

11. 試験責任者, その他の試験に従事した研究者全員の氏名及び業務分担

試験責任者: 山田聡美
被験物質取扱い責任者: 真鍋ひろ子
バリデーションの実施: 田畑綾乃, 桑原香織, 印具未喜
調製液の調製: 山田純嗣

12. 記録及び資料の保存

記録及び資料は, 以下の保存場所に最終報告書作成後 10 年間保存する.

株式会社新日本科学 安全性研究所 データ資料室

試験計画書

試験スケジュール

被験物質に関する記録, 資料

測定に関するチャート及び記録

最終報告書草案

最終報告書

その他, 試験に関する資料

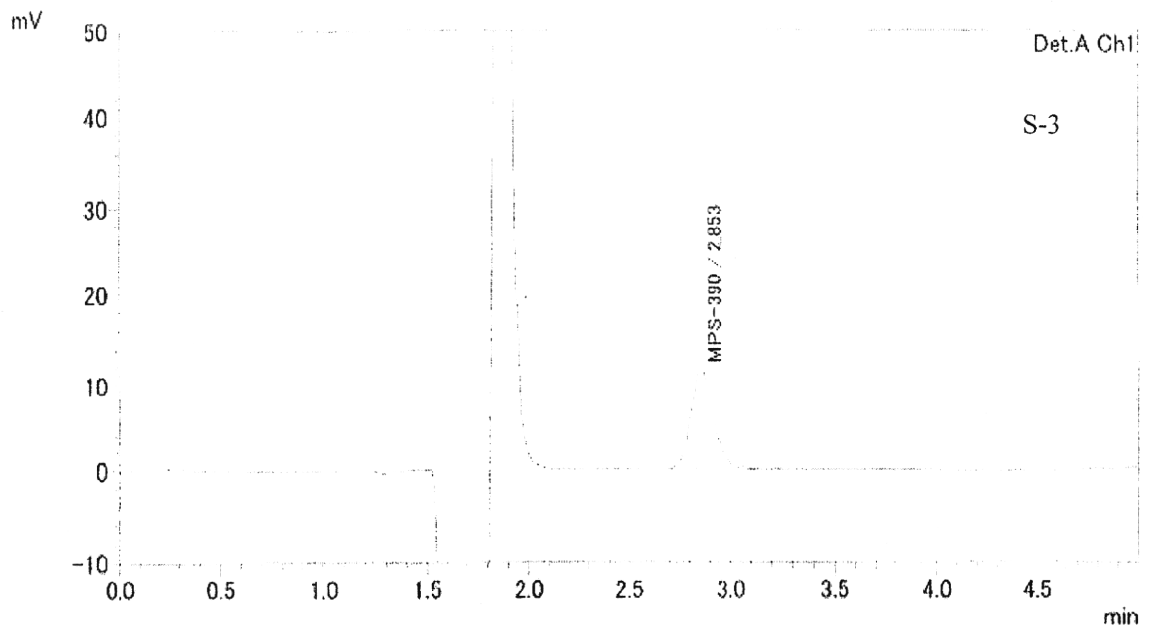
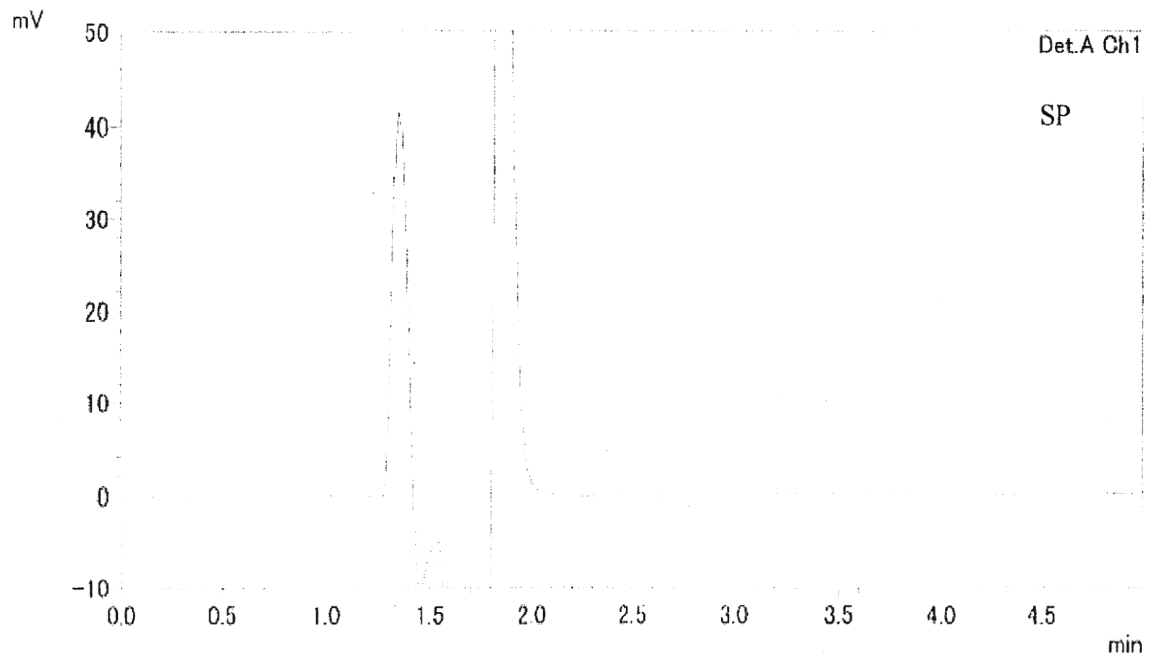
別添 1

Figures

- 1 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における特異性14
- 2 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における検量線の直線性15

Tables

- 1 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における検量線の直線性15
- 2 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法におけるオートサンプラー内の
安定性16
- 3 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における真度及び併行精度17



SP : 生理食塩液

S-3 : 標準溶液 (10 µg/mL)

Figure 1 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における特異性

Table 1 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における検量線の直線性

濃度 (μg/mL)	5	7.5	10	15	20
ピーク面積 (μV・sec)	44765.5	68487.4	92047.0	138572.5	186941.3
相対偏差 (%)	0.0	0.0	-0.1	-0.7	0.0
	2.1	-0.6	0.3	-0.8	0.8
相関係数 (r)	0.999884				
傾き	9477.86				
Y切片	-2600.42				
Y切片/最低濃度ピーク面積平均値	-5.7%				

適合基準

相対偏差 : ±5.0%以内

相関係数 : 0.99 以上

Y 切片/最低濃度ピーク面積平均値 : (0) ±10.0%以内

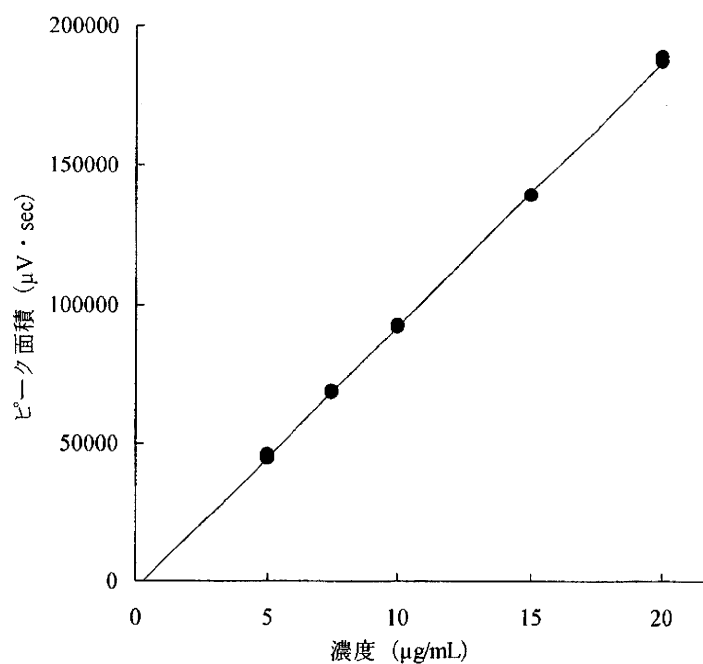


Figure 2 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における検量線の直線性

Table 2 調製液中の AcPepA (MPS-390)濃度測定法におけるオートサンプラー内の安定性

(設定 5°C)

測定試料	測定時点	ピーク面積 ($\mu\text{V} \cdot \text{sec}$)	平均値 ($\mu\text{V} \cdot \text{sec}$)	安定性 (%)
標準溶液 S-3 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	システムの再現性	92037.4	92210.9	(100.0)
		92192.8		
		92226.7		
		92155.8		
		92266.2		
		92386.5		
	24 時間後	89659.2	89806.4	97.4
試料溶液 T1 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	システムの再現性 確認後	95138.6	95220.0	(100.0)
		95301.4		
	24 時間後	93572.5	94088.8	98.8
		94605.2		

適合基準

安定性 : 100.0 \pm 5.0%以内

Table3 調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定法における真度及び併行精度

【溶状：溶液】

調製液濃度 (mg/mL)	測定濃度 (mg/mL)	回収率 (%)	Mean (%)	SD	RSD (%)
0.5	0.51229	102.5	103.5	0.91	0.9
	0.52089	104.2			
	0.51967	103.9			
1	1.0437	104.4	103.8	1.2	1.1
	1.0243	102.4			
	1.0451	104.5			
4	4.1673	104.2	103.9	0.35	0.3
	4.1382	103.5			
	4.1567	103.9			

適合基準

Mean : 100.0±5.0%以内

RSD : 5.0%以下

試験計画書変更書 (No. 1)

表 題： AcPepA (MPS-390) のカニクイザルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験
及び 4 週間回復性試験

試験番号： SBL861-006

【変更日】 2011 年 3 月 8 日

【変更内容】

I. 7 ページ 11. 被験物質調製液

下線部を変更する。

(変更前)

安定性： 0.5 及び 4 mg/mL 調製液について、投与開始前までに冷蔵，遮光，気密条件下で 2 日間+室温，遮光条件下で 24 時間安定であることを確認する。適合範囲について，安定性は測定直後を 100.0%とした場合，それぞれの測定濃度が 100.0±5.0%以内を適とする。方法の詳細については別添 A に記載する。

調製頻度： 2 日に 1 回以上

保存条件： 冷蔵，遮光，気密

(変更後)

安定性： 0.5 及び 4 mg/mL 調製液について，投与開始前までに冷蔵，遮光，密封条件下で 2 日間+室温，遮光条件下で 24 時間安定であることを確認する。適合範囲について，安定性は測定直後を 100.0%とした場合，それぞれの測定濃度が 100.0±5.0%以内を適とする。方法の詳細については別添 A に記載する。

調製頻度： 2 日に 1 回以上

保存条件： 冷蔵，遮光，密封

II. 22 ページ 21. 観察及び検査項目 21.16 トキシコキネティクス

下線部を追加する。

(変更前)

採血ポイント

投与開始日： 急速投与終了直後，持続投与開始後約 1 時間，持続投与終了直前，終了後約 1，2 及び 4 時間 (6 ポイント)

投与終了日： 急速投与開始前, 急速投与終了直後, 持続投与開始後約1時間, 持続投与終了直前, 終了後約1, 2及び4時間 (7ポイント)

(変更後)

採血ポイント

投与開始日： 急速投与終了直後, 持続投与開始後約1時間, 持続投与終了直前*, 終了後約1, 2及び4時間 (6ポイント)

投与終了日： 急速投与開始前, 急速投与終了直後, 持続投与開始後約1時間, 持続投与終了直前*, 終了後約1, 2及び4時間 (7ポイント)

*: 持続投与終了直前の採血は, 生理食塩液を充填した注射筒に交換する直前に実施する.

III. 別添B TK測定計画書 4ページ 10.材料及び方法 10.1試験系及び測定試料に関する情報 10.1.4測定試料に関する情報

下線部を追加する.

(変更前)

採血ポイント

投与開始日： 急速投与終了直後, 持続投与開始後約1時間, 持続投与終了直前, 終了後約1, 2及び4時間 (6ポイント)

投与終了日： 急速投与開始前, 急速投与終了直後, 持続投与開始後約1時間, 持続投与終了直前, 終了後約1, 2及び4時間 (7ポイント)

(変更後)

採血ポイント

投与開始日： 急速投与終了直後, 持続投与開始後約1時間, 持続投与終了直前*, 終了後約1, 2及び4時間 (6ポイント)

投与終了日： 急速投与開始前, 急速投与終了直後, 持続投与開始後約1時間, 持続投与終了直前*, 終了後約1, 2及び4時間 (7ポイント)


*: 持続投与終了直前の採血は, 生理食塩液を充填した注射筒に交換する直前に実施する.

【変更理由】

- I. 調製液保存条件の記載誤り.
- II及びIII. 採血のタイミングを明確にするため.

試験計画書変更書の作成

試験責任者 株式会社新日本科学 安全性研究所

楠元 正吾 2011年 3月 8日


楠元 正吾

試験計画書変更書 (No. 3)

表 題 : AcPepA (MPS-390) のカニクイザルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

試験番号 : SBL861-006

【変更日】 2011 年 3 月 25 日

【変更内容】

I. 9 ページ 14. 飼育条件

下線部を削除あるいは追加する.

(変更前)

清掃 : 室内及びケージを水で毎日清掃する. また休薬期間中は, 動物は 4 週間に 1 回以上洗浄・消毒済みの飼育室に設置した洗浄・消毒済みのケージに移動する.

(変更後)

清掃 : 室内及びケージを水で毎日清掃する. また動物は馴化終了日に 洗浄・消毒済みの飼育室に設置した洗浄・消毒済みのケージに移動する. 休薬期間中は 4 週間に 1 回以上洗浄・消毒済みの飼育室に設置した洗浄・消毒済みのケージに移動する.

II. 22 ページ 21. 観察及び検査項目 21.16 トキシコキネティクス

下線部を追加あるいは変更する.

(変更前)

採血方法 : 大腿静脈から採血し, EDTA・2K で抗凝固処理を行う. 血液は速やかに遠心分離 (4°C, 1710×g, 3000 rpm, 15 分間) し, 得られた血漿は超低温フリーザー (許容範囲 : -70°C 以下) で凍結保存する.

.....

測定対象物質の血漿中での安定性 :

AcPepA はカニクイザルの凍結血漿中 (-70°C 以下) で 15 日間 安定であることが「LC/MS/MS によるサル血漿中 AcPepA 中濃度測定法バリデーション (試験番号 : PBC861-001)」で確認さ

れている。

(変更後)

採血方法： 大腿静脈から採血し、EDTA・2K (100 mg/mL EDTA・2K, 血液 1 mL あたり 10 μ L 添加) で抗凝固処理を行う。血液は速やかに遠心分離 (4°C, 1710 \times g, 3000 rpm, 15 分間) し、得られた血漿は超低温フリーザー (許容範囲：-70°C 以下) で凍結保存する。

.....

測定対象物質の血漿中での安定性：

AcPepA はカニクイザルの凍結血漿中 (-70°C 以下) で 32 日間安定であることが「LC/MS/MS によるサル血漿中 AcPepA 中濃度測定法バリデーション (試験番号：PBC861-001)」で確認されている。

III. 別添 B TK 測定計画書 3 ページ 9. 測定法に関する情報

下線部を変更する。

(変更前)

マトリクス中における測定対象物質の安定性は下表のとおり。

冷蔵保存安定性：	1~8°C で 6 時間まで安定
凍結融解安定性：	凍結融解操作 3 回まで安定 (保存/融解条件：-70°C 以下/氷上)
冷凍保存安定性：	-70°C 以下で 15 日間安定

(変更後)

マトリクス中における測定対象物質の安定性は下表のとおり。

冷蔵保存安定性：	1~8°C で 6 時間まで安定
凍結融解安定性：	凍結融解操作 3 回まで安定 (保存/融解条件：-70°C 以下/氷上)
冷凍保存安定性：	-70°C 以下で 32 日間安定

【変更理由】

- I. 動物移動に関する設定を追加するため。
- II. 抗凝固剤の詳細を記載及び TK 試料の安定性に関する情報を入手したため。
- III. TK 試料の安定性に関する情報を入手したため。

試験計画書変更書の作成

試験責任者 株式会社新日本科学 安全性研究所

楠元正吾 印 2011年 3月 25日
楠元 正吾

試験計画書変更書 (No. 5)

表 題： AcPepA (MPS-390) のカニクイザルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

試験番号： SBL861-006

【変更日】 2011 年 4 月 8 日

【変更内容】

I. 6 ページ 10. 被験物質及び対照物質 (媒体) 10.1 被験物質

下線部を追加あるいは変更する.

(変更前)

ロット番号： 2K09030

特性 (CERTIFICATE OF ANALYSIS, Certificate No.: 861003-1)

性状： 白色の粉末

ペプチド含量 (HPLC) : 77.9%

純度 (HPLC) : 96.9%

安定性： 投与期間終了後の被験物質の安定性について，本試験で使用したロットと同一ロット，同一保存条件下で保存した被験物質を用いて測定した結果を入手し，確認する.

受領日： 2011 年 3 月 1 日及び 2011 年 3 月 4 日

入手日： 2011 年 3 月 8 日

入手量： 37 g

保存条件： 冷凍，遮光

保存場所： 被験物質保管所内冷凍室 (許容範囲：-30~-10°C)

取扱い： マスク，キャップ，手袋及び保護眼鏡を着用する.

保存用被験物質： 約 1 g

(変更後)

ロット番号： 2K09030 及び 2K08045

特性

ロット番号 2K09030 (CERTIFICATE OF ANALYSIS, Certificate Nos.: 861003-1) :

性状： 白色の粉末

ペプチド含量 (HPLC) : 77.9%

純度 (HPLC) : 96.9%
ロット番号 2K08045 (CERTIFICATE OF ANALYSIS, Certificate Nos.: 861007-1) :
性状 : 白色の粉末
ペプチド含量 (HPLC) : 86.2%
純度 (HPLC) : 98.2%

安定性 : 投与期間終了後の被験物質の安定性について、本試験で使用したロットと同一ロット、同一保存条件下で保存した被験物質を用いて測定した結果を入手し、確認する。

受領日 : 2011年3月1日、2011年3月4日及び2011年3月14日

入手日 : 2011年3月8日及び2011年4月12日

入手量 : 83.2 g [37 g (2011年3月8日入手分) 及び 46.2 g (2011年4月12日入手分)]

保存条件 : 冷凍、遮光

保存場所 : 被験物質保管所内冷凍室 (許容範囲 : -30~-10°C)

取扱い : マスク、キャップ、手袋及び保護眼鏡を着用する。

保存用被験物質 : 各ロットごとに約 1 g

【変更理由】

- I. 使用ロットを追加するため。

試験計画書変更書の作成

試験責任者 株式会社新日本科学 安全性研究所

楠元正吾 印 2011年 4月 8日
楠元 正吾

試験計画書

表題： AcPepA (MPS-390) のラットを用いる小核試験

試験番号： SBL861-008

試験責任者： 鳥越 直彦

株式会社新日本科学 安全性研究所

目 次

1. 表題.....	4
2. 試験目的.....	4
3. 適用規則.....	4
4. 動物福祉.....	4
5. 試験委託者.....	4
6. 試験施設.....	4
7. 試験関係者.....	4
8. 試験日程.....	5
9. 被験物質及び対照物質（媒体）.....	5
9.1 被験物質.....	5
9.2 陰性対照物質.....	5
9.3 陽性対照物質.....	6
10. 投与液の調製.....	6
10.1 被験物質調製液.....	6
10.2 陰性対照調製液.....	7
10.3 陽性対照調製液.....	7
11. 被験物質及び対照物質の投与.....	7
11.1 被験物質及び陰性対照物質.....	7
11.2 陽性対照物質.....	7
12. 試験系.....	8
13. 飼育条件.....	8
14. 動物の識別法.....	9
15. 検疫馴化.....	9
16. 動物の群分け.....	10
17. 小核試験.....	10
17.1 試験群構成.....	10
17.2 投与量及び骨髄採取時期設定の根拠.....	10
17.3 観察及び検査項目.....	11
17.3.1 一般状態.....	11
17.3.2 体重.....	11
17.4 骨髄採取及び骨髄塗抹標本の作製.....	11
17.5 評価に用いる動物数.....	12
17.6 骨髄塗抹標本の観察.....	12
18. 統計学的手法.....	12
19. 文献.....	12

20. 結果の判定.....	13
20.1 試験成立.....	13
20.2 試験結果の判定.....	13
21. 結果の表示.....	13
22. 試験成績の報告.....	13
23. 記録及び資料の保存.....	14
24. 試験計画書の変更.....	14
25. 試験計画書の作成及び承認.....	15

別添 A

調製液中の AcPepA (MPS-390) 濃度測定方法.....	総ページ 3 枚
------------------------------------	----------

1. 表題

AcPepA (MPS-390) のラットを用いる小核試験

2. 試験目的

ラットを用いて、AcPepA (MPS-390) の生体内での染色体異常に起因する小核誘発性の有無を評価する。

3. 適用規則

本試験は、以下の GLP を遵守し、ガイドラインに準拠して実施する。

・厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成 9 年 3 月 26 日、一部改正 厚生労働省令第 114 号 平成 20 年 6 月 13 日）

・「医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて」(平成 11 年 11 月 1 日医薬審第 1604 号 厚生省医薬安全局審査管理課長)

4. 動物福祉

本試験は、株式会社新日本科学 安全性研究所の動物実験委員会により承認されており（承認番号 IACUC861-008），当研究所の動物実験規程に従って実施する。

5. 試験委託者

医療法人さわらび会福祉村病院 長寿医学研究所

〒411-8124 愛知県豊橋市野依町山中 19-14

TEL : 0532-46-7511

FAX : 0532-46-8940

委託担当者 :

岡田 秀親

e-mail : hideokada@chojuken.net

6. 試験施設

株式会社新日本科学 安全性研究所

〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438 番地

TEL : 099-294-2600

FAX : 099-294-3619

7. 試験関係者

試験責任者 : 鳥越 直彦

被験物質取扱い責任者 : 真鍋 ひろ子

分析責任者 (被験物質) : 山田 聡美

統計解析責任者 : 古賀 正

8. 試験日程

被験物質投与日を投与1日目（Day 1）と起算する。

試験開始日： 2011年4月4日
 検疫馴化開始日： 2011年4月5日
 検疫馴化終了日／群分け日： 2011年4月11日
 投与日： 2011年4月12日，13日
 骨髄採取日： 2011年4月13日，14日
 標本観察終了日： 2011年5月13日
 最終報告書草案作成日： 2011年6月14日
 最終報告書作成日／試験終了日： 2011年7月14日

9. 被験物質及び対照物質（媒体）

（SOP：TSB/002，TSB/004）

9.1 被験物質

名称： AcPepA（MPS-390）
 提供者： 医療法人さわらび会福祉村病院 長寿医学研究所
 ロット番号： 2K09030
 特性（CERTIFICATE OF ANALYSIS, Certificate No.: 861003-1）
 性状： 白色の粉末
 ペプチド含量（HPLC）： 77.9%
 純度（HPLC）： 96.9%
 安定性： 投与期間終了後の被験物質の安定性について，本試験で使用したロットと同一ロット，同一保存条件下で保存した被験物質を用いて測定した結果を入手し，確認する。
 受領日： 2011年3月14日
 入手日： 2011年4月5日
 入手量： 1.8 g
 保存条件： 冷凍，遮光
 保存場所： 被験物質保管所内冷凍室（許容範囲：-30～-10℃）
 取扱い： マスク，キャップ，手袋及び保護眼鏡を着用する。
 残余被験物質： すべて被験物質管理責任者に移管する。

9.2 陰性対照物質

名称： 生理食塩液
 製造者： 株式会社大塚製薬工場
 保存条件： 室温
 保存場所： 被験物質保管所内常温室（許容範囲：15～25℃）

選択理由： 被験物質は生理食塩液中で4 mg/mLまでの安定性が確認されているため。また、生理食塩液は、本試験の媒体として汎用されているため。

9.3 陽性対照物質

名称： Cyclophosphamide monohydrate (CP)
 製造者： Sigma-Aldrich Co.
 含量： 97.0～103.0%
 保存条件： 冷蔵
 保存場所： 被験物質保管所内冷蔵室毒劇物保管庫（許容範囲：2～8℃）
 取扱い： 防塵マスク、キャップ、手袋、保護眼鏡及びディスポーザブル保護衣を着用し、HEPAフード内で取り扱う。
 選択理由： 「医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて」に例示されているため。

10. 投与液の調製

(SOP : MUT/004, TSB/004)

10.1 被験物質調製液

調製濃度： 1, 2 及び 4 mg/mL
 換算係数： なし
 調製方法： 被験物質を秤量し、生理食塩液に溶解して1, 2 及び 4 mg/mL 溶液をそれぞれ調製する。調製後、ろ過滅菌（Stericup-GV あるいは Millex-GV, 日本ミリポア株式会社）する。
 安定性： 0.5 及び 4 mg/mL 調製液について、別途実施される GLP 試験（AcPepA (MPS-390) のカニクイザルにおける4週間反復静脈内投与毒性試験及び4週間回復性試験, SBL861-006) において冷蔵, 遮光, 気密条件下で2日間+室温, 遮光条件下で24時間安定であることが確認されている。（CERTIFICATE OF ANALYSIS, Certificate No.: 861006-1）
 調製頻度： 1回
 安定性の確認された範囲内で調製及び使用する。
 保存条件： 冷蔵, 遮光, 密封
 保存場所： 被験物質保管所内冷蔵室（許容範囲：2～8℃）
 濃度の確認： 投与に使用する調製液について HPLC 法にて確認する。適合範囲は、目標濃度±5.0%以内とする。方法の詳細については別添 A に記載する。