

資料 2 非臨床試験

8. ラットを用いる 4 週間反復経口投与毒性試験

B120720

本写しは原本と相違ありません
三菱化学メディエンス㈱ 鹿島研究所
2013年3月14日
試験責任者 中谷 豊 印

最終報告書

P092 のラットを用いる 4 週間反復経口投与毒性試験

(試験番号：B120720)

三菱化学メディエンス株式会社

1. 陳述書

表題：P092 のラットを用いる 4 週間反復経口投与毒性試験

試験番号：B120720

本試験は、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）に従って実施したものである。

試験責任者：

2013 年 3 月 14 日

中 舘 豊 

中舘 豊
三菱化学メディエンス株式会社
創薬支援事業本部 試験研究センター
安全性研究部

2. 目次

1. 陳述書.....	2
2. 目次.....	3
3. 試験実施概要.....	8
3.1 表題.....	8
3.2 試験番号.....	8
3.3 試験目的.....	8
3.4 適用ガイドライン.....	8
3.5 適用 GLP.....	8
3.6 試験委託者.....	8
3.7 試験受託者.....	8
3.8 試験施設.....	9
3.8.1 名称及び所在地.....	9
3.8.2 試験責任者.....	9
3.8.3 分担責任者.....	9
3.8.4 主な試験従事者.....	9
3.8.5 試験日程.....	10
3.8.6 保存.....	10
3.8.7 保存する資料.....	10
3.9 その他.....	10
4. 試験責任者署名.....	11
5. 要約.....	12
6. 材料及び方法.....	14
6.1 被験物質.....	14
6.1.1 名称.....	14
6.1.2 ロット番号.....	14
6.1.3 純度.....	14
6.1.4 性状.....	14
6.1.5 提供者.....	14
6.1.6 入手量.....	14
6.1.7 保存条件.....	14
6.1.8 取扱上の注意.....	14
6.1.9 安定性の確認.....	14
6.1.10 残余被験物質の処理.....	14
6.2 媒体.....	14
6.2.1 名称.....	14
6.2.2 試薬.....	15
6.2.3 媒体の調製法.....	15

6.2.4	保存条件.....	15
6.3	投与液.....	15
6.3.1	調製方法及び頻度.....	15
6.3.2	保管条件.....	15
6.3.3	安定性確認及び均一性確認.....	15
6.3.4	濃度及び均一性確認.....	16
6.4	投与液中の被験物質濃度分析方法.....	16
6.4.1	高速液体クロマトグラフ (HPLC) 操作条件.....	16
6.4.2	使用機器.....	16
6.4.3	標準溶液の調製.....	16
6.4.4	試料溶液の調製.....	17
6.4.5	HPLC 測定及び濃度算出.....	17
6.5	試験動物.....	17
6.5.1	動物種.....	17
6.5.2	系統.....	17
6.5.3	系統選択の理由.....	17
6.5.4	微生物レベル.....	17
6.5.5	供給源.....	18
6.5.6	購入時週齢.....	18
6.5.7	購入動物数及び性別.....	18
6.5.8	検疫・馴化.....	18
6.5.9	投与開始時週齢.....	18
6.5.10	投与開始時体重.....	18
6.5.11	群分け.....	18
6.5.12	動物の識別.....	19
6.5.13	余剰動物の取扱.....	19
6.6	飼育環境.....	19
6.6.1	飼育室.....	19
6.6.2	飼育環境.....	19
6.6.3	飼育器材.....	20
6.6.4	収容動物数.....	21
6.6.5	飼料.....	21
6.6.6	飲用水.....	21
6.7	群構成.....	22
6.7.1	主試験群.....	22
6.7.2	TK サテライト群.....	22
6.7.3	投与用量及びその設定理由.....	22
6.8	投与.....	23
6.8.1	投与経路.....	23

6.8.2	投与経路の選択理由	23
6.8.3	投与液量	23
6.8.4	投与回数・期間	23
6.8.5	投与回数の選択理由	23
6.8.6	投与方法	23
6.8.7	投与方法の選択理由	23
6.9	観察・検査項目	23
6.9.1	一般状態	23
6.9.2	体重	24
6.9.3	摂餌量	24
6.9.4	眼科学的検査	24
6.9.5	尿検査	24
6.9.6	血液学的検査	25
6.9.7	血液生化学的検査	26
6.9.8	病理学的検査	27
6.10	トキシコキネティクス (TK) 測定	28
6.10.1	採血及び TK 測定試料の採取	29
6.10.2	採血終了後動物の処理	29
6.10.3	血漿中 P092 濃度の測定方法	29
6.10.4	薬物動態パラメータの算出	35
6.10.5	残余 TK 測定試料の処理	35
6.11	統計学的解析	35
6.12	コンピュータシステムの使用	36
7.	結果	37
7.1	死亡・瀕死	37
7.2	一般状態	37
7.3	体重	37
7.4	摂餌量	37
7.5	眼科学的検査	37
7.6	尿検査	37
7.7	血液学的検査	38
7.8	血液生化学的検査	38
7.9	器官重量	39
7.10	病理解剖検査	39
7.11	病理組織学的検査	40
7.12	トキシコキネティクス (TK) 測定	44
8.	考察	45
9.	特記事項	47
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	47

9.2	試験計画書に従わなかったこと	47
-----	----------------------	----

List of Annexes

Annex 1	分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA2)	48
Annex 2	分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA8)	50
Annex 3	Certificate of Analysis (Certification No.: B120716-001).....	52
Annex 4	Certificate of Analysis (Certification No.: B120720-001).....	53
Annex 5	Certificate of Analysis (Certification No.: B120720-002).....	54

List of Figures

Figure 1	Mean Plasma Concentration Time Profiles of P092	55
Figure 2	Relationship between the dose and C_{max} or AUC_{0-24h} of P092.....	57

List of Tables

Table 1	Clinical Sign - Summary.....	59
Table 2	Body Weight - Summary.....	71
Table 3	Body Weight Gain - Summary	73
Table 4	Food Consumption - Summary	75
Table 5	Ophthalmic Examination - Summary	77
Table 6	Urinalysis - Summary	79
Table 7	Hematology - Summary	97
Table 8	Blood Chemistry - Summary	101
Table 9	Organ Weight - Summary	107
Table 10	Necropsy - Summary	113
Table 11	Histopathology - Summary	114
Table 12	Plasma Concentrations and Toxicokinetic Parameters.....	122

List of Appendices

Appendix 1	Clinical Sign.....	126
Appendix 2	Body Weight	186
Appendix 3	Body Weight Gain.....	194
Appendix 4	Food Consumption.....	202
Appendix 5	Ophthalmic Examination	210
Appendix 6	Urinalysis	218
Appendix 7	Hematology.....	234
Appendix 8	Blood Chemistry	250
Appendix 9	Organ Weight	274
Appendix 10	Pathological Findings.....	294
Appendix 11	Calibration standards on each analytical day	374

Appendix 12 Clinical Sign (TK satellite group)..... 375
Appendix 13 Body Weight (TK satellite group)..... 435
信頼性保証証明書..... 443

最終ページ : 443

3. 試験実施概要

3.1 表題

P092 のラットを用いる 4 週間反復経口投与毒性試験

3.2 試験番号

B120720

3.3 試験目的

P092 をラットに 4 週間反復経口投与し, 明らかな毒性変化を惹起する用量とその変化の内容, 及び毒性変化の認められない用量を求める. さらに, 投与後の P092 の血漿中濃度を測定し, 動物において得られた全身的暴露と用量及び時間経過との関係を検討する.

3.4 適用ガイドライン

医薬品の製造 (輸入) 承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて (薬審 1 第 24 号, 平成元年 9 月 11 日)

単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について (薬新薬第 88 号, 平成 5 年 8 月 10 日)

反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について (医薬審第 655 号, 平成 11 年 4 月 5 日)

トキシコキネティクス (毒性試験における全身的暴露の評価) に関するガイダンスについて (薬審第 443 号, 平成 8 年 7 月 2 日)

3.5 適用 GLP

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)

3.6 試験委託者

国立大学法人岐阜大学

〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1 番 1

委託責任者 桑田 一夫

TEL : 058-230-6143, FAX : 058-230-6144

3.7 試験受託者

三菱化学メディエンス株式会社

〒108-8559 東京都港区芝浦四丁目 2 番 8 号

3.8 試験施設

3.8.1 名称及び所在地

三菱化学メディエンス株式会社 鹿島研究所
〒314-0255 茨城県神栖市砂山 14 番地 1

3.8.2 試験責任者

中舘 豊
三菱化学メディエンス株式会社
創薬支援事業本部 試験研究センター 安全性研究部
TEL : 0479-46-7394, FAX : 0479-46-7505

3.8.3 分担責任者

投与液分析：紺野 邦裕
病理学的検査：隈部 志野
キシコキネティクス (TK) 測定：松元 さなえ

3.8.4 主な試験従事者

動物入荷，檢疫及び馴化：	相見 真紀
群分け，個体識別：	中舘 豊，相見 真紀
投与液の調製：	鈴木 芙美恵
投与液分析：	荻島 奈緒美
投与：	相見 真紀
一般状態観察：	相見 真紀
体重測定：	相見 真紀
摂餌量測定：	相見 真紀
眼科学的検査：	和田 聰
尿採取：	相見 真紀
尿検査：	梶 直子
採血（血液・血液生化学的検査）：	岩井 淳
血液学的検査：	梶 直子
血液生化学的検査：	作田 直道
麻酔：	岩井 淳
剖検：	隈部 志野
器官重量測定：	相見 真紀
病理組織標本作製：	森野 美佐子
病理組織学的検査：	隈部 志野
TK 採血：	大信 阿津子
TK 測定：	近藤 友香里

3.8.5 試験日程

試験開始：	2012年11月20日
動物入荷：	2012年11月21日
群分け：	2012年11月27日（雄） 2012年11月29日（雌）
投与開始	2012年11月28日（雄） 2012年11月30日（雌）
TK採血（初回投与时）：	2012年11月28, 29日（雄） 2012年11月30, 12月1日（雌）
TK採血（最終回投与时）：	2012年12月25, 26日（雄） 2012年12月27, 28日（雌）
投与期間終了後解剖：	2012年12月26日（雄） 2012年12月28日（雌）
試験終了：	本最終報告書への試験責任者署名日とする。

3.8.6 保存

次項に示す試験関係資料を試験施設の資料保存室に保存する。保存期間は試験終了後10年間とし、以後の保存は試験委託者と協議の上、決定する。なお、コンピュータシステムに格納されたデータについては、三菱化学メディエンス株式会社 熊本研究所 安全性研究棟 ホストコンピュータ室（A007）のホストコンピュータ内に保管する。

3.8.7 保存する資料

- (1) 試験計画書
- (2) 試験計画書変更書（No. 1, 2）
- (3) 被験物質に関する資料
- (4) 被験物質のサンプル
- (5) 使用動物に関する資料
- (6) 試験結果に関する資料
- (7) 標本
- (8) 通信文書等の記録文書
- (9) 最終報告書

3.9 その他

本試験の実施に際し、「動物実験に関する指針（三菱化学メディエンス株式会社 試験研究センター）」に基づき、動物実験委員会審査及び試験研究センター長の承認（承認番号：2012-0729）を得た。

4. 試験責任者署名

表 題： P092 のラットを用いる 4 週間反復経口投与毒性試験

試験番号： B120720

試験責任者：

2013 年 3 月 14 日

中館 豊 

中館 豊
三菱化学メディエンス株式会社
創薬支援事業本部 試験研究センター
安全性研究部

5. 要約

P092 をラット (Cri: CD (SD), 雌雄各 10 匹/群) に, 0, 5, 20 及び 80 mg/kg/day の用量で, 4 週間反復経口投与し, 現れる毒性変化を確認した. なお, 対照群 (0 mg/kg/day) には媒体 (0.5 w/v%メチルセルロース水溶液) のみを投与した. また, サテライト群 (雌雄各 3 匹/群) を設け, 初回及び最終回投与時の P092 の血漿中濃度の推移を検討した.

その結果, 被験物質投与に起因した死亡あるいは瀕死動物は認められなかった.

一般状態観察において, 流涎が 80 mg/kg/day 群の雄 2 例及び雌 4 例で第 22~28 日の投与直後に認められた.

体重及び体重増加量の低値又は低値傾向が 5 mg/kg/day 群の雌, 20 mg/kg/day 以上の群の雌雄で認められた.

摂餌量の減少又は減少傾向が 5 及び 20 mg/kg/day 群の雌, 80 mg/kg/day 群の雌雄で認められた.

尿検査において, 尿量の増加傾向, 尿比重, 尿電解質 (Na, K, Cl) の濃度及び排泄量の減少又は減少傾向が 80 mg/kg/day 群の雌雄に認められた.

血液学的検査において, 血小板数の増加が 20 mg/kg/day 以上の群の雌雄で認められた. また, ヘモグロビン濃度, ヘマトクリット値, MCV 及び MCH の減少が 80 mg/kg/day 群の雌雄で認められた. ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少は, 20 mg/kg/day 群の雄でも認められた. さらに白血球数の増加に伴う好中球数, 好中球比率, リンパ球数及び単球数の増加, 並びに好酸球比率及びリンパ球比率の減少又は減少傾向が 80 mg/kg/day 群の雌雄で認められた. 好中球数の増加は 20 mg/kg/day 群の雌でも認められた. 好塩基球比率及び好塩基球数の増加が 80 mg/kg/day 群の雌で認められた.

血液生化学的検査において, 総蛋白, A/G 比, アルブミン比率及びアルブミン濃度の減少, α_2 -グロブリン比率及び α_2 -グロブリン濃度, β -グロブリン比率及び β -グロブリン濃度の増加又は増加傾向が 20 mg/kg/day 以上の群の雌雄で, グルコースの減少が 20 mg/kg/day 以上の群の雌で, 総コレステロール及びリン脂質の減少が 20 mg/kg/day 群の雌及び 80 mg/kg/day 群の雌雄で認められた. また, 尿素窒素の増加が 80 mg/kg/day 群の雌雄で, トリグリセライドの増加が 80 mg/kg/day 群の雌で認められた.

器官重量測定において, 肝臓の実重量及び相対重量の増加又は増加傾向が 80 mg/kg/day 群の雌雄で認められた.

病理解剖検査では, 小腸 (十二指腸~回腸) の拡張が 80 mg/kg/day 群の雌雄のほぼ全例で認められた. また, 腸間膜リンパ節の腫大が同群の雌 2 例で, 肝臓外側右葉の白色斑が雌 2 例でみられ, このうち雌 1 例では外側右葉の腫大が認められた.

病理組織学的検査では, 消化管, 肝臓, 腎臓, 肺, 脾臓, 腸間膜リンパ節, 下顎リンパ節, 大腿骨骨髓, 胸骨骨髓の空胞化又は空胞化に関連する変化が雌雄で認められた. また, 胸腺

の軽微なリンパ球核崩壊像の増加が 80 mg/kg/day 群の雌雄でみられ、軽微な腺胃粘膜上皮の単細胞壊死が 80 mg/kg/day 群の雌で認められた。

眼科学的検査では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

トキシコキネティクス測定において、P092 の C_{max} 及び AUC_{0-24h} は、投与量の増加に伴い増加した。また、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} に明らかな性差は認められなかった。初回投与と比較して最終回投与の C_{max} 及び AUC_{0-24h} が 80 mg/kg/day 群の雄の C_{max} を除き、いずれも増加する傾向が見られた。

以上の結果から、摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び消化管の空胞化が 5 mg/kg/day 群で認められたことから、本実験条件下での P092 の無毒性量は、雌雄とも 5 mg/kg/day 未満であると考えられる。

6. 材料及び方法

6.1 被験物質

6.1.1 名称

P092

6.1.2 ロット番号

E5Z6K

6.1.3 純度

99.2% (Annex 1 参照)

6.1.4 性状

白色の粉末

6.1.5 提供者

国立大学法人岐阜大学

6.1.6 入手量

約 143 g

6.1.7 保存条件

冷蔵 (実測値 : 3.3°C~6.3°C, 許容範囲 : 1°C~10°C), 遮光, 密封 (窒素封入)

6.1.8 取扱上の注意

保護メガネ, マスク, ゴム手袋を着用した。

6.1.9 安定性の確認

試験委託者から安定性試験 (GLP 適用試験) の結果を入手し, 投与期間中の安定性を確認した (Annex 2 参照)。

6.1.10 残余被験物質の処理

保存用被験物質 (約 2 g) を除き, 全て試験施設の被験物質管理責任者に移管した (9.2 項参照)。

6.2 媒体

6.2.1 名称

0.5 w/v%メチルセルロース水溶液 (略称 : 0.5 w/v% MC)

6.2.2 試薬

メチルセルロース（ロット番号：WER5404，MC と略す，MC400，和光純薬工業株式会社）
日本薬局方注射用水（ロット番号：2C72，2D92，略称：注射用水，株式会社大塚製薬工場）

6.2.3 媒体の調製法

- (1) 所定量の MC を正確に秤量した。
- (2) 調製量より少ない注射用水をビーカーに入れ，ホットマグネチックスターラーを用いて約 80°C に加熱した。加熱した注射用水を攪拌しながら，MC を少量ずつ加えて溶解させた。
- (3) 溶解後，室温になるまで冷まし，これをメスシリンダーに移し，適宜注射用水を加えて 0.5 w/v% となるように定容した。
- (4) 調製した 0.5 w/v% MC を保存容器に入れ，10 日以内に使用した（使用期限：調製後 14 日間）。

6.2.4 保存条件

冷蔵（実測値：4.3°C～6.3°C，許容範囲：1°C～10°C）

6.3 投与液

6.3.1 調製方法及び頻度

被験物質投与液は，紫外線をカットした蛍光灯下で 4 日～7 日に 1 回の頻度で調製した（9.2 項参照）。媒体（0.5 w/v% MC）を対照群の投与液として使用した。

- (1) P092 を正確に秤量した。
- (2) 乳鉢及び乳棒を用いて被験物質を破砕し，媒体で洗い流しながらメートルグラス又はメスシリンダーに移した。
- (3) この混合液に媒体を加え，8 mg/mL になるように正確にメスアップした。更に 8 mg/mL の投与液を媒体で段階希釈し，2 及び 0.5 mg/mL の投与液を調製した。
- (4) 調製後，投与液は褐色ガラス瓶に入れた。採取及び希釈などにおける操作はマグネチックスターラーで攪拌しながら行った。

6.3.2 保管条件

冷蔵（実測値：4.3°C～6.3°C，許容範囲：1°C～10°C），遮光
投与液は，調製後 9 日以内に使用した。

6.3.3 安定性確認及び均一性確認

試験施設で実施した「P092 のラットを用いる単回経口投与毒性試験（試験番号：B120716）」において，0.05 及び 100 mg/mL 被験物質投与液が冷蔵・遮光下で調製後 9 日間，これに続く室温・遮光下で 24 時間安定かつ均一であることが確認されている（Annex 3 参照）。

6.3.4 濃度及び均一性確認

試験施設において、初回及び最終調製時の被験物質投与液の濃度及び均一性を確認した。初回および最終調製時の各被験物質投与液の上層、中層及び下層の3点からサンプリングし、HPLC法で濃度分析を行った。分析方法は6.4項に示す。

各投与液の平均濃度の対設定濃度は96.6%~104.5%、変動係数(C.V.値)は、0.5%~2.0%であり、許容範囲を満たした(Annex 4参照)。

許容範囲

濃度：測定値(濃度)の平均が設定濃度±10%以内であった。

均一性：測定値の精度(変動係数, C.V.値)が10%以下であった。

6.4 投与液中の被験物質濃度分析方法

試験施設で実施した分析法バリデーション試験「P092の投与液濃度確認のための分析法バリデーション」(試験番号：B120710)で検証された以下の方法に従って実施した。

6.4.1 高速液体クロマトグラフ(HPLC)操作条件

カラム： CAPCELL PAK C18 MG II, 5 µm, 150 mm×4.6 mm ID,
株式会社資生堂

カラム温度： 40°C

移動相^{*1}： 1%過塩素酸ナトリウム(過塩素酸でpH2.5に調整する)/アセトニトリル混液(55:45)

流速： 1 mL/min

検出波長： UV 254 nm

注入量： 10 µL

オートサンプラ温度： 10°C

オートサンプラ洗浄液^{*1}：メタノール

測定時間： 10分

*1：減圧下超音波脱気した。

6.4.2 使用機器

HPLC： 2695 Separations Module, Waters Corporation

検出器： 2487 Dual λ Absorbance Detector, Waters Corporation

システムマネージャ： Empower 2 software, Waters Corporation

6.4.3 標準溶液の調製

下表に従い標準溶液を調製した。

溶液略号	調製方法		濃度(µg/mL)	
SS	P092, 25 mg	→	100 mL/メタノール ^{*1}	250
SS-1	SS, 1 mL	→	25 mL/メタノール	10

溶液略号	調製方法		濃度 (µg/mL)	
ST-1	SS-1, 1 mL	→	10 mL/メタノール	1
ST-2	SS-1, 2.5 mL	→	10 mL/メタノール	2.5
ST-3	SS-1, 3 mL	→	10 mL/メタノール	3

*1: 超音波処理を実施した。

6.4.4 試料溶液の調製

下表に従い試料溶液を調製した。なお、投与液は攪拌しながら分取した (n=3)。

投与液 (mg/mL)	調製方法	溶液略号	最終濃度 (µg/mL)	最終希釈倍率
0.5	投与液, 1 mL → 20 mL/メタノール ^{*1}	A	2.5	200
	A, 1 mL → 10 mL/メタノール	B		
2	投与液, 1 mL → 40 mL/メタノール ^{*1}	C	2.5	800
	C, 1 mL → 20 mL/メタノール	D		
8	投与液, 1 mL → 40 mL/メタノール ^{*1}	E	2.5	3200
	E, 0.5 mL → 40 mL/メタノール	F		

*1: 超音波処理を実施した。

6.4.5 HPLC 測定及び濃度算出

標準溶液 (ST-1, ST-2 及び ST-3 ; 6.4.3 項参照) 及び試料溶液 (B, D 及び F ; 6.4.4 項参照) を 6.4.1 項の条件に設定した HPLC に注入し、クロマトグラム上の P092 のピーク面積を測定した。標準溶液の濃度及びそのピーク面積から検量線を作成した。検量線、試料溶液から得られたピーク面積及び希釈倍率から投与液中の P092 濃度 (測定値) を算出した。測定値の平均値、対設定値及び変動係数を算出した。検量線の作成、投与液中の P092 濃度 (測定値)、測定値の平均値、対設定値及び変動係数の計算は Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corporation) を用いて行った。

6.5 試験動物

6.5.1 動物種

ラット

6.5.2 系統

CrI:CD(SD)

6.5.3 系統選択の理由

げっ歯類を用いた毒性試験に広く使用されており、背景データが豊富である。

6.5.4 微生物レベル

SPF

6.5.5 供給源

日本チャールス・リバー株式会社

6.5.6 購入時週齢

5 週齢

6.5.7 購入動物数及び性別

主試験群：雌雄各 45 匹

TK サテライト群：雌雄各 14 匹

主試験群及び TK サテライト群の動物は同一日に別々に入荷した。

6.5.8 検疫・馴化

6.5.8.1 検疫

検疫期間は動物入荷後 5 日間とした。検疫期間には以下の検査を行い、検疫期間中に一般状態の異常が認められず、体重増加が認められることを確認した。なお、検査方法は 6.9 項に従った。

- ・一般状態観察 (1 日 1 回)
- ・体重測定 (動物入荷時及び検疫終了時)

6.5.8.2 馴化

馴化期間は動物入荷から投与開始前日までとした。検疫期間終了後の馴化期間中に以下の検査を行った。主試験群用動物については、眼科学的検査を 1 回実施した。なお、検査方法は 6.9 項に従った。

- ・一般状態観察 (1 日 1 回)
- ・体重測定 (群分け日)

6.5.9 投与開始時週齢

6 週齢

6.5.10 投与開始時体重

雄：181.6～217.5 g, 雌：156.7～196.3 g

投与開始日 (投与前) に個々の体重が雌雄それぞれ全例の平均体重±20%以内であることを確認した。

6.5.11 群分け

(1) 実施日

投与開始日の前日

主試験群及び TK サテライト群の動物は、同一日に別々に群分けを行った。

(2) 動物選抜

主試験群は検疫・馴化期間中の検査の結果から、眼科学的検査において毒性評価に適さないと考えられた雄 5 例（#19015, #19016, #19017, #19024 及び#19043）及び雌 4 例（#59004, #59024, #59038 及び#59042）を除外し、その他の動物（雄 40 例及び雌 41 例）を群分けに使用した。TK サテライト群は検疫・馴化期間中の検査の結果から、いずれの動物にも異常は認められなかったため、全例を群分けに使用した。

(3) 動物の振り分け

群分け日の体重に基づいて、体重層別化無作為抽出法により各群の平均体重がほぼ均一になるように動物を群分けした。主試験群として雌雄各 40 匹、TK サテライト群として雌雄各 12 匹を使用した。

6.5.12 動物の識別

個体識別は以下により行った。なお、群分け前の主試験群と TK サテライト群は、油性ペンの色を変えて区別した。

群分け前：尾に油性ペンで付した番号（群分け前の動物番号末尾 1 または 2 桁）

群分け後：イヤーパーチ

動物のケージには次の情報を記載したラベルを付けた。

群分け前：試験番号、試験種（主試験群又は TK サテライト群）、群分け前の動物番号（検疫・馴化期間中の動物番号）、動物種、系統及び性別

群分け前の動物番号は以下の通りとした。

主試験群； 雄：#19001～#19045, 雌：#59001～#59045

TK サテライト群； 雄：#29001～#29014, 雌：#69001～#69014

群分け後：試験番号、試験種（主試験群又は TK サテライト群）、群名（用量）、動物番号、Cage 番号（主試験群のみ）、動物種、系統及び性別

6.5.13 余剰動物の取扱

余剰動物は投与開始日に試験から除外した。除外した動物は、投与開始後 4～6 日に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、安楽死させた。

6.6 飼育環境

6.6.1 飼育室

ラット・マウス飼育室（4154 室）

6.6.2 飼育環境

6.6.2.1 温度

21.5°C～22.4°C（許容範囲：19.0°C～25.0°C）