

試験の表題：3-シアノピリジンのラットにおける28日間反復投与毒性試験

試験番号：29603

目 次

頁

要 約		1
緒 言		2
試験材料及び方法		2
試験成績		7
考 察		11
参考文献		14

Fig. 1	Mean body weight changes in male rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	15
Fig. 2	Mean body weight changes in female rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	16
Fig. 3	Mean food consumption in male rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	17
Fig. 4	Mean food consumption in female rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	18
Table 1	Clinical signs in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	19
Table 2	Body weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	22
Table 3	Food consumption in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	24

	頁
Table 4 Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days	25
Table 5 Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	29
Table 6 Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days	32
Table 7 Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	35
Table 8 Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days	38
Table 9 Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	41
Table 10 Necropsy findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days	44
Table 11 Necropsy findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	45
Table 12 Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days	46
Table 13 Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	49
Table 14A Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days	52
Table 14B Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days	53
Table 15A Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	54
Table 15B Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period	55

要 約

OECD既存化学物質安全性点検に関わる毒性調査の一環として、3-シアノピリジンの0 (対照), 5, 30及び180mg/kgを1群雌雄各6匹のCrj:CD(SD系)ラットに28日間反復経口投与する毒性試験を実施し、以下の結果を得た。なお、対照群及び180mg/kg群にはそれぞれ雌雄各6匹の14日間回復群も設けた。

投与期間及び回復期間を通して、雌雄いずれの群にも死亡はなかった。一般状態では、投与期間中期から180mg/kg群の雌雄で投与直後に流涎がみられ、単発的に180mg/kg群の雌1例で投与後6時間に流涙もみられた。体重では、投与期間を通して180mg/kg群の雄で増加抑制がみられた。摂餌量では、投与初期に180mg/kg群の雌雄に減少又は減少傾向がみられた。

尿検査では、180mg/kg群の雌雄で尿量の増加、浸透圧及び比重の減少、尿色調の淡明化並びにpHの低下傾向がみられた。

血液学的検査では、180mg/kg群の雌雄で白血球数の増加又は増加傾向、赤血球数の減少及び網状赤血球率の増加並びにMCV及びMCHの増加がみられ、同群の雄で分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の減少がみられた。

血液生化学的検査では、180mg/kg群の雌雄で総蛋白質、アルブミン、A/G比、GPT、総コレステロール及びリン脂質の増加又は増加傾向がみられ、同群の雄でトリグリセライドの減少、同群の雌でコリンエステラーゼ及びアセチルコリンエステラーゼの減少がみられた。

病理学的検査では、30mg/kg群の雌で肝臓及び腎臓の重量増加及び180mg/kg群の雌雄で肝臓、腎臓及び副腎の重量の増加がみられ、組織学的に肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が30mg/kg以上の群の雌雄に、腎臓では近位尿細管上皮の硝子滴の出現が30mg/kg以上の群の雄に、副腎では束状帯の肥大が180mg/kg群の雌雄に、脾臓では髓外造血及び赤脾髄のヘモジデリン沈着が180mg/kg群の雌雄に、精巣では精母細胞及び精子細胞(round)の壊死、精子細胞(elongate)の減少並びにセルトリ細胞の空胞化が180mg/kg群にみられた。また、膀胱炎及び腎盂の好中球細胞浸潤が180mg/kg群の雌1例にみられた。

上記の変化は、14日間の休薬により回復するかその傾向を示した。

以上の結果より、本試験条件下における無影響量は5 mg/kgと考えられた。

緒 言

OECD既存化学物質安全性点検に関する毒性調査の一環として、3-シアノピリジン(3-cyanopyridine)を雌雄ラットに28日間反復経口投与するとともに、投与期間終了後に14日間の休薬期間を設けて、その毒性及び回復性について検討したので報告する。

試験材料及び方法

1. 被験物質

より提供された3-シアノピリジン(純度99.9%, Lot No.)を試験に使用した。本被験物質は、常温では白色固体であり、融点が50℃で、水に対する溶解度は20℃で12.3%である(添付資料1-1)。また、投与期間終了後、上記の供給源にて分析を行い、試験実施期間中の被験物質の安定性について確認した(添付資料1-2)。媒体には日本薬局方 注射用水(株式会社 大塚製薬工場, Lot No.5E87)を使用した。被験物質は室温、遮光下で、注射用水は室温で、それぞれ被験物質室の保管庫に保管した。

2. 使用動物及び飼育条件

4週齢のCrj:CD(SD系)ラット(日本チャールス・リバー株式会社)を雌雄各45匹購入し、15日間の検疫馴化を行った。この間に、全例について一般状態の観察及び体重測定を実施するとともに、雌雄各3匹を抜粋して剖検し、異常がないことを確認したのち、雌雄各36匹を選んで6週齢で試験に使用した。投与開始時の体重は、雄が213.1~245.8g, 雌が158.8~180.5gであった。動物は、温度 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (許容範囲18~28℃)、湿度 $55 \pm 10\%$ (許容範囲30~70%)、照明12時間(午前7時~午後7時)及び換気回数13回/時に設定したバリアーシステム飼育室(85番)でステンレススチール製ハンガーケージ(W260×H200×D380mm)に、検疫馴化期間中は1ケージ当たり3匹ずつ、群分け後は個別に収容して飼育した。なお、試験期間中の温度の実測値は最高26℃、最低23℃、湿度の実測値は最高61%、最低34%であった。飼料は高圧蒸気滅菌処理した固型飼料(MF, オリエンタル酵母工業株式会社)を、飲水は次亜塩素酸ナトリウムを添加(約2 ppm)した井水を自動給水装置によりそれぞれ自由に摂取させた。飼料については財団法人 日本食品分析

センターにて、また、飲水については株式会社鶴城 南九科研センターにて分析を行い、いずれも許容基準に適合していることを確認した。飼育器材は高圧蒸気滅菌したものを使用し、ケージは2週間に1ないし2回、受皿は週3ないし4回、ラックは4週間に1回交換するとともに、飼育室は毎日清掃し、消毒薬を浸したモップで清拭した。

3. 試験群構成、投与量設定の根拠及び群分け

試験群構成を下表に示した。

試験群	投与量 (mg/kg)	性別	使用動物数	動物番号
対照群	0	♂	6+6*	601～606, 607*～612*
		♀	6+6*	651～656, 657*～662*
低用量群	5	♂	6	613～618
		♀	6	663～668
中間用量群	30	♂	6	619～624
		♀	6	669～674
高用量群	180	♂	6+6*	625～630, 631*～636*
		♀	6+6*	675～680, 681*～686*

*：回復試験に使用した動物

投与量は、先に当研究所で実施した2週間反復投与毒性予備試験[試験番号29527(GLP, 非適用)、投与量：0, 60, 200及び600mg/kg)の結果から設定した。すなわち、600mg/kgの投与では雄で4/4例、雌で3/4例が死亡し、200mg/kg以上で体重の増加抑制、60mg/kg以上で摂餌量の減少がみられた。また、血液生化学的検査において、60mg/kg以上でリン脂質の増加がみられ、肝臓重量の増加及び心臓重量の減少もみられた。したがって、本試験では、投与期間を考慮して、180mg/kgを高用量とし、以下公比6で除した30及び5mg/kgを中間及び低用量に設定した。

試験群は、上記3用量群に対照群を加え計4群とした。1群当たりの動物数は、投与期間終了時の剖検例として各群とも雌雄各6匹とし、更に対照群及び180mg/kg群につい

ては回復期間終了時の剖検例として雌雄各6匹を設定した。

群分けは、投与開始前日に当日の体重を基に層別連続無作為化法で行い、群分け後の動物には動物番号を刻印した耳標を取り付けて個体識別した。また、各ケージには試験番号、動物番号、投与量及び性別を表示したケージラベルを付けて識別した。

4. 投与経路、投与方法、投与期間及び回復期間

投与経路は、化審法ガイドラインで指定されており、また、予想されるヒトへの曝露経路の一つである経口投与とした。投与には胃管を用い、1日1回投与で28日間反復投与した。投与容量は5 ml/kgとし、個体ごとの投与液量は最新の体重を基に算出した。対照群には同容量の媒体を同様に投与した。

回復試験に供した動物は、投与期間終了後に14日間無処置で飼育した。

5. 被験物質と媒体との混合物調製法

あらかじめ、乳鉢で磨砕した被験物質(純度換算しない)の必要量を秤り取り、約50℃に加温した注射用水を加えてよく攪拌し、完全に溶解させた。それらを室温に戻したのち、メスアップして0.1、0.6及び3.6W/V%溶液をそれぞれ調製した。調製は週1回の頻度で行い、調製した溶液は飼育区域内の検体保管室にて室温、遮光下に保管した。また、初回調製時に、各濃度の溶液について被験物質の濃度確認を実施し、設定濃度の許容範囲(±5%)内にあることを確認した(添付資料2)。なお、本調製法による0.1、10及び20W/V%水溶液(ただし、20%については懸濁液)は室温、遮光下で8日間安定であり、20%懸濁液については均一性にも問題ないことが確認されている(添付資料3)。

6. 観察、検査、分析及び測定の頻度及び方法

1)一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定

投与期間中は毎日投与前及び投与後の計2回、回復期間中は毎日午前及び午後の計2回、一般状態及び死亡の有無を観察した。また、体重及び摂餌量を投与期間及び回復期間を通して週2回の割合で測定し、更に体重は投与開始日の投与前及び剖検日にも測定した。

2)尿検査

投与4週目及び回復2週目に、すべての動物を代謝ケージに個別に収容し、絶食、給水下で午前8時から12時までの時間帯に採取した新鮮尿について、比色試験紙(プレテスト8a, 和光純薬工業株式会社)を用いてpH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血及びウロビリノーゲンを検査した。更に、各時点の新鮮尿を1500回転/分で5分間遠心分離し、得られた尿沈渣について鏡検した。また、すべての時点で新鮮尿採取後に給餌、給水下で採取した24時間蓄積尿について、尿量, 色調, 浸透圧(氷点降下法; OSMOMETER OM801, VOGEL社)及び比重(屈折率法; 尿屈折計, 株式会社 アタゴ)を測定した。

3)血液学的検査

投与期間終了後及び回復期間終了後に、すべての動物を18時間以上絶食させたのち、ペントバルビタール・ナトリウム30mg/kgを腹腔内投与して麻酔し、開腹後、腹部大静脈から採血を行った。採取した血液の一部はEDTA-2K処理(EDTA-2K加血液)して多項目自動血球計数装置(Sysmex CC-780, 東亜医用電子株式会社)を用いて、白血球数(電気抵抗検出方式), 赤血球数(電気抵抗検出方式), ヘモグロビン量(オキシヘモグロビン法), ヘマトクリット値(血球パルス波高値検出方式)及び血小板数(電気抵抗検出方式)を測定し、赤血球数, ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の測定結果を基にWintrobeの赤血球恒数[平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球血色素量(MCH)及び平均赤血球血色素濃度(MCHC)]を算出した。血液の一部は塗抹標本とし、May-Grünwald-Giemsa染色を施して白血球百分比を算出するとともに、ニューメチレンブルー超生体染色を施して網状赤血球率を算出した。また、3.8%クエン酸ナトリウム加血液を3000回転/分で15分間遠心分離し、得られた血漿を用いて全自動血液凝固測定装置(Sysmex CA-5000, 東亜医用電子株式会社)により、プロトロンビン時間(散乱光検出方式)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT, 散乱光検出方式)を測定した。

4)血液生化学的検査

血液学的検査と同時に採取したすべての動物の血液を室温で約60分間放置後、3000回転/分で10分間遠心分離し、得られた血清を用いて自動分析装置(736-10, 株式会社日立製作所)により、総蛋白質(T.protein, ビウレット法), アルブミン(BCG法), A/G

比(総蛋白質及びアルブミンより算出), 総ビリルビン(T.bilirubin, アルカリアゾビリルビン法), GOT(GOT, Karmen法), GPT(GPT, Wróblewski-La Due法), γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ -GTP, L- γ -グルタミル-DBHA基質法), アルカリ性フォスファターゼ(ALP, p-ニトロフェニルリン酸基質法), コリンエステラーゼ(ヨウ化ブチリルチオコリン基質法), アセチルコリンエステラーゼ(アセチルコリン基質法), 総コレステロール(T.cholesterol, COD-DAOS法), トリグリセライド(GPO-DAOS法・グリセリン消去法), リン脂質(酵素法・DAOS発色法), グルコース(グルコキナーゼ・G-6-PDH法), 尿素窒素(BUN, ウレアーゼ-G 6 PDH法), クレアチニン(Jaffé法), 無機リン(モリブデン酸直接法)及びカルシウム(Ca, OCPC法)を測定した。また, 電解質分析装置(PVA- α III, 株式会社アナリティカル・インスツルメンツ)によりナトリウム(Na, 電極法), カリウム(K, 電極法)及びクロール(Cl, 電量滴定法)を測定した。

5) 剖検, 器官重量の測定及び病理組織学的検査

投与期間終了後及び回復期間終了後に, すべての動物について採血を行ったのち, 外側腸骨動脈を切断して放血死させ, 解剖して諸器官及び組織の肉眼的観察を行った。剖検後, 脳, 心臓, 肺(気管支を含む), 胸腺, 顎下腺(舌下腺を含む), 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣及び卵巣を摘出して器官重量(絶対重量)を測定するとともに, 剖検日の体重を基に体重比器官重量(相対重量)を算出した。重量測定器官に加え, 下垂体, 脊髄, 眼球, 耳下腺, 甲状腺(上皮小体を含む), 脾臓, 胃, 膀胱, 大腿骨(骨髓を含む)及び肉眼的異常部位を採取して10%中性緩衝ホルマリン溶液に固定した。なお, 10%中性緩衝ホルマリン溶液による固定に先だって, 眼球は2.5%グルタルアルデヒド溶液で, また, 精巣はプアン液でそれぞれ前固定した。投与期間終了時の対照群及び高用量群の唾液腺(顎下腺, 舌下腺, 耳下腺), 心臓, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 精巣, 卵巣及び膀胱並びに肉眼的異常組織については, 常法に従ってパラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し, 更に脾臓についてはベルリン青染色を施して光学顕微鏡下で観察した。投与期間終了時の検査で肝臓, 脾臓, 腎臓, 膀胱, 精巣及び副腎に変化がみられたため, 投与期間終了時の中間用量群についても検査し, 更に肝臓及び腎臓は低用量群まで検査した。また, これらの器官は回復期間終了時の対照群及び高用量群についても同様に検査した。

7. 統計学的処理

体重、摂餌量、尿検査(定性反応は除く)、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び体重比器官重量について、各群ごとに平均値と標準偏差を求め、Bartlett法により分散の均一性を検定した。分散が均一な場合はDunnettの多重比較検定を用いて、異なる場合はSteelの多重比較検定を用いて対照群との比較を行った。また、病理組織学的検査についてはMann-WhitneyのU検定を行った。なお、いずれの場合も有意水準は5%とした。

試 験 成 績

1. 一般状態

一般状態観察結果をTable 1並びにAppendix 1及び2に示した。

投与期間では、投与11日から180mg/kg群の雌雄の1ないし8例で流涎がみられた。流涎は投与直後からみられ、ほとんどの例では投与後5ないし10分に消失したが、一部の例では継続時間は投与期間とともに延長する傾向を示し、投与20日には投与後7時間までみられた。また、180mg/kg群の雄2例では投与20及び22日の投与直前にも流涎がみられた。更に、投与22日に180mg/kg群の雌1例では投与後6時間に流涎がみられたが、投与後8時間には消失した。そのほかには、局所的な軽度の脱毛が投与5日から180mg/kg群の雌雄各1例で、更に投与12日及び19日からは同群の雄1例ずつで、投与22日からは雌1例でみられた。そのうちの雄2例では投与27日に回復した。また、投与19日及び投与23日から180mg/kg群の雄2例で右又は左後肢の腫脹及び跛行がみられた。

回復期間では、180mg/kg群の雄1例で局所的な脱毛が休薬6日から再発し、回復期間終了日まで継続してみられた。また、180mg/kg群の雄2例で後肢の腫脹及び跛行が投与期間から継続してみられたが、1例では休薬12日に回復した。

2. 体重

体重推移をFig.1, 2及びTable 2並びにAppendix 3及び4に示した。

投与期間では、180mg/kg群の雄で増加抑制がみられた。180mg/kg群の雌では、投与5日に一過性の減少がみられたものの、その後は対照群とほぼ同様の推移を示した。

回復期間では、180mg/kg群の雄で対照群に対して有意な低値を示して推移したが、増

加量は回復期間を通して対照群とほぼ同様の値を示した。

3. 摂餌量

摂餌量の推移をFig.3, 4及びTable 3並びにAppendix 5及び6に示した。

投与期間では、180mg/kg群の雌雄で投与2日から投与8日にかけて減少又は減少傾向を示したが、その後は対照群とほぼ同様の推移を示した。

回復期間では、180mg/kg群は対照群と同様の推移を示した。

4. 尿検査

投与4週目の検査結果をTable 4並びにAppendix 7及び8に、回復2週目の検査結果をTable 5並びにAppendix 9及び10に示した。

投与4週目では、180mg/kg群の雌雄で尿量の増加、浸透圧及び比重の減少、尿色調の淡明化並びにpHの低下傾向がみられた。

回復2週目では、180mg/kg群の雌雄で尿量の減少又は減少傾向並びに尿浸透圧及び比重の増加又は増加傾向がみられたが、いずれも生理的変動値(参考資料)内の変化で毒性学的に意義のない変化であった。

5. 血液学的検査

投与期間終了時の検査結果をTable 6並びにAppendix 11及び12に、回復期間終了時の検査結果をTable 7並びにAppendix 13及び14に示した。

投与期間終了時の検査では、180mg/kg群の雌雄で白血球数の増加又は増加傾向、赤血球数の軽度の減少及び網状赤血球率の増加並びにMCV及びMCHの増加がみられ、同群の雄で分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の減少がみられた。そのほか、5及び180mg/kg群の雄でAPTTの短縮並びに180mg/kg群の雌でプロトロンビン時間の延長がみられたが、いずれも生理的変動値(参考資料)内の変化で毒性学的に意義のない変化であった。

回復期間終了時の検査では、180mg/kg群の雄雌でMCV及びMCHの軽度の増加がみられ、同群の雄で赤血球の軽度の減少がみられた。そのほか、180mg/kg群の雌でプロトロンビン時間の延長がみられたが、生理的変動値(参考資料)内の軽微な変化であり毒性学的に意義のない変化であった。

6. 血液生化学的検査

投与期間終了時の検査結果をTable 8並びにAppendix 15及び16に、回復期間終了時の検査結果をTable 9並びにAppendix 17及び18に示した。

投与期間終了時には、180mg/kg群の雌雄で総蛋白質、アルブミン、A/G比、GPT、総コレステロール及びリン脂質の増加又は増加傾向がみられ、同群の雄でトリグリセライドの減少、同群の雌でコリンエステラーゼ及びアセチルコリンエステラーゼの減少がみられた。そのほか、180mg/kg群の雄で γ -GTPの増加及びナトリウムの減少並びに30mg/kg群の雌でクレアチニンの減少がみられたが、 γ -GTP及びナトリウムの変動については生理的変動値(参考資料)内の極めて軽微な変化であり、クレアチニンの変動については180mg/kg群では同様な変化はみられていないことから、毒性学的に意義のない変化であった。

回復期間終了時には、180mg/kg群の雄雌でクレアチニンの減少がみられ、同群の雄では総ビリルビン及びアルカリ性フォスファターゼの減少並びに無機リンの増加、同群の雌では総蛋白質の減少がみられたが、いずれも軽微な変化であり投与期間終了時の検査では同様な変化はみられなかったことから、これらの変化については、本被験物質投与との関連はないと考えられた。

7. 剖検

投与期間終了時の検査結果をTable 10並びにAppendix 19及び20に、回復期間終了時の検査結果をTable 11並びにAppendix 21に示した。

投与期間終了時には、180mg/kg群の雄1例及び雌2例で局所的な脱毛がみられた。また、5mg/kg群の雌1例で副腎に白色点がみられたが、5mg/kg群の雄及び30mg/kg以上の群の雌雄では同様な変化はみられなかったことから、自然発生的変化と考えられた。

回復期間終了時には、180mg/kg群の雄1例で局所的な脱毛又は後肢の腫脹がみられた。

8. 器官重量

投与期間終了時の検査結果をTable 12並びにAppendix 22及び23に、回復期間終了時の検査結果をTable 13並びにAppendix 24及び25に示した。

投与期間終了時には、180mg/kg群の雌雄で肝臓、腎臓及び副腎の絶対及び相対重量の増加又は増加傾向がみられた。また、30mg/kg群の雌で肝臓の絶対及び相対重量の増加

及び腎臓の相対重量の増加がみられた。これらのほか、顎下腺の絶対重量の増加が30 mg/kg群の雄にみられたが、同群の雌及び180mg/kg群の雌雄では同様の変化はみられなかったことから、本被験物質投与との関連はないと考えられた。

回復期間終了時には、180mg/kg群の雄で腎臓及び副腎の相対重量の増加がみられた。また、180mg/kg群の雄で心臓の相対重量の増加並びに顎下腺及び脾臓の絶対重量の減少がみられ、同群の雌で肺の絶対及び相対重量の増加がみられたが、投与期間終了時の検査では同群の当該器官に重量変化はみられていないことから、本被験物質投与との関連はないものと考えられた。

9. 病理組織学的検査

投与期間終了時の検査結果をTable 14A(グレード別出現例数)及びTable 14B(総出現例数)並びにAppendix 26及び27に、回復期間終了時の検査結果をTable 15A(グレード別出現例数)及びTable 15B(総出現例数)並びにAppendix 28及び29に示した。また、肝臓、腎臓、脾臓、副腎及び精巣の光学顕微鏡写真をPhoto. 1～14に示した。

投与期間終了時の剖検例において、肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が30mg/kg群の雌雄各3例及び180mg/kg群の雄雌各6例にみられた。脾臓では髄外造血が180mg/kg群の雌雄各5例にみられ、赤脾髄のヘモジデリン沈着が対照群並びに30及び180mg/kg群の雌雄各6例にみられた。腎臓では近位尿細管上皮の硝子滴の出現が30mg/kg群の雄2例及び180mg/kg群の雄6例でみられた。肝臓、脾臓及び腎臓でみられた上記の変化の程度はいずれも180mg/kg群で有意に強かった。また、膀胱では膀胱炎が180mg/kg群の雌1例でみられ、本例では腎盂に好中球主体の細胞浸潤もみられた。副腎では束状帯の軽度の肥大が180mg/kg群の雄5例及び雌1例でみられた。精巣では精母細胞及び精子細胞(round)の壊死並びに精子細胞(elongate)の減少が180mg/kg群の2例にみられ、そのうちの1例ではセルトリ細胞の空胞化がみられた。そのほか、5 mg/kg群の雌1例に副腎球状帯の軽度の巣状空胞化がみられたが、1例のみにみられた変化であることから、本被験物質投与によるものではないと判断した。以上のほか、対照群及び180mg/kg群では唾液腺、心臓及び卵巣について、180mg/kg群の雄1例及び雌2例では肉眼的に異常がみられた脱毛部位についてそれぞれ検査を実施したが、組織学的変化はみられなかった。

回復期間終了時の剖検例において、肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が180mg/kg群の雄3例及び雌4例にみられたが、発生例数及び変化の程度は投与期間終了時に比べ軽減

していた。精巣では精子細胞(elongate)の減少及び精子細胞の残渣の貯留が180mg/kg群の3例にみられ、そのうちの2例でセルトリ細胞の空胞化がみられたが、投与期間終了時にみられていた精母細胞及び精子細胞(round)の壊死はみられなかった。更に、投与期間終了時に変化がみられた腎臓、副腎及び膀胱では変化はみられず、脾臓でも赤脾髄のヘモジデリン沈着が対照群及び180mg/kg群の雌雄各6例にみられたものの、変化の程度には対照群との間に差はみられなかった。そのほか、180mg/kg群の雄1例で肉眼的にみられた右後肢の腫脹部位では、皮下にリンパ球による細胞浸潤がみられたのみであった。更に、同群の雌1例で肝臓に肝細胞の巣状壊死がみられたが、投与期間終了時にはいずれの動物にもみられていないことから自然発生病変と考えられた。なお、180mg/kg群の雄1例にみられた脱毛部位では組織学的変化はみられなかった。

考 察

3-シアノピリジンの安全性に関する毒性試験の一環として、本被験物質の0, 5, 30及び180mg/kgを雌雄ラットに28日間反復経口投与する毒性試験、並びに投与期間終了後に14日間の休薬期間を設ける回復試験を実施した。

一般状態では、180mg/kg群で投与11日から流涎がみられた。流涎は投与直後からみられ、ほとんどの例で投与後5ないし10分に消失したが、一部の例では継続時間は投与期間とともに延長する傾向を示し、投与20日には投与後7時間までみられた。また、投与20及び22日には雄2例で投与直前にも流涎がみられた。更に、投与22日には180mg/kg群の雌1例で投与後6時間から流涎がみられたが、投与後8時間に消失した。先に当研究所で実施した本被験物質の単回投与毒性試験¹⁾及び2週間反復投与毒性予備試験²⁾でも流涎及び流涙はみられており、これらの症状は本被験物質投与による影響と考えられた。180mg/kg群の雌雄の一部の例で局所的な軽度の脱毛並びに右又は左後肢の腫脹及び跛行がみられた。脱毛については、病理組織学的検査では変化はみられておらず、後肢については組織学的に軽度の炎症がみられたものの、片側についての変化であること、投与期間に症状の進行はみられなかったことから、後肢の腫脹及び跛行の発現は偶発的事故によるものと考えられ、これらの変化は毒性学的に意義のない変化と判断した。体重では、180mg/kg群の雄で本被験物質投与により増加抑制がみられたが、投与期間終了後は対照群とほぼ同様な増加量を示し回復性がみられた。摂餌量では、180mg/kg群の雌雄で投与期間の前期に減少又は減少

傾向がみられたが、その後は投与期間及び回復期間を通して対照群とほぼ同様の推移を示し回復性がみられた。

尿検査では、投与4週目の検査で180mg/kg群の雌雄で尿量の増加、浸透圧及び比重の減少、尿色調の淡明化並びにpHの低下傾向がみられた。いずれの変化とも、水分による尿の希釈に伴う変化とも思われたが、原因は明らかではなかった。回復2週目の検査では、これらの変化はいずれも回復した。

血液学的検査では、投与期間終了時の検査で180mg/kg群の雌雄に白血球数の増加又は増加傾向及び赤血球数の軽度の減少がみられ、赤血球数の減少に伴いMCV、MCH及び網状赤血球率の増加がみられた。組織学的には、赤血球の破壊像として赤脾髄のヘモジデリン沈着が、赤血球数の減少に対する反応性的変化として脾臓の髄外造血がそれぞれ180mg/kg群の雌雄にみられた。これらのことから、赤血球数の減少は赤血球の破壊亢進によるものと考えられた。また、白血球数の増加については、先に実施した本被験物質の2週間反復投与毒性予備試験²⁾でも200mg/kg以上の群の雄又は雌でみられており、本被験物質投与によるものと考えられた。なお、白血球数の増加は、180mg/kg群の雄では分葉核好中球を中心とした増加であり、炎症を示唆する変化とも考えられたが、本試験では明らかな炎症性変化はみられておらず、発生機序は明らかではなかった。回復期間終了時の検査では、180mg/kg群の雌雄でMCV及びMCHの増加、同群の雄で赤血球数の減少がみられたが、投与終了時に比べるとその程度は軽度であり、回復性が窺われた。

血液生化学的検査では、投与期間終了時の検査で180mg/kg群の雌雄に総蛋白質、アルブミン、A/G比、GPT、総コレステロール及びリン脂質の増加又は増加傾向がみられ、同群の雄でトリグリセライドの減少が、同群の雌でコリンエステラーゼ及びアセチルコリンエステラーゼの減少がみられた。総蛋白質、A/G比、GPT、総コレステロール、リン脂質及びトリグリセライドの変化は、体重の増加抑制傾向に伴う全身的な影響に関連した変化であると考えられた。また、コリンエステラーゼ及びアセチルコリンエステラーゼは主に肝臓で合成されており、これらの減少の原因としては通常、肝臓での蛋白質合成機能の低下が考えられる。しかしながら、本試験では血清中の総蛋白質は増加しており、組織学的にも肝臓の機能障害を示す変化はみられていない。一般に有機リン系の化合物は抗コリンエステラーゼ活性を有することが知られており、本被験物質は有機リン系の化合物ではないものの、投与により継続的な流涎がみられたことを考え併せると、コリンエステラーゼ及びアセチルコリンエステラーゼの減少の原因は、本被験物質投与に関連した酵素活性阻害によ

る可能性が示唆された。

病理学的検査では、上述したように、赤血球数の減少に関連して脾臓に本被験物質による影響がみられた。それらに加えて、30mg/kg群の雌で肝臓及び腎臓の重量の増加及び180mg/kg群の雌雄で肝臓、腎臓及び副腎の重量の増加がみられ、組織学的に肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が30mg/kg以上の群の雌雄に、腎臓では近位尿細管上皮に硝子滴の出現が30mg/kg以上の群の雄に、副腎では束状帯の肥大が180mg/kg群の雌雄に、精巣では精母細胞及び精子細胞(round)の壊死、精子細胞(elongate)の減少並びにセルトリ細胞の空胞化が180mg/kg群にみられた。肝臓での組織学的な変化は、薬物代謝酵素が誘導されている可能性を示唆しており、本被験物質の肝臓に対する影響が考えられた。腎臓での組織学的な変化は、SD系雄性ラットでは自然発生的にみられる変化ではあるものの、30及び180mg/kg群の雄での変化は、本被験物質投与により近位尿細管での蛋白質の再吸収が亢進したものと考えられた。また、180mg/kg群の雌1例で膀胱に膀胱炎がみられ、本例では膀胱炎に伴い腎盂に好中球細胞浸潤がみられた。先に当研究所で実施した本被験物質の単回投与毒性試験¹⁾において、1700mg/kg群の雄1例で膀胱内に淡赤色尿がみられ、組織学的にも糜爛がみられた。SD系ラットでは膀胱炎の自然発生する例数は比較的少ないことを考えると、本試験での膀胱及び腎盂の変化は1例についての変化ではあるものの、本被験物質投与による影響の可能性が示唆された。副腎では組織学的に束状帯の肥大がみられ、それを反映して重量の変化がみられた。精巣での一連の変化は、先に当研究所で実施した本被験物質の単回投与毒性試験¹⁾及び2週間反復投与毒性予備試験²⁾でも同様にみられており、本被験物質の精巣に対する影響が示唆された。回復期間終了時の検査では、180mg/kg群の雄で腎臓及び副腎の相対重量の増加がみられたが、組織学的には変化はみられなかった。また、投与期間終了時に変化がみられた肝臓、脾臓及び膀胱では、変化は消失するかもしくは軽減していた。精巣でも精母細胞及び精子細胞の壊死はみられず、回復性が認められた。

上記のように本試験における毒性は、14日間の休薬により消失又は軽減しており、可逆的な変化であった。以上の結果から、30mg/kg以上の群の雌雄で本被験物質による影響がみられたことから、本試験条件下での無影響量は雌雄ともに5mg/kgであると考えられた。

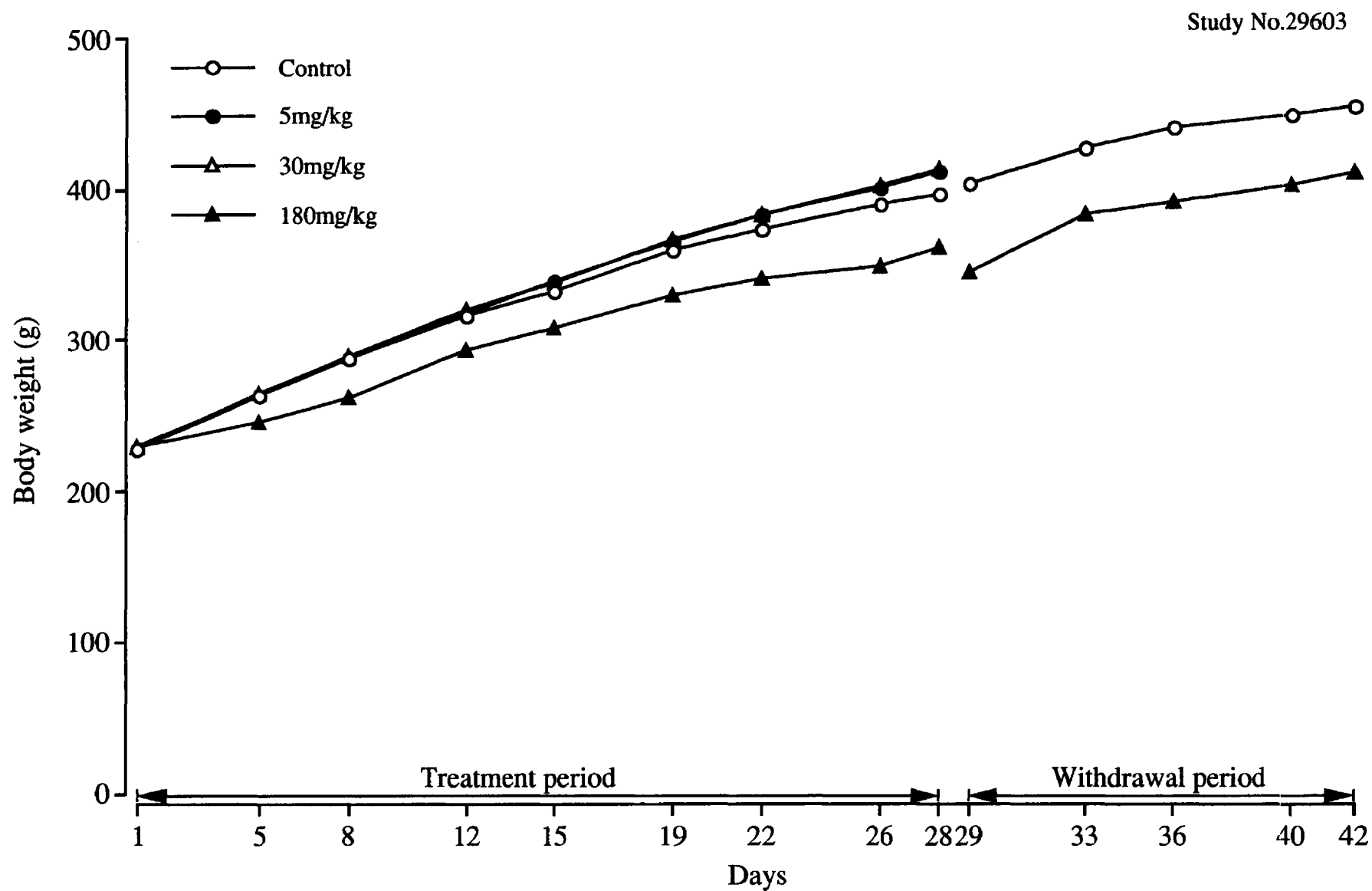


Fig. 1 Mean body weight changes in male rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

Study No.29603

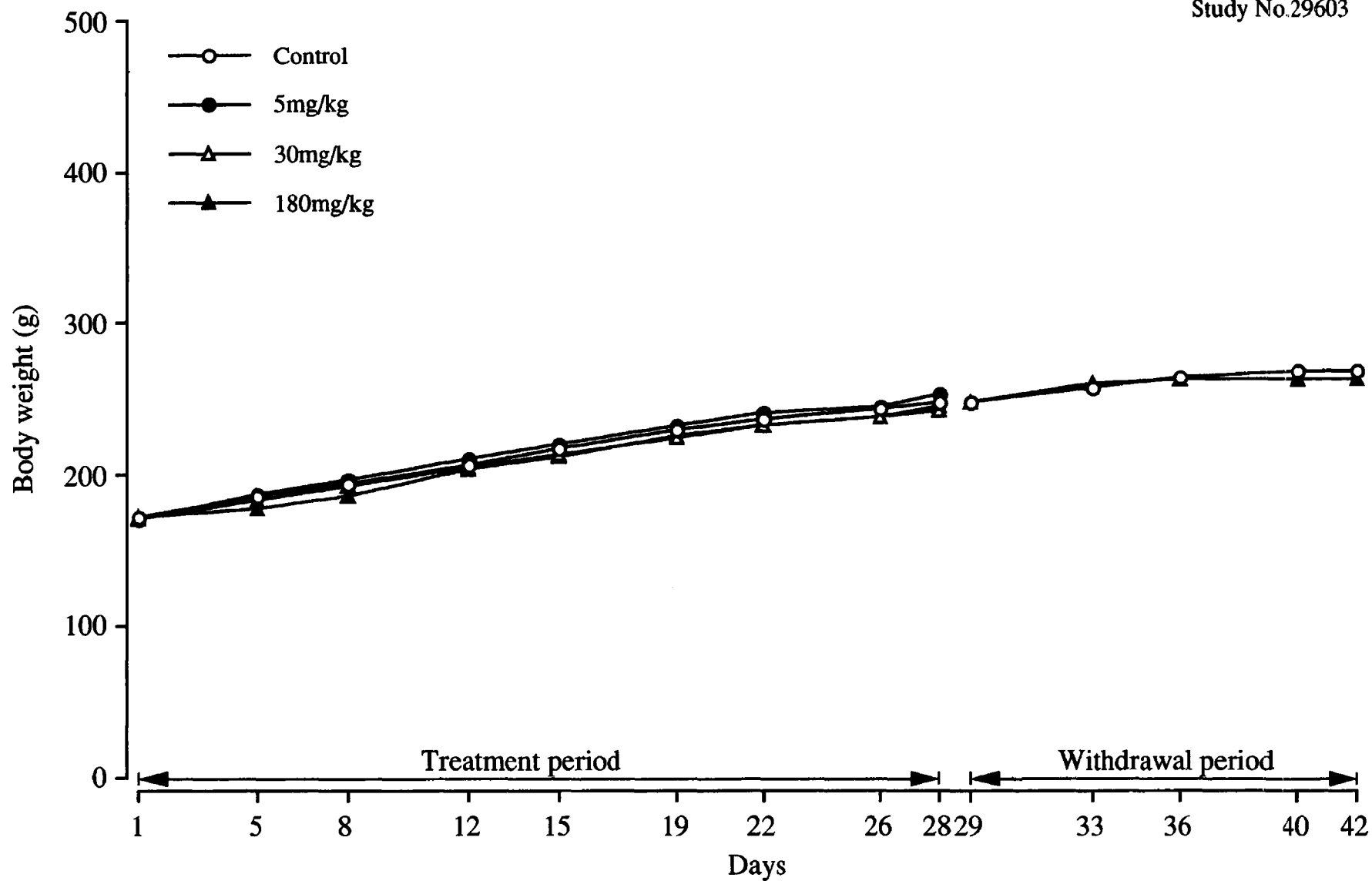


Fig. 2 Mean body weight changes in female rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

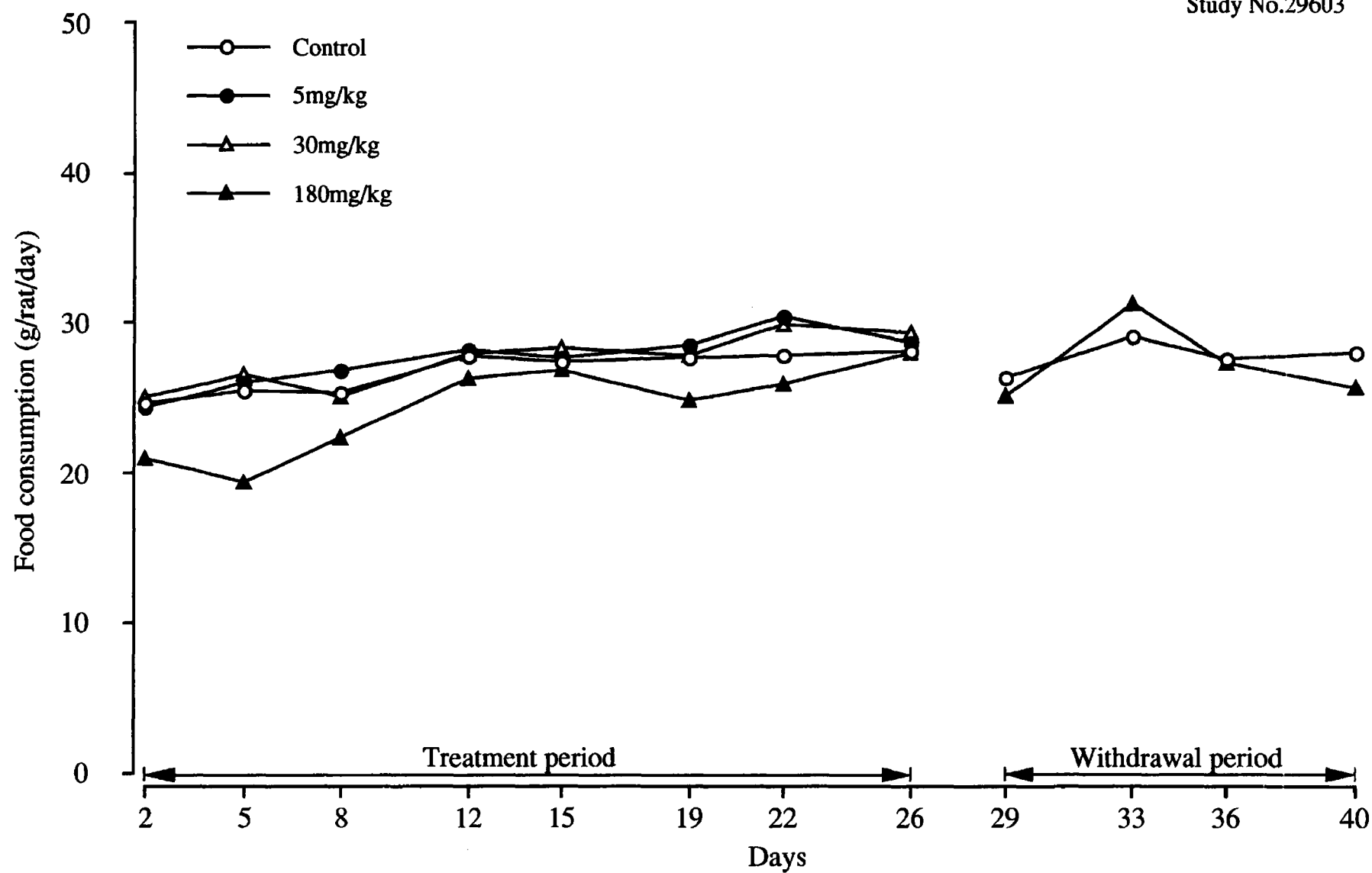


Fig. 3 Mean food consumption in male rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

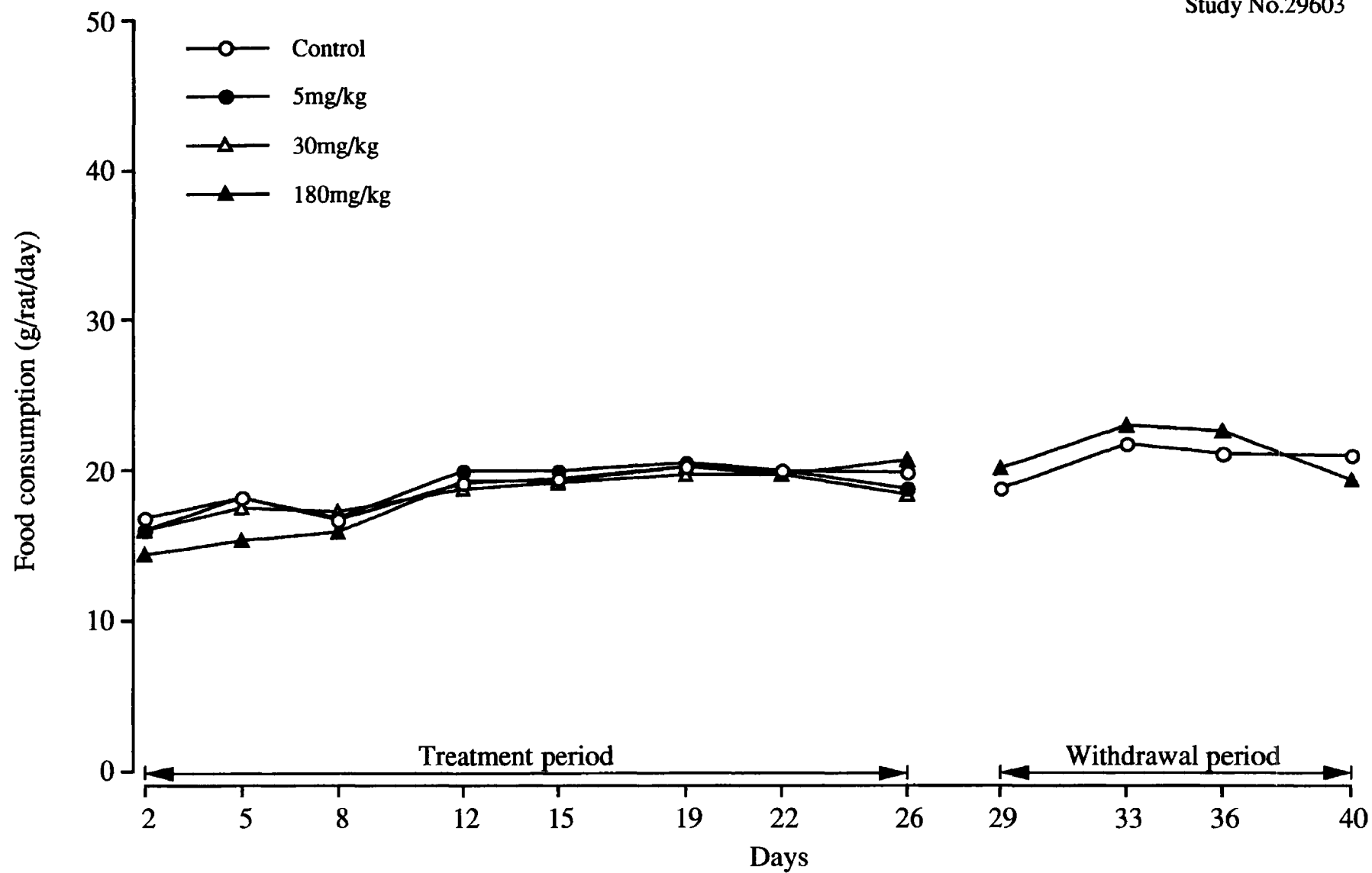


Fig. 4 Mean food consumption in female rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period.

Table 1 Clinical signs in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days																			
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Male	Control	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	5mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	30mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	180mg/kg	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	7	5	4	5	6	5	4	4	3	5
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	7	8	7	5	7	8	8	7	6
		Loss of hair	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3
		Swelling of limbs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
		Limping	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Female	Control	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	5mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	30mg/kg	Number of examined No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	180mg/kg	Number of examined No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
			12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	7	7	8	7	5	8	9	9	8	8
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	4	5	7	3	3	3	4	3
		Loss of hair	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1 - continued Clinical signs in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days																			
			21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Male	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	5mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	30mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	180mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	5	5	5	3	5	4	8	6	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	4
		Salivation	6	5	4	6	4	7	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Loss of hair	3	3	3	3	3	3	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
		Swelling of limbs	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
		Limping	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
Female	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	5mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	30mg/kg	Number of examined	6	6	6	6	6	6	6	6												
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6												
	180mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	8	8	8	8	8	8	9	9	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Salivation	4	2	2	4	2	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Loss of hair	1	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Lacrimation	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 1 - continued Clinical signs in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days	
			41	42
Male	Control	Number of examined	6	6
		No abnormality	6	6
	5mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	30mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	180mg/kg	Number of examined	6	6
		No abnormality	4	4
		Salivation	0	0
		Loss of hair	1	1
		Swelling of limbs	1	1
		Limping	1	1
Female	Control	Number of examined	6	6
		No abnormality	6	6
	5mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	30mg/kg	Number of examined		
		No abnormality		
	180mg/kg	Number of examined	6	6
		No abnormality	6	6
		Salivation	0	0
		Loss of hair	0	0
		Lacrimation	0	0

Table 2 Body weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Body weight (g) on day											
			1	5	8	12	15	19	22	26	28	29	33	36
Male	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6
		Mean	227.9	262.8	286.5	315.5	331.2	358.3	372.9	388.3	395.6	402.0	425.9	438.4
		S.D.	±7.0	±8.0	±10.6	±13.4	±16.2	±20.2	±21.5	±22.2	±22.5	±20.9	±24.5	±25.3
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6			
		Mean	227.8	262.6	287.6	317.4	338.2	364.3	382.4	399.1	409.9			
		S.D.	±4.4	±5.7	±9.3	±11.9	±16.5	±18.6	±22.6	±26.5	±22.9			
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6			
		Mean	228.8	264.1	288.3	319.4	337.5	365.4	382.0	400.6	412.4			
		S.D.	±9.5	±13.3	±17.4	±17.3	±19.2	±22.1	±25.1	±26.7	±28.1			
	180mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6
		Mean	228.7	245.1*	261.1**	292.0**	308.0**	329.2**	339.9**	348.7**	359.7*	343.5**	382.6*	389.9*
		S.D.	±8.9	±19.3	±20.9	±15.3	±17.7	±22.7	±30.1	±36.6	±35.3	±37.1	±39.7	±41.6
Female	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6
		Mean	171.3	185.4	193.3	205.4	215.8	228.5	235.6	242.2	245.7	246.3	256.2	262.1
		S.D.	±4.8	±6.4	±7.5	±8.6	±8.1	±10.8	±13.7	±13.9	±11.7	±14.6	±13.5	±15.8
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6			
		Mean	170.6	186.4	196.1	209.4	219.4	231.6	239.0	243.4	251.7			
		S.D.	±6.7	±4.9	±6.8	±7.7	±7.9	±8.2	±9.1	±11.0	±11.2			
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6			
		Mean	170.1	182.6	192.4	203.6	212.2	223.5	232.0	236.9	240.9			
		S.D.	±6.6	±7.1	±10.5	±11.8	±11.5	±13.9	±13.0	±13.6	±12.2			
	180mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6
		Mean	172.0	177.0*	185.3	202.4	211.5	225.1	231.8	237.3	243.2	246.0	258.4	261.7
		S.D.	±6.1	±9.3	±16.5	±12.3	±11.0	±12.3	±15.1	±13.2	±12.4	±12.9	±18.5	±13.7

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 2 - continued Body weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Body weight (g) on day	
			40	42
Male	Control	N	6	6
		Mean	446.9	453.1
		S.D.	±25.5	±26.8
	5mg/kg	N		
		Mean		
		S.D.		
	30mg/kg	N		
		Mean		
		S.D.		
	180mg/kg	N	6	6
		Mean	400.6*	408.6
		S.D.	±42.7	±43.9
Female	Control	N	6	6
		Mean	266.1	266.0
		S.D.	±17.8	±18.3
	5mg/kg	N		
		Mean		
		S.D.		
	30mg/kg	N		
		Mean		
		S.D.		
	180mg/kg	N	6	6
		Mean	261.5	261.1
		S.D.	±13.2	±16.4

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 3 Food consumption in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Food consumption (g) on day											
			2	5	8	12	15	19	22	26	29	33	36	40
Male	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	24.6	25.4	25.3	27.7	27.4	27.6	27.8	28.0	26.2	29.0	27.5	27.9
		S.D.	±1.5	±2.2	±2.0	±3.0	±2.7	±3.4	±3.0	±3.1	±3.5	±3.1	±2.5	±2.1
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	24.3	26.0	26.8	28.2	27.6	28.4	30.3	28.6				
		S.D.	±2.0	±1.0	±1.8	±1.1	±1.8	±2.3	±3.2	±2.0				
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	25.0	26.5	25.1	27.9	28.3	27.8	29.8	29.2				
		S.D.	±3.5	±3.6	±3.2	±2.4	±2.7	±3.2	±4.1	±3.7				
	180mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	21.0**	19.4**	22.3*	26.3	26.8	24.8	25.9	27.9	25.1	31.1	27.2	25.6
		S.D.	±2.2	±6.3	±3.0	±3.0	±4.5	±3.9	±5.3	±5.4	±4.2	±3.9	±2.7	±3.9
Female	Control	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	16.7	18.1	16.6	19.1	19.4	20.2	19.9	19.7	18.7	21.7	21.0	20.8
		S.D.	±1.9	±2.2	±1.9	±2.3	±2.0	±2.1	±3.7	±1.9	±2.8	±1.5	±2.5	±1.6
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	16.0	18.1	16.7	19.9	19.9	20.4	19.9	18.6				
		S.D.	±1.5	±1.9	±2.6	±2.1	±1.9	±2.6	±1.3	±2.3				
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6				
		Mean	15.9	17.4	17.2	18.7	19.1	19.6	19.6	18.3				
		S.D.	±2.2	±1.4	±2.2	±3.4	±2.7	±1.7	±2.5	±1.9				
	180mg/kg	N	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6
		Mean	14.3**	15.2*	15.8	19.2	19.2	20.1	19.6	20.5	20.0	22.8	22.4	19.2
		S.D.	±1.5	±3.6	±3.7	±2.3	±2.5	±3.4	±3.4	±2.7	±1.8	±4.0	±1.2	±1.7

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 4 Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urine volume (ml/24hr)	Osmotic pressure (Osm/kg)	Specific gravity
Male	Control	12	14.3 ±5.6	1.307 ±0.381	1.044 ±0.014
	5mg/kg	6	25.6 ±14.6	0.958 ±0.411	1.032 ±0.013
	30mg/kg	6	16.8 ±6.2	1.078 ±0.164	1.036 ±0.006
	180mg/kg	12	27.9** ±10.8	0.738** ±0.262	1.025** ±0.009
Female	Control	12	8.8 ±4.2	1.458 ±0.585	1.046 ±0.018
	5mg/kg	6	9.3 ±2.6	1.282 ±0.294	1.042 ±0.010
	30mg/kg	6	4.8 ±3.4	1.522 ±0.334	1.051 ±0.014
	180mg/kg	12	22.1** ±10.7	0.793** ±0.289	1.027** ±0.010

** : $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean ± S.D.

Table 4 - continued Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Color		pH					Protein			Glucose	Ketone body	Bilirubin	Occult blood		
			PY	Y	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	-	-	-	-	+	■
Male	Control	12	0	12	0	0	4	7	1	7	2	3	12	12	12	10	1	1
	5mg/kg	6	1	5	0	0	3	3	0	4	2	0	6	6	6	6	0	0
	30mg/kg	6	0	6	0	2	0	4	0	3	3	0	6	6	6	6	0	0
	180mg/kg	12	3	9	0	4	7	1	0	12	0	0	12	12	12	12	0	0
Female	Control	12	1	11	1	2	6	3	0	10	2	0	12	12	12	11	0	1
	5mg/kg	6	0	6	0	2	2	2	0	5	1	0	6	6	6	5	1	0
	30mg/kg	6	0	6	0	0	4	2	0	6	0	0	6	6	6	6	0	0
	180mg/kg	12	4	8	3	7	1	1	0	12	0	0	12	12	12	12	0	0

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

Grade sign: -, none; ±, trace; +, slight; *, moderate; ■, severe; ■, very severe.

Table 4 - continued Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urobilinogen (mg/dl)	
			<1	1
Male	Control	12	11	1
	5mg/kg	6	6	0
	30mg/kg	6	6	0
	180mg/kg	12	12	0
Female	Control	12	10	2
	5mg/kg	6	5	1
	30mg/kg	6	5	1
	180mg/kg	12	12	0

Table 4 - continued Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment						
			Epithelial cells	Erythrocytes	Leucocytes		Casts	Crystals	
			-	-	-	+	-	-	+
Male	Control	12	12	12	12	0	12	11	1
	5mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	0
	30mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	0
	180mg/kg	12	12	12	12	0	12	12	0
Female	Control	12	12	12	12	0	12	12	0
	5mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	0
	30mg/kg	6	6	6	6	0	6	6	0
	180mg/kg	12	12	12	11	1	12	12	0

Grade signs are as follows.

Epithelial cells: -, < 3/field; +, 3/field ≤ and < 10/field; *, 10/field ≤ and < 20/field; #, ≥ 20/field.

Erythrocytes : -, < 10/field; +, 10/field ≤ and < 30/field; *, 30/field ≤ and < 100/field; #, countless.

Leucocytes : -, < 3/field; +, 3/field ≤ and < 20/field; *, 20/field ≤ and < 40/field; #, ≥ 40/field.

Casts : -, none; +, ≥ 1/all field.

Crystals : -, < 10/field; +, 10/field ≤ and < 20/field; *, 20/field ≤ and < 30/field; #, countless.

Table 5 Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Urine volume (ml/24hr)	Osmotic pressure (Osm/kg)	Specific gravity
Male	Control	6	23.4 ±13.1	1.155 ±0.524	1.037 ±0.018
	180mg/kg	6	15.0 ±5.0	1.294 ±0.309	1.042 ±0.011
Female	Control	6	13.9 ±7.4	1.213 ±0.399	1.039 ±0.013
	180mg/kg	6	5.8* ±1.5	2.006** ±0.319	1.063** ±0.010

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 5 - continued Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Color		pH			Protein			Glucose	Ketone body	Bilirubin	Occult blood	Urobilinogen (mg/dl)	
			PY	Y	7.0	7.5	8.0	-	±	+	-	-	-	-	<1	1
Male	Control	6	2	4	0	2	4	3	1	2	6	6	6	6	6	0
	180mg/kg	6	1	5	0	0	6	1	4	1	6	6	6	6	5	1
Female	Control	6	1	5	1	1	4	6	0	0	6	6	6	6	5	1
	180mg/kg	6	0	6	0	1	5	4	2	0	6	6	6	6	5	1

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

Grade sign: -, none; ±, trace; +, slight; *, moderate; **, severe; ***, very severe.

Table 5 - continued Urinary findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment				
			Epithelial cells	Erythrocytes	Leucocytes	Casts	Crystals
			-	-	-	-	- +
Male	Control	6	6	6	6	6	4 2
	180mg/kg	6	6	6	6	6	6 0
Female	Control	6	6	6	6	6	6 0
	180mg/kg	6	6	6	6	6	6 0

Grade signs are as follows.
 Epithelial cells: -, < 3/field; +, 3/field ≤ and < 10/field; *, 10/field ≤ and < 20/field; #, ≥ 20/field.
 Erythrocytes : -, < 10/field; +, 10/field ≤ and < 30/field; #, 30/field ≤ and < 100/field; #, countless.
 Leucocytes : -, < 3/field; +, 3/field ≤ and < 20/field; *, 20/field ≤ and < 40/field; #, ≥ 40/field.
 Casts : -, none; +, ≥ 1/all field.
 Crystals : -, < 10/field; +, 10/field ≤ and < 20/field; *, 20/field ≤ and < 30/field; #, countless.

Table 6 Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Leucocyte ($10^2/\mu\text{l}$)	Erythrocyte ($10^4/\mu\text{l}$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Platelet ($10^4/\mu\text{l}$)	MCV (fl)	MCH (pg)
Male	Control	6	97 ± 26	820 ± 33	15.1 ± 0.6	47.6 ± 2.3	98.6 ± 9.1	58 ± 1	18.5 ± 0.4
	5mg/kg	6	86 ± 24	780 ± 32	14.6 ± 0.5	45.9 ± 0.8	97.1 ± 8.1	59 ± 2	18.7 ± 0.6
	30mg/kg	6	102 ± 12	811 ± 37	14.8 ± 0.4	46.9 ± 1.4	101.4 ± 7.4	58 ± 2	18.3 ± 0.7
	180mg/kg	6	132 ± 36	723** ± 26	14.7 ± 0.6	46.1 ± 1.9	94.6 ± 6.2	64** ± 1	20.3** ± 0.4
Female	Control	6	71 ± 27	776 ± 20	14.7 ± 0.4	45.3 ± 1.2	107.9 ± 6.3	59 ± 2	19.0 ± 0.5
	5mg/kg	6	69 ± 19	801 ± 31	15.3 ± 0.5	46.7 ± 2.2	111.1 ± 6.9	58 ± 1	19.1 ± 0.3
	30mg/kg	6	82 ± 23	760 ± 38	14.9 ± 0.3	44.8 ± 1.5	108.2 ± 7.9	59 ± 2	19.6 ± 0.7
	180mg/kg	6	118* ± 32	728* ± 28	14.4 ± 0.6	44.4 ± 1.9	110.9 ± 10.8	61* ± 1	19.8* ± 0.5

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 6 - continued Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	MCHC (%)	Reticulocyte (%)	Prothrombin time (sec)	APTT (sec)
Male	Control	6	31.8 ±0.8	28 ±2	15.7 ±3.1	27.0 ±2.6
	5mg/kg	6	31.8 ±0.6	29 ±3	13.2 ±1.1	24.2* ±1.2
	30mg/kg	6	31.6 ±0.5	31 ±5	13.5 ±1.3	25.4 ±1.9
	180mg/kg	6	31.8 ±0.5	50* ±7	11.9 ±0.5	19.6** ±1.4
Female	Control	6	32.5 ±0.4	29 ±3	10.5 ±0.3	19.9 ±1.1
	5mg/kg	6	32.7 ±0.6	31 ±3	10.6 ±0.3	20.3 ±1.5
	30mg/kg	6	33.2 ±0.6	28 ±5	10.7 ±0.3	19.8 ±1.6
	180mg/kg	6	32.4 ±0.5	38** ±3	11.1** ±0.3	18.8 ±1.1

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 6 - continued Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Differential leucocyte count					
			Eosinophil (%)	Neutro-Stab. (%)	Neutro-Seg. (%)	Lymphocyte (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)
Male	Control	6	0.2 ±0.4	0.0 ±0.0	9.2 ±5.6	89.8 ±6.5	0.0 ±0.0	0.8 ±0.8
	5mg/kg	6	1.0 ±0.6	0.0 ±0.0	16.8 ±8.0	82.0 ±8.5	0.0 ±0.0	0.2 ±0.4
	30mg/kg	6	0.5 ±0.8	0.0 ±0.0	12.5 ±5.1	86.8 ±5.3	0.0 ±0.0	0.2 ±0.4
	180mg/kg	6	1.0 ±0.6	0.0 ±0.0	19.3* ±7.8	78.8* ±7.8	0.0 ±0.0	0.8 ±0.8
Female	Control	6	0.8 ±0.8	0.0 ±0.0	17.0 ±13.8	81.5 ±15.0	0.0 ±0.0	0.7 ±0.8
	5mg/kg	6	0.8 ±0.4	0.0 ±0.0	15.2 ±6.2	83.0 ±6.3	0.0 ±0.0	1.0 ±0.0
	30mg/kg	6	0.5 ±0.5	0.0 ±0.0	11.7 ±4.4	87.3 ±4.5	0.0 ±0.0	0.5 ±0.5
	180mg/kg	6	0.8 ±0.8	0.0 ±0.0	14.5 ±5.8	83.5 ±6.6	0.0 ±0.0	1.2 ±1.5

*: $P < 0.05$ (significantly different from control).
Values are mean ± S.D.

Table 7 Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Leucocyte ($10^2/\mu\text{l}$)	Erythrocyte ($10^4/\mu\text{l}$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Platelet ($10^4/\mu\text{l}$)	MCV (fl)	MCH (pg)
Male	Control	6	92 ± 18	866 ± 60	15.0 ± 0.7	46.3 ± 2.0	107.7 ± 13.7	53 ± 2	17.3 ± 0.6
	180mg/kg	6	92 ± 22	801* ± 32	15.0 ± 0.2	46.6 ± 0.7	111.6 ± 8.1	58** ± 2	18.7** ± 0.8
Female	Control	6	64 ± 15	817 ± 40	14.7 ± 0.9	45.2 ± 2.5	106.3 ± 7.6	55 ± 2	17.9 ± 0.6
	180mg/kg	6	69 ± 20	821 ± 34	15.3 ± 0.4	47.2 ± 1.6	103.7 ± 7.5	58* ± 1	18.6* ± 0.4

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 7 - continued Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	MCHC (%)	Reticulocyte (%)	Prothrombin time (sec)	APTT (sec)
Male	Control	6	32.3 ±0.3	30 ±4	12.0 ±0.5	24.2 ±1.1
	180mg/kg	6	32.2 ±0.4	29 ±5	12.0 ±0.4	22.6 ±1.5
Female	Control	6	32.4 ±0.7	32 ±2	10.2 ±0.6	17.8 ±2.3
	180mg/kg	6	32.3 ±0.6	29 ±4	10.8* ±0.3	20.1 ±1.5

*: P<0.05 (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 7 - continued Hematological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Differential leucocyte count					
			Eosinophil (%)	Neutro-Stab. (%)	Neutro-Seg. (%)	Lymphocyte (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)
Male	Control	6	1.2 ±1.0	0.0 ±0.0	15.8 ±11.0	82.2 ±10.5	0.0 ±0.0	0.8 ±1.2
	180mg/kg	6	0.5 ±0.8	0.0 ±0.0	15.5 ±5.2	83.5 ±5.5	0.0 ±0.0	0.5 ±0.8
Female	Control	6	1.3 ±1.4	0.0 ±0.0	20.7 ±10.4	77.8 ±10.2	0.0 ±0.0	0.2 ±0.4
	180mg/kg	6	0.7 ±1.2	0.0 ±0.0	13.5 ±5.9	85.0 ±6.2	0.0 ±0.0	0.8 ±0.8

Values are mean±S.D.

Table 8 Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	T.protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	T.bilirubin (mg/dl)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ALP (IU/l)
Male	Control	6	5.1 ± 0.2	3.6 ± 0.1	2.37 ± 0.14	0.0 ± 0.0	84 ± 10	18 ± 3	0.0 ± 0.1	270 ± 81
	5mg/kg	6	5.1 ± 0.1	3.5 ± 0.1	2.27 ± 0.20	0.0 ± 0.0	88 ± 13	18 ± 2	0.1 ± 0.2	282 ± 41
	30mg/kg	6	5.2 ± 0.3	3.6 ± 0.2	2.35 ± 0.14	0.0 ± 0.0	89 ± 6	18 ± 2	0.1 ± 0.1	281 ± 58
	180mg/kg	6	5.3 ± 0.2	3.9* ± 0.1	2.71* ± 0.25	0.0 ± 0.0	75 ± 6	28* ± 11	0.3* ± 0.2	268 ± 46
Female	Control	6	5.3 ± 0.2	3.7 ± 0.4	2.42 ± 0.44	0.0 ± 0.1	85 ± 8	15 ± 2	0.1 ± 0.1	145 ± 16
	5mg/kg	6	5.2 ± 0.1	3.8 ± 0.1	2.59 ± 0.31	0.1 ± 0.0	96 ± 8	15 ± 4	0.0 ± 0.1	140 ± 28
	30mg/kg	6	5.3 ± 0.2	3.8 ± 0.2	2.48 ± 0.36	0.1 ± 0.1	88 ± 20	15 ± 2	0.1 ± 0.1	153 ± 38
	180mg/kg	6	5.7* ± 0.3	4.4* ± 0.2	3.37** ± 0.62	0.1 ± 0.0	77 ± 6	24** ± 6	0.1 ± 0.1	168 ± 24

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 8 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	Cholin-esterase (IU/l)	Acetyl cholinesterase (Δ pH)	T.cholesterol (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Phospholipids (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Male	Control	6	49 ± 16	0.00 ± 0.00	48 ± 5	46 ± 6	91 ± 4	116 ± 12	17.0 ± 1.4	0.4 ± 0.1
	5mg/kg	6	56 ± 13	0.00 ± 0.00	48 ± 6	56 ± 23	91 ± 10	107 ± 10	15.0 ± 1.7	0.4 ± 0.0
	30mg/kg	6	64 ± 12	0.00 ± 0.00	51 ± 3	54 ± 23	95 ± 9	115 ± 9	14.6 ± 3.0	0.4 ± 0.1
	180mg/kg	6	61 ± 13	0.00 ± 0.00	81** ± 12	26* ± 8	140* ± 18	118 ± 3	16.1 ± 2.8	0.5 ± 0.1
Female	Control	6	385 ± 128	0.29 ± 0.12	60 ± 7	22 ± 4	121 ± 8	99 ± 16	23.9 ± 3.2	0.5 ± 0.1
	5mg/kg	6	374 ± 66	0.28 ± 0.07	59 ± 11	23 ± 6	119 ± 15	102 ± 13	22.7 ± 2.3	0.5 ± 0.0
	30mg/kg	6	329 ± 120	0.23 ± 0.12	68 ± 11	25 ± 10	132 ± 21	114 ± 17	22.2 ± 4.3	0.4* ± 0.0
	180mg/kg	6	182* ± 33	0.08* ± 0.03	84** ± 6	24 ± 4	166** ± 11	108 ± 9	19.4 ± 2.7	0.5 ± 0.1

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 8 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose	Number of animals	IP (mg/dl)	Ca (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
Male	Control	6	7.7 ±0.3	9.5 ±0.2	146.9 ±0.8	4.16 ±0.20	106.3 ±1.4
	5mg/kg	6	7.8 ±0.7	9.4 ±0.1	146.7 ±0.8	4.04 ±0.22	105.6 ±1.2
	30mg/kg	6	7.8 ±0.5	9.6 ±0.2	146.6 ±0.7	4.17 ±0.12	105.7 ±1.4
	180mg/kg	6	8.0 ±0.8	9.4 ±0.3	145.6* ±0.6	4.20 ±0.26	104.6 ±1.9
Female	Control	6	8.2 ±0.6	9.7 ±0.3	146.5 ±0.7	4.26 ±0.21	108.1 ±1.0
	5mg/kg	6	8.0 ±0.6	9.6 ±0.2	146.3 ±1.4	4.34 ±0.35	107.9 ±2.0
	30mg/kg	6	8.1 ±0.7	9.6 ±0.1	145.9 ±0.5	4.25 ±0.22	107.4 ±1.5
	180mg/kg	6	7.8 ±0.6	9.7 ±0.4	146.0 ±1.0	4.10 ±0.23	107.3 ±1.7

*: P<0.05 (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 9 Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	T.protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	T.bilirubin (mg/dl)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	ALP (IU/l)
Male	Control	6	5.4 ± 0.2	3.7 ± 0.2	2.08 ± 0.17	0.1 ± 0.1	94 ± 7	20 ± 4	0.3 ± 0.2	231 ± 37
	180mg/kg	6	5.3 ± 0.2	3.6 ± 0.1	2.18 ± 0.28	0.0* ± 0.0	90 ± 16	19 ± 4	0.2 ± 0.2	192* ± 23
Female	Control	6	5.6 ± 0.3	4.0 ± 0.3	2.41 ± 0.40	0.1 ± 0.0	85 ± 6	18 ± 5	0.4 ± 0.1	141 ± 26
	180mg/kg	6	5.2* ± 0.3	3.9 ± 0.3	3.00 ± 0.81	0.1 ± 0.1	86 ± 13	19 ± 6	0.2 ± 0.3	149 ± 30

*: $P < 0.05$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 9 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	Cholin-esterase (IU/l)	Acetyl cholinesterase (μ pH)	T.cholesterol (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Phospholipids (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Male	Control	6	61 ± 15	0.00 ± 0.00	58 ± 13	62 ± 8	100 ± 12	129 ± 26	17.0 ± 1.8	0.5 ± 0.1
	180mg/kg	6	70 ± 14	0.00 ± 0.00	60 ± 10	55 ± 20	104 ± 13	117 ± 11	14.9 ± 1.6	0.4* ± 0.0
Female	Control	6	472 ± 151	0.39 ± 0.15	63 ± 13	23 ± 5	123 ± 18	111 ± 11	22.6 ± 2.1	0.7 ± 0.1
	180mg/kg	6	393 ± 156	0.31 ± 0.16	66 ± 10	24 ± 7	124 ± 18	102 ± 7	20.4 ± 4.0	0.5** ± 0.1

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (significantly different from control).
Values are mean $\pm$ S.D.

Table 9 - continued Biochemical findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose	Number of animals	IP (mg/dl)	Ca (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
Male	Control	6	6.5 ±0.2	9.8 ±0.2	145.9 ±0.7	4.22 ±0.21	105.9 ±0.6
	180mg/kg	6	7.6** ±0.5	9.8 ±0.2	146.4 ±0.5	4.21 ±0.17	106.0 ±1.6
Female	Control	6	7.0 ±2.0	10.2 ±0.3	146.0 ±0.9	4.42 ±0.18	108.1 ±0.9
	180mg/kg	6	7.2 ±1.4	10.1 ±0.4	145.5 ±0.7	4.37 ±0.67	108.7 ±1.0

** : P<0.01 (significantly different from control).
Values are mean±S.D.

Table 10 Necropsy findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Organs and findings	Sex	Male				Female			
	Group and dose	Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg	Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg
	Number of animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Endocrine system									
Adrenal									
Spots, white		0	0	0	0	0	1	0	0
Integumentary system									
Skin									
Alopecia		0	0	0	1	0	0	0	2

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 11 Necropsy findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Organs and findings	Sex	Male		Female	
	Group and dose	Control	180mg/kg	Control	180mg/kg
	Number of animals	6	6	6	6
Integumentary system					
Skin					
Alopecia					
Others					
Extremity					
Swelling, hindlimb					

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 12 Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose		Final Body Weight (g)	Brain		Heart		Lungs	
				(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	362.2	2.18	0.60	1.19	0.33	1.22	0.34
		S.D.	±23.5	±0.06	±0.04	±0.07	±0.01	±0.05	±0.02
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	377.9	2.15	0.57	1.28	0.34	1.32	0.35
		S.D.	±24.1	±0.07	±0.03	±0.14	±0.02	±0.14	±0.02
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	380.1	2.16	0.57	1.27	0.33	1.33	0.35
		S.D.	±27.9	±0.07	±0.06	±0.11	±0.03	±0.10	±0.02
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	351.3	2.09	0.60	1.09	0.31	1.23	0.35
		S.D.	±15.8	±0.07	±0.03	±0.12	±0.02	±0.06	±0.01
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	231.6	2.03	0.88	0.83	0.36	1.01	0.44
		S.D.	±10.1	±0.05	±0.03	±0.04	±0.02	±0.08	±0.02
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	232.1	2.05	0.89	0.85	0.37	0.98	0.42
		S.D.	±8.4	±0.09	±0.05	±0.05	±0.03	±0.05	±0.03
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	222.6	1.99	0.89	0.84	0.38	0.98	0.44
		S.D.	±12.5	±0.08	±0.04	±0.05	±0.02	±0.09	±0.03
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	223.6	2.00	0.90	0.75*	0.33	1.02	0.46
		S.D.	±12.4	±0.05	±0.04	±0.06	±0.03	±0.04	±0.02

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 12 - continued Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose		Thymus		Submaxillary glands		Liver		Spleen	
			(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.68	0.19	0.56	0.16	10.80	2.98	0.70	0.19
		S.D.	±0.11	±0.03	±0.06	±0.02	±1.08	±0.16	±0.06	±0.01
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.55	0.15	0.62	0.17	11.42	3.02	0.76	0.20
		S.D.	±0.11	±0.02	±0.04	±0.01	±0.86	±0.12	±0.13	±0.04
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.61	0.16	0.64*	0.17	12.34	3.24	0.85	0.22
		S.D.	±0.11	±0.03	±0.07	±0.01	±1.61	±0.24	±0.17	±0.03
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.67	0.19	0.59	0.17	14.53**	4.13**	0.76	0.22
		S.D.	±0.13	±0.03	±0.04	±0.01	±1.43	±0.26	±0.13	±0.04
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.47	0.21	0.40	0.17	6.51	2.81	0.51	0.22
		S.D.	±0.07	±0.03	±0.03	±0.01	±0.40	±0.11	±0.06	±0.03
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.45	0.19	0.43	0.18	6.75	2.91	0.52	0.22
		S.D.	±0.04	±0.02	±0.04	±0.02	±0.23	±0.06	±0.07	±0.04
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.44	0.20	0.41	0.18	7.11*	3.20**	0.55	0.25
		S.D.	±0.05	±0.03	±0.02	±0.01	±0.49	±0.16	±0.07	±0.03
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.51	0.23	0.40	0.18	9.04**	4.05**	0.51	0.23
		S.D.	±0.07	±0.05	±0.02	±0.02	±0.32	±0.12	±0.07	±0.04

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 12 - continued Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Sex	Group and dose		Kidneys		Adrenals		Testes		Ovaries	
			(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.66	0.73	54.8	15.2	2.90	0.81		
		S.D.	±0.16	±0.03	±5.9	±2.3	±0.14	±0.06		
	5mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.68	0.71	57.9	15.4	3.14	0.83		
		S.D.	±0.16	±0.01	±4.0	±1.4	±0.15	±0.06		
	30mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.74	0.72	59.5	15.8	3.13	0.83		
		S.D.	±0.28	±0.03	±5.2	±2.4	±0.27	±0.12		
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.87	0.82**	77.4**	22.1**	2.94	0.84		
		S.D.	±0.13	±0.03	±6.0	±2.1	±0.24	±0.07		
Female	Control	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.65	0.72	66.3	28.6			89.3	38.5
		S.D.	±0.07	±0.03	±3.8	±1.1			±6.8	±1.9
	5mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.69	0.73	65.4	28.2			90.5	39.1
		S.D.	±0.13	±0.05	±6.3	±3.0			±13.0	±6.4
	30mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.77	0.80*	66.9	30.0			85.1	37.9
		S.D.	±0.17	±0.04	±8.1	±2.3			±22.6	±8.0
	180mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.84*	0.83**	70.9	31.8			103.6	46.2
		S.D.	±0.11	±0.07	±7.0	±3.4			±16.5	±6.5

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 13 Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Final Body Weight	Brain		Heart		Lungs	
			(g)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	423.6	2.16	0.51	1.27	0.30	1.32	0.31
		S.D.	±25.3	±0.07	±0.03	±0.08	±0.01	±0.11	±0.03
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	380.3	2.13	0.57	1.24	0.33*	1.25	0.33
		S.D.	±41.4	±0.12	±0.07	±0.18	±0.02	±0.09	±0.03
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	247.7	2.04	0.83	0.90	0.36	0.93	0.38
		S.D.	±17.0	±0.09	±0.07	±0.09	±0.03	±0.05	±0.03
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	243.7	2.03	0.83	0.89	0.36	1.04*	0.43*
		S.D.	±15.4	±0.05	±0.05	±0.04	±0.02	±0.09	±0.03

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 13 - continued Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Thymus		Submaxillary glands		Liver		Spleen	
			(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.44	0.10	0.68	0.16	11.98	2.81	0.80	0.19
		S.D.	±0.04	±0.01	±0.05	±0.00	±1.74	±0.26	±0.10	±0.02
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.40	0.11	0.59*	0.16	10.99	2.88	0.65**	0.17
		S.D.	±0.11	±0.03	±0.06	±0.02	±1.55	±0.14	±0.02	±0.02
Female	Control	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.40	0.16	0.41	0.17	6.67	2.70	0.53	0.21
		S.D.	±0.12	±0.06	±0.04	±0.01	±0.45	±0.15	±0.04	±0.02
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.41	0.17	0.39	0.16	7.16	2.95	0.56	0.23
		S.D.	±0.10	±0.04	±0.02	±0.01	±0.39	±0.25	±0.10	±0.04

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 13 - continued Organ weights in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Sex	Group and dose		Kidneys		Adrenals		Testes		Ovaries	
			(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)	(g)	(g/100gB.W.)	(mg)	(mg/100gB.W.)
Male	Control	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.75	0.65	56.8	13.4	3.18	0.75		
		S.D.	±0.20	±0.03	±6.2	±1.2	±0.21	±0.07		
	180mg/kg	N	6	6	6	6	6	6		
		Mean	2.72	0.72**	59.5	15.8*	3.03	0.81		
		S.D.	±0.22	±0.03	±2.6	±1.8	±0.39	±0.11		
Female	Control	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.69	0.69	63.6	25.8			85.2	34.5
		S.D.	±0.09	±0.03	±6.5	±3.6			±8.4	±3.7
	180mg/kg	N	6	6	6	6			6	6
		Mean	1.72	0.71	64.9	26.7			89.5	36.7
		S.D.	±0.15	±0.06	±5.7	±2.1			±8.5	±2.4

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 14A Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Organs and findings	Sex Group and dose Number of animals	Male								Female							
		Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg	Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg	Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg	Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg
		6				6				6				6			
		-	+	*	**	-	+	*	**	-	+	*	**	-	+	*	**
Digestive system																	
Liver		(6)				(6)				(6)				(6)			
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		6	0	0	0	6	0	0	0	3	3	0	0	0	0	6	0**
Hematopoietic system																	
Spleen		(6)				(0)				(6)				(0)			
Hematopoiesis, extramedullary		6	0	0	0					6	0	0	0				
Deposit, hemosiderin, red pulp		0	6	0	0					0	6	0	0				
Urinary system																	
Kidney		(6)				(6)				(6)				(6)			
Hyaline droplet, proximal tubule		6	0	0	0	6	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0**
Cellular infiltration, neutrophil, pelvis		6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Urinary bladder		(6)				(0)				(6)				(0)			
Cystitis		6	0	0	0					6	0	0	0				
Genital system																	
Testis		(6)				(0)				(6)				NA	NA	NA	NA
Necrosis, spermatocyte and spermatid(round)		6	0	0	0					6	0	0	0				
Decrease, spermatid(elongate)		6	0	0	0					6	0	0	0				
Vacuolation, Sertoli cell		6	0	0	0					6	0	0	0				
Endocrine system																	
Adrenal		(6)				(0)				(6)				(1)			
Hypertrophy, zona fasciculata		6	0	0	0					6	0	0	0	1	0	0	0
Vacuolation, zona glomerulosa, focal		6	0	0	0					6	0	0	0	0	1	0	0

Grade sign: -, none; +, mild; *, moderate; **, marked.

**: P<0.01 (significantly different from control).

NA: not applicable.

Figure in parentheses represents the number of animals with tissues examined histopathologically.

There are no remarkable changes in the salivary gland and heart of all animals in control and 180mg/kg groups, the ovary of all female in control and 180mg/kg groups, and the skin of one male and two female in 180mg/kg group.

Table 14B Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days

Organs and findings	Sex Group and dose Number of animals	Male				Female			
		Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg	Control	5mg/kg	30mg/kg	180mg/kg
		6	6	6	6	6	6	6	6
Digestive system									
Liver		(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0	0	3	6	0	0	3	6
Hematopoietic system									
Spleen		(6)	(0)	(6)	(6)	(6)	(0)	(6)	(6)
Hematopoiesis, extramedullary		0		0	5	0		0	5
Deposit, hemosiderin, red pulp		6		6	6	6		6	6
Urinary system									
Kidney		(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
Hyaline droplet, proximal tubule		0	0	2	6	0	0	0	0
Cellular infiltration, neutrophil, pelvis		0	0	0	0	0	0	0	1
Urinary bladder		(6)	(0)	(6)	(6)	(6)	(0)	(6)	(6)
Cystitis		0		0	0	0		0	1
Genital system									
Testis		(6)	(0)	(6)	(6)	NA	NA	NA	NA
Necrosis, spermatocyte and spermatid(round)		0		0	2				
Decrease, spermatid(elongate)		0		0	2				
Vacuolation, Sertoli cell		0		0	1				
Endocrine system									
Adrenal		(6)	(0)	(6)	(6)	(6)	(1)	(6)	(6)
Hypertrophy, zona fasciculata		0		0	5	0	0	0	1
Vacuolation, zona glomerulosa, focal		0		0	0	0	1	0	0

NA: not applicable.

Figure in parentheses represents the number of animals with tissues examined histopathologically.

There are no remarkable changes in the salivary gland and heart of all animals in control and 180mg/kg groups, the ovary of all female in control and 180mg/kg groups, and the skin of one male and two female in 180mg/kg group.

Table 15A Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Organs and findings	Sex	Male								Female							
	Group and dose	Control				180mg/kg				Control				180mg/kg			
		6				6				6				6			
		-	+	#	##	-	+	#	##	-	+	#	##	-	+	#	##
Digestive system																	
Liver																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular																	
6 0 0 0 3 3 0 0 6 0 0 0 2 4 0 0*																	
Necrosis, hepatocyte, focal																	
6 0 0 0 5 1 0 0 6 0 0 0 5 1 0 0																	
Hematopoietic system																	
Spleen																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
Hematopoiesis, extramedullary																	
6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0																	
Deposit, hemosiderin, red pulp																	
0 5 1 0 0 5 1 0 0 0 6 0 0 0 6 0																	
Urinary system																	
Kidney																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
Hyaline droplet, proximal tubule																	
6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0																	
Urinary bladder																	
Cystitis																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0																	
Genital system																	
Testis																	
(6)																	
(6)																	
NA																	
NA																	
Necrosis, spermatocyte and spermatid(round)																	
6 0 0 0 6 0 0 0																	
Decrease, spermatid(elongate)																	
6 0 0 0 3 3 0 0																	
Vacuolation, Sertoli cell																	
6 0 0 0 4 2 0 0																	
Retention, spermatid debris																	
6 0 0 0 3 3 0 0																	
Endocrine system																	
Adrenal																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
(6)																	
Hypertrophy, zona fasciculata																	
6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0 6 0 0 0																	
Others																	
Extremity																	
(0)																	
(1)																	
(0)																	
(0)																	
Cellular infiltration, lymphocyte, hindlimb																	
0 1 0 0																	

Grade sign: -, none; +, mild; *, moderate; **, marked.

*: P<0.05 (significantly different from control).

NA: not applicable.

Figure in parentheses represents the number of animals with tissues examined histopathologically.

There are no remarkable changes in the skin of one male in 180mg/kg group.

Table 15B Histopathological findings in rats treated orally with 3-cyanopyridine for 28 days followed by 14-day withdrawal period

Organs and findings	Sex Group and dose Number of animals	Male		Female	
		Control	180mg/kg	Control	180mg/kg
		6	6	6	6
Digestive system					
Liver		(6)	(6)	(6)	(6)
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0	3	0	4
Necrosis, hepatocyte, focal		0	1	0	1
Hematopoietic system					
Spleen		(6)	(6)	(6)	(6)
Hematopoiesis, extramedullary		0	0	0	0
Deposit, hemosiderin, red pulp		6	6	6	6
Urinary system					
Kidney		(6)	(6)	(6)	(6)
Hyaline droplet, proximal tubule		0	0	0	0
Urinary bladder		(6)	(6)	(6)	(6)
Cystitis		0	0	0	0
Genital system					
Testis		(6)	(6)	NA	NA
Necrosis, spermatocyte and spermatid(round)		0	0		
Decrease, spermatid(elongate)		0	3		
Vacuolation, Sertoli cell		0	2		
Retention, spermatid debris		0	3		
Endocrine system					
Adrenal		(6)	(6)	(6)	(6)
Hypertrophy, zona fasciculata		0	0	0	0
Others					
Extremity		(0)	(1)	(0)	(0)
Cellular infiltration, lymphocyte, hindlimb			1		

NA: not applicable.

Figure in parentheses represents the number of animals with tissues examined histopathologically.
There are no remarkable changes in the skin of one male in 180mg/kg group.