は公比を2としてそれぞれ 50 ならびに 25 mg/kg に設定し、14日間反復強制経口投与し、溶媒を同容量投与した対照群の動物と比較した。その結果、雌雄ともいずれの投与群においても死亡例はなく、一般状態の変化、体重および摂餌量の推移、血液学検査および血液生化学検査結果のいずれにも明らかな被験物質投与の影響はなかった。これらのことから、TMA の 100 mg/kg の14日間の反復投与は、雌雄のいずれにも明確な毒性を見い出すことができず、42日間の反復投与毒性試験の高用量としては低すぎる用量であると判断した。一方、被験物質の 250 mg/kg の投与量は単回投与における死亡発現量の半分量であり、42日間の反復投与において投与期間中に動物が死亡する可能性が示唆された。以上の結果から、本試験の高用量を 200 mg/kg と設定し、以下公比5で除して 40 および 8 mg/kg を中および低用量と設定した。

なお、対照群には注射用水をTMA投与群と同一条件にて投与した。以下に群構成を示す。

群番号	被験物質	投与量 (mg/kg)	匹数（動物番号） 雄	雌
1	媒体（注射用水）	0	13 (MX01001～MX01013)	13 (FB01001～FB01013)
2	TMA	8	13 (MX02001～MX02013)	13 (FB02001～FB02013)
3	TMA	40	13 (MX03001～MX03013)	13 (FB03001～FB03013)
4	TMA	200	13 (MX04001～MX04013)	13 (FB04001～FB04013)

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前2週間と交配期間（2週間）および交配期間終了後2週間（剖検日前日までの連続42日間）、また、雌に対しては交配前2週間と最長2週間の交配期間中（交尾まで）、ならびに交尾した雌では妊娠期間を通して分娩の後、哺育4日（分娩日＝哺育0日）まで、交尾はしたが分娩しなかった雌は妊娠 24 日相当日まで、交尾しなかった雌は連続 54 日間、毎日1回、ラット用胃管を用いて経口投与した（投与開始日、雌雄ともに1999年2月24日）。

なお、毎日の投与は午前11時から午後3時の間に行い、各動物に投与する液量（体重1kg当たり10 mL）は最新時の体重を基に算出した。

6．観察方法

1）親動物

①一般状態の観察

雌雄とも全例について、飼育期間中毎日1回以上、投与期間中は投与前後の毎日2回以上観察した。

②体重測定

雄は全例について、投与1（投与初日）、7、14、21、28、35、42日および解剖日に、雌は全例について、投与1、7、14日に測定し、交配までに期間を要した雌では投与21および28日に、交尾が確認されなかった雌ではさらに投与35ならびに42日にも体重を測定した。また、交尾した雌では、妊娠0、7、14、20日に、分娩した雌では哺育0、4日および解剖日に体重を測定した。交尾は確認されたが分娩しなかった雌は、妊娠25日相当日（解剖日）に体重を測定した。

③摂餌量測定

雄では、投与1、7、13、29、35および41日に、雌では、投与1、7、13日にそれぞれ給餌量を測定し、翌日までの摂餌量を測定した。2週間の交配期間中の摂餌量は測定しなかった。交尾が確認されなかった雌では投与29、35および41日にも摂餌量を測定した。さらに交尾した雌では、妊娠0、7、14、20日に、分娩した雌では、哺育0、3日にそれぞれ翌日までの摂餌量を測定した。

④性周期

全例の雌について、交尾が確認されるまで腟垢塗抹標本を作製した。腟垢像より性周期を観察し、平均発情日数、発情の型を算出した。

⑤尿検査

各投与群の雌雄各5例について、投与6週に動物を代謝ケージに収容し、約4時間尿あるいは新鮮尿を採取して、pH、潜血、蛋白、糖、ウロビリノーゲン、ケトン体、ビリルビンについて試験紙法（クリニテック 200＋、バイエル・三共㈱）により、色調ならびに混濁度を視診により、それぞれ検査した。

⑥交配

交配は投与15日の夕方から最長2週間、同群内の雌雄を1対1で同居させて行った。200 mg/kg 投与群の1組（雄動物番号×雌動物番号：MX04012×FB04012）では、交配期間中の交尾確認前に雄が死亡したため（交配10日目に死亡）、同群内の既に交尾した雄動物

（動物番号：MX04001）と引き続き交配させた。

交尾の確認は毎朝、腟栓および腟垢標本中の精子の存在を調べることにより行い、交尾が確認された雌は、その日を妊娠０日と起算して雄から分離し個別に飼育した。交配の結果から、交尾率[(交尾動物数／同居動物数)×100]、受胎率[(受胎動物数／交尾動物数)×100]、同居開始から交尾までに要した日数およびその間に回帰した発情期の回数を求めた。

⑦分娩および哺育状態の観察

交尾を確認した雌は全例を自然分娩させた。分娩状態が直接観察できた動物についてはその状態を観察し、直接観察できなかった動物についても、分娩後の徴候から分娩困難や遅延などの分娩障害の有無を判断して記録した。分娩後は哺育状態を毎日観察した。

⑧分娩日の規定

分娩の確認は午前９時～11時に実施し、この時間帯に分娩が終了していることを確認した動物については、その日を分娩日と規定した。午前11時を過ぎてから分娩を終了した動物については、翌日を分娩日とした。

分娩を確認した全例について妊娠期間（妊娠０日から分娩日までの日数）を算定し、出産率［(生児出産雌数／受胎動物数)×100］を各群について求めた。

⑨血液学検査

雄全例は投与42日の翌日に、分娩した雌は哺育４日の翌日に、交尾をしたが分娩しなかった雌は妊娠25日相当日に、交尾しなかった雌は投与54日の翌日に、それぞれ前日より18～24時間絶食させた後、剖検に先立ちペントバルビタールナトリウム麻酔下で腹部後大静脈より、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを用いて採血し、プロトロンビン時間ならびに活性部分トロンボプラスチン時間を測定した。続いて、抗凝固剤として EDTA-2K を用いて採血し、以下に示すその他の項目について検査した。なお、網状赤血球比率は対照群ならびに高用量群について測定した。

項　　目	測　定　法	使　用　機　器
赤血球数（RBC）	自動（電気抵抗法）	Coulter Counter Model S-PLUS IV（ｺｰﾙﾀｰｴﾚｸﾄﾛﾆｸｽ㈱）
白血球数（WBC）	同上（　同上　）	同上
血小板数	同上（　同上　）	同上
血色素量（Hb）	同上（吸光度法）	同上
平均赤血球容積（MCV）	同上（電気抵抗法）	同上
ヘマトクリット値（Ht）	計算（RBC×MCV×0.001）	
平均赤血球血色素量(MCH)	同上（Hb×1000／RBC）	
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	同上（Hb×100／Ht）	

白血球分類	視算（静脈血塗抹標本，Wright-Giemsa 染色）	光学顕微鏡
網状赤血球比率	Brecher 法	同上
ﾌﾟﾛﾄﾛﾝﾋﾞﾝ 時間(PT)	光散乱検出法	CA-1000(東亜医用電子㈱)
活性部分ﾄﾛﾝﾎﾞﾌﾟﾗｽﾁﾝ時間 (APTT)	同上	同上

⑩血液生化学検査

全例について、血液学検査のための採血に引き続き、腹部後大静脈より抗凝固剤としてヘパリンを用いて採血し、血漿を分離して以下の項目について検査を行った。

項　　目	測　定　法	使　用　機　器
総蛋白濃度	ビウレット法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA （ロシュ㈱）
アルブミン濃度	BCG法	同上
総コレステロール濃度	COD・DAOS法	同上
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼG6PDH 法	同上
尿素窒素濃度(BUN)	ウレアーゼGℓ.DH 法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé 法	同上
ｱﾙｶﾘﾌｫｽﾌｧﾀｰｾﾞ活性(ALP)	GSCC 法	同上
GOT活性	IFCC 法	同上
GPT活性	同上	同上
γ－GTP活性	γ-ｸﾞﾙﾀﾐﾙ-3-ｶﾙﾎﾞｷｼ-4-ﾆﾄﾛｱﾆﾘﾄﾞ基質法	同上
トリグリセライド濃度	GPO・DAOS法	同上
無機リン濃度(Inorg.phos.)	モリブデン酸直接法	同上
総ビリルビン濃度	Jendrassik/Grof 法	同上
カルシウム濃度	OCPC法	同上
A/G比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05 （㈱A&T）
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

⑪病理学検査

採血後、全例について剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行った。その際、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓および副腎、雄ではさらに精巣および精巣上体の重量を測定し、併せて比体重値(相対重量）を算出した。雌では卵巣および子宮を摘出し、卵巣は実体顕微鏡下で妊娠黄体数を、子宮は着床数をそれぞれ数え、着床率[(着床数／妊娠黄体数)×100]を算出した。全例の脳、下垂体、脊髄、消化管、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、心臓、胸腺、甲状腺、気管、肺、膀胱、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、坐骨神経、大腿骨髄および全ての雄動物の精嚢ならびに前立腺腹葉、全ての雌動物の腟、卵巣ならびに子宮は10 %リン酸緩衝ホルマリン液に固定した。肺は注入固定を行った。全ての雄動物の精巣および精巣上体はブアン液に固定して保存し、その後、長期保存のために10 %リン酸緩

衝ホルマリン液に置換した。高用量群および対照群の雌雄各5例の固定した器官は、常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリンーエオジン染色を行って、病理組織学検査を実施した。なお、精巣および精巣上体、卵巣ならびに病理学検査の結果、異常が認められた胃については、全例の動物について病理組織学検査を実施した。

2）F_1出生児

①産児数の算定

哺育0日に産児数（生児＋死亡児）を調べ、分娩率[(産児数／着床痕数)×100]および生児出産率[(出産生児数／着床痕数)×100]を求めた。産児については、外表奇形の有無および性別を調べ、生児の性比[(雄の生児数/ 出産生児数)×100]を算出した。

②死亡児数の算定

死亡児数を毎日調べ、出生率[(出産生児数／産児数)×100]および新生児の4日の生存率[(哺育4日の生児数／哺育0日の生児数)×100]を求めた。死亡児は剖検した。

③体重測定

哺育0日および4日に個別に体重を測定した。

④剖検

哺育4日に全例を剖検した。

7．統計解析

交尾率ならびに受胎率については Fisher の直接確率検定を行った（有意水準：5 %）。TMA 投与群の病理組織学検査所見のうち、グレード分けしたデータはMann-WhitneyのU検定（有意水準：5 %）により、陽性グレードの合計値はFisherの直接確率の片側検定（有意水準：5 %）により対照群との間で有意差検定を行った。その他の、体重、摂餌量ならびに定期解剖例の血液学、血液生化学検査の値および器官重量は、個体ごとに得られた値あるいはlitterごとの平均値を1標本として、先ず Bartlett の方法により各群の分散の一様性について検定（有意水準：5 %）を行い、分散が一様である場合には、一元配置型の分散分析（有意水準：5 %）を実施し、群間に有意性が認められる場合は、Dunnett 法により多重比較を行った（有意水準：5 %）。一方、いずれかの群で分散が0となる場合および分散が一様でない場合には、Kruskal-Wallisの順位検定（有意水準：5 %）を行い、群間に有意性が認められる場合には、Dunnett 型の検定法により多重比較を行った（有意水準：5 %）。

【結　　果】

1．一般毒性所見

1）一般状態（Tables 1-1～1-2、2；Appendices 1-1～2-4）

200 mg/kg 投与群においては、雄で投与25日ならびに投与42日に各1例、雌で妊娠22日（投与38日）に1例の死亡が認められた。

投与25日に死亡した雄（動物番号:MX04012）は、投与19日から流涎、削痩、異常呼吸音、呼吸困難を示し、死亡前日から外陰部周囲の被毛の汚染、軟便が認められた。投与42日に死亡した雄（動物番号:MX04010）は、投与10日から非連続的ではあったが、流涎、削痩、異常呼吸音、呼吸困難、体温の低下、耳介蒼白、ふらつき歩行および鼻周囲褐色汚染が認められた。雌の死亡例（動物番号：FB04006）では投与11日から、非連続的に流涎、異常呼吸音が観察された。

生存動物では、200 mg/kg 投与群の雄において、投与9日以降、流涎が10例に1～25回、異常呼吸音が3例に1～2回、接触反応の減弱が1例に1回、それぞれ観察された。同群の雌においても投与9日以降、流涎が10例に3～27回、異常呼吸音が3例に1～8回、削痩が1例に2回、それぞれ観察された。40 mg/kg 以下の投与群では、雌雄ともに一般状態の異常は観察されなかった。

2）体重（Tables 3、4；Appendices 3-1～4-4；Fig. 1、2）

雄では、200 mg/kg 投与群において体重には統計学的有意差は認められなかったが、累積体重増加量は対照群の 82.8 %（42日間の平均累積体重増加量±標準偏差、対照群:107.2±28.1 g、200 mg/kg 投与群:88.8±16.5 g）であり、体重の増加抑制傾向が認められた。40 mg/kg 以下の投与群の体重は、対照群と同様に推移した。

雌では、体重推移に対照群と TMA 各投与群との間で有意差は認められなかった。

3）摂餌量（Tables　5、6；Appendices 5-1～6-4）

200 mg/kg 投与群の雄の摂餌量は、投与13および41日に有意に減少した。一方、雌の摂餌量には、対照群と TMA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

4）性周期（Table 7；Appendices 7-1～7-4）

発情回帰日数および発情の型に被験物質投与の影響は認められなかった。

5）尿検査（Table 8；Appendices 8-1～8-2）

尿検査の結果、雌雄ともいずれの検査項目についても、TMA 投与に起因したと考えられ

る変化は認められなかった。

6）血液学検査所見（Tables 9, 10 ; Appendices 9-1 ～10-4）

雄では40 mg/kg 以上の投与群において、平均赤血球血色素濃度の有意な増加がみられたが、他の赤血球関連の測定項目には差が認められなかったこと、病理組織学検査でも骨髄、脾臓等に血液等検査の変化に関連すると考えられる変化がみられなかったことから、偶発的な有意差であると判断した。さらに、40 mg/kg 投与群では血小板数の有意な減少がみられたが、200 mg/kg 投与群には認められないことから偶発的な有意差であると判断した。

雌では、いずれの検査項目についてもTMA 投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

7）血液生化学検査所見（Tables 11, 12 ; Appendices 11-1 ～12-4）

雄の 200 mg/kg 投与群においては総蛋白濃度およびアルブミン濃度の有意な減少ならびに尿素窒素濃度およびクレアチニン濃度の有意な増加が認められた。

雌では、40 mg/kg 以上の投与群において尿素窒素濃度の有意な増加が認められた。

8）病理学検査所見

①雄

a）剖検所見(Table 13 ; Appendix 13)

200 mg/kg 投与群の7例の前胃粘膜に肥厚がみられ、そのうち3例には陥凹部、1例には硬化部も認められた。さらに、投与期間中死亡した2例を含む3例の腺胃粘膜に赤色あるいは暗赤色の領域がみられ、死亡した動物の1例には前胃粘膜にも赤色域が認められた。また、死亡した2例の胃および腸管にはガスが貯留しており、十二指腸および空腸粘膜の赤色化あるいは空腸および回腸に赤色調の内容物が観察された。

精巣および精巣上体では 200 mg/kg 投与群で死亡したうちの1例、40 mg/kg 投与群の1例に小型化が認められ、このうち 200 mg/kg 投与群の1例は前立腺および精嚢も小型化を呈していた。また、死亡した2例では胸腺および脾臓も小型化を呈していたほか、そのうちの1例は脾臓の淡色化、腸間膜リンパ節の小型化ならびに副腎の暗色化および腫大が認められ、他の1例では肺の暗色化がみられた。

その他、対照群の精巣上体に結節、下顎リンパ節に暗赤色化がみられた。

b）器官重量（Table 14; Appendices 14-1～14-4）

雄の器官重量には、対照群と TMA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

c）病理組織学検査所見(Tables 15-1～15-2； Appendices 15-1～15-2)

精巣では200 mg/kg 投与群の投与期間終了時に屠殺した1例の精細管で伸長した精子細胞の変性が、投与期間中に死亡した2例のうち1例の精細管で精母細胞および円形の精子細胞の変性が認められた。これらの例の精巣上体では管腔内に細胞残屑がみられたほか、精子細胞の変性がみられた例では変性した精子が、精母細胞に変化がみられた例では精子数の減少がそれぞれ観察された。また、各被験物質投与群では萎縮した精細管がみられ、他の例と比較して程度の強い例では精細管内に多核巨細胞ならびに精巣上体に細胞残屑が観察されたが、対照群と各投与群の間で発現頻度および程度には明らかな差は認められなかった。その他、精巣上体では対照群で精子肉芽腫、40 mg/kg 投与群の間質でリンパ球の浸潤がそれぞれみられた。

前立腺および精嚢では、200 mg/kg 投与群で投与期間中に死亡した例のうち精巣に変化がみられた1例で萎縮が認められた。また、200 mg/kg 投与群および対照群の間質にリンパ球浸潤がみられ、他の例と比較して程度の強い例では上皮に好中球およびリンパ球の浸潤も観察されたが、対照群と各投与群の間で発現頻度および程度に明らかな差は認められなかった。

胃では200 mg/kg 投与群の全例の前胃には扁平上皮の過形成が認められ、粘膜では炎症細胞の浸潤、粘膜下織では水腫および肉芽を伴っていた（Photo 1, 2）。また、5例の粘膜に糜爛がみられそのうちの2例では潰瘍、1例では出血が認められたほか（Photo 1, 2）、漿膜に肉芽がみられる例もあった。さらに、前胃の糜爛および潰瘍の程度が他の例に比べ比較的強かった1例の腺胃では、粘膜に糜爛、出血および炎症細胞の浸潤が、粘膜下織に水腫が認められた（Photo 3, 4）。投与期間中に死亡した2例では前胃に扁平上皮の過形成が観察されたほか、1例の十二指腸および空腸の粘膜上皮にうっ血、盲腸の粘膜下織に好中球の浸潤を伴う水腫がみられたが、他の異常所見は認められなかった。

肝臓では、200 mg/kg 投与群で投与期間中に死亡した例の内、1例に限局性の壊死が観察された。また、200 mg/kg 投与群および対照群に門脈周囲性の脂肪化がみられたが、両群間の頻度および程度に差は認められなかった。

脾臓では200 mg/kg 投与群で投与期間中に死亡した例の内、1例に萎縮が観察された。また、200 mg/kg 投与群および対照群のほとんどの例に髄外造血および褐色色素の沈着がみられたが、両群間の頻度および程度に差は認められなかった。

また、200 mg/kg 投与群および対照群では腎臓の皮質に好塩基性尿細管、髄質に鉱質沈

着が、心臓の心筋に変性／線維化が、肺に泡沫細胞の集簇がみられたが、両群間の頻度および程度に差は認められなかった。

その他、対照群の甲状腺で異所性の胸腺組織、死亡した例の肺で限局性の出血がみられたほかには、他の観察器官に異常は認められなかった。

②雌

ａ）剖検所見(Table 16 ；Appendix 16)

200 mg/kg 投与群の７例の前胃粘膜に肥厚がみられ、そのうち５例は陥凹部、４例は水腫を伴っていた。また、40 および８ mg/kg 投与群の各１例の腺胃粘膜に暗色あるいは黒色の点がみられた。

投与期間中死亡した１例の胃および腸管ではガスが貯留していたほか、胸腺の小型化および肺の暗色化が認められた。

その他、200、40 mg/kg 投与群および対照群の胸腺にも小型化が認められたほか、200 mg/kg 投与群には腎臓の淡色域が、対照群では肝臓に白色点あるいは子宮内腔の拡張がみられた。

ｂ）器官重量(Table 17 ； Appendices 17-1～17-4)

雌の器官重量には、対照群と TMA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

ｃ）病理組織学的検査所見(Tables 18-1～18-2；Appendices 18-1～18-2)

子宮では200 mg/kg 投与群および対照群の不妊動物各１例に内腔の拡張がみられ、そのうち対照群の例は200 mg/kg 投与群の例と比較して程度が強く、腔上皮に好中球の浸潤を伴っており、腔には角化上皮が観察された。一方、200 mg/kg 投与群の不妊例の腔には粘液分泌上皮および角化上皮がみられた。その他、妊娠中に死亡した例の腔には粘液分泌上皮が観察された。卵巣には異常は認められなかった。

胃では200 mg/kg 投与群の11例の前胃に扁平上皮の過形成がみられ、そのうち妊娠中に死亡した例を含む８例の粘膜に糜爛あるいは潰瘍、炎症細胞の浸潤が認められたほか、７例の粘膜下織に水腫や肉芽がみられた（Photo 5）。また、潰瘍の程度が他の例と比較して強い３例の粘膜では出血がみられ、そのうち２例では漿膜にも肉芽が認められた。対照群の２例の前胃粘膜でも、潰瘍あるいは糜爛、炎症細胞の浸潤を伴う扁平上皮の過形成が観察され、そのうち１例の粘膜下織には水腫および肉芽もみられたが、200 mg/kg 投与群には変化の程度の強い例が認められた。一方、妊娠中に死亡した例では、腺胃粘膜に糜爛および潰瘍ならびに出血が認められた。その他、対照群の１例の腺胃粘膜にも糜爛がみら

れたほか、200 mg/kg 投与群の盲腸の漿膜に肉芽が、対照群の直腸の粘膜下織に水腫がみられた。

肝臓では200 mg/kg 投与群で妊娠中に死亡した1例に限局性の壊死が認められた。また、200 mg/kg 投与群および対照群に門脈周囲性の脂肪化がみられたが、両群間の頻度および程度に明らかな差は認められなかった。

脾臓では、200 mg/kg 投与群で妊娠中に死亡した1例に萎縮が認められたほか、200 mg/kg 投与群および対照群のほとんどの例で髄外造血や褐色色素の沈着がみられたが、両群間の頻度および程度に差は認められなかった。

その他、腎臓では皮質に好塩基性尿細管、近位尿細管の空胞変性、間質にリンパ球浸潤がみられ、心臓では心筋の変性／線維化が、肺では血管に鉱質沈着が、甲状腺では異所性の胸腺組織が認められた。他の観察器官に異常は認められなかった。

2．生殖発生毒性所見

1）親動物所見

①交配成績（Tables 7、19 ; Appendices 7-1 ～7-4 、19-1～19-4）

対照群（動物番号：MX01006×FB01006)ならびに40 mg/kg 投与群（動物番号：MX03005×FB03005)の各1組では、2週間の交配期間中に交尾しなかった。また、交尾はしたが不妊であった動物が、対照群に1組（動物番号：MX01003×FB01003)、200 mg/kg 投与群に1組（動物番号：MX04013×FB04013)認められた。しかし、交尾率、受胎率、同居から交尾までに要した日数およびその間の発情回数には、対照群と TMA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

②分娩および哺育状態

40 mg/kg 投与群の1例（動物番号：FB03011)は、分娩日に産児の回集が認められず、産児の体表温も低下していたが、翌日には回復していた。その他の動物には、分娩および哺育状態の異常は観察されなかった。200 mg/kg 投与群の哺育状態は全て良好であったことから、40 mg/kg 投与群の1例にみられた哺育状態の不良は TMA 投与の影響ではないと考えられた。

③出産率および妊娠期間（Table 20 ; Appendices 20-1 ～20-4）

40 mg/kg 投与群の1例（動物番号：FB03006)が妊娠25日に出産したが、他の動物は妊娠22～23日に出産した。妊娠期間が24日を超える例は、まれではあるものの今回の試験

に使用した系統においても、自然発生的に認められる所見であること、ならびに高用量群では全例が妊娠22～23日に出産したことから、この1例の変化は TMA 投与の影響ではない可能性が高いと判断した。出産率および妊娠期間には対照群と TMA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

④妊娠黄体数、着床数および着床率（Table 20 ; Appendices 20-1 ～20-4）

200 mg/kg 投与群で妊娠22日に死亡した1例（動物番号:FB04006）を含め、妊娠黄体数、着床数および着床率には、対照群と TMA 各投与群との間に統計学的有意差は認められなかった。

2）出生児所見

①生存性（Table 20 ; Appendices 20-1 ～20-4）

分娩率、生児出産率、出生率、新生児の4日の生存率、出産生児数、哺育4日の生児数および性比には、対照群と TMA 各投与群との間に統計学的有意差は認められなかった。死亡児は、対照群で5例、40 mg/kg 投与群で7例、200 mg/kg 投与群で3例みられたが、死亡時期および死亡児数に特定の傾向は認められなかった。

②体重（Table 21 ; Appendices 21-1 ～21-4）

いずれの投与群も雌雄ともに、対照群と同様な体重推移を示した。

③形態

いずれの出生児にも外表奇形は認められず、哺育4日の剖検においても内部器官に異常は認められなかった。

また、死亡児の剖検でも異常は観察されなかった。

【考　　察】

200 mg/kg 投与群の雄で2例、雌で1例の死亡がみられた。これらの動物の生前の一般状態の変化として投与後の流涎、異常呼吸音がみられ、さらに雄では、削痩、呼吸困難、肛門周囲の汚れ、軟便等といった一般状態の悪化を伴った。また剖検の結果、雌雄いずれも胃および腸管にはガスが貯留し、胃粘膜上皮の過形成および炎症像がみられた。本被験物質の単回経口投与毒性試験でも 200 mg/kg 以上の投与群で、同様な一般状態の変化および剖検所見を伴った死亡が認められている。これらの動物の死因は明らかではないが、次の様な要因が働いた可能性が考えられる。まず、TMA が腐食性をもつ強塩基性刺激物質であることから、経口投与により胃粘膜および腸管粘膜を強度に障害し全身状態が悪化していた可能性は高い。本試験の剖検の結果、200 mg/kg 投与群の雌雄に前胃粘膜の暗色化および肥厚等の病変が観察され、病理組織学検査の結果、前胃および腺胃の潰瘍、糜爛、肉芽形成を伴った炎症反応が観察された。また、同様の変化は、胃と比較して頻度、程度ともに軽度であったが盲腸にもみられている。一方、TMA はニコチン性アセチルコリン受容体のアゴニストであることが明らかになっていることから[8]、呼吸循環器に対しニコチン類似の交感神経興奮作用、ならびに興奮がさらに進行し神経筋接合部の脱分極性遮断作用が死因となった可能性も考えられる。

生存動物においては 200 mg/kg 投与群で、投与後の一過性の流涎ならびに異常呼吸音が観察され、同群の雄では体重増加の抑制傾向がみられた。TMA の単回経口投与毒性試験では 200 mg/kg の投与により体重の増加抑制が認められ、125 mg/kg 投与群では異常呼吸音が、350 mg/kg 投与群では流涎がみられていることから、本試験で認められた雄の体重増加抑制傾向および異常呼吸音等の一般状態の変化は TMA 投与の影響によるものと考えられた。

本試験では病理組織学検査の結果、胃の潰瘍、肉芽組織の増殖を伴った前胃粘膜上皮の過形成、炎症反応が観察された。TMA には局所刺激性があることが知られており、前胃粘膜が刺激性物質によりしばしば増殖性変化を起こすことは良く知られたところであることから[9]、消化管にみられた増殖性病変は TMA の刺激に基づく変化と考えられる。TMA は主に肝臓で代謝を受け、ジメチルアミンやトリメチルアミンオキシドとして腎臓から排出される[2]。実際、腎臓障害時には、TMA を含む脂肪族化合物の血中濃度が増加するとの報告がみられ[2]、TMA の代謝、排泄経路である肝臓や腎臓においては、被験物質

による影響が発現する可能性が考えられる。本試験においては、尿素窒素濃度の増加が雌では 40 mg/kg 以上の投与群、雄では 200 mg/kg 投与群で認められ、200 mg/kg 投与群の雄ではクレアチニン濃度の増加がみられた。昨年度、当研究所で実施した3本の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の雄の尿素窒素濃度の測定値を、各試験の平均値が最も低い群と高い群について列記すると、昨年度実施したo-トルエンスルホンアミドの試験の各群の平均値は17±2(平均値±標準偏差、mg/dL 以下、同様) が最も低値で、20±2が最も高値であり、また、6-tert-ブチル-m-クレゾールの試験では16±3が最も低値で17±2が最も高値であった。o-sec-ブチルフェノールの試験では17±3と19±4が最も低値と高値であり、いずれの試験もいずれの群にも有意な差を認めなかった。これらの試験の尿素窒素濃度と本試験のそれを比較すると本試験の尿素窒素濃度は対照群16±3に対し、200 mg/kg群で19±3を示し、危険率両側5%での統計学的有意差を認めている。しかし、本試験と昨年度実施した3本の試験の測定値は互いに極めて近似していることから、今回の試験で認められた有意差は偶発的なものである可能性が高いと判断した。また、クレアチニン濃度についても同様で、昨年度実施した3本の試験の計12群の測定値のうちもっとも低い平均値を示した群の測定値は0.6±0(mg/dL)であり、最も高い平均値を示した群の測定値は0.7±0.1であることから、本試験の測定値（対照群：0.5±0.1、200 mg/kg群：0.6±0.1）が高用量群での増加傾向を示唆するものとは考えられなかった。また、これらの項目には、性差は少ないと考えられることから、尿素窒素にみられた雌の有意差も被験物質投与の影響による変化とは考えられなかった。さらに、尿検査、器官重量ならびに病理組織学検査結果のいずれにも、腎臓や肝臓の異常を示唆する所見は認められなかったことから、被験物質の投与に基づく腎障害は確認されないものと判断した。

以上の結果から、200 mg/kg の TMA の反復投与により動物が死亡したこと、雄では体重の増加抑制傾向および摂餌量の減少がみられ、雌雄ともに胃腸管粘膜の著しい病理学変化が認められたことから、雌雄動物の一般毒性学的な無作用量は 40 mg/kg/day と推定された。

病理学検査の結果、生殖関連器官に TMA 投与によると考えられる異常は認められず、性周期観察の結果にも影響はみられなかった。また、雌雄動物の交尾率、受胎率、母動物の出産率、妊娠期間、哺育状態、妊娠黄体数、着床数および着床率ならびに産児の生存性、性比、体重および形態に TMA 投与の影響は認められなかった。以上のことから、生

殖発生毒性的な無作用量は雌雄ともに 200 mg/kg/day、産児に対する無作用量も 200 mg/kg/dayと考えられた。緒言にも述べた通り、TMA はメチルイソシアニドの主要代謝物であり、メチルイソシアニドは生殖毒性を有することが明らかとなっているが、TMA にはその作用は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では TMA の一般毒性的変化に関する無作用量は、雌雄とも胃腸管粘膜の著しい病理学変化および死亡が 200 mg/kg 投与群で認められた事から 40 mg/kg/day、また、生殖発生毒性的な変化は認められなかった事から無作用量は雌雄ともに 200 mg/kg/day、産児に対する無作用量も 200 mg/kg/day であると推察される。

【文　　献】

1) The Merck Index. 12th edition., Budavari. S., et al. (ed) Merck & Co., Inc. Rahway. : (1996) pp. 1527

2) Lowis, S., Eastwood, M.A. and Brydon, W.G. : The influence of creatinine, lecithin and choline feeding on alphatic amine production and excretion in the rat. British Journal of Nutrition 54 : 43-51 (1985)

3) Humbert, J.R., Hammond, K.B., Hathaway, W.E. : Trimethylaminuria : The fish odor syndrome. Lancet. 2 : 770-771 (1970)

4) Varma, D.R. : Pregnancy complication in Bhopal women exposed to methyl isocyanate vapor. J. Environ. Sci. Health. A26 : 1437-1447 (1991)

5) Varma, D.R. : Reproductive toxicity of methyl isocyanate in mice. J. Environ. Sci. Health. 27 : 265-275 (1987)

6) Varma, D.R., Guest, I. Smith, S. : Dissociation between maternal and fetal toxicity of methyl isocyanate in mice. J. Environ. Sci. Health. 30 : 1-14 (1990)

7) Guest, I., Varma, D.R. : Selective growth inhibition of the male progeny of mice treated with trimethylamine during pregnancy. Can. J. Physiol. Pharmacol. 71 : 185-187 (1992)

8) Alkodon, M., Pereira, E.F.R., Cortes, W.S., Maelicke, A., Albuquerque, E.X. Choline is a selective agonist of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the rat brain neurons. European Journal of Neuroscience. 9 : 2734-2742 (1997)

9) Glaister, J.R. : 毒性病理学の基礎　ソフトサイエンス社　東京 (1992) pp. 87

【TABLE INDEX 】

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Table no.	(Appendix no.)	Table title
1-1 ～1-2	(1-1 ～ 1-4)	Clinical signs in males
2	(2-1 ～ 2-4)	Clinical signs in females
3	(3-1 ～ 3-4)	Body weight changes in males
4	(4-1 ～ 4-4)	Body weight changes in females
5	(5-1 ～ 5-4)	Food consumption in males
6	(6-1 ～ 6-4)	Food consumption in females
7	(7-1 ～ 7-4)	Estrous cycles in females
8	(8-1 ～ 8-2)	Urinalysis values in animals
9	(9-1 ～ 9-4)	Hematological findings in males
10	(10-1 ～10-4)	Hematological findings in females
11	(11-1 ～11-4)	Biochemical findings in males
12	(12-1 ～12-4)	Biochemical findings in females
13	(13)	Macroscopic findings in males
14	(14-1 ～14-4)	Absolute and relative organ weight in males
15-1 ～15-2	(15-1 ～15-2)	Histopathological findings in males
16	(16)	Macroscopic findings in females
17	(17-1 ～17-4)	Absolute and relative organ weight in female
18-1 ～18-2	(18-1 ～18-2)	Histopathological findings in females
19	(19-1 ～19-4)	Reproductive performance in animals
20	(20-1 ～20-4)	Development of pups up to day 4 of lactation
21	(21-1 ～21-4)	Body weight of pups up to day 4 of lactation

Table 1-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Clinical signs in males

Clinical signs	Groups	Number of animals examined	Number of animals showing clinical signs							
			1～7 a)	8～14	15～21	22～28	29～35	36～42	43	Total
Salivation d)	0 mg/kg b)	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg c)	13	0	12	8	8	10	9	0	12
Stridor	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	1	2	3	3	2	0	5
Emaciation	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	0	2	2	0	0	0	2
Dyspnea	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	1	1	1	0	0	0	2
Listless	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	0	0	0	0	1	0	1
Smudge of perinasal area	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	1	0	0	0	0	0	1

a), days of administration
b), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)
c), two animals died on day 25 and 42 of administration, respectively.
d), salivation occurred just after administration

Table 1-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Clinical signs in males

Clinical signs	Groups	Number of animals examined	Number of animals showing clinical signs							
			1～7 a)	8～14	15～21	22～28	29～35	36～42	43	Total
Ataxic gait	0 mg/kg b)	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg c)	13	0	0	0	1	0	0	0	1
Hypothermia	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	1	0	0	0	1	0	1
Paleness	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	1	0	0	0	1	0	1
Soiled perineal region	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	0	0	1	0	0	0	1
Soft feces	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	0	0	1	0	0	0	1

a), days of administration
b), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)
c), two animals died on day 25 and 42 of administration, respectively.

Table 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Clinical signs in females

Clinical signs	Groups	Number of animals examined	Number of animals showing clinical signs							
			1～7[a)]	8～14	15～21	22～28	29～35	36～42	43～	Total
Salivation d)	0 mg/kg b)	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg c)	13	0	11	10	7	8	7	4	11
Stridor	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	0	0	0	1	3	1	4
Emaciation	0 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	8 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	40 mg/kg	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	200 mg/kg	13	0	0	0	0	0	1	0	1

a), days of administration
b), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)
c), one animal died on day 38 of administration.
d), salivation occurred just after administration

Table 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Body weight changes in males, g, mean±S.D. (N)

Compound		TMA			
Groups	(mg/kg)	0 a)	8	40	200
Days of administration					
1	(initial body weight)	379.0 ± 11.7 (13)	378.0 ± 14.0 (13)	379.5 ± 12.2 (13)	379.2 ± 11.1 (13)
7		398.1 ± 14.6 (13)	400.3 ± 20.0 (13)	405.2 ± 16.1 (13)	393.3 ± 22.9 (13)
14		425.4 ± 16.9 (13)	428.7 ± 25.0 (13)	433.3 ± 21.1 (13)	413.1 ± 30.1 (13)
21		447.7 ± 19.9 (13)	453.1 ± 28.7 (13)	457.1 ± 21.1 (13)	420.2 ± 65.7 (13)
28		473.0 ± 24.0 (13)	478.1 ± 33.6 (13)	481.5 ± 25.4 (13)	448.3 ± 43.2 (12)
35		495.3 ± 26.6 (13)	502.7 ± 35.5 (13)	504.3 ± 29.4 (13)	472.9 ± 35.8 (12)
42		517.3 ± 32.9 (13)	521.6 ± 35.5 (13)	523.1 ± 32.9 (13)	495.5 ± 17.5 (11)

a), vehicle control, distilled water (10mL/kg)

Table 4

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Body weight changes in females, g, mean±S.D. (N)

Compound	TMA			
Groups (mg/kg)	0 a)	8	40	200
Days of administration				
1	237.5 ± 9.4 (13)	239.1 ± 12.5 (13)	240.5 ± 11.3 (13)	239.9 ± 12.5 (13)
7	245.4 ± 14.9 (13)	248.4 ± 13.6 (13)	247.6 ± 15.0 (13)	249.2 ± 13.6 (13)
14	258.0 ± 16.8 (13)	263.8 ± 19.4 (13)	264.3 ± 17.2 (13)	262.9 ± 19.2 (13)
21	271.0 ± 11.8 (3)		316.5 (1)	265.1 (2)
28	289.4 (1)		345.8 (1)	
35	289.7 (1)		346.6 (1)	
42	310.6 (1)		343.8 (1)	
Days of pregnancy				
0	273.4 ± 16.3 (11)	269.5 ± 19.5 (13)	272.3 ± 20.8 (12)	271.0 ± 16.4 (12)
7	311.4 ± 18.1 (11)	308.7 ± 21.9 (13)	312.7 ± 23.0 (12)	307.3 ± 17.2 (12)
14	349.0 ± 20.0 (11)	348.0 ± 26.8 (13)	348.9 ± 25.2 (12)	338.1 ± 20.7 (12)
20	415.4 ± 26.0 (11)	419.4 ± 30.5 (13)	417.7 ± 32.0 (12)	403.5 ± 28.8 (12)
Days of lactation				
0	304.6 ± 28.2 (11)	307.7 ± 25.6 (13)	310.9 ± 28.1 (12)	317.4 ± 17.5 (11)
4	329.0 ± 23.6 (11)	336.4 ± 16.5 (13)	338.2 ± 19.1 (12)	333.2 ± 15.4 (11)

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

Table 5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Food consumption in males, g, mean±S.D. (N)

Compound	TMA							
Groups (mg/kg)	0 a)		8		40		200	
Days of administration								
1	27.3 ± 2.1	(13)	27.7 ± 3.3	(13)	27.4 ± 2.7	(13)	26.5 ± 4.6	(13)
7	26.9 ± 1.7	(13)	26.9 ± 3.0	(13)	27.1 ± 2.7	(13)	24.9 ± 3.1	(13)
13	26.4 ± 2.0	(13)	25.9 ± 3.1	(13)	26.9 ± 3.8	(13)	23.3 ± 3.4 *	(13)
29	29.0 ± 3.3	(13)	29.1 ± 3.0	(13)	30.2 ± 2.3	(13)	28.3 ± 3.3	(12)
35	29.7 ± 4.1	(13)	28.4 ± 3.1	(13)	29.0 ± 3.2	(13)	26.7 ± 1.4	(12)
41	29.7 ± 3.4	(13)	28.7 ± 3.4	(13)	29.6 ± 1.8	(13)	24.0 ± 8.0 *	(12)

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

*, significantly different from control, $p<0.05$

Table 6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Food consumption in females, g, mean±S.D. (N)

Compound	TMA							
Groups (mg/kg)	0 a)		8		40		200	
Days of administration								
1	16.1 ± 2.6	(13)	16.9 ± 4.2	(13)	17.4 ± 4.3	(13)	17.2 ± 3.5	(13)
7	19.4 ± 2.5	(13)	20.6 ± 2.1	(13)	19.7 ± 3.6	(13)	19.7 ± 2.2	(13)
13	17.7 ± 3.8	(13)	19.2 ± 3.2	(13)	18.7 ± 3.9	(13)	17.8 ± 3.7	(13)
29	21.3	(1)			23.8	(1)		
35	20.3	(1)			79.9	(1)		
41	21.2	(1)			76.8	(1)		
Days of pregnancy								
0	20.0 ± 4.1	(11)	19.7 ± 2.2	(13)	20.5 ± 3.8	(12)	20.9 ± 1.7	(12)
7	25.5 ± 2.9	(11)	27.6 ± 3.9	(13)	26.6 ± 4.4	(12)	25.5 ± 3.0	(12)
14	24.0 ± 12.7	(11)	20.8 ± 2.6	(13)	21.1 ± 2.5	(12)	20.0 ± 2.0	(12)
20	19.6 ± 4.9	(11)	21.4 ± 4.7	(13)	26.4 ± 19.7	(12)	20.8 ± 6.4	(12)
Days of lactation								
0	15.5 ± 6.4	(11)	21.1 ± 4.5	(13)	20.2 ± 9.1	(12)	19.7 ± 3.7	(11)
3	38.9 ± 9.2	(11)	42.6 ± 8.0	(13)	42.7 ± 9.5	(12)	41.9 ± 2.9	(11)

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

Table 7
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats
Estrous cycles in females

Compound	TMA			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Number of females examind	13	13	13	13
Mean length of estrous cycle in days				
Before administration, Mean ± S.D.	4.0 ± 0.0 (13)	4.0 ± 0.0 (13)	4.0 ± 0.0 (13)	4.0 ± 0.0 (13)
Administration period, Mean ± S.D.	4.1 ± 0.3 (13)	4.0 ± 0.0 (13)	4.0 ± 0.1 (13)	4.1 ± 0.1 (13)
Number of animals showed normal estrous cycle	12	13	13	13
Number of animals showed irregular estrous cycle				
(Before administration) (Administration period)				
4-day → Irregular	1	0	0	0
Irregular → 4-day	0	0	0	0
Days until copulation, Mean ± S.D. (N)	4.3 ± 3.9 (12)	2.9 ± 1.0 (13)	2.8 ± 1.3 (12)	3.7 ± 3.0 (13)
Mean times of vaginal estrus during mating period, Mean ± S.D. (N)	1.1 ± 0.3 (12)	1.0 ± 0.0 (13)	1.0 ± 0.0 (12)	1.2 ± 0.6 (13)

[a)] , vehicle control, distilled water(10mL/kg)
A normally cycling rat is definded as being 4 to 5 days in one cycle.

Table 8
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats
Urinalysis values in animals

Sex	Groups (mg/kg)	Number of animals	Color[b]		Turbidity[c]	pH							Protein[d]				Glucose[e]	Ketone[c]			Bilirubin[c]	Occult blood[c]		Urobilinogen[f]	
			ly	y	−	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	−	±	+	++	−	−	±	+	−	−	±	±	−
Male	0[a]	5	5	0	5	0	0	0	0	3	1	1	0	0	4	1	5	2	2	1	5	5	0	4	1
	8	5	5	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	4	1	5	1	4	0	5	5	0	4	1
	40	5	5	0	5	0	0	0	0	2	2	1	0	1	3	1	5	1	1	3	5	5	0	2	3
	200	5	5	0	5	0	0	0	2	0	1	2	0	0	4	1	5	0	2	3	5	4	1	4	1
Female	0[a]	5	5	0	5	0	0	2	0	0	2	1	1	2	2	0	5	2	3	0	5	5	0	1	4
	8	5	4	1	5	1	0	0	0	1	0	3	2	1	2	0	5	3	2	0	5	5	0	2	3
	40	5	5	0	5	1	0	0	2	0	1	1	3	2	0	0	5	4	1	0	5	5	0	3	2
	200	5	5	0	5	0	0	0	2	2	0	1	4	1	0	0	5	4	1	0	5	5	0	4	1

a) vehicle control, distilled water(10 mL/kg)
b) ly, light yellow; y, yellow
c) −, negative; ±, trace; +, slight
d) −, negative; ±, trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL
e) −, negative
f) ±, 0.1 E.U./dL; +, 1.0 E.U./dL

Table 9

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Hematological findings in males

Groups (mg/kg)	RBC ($\times 10^4$/mm^3)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC ($\times 100$/mm^3)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)	Platelet ($\times 10^4$/mm^3)	PT (sec)	APTT (sec)	Reticulocyte (%)
	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
0 a)	807	15.2	44.7	55.6	18.8	33.9	63	0	13	1	0	3	83	94.8	16.4	21.7	2.6
	45	0.6	1.6	2.7	1.1	0.5	19	0	7	1	0	2	7	8.7	2.0	1.3	1.1
	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	
8	810	15.3	44.4	54.9	18.9	34.5	65	0	12	1	0	4	83	91.4	16.3	21.2	N.E.
	40	0.4	1.6	1.9	0.7	0.6	16	0	5	1	0	3	6	4.7	2.7	1.0	
	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	
40	803	15.3	44.2	55.0	19.1	34.6 *	66	0	13	1	0	4	83	87.7 *	16.9	20.9	N.E.
	34	0.8	2.3	2.0	0.7	0.7	21	0	6	1	0	2	7	5.3	2.9	1.7	
	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)
200	790	15.1	42.9	54.4	19.1	35.1 **	63	0	19	1	0	5	76	95.5	15.0	20.2	2.4
	26	0.7	2.3	2.1	0.6	0.7	20	0	10	1	0	3	12	8.5	1.4	1.9	0.7

a),vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

Parameter, (number of animals)

Mean

S.D.

*, significantly different from control, $p<0.05$

**, significantly different from control, $p<0.01$

N.E., *not examined*

Table 10

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Hematological findings in females

Groups (mg/kg)	RBC ($\times 10^4/mm^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC ($\times 100/mm^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/mm^3$)	PT (sec)	APTT (sec)	Reticulocyte (%)
0 a)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
	697	13.7	40.8	58.6	19.6	33.5	70	0	14	0	0	4	82	101.6	12.2	17.6	6.8
	40	0.7	2.3	2.2	0.9	0.8	23	0	7	0	0	2	8	6.9	0.7	1.2	3.1
8	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	
	675	13.6	40.1	59.6	20.2	33.8	71	0	20	0	0	5	74	111.8	12.2	17.2	N.E.
	54	0.6	2.3	3.0	1.1	0.7	20	0	8	1	0	2	8	12.7	0.7	1.8	
40	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	
	698	13.8	41.0	58.7	19.8	33.7	66	0	19	0	0	6	74	99.4	12.3	16.7	N.E.
	46	0.7	2.8	1.8	0.7	0.7	20	0	7	1	0	5	10	9.7	0.7	1.6	
200	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
	701	13.9	41.4	59.2	19.8	33.5	65	0	22	0	0	5	74	106.5	12.6	17.7	6.3
	44	0.5	2.1	1.6	0.6	0.5	15	0	7	0	0	3	9	13.0	0.5	1.0	2.7

a), vehicle control, distilled water (10mL/kg)

N.E., not examined

Parameter, (number of animals)

Mean

S.D.

Table 11

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Biochemical findings in males

Groups (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri-glyceride (mg/dL)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)	Total bilirubin (mg/dL)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
0 a)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
	5.4	3.0	1.26	16	0.5	129	37	47	231	32	65	0	0.08	5.9	8.3	145.2	3.79	107.6
	0.2	0.2	0.12	3	0.1	10	8	20	49	5	8	0	0.02	0.6	0.2	1.2	0.25	1.7
8	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
	5.3	2.9	1.21	17	0.6	129	44	42	224	29	64	0	0.08	5.8	8.3	144.9	3.83	107.6
	0.3	0.2	0.13	2	0.1	10	8	11	47	5	14	0	0.02	0.5	0.3	1.2	0.20	1.8
40	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
	5.3	2.9	1.21	17	0.5	127	39	46	217	31	67	0	0.08	5.9	8.4	145.4	3.82	108.5
	0.2	0.1	0.12	1	0.1	11	7	17	35	4	10	0	0.02	0.4	0.2	1.0	0.19	1.3
200	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)	(11)
	5.1 **	2.8 **	1.24	19 **	0.6 *	122	42	37	218	31	71	0	0.08	6.0	8.3	145.4	3.84	108.1
	0.3	0.2	0.14	3	0.1	8	9	8	65	4	11	0	0.01	0.6	0.1	0.8	0.15	1.3

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

Parameter, (number of animals)

Mean

S.D.

*, significantly different from control, $p<0.05$

**, significantly different from control, $p<0.01$

Table 12

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Biochemical findings in females

Groups (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri-glyceride (mg/dL)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)	Total bilirubin (mg/dL)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
0 a)	5.9	3.4	1.36	15	0.6	122	52	34	99	35	74	0	0.12	6.1	9.0	143.8	3.71	108.1
	0.4	0.3	0.12	3	0.1	14	7	7	27	7	10	0	0.02	0.7	0.2	1.4	0.23	1.2
	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
8	5.8	3.3	1.32	18	0.6	119	47	41	111	36	73	1	0.11	6.4	9.1	143.5	3.66	108.6
	0.3	0.2	0.14	1	0.1	11	7	10	29	7	9	1	0.03	0.5	0.2	0.8	0.18	1.5
	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)	(13)
40	5.8	3.2	1.24	18 *	0.6	112	49	36	105	38	73	1	0.10	6.2	9.1	143.2	3.73	108.1
	0.3	0.2	0.10	3	0.1	9	7	5	34	8	7	1	0.02	0.4	0.3	1.3	0.22	1.6
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
200	5.6	3.2	1.36	19 *	0.6	116	48	37	101	35	68	0	0.12	6.3	9.1	144.4	3.65	108.4
	0.2	0.2	0.16	3	0.1	12	8	11	18	7	8	0	0.02	0.7	0.3	1.6	0.20	1.7

a), vehicle control, distilled water (10mL/kg)

*, significantly different from control, $p<0.05$

Parameter, (number of animals)

Mean

S.D.

Table 13

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Macroscopic findings in males

Compound		TMA							
Groups (mg/kg)		0 a)		8		40		200	
Grade		−	+	−	+	−	+	−	+
(Stomach)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Thickening, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	6	7
	Recessed area, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	10	3
	Area, hard, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	12	1
	Area, red, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	12	1
	Area, red/dark red, mucosa, glandular stomach	13	0	13	0	13	0	10	3
	Retention, gas	13	0	13	0	13	0	11	2
(Intestine)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Red content, lumen jejunum and ileum	13	0	13	0	13	0	12	1
	Red, mucosa, duodenum and jejunum	13	0	13	0	13	0	12	1
	Retention, gas	13	0	13	0	13	0	11	2
(Testes)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Small, unilateral	13	0	13	0	12	1	12	1
(Epididymides)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Nodule	12	1	13	0	13	0	13	0
	Small, unilateral	13	0	13	0	12	1	12	1
(Prostate)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Small	13	0	13	0	13	0	12	1
(Seminal vesicle)	[13]							[13]	
	Small	13	0	13	0	13	0	12	1
(Thymus)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Small	13	0	13	0	13	0	11	2
(Spleen)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Pale	13	0	13	0	13	0	12	1
	Small	13	0	13	0	13	0	11	2
(Mesenteric lymph node)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Small	13	0	13	0	13	0	12	1
(Adrenal glands)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Enlargement	13	0	13	0	13	0	12	1
	Dark	13	0	13	0	13	0	12	1
(Lung)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Dark	13	0	13	0	13	0	12	1
(Mandibular lymph nodes)	[13]			[13]		[13]		[13]	
	Dark red	12	1	13	0	13	0	13	0

a), vehicle control, distilled water (10mL/kg)
−, Negative; +, Positive
[ ], Number of animals examined

Table 14

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Absolute and relative organ weight in males , mean±S.D. (N)

Compound		TMA							
Groups (mg/kg)		0 a)		8		40		200	
Final body weight	(g)	486.3 ± 30.7	(13)	490.5 ± 32.7	(13)	490.1 ± 31.4	(13)	466.7 ± 15.4	(11)
Brain	(g)	2.06 ± 0.13 b)	(13)	2.04 ± 0.07	(13)	2.07 ± 0.07	(13)	2.06 ± 0.08	(11)
		0.42 ± 0.04 c)	(13)	0.42 ± 0.03	(13)	0.42 ± 0.03	(13)	0.44 ± 0.02	(11)
Heart	(g)	1.42 ± 0.16	(13)	1.42 ± 0.09	(13)	1.44 ± 0.13	(13)	1.34 ± 0.07	(11)
		0.29 ± 0.04	(13)	0.29 ± 0.01	(13)	0.29 ± 0.02	(13)	0.29 ± 0.02	(11)
Thymus	(mg)	348.5 ± 93.4	(13)	355.9 ± 121.1	(13)	366.2 ± 106.4	(13)	317.8 ± 56.7	(11)
		72.0 ± 20.1	(13)	72.0 ± 21.1	(13)	74.1 ± 19.0	(13)	68.1 ± 12.3	(11)
Liver	(g)	12.29 ± 1.42	(13)	12.45 ± 1.25	(13)	12.07 ± 1.24	(13)	11.59 ± 0.68	(11)
		2.53 ± 0.22	(13)	2.54 ± 0.21	(13)	2.46 ± 0.15	(13)	2.48 ± 0.11	(11)
Kidneys	(g)	3.12 ± 0.23	(13)	3.05 ± 0.20	(13)	3.09 ± 0.23	(13)	2.95 ± 0.23	(11)
		0.64 ± 0.05	(13)	0.63 ± 0.05	(13)	0.63 ± 0.04	(13)	0.63 ± 0.04	(11)
Spleen	(g)	0.90 ± 0.08	(13)	0.83 ± 0.10	(13)	0.92 ± 0.17	(13)	0.83 ± 0.10	(11)
		0.19 ± 0.02	(13)	0.17 ± 0.03	(13)	0.19 ± 0.03	(13)	0.18 ± 0.02	(11)
Adrenal glands	(mg)	57.0 ± 8.7	(13)	58.8 ± 10.8	(13)	59.5 ± 8.0	(13)	59.0 ± 10.6	(11)
		11.7 ± 1.5	(13)	12.0 ± 2.0	(13)	12.1 ± 1.3	(13)	12.6 ± 2.2	(11)
Testes	(g)	3.39 ± 0.22	(13)	3.36 ± 0.16	(13)	3.37 ± 0.32	(13)	3.34 ± 0.23	(11)
		0.70 ± 0.05	(13)	0.69 ± 0.05	(13)	0.69 ± 0.08	(13)	0.72 ± 0.04	(11)
Epididymides	(g)	1.25 ± 0.05	(13)	1.28 ± 0.12	(13)	1.21 ± 0.25	(13)	1.24 ± 0.08	(11)
		0.26 ± 0.02	(13)	0.26 ± 0.03	(13)	0.25 ± 0.05	(13)	0.27 ± 0.02	(11)

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

b), absolute weight

c), relative weight (g or mg per 100g body weight)

Table 15-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Histopathological findings in males

Compound		TMA																											
Groups (mg/kg)		0 a)						8						40						200									
Grade		−	±	+	++	+++	Pos.	−	±	+	++	+++	Pos.	−	±	+	++	+++	Pos.	−	±	+	++	+++	Pos.				
(Testes)	[13]							[13]						[13]						[13]									
Atrophy, seminiferous tubule		13	0	0	0	0	0	11	1	1	0	0	2	11	0	1	1	0	2	12	1	0	0	0	1				
Multinucleated giant cell, seminiferous tubule		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0	1	13	0	0	0	0	0				
Degeneration, spermatocyte and round spermatid, seminiferous tubule		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0	1				
Degeneration, elongated spermatid, seminiferous tubule		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0	1				
(Epididymides)	[13]							[13]						[13]						[13]									
Cell debris, in lumen		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	1	0	0	0	1	11	0	2	0	0	2				
Degenerated sperm, in lumen		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0	1				
Decrease, sperm, in lumen		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0	1				
Spermatic granuloma, unilateral		12	0	1	0	0	1	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0				
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	1	0	0	0	1	13	0	0	0	0	0				
(Prostate)	[5]							[0]						[0]						[13]									
Atrophy		5	0	0	0	0	0													4	0	1	0	0	1				
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium		0	2	2	1	0	5													2	1	0	2	0	3				
Cellular infiltration, lymphocyte and neutrophil, epithelium		3	1	1	0	0	2													3	1	1	0	0	2				
(Seminal vesicle)	[5]							[0]						[0]						[5]									
Atrophy		5	0	0	0	0	0													4	0	1	0	0	1				
(Stomach)	[13]							[13]						[13]						[13]									
Squamous hyperplasia, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	9	4	0	**	13	##		
Erosion, mucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	8	3	1	1	0		5	#		
Ulcer, mucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	11	0	2	0	0		2			
Hemorrhage, mucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	1	0		1			
Edema, submucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	2	1	5	4	1	**	11	##		
Cellular infiltration, inflammatory cell, mucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	2	3	5	3	0	**	11	##		
Granulation, submucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	2	3	2	6	0	**	11	##		
Granulation, serosa, forestomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0		1			
Erosion, mucosa, glandular stomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	1	0		1			
Edema, submucosa, glandular stomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	1	0		1			
Cellular infiltration, inflammatory cell, mucosa, glandular stomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	0	1	0		1			
Hemorrhage, mucosa, glandular stomach		13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	12	0	1	0	0		1			
(Intestine)	[5]							[0]						[0]						[5]									
Congestion, epithelium, mucosa, duodenum & jejunum		5	0	0	0	0	0													4	0	0	0	1		1			
Edema, submucosa, cecum		5	0	0	0	0	0													4	0	1	0	0		1			
Cellular infiltration, neutrophil, submucosa, cecum		5	0	0	0	0	0													4	0	1	0	0		1			

a). vehicle control, distilled water (10 mL/kg)
−, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade
[ ], Number of animals examined
**, Significantly different from control, $p<0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)
#, Significantly different from control, $p<0.05$ (One-tailed Fisher exact test)
##, Significantly different from control, $p<0.01$ (One-tailed Fisher exact test)

Table 15-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Histopathological findings in males

Compound		TMA																					
Groups (mg/kg)		0 a)						8						40						200			
Grade			-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Necrosis, focal		5	0	0	0	0	0																4	0	1	0	0	1
	Fatty change, periportal		0	1	4	0	0	5																2	2	1	0	0	3
(Kidneys)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Basophilic tubule, cortex		2	3	0	0	0	3																3	2	0	0	0	2
	Mineralization, medulla		4	1	0	0	0	1																3	2	0	0	0	2
(Spleen)		[5]							[0]							[0]							[4]						
	Atrophy		5	0	0	0	0	0																3	0	0	1	0	1
	Hematopoiesis, extramedullary		0	2	3	0	0	5																0	4	0	0	0	4
	Deposit, pigment, brown		0	1	4	0	0	5																1	0	3	0	0	3
(Heart)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Myocardial degeneration/fibrosis		3	0	2	0	0	2																3	2	0	0	0	2
(Lung)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Accumulation, foam cell, focal		4	1	0	0	0	1																3	2	0	0	0	2
	Hemorrhage, focal		5	0	0	0	0	0																4	1	0	0	0	1
(Thyroid gland)									[0]							[0]							[4]						
	Ectopic thymus		4	1	0	0	0	1																4	0	0	0	0	0
(Brain)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Spinal cord)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Mandibular lymph nodes)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Thymus)		[5]							[0]							[0]							[4]						
	No remarkable change																												
(Trachea)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Esophagus)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Pancreas)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Mesenteric lymph node)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Adrenal glands)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Pituitary gland)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Urinary bladder)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Sciatic nerve)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												
(Bone marrow of femur)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																												

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)
-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

Table 16

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Macroscopic findings in females

Compound	TMA							
Groups (mg/kg)	0 a)		8		40		200	
Grade	−	+	−	+	−	+	−	+
(Stomach) [13]			[13]		[13]		[13]	
Edema, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	9	4
Thickening, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	6	7
Recessed area, mucosa, forestomach	13	0	13	0	13	0	8	5
Spot, dark/black, mucosa, glandular stomach	13	0	12	1	12	1	13	0
Retention, gas	13	0	13	0	13	0	12	1
(Intestine) [13]			[13]		[13]		[13]	
Retention, gas	13	0	13	0	13	0	12	1
(Uterus) [13]			[13]		[13]		[13]	
Dilatation, lumen	12	1	13	0	13	0	13	0
(Thymus) [13]			[13]		[13]		[13]	
Small	12	1	13	0	12	1	11	2
(Kidneys) [13]			[13]		[13]		[13]	
Area, pale	13	0	13	0	13	0	12	1
(Lung) [13]			[13]		[13]		[13]	
Dark	13	0	13	0	13	0	12	1
(Liver) [13]			[13]		[13]		[13]	
Spot, white	12	1	13	0	13	0	13	0

a), vehicle control, distilled water (10mL/kg)
−, Negative; +, Positive
[ ], Number of animals examined

Table 17

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Absolute and relative organ weight in females , mean±S.D. (N)

Compound		TMA							
Groups (mg/kg)		0 a)		8		40		200	
Final body weight	(g)	292.5 ± 19.4	(11)	296.7 ± 20.3	(13)	302.3 ± 20.6	(12)	295.2 ± 11.7	(11)
Brain	(g)	1.92 ± 0.06 b)	(11)	1.91 ± 0.06	(13)	1.93 ± 0.08	(12)	1.89 ± 0.10	(11)
		0.66 ± 0.05 c)	(11)	0.65 ± 0.04	(13)	0.64 ± 0.05	(12)	0.64 ± 0.03	(11)
Heart	(g)	0.95 ± 0.09	(11)	0.97 ± 0.10	(13)	0.99 ± 0.10	(12)	0.95 ± 0.08	(11)
		0.32 ± 0.02	(11)	0.33 ± 0.01	(13)	0.33 ± 0.02	(12)	0.32 ± 0.02	(11)
Thymus	(mg)	210.2 ± 108.9	(11)	245.1 ± 66.9	(13)	232.0 ± 103.4	(12)	198.6 ± 56.4	(11)
		70.5 ± 33.1	(11)	82.5 ± 21.3	(13)	75.8 ± 31.0	(12)	67.1 ± 18.1	(11)
Liver	(g)	9.40 ± 0.87	(11)	9.62 ± 1.01	(13)	9.43 ± 0.70	(12)	9.74 ± 0.68	(11)
		3.22 ± 0.24	(11)	3.24 ± 0.24	(13)	3.13 ± 0.23	(12)	3.30 ± 0.26	(11)
Kidneys	(g)	1.91 ± 0.16	(11)	1.94 ± 0.16	(13)	1.90 ± 0.18	(12)	1.92 ± 0.10	(11)
		0.66 ± 0.05	(11)	0.65 ± 0.04	(13)	0.63 ± 0.06	(12)	0.65 ± 0.03	(11)
Spleen	(g)	0.67 ± 0.11	(11)	0.68 ± 0.09	(13)	0.72 ± 0.11	(12)	0.67 ± 0.10	(11)
		0.23 ± 0.04	(11)	0.23 ± 0.03	(13)	0.24 ± 0.04	(12)	0.23 ± 0.03	(11)
Adrenal glands	(mg)	80.4 ± 12.0	(11)	77.8 ± 15.7	(13)	74.6 ± 5.3	(12)	73.9 ± 7.7	(11)
		27.6 ± 4.4	(11)	26.2 ± 4.6	(13)	24.8 ± 2.6	(12)	25.1 ± 2.9	(11)

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

b), absolute weight

c), relative weight (g or mg per 100g body weight)

Table 18-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Histopathological findings in females

Compound		TMA																											
Groups (mg/kg)		0 a)							8							40							200						
Grade		[13]	-	±	+	++	+++	Pos.	[13]	-	±	+	++	+++	Pos.	[13]	-	±	+	++	+++	Pos.	[13]	-	±	+	++	+++	Pos.	
(Ovaries)																													
	No remarkable change	[5]	4	0	0	1	0	1	[0]							[0]							[5]	4	0	1	0	0	1	
(Uterus)																													
	Dilatation, lumen, uterus	[5]	4	0	0	1	0	1	[0]							[0]							[5]	5	0	0	0	0	0	
	Cellular infiltration, neutrophil, luminal epithelium																							3	1	0	1	0	2	
(Vagina)																								4	0	0	1	0	1	
	Mucification, epithelium	[13]	5	0	0	0	0	0	[13]	13	0	0	0	0	0	[13]	13	0	0	0	0	0	[13]	2	4	2	5	0	** 11	##
	Cornification, epithelium		4	0	0	1	0	1		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		9	2	2	0	0	4	
(Stomach)																								6	2	2	3	0	* 7	#
	Squamous hyperplasia, forestomach		11	2	0	0	0	2		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		6	0	1	5	1	* 7	#
	Erosion, mucosa, forestomach		12	1	0	0	0	1		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		10	2	1	0	0	3	
	Ulcer, mucosa, forestomach		12	0	1	0	0	1		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		11	1	1	0	0	2	
	Edema, submucosa, forestomach		12	0	1	0	0	1		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	0	1	0	0	1	
	Hemorrhage, mucosa, forestomach		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	0	1	0	0	1	
	Cellular infiltration, inflammatry cell, mucosa, forestomach		11	2	0	0	0	2		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	0	0	1	0	1	
	Granulation, submucosa, forestomach		12	1	0	0	0	1		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		3	1	0	0	0	1	
	Granulation, serosa, forestomach		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		4	1	0	0	0	1	
	Erosion, mucosa, glandular stomach		12	1	0	0	0	1		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		4	0	0	0	0	0	
	Ulcer, mucosa, glandular stomach		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0								
	Hemorrhage, mucosa, glandular stomach		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0								
(Intestine)																													
	Granulation, serosa, cecum	[5]	5	0	0	0	0	0	[0]							[0]							[4]							
	Edema, submucosa, rectum		4	0	1	0	0	1																					

a), vehicle control, distilled water (10 ml/kg)
-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade
[ ], Number of animals examined
*, Significantly different from control, $p<0.05$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)
**, Significantly different from control, $p<0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)
#, Significantly different from control, $p<0.05$ (One-tailed Fisher exact test)
##, Significantly different from control ,$p<0.01$ (One-tailed Fisher exact test)

Table 18-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Histopathological findings in females

Compound		TMA																					
Groups (mg/kg)		0 a)						8						40						200			
Grade			−	±	+	++	+++	Pos.		−	±	+	++	+++	Pos.		−	±	+	++	+++	Pos.	
(Liver)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Necrosis, focal		5	0	0	0	0	0									4	0	0	1	0	1
	Fatty change, periportal		0	4	1	0	0	5									2	3	0	0	0	3
(Kidneys)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Basophilic tubule, cortex		4	1	0	0	0	1									5	0	0	0	0	0
	Cellular infiltration, lymphocyte interstitium		5	0	0	0	0	0									3	1	1	0	0	2
	Degeneration, vacuolar, proximal tubule		4	1	0	0	0	1									5	0	0	0	0	0
(Spleen)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Atrophy		5	0	0	0	0	0									4	0	0	1	0	1
	Hematopoiesis, extramedullary		0	2	2	1	0	5									1	0	4	0	0	4
	Deposit, pigment, brown		0	0	5	0	0	5									0	0	4	1	0	5
(Heart)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Myocardial degeneration/fibrosis		5	0	0	0	0	0									4	1	0	0	0	1
(Lung)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Mineralization, artery		5	0	0	0	0	0									4	1	0	0	0	1
(Thyroid gland)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	Ectopic thymus		4	0	1	0	0	1									4	0	1	0	0	1
(Brain)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Spinal cord)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Mandibular lymph nodes)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Pancreas)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Thymus)		[5]							[0]							[0]							[4]						
	No remarkable change																						
(Trachea)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Urinary bladder)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Esophagus)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Mesenteric lymph node)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Adrenal glands)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Pituitary gland)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Sciatic nerve)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						
(Bone marrow of femur)		[5]							[0]							[0]							[5]						
	No remarkable change																						

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)
−, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade
[ ], Number of animals examined

Table 19

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Reproductive performance in animals

Compound	TMA			
Groups (mg/kg)	0[a)]	8	40	200
Number of mated pairs	13	13	13	13
Number of copulated pairs	12	13	12	13
Copulation index	92.3	100	92.3	100
Number of pregnant animals	11	13	12	12
Fertility index	91.7	100	100	92.3

[a)] ,vehicle control, distilled water(10mL/kg)

Copulation index=(number of copulated pairs/number of mated pairs)×100,%

Fertility index=(number of pregnant animals/number of copulated pairs)×100,%

Table 20

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Development of pups up to day 4 of lactation, Mean ±S.D.

Compound	TMA			
Groups (mg/kg)	0 a)	8	40	200
Number of pregnant females	11	13	12	12 b)
Number of females with live pups	11	13	12	11
Gestation index	100	100	100	91.7
Gestation length in days	22.4 ± 0.5 (11)	22.3 ± 0.5 (13)	22.8 ± 0.9 (12)	22.5 ± 0.5 (11)
Number of corpora lutea	19.0 ± 4.1 (11)	18.1 ± 2.1 (13)	18.3 ± 2.3 (12)	17.9 ± 2.7 (12)
Number of implantation sites	14.8 ± 3.2 (11)	15.8 ± 2.7 (13)	14.6 ± 4.1 (12)	15.0 ± 2.3 (12)
Implantation index	82.2 ± 23.4 (11)	86.8 ± 9.1 (13)	81.4 ± 23.7 (12)	84.2 ± 7.8 (12)
Day 0 of lactation				
Number of pups born	14.0 ± 3.0 (11)	14.7 ± 2.5 (13)	13.3 ± 3.9 (12)	12.3 ± 4.6 (12)
Delivery index	94.8 ± 4.8 (11)	93.5 ± 6.7 (13)	92.3 ± 9.5 (12)	82.2 ± 26.5 (12)
Number of live pups	14.0 ± 3.0 (11)	14.7 ± 2.5 (13)	12.8 ± 4.4 (12)	13.2 ± 2.5 (11)
Birth index	94.8 ± 4.8 (11)	93.5 ± 6.7 (13)	89.1 ± 18.1 (12)	88.0 ± 7.0 (11)
Live birth index	100.0 ± 0.0 (11)	100.0 ± 0.0 (13)	95.8 ± 14.4 (12)	98.2 ± 4.3 (11)
Sex ratio on day 0	47.5 ± 14.1 (11)	48.7 ± 14.9 (13)	50.8 ± 7.8 (12)	53.0 ± 17.8 (11)
Day 4 of lactation				
Number of live pups	13.5 ± 3.0 (11)	14.7 ± 2.5 (13)	12.8 ± 4.6 (12)	13.2 ± 2.5 (11)
Viability index	97.0 ± 8.1 (11)	100.0 ± 0.0 (13)	95.8 ± 14.4 (12)	100.0 ± 0.0 (11)
Sex ratio on day 4	46.5 ± 12.2 (11)	48.7 ± 14.9 (13)	55.0 ± 16.1 (12)	53.0 ± 17.8 (11)

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

b), One animal died on day 22 of gestation.

Gestation index = (number of females with live pups / number of pregnant females) × 100, %

Implantation index = (number of implantation sites / number of corpora lutea) × 100, %

Delivery index = (number of pups born / number of implantation sites) × 100, %

Birth index = (number of live pups on day 0 / number of implantation sites) × 100, %

Live birth index = (number of live pups on day 0 / number of pups born) × 100, %

Sex ratio on day 0 = (number of male live pups on day 0 / number of live pups on day 0) × 100, %

Viability index = (number of live pups on day 4 / number of live pups on day 0) × 100, %

Sex ratio on day 4 = (number of male live pups on day 4 / number of live pups on day 4) × 100, %

Table 21

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

Body weight of pups up to day 4 of lactation; mean ± S.D. (N)

Compound	TMA											
Groups (mg/kg)	0 a)			8			40			200		
Day 0 of lactation												
Number of live pups	14.0 ±	3.0	(11)	14.7 ±	2.5	(13)	12.8 ±	4.4	(12)	13.2 ±	2.5	(11)
Male	6.8 ±	2.8		7.2 ±	2.9		6.7 ±	2.7		7.1 ±	2.7	
Female	7.2 ±	2.2		7.5 ±	2.4		6.2 ±	2.0		6.1 ±	2.3	
Weight of pup (g)												
Male	6.8 ±	0.5	(11)	6.8 ±	0.6	(13)	7.1 ±	1.1	(12)	7.2 ±	0.8	(11)
Female	6.3 ±	0.5	(11)	6.5 ±	0.6	(13)	6.5 ±	1.0	(12)	6.9 ±	0.8	(11)
Day 4 of lactation												
Number of live pups	13.5 ±	3.0	(11)	14.7 ±	2.5	(13)	12.8 ±	4.6	(12)	13.2 ±	2.5	(11)
Male	6.4 ±	2.2		7.2 ±	2.9		6.7 ±	2.7		7.1 ±	2.7	
Female	7.2 ±	2.2		7.5 ±	2.4		6.1 ±	2.3		6.1 ±	2.3	
Weight of pup (g)												
Male	10.4 ±	1.6	(11)	11.0 ±	1.4	(13)	11.3 ±	1.5	(12)	11.5 ±	1.6	(11)
Female	9.8 ±	1.7	(11)	10.7 ±	1.4	(13)	10.8 ±	1.5	(12)	11.2 ±	1.6	(11)

a), vehicle control, distilled water (10 mL/kg)

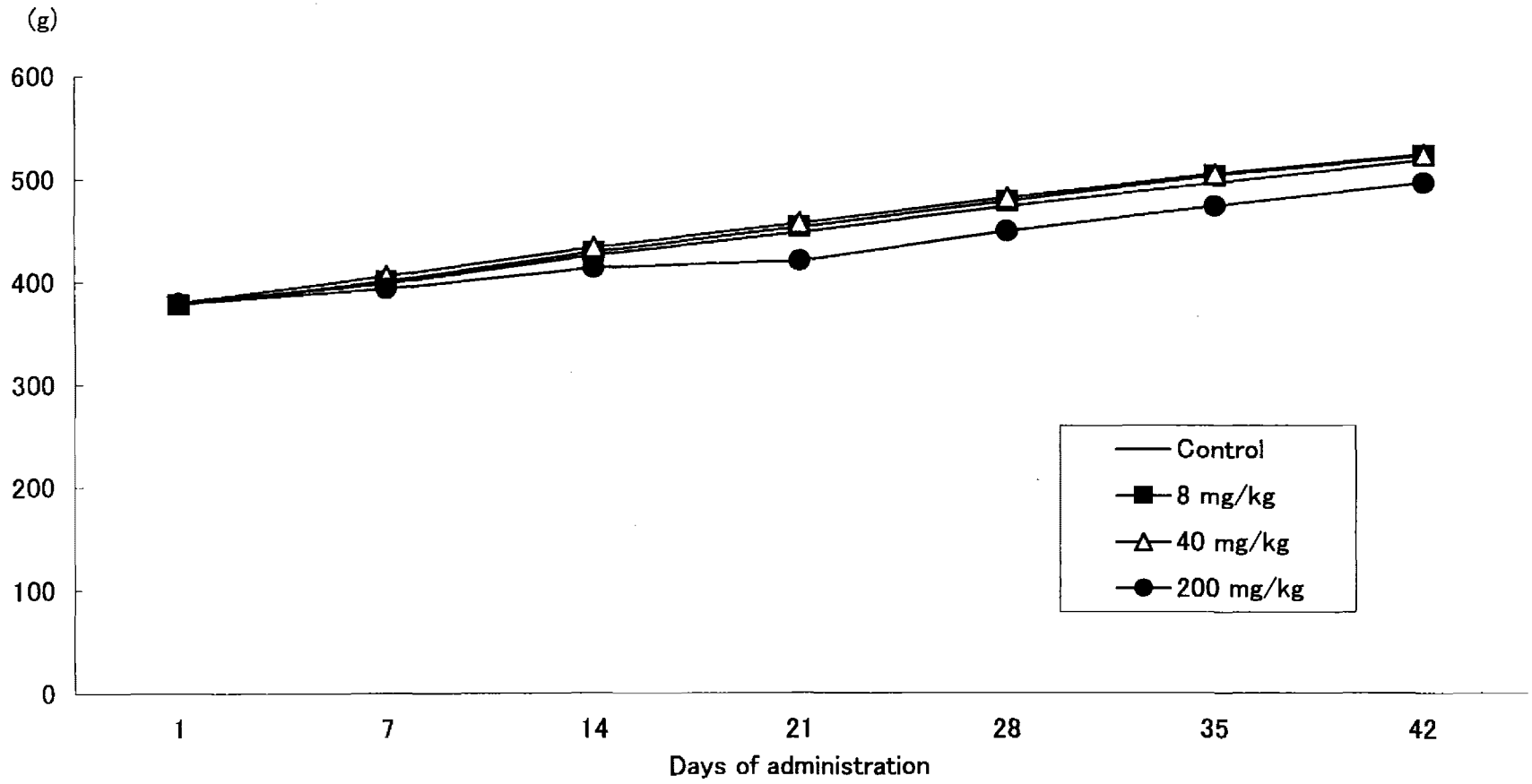

Fig.1 Body weight changes of male rats in combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats

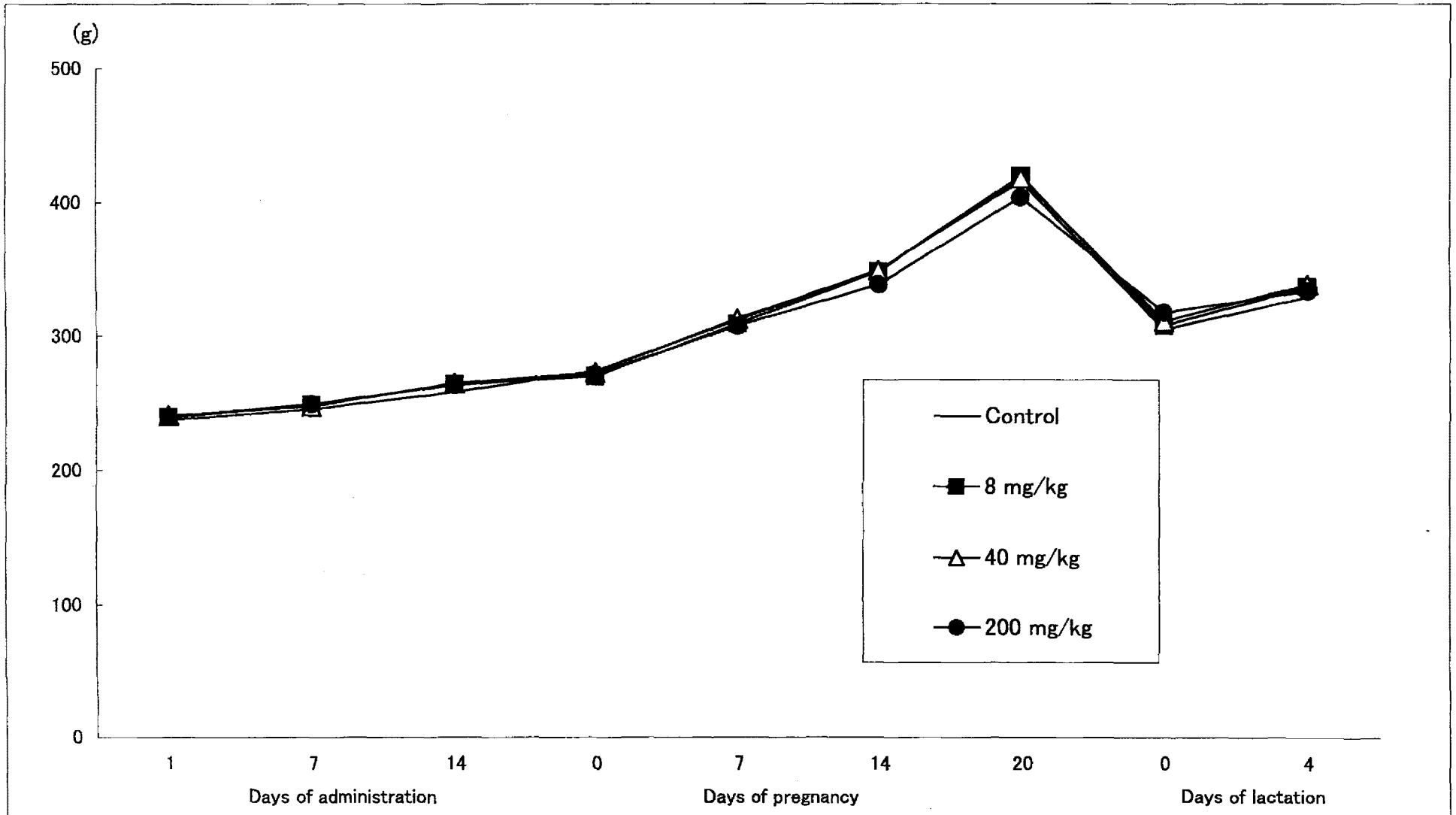

Fig. 2 Body weight changes of female rats in combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test of TMA in rats