

6.5.6.3 分析

株式会社三菱化学アナリテックで水質検査を定期的（2回/年）に実施し、その分析値が試験施設の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

6.6 群構成

6.6.1 第1回

群	被験物質	投与用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg/日)	投与液 濃度 (mg/mL)	動物数（動物番号）	
					雄	雌
1	P092	2000	10	200	1 (10101)	1 (50101)

6.6.2 第2回

群	被験物質	投与用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg/日)	投与液 濃度 (mg/mL)	動物数（動物番号）	
					雄	雌
2	P092	1000	10	100	1 (10201)	1 (50201)

6.6.3 第3回

群	被験物質	投与用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg/日)	投与液 濃度 (mg/mL)	動物数（動物番号）	
					雄	雌
3	P092	500	10	50	1 (10301)	1 (50301)
4	P092	100	10	10	1 (10401)	1 (50401)

6.7 投与

6.7.1 投与経路

経口投与

6.7.2 投与経路の選択理由

予定臨床適用経路に準じた。

6.7.3 投与方法の選択理由

ラットに経口投与する方法として一般的に用いられており、被験物質を正確に投与できる。

6.7.4 投与液量

10 mL/kg

各個体の投与液量は、投与日に測定した体重に基づいて算出した。

6.7.5 投与回数・期間

単回

6.7.6 投与方法

ディスポーザブルシリンジ及び経口ゾンデを用い、強制的に胃内に経口投与した。なお、投与時には投与液をスターラーで十分に攪拌した。

6.8 観察・検査項目

全生存動物について、下記の項目を検査した。

6.8.1 一般状態

全生存動物の生死、外観、行動及び排泄物等の異常の有無及び程度を観察した。観察頻度及び時刻を以下に示した。

投与日： 1日4回（投与前、投与後約30分、2時間及び6時間）

第2～7日： 1日1回（午前中）

6.8.2 体重

全生存動物について、電子天秤（UX-4200H、島津製作所株式会社又はPB3002-S、メトラール・トレド株式会社）を用いて、以下の日程に測定した。

投与期間：投与日（第1日）～第7日

瀕死動物及び死亡動物については、解剖前に体重を測定した。

6.8.3 病理解剖検査

瀕死期解剖動物は、チオペンタールナトリウム（ラボナール[®]、田辺三菱製薬株式会社）の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血して安楽死させた後に剖検した。死亡動物は発見後速やかに剖検した。なお、生存動物は、第7日に瀕死期解剖動物と同様に腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後に剖検した。

7. 結果

7.1 死亡・瀕死

結果を Table 1 及び Appendix 1 に示す。

死亡又は瀕死が 2000 mg/kg/day の雄で第 2 日, 雌で第 3 日, 1000 mg/kg/day の雄で第 3 日, 雌で第 5 日, 500 mg/kg/day の雄で第 4 日に認められた。

7.2 一般状態

結果を Table 1 及び Appendix 1 に示す。

死亡又は瀕死動物の一般状態では, 下痢が第 2 日～第 5 日に認められた。2000 mg/kg/day の雄では流涙及び不整呼吸が第 2 日に, 500 mg/kg/day の雄及び 1000 mg/kg/day の雌では鼻の周囲の汚れ及び肛門周囲の汚れが第 3～5 日に認められた。

生存動物では, 下痢が 500 mg/kg/day 群の雌で第 4 日に認められた。100 mg/kg/day 群の雌雄では被験物質投与による異常は認められなかった。

7.3 体重

結果を Table 2 に示す。

体重の減少が死亡又は瀕死動物で第 2 日以降に認められた。

生存動物では, 100 mg/kg/day 群の雌雄及び 500 mg/kg/day 群の雌で第 2 日以降に体重の減少又は増加抑制が認められた。

7.4 病理解剖検査

結果を Table 3 に示す。

被験物質に起因すると思われる変化が, 消化管 (胃～結腸), 胸腺, 副腎, 脾臓で認められた。消化管の拡張が 500 mg/kg/day の雄及び 1000 mg/kg/day 以上の雌雄で認められた。更に, 前胃の白色斑が 500 及び 1000 mg/kg/day の雌で認められた。また, 胸腺の小型化及び副腎の腫大が 500 mg/kg/day の雄及び 1000 mg/kg/day の雌, 脾臓の小型化が 1000 mg/kg/day の雌で認められた。

8. 考察

P092 をラット (Cri: CD (SD), 雌雄各 1 匹/群) に, 100, 500, 1000 及び 2000 mg/kg/day の用量で, 単回経口投与し, 現れる毒性変化を確認した。

その結果, 死亡又は瀕死が 2000 mg/kg/day の雄で第 2 日, 雌で第 3 日, 1000 mg/kg/day の雄で第 3 日, 雌で第 5 日, 500 mg/kg/day の雄で第 4 日に認められた。

死亡又は瀕死動物では, 下痢, 流涙, 不整呼吸, 鼻の周囲の汚れ及び肛門周囲の汚れ, 体重の減少が認められた。病理解剖検査では消化管 (胃～結腸) の拡張, 胸腺の小型化, 副腎の腫大, 脾臓の小型化及び前胃の白色斑が認められた。

生存動物においても体重の減少又は増加抑制が認められ, 500 mg/kg/day の雌では下痢, 病理解剖検査では前胃の白色斑が認められた。

以上の結果から, 500 mg/kg/day と 100 mg/kg/day の中間付近の用量が反復投与する際の高用量として適切であると判断した。2 週間反復投与試験では, 高用量を 250 mg/kg/day とし, 公比約 4 で 80 及び 20 mg/kg/day を設定する。

9. 特記事項

9.1 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態
なし

9.2 試験計画書に従わなかったこと

実験終了後の被験物質は、全て試験委託者に返却することになっていたが、他試験に使用する可能性があることから、全て試験施設の被験物質管理責任者に移管した。しかし、実験は終了しており、試験の信頼性に影響はないものと判断した。

Table 1 Clinical Sign - Summary

Male

Test Article Dose	Findings	Day Time	1		2		3	4	5	6	7
			10	20	30	40	am	am	am	am	am
P092 2000 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1				
	No Abnormality		1	1	1	1					
	Diarrhea						+				
	Lacrimation						1				
	Irregular respiration						+				
	Death						+				
P092 1000 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1				
	No Abnormality		1	1	1	1					
	Diarrhea						+				
	Death							+			
P092 500 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1	1			
	No Abnormality		1	1	1	1					
	Diarrhea							+			
	Smudge for perinasal area							+	+		
	Soiled perineal region						+	+	+		
	Moribundity								+		
P092 100 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1	1	1	1	1
	No Abnormality		1	1	1	1	1	1	1	1	1

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;

Table 1 Clinical Sign - Summary

Female

Test Article	Findings	Day Time	1		2		3	4	5	6	7
			10	20	30	40	am	am	am	am	am
P092 2000 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1	1			
	No Abnormality		1	1	1	1					
	Diarrhea						+				
	Death							+			
P092 1000 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1	1	1	1	
	No Abnormality		1	1	1	1					
	Diarrhea						+	+	+	+	
	Smudge for perinasal area									+	
	Soiled perineal region									+	
	Moribundity									+	
P092 500 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1	1	1	1	1
	No Abnormality		1	1	1	1	1	1		1	1
	Diarrhea								+		
P092 100 mg/kg/day	Number of Animals		1	1	1	1	1	1	1	1	1
	No Abnormality		1	1	1	1	1	1	1	1	1

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;

Table 2 Body Weight

Male

Unit : g

Test Article Dose	Animal Number	Day	1	2	3	4	5	6	7
P092 2000 mg/kg/day	10101		231	203					
P092 1000 mg/kg/day	10201		244	215	210				
P092 500 mg/kg/day	10301		309	281	245	236			
P092 100 mg/kg/day	10401		314	305	311	325	326	337	343

Table 2 Body Weight

Female

Unit : g

Test Article Dose	Animal Number	Day	1	2	3	4	5	6	7
P092 2000 mg/kg/day	50101		162	139					
P092 1000 mg/kg/day	50201		155	143	138	125	118		
P092 500 mg/kg/day	50301		192	177	165	165	163	179	190
P092 100 mg/kg/day	50401		200	196	211	205	206	209	213

Table 3 Necropsy Findings - Summary

		Scheduled sacrifice (Day 7)		
	Sex	Male	Female	
	Test Article	P092	P092	P092
	Dose	100	100	500
Organ	Dose Unit	mg/kg/day	mg/kg/day	mg/kg/day
Findings	Number of Animals	1	1	1
	Number of Animals Examined	<1>	<1>	<1>
Stomach				
	Whitish patch, forestomach, mucosa	0	0	1

Table 3 Necropsy Findings - Summary

Death or Moribund sacrifice

Organ	Sex	Male			Female	
	Test Article	P092	P092	P092	P092	P092
Findings	Dose	500	1000	2000	1000	2000
	Dose Unit	mg/kg/day	mg/kg/day	mg/kg/day	mg/kg/day	mg/kg/day
	Number of Animals	1	1	1	1	1
	Number of Animals Examined	<1>	<1>	<1>	<1>	<1>
Thymus						
Small		1	0	0	1	0
Spleen						
Small		0	0	0	1	0
Stomach						
Dilatation		0	1	1	0	1
Whitish patch, forestomach, mucosa		0	0	0	1	0
Small intestine, duodenum						
Dilatation		1	1	1	0	1
Small intestine, jejunum						
Dilatation		1	1	1	1	1
Small intestine, ileum						
Dilatation		1	1	1	1	1
Large intestine, cecum						
Dilatation		1	1	1	1	0
Large intestine, colon						
Dilatation		1	1	1	1	0
Large intestine, rectum						
Dilatation		1	0	0	0	0

Table 3 Necropsy Findings - Summary

Death or Moribund sacrifice

Organ	Sex	Male			Female	
	Test Article	P092	P092	P092	P092	P092
Findings	Dose	500	1000	2000	1000	2000
	Dose Unit	mg/kg/day	mg/kg/day	mg/kg/day	mg/kg/day	mg/kg/day
	Number of Animals	1	1	1	1	1
	Number of Animals Examined	<1>	<1>	<1>	<1>	<1>
Adrenal						
Enlargement		1	0	0	1	0

Appendix 1 - 1 Clinical Sign P092 2000 mg/kg/day Male

Animal Number	Findings	Day Time	1				2
			10	20	30	40	am
10101	Diarrhea						+
	Lacrimation						1
	Irregular respiration						+
	Death						+

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;

Appendix 1 - 2 Clinical Sign P092 1000 mg/kg/day Male

Animal Number	Findings	Day	1	2	3			
		Time	10	20	30	40	am	am
10201	Diarrhea						+	
	Death							+

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;

Appendix 1 - 3 Clinical Sign P092 500 mg/kg/day Male

Animal Number	Findings	Day	1	2	3	4			
		Time	10	20	30	40	am	am	am
10301	Diarrhea								+
	Smudge for perinasal area								+ +
	Soiled perineal region						+	+	+
	Moribundity								+

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;

Appendix 1 - 4 Clinical Sign P092 100 mg/kg/day Male

Animal	Day	1	2	3	4	5	6	7				
Number	Findings	Time	10	20	30	40	am	am	am	am	am	am
10401	No Abnormality											

+ , Present; 1 , Slight; 2 , Moderate; 3 , Severe;

Time 10 , Before dosing; Time 20 , About 0.5 hours after dosing; Time 30 , About 2 hours after dosing; Time 40 , About 6 hours after dosing;

Appendix 1 - 5		Clinical Sign	P092	2000 mg/kg/day				Female	
Animal		Day	1				2	3	
Number	Findings	Time	10	20	30	40	am	am	
50101	Diarrhea						+		
	Death							+	

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing.

Appendix 1 - 6		Clinical Sign	P092	1000 mg/kg/day				Female			
Animal Number	Findings	Day	1				2	3	4	5	
		Time	10	20	30	40	am	am	am	am	
50201	Diarrhea						+	+	+	+	
	Smudge for perinasal area									+	
	Soiled perineal region									+	
	Moribundity									+	

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;

Appendix 1 - 7 Clinical Sign P092 500 mg/kg/day Female

Animal	Day	1	2	3	4	5	6	7				
Number	Findings	Time	10	20	30	40	am	am	am	am	am	am
50301	Diarrhea											+

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;

Appendix 1 - 8 Clinical Sign P092 100 mg/kg/day Female

Animal	Day	1	2	3	4	5	6	7			
Number	Findings	Time	10	20	30	40	am	am	am	am	am
50401	No Abnormality										

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time 10, Before dosing; Time 20, About 0.5 hours after dosing; Time 30, About 2 hours after dosing; Time 40, About 6 hours after dosing;