

(1) 解析方法

計量データ：

Bartlett 法による等分散の検定（有意水準：1%）を行い，分散が等しい場合は Dunnett 法，分散が等しくない場合は Dunnett 型の多重比較検定（有意水準：各 1%及び 5%，両側検定）によって対照群との平均値の差の検定を行った。死亡動物の死亡発見時体重データについては，統計学的解析の対象から除外した。

(2) 対象項目

統計学的解析の対象項目を以下に示す。TK サテライト群で得られたデータについては統計学的解析を実施しなかった。

- ・ 体重
- ・ 摂餌量
- ・ 尿検査結果（比重，尿量，電解質）
- ・ 血液学的検査結果
- ・ 血液生化学的検査結果
- ・ 器官重量

5.11 コンピュータシステムの使用

5.11.1 使用するコンピュータシステム

Provantis システム（INSTEM 社）

5.11.2 コンピュータシステムのプロトコール番号

B131138S（群分け前）

B131138（群分け以降）

コンピュータプロトコールにはデータ収集範囲，データ収集の日程等を登録した。

6. 結果

6.1 死亡・瀕死

結果を Table 1 及び Appendix 1 に示す.

10 mg/kg 群の雄 3 例, 25 mg/kg 群の雄 4 例, 雌 6 例が死亡した. 死因はいずれも投与カテール先端付近の大静脈からの出血と考えられた.

6.2 一般状態

結果を Table 1 及び Appendix 1 に示す.

10 mg/kg 群の雄 1 例に貧血及びや歩行異常が, 25 mg/kg 群の雌 1 例に貧血が認められた. その他の死亡動物及び生存動物では異常は認められなかった.

6.3 体重

結果を Table 2 及び Appendix 2 に示す.

投与期間を通して, いずれの用量群においても対照群と比べて平均体重の有意な差は認められなかった.

6.4 摂餌量

結果を Table 3 及び Appendix 3 に示す.

摂餌量の減少が, 10 及び 25 mg/kg 群の雄で, 第 4 週に認められた. その他, 対照群と比べて有意な差は認められなかった.

6.5 眼科学的検査

結果を Table 4 及び Appendix 4 に示す.

被験物質投与に起因する変化は認められなかった.

Table 4 及び Appendix 4 に示した変化は, いずれも投与開始前から認められていることから, 被験物質投与とは関連のない変化と判断した.

6.6 尿検査

結果を Table 5 及び Appendix 5 に示す.

いずれの検査項目においても, 被験物質投与に起因する変化は認められなかった.

6.7 血液学的検査

結果を Table 6 及び Appendix 6 に示す.

出血によると思われる貧血傾向（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低下、網赤血球数の増加）、及び好中球の増加が、10及び25 mg/kg 群の雄で認められた。雌においても同様に、ヘマトクリット値の低下が1及び10 mg/kg 群で認められ、統計学的な有意差はないものの、ヘモグロビン濃度の低値傾向、網赤血球数の増加傾向、及び好中球の増加傾向もこれらの用量群で認められた。

6.8 血液生化学的検査

結果を Table 7 及び Appendix 7 に示す。

ASAT, LDH, γ GT, クレアチンキナーゼ, 総ビリルビン, 尿素窒素, クレアチニンの増加, A/G 比及びアルブミンの低下, α_1 , α_2 , β グロブリンの増加, 血清ナトリウム及びカリウムの増加, 血清クロールの低下が 10 あるいは 25 mg/kg 群の雄で認められた。雌においても、統計学的な有意差は明確ではないものの、ASAT, LDH, γ GT, クレアチンキナーゼ, 総ビリルビンの増加及びアルブミンの低下が 10 mg/kg 群で認められた。

6.9 器官重量

結果を Table 8 及び Appendix 8 に示す。

腎臓の実重量及び相対重量の増加が 25 mg/kg 群の雄で認められた。雌においても、腎臓の相対重量の増加が 10 mg/kg 群で認められた。

6.10 病理解剖検査

結果を Table 9 及び Appendix 9 に示す。

病理解剖検査では、投与部位（大静脈）に結節が 1 gm/kg 群の雌及び 10 mg/kg 以上の用量群の雌雄及び認められ、1 mg/kg 群の雄では白色斑が認められた。その他、大静脈の血腫、腹腔内臓器の癒着、脾臓の腫大が投与群に認められた。

死亡動物では、投与部位である大静脈に血腫や結節が見られ、各種臓器との癒着も認められた。死因は、大静脈からの出血であると考えられた。

6.11 トキシコキネティクス (TK) 測定

結果を Table 10 に示す。

初回投与時の血漿中濃度測定では、10 及び 25 mg/kg 群において投与終了後 5 分をピークに徐々に P092 濃度は低下した。しかしながら、投与終了後 48 時間であっても定量下限付近の濃度を示す個体が散見された。1 mg/kg 群ではいずれの測定ポイントにおいても定量下限未満であった。雄の投与後 5 分の血漿中濃度は雌よりも高値であったが、その後の推移に明確な雌雄差は見られなかった。最終回投与時では、血漿中濃度は初回投与時に比して低下し、定量下限付近の値を示す個体が 10 及び 25 mg/kg 群の雄では散見されたが、雌ではいずれの

個体においても定量下限未満であった。しかしながら、クロマトグラム上にピークは見られていることから、定量下限付近で推移していると推察された。脳脊髄液中の P092 濃度については、1あるいは10 mg/kg 群の少数例で検出されたが、多くは定量下限未満であった。

7. 考察

P092・マレイン酸塩をラット (Cri: CD (SD), 雌雄各 6 匹/群) に, 0, 1, 10 及び 25 mg/kg の用量で, 4 週間間歇静脈内投与 (週 1 回) し, 現れる毒性変化を確認した. 投与は大静脈に留置したカテーテルを介して行い, 無拘束下でおよそ 5.42 mL/kg/h の速度で低速持続投与 (約 23 時間投与) した.

その結果, 10 mg/kg 群の雄 3 例, 25 mg/kg 群の雄 4 例, 雌 6 例が死亡した. 死因はいずれも投与カテーテル先端付近の大静脈からの出血と考えられた. 出血部位は, カテーテルの先端部分であり, また対照群ではそのような変化は見られなかったことから, おそらく被験物質の影響で血管が脆弱化したためと考えられた. 1 mg/kg 群においても, 血管 (大静脈) の結節が認められたことから, 0.008 mg/mL の濃度でも持続投与することにより, 血管の障害を引き起こすと推察された. 従って, P092・マレイン酸塩を静脈内投与する場合, 低速持続投与は適当ではないと考えられる.

その他, 血液生化学的検査では, 尿素窒素及びクレアチニンの増加が認められ, また腎臓重量の増加も見られたことから, 被験物質の腎臓への影響が懸念された.

血漿中の薬物濃度推移については, 10 及び 25 mg/kg 群において投与終了後 5 分をピークに徐々に P092 濃度は低下した. しかしながら, 投与終了後 48 時間であっても定量下限付近の濃度を示す個体が散見され, 比較的長期間にわたり, 薬物が定量下限付近の濃度で血漿中に維持されると考えられた. 最終回投与時は, 初回投与時より血漿中濃度は低下していた. 詳細は明らかではないが, 血管障害性や出血などが見られていること, 血清アルブミンは低下していることから, 血中に投与された薬物は血管外に漏出してしまっている可能性も考えられる.

脳脊髄液中の P092 濃度については, 多くは定量下限未満であったものの, 10 あるいは 25 mg/kg 群の少数例では検出され, 薬物の血中から脳脊髄液中への移行が確認された. 脳脊髄液中の薬物濃度に, 血漿中濃度との相関性は見られず, 脳脊髄液中濃度の高低の要因については不明であった.

以上のことから, P092・マレイン酸塩を静脈内投与する場合, 薬物による血管障害が惹起されてしまうことから, 低速持続投与は不適と考えられた.

Key Page

Code	Description
BD	Before dosing
T10	2-4 hours after dosing

Table 1

Clinical Sign - Summary

B131138

Day numbers relative to Start Date

Group	Sex	Clinical Sign	1	1	2	3	4	5	6	7	8	8	9	10	11	12	13	14	15	15	16	17	18		
			BD	T10	am	am	am	am	am	am	am	BD	T10	am	am	am	am	am	am	BD	T10	am	am	am	
1	m	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
2	m	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
3	m	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	4	
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	4	
		Death	1	.	1	
		Abnormal gait	
		Anemic	
4	m	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	4	4	4	
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	4	4	4	
		Death	1	.	1	.	.	

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 1 mg/kg Group 3 - 10 mg/kg Group 4 - 25 mg/kg

Table 1

Clinical Sign - Summary

B131138

Group	Sex	Clinical Sign	Day numbers relative to Start Date												
			19 am	20 am	21 am	22 BD	22 T10	23 am	24 am	25 am	26 am	27 am	28 am	29 am	29 pm
1	m	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	.
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	.
2	m	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	.
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	.
3	m	ANIMALS ALIVE	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	.
		ANIMALS NORMAL	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	.
		Death	1	
		Abnormal gait	1	1	.	
		Anemic	1	.	
4	m	ANIMALS ALIVE	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	.
		ANIMALS NORMAL	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	.
		Death	1	.	1	

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 1 mg/kg Group 3 - 10 mg/kg Group 4 - 25 mg/kg

Table 1

Clinical Sign - Summary

B131138

Day numbers relative to Start Date

Group	Sex	Clinical Sign	Day numbers relative to Start Date																				
			1 BD	1 T10	2 am	3 am	4 am	5 am	6 am	7 am	8 BD	8 T10	9 am	10 am	11 am	12 am	13 am	14 am	15 BD	15 T10	16 am	17 am	18 am
1	f	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
2	f	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
3	f	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4	f	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	4	3	3	3	3
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	4	4	3	3	3	3
		Death	1	.	1	1	.	.	.	
		Anemic	1	

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 1 mg/kg Group 3 - 10 mg/kg Group 4 - 25 mg/kg

Table 1

Clinical Sign - Summary

B131138

Group	Sex	Clinical Sign	Day numbers relative to Start Date											
			19 am	20 am	21 am	22 BD	22 T10	23 am	24 am	25 am	26 am	27 am	28 am	29 am
1	f	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
2	f	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
3	f	ANIMALS ALIVE	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		ANIMALS NORMAL	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4	f	ANIMALS ALIVE	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		ANIMALS NORMAL	1	1	1	1	1	0
		Death	2	1	
		Anemic	

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 1 mg/kg Group 3 - 10 mg/kg Group 4 - 25 mg/kg

Table 2 Body Weight - Summary

B131138

Bodyweight (g)

Sex: Male		Day(s) Relative to Start Date				
		1	8	15	22	28
0 mg/kg	Mean	344.00 ¹	376.00 ¹	407.27 ¹	433.58 ¹	433.25 ¹
	SD	13.09	25.70	29.02	30.13	39.63
	N	6	6	6	6	6
1 mg/kg	Mean	345.30	367.05	395.65	425.18	431.10
	SD	14.17	27.53	32.92	32.23	33.42
	N	6	6	6	6	6
10 mg/kg	Mean	347.85	371.72	383.93	434.20	413.23
	SD	14.15	26.10	42.76	39.47	41.61
	N	6	6	6	3	3
25 mg/kg	Mean	343.13	372.88	387.92	424.05	400.13
	SD	13.36	12.33	25.13	9.04	24.78
	N	6	6	5	4	3

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

- 653 -

1 [I - Automatic Transformation: Identity]

Table 2 Body Weight - Summary

B131138

Bodyweight (g)

Sex: Female		Day(s) Relative to Start Date				
		1	8	15	22	28
0 mg/kg	Mean	237.28 ¹	249.97 ¹	257.28 ¹	267.10 ¹	271.07 ¹
	SD	10.95	14.11	12.11	14.28	14.55
	N	6	6	6	6	6
1 mg/kg	Mean	231.60	245.83	254.35	264.43	264.22
	SD	14.90	9.70	8.90	11.27	11.96
	N	6	6	6	6	6
10 mg/kg	Mean	237.50	246.30	257.03	266.17	267.27
	SD	13.19	18.49	19.38	23.50	16.99
	N	6	6	6	6	6
25 mg/kg	Mean	236.03	252.67	262.18	287.40 ^{n1²}	-
	SD	12.03	18.23	27.08	-	-
	N	6	6	4	1	-

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [1 - Automatic Transformation: Identity]

2 [n1 - This group has only one value]

Table 3 Food Consumption - Summary

B131138

Food Mean Daily Consumption (g/day)

Sex: Male		Day(s) Relative to Start Date			
		1 → 8	8 → 15	15 → 22	22 → 27
0 mg/kg	Mean	27.97 ¹	27.21 ¹	28.13 ¹	28.32 ¹
	SD	1.55	1.57	1.42	1.49
	N	6	6	6	6
1 mg/kg	Mean	27.02	25.67	27.30	27.90
	SD	2.90	2.12	1.69	2.17
	N	6	6	6	6
10 mg/kg	Mean	26.98	24.08	26.50	20.70 ^{d2}
	SD	2.07	3.51	2.55	2.15
	N	6	6	3	3
25 mg/kg	Mean	28.03	24.58	27.34	20.23 ^{dd3}
	SD	2.26	3.91	2.33	7.08
	N	6	5	4	4

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [I - Automatic Transformation: Identity]
 3 [dd - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.01]

2 [d - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.05]

Table 3 Food Consumption - Summary

B131138

Food Mean Daily Consumption (g/day)

Sex: Female		Day(s) Relative to Start Date			
		1 → 8	8 → 15	15 → 22	22 → 27
0 mg/kg	Mean	19.83 ¹	20.29 ¹	21.16 ¹	20.15 ¹
	SD	1.16	1.63	1.89	1.84
	N	6	6	6	6
1 mg/kg	Mean	19.98	19.67	20.27	18.00
	SD	1.54	1.56	1.79	1.80
	N	6	6	6	6
10 mg/kg	Mean	19.68	19.94	20.26	19.24
	SD	1.91	1.70	1.64	1.85
	N	6	6	6	6
25 mg/kg	Mean	19.21	19.28	21.19 ^{n1²}	.
	SD	2.31	2.82	.	.
	N	6	4	1	.

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

- 656 -

1 [- Automatic Transformation: Identity]

2 [n1 - This group has only one value]

Table 4

Ophthalmologic Examination - Summary

B131138

Day numbers relative to Start Date

Group	Sex	Clinical Sign	-2	26
1	m	ANIMALS ALIVE	6	6
		ANIMALS NORMAL	5	5
		Corneal opacity	.	1
		Particulate opacity in lens	1	1
2	m	ANIMALS ALIVE	6	6
		ANIMALS NORMAL	3	3
		Corneal opacity	1	2
		Particulate opacity in lens	3	3
3	m	Focal opacity in lens	1	1
		ANIMALS ALIVE	6	3
		ANIMALS NORMAL	6	3
4	m	ANIMALS ALIVE	6	4
		ANIMALS NORMAL	3	2
		Corneal opacity	1	1
		Particulate opacity in lens	1	1
		Persistent hyaloid artery	1	.

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 1 mg/kg Group 3 - 10 mg/kg Group 4 - 25 mg/kg

Table 4

Ophthalmologic Examination - Summary

B131138

Day numbers relative to Start Date

Group	Sex	Clinical Sign	-5	26
1	f	ANIMALS ALIVE	6	6
		ANIMALS NORMAL	5	5
		Particulate opacity in lens	1	1
2	f	ANIMALS ALIVE	6	6
		ANIMALS NORMAL	5	5
		Focal opacity in lens	1	1
3	f	ANIMALS ALIVE	6	6
		ANIMALS NORMAL	2	3
		Corneal opacity	3	2
		Focal opacity in lens	1	1
4	f	ANIMALS ALIVE	6	0
		ANIMALS NORMAL	5	.
		Particulate opacity in lens	1	.

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 1 mg/kg Group 3 - 10 mg/kg Group 4 - 25 mg/kg

Table 5-1 Urinalysis - Summary

B131138

Day: 27 Relative to Start Date

Sex: Male		pH										Protein	
		Sampled	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	>=9.0	-	+/-
0 mg/kg	N+ve	.	0	0	0	0	0	0	1	5	0	3	3
	Total	6
1 mg/kg	N+ve	.	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	6
	Total	6
10 mg/kg	N+ve	.	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	1
	Total	3
25 mg/kg	N+ve	.	0	0	0	0	0	0	2	2	0	1	3
	Total	4

- 659 -

Table 5-1 Urinalysis - Summary

B131138

Day: 27 Relative to Start Date

Sex: Male		Protein			Glucose					Ketone			
		1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	4+	-	+/-	1+	2+
0 mg/kg	N+ve	0	0	0	6	0	0	0	0	0	2	4	0
	Total
1 mg/kg	N+ve	0	0	0	6	0	0	0	0	0	1	5	0
	Total
10 mg/kg	N+ve	1	0	0	3	0	0	0	0	1	0	2	0
	Total
25 mg/kg	N+ve	0	0	0	4	0	0	0	0	0	3	1	0
	Total

Table 5-1 Urinalysis - Summary

B131138

Day: 27 Relative to Start Date

Sex: Male		Ketone	Bilirubin				Occult Blood					Crystal	
			3+	-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	-
0 mg/kg	N+ve	0	6	0	0	0	4	2	0	0	0	4	2
	Total
1 mg/kg	N+ve	0	6	0	0	0	5	0	1	0	0	3	3
	Total
10 mg/kg	N+ve	0	3	0	0	0	3	0	0	0	0	2	1
	Total
25 mg/kg	N+ve	0	3	1	0	0	3	0	0	0	1	3	1
	Total

Table 5-1 Urinalysis - Summary

B131138

Day: 27 Relative to Start Date

Sex: Male		Crystal		Red Blood Cell				White Blood Cell				Epithelial Cell	
		2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+
0 mg/kg	N+ve	0	0	5	1	0	0	5	1	0	0	3	3
	Total
1 mg/kg	N+ve	0	0	5	1	0	0	3	3	0	0	4	2
	Total
10 mg/kg	N+ve	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	2
	Total
25 mg/kg	N+ve	0	0	3	0	1	0	3	0	1	0	1	3
	Total

- 662 -