

最終報告書

表 題：4-ビニルピリジンのラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験

試験番号：S R 0 6 1 1 1

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
表紙-----	1
目次-----	5
要約-----	12
緒言-----	13
材料および方法-----	13
成績-----	26
考察-----	31
参考資料-----	33

Figures

1	Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	35
2	Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	36
3	Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	37
4	Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	38

Tables

1	General appearance of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	39
2	General appearance of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	40
3	Detailed clinical observation, in the cage, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	41

4	Detailed clinical observation, on the hand, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	42
5	Detailed clinical observation, in the open-field, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	43
6	Detailed clinical observation, in the cage, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	44
7	Detailed clinical observation, on the hand, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	45
8	Detailed clinical observation, in the open-field, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	46
9	Functional observation of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	47
10	Functional observation of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	48
11	Grip strength and motor activity measurements of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	49
12	Grip strength and motor activity measurements of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	50
13	Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	51
14	Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	52
15	Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	53
16	Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	54
17	Urinary findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	55
18	Urinary findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	56
19	Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	57
20	Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	58
21	Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	59
22	Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	60

23	Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	61
24	Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	62
25	Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	63
26	Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	64
27	Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	65
28	Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	66
29	Gross findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	67
30	Gross findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	68
31	Absolute and relative organ weights of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	69
32	Absolute and relative organ weights of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	70
33	Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	71
34	Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	72
35	Histopathological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	73
36	Histopathological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111) -----	74

要 約

4-ビニルピリジンの0(対照、精製水)、20、40 および 80 mg/kg を1群雄雌各6匹のCr1:CD(SD)ラットに、28日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0および80 mg/kg について1群雄雌各6匹を設け、投与終了の翌日から14日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討し、以下の成績を得た。

1. 一般状態では、40 mg/kg 投与群の雄2例、80 mg/kg 投与群の雄4例および雌8例に流涎が認められたが、投与後の数時間以内に消失し、被験物質の刺激によるものと考えられた。
2. 剖検所見では、80 mg/kg 投与群の雄4例および雌5例に胃の境界縁肥厚および前胃粘膜の限局性肥厚が認められた。
3. 病理組織学的検査では、40 mg/kg 以上の投与群の雄および80 mg/kg 投与群の雌で前胃に軽度な扁平上皮過形成および粘膜下組織の水腫が認められ、また、80 mg/kg 投与群の雄4例および雌5例では、胃の境界縁に軽度な扁平上皮過形成も認められた。
4. 投与期間中に認められた変化には、いずれも回復性が認められた。
5. 詳細な一般状態観察、機能検査、体重推移、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査および器官重量では、各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連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4-ビニルピリジンの無影響量(NOEL)は雄で20 mg/kg/day、雌で40 mg/kg/day と考えられた。

緒 言

4-ビニルピリジンの0(対照、精製水)、20、40 および 80 mg/kg を1 群雄雌各 6 匹のCr1:CD(SD) ラットに、28 日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0 および 80 mg/kg について1 群雄雌各 6 匹を設け、投与終了の翌日から 14 日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、4-ビニルピリジン[純度：96.1% (Appendix 1-1)

] を 500 mL 購入して、使用した。受入後は、容器は密栓して冷凍保存(−20℃ 以下：実測範囲−28～−20℃)した。

被験物質サンプルとして、約 1 g を採取し、試験施設の資料保存室に保存した。試験操作終了後、残余の被験物質を 送付し、純度の分析成績を行い、その成績を入手して、試験期間中の保存安定性を確認した(Appendix 1-2)。

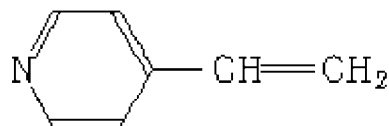
被験物質の特性情報を以下に示す。

名称 : 4-ビニルピリジン ; 4-Vinylpyridine¹⁾

CAS No. : 100-43-6

化審法官報公示整理番号 : (5)-717

示性式(構造式) : $C_5H_4N-CH:CH_2$ ²⁾



分子式 : C_7H_7N ¹⁾

分子量 : 105.14 (分子式より算出)

物理化学的性質 : 外観 ; 刺すような不快臭、うすい黄色～赤色の透明な液体²⁾

融点 ; −63.6～−63.3℃¹⁾

沸点 ; 121℃¹⁾

比重 ; 0.9879 g/cm³¹⁾

蒸気圧 ; 1.7 mmHg¹⁾

LogPOW ; 1.71¹⁾

溶解性；対水溶解度 29100 mg/L¹⁾、クロロホルム、アルコールに可
溶、水 (2.91g/100 mL、20℃) に微溶²⁾

不純物の名称およびその濃度：不明

安定性：熱、光などの影響により、容易に重合する恐れがある。着色する恐れがある。引火性が強く、燃焼しやすい。蒸気は地面あるいは床に沿って移動することがあり、遠距離引火の可能性²⁾がある。

2. 媒体

被験物質の調製媒体は、日本薬局方精製水(ロット番号 73H1、ヤクハン製薬株式会社)を使用し、また、対照群の投与液としても使用した。

3. 投与液の調製および化学分析

(1) 投与液の調製

被験物質を精秤し、所定の濃度となるように媒体を添加後、溶解させた。

被験物質はドラフト内で取扱い、調製の際にはマスク、手袋等を着用し、吸入、眼、皮膚および衣類等との接触を避けた。調製液は、スターラーにて均一に混和してバイアル瓶に分注後、冷蔵保存(実測範囲 1～5℃)し、調製後 12 日以内に投与に用いた。残余の投与液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

調製日	調製濃度 (mg/mL)	被験物質秤量値 (g)	投与液調製量 (mL)
2007 年 5 月 22 日 濃度確認実施	2	0.6001	300
	4	1.2000	300
	8	4.0009	500
2007 年 5 月 31 日	2	0.8002	400
	4	1.6001	400
	8	4.8004	600
2007 年 6 月 8 日 濃度確認実施	2	0.8402	420
	4	1.6801	420
	8	4.9603	620

(2) 投与液の化学分析

投与開始前に、被験物質の安定性を確認した。

被験物質調製液について、0.3 および 10 mg/mL 投与液中における調製後の室温保存 8 日間および冷蔵保存 8 および 14 日間の安定性を確認した。その結果、残存率は 0.3 mg/mL の室温保存 8 日間で 98.7%、冷蔵保存 8 および 14 日間でそれぞれ 99.0 および 99.3% であり、10 mg/mL の室温保存 8 日間で 101.0%、冷蔵保存 8 および 14 日間でそれぞれ 100.0 および 98.7% であった。この成績から、被験物質は調製液中で、室温保存で 8 日間、冷蔵保存で 14 日間は安定であると判断した (Appendix 2-1)。

初回および最終回調製時のすべての投与液について、被験物質の濃度を分析した結果、2、

4 および 8 mg/mL 調製液の含有率は、所定の濃度に対して初回調製時で 101.0、100.3 および 100.4%、最終回調製時で 97.5、98.0 および 98.8%であった。これらの投与液はいずれも規定範囲とした 95～105%の範囲内にあり、かつ変動係数も 0.3～2.1%で規定の 5%以下であったことから、調製液の濃度は適正と判断した (Appendix 2-2 および 2-3)。

(3) 濃度分析方法

標準物質として、被験物質を用いた。

標準溶液(約 10 μ g/mL)：4-ビニルピリジンの 20 μ L を 20 mL 容のメスフラスコに採取し、4-ビニルピリジンの重量を正確に量りとった。アセトニトリルで定容して約 1000 μ g/mL 溶液を調製した。この液 0.5 mL を正確に 50 mL 容のメスフラスコに採取し、アセトニトリルで定容して約 10 μ g/mL 溶液とした(標準溶液)。調製は 1 回、HPLC への注入は 3 回とした。調製後は冷蔵庫で保存し、14 日以内に使用した(調製日を 0 日として起算)。

試料溶液の調製：被験物質調製液の採取点数は、被験物質調製液の中層付近から 3 点とした。

各被験物質調製液を採取し、被験物質の最終濃度が 10 μ g/mL、媒体の割合が 1%以下となるようにアセトニトリルを加えたものを試料溶液とした。試料溶液の調製は 1 点につき 1 回、HPLC への注入は各 1 回とした。

移動相：蒸留水 700 mL にアセトニトリル 300 mL を加え、十分に混合した。この液 1000 mL にトリエチルアミンおよび酢酸を各 1 mL 加え、十分に混合したものを移動相とした。調製後は室温で保存し、21 日以内に使用した(調製日を 0 日として起算)。

オートサンブラ洗浄液および洗浄用注入液：蒸留水 700 mL にアセトニトリル 300 mL を加え、十分に混合したものをオートサンブラ洗浄液とした。調製後は室温で保存し、4 日以内に使用した(調製日を 0 日として起算)。

高速液体クロマトグラフ (HPLC) の構成および測定条件は以下の通りである。

高速液体クロマトグラフ (HPLC)

UV-VIS Detector	L-4200	株式会社 日立製作所
および UV Detector	L-4000	株式会社 日立製作所
Intelligent Pump	L-6200	株式会社 日立製作所
Column Oven	L-5025 および 655A-52	株式会社 日立製作所
Autosampler	AS-2000	株式会社 日立製作所
Degasser	ERC-3315 α	株式会社 イーアールシー
データ処理装置	Empower 2	日本ウォーターズ 株式会社

測定条件

カラム	: TSK-GEL ODS-80TS、5 μ m、4.6 mm I.D. $\times$ 150 mm、東ソー株式会社
移動相	: 蒸留水/アセトニトリル/トリエチルアミン/酢酸(700 : 300 : 1 : 1)
オートサンブラ洗浄液	: 蒸留水/アセトニトリル (700 : 300)
洗浄用注入液	: 蒸留水/アセトニトリル (700 : 300)
測定波長	: 240 nm
カラム温度	: 40°C
流量	: 1 mL/min
注入量	: 10 μ L
オートサンブラ温度	: 10°C
分析時間	: 8 分

Empower 2 を用いて標準溶液のピーク面積と濃度から作成した検量線より、各試料溶液の測定濃度を求め、以下の式より調製液中の被験物質濃度、変動係数、含有率および残存率を算出した。

$$\text{被験物質濃度 (mg/mL)} = \frac{\text{測定濃度 (}\mu\text{g/mL)} \times \text{希釈係数}}{1000}$$

$$\text{変動係数 (\%)} = \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均値}} \times 100$$

$$\text{含有率 (\%)} = \frac{\text{被験物質濃度平均値}}{\text{調製液の表示濃度}} \times 100$$

$$\text{残存率 (\%)} = \frac{\text{保存後の被験物質濃度平均値}}{\text{調製時の被験物質濃度平均値}} \times 100$$

4. 試験方法

(1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター生産の SPF Cr1:CD(SD) ラットを用いた。ラットは毒性試験等で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

雄雌各 42 匹(発注数 雄雌各 40 匹)を 2007 年 5 月 16 日に 4 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 83～100 g、雌で 69～81 g であった。

(2) 検疫および馴化

受入後、個々の動物について雄雌とも馴化 7 日(受入日を馴化 1 日として起算)まで、一般状態観察を 1 日 1 回、さらに受入日と検疫および馴化期間終了日(群分け日)に体重測定を実施した。検疫および馴化期間中に異常は認められなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、異常の認められない健康な動物を雄雌各 36 匹選抜して、5 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間終了日(投与開始前々日)の体重に基づいて、層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行った。群分け時の動物の体重範囲は、雄で 144～165 g、雌で 114～127 g であり、平均体重(雄 153.3 g、雌 120.9 g)の±20%以内であった。選抜から外れた動物は試験から除外して安楽死とした。なお、選抜された動物について投与開始前日に一般状態に異常がないことを確認した。

なお、投与開始時の体重範囲は、雄で 159～187 g、雌で 121～141 g であり、平均体重は雄 170.8 g、雌 131.0 g であった。

(4) 動物およびケージの識別

動物は、群分け前は油性フェルトペンで尾部に印を付け、群分け後は耳介に動物番号を入墨し、個体識別を行った。

飼育ケージは、群分け前は性別毎に色分けしたラベルに試験番号および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。群分け後はさらに試験群を明記した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

動物は温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (実測範囲 $19 \sim 23^{\circ}\text{C}$)、湿度 $50 \pm 20\%$ (実測範囲 $44 \sim 58\%$)、換気回数 $10 \sim 15$ 回/時間、照明時間 12 時間 (8:00~20:00、人工照明) の動物飼育室 (308 号室) で飼育した。

2) 飼育器材および飼育方法

ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm) に、検疫および馴化期間中は雄雌別に 3 匹ずつ、群分け後は 1 匹ずつ収容した。ケージおよび給餌器は群分け時および投与 7 日、その後は 2 週に 1 回交換した。受皿は週 2 回洗浄滅菌済みのものと交換した。自動給水装置の水抜きは週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、1 日 1 回実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用した。

3) 飼料

オリエンタル酵母工業株式会社製、 γ 線照射固型飼料 CRF-1 を、金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット (070206) の飼料について分析した。汚染物質の分析は財団法人 日本食品分析センターにおいて、微生物検査は飼料製造業者がそれぞれ行った。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった (Appendix 3-1~3-2)。

4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。ただし、尿検査時には給水瓶を使用した。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2007 年 4 月 2 日、2007 年 7 月 2 日および 2007 年 10 月 1 日に当該飼育室と同系統配管の最末端 (306 号室) から試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社が行った。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった (Appendix 4-1~4-3)。

(6) 試験群の構成

試験群の構成と各群の動物番号を以下に示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数(動物番号)	
			雄	雌
＜毒性試験群＞				
対照群	0	0	6 (101～106)	6 (151～156)
低用量群	20	2	6 (201～206)	6 (251～256)
中用量群	40	4	6 (301～306)	6 (351～356)
高用量群	80	8	6 (401～406)	6 (451～456)
＜回復性試験群＞				
対照群	0	0	6 (107～112)	6 (157～162)
高用量群	80	8	6 (407～412)	6 (457～462)

対照群には、他の群と同様の方法で媒体のみを投与した。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

1 群につき雄雌各 3 匹の SD 系ラット[Cr1:CD(SD)]に、日本薬局方精製水に溶解させた 4-ビニルピリジンの 0(対照)、3、10、30 および 60 mg/kg を 14 日間反復経口投与した予備試験³⁾の結果、60 mg/kg で雄雌に体重増加量および体重増加率の極軽度な低下傾向および雌に前胃粘膜の肥厚が認められた。予備試験では、LD₅₀ 値(経口)が 100 mg/kg であることを考慮して最高用量を 60 mg/kg に設定したが、60 mg/kg における毒性発現が軽度であることから、28 日間反復投与の本試験では、60 mg/kg 以上の投与量を最高用量に設定するのが妥当と考えられた。これらのことから、28 日間反復経口投与毒性試験では、80 mg/kg/day を最高用量に設定し、以下公比約 2 で除し、40 および 20 mg/kg/day を中用量および低用量に設定した。なお、対照群および 80 mg/kg/day の 2 用量については 28 日間投与後 14 日間休薬による回復性を検討する回復群を設定した。

2) 投与

被験物質がヒトに経口的に暴露される可能性を考慮し、OECD 試験法ガイドライン(407)に従って、1 日 1 回 28 日間、9:00～12:00、尿検査時は 11:30～12:30 の間にディスポーザブル胃ゾンデおよびディスポーザブルシリンジを用いて強制的に胃内に経口投与した。

投与容量は 10 mL/kg とし、各個体の投与液量は投与日に最も近い測定日の体重に基づいて算出した。

(8) 観察、測定および検査項目

1) 一般状態観察

全例について個々の動物の生死、外観、行動等について、投与開始日を投与 1 日、投与 28 日の翌日を回復 1 日として起算し、投与 1 日から剖検日(投与 28 日あるいは回復 14 日の翌日)まで午前(投与前)および午後の 1 日 2 回、剖検日は午前中に 1 回観察した。

2) 詳細な一般状態観察

全例について、投与開始前ならびに投与 7、14、21 および 28 日、回復 7 および 14 日に、詳細な一般状態観察を行った。観察項目は、ケージ外から姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦・痙攣、常同行動/回転・旋回、異常行動/自傷について、ケージから取り出す時に取り出し易さ、扱い易さ、筋緊張、立毛、被毛の状態、皮膚、眼球突出、瞳孔径、可視粘膜、流涙、流涎、体温について、オープンフィールド内で痙攣、歩行、覚醒状態、排尿、排糞、常同行動/毛繕い・匂嗅ぎ、異常行動/後方突進・発声、呼吸について、それぞれあらかじめ定めたスコアリング法を用いてスコアを記録した。

3) 機能検査

全例について、投与 4 週および回復 2 週に、機能検査および以下の測定を行った。検査台上で視覚(接近反応)、触覚(接触反応)、聴覚(音に対する反応)、痛覚(尾根部を挟む)、固有受容反応(強制姿勢からの復帰)、空中正向反射についてあらかじめ定めたスコアリング法を用いて観察し、そのスコアを記録した。また、握力および自発運動量を測定した。握力は CPU ゲージ(アイコーエンジニアリング株式会社)を用いて前肢および後肢の握力を各 3 回測定し、1 g 単位で記録した。自発運動量は自発運動量測定システム(スーパーメックスおよび CompACT AMS、室町機械株式会社)を用いて測定し、データの収集間隔を 10 分として 1 時間測定した。

4) 体重測定

全例について、投与 1、7、14、21 および 28 日の投与前、回復 7 および 14 日ならびに剖検日に電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ)を用いて測定し、1 g 単位で記録した。

以下の式により体重増加量および体重増加率を算出した。

投与期間

$$\text{体重増加量(g)} = \text{投与 28 日体重(g)} - \text{投与 1 日体重(g)}$$

$$\text{体重増加率(\%)} = \frac{\text{体重増加量(g)}}{\text{投与 1 日体重(g)}} \times 100$$

回復期間

$$\text{体重増加量(g)} = \text{回復 14 日体重(g)} - \text{投与 28 日体重(g)}$$

$$\text{体重増加率(\%)} = \frac{\text{体重増加量(g)}}{\text{投与 28 日体重(g)}} \times 100$$

5) 摂餌量測定

全例について、投与 1、7、14、21 および 28 日の投与前、回復 7 および 14 日に、電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ)を用いて測定し、1 g 単位で記録した。投与開始前日に適当量を測定後ケージ毎に給与し、その後は測定日に残量および給与量を測定した。ただし、剖検前日は残量のみを測定した。以下の式により摂餌量(g/rat/day)を算出した。

$$\text{摂餌量(g/rat/day)} = \frac{\text{給与量(g/rat)} - \text{残量(g/rat)}}{\text{測定日間の日数(day)}}$$

6) 尿検査

全例について投与 4 週および回復 2 週に、非絶食下でラット用代謝ケージ(KN-646、B-1 型、夏目製作所)を用いて採尿し、投与直後から約 3 時間の蓄尿で①～⑧を、また約 21 時間の蓄尿で⑨および⑩を実施し、採取した尿は検査終了後廃棄した。

検査項目および検査方法：

①pH	試験紙法(マルティステックス、バリエル メディカル)
②蛋白(Protein)	試験紙法(マルティステックス、バリエル メディカル)
③糖 (Glucose)	試験紙法(マルティステックス、バリエル メディカル)
④ケトン体(Ketone body)	試験紙法(マルティステックス、バリエル メディカル)
⑤ウロビリノーゲン(Urobilinogen)	試験紙法(マルティステックス、バリエル メディカル)
⑥ビリルビン(Bilirubin)	試験紙法(マルティステックス、バリエル メディカル)
⑦潜血反応(Occult blood)	試験紙法(マルティステックス、バリエル メディカル)
⑧色調(Color)	肉眼観察
⑨尿量(Urine Volume)	容量測定
⑩比重(Specific gravity)	屈折計法(尿比重屈折計エリコン-S、アタゴ)

7) 血液学的検査

全例について剖検時に 16～21 時間の絶食下でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。①～⑩については EDTA・2K (ベノジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社) で処理した血液約 1 mL を用い、⑪、⑫については 3.8% クエン酸ナトリウムで処理した血液約 1～2 mL を 3500 回転/分で 10 分間遠心分離して得られた血漿を用いた。得られた血液および血漿は検査終了後廃棄した。

検査項目および検査方法：

①赤血球数(RBC)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
②ヘマトクリット値(Ht)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
③ヘモグロビン量(Hb)	シアンメトヘモグロビン法 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
④平均赤血球容積(MCV)	RBC, Ht 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑤平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)	RBC, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)	Ht, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑦網赤血球数(Reticulocyte)	Brocher 法(鏡検)
⑧血小板数(Platelet)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑨白血球数(WBC)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑩白血球百分比 (Differential count of WBC)	May-Grünwald-Giemsa 染色(鏡検)
⑪プロトロンビン時間(PT)	トロンボプラスチン法 (血液凝固自動測定装置 KC4デルタ、トリニティ・バイオテック)
⑫活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	エラジン酸法 (血液凝固自動測定装置 KC4デルタ、トリニティ・バイオテック)

8) 血液化学的検査

全例について剖検時に 16～21 時間の絶食下でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。検査項目のうち①および⑤については血液 1 mL あたりへパリンナトリウム(へパリンナトリウム注 N「味の素」、1000 単位/mL、味の素株式会社)約 20 単位で処理後、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血漿を用いて検査した。他の項目については分離剤入り試験管(セパクリーン、栄研器材株式会社)に血液を採取し、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血清を用いて検査した。得られた血漿および血清は検査終了後、-20℃以下で凍結保存し、最終報告書提出後、廃棄する。

検査項目および検査方法：

①AST	JSCC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
②ALT	JSCC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
③アルカリホスファターゼ (ALP)	JSCC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
④γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑤グルコース (Glucose)	ヘキソキナーゼ法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑥総コレステロール (T-Cho)	酵素法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑦トリグリセリド (TG)	遊離グリセロール消去法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑧総ビリルビン (T-Bil)	アゾビリルビン法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑨尿素窒素 (UN)	ウレアーゼ・GLDH 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑩クレアチニン (Crea)	Jaffé 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑪ナトリウム (Na)	イオン選択電極 (ISE) 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑫カリウム (K)	イオン選択電極 (ISE) 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑬クロール (Cl)	イオン選択電極 (ISE) 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑭カルシウム (Ca)	OCPC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑮無機リン (IP)	Fiske-Subba Row 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑯総蛋白 (TP)	ビウレット法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ)
⑰蛋白分画 (Protein fraction)	セルロースアセテート膜電気泳動法 (自動電気泳動装置 AES320、三島オリンパス)
⑱A/G 比 (A/G ratio)	蛋白分画より算出
⑲アルブミン (Albumin)	総蛋白と蛋白分画より算出

9) 剖検

全例について、投与 28 日の翌日および回復 14 日の翌日に剖検した。体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、以下の器官・組織を 10%中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存し、精巣および精巣上体はブアン液で固定、70%エタノールに保存した。肺については固定液を注入後、浸漬固定とした。左右のある器官については、原則として左右とも固定・保存した。

器官・組織名：脳(大脳、小脳および延髄)、下垂体、脊髄、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、心臓、舌、食道、胃、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊(凝固腺含む)、卵巣、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、大腿骨(骨髓含む、右)および坐骨神経。

10) 器官重量測定

全例について、剖検時に電子式上皿天秤(ER-180A、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて以下の器官について重量を測定した。なお、左右のある器官については、左右合わせて測定した。

器官名：脳、下垂体、甲状腺、副腎、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、胸腺、精巣、精巣上体、前立腺、精囊(凝固腺含む)、卵巣、子宮

以下の式により相対重量を算出した。

$$\text{相対重量(\%)} = \frac{\text{絶対重量(g)}}{\text{剖検日体重(g)}} \times 100$$

11) 病理組織学的検査

剖検時に固定・保存した全例の全器官・組織についてパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、対照群および高用量群の全例について鏡検した。

鏡検の結果、被験物質投与の影響と考えられる変化のみられた前胃および胃の境界縁については、その他の投与群の動物についても全例鏡検した。

剖検時にみられた肉眼的異常部位として、当該動物について右腎臓(No. 306)と右副腎(No. 252)の鏡検も行った。

また、雌 1 例(No. 152)の肝臓については Oil red O 染色標本も作製し、中性脂肪の有無を確認した。

5. 統計学的方法

投与期間中は回復群の動物を合わせて集計した。

握力、自発運動量、体重、体重増加量および増加率、摂餌量、尿量、血液学的検査、血液化学的検査、器官の絶対重量および相対重量の成績について平均値および標準偏差を算出し、Bartlett の検定法により等分散性を解析した。等分散 ($p > 0.05$) の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散 ($p \leq 0.05$) の場合は Kruskal-Wallis の検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Dunnett の検定法を用いて対照群との比較を行った。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照群との比較を行った。

詳細な一般状態観察および機能検査の観察項目、尿検査の定性的項目および尿比重の成績について Kruskal-Wallis の検定法で解析し、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照群との比較を行った。

対照群との比較検定については、有意水準を 5% とした。なお、統計学的方法に関する表示方法を INDIVIDUAL DATA の冒頭に示す。

成 績

1. 一般状態

一般状態の成績を Table 1 および 2、INDIVIDUAL DATA 1-1-1～1-2-4 に示す。

[投与期間]

対照群および 20 mg/kg 投与群では、雄雌ともに異常は認められなかった。

40 mg/kg 投与群では、雄 2 例 (No. 303、305) で流涎が各 1 回認められた。雌には異常は認められなかった。

80 mg/kg 投与群では、雄 4 例 (No. 402、405、409、411) および雌 8 例 (No. 451～453、455、457、458、461、462) に流涎が散見された。

40 および 80 mg/kg 投与群で認められた流涎は、いずれも午後の観察では消失していた。

[回復期間]

80 mg/kg 投与群の雄 1 例 (No. 412) に血尿が散見された以外には、対照群および 80 mg/kg 投与群の雄雌ともに異常は認められなかった。

2. 詳細な一般状態観察

詳細な一般状態観察の成績を Table 3～8、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～4-14-2 に示す。

[投与期間]

20 および 40 mg/kg 投与群では、雄雌ともにいずれの検査時にも各観察項目に対照群と比較して有意な差は認められず、鎮静、興奮あるいは行動異常等の神経行動学的な異常も認められなかった。

80 mg/kg 投与群では、雄で投与 14 日に排尿回数に有意な増加が認められたが、他には雄雌ともにいずれの検査時にも各観察項目に対照群と比較して有意な差は認められず、鎮静、興奮あるいは行動異常等の神経行動学的な異常も認められなかった。

[回復期間]

80 mg/kg 投与群の雄雌ともにいずれの検査時にも各観察項目に対照群と比較して有意な差は認められず、鎮静、興奮あるいは行動異常等の神経行動学的な異常も認められなかった。

3. 機能検査

機能検査の成績を Table 9～12、INDIVIDUAL DATA 5-1-1～6-4-2 に示す。

[投与 4 週]

20 mg/kg 投与群では、雄で前肢の握力に対照群と比較して有意な高値が認められた。雌には有意な変化は認められなかった。

40 および 80 mg/kg 投与群では、雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

[回復 2 週]

80 mg/kg 投与群の雌で後肢の握力に対照群と比較して有意な高値が認められた。雌には有意な変化は認められなかった。

4. 体重推移

体重推移を Figure 1 および 2、Table 13 および 14、INDIVIDUAL DATA 7-1-1～7-2-4 に示す。

[投与期間]

各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。

[回復期間]

80 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。

5. 摂餌量

摂餌量を Figure 3 および 4、Table 15 および 16、INDIVIDUAL DATA 8-1-1～8-2-4 に示す。

[投与期間]

各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。

[回復期間]

80 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。

6. 尿検査

尿検査の成績を Table 17～20、INDIVIDUAL DATA 9-1-1～9-4-2 に示す。

[投与 4 週]

20 mg/kg 投与群では、雄で蛋白排泄量に対照群と比較して有意な増加が認められた。雌には有意な変化は認められなかった。

40 および 80 mg/kg 投与群では、雄雌ともに蛋白排泄量の有意な増加が認められた。

[回復 2 週]

80 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

7. 血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 21～24、INDIVIDUAL DATA 10-1-1～10-4-4 に示す。

[投与期間終了時]

20 mg/kg 投与群では、雌で対照群と比較して網赤血球数の有意な高値および活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な遅延が認められた。雄には有意な変化は認められなかった。

40 mg/kg 投与群では、雄に赤血球数の有意な高値が認められた。雌には網赤血球数の有意な高値および活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な遅延が認められた。

80 mg/kg 投与群では、雌に網赤血球数の有意な高値および活性化部分トロンボプラスチン時

間の有意な遅延が認められた。雄には有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

80 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

以下に、有意な変化の認められた項目について背景データを示す。

ラット、9 週齢：投与期間終了時 項目	雄		雌	
	平均値	範囲	平均値	範囲
赤血球数($10^4/\mu\text{L}$)	801	718～884	791	706～877
網赤血球数(%)	27	12～43	23	10～36
活性化部分トロンボプラスチン時間 (sec)	26.9	20.9～34.5	19.8	16.4～23.3

8. 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 25～28、INDIVIDUAL DATA 11-1-1～11-4-4 に示す。

[投与期間終了時]

各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

80 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

9. 剖検

剖検所見を Table 29 および 30、INDIVIDUAL DATA 12-1-1～12-4-2 に示す。

[投与期間終了時]

対照群では、雄雌ともに異常所見は認められなかった。

20 mg/kg 投与群では、雌 1 例(No. 252)に右副腎の小型が認められた。雄には異常所見は認められなかった。

40 mg/kg 投与群では、雄 1 例(No. 306)の右腎臓に腎盂拡張が認められた。雌には異常所見は認められなかった。

80 mg/kg 投与群では、雄 4 例(No. 401、402、404、405)および雌 5 例(No. 451～454、456)に胃の境界縁肥厚および前胃粘膜の限局性肥厚が認められた。

[回復期間終了時]

対照群および 80 mg/kg 投与群の雄雌ともに異常所見は認められなかった。

10. 器官重量

器官重量の成績を Table 31～34、INDIVIDUAL DATA 13-1-1～13-4-4 に示す。

[投与期間終了時]

20 および 40 mg/kg 投与群では、雌の下垂体の相対重量に対照群と比較して有意な低値が認められた。雄には有意な変化は認められなかった。

80 mg/kg 投与群では、雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

80 mg/kg 投与群の雄で心臓の相対重量に対照群と比較して有意な高値が認められた。雌には有意な変化は認められなかった。

以下に、有意な変化の認められた項目について背景データを示す。

ラット、9 週齢：投与期間終了時		雄		雌	
項目		平均値	範囲	平均値	範囲
下垂体	絶対重量(mg)	10.90	7.69～14.12	12.27	8.21～16.33
	相対重量(10 ⁻³ %)	3.138	2.230～4.045	5.818	4.069～7.568

ラット、11 週齢：回復期間終了時		雄		雌	
項目		平均値	範囲	平均値	範囲
心臓	絶対重量(g)	1.411	1.142～1.679	0.843	0.667～1.018
	相対重量(%)	0.332	0.281～0.383	0.357	0.306～0.407

11. 病理組織学的検査

病理組織学的所見を Table 35 および 36、INDIVIDUAL DATA 14-1-1～14-4-2 に示す。

[投与期間終了時]

前胃：対照群および 20 mg/kg 投与群では、雄雌ともに異常所見は認められなかった。

40 mg/kg 投与群では、雄 3 例(No. 304～306)に軽度の扁平上皮過形成および軽度の過角化、雄 1 例(No. 306)に粘膜下組織の水腫が認められた。雌には同様の変化は認められなかった。

80 mg/kg 投与群の雄雌全例に軽度の扁平上皮過形成および軽度の過角化、雄 2 例(No. 401、406)および雌 1 例(No. 451)に粘膜下組織の水腫が認められた。

胃の境界縁：対照群ならびに 20 および 40 mg/kg 投与群では、雄雌ともに異常所見は認められなかった。

80 mg/kg 投与群の雄 4 例(No. 401、402、404、405)および雌 5 例(No. 451～454、456)に軽度の扁平上皮過形成ならびに雄 2 例(No. 402、405)に軽度の過角化が認められた。

その他の器官・組織：各投与群の雄雌ともに対照群と比較して例数やグレードが正常範囲を逸脱する変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

前胃および胃の境界縁：80 mg/kg 投与群の雄雌ともに異常所見は認められなかった。

その他の器官・組織：80 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して例数やグレードが正常範囲を逸脱する変化は認められなかった。

以下に、対照群を含めた各投与群にみられた所見、グレードおよび発現率を示す。

器官・ 組織名	所見名	グ レ ー ド	所見の認められた動物数					
			4-ビニルピリジン (mg/kg)					
			毒性試験群				回復性試験群	
			0	20	40	80	0	80
<雄>								
肺	泡沫細胞の集簇	+	2/6	※	※	—	2/6	—
	動脈の鉍質沈着	+	1/6	※	※	—	1/6	1/6
前胃	扁平上皮過形成	+	—	—	3/6	6/6	—	—
	過角化	+	—	—	3/6	6/6	—	—
胃の境界縁	粘膜下組織の水腫	+	—	—	1/6	2/6	—	—
	扁平上皮過形成	+	—	—	—	4/6	—	—
	過角化	+	—	—	—	2/6	—	—
腺胃	粘膜下組織の炎症性細胞浸潤	+	—	※	※	—	1/6	1/6
肝臓	小肉芽腫	+	1/6	※	※	4/6	2/6	4/6
腎臓	近位尿細管上皮の硝子滴	+	—	※	-/1	1/6	—	—
	近位尿細管上皮の好酸性小体	+	—	※	-/1	1/6	—	—
	尿細管上皮の再生	+	—	※	-/1	1/6	1/6	3/6
	硝子円柱	+	—	※	-/1	—	1/6	—
	腎盂拡張	+	—	※	1/1	—	—	—
	嚢胞	+	—	※	-/1	—	—	1/6
前立腺	炎症性細胞浸潤	+	1/6	※	※	1/6	3/6	2/6
下垂体	前葉の嚢胞	+	—	※	※	—	—	1/6
	後葉の嚢胞	+	—	※	※	—	—	1/6
	管状過形成	+	—	※	※	—	—	1/6
<雌>								
肺	泡沫細胞の集簇	+	1/6	※	※	—	—	—
	動脈の鉍質沈着	+	—	※	※	1/6	—	—
前胃	骨化生	+	—	※	※	1/6	—	1/6
	扁平上皮過形成	+	—	—	—	6/6	—	—
	過角化	+	—	—	—	6/6	—	—
	粘膜下組織の水腫	+	—	—	—	1/6	—	—
胃の境界縁	扁平上皮過形成	+	—	—	—	5/6	—	—
肝臓	小肉芽腫	+	2/6	※	※	3/6	2/6	3/6
下垂体	小葉周辺性脂肪化	+	1/6	※	※	—	—	—
	前葉の嚢胞	+	—	※	※	1/6	—	—
副腎	形成不全	+	—	1/1	※	—	—	—

発現率の分母は観察例数、分子は所見例数。

グレード：+, 軽度。

—：該当なし。 ※：検査を実施しなかった。

考 察

4-ビニルピリジンの0(対照、精製水)、20、40 および 80 mg/kg を1群雄雌各6匹のCr1:CD(SD)ラットに、28日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0および80 mg/kg について1群雄雌各6匹を設け、投与終了の翌日から14日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討した。

一般状態では、投与期間中に40 mg/kg 投与群の雄2例、80 mg/kg 投与群の雄4例および雌8例に流涎が認められた。この流涎は、いずれも午後の観察時には消失していること、投与期間終了とともに発現しなくなっていること、病理組織学的所見も含めて中枢性の変化は認められていないこと、また、前胃に軽度の扁平上皮過形成、軽度の過角化および粘膜下組織の水腫が認められていることなどから、被験物質の刺激性に関連して発現したものと考えられた。

回復期間中に80 mg/kg 投与群の雄1例に血尿が散見されたが、投与期間中には認められていないこと、また、腎臓に病理組織学的所見が認められていないことから、被験物質投与に関連しない偶発的な変化と考えられた。

詳細な一般状態観察では、投与14日に80 mg/kg 投与群の雄で排尿回数に有意な増加が認められた。この変化は、投与14日にのみ限定して認められている有意差であり、前後の検査時には認められていないことから、偶発的なものであり被験物質投与との関連性はないと考えられた。

機能検査では、投与4週に20 mg/kg 投与群の雄で前肢の握力に対照群と比較して有意な高値が認められたが、用量依存的な変化ではなく、被験物質投与との関連性はないと考えられた。また、回復2週には、80 mg/kg 投与群の雌に後肢の握力の有意な高値が認められたが、この変化は投与終了時には認められていないことから、毒性学的な意義はないと判断した。

体重推移および摂餌量では投与期間中に各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

尿検査では、投与4週に雄の20 mg/kg 投与群ならびに雄雌の40および80 mg/kg 投与群で蛋白排泄量の有意な増加が認められた。ラットの蓄尿に被験物質を添加して尿蛋白の測定系に対する干渉の有無を検討した結果、被験物質の添加量の増加に伴い陽性反応の増強が認められた⁴⁾。このことを踏まえ、本試験の雄雌に認められている尿蛋白の有意な増加には、被験物質の測定系への干渉による可能性があり、尿量や血液化学的検査における腎機能項目(尿素窒素、クレアチニン等)および病理組織学的検査における腎臓の変化等は認められていないことから、本試験における蛋白排泄量の有意な増加には毒性学的な意義はないと判断した。

血液学的検査では、投与期間終了時に40 mg/kg 投与群の雄に赤血球数の有意な高値が認められたが、用量依存的な変化ではなかった。また、雌の各投与群に網赤血球数の有意な高値および活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な遅延が認められたが、プロトロンビン時間、肝機能

および貧血項目に異常がないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

血液化学的検査では、投与期間終了時に各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

剖検所見では、投与期間終了時に 80 mg/kg 投与群の雄 4 例および雌 5 例に胃の境界縁肥厚および前胃粘膜の限局性肥厚が認められた。この変化は、予備試験³⁾において 60 mg/kg の 14 日間投与群でも認められており、被験物質の刺激性に関連した変化と考えられた。

一方、20 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた右副腎の小型および 40 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた右腎臓の腎盂拡張については、その発現頻度が低いこと、また、用量依存的でないことから、偶発的な変化と考えられた。

器官重量では、投与期間終了時に 20 および 40 mg/kg 投与群の雌に下垂体の相対重量の有意な低値が、また、回復期間終了時に 80 mg/kg 投与群の雄に心臓の相対重量の有意な高値が認められたが、用量依存的な変化ではないこと、あるいは、背景データの変動範囲内であることから、毒性学的意義はないと考えられた。

病理組織学的検査では、投与期間終了時に 40 mg/kg 以上の投与群の雄および 80 mg/kg 投与群の雌で前胃に軽度の扁平上皮過形成、軽度の過角化および粘膜下組織の水腫が認められ、また、80 mg/kg 投与群の雄 4 例および雌 5 例では胃の境界縁に軽度の扁平上皮過形成、雄 2 例では軽度の過角化も認められた。この変化は、剖検所見において認められている、胃の境界縁肥厚および前胃粘膜の限局性肥厚を反映した所見であり、被験物質の刺激性に関連した変化と考えられた。

投与期間中に認められた流涎、投与期間終了時に認められた胃および前胃粘膜の肥厚性ならびに過形成性の変化は、回復期間中あるいは回復期間終了時には認められず、いずれも回復性が認められた。

以上のように、被験物質投与に関連した変化として、40 mg/kg 以上の投与群の雄に一般状態で散発的な流涎、病理組織学的所見で前胃の軽度の扁平上皮過形成および粘膜下組織の水腫が認められた。80 mg/kg 投与群では、雌にも流涎が散見され、また、剖検所見で胃の境界縁肥厚および前胃粘膜の限局性肥厚、病理組織学的所見で胃の境界縁に軽度の扁平上皮過形成も認められた。しかし、これらの変化にはいずれも回復性が認められた。

したがって、本試験条件下における 4-ビニルピリジンの無影響量(NOEL)は雄で 20 mg/kg/day、雌で 40 mg/kg/day と考えられた。

参考資料

- 1) 既存化学物質安全性点検データ. 独立行政法人 製品評価技術基盤機構.
- 2) 製品安全データシート. 東京化成工業株式会社.
- 3) 4-ビニルピリジンのラットにおける 14 日間反復経口投与毒性予備試験 (S R 0 6 1 1 1 P) 最終報告書. 株式会社 化合物安全性研究所. (2007)

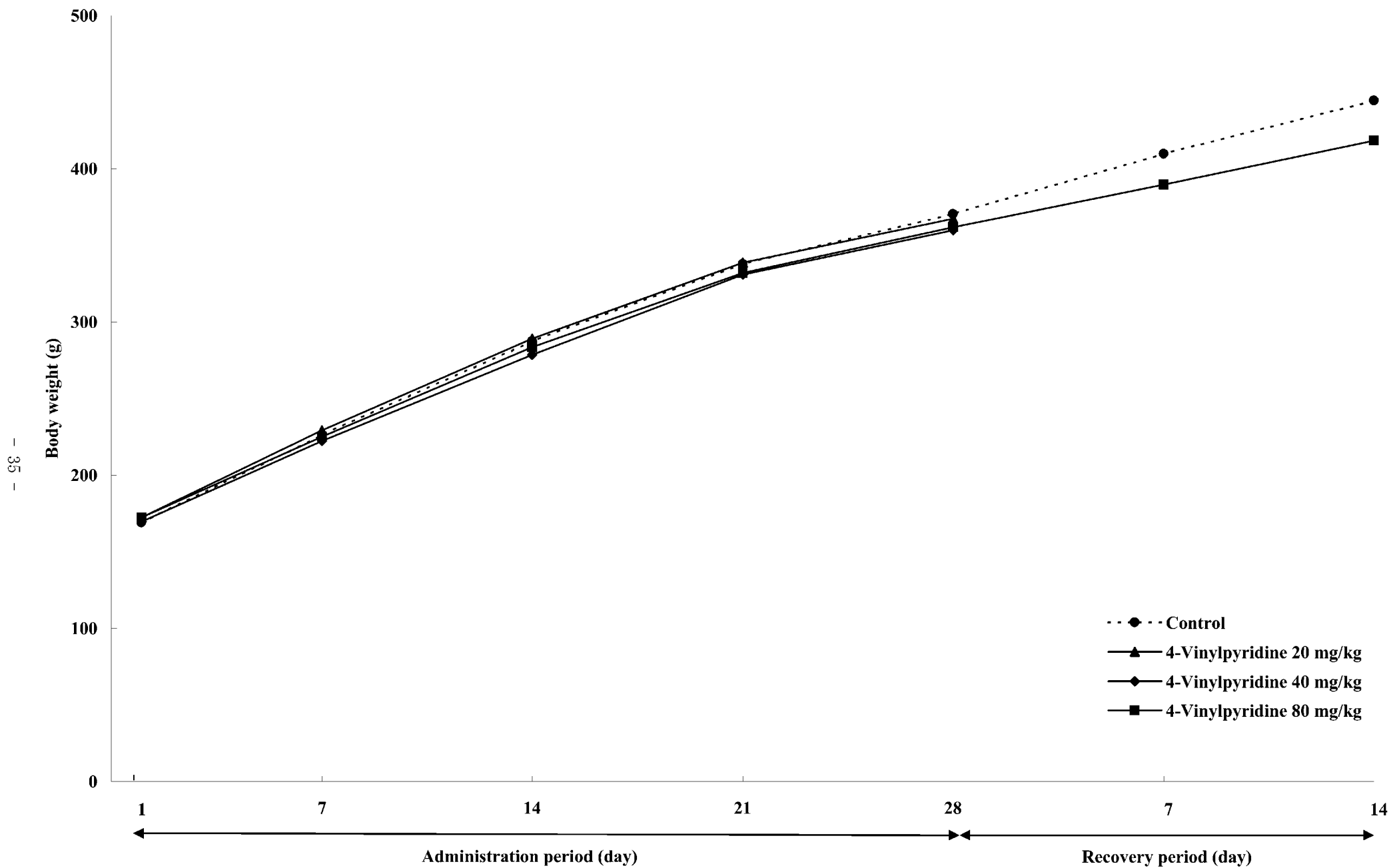


Figure 1 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

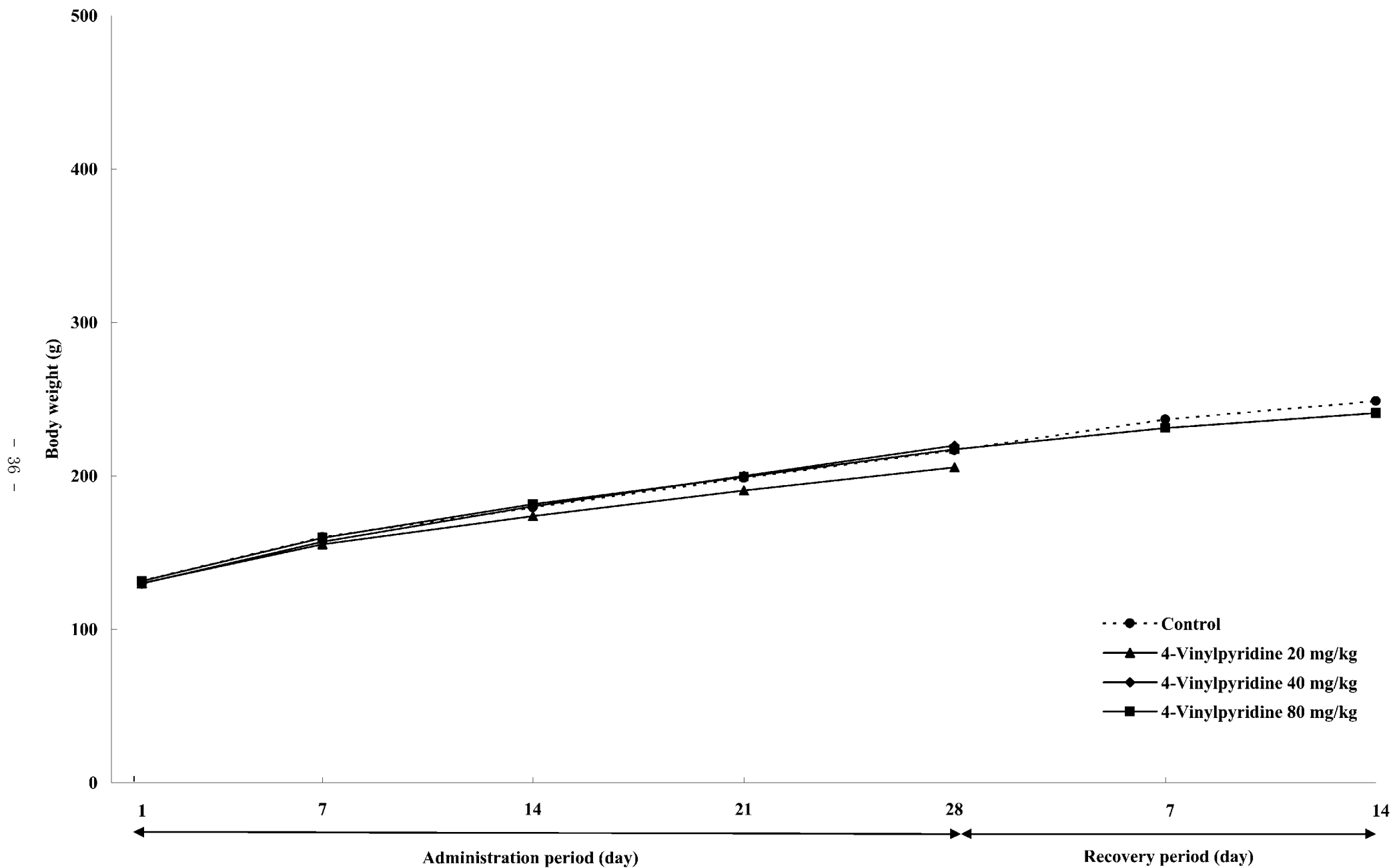


Figure 2 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

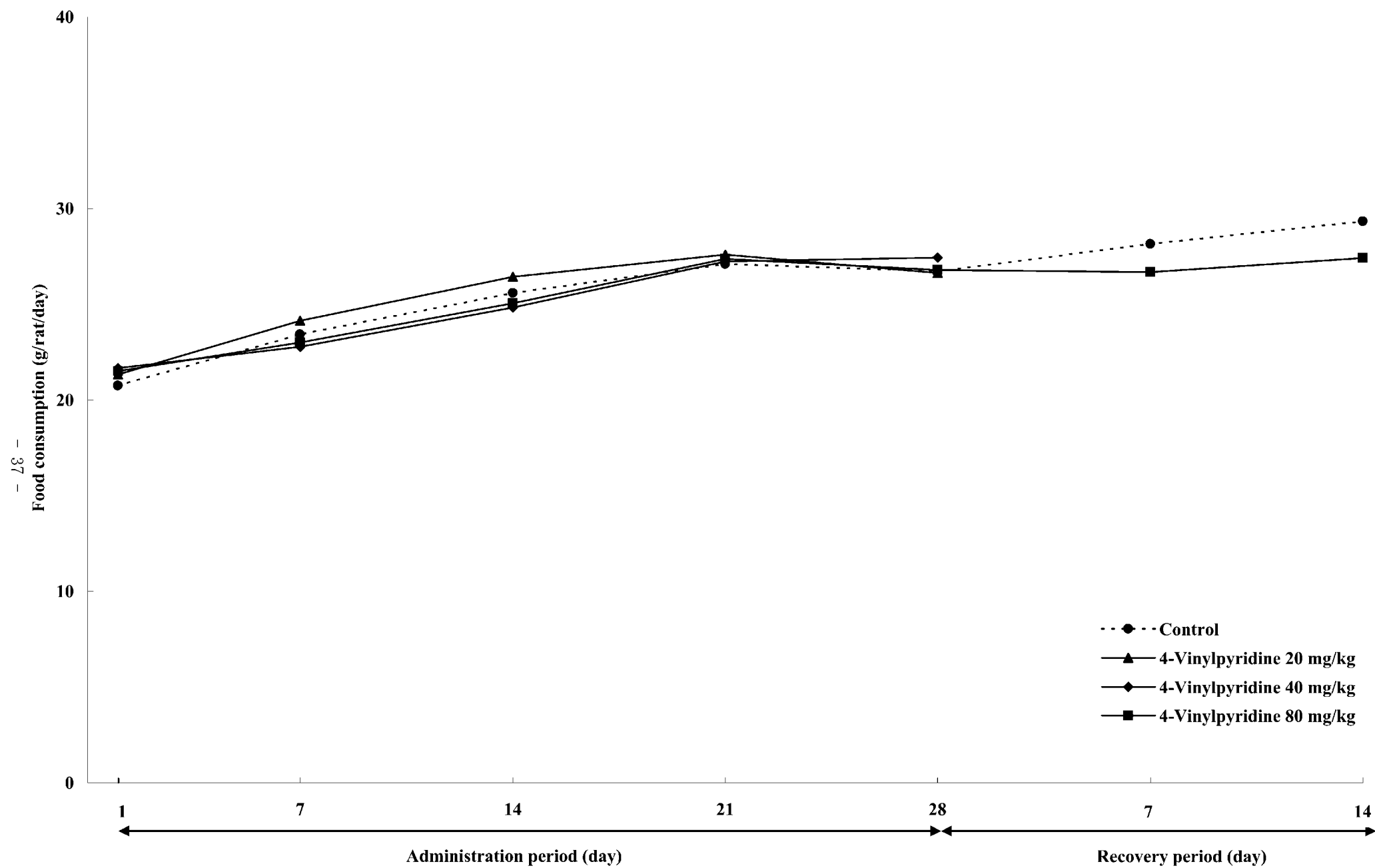


Figure 3 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

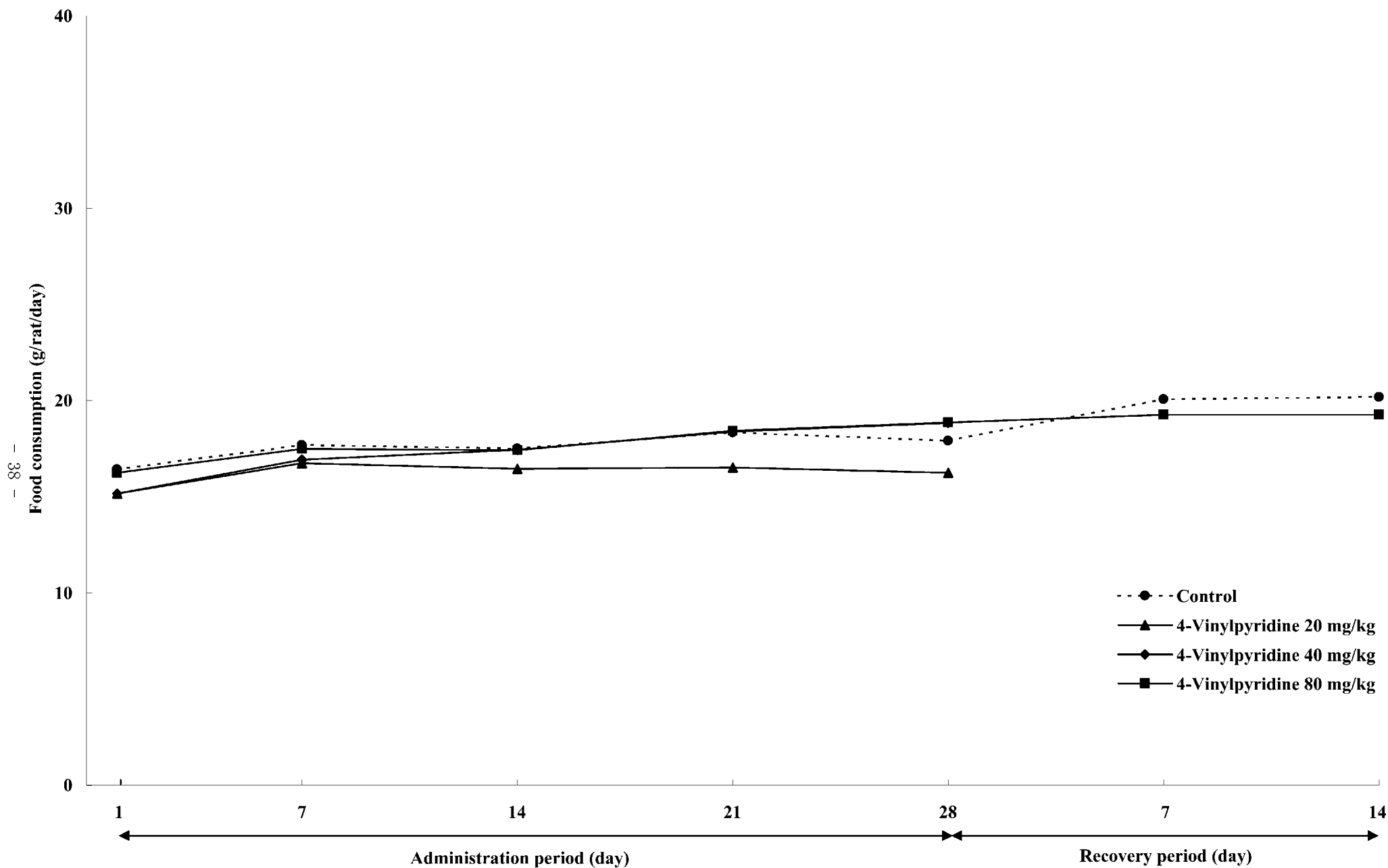


Figure 4 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Table 1 General appearance of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Findings	Administration period (day)											Autopsy day
		1-10	11	12	13	14-17	18	19	20,21	22-26	27	28	
Control	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	No abnormal findings	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	No abnormal findings	6	6	5	6	6	6	6	6	6	5	6	6
	Salivation	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
	No abnormal findings	12	11	12	11	12	11	12	11	12	12	10	6
	Salivation	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	2	0

Group	Findings	Recovery period (day)							Autopsy day
		1,2	3	4,5	6-8	9	10-12	13,14	
Control	Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6	6
	No abnormal findings	6	6	6	6	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6	6
	No abnormal findings	6	5	6	5	6	5	6	6
	Hematuria	0	1	0	1	0	1	0	0

Values are number of animals with findings.

Table 2 General appearance of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Findings	Administration period (day)																	Autopsy day
		1-9	10	11	12	13	14,15	16	17	18	19,20	21	22,23	24	25	26	27	28	
Control	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
	No abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	No abnormal findings	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	No abnormal findings	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	Number of animals examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
	No abnormal findings	12	11	10	9	10	9	8	7	9	10	7	9	10	11	12	11	9	6
	Salivation	0	1	2	3	2	3	4	5	3	2	5	3	2	1	0	1	3	0
Group	Findings	Recovery period (day)				Autopsy day													
		1-14																	
Control	Number of animals examined	6				6													
	No abnormal findings	6				6													
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	Number of animals examined	6				6													
	No abnormal findings	6				6													

Values are number of animals with findings.

Table 3 Detailed clinical observation, in the cage, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Category	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor/ Convulsion 1	Stereotype		Bizarre behavior
								Rolling 0	Circling 0	Selfmutilation 1
Pre	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 7	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 14	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 21	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 28	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	Control	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	Control	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 4 Detailed clinical observation, on the hand, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Category	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Piloerection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrimation 1	Salivation 1	Body temperature 1
Pre	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 7	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 14	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 21	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 28	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	Control	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	Control	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 5 Detailed clinical observation, in the open-field, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Category	Convulsion 1	Gait 1	Arousal 1	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior		
							0	1	0	1	Grooming 0	Sniffing 1	Walking backward 1	Vocaliza- tion 1	Respiratory pattern 1
Pre	Control	12		12	12	12	5	7	9	3	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	3	3	1	5	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	5	1	5	1	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	6	6	7	5	12	12	12	12	12
Day 7	Control	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	4	2	4	2	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	5	1	4	2	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	10	2	8	4	12	12	12	12	12
Day 14	Control	12		12	12	12	11	1	10	2	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	3	3	3	3	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	4	2	5	1	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	[4	8] +	6	6	12	12	12	12	12
Day 21	Control	12		12	12	12	11	1	11	1	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	3	3	3	3	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	4	2	6	0	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	10	2	10	2	12	12	12	12	12
Day 28	Control	12		12	12	12	12	0	11	1	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	10	2	10	2	12	12	12	12	12
R-Day 7	Control	6		6	6	6	3	3	5	1	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	0	4	2	6	6	6	6	6
R-Day 14	Control	6		6	6	6	5	1	5	1	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	0	5	1	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Pre : Pre-administration.

+ : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 6 Detailed clinical observation, in the cage, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Category	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor/ Convulsion 1	Stereotype		Bizarre behavior
								Rolling 0	Circling 0	Selfmutilation 1
Pre	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 7	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 14	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 21	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 28	Control	12		12	12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	Control	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	Control	6		6	6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 7 Detailed clinical observation, on the hand, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Category	Handling	Treating	Muscle tone	Piloerection	Fur	Skin	Eyes	Pupil size	Mucous membranes	Lacrimation	Salivation		Body temperature
				1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
Pre	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
Day 7	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
Day 14	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
Day 21	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
Day 28	Control	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	1	12
R-Day 7	Control	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
R-Day 14	Control	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 8 Detailed clinical observation, in the open-field, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Convulsion Category	Gait 1	Arousal 1					Stereotype		Bizarre behavior		
						Urination		Defecation		Grooming 0	Sniffing 1	Walking backward 1	Vocaliza- tion 1	Respiratory pattern 1
						0	1	0	1					
Pre	Control	12		12	12	12	9	3	12	0	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	4	2	5	1	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	10	2	10	2	12	12	12	12
Day 7	Control	12		12	12	12	10	2	12	0	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	9	3	12	0	12	12	12	12
Day 14	Control	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
Day 21	Control	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12
Day 28	Control	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
R-Day 7	Control	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
R-Day 14	Control	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 9 Functional observation of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Category	Reactivity					Righting reflex
				Visual	Touch	Auditory	Pain	Proprioceptive	
				4	2	1	2	1	1
Week 4	Control	12		12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12
R-Week 2	Control	6		6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Week 4 : Week 4 of administration.

R-Week 2 : Week 2 of recovery.

Visual reactivity: approach response.

Touch reactivity: touch response.

Auditory reactivity: response to Galton's whistle.

Pain reactivity: tail pinch response.

Proprioceptive reactivity: returning from enforced posture.

Righting reflex: landing performance from 30 cm above.

Table 10 Functional observation of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals	Category	Reactivity					Righting reflex
				Visual 4	Touch 2	Auditory 1	Pain 2	Proprioceptive 1	
Week 4	Control	12		12	12	12	12	12	12
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12
R-Week 2	Control	6		6	6	6	6	6	6
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Week 4 : Week 4 of administration.

R-Week 2 : Week 2 of recovery.

Visual reactivity: approach response.

Touch reactivity: touch response.

Auditory reactivity: response to Galton's whistle.

Pain reactivity: tail pinch response.

Proprioceptive reactivity: returning from enforced posture.

Righting reflex: landing performance from 30 cm above.

Table 11 Grip strength and motor activity measurements of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals		Grip strength		Motor activity measurements (count)						
				Forelimb (g)	Hindlimb (g)	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	Total
Week 4	Control	12	Mean	1056.39	502.42	533.2	511.1	390.9	284.8	189.2	120.8	2029.8
			S.D.	101.02	66.29	143.7	173.6	155.2	163.4	95.9	151.3	685.4
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	1195.67*	582.68	589.5	455.5	338.3	310.3	225.7	198.2	2117.5
			S.D.	77.65	66.36	203.6	146.7	207.2	172.8	108.8	118.8	750.4
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	1136.62	575.75	598.2	480.0	345.7	232.3	198.2	183.8	2038.2
			S.D.	101.09	79.36	209.2	183.2	134.3	64.3	116.4	110.7	618.7
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	Mean	1125.75	540.93	461.5	412.3	260.8	212.5	155.4	86.8	1589.3
			S.D.	100.66	66.56	126.0	134.3	123.4	136.0	117.4	98.0	633.8
R-week 2	Control	6	Mean	1476.48	518.33	565.7	515.7	324.5	266.5	185.8	117.0	1975.2
			S.D.	207.92	87.76	137.2	191.9	189.4	162.7	131.0	111.7	817.8
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	1586.10	556.40	576.7	468.5	291.8	196.5	152.0	118.8	1804.3
			S.D.	148.67	71.54	174.3	222.5	186.2	166.9	131.8	178.2	948.6

Week 4 : Week 4 of administration.

R-week 2 : Week 2 of recovery.

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 12 Grip strength and motor activity measurements of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Period	Group	Number of animals		Grip strength		Motor activity measurements (count)						
				Forelimb	Hindlimb	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	Total
				(g)	(g)							
Week 4	Control	12	Mean	982.81	451.88	712.4	520.6	393.4	283.8	230.5	181.3	2322.0
			S.D.	76.24	64.15	179.9	176.6	189.9	144.4	150.2	119.0	726.2
	4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	910.38	432.28	689.7	585.5	472.5	383.5	300.3	231.0	2662.5
			S.D.	99.95	54.62	138.4	76.5	59.2	81.5	179.5	155.4	315.7
	4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	974.17	451.45	634.7	463.8	426.3	344.0	278.8	254.7	2402.3
			S.D.	91.88	70.66	176.0	105.8	233.6	189.6	201.7	163.8	1013.0
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	Mean	1012.83	487.31	656.2	561.7	478.1	375.7	297.2	178.5	2547.3
			S.D.	92.66	31.25	191.6	172.4	170.8	129.9	158.8	123.8	606.8
R-week 2	Control	6	Mean	1171.38	456.73	624.8	601.3	397.8	419.5	242.8	170.7	2457.0
			S.D.	77.72	43.60	171.1	234.2	211.4	213.1	127.8	182.6	712.8
	4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	1215.55	522.78*	824.8	611.0	550.3	462.7	340.8	209.5	2999.2
			S.D.	91.31	27.49	195.3	246.5	221.3	132.6	128.1	117.9	791.9

Week 4 : Week 4 of administration.

R-week 2 : Week 2 of recovery.

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 13 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Body weight (g)					Body weight gain		Body weight (g)		Body weight gain	
			Administration period (day)					1-28		Recovery period (day)		0-14	
			1	7	14	21	28	g	%	7	14	g	%
Control	12	Mean	169.0	226.3	287.4	337.9	370.4	201.4	119.278	(6) 409.8	(6) 444.5	(6) 68.8	(6) 18.302
		S.D.	5.8	6.3	9.3	12.8	14.3	12.3	7.788	24.3	25.0	9.8	2.194
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	172.3	229.2	289.2	338.8	367.3	195.0	113.460	-	-	-	-
		S.D.	7.0	8.7	6.6	8.0	14.7	16.6	12.379	-	-	-	-
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	169.5	222.3	278.5	331.0	360.0	190.5	112.108	-	-	-	-
		S.D.	10.9	20.1	29.5	38.7	47.3	40.6	22.047	-	-	-	-
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	Mean	172.3	225.2	283.7	332.1	361.8	189.4	110.065	(6) 389.7	(6) 418.3	(6) 59.2	(6) 16.457
		S.D.	6.6	8.7	11.9	16.4	18.4	17.2	10.842	13.4	19.3	13.9	3.710

Values in parentheses are number of animals.

- : Blank value.

Table 14 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Body weight (g)					Body weight gain		Body weight (g)		Body weight gain	
			Administration period (day)					1-28		Recovery period (day)		0-14	
			1	7	14	21	28	g	%	7	14	g	%
Control	12	Mean	131.5	160.1	179.3	198.5	216.8	85.3	64.852	(6) 236.7	(6) 248.7	(6) 26.8	(6) 12.058
		S.D.	6.0	8.0	11.4	15.0	14.0	10.0	6.519	18.4	19.7	6.4	2.593
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	130.2	155.5	173.7	190.5	205.5	75.3	57.638	-	-	-	-
		S.D.	4.8	12.3	11.9	17.3	20.1	16.1	10.687	-	-	-	-
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	129.8	157.0	180.3	200.0	219.8	90.0	69.073	-	-	-	-
		S.D.	6.9	12.9	15.4	18.4	22.3	17.0	10.963	-	-	-	-
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	Mean	131.6	159.5	181.6	199.5	217.4	85.8	65.178	(6) 231.2	(6) 241.0	(6) 27.3	(6) 12.878
		S.D.	5.0	6.5	7.9	11.3	13.0	9.6	6.277	15.1	13.2	5.0	2.749

Values in parentheses are number of animals.

- : Blank value.

Table 15 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Food consumption (g/rat/day)						
			Administration period (day)					Recovery period (day)	
			1	7	14	21	28	7	14
Control	12	Mean	20.75	23.42	25.58	27.10	26.71	(6) 28.15	(6) 29.33
		S.D.	1.29	0.53	0.92	1.31	1.74	3.30	2.60
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	21.33	24.13	26.43	27.58	26.62	-	-
		S.D.	1.51	1.40	1.63	1.58	2.02	-	-
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	21.67	22.78	24.83	27.23	27.43	-	-
		S.D.	3.50	1.55	2.16	2.44	2.82	-	-
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	Mean	21.50	23.01	25.05	27.36	26.78	(6) 26.68	(6) 27.40
		S.D.	1.57	1.14	1.66	2.10	2.61	1.68	1.80

Values in parentheses are number of animals.

- : Blank value.

Table 16 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Food consumption (g/rat/day)						
			Administration period (day)					Recovery period (day)	
			1	7	14	21	28	7	14
Control	12	Mean	16.42	17.69	17.49	18.33	17.90	(6) 20.07	(6) 20.18
		S.D.	1.51	1.29	1.33	1.55	1.30	1.45	1.10
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	15.17	16.73	16.45	16.52	16.25	-	-
		S.D.	1.72	1.13	0.82	1.84	1.97	-	-
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	15.17	16.92	17.43	18.38	18.82	-	-
		S.D.	1.33	1.55	1.66	2.03	1.88	-	-
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	Mean	16.25	17.48	17.42	18.43	18.84	(6) 19.27	(6) 19.27
		S.D.	1.29	1.20	1.07	1.40	2.00	1.55	1.53

Values in parentheses are number of animals.

- : Blank value.

Table 17 Urinary findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals	pH				Protein					Glucose -	Ketone body -	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bilirubin -
		7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++				
Control	12	0	0	2	10	4	5	3	0	0	12	12	12	12
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	0	1	0	5	[0	2	2	1	1]	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	0	0	1	5	[0	1	4	1	0]	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	1	0	3	8	[0	0	4	8	0]	12	12	12	12

Group	Number of animals	Occult blood		Color A	Specific gravity				Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
		-	±		1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.051≤	
Control	12	12	0	12	1	9	2	0	17.46 ± 3.83
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	5	1	6	0	3	1	2	13.75 ± 5.97
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	6	0	6	1	2	3	0	17.00 ± 4.12
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	12	0	12	0	5	5	2	13.54 ± 3.11

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, + ; Moderate, ++ ; Severe, +++ ; Very severe.

Color : A; Pale yellow or yellow.

[], []++ : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05, 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 18 Urinary findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals	pH					Protein				Glucose -	Ketone body -	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bilirubin -
		6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++				
Control	12	0	0	0	1	11	9	3	0	0	12	12	12	12
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	0	0	1	0	5	2	0	2	2	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	0	0	1	2	3	[0	3	3	0]	6	6	6	6
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	1	2	0	0	9	[4	0	6	2]	12	12	12	12

Group	Number of animals	Occult blood		Color A	Specific gravity				Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
		-	±		1.021- 1.030	1.031- 1.040	1.041- 1.050	1.051 ≤	
Control	12	11	1	12	1	7	3	1	13.29 ± 5.00
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	6	0	6	1	3	0	2	11.92 ± 5.83
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	6	0	6	0	2	3	1	8.83 ± 3.70
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	12	12	0	12	1	6	4	1	11.25 ± 3.68

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, + ; Moderate, ++ ; Severe.

Color : A; Pale yellow or yellow.

[], []++ : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05, 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 19 Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals	pH		Protein				Glucose	Ketone body	Urobilinogen	Bilirubin	Occult blood	
		8.0	8.5	-	±	+	++	-	-	0.1 EU/dL	-	-	±
Control	6	2	4	0	0	4	2	6	6	6	6	6	0
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	2	4	0	0	4	2	6	6	6	6	4	2

Group	Number of animals	Color A	Specific gravity			Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
			1.031-1.041	1.041-1.051	≥ 1.051	
Control	6	6	1	3	2	15.17 ± 5.87
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	6	1	2	3	12.42 ± 4.38

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, + ; Moderate, ++ ; Severe.

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 20 Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals	pH					Protein			Glucose	Ketone body	Urobilinogen	Bilirubin	Occult blood	
		6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+					-	±
Control	6	0	0	4	1	1	1	3	2	6	6	6	6	5	1
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	1	0	0	0	5	3	1	2	6	6	6	6	6	0

Group	Number of animals	Color A	Specific gravity					Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
			1.011-1.021	1.021-1.031	1.031-1.041	1.041-1.051	≥ 1.051	
Control	6	6	0	0	1	2	3	10.42 ± 4.88
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	6	1	1	2	1	1	19.33 ± 17.31

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, + ; Moderate.

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 21 Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
			10 ⁴ /μL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ² /μL	10 ⁴ /μL
Control	6	Mean	795.8	46.35	16.77	58.30	21.10	36.18	110.2	126.93
		S.D.	39.8	1.33	0.43	2.14	0.85	0.50	34.3	13.56
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	801.7	46.63	16.88	58.15	21.05	36.22	126.7	126.33
		S.D.	16.8	1.20	0.41	1.06	0.23	0.73	19.0	13.80
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	845.7*	47.75	17.27	56.50	20.45	36.18	116.5	119.37
		S.D.	32.4	1.96	0.58	2.43	0.84	0.33	29.2	9.48
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	820.5	46.60	16.95	56.83	20.68	36.38	122.5	117.20
		S.D.	29.5	1.54	0.57	1.58	0.49	0.33	33.7	11.32

Group	Number of animals		Reticulo- cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						Lympho- cyte	Others
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte			
						Stab form	Segmented						
Control	6	Mean	27.5	19.27	25.35	0.73	9.00	1.07	0.00	2.00	87.20	0.00	
		S.D.	3.6	2.54	2.92	0.30	3.58	0.48	0.00	0.76	3.84	0.00	
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	26.8	17.53	22.85	0.87	11.33	0.67	0.00	3.20	83.93	0.00	
		S.D.	3.3	1.15	1.82	0.30	4.42	0.65	0.00	1.07	5.06	0.00	
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	29.7	18.62	23.95	0.47	8.33	0.60	0.00	3.13	87.47	0.00	
		S.D.	5.4	1.85	2.02	0.59	1.98	0.49	0.00	1.46	2.47	0.00	
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	28.2	18.47	24.00	1.07	11.20	0.53	0.00	1.67	85.53	0.00	
		S.D.	3.3	2.03	1.57	0.97	7.72	0.65	0.00	0.78	8.48	0.00	

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 22 Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
			10 ⁴ /μL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ² /μL	10 ⁴ /μL
Control	6	Mean	820.8	43.80	16.88	53.42	20.58	38.57	105.8	125.88
		S.D.	33.2	1.02	0.70	2.16	0.31	1.36	41.0	9.15
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	811.7	43.40	16.68	53.57	20.58	38.43	97.3	133.43
		S.D.	35.9	0.82	0.49	2.40	0.77	1.02	23.0	13.77
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	806.0	43.12	16.35	53.53	20.32	37.95	95.3	133.52
		S.D.	44.1	2.00	0.61	1.78	0.69	1.01	30.9	11.13
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	802.7	44.77	17.15	55.87	21.38	38.32	121.2	132.10
		S.D.	42.1	1.25	0.61	2.03	0.93	1.07	23.7	17.84

Group	Number of animals		Reticulo- cyte ‰	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						Lympho- cyte	Others
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte			
						Stab form	Segmented						
Control	6	Mean	19.2	17.30	18.25	0.67	7.93	1.13	0.00	1.33	88.93	0.00	
		S.D.	2.6	0.81	0.67	0.33	2.78	0.78	0.00	0.86	3.18	0.00	
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	24.8*	16.83	19.93*	0.93	6.87	0.73	0.00	1.20	90.27	0.00	
		S.D.	2.9	0.62	1.16	0.55	2.57	0.39	0.00	0.51	2.55	0.00	
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	29.3**	17.25	20.00*	1.07	11.20	0.87	0.00	1.07	85.80	0.00	
		S.D.	3.6	0.69	1.57	0.33	3.55	0.82	0.00	0.21	3.99	0.00	
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	29.3**	17.43	20.15*	1.13	10.80	0.93	0.00	1.73	85.40	0.00	
		S.D.	5.2	0.88	0.79	0.39	4.88	0.86	0.00	0.60	4.81	0.00	

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).** : Significantly different from the control group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's procedure).

Table 23 Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		RBC 10 ⁴ /μL	Ht %	Hb g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC 10 ² /μL	Platelet 10 ⁴ /μL
Control	6	Mean	869.5	47.25	17.27	54.35	19.87	36.55	122.8	110.82
		S.D.	9.5	0.88	0.28	0.95	0.35	0.20	31.3	9.86
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	895.8	48.50	17.65	54.25	19.75	36.37	124.7	110.83
		S.D.	52.8	1.34	0.50	2.26	0.78	0.21	19.3	6.54

Group	Number of animals		Reticulo- cyte ‰	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte	Others
						Stab form	Segmented					
Control	6	Mean	26.0	20.70	26.87	0.87	10.27	0.80	0.00	2.33	85.73	0.00
		S.D.	5.4	2.01	2.68	0.39	4.41	0.62	0.00	1.06	4.99	0.00
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	22.5	20.18	26.75	0.80	9.20	1.07	0.00	3.13	85.80	0.00
		S.D.	6.7	4.30	3.12	0.25	4.92	0.79	0.00	1.20	6.30	0.00

Table 24 Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		RBC 10 ⁴ /μL	Ht %	Hb g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC 10 ² /μL	Platelet 10 ⁴ /μL
Control	6	Mean	826.0	44.20	16.52	53.55	19.98	37.38	83.8	119.55
		S.D.	30.7	1.37	0.47	1.53	0.56	0.28	32.0	13.26
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	841.2	44.52	16.65	52.93	19.80	37.42	91.2	124.27
		S.D.	37.5	1.91	0.56	0.91	0.32	0.50	24.1	9.62

Group	Number of animals		Reticulo- cyte ‰	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte	Others
						Stab form	Segmented					
Control	6	Mean	20.7	17.20	18.92	0.60	8.27	0.67	0.00	2.13	88.33	0.00
		S.D.	2.7	0.43	0.90	0.55	2.38	0.41	0.00	1.49	2.86	0.00
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	24.8	17.88	20.55	1.00	13.13	0.73	0.00	1.67	83.47	0.00
		S.D.	5.6	1.06	1.88	0.33	5.50	0.47	0.00	0.64	5.72	0.00

Table 25 Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
Control	6	Mean	5.43	2.868	1.127	52.82	22.03	6.68	15.47	3.00	61.3	26.2	601.0	0.73	0.038
		S.D.	0.18	0.141	0.113	2.55	1.88	0.22	0.84	0.29	5.2	3.8	57.5	0.31	0.008
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	5.52	2.898	1.118	52.58	20.68	7.45	16.17	3.12	64.8	25.7	606.7	0.70	0.043
		S.D.	0.08	0.160	0.136	3.04	3.15	0.80	0.91	0.84	5.3	2.6	114.6	0.25	0.008
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	5.48	2.948	1.167	53.78	21.32	6.68	15.57	2.65	65.3	28.3	688.7	0.92	0.040
		S.D.	0.15	0.109	0.090	1.89	1.40	0.67	0.74	0.30	9.5	8.7	98.2	0.08	0.011
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	5.45	2.965	1.193	54.42	21.42	6.78	14.78	2.60	66.2	26.2	657.7	0.88	0.037
		S.D.	0.12	0.066	0.038	0.76	1.35	0.47	0.24	0.68	7.7	3.2	147.0	0.17	0.015

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
Control	6	Mean	162.3	65.2	50.7	14.33	0.472	142.0	4.965	104.7	9.48	8.00
		S.D.	14.7	12.7	22.4	3.11	0.026	0.6	0.308	1.5	0.27	0.52
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	159.5	65.0	38.8	14.32	0.482	142.5	4.887	104.7	9.67	8.37
		S.D.	12.4	16.9	12.0	2.07	0.033	1.0	0.264	0.8	0.24	0.58
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	160.2	61.7	37.8	13.58	0.487	142.2	4.932	104.8	9.47	8.48
		S.D.	10.9	11.0	14.8	1.24	0.025	1.0	0.274	1.7	0.29	0.71
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	150.0	66.3	37.0	13.40	0.477	143.0	4.825	104.5	9.73	8.63
		S.D.	21.0	4.7	21.8	1.26	0.045	1.1	0.433	0.8	0.44	0.71

Table 26 Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
Control	6	Mean	5.72	3.275	1.345	57.28	18.77	5.92	14.53	3.50	60.5	20.5	422.8	1.53	0.048
		S.D.	0.16	0.218	0.135	2.22	1.70	0.56	0.88	1.00	1.8	2.5	53.2	0.24	0.012
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	5.63	3.187	1.307	56.60	18.87	6.53	14.50	3.50	70.7	20.5	351.0	1.23	0.047
		S.D.	0.26	0.128	0.078	1.48	1.65	0.71	0.71	0.61	16.6	4.4	54.4	0.34	0.014
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	5.62	3.145	1.273	56.02	19.48	6.30	14.65	3.55	57.7	18.7	415.5	1.45	0.050
		S.D.	0.25	0.174	0.038	0.71	1.53	0.51	0.47	0.53	5.4	3.1	75.4	0.29	0.011
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	5.83	3.307	1.312	56.70	19.40	6.28	14.07	3.55	80.3	32.3	359.7	1.57	0.048
		S.D.	0.30	0.240	0.098	1.83	1.90	0.68	1.05	0.65	42.2	33.8	72.0	0.34	0.010

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
Control	6	Mean	124.8	67.5	13.7	14.17	0.508	141.5	4.840	105.3	9.72	8.02
		S.D.	20.4	6.7	4.3	1.08	0.019	1.2	0.424	0.5	0.19	0.58
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	112.7	76.8	12.0	15.68	0.530	141.2	4.830	105.2	9.50	8.10
		S.D.	4.2	11.7	3.3	2.23	0.038	1.2	0.385	1.3	0.20	0.63
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	125.7	56.8	10.0	13.80	0.522	142.0	4.888	105.7	9.62	7.97
		S.D.	9.1	8.1	3.7	1.27	0.033	0.9	0.175	0.8	0.12	0.71
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	114.8	58.2	12.2	14.52	0.523	141.7	4.832	105.5	9.80	8.07
		S.D.	10.4	10.3	7.7	1.32	0.027	1.5	0.404	0.8	0.21	0.29

Table 27 Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
Control	6	Mean	5.53	2.893	1.102	52.33	21.75	6.72	15.45	3.75	68.7	25.8	562.5	0.78	0.067
		S.D.	0.24	0.136	0.078	1.73	2.28	0.57	0.63	0.63	4.1	2.7	116.0	0.21	0.018
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	5.58	2.915	1.095	52.18	22.83	6.73	14.93	3.32	66.5	28.5	548.0	0.85	0.063
		S.D.	0.26	0.154	0.083	1.89	2.36	0.45	0.69	0.65	8.3	4.9	161.1	0.12	0.012

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
Control	6	Mean	165.8	55.7	49.3	13.32	0.515	141.8	4.703	104.5	9.50	7.65
		S.D.	14.6	11.4	32.0	1.10	0.031	1.0	0.162	0.8	0.19	0.44
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	159.5	63.0	41.2	15.25	0.492	142.0	4.728	104.7	9.67	7.37
		S.D.	9.5	12.7	21.7	2.21	0.035	1.1	0.231	1.0	0.27	0.23

Table 28 Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
Control	6	Mean	6.03	3.453	1.340	57.25	18.33	5.50	14.23	4.68	67.2	25.0	289.5	1.07	0.090
		S.D.	0.24	0.145	0.072	1.35	1.89	0.41	1.10	0.78	7.9	3.2	54.9	0.29	0.013
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	5.95	3.363	1.300	56.50	18.13	5.78	14.38	5.20	62.2	23.0	297.7	1.02	0.077
		S.D.	0.24	0.127	0.065	1.19	2.32	0.80	0.71	1.91	5.7	1.4	67.7	0.34	0.010

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
Control	6	Mean	127.0	68.5	9.5	15.98	0.535	141.2	4.497	105.3	9.73	7.02
		S.D.	19.5	8.1	6.9	1.21	0.022	0.8	0.202	0.8	0.25	1.11
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	130.0	63.5	7.5	16.02	0.535	141.7	4.592	106.2	9.48	6.93
		S.D.	11.3	8.2	2.4	1.84	0.027	1.2	0.151	0.8	0.25	0.62

Table 29 Gross findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

	End of administration				End of recovery	
	Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)			Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)
		20	40	80		80
Number of animals examined	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings	6	6	5	2	6	6
Organ : Findings						
Stomach : Thickening, limiting ridge	0	0	0	4	0	0
Forestomach : Thickening, mucosa, focal	0	0	0	4	0	0
Kidney : Dilatation, renal pelvis, unilateral	0	0	1	0	0	0

Values are expressed as the number of animals.

Table 30 Gross findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

	End of administration				End of recovery	
	Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)			Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)
		20	40	80		80
Number of animals examined	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings	6	5	6	1	6	6
Organ : Findings						
Stomach : Thickening, limiting ridge	0	0	0	5	0	0
Forestomach : Thickening, mucosa, focal	0	0	0	5	0	0
Adrenal : Small size, unilateral	0	1	0	0	0	0

Values are expressed as the number of animals.

Table 31 Absolute and relative organ weights of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland	
				g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %
Control	6	Mean	337.8	10.745	3.178	2.688	0.793	0.668	0.197	1.192	0.352	2.082	0.618	11.40	3.375
		S.D.	5.2	0.849	0.231	0.199	0.060	0.072	0.022	0.074	0.021	0.082	0.019	0.91	0.267
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	335.5	11.042	3.290	2.747	0.820	0.720	0.213	1.152	0.343	2.075	0.618	11.98	3.568
		S.D.	8.5	0.746	0.204	0.177	0.060	0.130	0.038	0.058	0.010	0.075	0.022	1.42	0.360
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	327.5	10.617	3.242	2.652	0.812	0.740	0.227	1.163	0.357	2.060	0.637	10.98	3.355
		S.D.	44.2	1.465	0.119	0.343	0.045	0.155	0.027	0.169	0.022	0.081	0.070	2.01	0.472
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	333.8	10.815	3.235	2.700	0.808	0.677	0.202	1.153	0.347	2.048	0.615	11.27	3.368
		S.D.	21.7	1.208	0.239	0.327	0.058	0.111	0.027	0.082	0.023	0.095	0.031	1.89	0.440

Group	Number of animals		Thymus		Thyroid		Adrenal		Testis		Epididymis		Prostate		Seminal vesicle	
			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	g	%
Control	6	Mean	659.8	195.347	18.35	5.430	54.0	15.990	3.065	0.908	0.773	0.228	532.8	157.778	1.248	0.368
		S.D.	184.2	54.605	2.69	0.779	6.0	1.790	0.308	0.099	0.067	0.023	113.5	33.883	0.062	0.021
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	553.8	164.462	17.43	5.187	59.3	17.675	3.113	0.927	0.807	0.240	492.8	147.117	1.218	0.363
		S.D.	156.6	43.113	2.74	0.710	10.6	3.024	0.135	0.054	0.071	0.023	93.5	29.228	0.183	0.055
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	474.5	146.210	17.30	5.367	56.0	16.998	3.013	0.930	0.777	0.240	401.2	121.278	1.085	0.328
		S.D.	63.5	20.799	3.58	1.349	13.2	2.302	0.285	0.114	0.060	0.022	121.0	30.912	0.334	0.095
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	551.7	166.050	20.38	6.113	57.3	17.153	2.877	0.862	0.720	0.217	472.8	142.310	1.157	0.350
		S.D.	90.2	29.239	1.59	0.444	8.0	1.811	0.220	0.024	0.091	0.022	75.1	25.472	0.180	0.072

Table 32 Absolute and relative organ weights of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland	
				g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %
Control	6	Mean	196.0	5.923	3.030	1.648	0.842	0.432	0.222	0.722	0.367	1.845	0.942	13.97	7.140
		S.D.	11.0	0.162	0.165	0.115	0.044	0.092	0.041	0.049	0.025	0.119	0.038	0.94	0.548
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	192.8	5.905	3.055	1.640	0.852	0.393	0.205	0.732	0.380	1.878	0.978	11.83	6.140*
		S.D.	16.4	0.640	0.084	0.164	0.061	0.075	0.029	0.054	0.024	0.092	0.071	1.17	0.364
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	204.2	6.657	3.253	1.782	0.873	0.470	0.228	0.768	0.378	1.923	0.950	12.60	6.187*
		S.D.	19.7	0.874	0.129	0.192	0.038	0.104	0.031	0.058	0.021	0.090	0.095	1.19	0.480
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	202.7	6.393	3.150	1.722	0.852	0.463	0.228	0.778	0.383	1.920	0.950	12.92	6.365
		S.D.	10.9	0.702	0.243	0.114	0.019	0.134	0.059	0.067	0.021	0.070	0.057	2.30	0.984

Group	Number of animals		Thymus		Thyroid		Adrenal		Ovary		Uterus	
			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%
Control	6	Mean	517.0	262.580	15.75	8.025	67.8	34.705	87.7	44.507	0.420	0.213
		S.D.	124.1	54.022	2.87	1.288	5.1	3.307	19.0	7.700	0.103	0.046
4-Vinylpyridine 20 mg/kg	6	Mean	476.8	246.503	12.48	6.538	65.8	34.523	101.8	52.800	0.447	0.232
		S.D.	67.4	18.176	3.44	2.058	11.3	7.195	22.6	11.634	0.105	0.051
4-Vinylpyridine 40 mg/kg	6	Mean	477.3	230.730	14.17	6.965	76.3	37.587	113.0	55.253	0.507	0.248
		S.D.	140.2	53.580	2.11	1.001	8.9	4.918	22.9	8.748	0.135	0.062
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	512.3	253.953	14.08	6.988	70.8	34.892	105.2	51.918	0.525	0.255
		S.D.	67.7	40.118	2.90	1.664	8.0	2.714	17.0	7.911	0.181	0.077

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 33 Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland	
				g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %
Control	6	Mean	406.7	11.532	2.828	2.930	0.720	0.652	0.162	1.360	0.335	2.098	0.517	12.48	3.063
		S.D.	23.4	1.635	0.240	0.258	0.052	0.057	0.018	0.028	0.016	0.103	0.026	1.24	0.170
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	384.5	11.065	2.878	2.897	0.753	0.653	0.170	1.400	0.365*	2.082	0.542	11.37	2.955
		S.D.	17.1	0.886	0.172	0.290	0.069	0.063	0.013	0.087	0.027	0.066	0.035	0.85	0.160

Group	Number of animals		Thymus		Thyroid		Adrenal		Testis		Epididymis		Prostate		Seminal vesicle	
			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	g	%
Control	6	Mean	495.2	121.745	20.25	4.990	62.8	15.417	3.170	0.783	1.090	0.270	596.0	146.388	1.622	0.400
		S.D.	100.2	24.265	3.54	0.891	9.1	1.729	0.349	0.110	0.066	0.029	85.9	17.784	0.101	0.020
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	503.8	130.888	19.02	4.942	60.5	15.710	3.098	0.807	1.027	0.268	598.7	154.905	1.482	0.387
		S.D.	88.9	22.073	5.50	1.375	11.7	2.816	0.213	0.076	0.040	0.012	145.1	34.040	0.117	0.034

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 34 Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of 4-Vinylpyridine (SR06111)

Group	Number of animals		Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland	
				g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %
Control	6	Mean	231.8	6.563	2.832	1.830	0.792	0.455	0.198	0.848	0.368	1.973	0.853	12.87	5.553
		S.D.	17.3	0.441	0.087	0.064	0.037	0.072	0.034	0.055	0.023	0.116	0.063	1.47	0.528
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	221.0	6.230	2.825	1.748	0.793	0.452	0.203	0.810	0.370	1.933	0.877	13.95	6.345
		S.D.	12.0	0.474	0.220	0.096	0.033	0.048	0.022	0.059	0.015	0.073	0.044	2.07	1.167

Group	Number of animals		Thymus		Thyroid		Adrenal		Ovary		Uterus	
			mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%
Control	6	Mean	470.5	204.762	15.70	6.768	71.0	30.722	86.3	37.480	0.532	0.225
		S.D.	122.9	58.023	4.58	2.019	7.6	3.416	9.2	5.625	0.300	0.107
4-Vinylpyridine 80 mg/kg	6	Mean	412.3	186.352	14.37	6.533	67.3	30.558	94.3	42.788	0.513	0.233
		S.D.	70.3	28.312	1.31	0.875	9.0	4.578	8.4	4.353	0.119	0.063

Table 35 Histopathological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

		End of administration				End of recovery	
		Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)			Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)
			20	40	80		80
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6
Organ: Findings	Grade						
Lung: Accumulation, foamy cell	+	2	-	-	0	2	0
Mineralization, artery	+	1	-	-	0	1	1
Forestomach: Hyperplasia, squamous cell	+	0	0	3	6	0	0
Hyperkeratosis	+	0	0	3	6	0	0
Edema, submucosa	+	0	0	1	2	0	0
Stomach, limiting ridge: Hyperplasia, squamous cell	+	0	0	0	4	0	0
Hyperkeratosis	+	0	0	0	2	0	0
Glandular stomach:							
Cellular infiltration, inflammatory cell, submucosa	+	0	-	-	0	1	1
Liver: Microgranuloma	+	1	-	-	4	2	4
Kidney: Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	+	0	-	0 (1)	1	0	0
Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	+	0	-	0 (1)	1	0	0
Regeneration, tubular epithelium	+	0	-	0 (1)	1	1	3
Cast, hyaline	+	0	-	0 (1)	0	1	0
Dilatation, renal pelvis	+	0	-	1 (1)	0	0	0
Cyst	+	0	-	0 (1)	0	0	1
Prostate: Cellular infiltration, inflammatory cell	+	1	-	-	1	3	2
Pituitary gland: Cyst pars distalis	+	0	-	-	0	0	1
Cyst, pars nervosa	+	0	-	-	0	0	1
Hyperplasia, tubular	+	0	-	-	0	0	1

Values are number of animals with findings.

Values in parentheses are number of animals examined.

-: Blank value.

Grade; +: slight change.

Table 36 Histopathological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of 4-Vinylpyridine (SR06111)

		End of administration				End of recovery	
		Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)			Control	4-Vinylpyridine (mg/kg)
			20	40	80		80
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6
Organ: Findings	Grade						
Lung: Accumulation, foamy cell	+	1	-	-	0	0	0
Mineralization, artery	+	0	-	-	1	0	0
Metaplasia, osseous	+	0	-	-	1	0	1
Forcstomach: Hyperplasia, squamous cell	+	0	0	0	6	0	0
Hyperkeratosis	+	0	0	0	6	0	0
Edema, submucosa	+	0	0	0	1	0	0
Stomach, limiting rigde: Hyperplasia, squamous cell	+	0	0	0	5	0	0
Liver: Microgranuloma	+	2	-	-	3	2	3
Fatty change, periportal	+	1	-	-	0	0	0
Pituitary gland: Cyst, pars distalis	+	0	-	-	1	0	0
Adrenal: Hypoplasia	+	0	1 (1)	-	0	0	0

Values are number of animals with findings.

Values in parentheses are number of animals examined.

-: Blank value.

Grade; +: slight change.