

FDAガイドラインとEMA(Draft)ガイドラインの比較

試験デザイン：

動物種，投与経路，投与期間，エンドポイントなど両者同様。

用量設定：

FDA GUIDANCE

- ▶用量－反応関係がみられるように，高用量は毒性がみられる量，低用量は毒性がほとんど認められない量（既存データで検討されていない成長・発達への影響の評価するため）

EMA GUIDELINE (Draft)

- ▶高用量は明らかな毒性を生じない量，低用量では臨床曝露に近い量に設定し，成熟動物試験と共通の用量を含める。（成熟動物との薬物に対する反応性の違いや生後に発達する器官への影響を明らかにするため）

まとめ

- ・申請資料調査：小児適応医薬品（31品目）のうち，18剤で幼若動物試験が実施されていた。多くはラット・イヌを用いた単回・反復投与試験であり，幼若動物用にデザインされた試験ではなく，成熟動物での毒性試験を幼若動物で実施した，との印象であった。
- ・アンケート：36社からの回答を得た。幼若動物において毒性が強い，あるいは特徴的な毒性が検出されたとの報告があったことから，幼若動物試験の有用性が確認された。今後，実施する幼若動物試験デザインは個々の薬物の性質，臨床での使用条件に対応する必要があり，指針となる日本版ガイドラインを求める声が多かった。
- ・ガイドライン検討：FDAとEMAで試験の目的が異なり，それに伴い用量設定に相違があることが判明した。

以上，幼若動物試験の有用性は確認されているものの，具体的試験方法は未だ模索状態にあり，方向性が示されることが望まれていると考えられた。

幼若動物試験Workshop について

第一三共株式会社
安全性研究所
下村 和裕

ワークショップ: 幼若動物試験の価値

主催者: ILSI-HESI 生殖発生毒性技術委員会

開催日: 2010年5月5-6日 ←2003にもWS

場 所: ワシントンD.C.

参加者: 121人

US行政; FDA32人、EPA2人、NICHD3人

EU行政; 8人

企業; ファイザー(5)、サノフィ、AZ、J&J、GSK、
ノバルティス、BMS、BI、メルク、アムジェン、
リリー、バイエル、ロシュ、ノボ、
武田、アステラス、第一三共

CRO; WIL、コバンス、MPI、チャールスリバー

ワークショップ内容 1/2

第1日午前

9:15 - 9:45	小児臨床における展望
9:45 - 10:15	EU行政における展望
10:15 - 10:45	日本の行政および産業界における展望
11:00 - 11:30	FDA行政における展望
11:30 - 12:15	産業界における展望 -グローバルでの開発-

第1日午後

1:30 - 1:45	幼若動物試験の試験デザインのおさらい
1:45 - 2:15	ケーススタディ ウォームアップ
2:15 - 2:30	セッション1 イントロダクション
2:30 - 5:00	セッション1 ケーススタディ1のレビュー
5:00 - 6:00	セッション1 各グループからの発表

3

ワークショップ内容 2/2

第2日午前

8:00 - 9:00	ILSI-HESIアンケート報告
9:00 - 9:15	セッション2 イントロダクション
9:15 - 10:45	セッション2 ケーススタディ2のレビュー
11:00 - 12:00	セッション2 各グループからの発表

第2日午後

1:15 - 2:45	ラポーターによるまとめ
3:15 - 5:00	ディスカッション

4

小児臨床における展望

—臨床からの非臨床試験に対する意見—

Dr. Klaus Rose (Granzer Regulatory Consulting)

- 小児臨床試験への幼若試験結果の有用性・予見性
- 小児臨床試験が出来ないような毒性の具体例と必要となる幼若動物試験データ
- 幼若動物試験結果の小児臨床試験へのエントリー、評価項目ならびにラベルへの影響
- 小児の年代区分ごとの特別な注意
- リスク ⇄ ベネフィット

5

EU行政における展望

Dr. Jacqueline CARLEER

(EMA: Chair of the PDCO Non-clinical Working Group)

- **PIP**について
- **EMEA**幼若動物毒性試験法ガイドラインについて
- **ICH M3 (R2)** ガイドラインにおける幼若動物試験の実施時期について
- 幼若で感受性高い:9/39、新規毒性:4/39、小児臨床試験へ反映20%、ラベルへ反映30% (Bailey GP, 2009)
- **Are we on the right track? More data needed**

5

日本の行政および産業界 における展望

下村和裕(第一三共)

- 日本においても幼若動物試験は多くの学会・研究会で取り上げられている。
- 実際の幼若動物試験は試行錯誤で行われている。
- 日本にはガイドラインは無く、制定が望まれている。
(製薬協版ガイドライン案はある)
- 行政からは具体的な方針は示されていない。
- 日米欧の3極の協調が重要である。

7

FDA行政における展望

Melissa S Tassinari, PhD DABT
(CDER, US Food and Drug Administration)

- 幼若動物試験結果がラベルへ反映されたケース
- 医薬品開発における行政の判断に情報提供できたケース
- 全く有益な情報が得られなかったケース
- 幼若動物試験の目的: 新規毒性、毒性の増強
- 2種動物の必要性⇒更なる解析が必要
- Conclusion; Expect to see more studies

8

産業界における展望

ー グローバルでの開発 ー

Dr. Shaun Maguire (GSK R&D, UK)

- ・ 欧と米で別々のアプローチ PIP ⇔ EOP2 meeting
- ・ EMA/PDCOとFDAで異なる内容のコメント
- ・ CHMP vs PDCO vs FDA
- ・ 産業界と行政の緊密な協力
- ・ 欧米行政の緊密な協力

9

ケーススタディ

- ・ 開発の(ほぼ)完了したCNS、代謝、感染症、泌尿器領域の4製品について
- ・ 開発の初期段階の免疫、がん、CNS、痛み領域の4製品について
- ・ トキシコロジスト、行政、親として考える
- ・ 8チーム(各12人)、産業界、行政、CRO
- ・ 質問表についてディスカッションさせる

10

質問表(トキシコロジスト、行政)

- ・ 小児用医薬品開発におけるこの非臨床パッケージの強み、弱みはなにか？
- ・ 幼若動物試験結果／すでに存在していた臨床試験結果は小児のリスクアセスメントにどのように貢献したか？
- ・ 幼若動物試験のどの情報をラベルに反映させるべきか？
- ・ より少ない非臨床試験でも評価可能ではなかったか？(幼若動物試験、2種)

11

幼若動物試験の欧米の動向

- ・ FDAおよびEMAガイドラインでは必要な時に必要な試験デザインで幼若動物試験を実施する とある。
- ・ 幼若動物試験の価値については疑問も出されており、未確定の状態である。
- ・ 評価方法が確立されていない。
- ・ 欧米での協調はされていない。
- ・ 欧米当局はより多くのデータを収集して、幼若動物試験の価値を見極めたい。
- ・ ガイドラインポリシーより厚めの要請？

12

まとめ

- ・ 幼若動物試験は未だ確立されていない。
- ・ サイエンスをもとにしたディスカッション。
- ・ 今後三極での協調が必要。

13

ガイドライン案作成参考資料

幼若動物毒性試験について

—製薬協 TF14 まとめ—

2007年8月16日最終版

目次

1. 緒言

- ・はじめに
- ・目的
- ・背景
- ・適用範囲

2. 試験の必要性の検討

- ・検討の際に考慮すべき点
- ・幼若動物毒性試験を実施すべき場合
- ・幼若動物毒性試験の実施が不要な場合

3. 試験計画

- ・試験の目的
- ・計画の際の注意事項
- ・試験の種類
- ・動物（種、性別、数、群分け）
- ・投与（経路、用量、開始時期、期間）
- ・検査（項目、時期、回復性）
- ・トキシコキネティクス

4. 試験実施時期

5. 試験結果の利用

6. 文献

別添 試験デザイン例

1. 緒言

・はじめに

日本製薬工業協会（製薬協）の基礎研究部会タスクフォース（TF）14では政策提言を目標として、2005年4月から2年間、1) 申請資料調査、2) アンケート、3) FDA および EMEA ガイダンス翻訳比較の3つのテーマを中心として、小児適応医薬品のための非臨床試験の検討を行ってきた。幼若動物毒性試験に関する指針は欧米では公表^{1, 2, 3, 4)}されているが、日本においては未だ策定されていない。アンケート結果から、製薬協加盟の各社は日本においても指針を望んでいることが判明した。そこで、TF14では幼若動物毒性試験を実施する際に、参考となるようにこの資料を作成した。

・目的

この資料の目的は小児適応医薬品のための幼若動物を用いた毒性試験の必要性の検討、実施する場合の試験計画、実施時期および試験結果の利用について推奨される考え方を示すことである。なお、幼若動物毒性試験の実施に際しては、FDA ガイダンス²⁾および EMEA ドラフトガイドライン⁴⁾からも有用な情報が得られる。

・背景

これまで、医薬品は小児にも多く用いられてきたが、成人による臨床試験および成熟動物による非臨床試験のみで有効性・安全性が担保されている場合が多かった。小児は薬物動態が成人と異なり、器官および機能が発達途上にあることから薬物の影響を受けやすい場合がある。医薬品の種類・用量によっては小児では有効性が無いばかりか、危険が生じる場合がある^{5, 6)}。そこで近年、小児における適応外使用の問題解決と小児治験が推進されるようになった⁷⁾。幼若動物毒性試験は、成熟動物と比較した場合の毒性発現の強弱、成熟動物にはみられない幼若動物に特徴的な毒性の有無を調べることができる評価系として価値がある。幼若動物毒性試験は適応外使用および小児治験の危険性の最小化に寄与するものとして、その重要性が高まっている。

・適用範囲

この資料は新規または既存の医薬品を原則として12才未満の小児に適応する場合に適用する。12才以上への適応の場合は、通常毒性試験データ（ラット反復投与試験では6～7週齢投与開始）で安全性評価が可能な場合がある。なお、医薬品の種類によっては、小児適応の予定がなくても適応外使用が行われる可能性を考慮して、この資料の適用を検討すべきである。

2. 試験の必要性の検討

・検討の際に考慮すべき点

幼若動物毒性試験の実施を検討する場合は、成人における臨床試験および市販後調査の成績、海外での小児使用実績、適応外使用の情報、適応する小児の年齢、適応小児と幼若動物の比較（毒性標的、器官・機能発達、動態の相違）、通常の動物毒性試験パッケージの内容（反復投与毒性試験および生殖発生毒性試験の投与開始時週齢など）を考慮すべきである。

・幼若動物毒性試験を実施すべき場合

幼若動物毒性試験はスクリーニング試験および標的毒性試験の2種類に大別することができる。スクリーニング試験は成熟動物による非臨床試験および成人の臨床におけるデータが少なく、医薬品を小児に使用するための情報が十分に存在しない場合に、広範囲に未知の毒性を検出するための試験である。たとえば、少なくとも以下の場合には、スクリーニング試験を実施すべきである。

- ・ 類薬がなく、全く新規の薬効機序（first in class）の医薬品
- ・ 小児と成人を同時開発（小児適応のみを行う場合を含む）し、成人の市販後データが得られない場合
- ・ 通常の毒性試験パッケージ終了後すぐに小児治験を実施し、成人の治験データが得られない場合

標的毒性試験は、生後発達する器官・機能への影響を検討するための試験であり、その医薬品または類薬の成熟動物を用いた毒性試験、成人による臨床試験および市販後調査もしくは小児に対する適応外使用における成績から、神経、生殖器、骨格、肺、免疫、腎臓、心臓、薬物動態などへの副作用（毒性）が危惧される場合に実施すべきである。

たとえ、成人または成熟動物で明らかな毒性がみられていなくても、薬物動態の相違により、小児または幼若動物での曝露が増加する可能性があれば試験を実施することを考慮すべきである。

・幼若動物毒性試験の実施が不要な場合

適応外使用や類薬等により小児で安全性を示す臨床成績が十分存在する場合、または成熟動物を用いた毒性試験および成人における使用実績から小児における懸念が無い場合には、幼若動物毒性試験の実施は不要の場合も考えられる。また、器官の発達に影響を及ぼす可能性がある医薬品であっても、適応する小児の年齢によっては幼若動物毒性試験の実施が不要の場合も考えられる。たと

えば、肺の発達に影響を及ぼす可能性のある医薬品でも、その適応年齢が6才以上であれば、ヒトでの肺の発達は2才で終了している⁸⁾ことから、幼若動物毒性試験は不要と考えられる⁹⁾。

3. 試験計画

・試験の目的

幼若動物毒性試験の目的は、成長・発達に関連して幼若動物における毒性が成熟動物に比べて強く発現しないか、成熟動物にはみられない幼若動物に特徴的な毒性が発現しないかを確認することである。

・計画の際の注意事項

幼若動物試験を立案する際に、考慮すべき重要な点は小児への適応年齢（発達段階）である。同じ医薬品でもその適応年齢によって、実施すべき幼若動物毒性試験の内容は異なってくる。対象小児において発達過程にある器官（神経^{10, 11)}、生殖器^{12, 13)}、骨格¹⁴⁾、肺⁸⁾、免疫¹⁵⁾、腎臓¹⁶⁾、心臓¹⁷⁾、代謝系^{18, 19)}など）と、その時期を理解し、使用する実験動物においてヒトに相当する時期に投与および検査を行うべきである。投与期間は臨床における絶対日数よりも、器官の発達時期に対する曝露期間を基本として考えるべきである。また、発達中の器官への暴露の影響が、器官発達終了後に認められる可能性があることから、投与終了時の器官の評価だけでなく、休薬後の器官発達終了時の評価も重要である。器官および機能が未成熟な状態では、毒性が強く発現する可能性を考慮すべきである。また、幼若動物での実験は技術的に困難を伴うことが多く、試験の精度は実験技術レベルに大きく左右されることを考慮し、技術的に確実に遂行可能な計画を立案すべきである。

・試験の種類

広範囲に未知の毒性を検出するためのスクリーニング試験および特定の器官・機能への影響を検討するための標的毒性試験の2種類の試験は、それぞれ試験目的に合致した試験デザインを考慮する。

・動物（種、性別、数、群分け）

スクリーニング試験ではなるべく多くの非臨床データのある動物種・系統を選択すべきである。通常、1種の雌雄を用いることで評価可能である場合が多い。一般的にはラット雌雄を1回の剖検あたり各10匹以上を用意する。トキシコキネティクスでは1サンプリングポイントに雌雄各3～5匹を用意する。離乳前の動物の群分け方法は、動物間のコンタミネーションおよび同腹児効果につ

いて注意を払って決められるべきである。推奨される方法として、1 腹内の新生児を各群に割り付けた後、投与群別の母動物（里親）に哺育させる方法がある。

標的毒性試験では、一般的にはラットが用いられることが多いが、長期低暴露の影響の評価が必要な際には、動物種として器官の発達期間の短いラットより、イヌ、サルなどが適している場合も考えられる。なお、非げっ歯類の動物数は評価が可能な数（3 頭以上）とする。

いずれの試験においても、成熟動物による毒性試験に使用された動物種・系統を用いることにより、成熟動物と幼若動物の毒性比較が容易となる。また、中間屠殺や休薬後の観察群を設ける場合は、そのための必要数を追加する。

・投与（経路、用量、開始時期、期間）

投与経路は臨床適用経路とする。1 週齢未満のラットへの静脈内投与など技術的に困難な場合は、投与可能になるまでの間、キネティクスデータなどを参考にして代替経路（皮下投与など）を採用することは差し支えない。

投与量の選択には、幼若動物を用いた用量設定試験が有用である。用量段階は少なくとも 3 用量を設定し、高用量は幼若動物で軽度の毒性徴候がみられる用量もしくは成熟動物で毒性がみられている用量であることが望ましい。成熟動物との比較が暴露量も含め容易に行えるよう考慮して設定することも推奨される。用量設定試験で幼若動物において毒性の増強もしくは特異的な毒性がみられる可能性が予測された場合は、無毒性量が得られる用量を含めることが望ましい。

投与開始時期はラットのスクリーニング試験では投与可能な日齢からとする。ただし、4 才以上の適応の場合は、小児において生殖器および骨格系など一部の器官・機能を除き、生後発達する器官の発達がほぼ完了しているため、ラット試験では離乳直後（3 週齢）の投与開始が許容される場合もある。標的毒性試験では、標的となる器官・機能の発達時期に応じて、毒性検出に適した週齢を個別に選択すべきである。たとえば、腎臓の発達を標的とする場合は生後 3 週齢未満のラット¹⁴⁾、アミノ配糖体系抗菌薬の聴覚器毒性なら 1 週齢のラット²⁰⁾、キノロン系抗菌薬の関節毒性なら 3 ヶ月齢のイヌ²¹⁾などである。

投与期間はラットのスクリーニング試験では、ラットの成熟動物による毒性試験の投与開始時期（通常 6 週齢）までとする。標的毒性試験では標的器官の発達期間を通して、または毒性発現の臨界期に投与する。ただし、成熟動物による毒性試験結果を詳細に評価することにより、成熟動物による毒性試験の投与開始時期以降まで投与を継続しなければならない場合は限定されると考えられる。

・検査（項目、時期、回復性）

検査項目は幼若動物毒性試験が成長発達に及ぼす影響を検索することを目的としていることを考慮して選択するべきである。生後に成長発達する器官として神経、生殖器、骨格、肺、免疫、腎臓、心臓、代謝系などに注目すべきである。検査時期は発達遅延の程度およびそのキャッチアップの時期について情報が得られるように、投与期間および器官の発達期間を考慮して設定する。スクリーニング試験では、反復投与毒性試験および出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の検査項目および検査時期が参考にされるべきである。骨格の発達に及ぼす影響の評価としては、頭殿長より脛骨長の方が高い精度の結果が得られると考えられる。標的毒性試験では、必ずしも広範な検査項目が求められるわけではない。少なくとも一般状態および体重とともに、標的毒性検出に特化した検査項目が選ばれるべきであり、標的毒性が発現する場合はその可逆性の検討も考慮する。

・トキシコキネティクス

幼若動物と成熟動物とで曝露の相違があるかを確認するために、幼若動物毒性試験においてトキシコキネティクスは実施すべきである。成熟動物でプロファイリングのデータが存在すれば、幼若動物ではモニタリングで十分である。サンプリングポイントは成熟動物との比較を容易にするため、成熟動物におけるサンプリングポイントを参考にするが、毒性発現が C_{max} に依存することが明らかでない場合には、 C_{max} の時点および C_{max} 以前に、AUC 依存の場合は C_{max} 以降にポイントを設けることを考慮すべきである。また、単回投与 24 時間後の値を確認することにより、反復投与後のデータまでは必要ない場合もある。異なった週齢における単回投与後のモニタリングデータは成熟動物との間に曝露の相違がある場合、その期間を特定するのに有用である。ラット試験では通常サテライト群の動物を使用することになる。生後まもないラット新生児など、必要に応じてプールしたサンプルを用いても差し支えない。標的毒性試験では標的器官におけるトキシコキネティクスが重要となる場合もある。

4. 試験実施時期

幼若動物毒性試験は一律にすべての医薬品に対して要求されるものではない。しかし、小児臨床試験開始前には、試験実施の必要性について判断すべきである。試験を必要と判断した場合は、小児臨床試験の開始前に幼若動物毒性試験の評価を完了しておくべきである。また、幼若動物毒性試験開始時に、成熟動物による短期の反復投与毒性試験の結果が利用できることが望ましい。

5. 試験結果の利用

幼若動物毒性試験の結果は、毒性の質および程度、毒性変化の可逆性、バイオマーカーの存在、リスク・ベネフィットなどが総合的に判断され、以後の小児用医薬品開発に活用されるであろう。たとえば、小児臨床試験実施の可否や試験のデザインに影響するであろうことが考えられる。承認申請時には、試験の概要は承認申請資料（CTD）に記載され、行政当局の評価が行われ、承認されれば、添付文書あるいはインタビューフォームへの記載または市販後調査の調査項目の選択に関連することも考えられる。

6. 文献

- 1) United States Food and Drug Administration. 2003. Guidance for Industry: Nonclinical Safety Evaluation of Pediatric Drug Products, Draft Guidance.
- 2) United States Food and Drug Administration. 2006. Guidance for Industry: Nonclinical Safety Evaluation of Pediatric Drug Products.
- 3) European Medicines Agency. 2001. Guideline on the Need for Preclinical Testing of Human Pharmaceuticals in Juvenile Animals, Concept Paper.
- 4) European Medicines Agency. 2005. Guideline on the Need for Non-clinical Testing in Juvenile Animals on Human Pharmaceuticals for Paediatric Indications, Draft.
- 5) Dreifuss FE et al. 1987. Valproic Acid Hepatic Fatalities: A Retrospective Review. *Neurology* 37: 379-385.
- 6) Kapusnik-Uner JE et al. 1996. Antimicrobial Agents, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed., Ed. JG Hardman, LE Limbird, PB Molinoff, RW Ruddon, and AG Gilman, McGraw-Hill, New York, p. 1124-1153.
- 7) 厚生省医薬安全局審査管理課長通知「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスについて」（平成12年12月15日、医薬審第1334号）
- 8) Zoetis T et al. 2003. Species Comparison of Lung Development. *Birth Defects Research (part B)* 68:121-124.
- 9) Hurtt ME et al. Juvenile Animal Studies: Testing Strategies and Design. 2004. *Birth Defects Research (Part B)* 71:281-288.
- 10) Wood SL et al. 2003. Species Comparison of Postnatal CNS Development: Functional Measures. *Birth Defects Research (Part B)* 68:391-407.
- 11) Rice D et al. 2000. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Human and Animal Models. *Environmental Health*

Perspectives 108:511-533.

- 12) Marty MS et al. 2003. Development and Maturation of the Male Reproductive System. *Birth Defects Research (part B)* 68:125-136.
- 13) Beckman DA et al. 2003. Landmarks in the Development of the Female Reproductive System. *Birth Defects Research (part B)* 68:137-143.
- 14) Zoetis T et al. 2003. Species Comparison of Postnatal Bone Growth and Development. *Birth Defects Research (part B)* 68:86-110.
- 15) Holsapple MP. 2003. Species Comparison of Anatomical and Functional Immune System Development. *Birth Defects Research (part B)* 68:321-334.
- 16) Zoetis T et al. 2003. Species Comparison of Anatomical and Functional Renal Development. *Birth Defects Research (part B)* 68:111-120.
- 17) Hew KW et al. 2003. Postnatal Anatomical and Functional Development of the Heart: A Species Comparison. *Birth Defects Research (part B)* 68:309-320.
- 18) Kearns GL et al. 1989. Clinical Pharmacokinetics in Infants and Children. A Reappraisal. *Clin Pharmacokinet* 17:29-67.
- 19) Leeder JS et al. 1997. Pharmacogenetics in Pediatrics: Implications for Practice, New Frontiers in Pediatric Drug Therapy. *Pediatric Clinics of North America* 44:55-77.
- 20) Lenoir M et al. 1983. Comparative ototoxicity of four aminoglycosidic antibiotics during the critical period of cochlear development in the rat. A functional and structural study. *Acta Otolaryngol Suppl* 405:1-16.
- 21) Takayama S et al. 1995. Toxicity of quinolone antimicrobial agents. *J Toxicol Environ Health* 45:1-45.

別添 試験デザイン例

以下のデザインは一般的に考えられる例を示しており、薬効および適応年齢が異なる医薬品に対して一律に求められるものではない。また、技術的に確実に実施できるデザインを考慮すべきである。

スクリーニング試験：非臨床および臨床試験のデータが不十分である場合に、広範囲に毒性の有無を検討する試験。

動物：ラット、SD系、雌雄、生後1日齢（小児適用4才以上は3週齢）、雌雄各20匹、TK用雌雄各30匹。なお、出生日を生後0日とする。離乳前の哺育児は1腹、雄4、雌4の8匹程度に投与開始前に調整することが望ましい。

投与：生後1日（小児適応4才以上は3週齢）から6週齢まで、1日1回、臨床適用経路

群構成：対照、低用量、中用量、高用量

観察：

一般状態；	少なくとも1日1回
体重；	少なくとも週2回
摂餌量；	少なくとも週1回（離乳後）
摂水量；	必要に応じて測定（離乳後）
身体発達；	耳介展開（4日）、毛生（11日）、切歯萌出（12日）、開眼（14日）
反射；	面正向反射（7日）、空中落下正向反射（21日）
感覚機能；	視覚（5週齢）、聴覚（5週齢）
行動；	運動機能（6週齢）、学習および記憶（6週齢）
性成熟；	陰茎亀頭と包皮の分離（42日）、膣開口（35日）
受胎能；	精子検査（13週齢）、性周期（12週齢）
機能検査；	腎機能などの検査を実施
尿検査；	少なくとも投与期間中1回、（6週齢）
血液検査；	剖検時（2回）
剖検；	投与終了翌日（7週齢）および器官発達終了時（13週齢）に各半数例を剖検して肉眼観察、器官重量測定、脛骨長、

病理組織学的検査

TK ;

1 週齢で単回投与 1、4 および 24 時間後、3 週齢で単回
投与 1、4 および 24 時間後、各時点 5 例