

動物移管： 2013年7月12日
投与： 2013年7月17日
最終報告書草案提出予定： 2013年8月15日
試験終了予定： 2013年9月30日

1.11 試験計画書の変更

試験計画書を変更する場合は、変更内容及びその理由を記載した試験計画書変更書を作成し、試験責任者が日付を記し署名、捺印する。

1.12 報告書

最終報告書は和文で作成し、写し1部を試験委託者に提出する。

1.13 保存

次項に示す試験関係資料を試験施設の資料保存施設に保存する。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。

1.14 保存する資料

- (1) 試験計画書
- (2) 試験計画書変更書（作成した場合）
- (3) 被験物質に関する資料
- (4) 使用動物に関する資料
- (5) 試験結果に関する資料
- (6) 通信記録等の記録文書
- (7) 最終報告書

1.15 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2013-0412）を得た。

2. 材料及び方法

2.1 被験物質

2.1.1 名称

P092・コハク酸塩

2.1.2 ロット番号

GEKHK-NE

2.1.3 提供者

国立大学法人岐阜大学

2.1.4 保存条件 (KSOP/TSB/1002)

冷蔵 (許容範囲: 1~10°C), 遮光, 密封 (窒素封入)

2.1.5 取扱上の注意

保護メガネ, マスク, ゴム手袋着用

2.2 媒体

2.2.1 名称

注射用生理食塩液 (株式会社大塚製薬工場)

2.3 投与液

2.3.1 調製方法及び頻度 (KSOP/TSB/5001)

被験物質投与液は, 以下の手順で投与当日に調製する. 調製は紫外線をカットした蛍光灯下で行う.

- (1) P092 を正確に秤量する.
- (2) 生理食塩液を少量ずつ加え, 被験物質を溶解させる.
- (3) 続いて, 生理食塩液を加え, 所定量に定容する.
- (4) pH を測定し, 記録する.

2.4 試験動物

2.4.1 動物

カニクイザル (*Macaca fascicularis*)

2.4.2 性別

雌雄

2.4.3 動物種選択の理由

非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。

2.4.4 購入先

株式会社日本医科学動物資材研究所

2.4.5 仕出国

ベトナム社会主義共和国（生産業者：NAFOVANNY）

2.4.6 検疫・馴化

指定動物（サル）の検査場所指定施設である当試験施設で、30日間以上の輸入検疫期間を含めて検疫・馴化を6週間以上行い、健康状態が良好であることを確認した動物を本試験へ移管する。

2.4.7 移管動物数

雌雄各1頭

2.4.8 投与前検査

動物移管後、投与前検査として以下の検査を群わけ日まで実施する。観察及び検査方法は、2.8項の記載に従う。

- ・ 一般状態観察（毎日）
- ・ 体重測定〔動物移管日、投与前日〕
- ・ 摂餌量測定（毎日）

2.4.9 投与时年齢

3～5歳齢

2.4.10 投与时体重

2.0～4.5 kg

2.4.11 動物の識別（KSOP/ANH/1001, 6004）

個体識別は入れ墨番号（動物生産施設の個体番号）により行う。個体管理は、入れ墨番号、試験施設の個体番号、ケージ番号及び本試験での動物番号の対応表を用いて行う。

動物のケージには試験番号等必要な情報を記載したラベルを付ける。

2.5 動物飼育

2.5.1 飼育室

サル飼育室（7323室）

2.5.2 飼育環境 (KSOP/AMC/1001, 1002, 1003)

2.5.2.1 温度

許容範囲：23.0～29.0℃

2.5.2.2 相対湿度

許容範囲：35.0～75.0%

2.5.2.3 換気

10～30回/時, オールフレッシュエアー供給

2.5.2.4 照明時間

12時間/日 (7:00～19:00) 点灯

19:00以降であっても非定期の一般状態観察などの飼育室内作業を行う場合は点灯する。

2.5.3 飼育器材 (KSOP/AMC/3014)

2.5.3.1 ケージ

ステンレス製ケージ (680W×608/658D×770H mm, トキワ科学器械株式会社)

ケージは毎日水洗する。

2.5.3.2 給餌器

ステンレス製給餌器 (トキワ科学器械株式会社)

給餌器は毎日水洗する。

2.5.3.3 給水装置

自動給水装置 (トキワ科学器械株式会社)

2.5.3.4 架台

ステンレス製水洗式架台 (2段, トキワ科学器械株式会社)

架台は毎日水洗する。

2.5.3.5 エンリッチメント (KSOP/MAN/9002)

動物福祉向上のために, 金属製玩具を使用する。

2.5.4 収容動物数 (KSOP/AMC/3014)

1頭/ケージ

2.5.5 飼料 (KSOP/AMC/4002, 5001)

2.5.5.1 種類

サル用固型飼料, CMK-2 (日本クレア株式会社)

2.5.5.2 給餌法

制限給餌 (100 g/日, 1日1回給餌)

投与日は, 麻酔から十分覚醒したことを確認したのち, 給餌する。その他の期間は午前中に給餌し, 翌朝に残存している飼料を回収, 廃棄する。投与翌日 (安楽殺実施日) は給餌しない。

2.5.5.3 汚染物質の確認

飼料の供給元から分析結果を入手し, 使用するロットの残留農薬等の汚染物質濃度が, 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する。

2.5.6 飲用水 (KSOP/AMC/4001, 5002)

2.5.6.1 種類

5 µm フィルター濾過後, 紫外線照射した水道水

2.5.6.2 給水法

自由摂取

2.5.6.3 分析

株式会社三菱化学アナリティ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する。

2.6 群構成

| 群 | 被験物質 | 投与用量 (mg/kg) | 投与液量 (mL/kg) | 投与液 濃度 (mg/mL) | 動物数 (動物番号) | |
|---|----------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------|-----------|
| | | | | | 雄 | 雌 |
| 1 | P092・コハ ク酸塩 | 250 | 5 | 50 | 1 (10101) | 1 (50101) |

2.6.1 投与用量及びその設定理由

先に実施した単回投与試験 (P092・HCL のカニクイザルを用いた単回経口投与毒性試験, 試験番号: N-O359, 株式会社ボゾリサーチセンター実施および P092 を用いた 2 週間反復経口投与毒性試験, 試験番号: B120719, 三菱化学メディエンス株式会社) のデータと比較するため, 本試験の投与用量は, 当該試験と同じ 250 mg/kg を設定する。

2.7 投与 (KSOP/ANH/1005, 6007)

2.7.1 投与経路

経口 (強制経口投与)

2.7.2 投与経路の選択理由

予定臨床適用経路に準ずる。

2.7.3 投与液量

5 mL/kg とする。

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する。

2.7.4 投与回数・期間

1回

2.7.5 投与方法

ディスポーザブルシリンジ及び経口カテーテルを用いて強制的に胃内に経口投与する。

2.8 観察・検査項目

全生存例について、下記の項目を検査する。

日と週の表記は、投与日を第-1日、投与日を第1日とする。

2.8.1 一般状態 (KSOP/ANH/1002, 6005)

動物移管日から投与第2日まで毎日、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する。観察頻度を以下に示す。

投与日： 1日2回 (投与前, 投与後に各1回)

投与期間以外：1日1回 (午前中)

上記の観察時間以外に一般状態の異常が認められた場合にも所見を記録する。

2.8.2 体重 (KSOP/ANH/1002, 6003)

以下の測定日の給餌前 (投与日は投与前) に体重を測定する。測定には電子天秤を用いる。

動物移管日, 投与前日, 投与日 (第1日)

2.8.3 摂餌量 (KSOP/ANH/6006)

動物移管日から投与日まで毎日測定する。

給餌 (2.5.5.2 項参照) の翌朝 (投与期間は投与前) に残餌量を目測する。残餌量から1日あたりの摂取量 (完食, 2/3, 1/3, 未食) を得る。

2.9 血漿中及び脳脊髄液中薬物濃度測定 (KSOP/ANL/3001)

2.9.1 採血及びPK測定試料の採取 (KSOP/ANH/1006, 1012, 6011; KSOP/ANL/1001; KSOP/CLI/1201, 1202)

全動物から以下の通り採血し、血漿 (PK 測定試料) を得る。

(1) 採血時点

投与後 1, 2, 4, 8, 24 時間

(2) 採血方法

採血量： 約 0.5 mL/時点

採血部位： 橈側皮静脈又は伏在静脈

抗凝固剤： ヘパリン (ナトリウム塩) (ヘパリン加注射筒にて採血)

採取容器： ポリプロピレン (PP) 製チューブ

採取した血液は、採血後直ちに採取容器に入れて氷冷する。

(3) 血漿採取及び保管条件

採取した血液を遠心分離して個体毎に血漿を得る。遠心分離は採血後速やかに行う。

遠心条件： 約 10000×g, 3 分, 約 4°C

保存容器： PP 製チューブ

保存条件： 遠心分離後、直ちにドライアイス保冷

その後、約 -80°C (許容範囲： -60°C 以下) で保存

2.9.2 脳脊髄液の採取 (KSOP/ANH/6012, 6018; KSOP/ANL/1001)

全動物から以下の通り採取し、脳脊髄液 (測定試料) を得る。

採取時点

投与後 2~4 時間に 1 回及び投与後 24 時間

採取及び保管条件

採取量： 約 1 mL

採取部位： 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) の静脈内投与による麻酔下で、椎間関節穿刺により採取する。

採取容器： ポリプロピレン (PP) 製チューブ

保存条件： 採取した脳脊髄液は、直ちに採取容器に入れドライアイスで保冷する。その後、約 -80°C (許容範囲： -60°C 以下) で保存する。

2.9.3 血漿中及び脳脊髄液中の薬物濃度測定

サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験 (試験番号：B130426) の方法に従い、薬物濃度を測定する。

2.10 サンプル採取後の動物の処置

投与後 24 時間の脳脊髄液採取後、動物は、麻酔下で総頸動脈及び腋窩動静脈から放血して安

楽死させる。

3. 試験責任者署名及び捺印

表題： サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験（コハク酸塩経口投与試験）

試験番号： B130596

試験責任者：

2013 年 7 月 12 日

大西 康之 印
大西 康之
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

4. 試験計画書確認

表題： サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験（コハク酸塩経口投与試験）

試験番号： B130596

試験施設

三菱化学メディエンス株式会社 鹿島研究所

運営管理者：

年 月 日

印

山本 恭之

試験委託者

国立大学法人岐阜大学

年 月 日

印

桑田 一夫

試験計画書

サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験 (マレイン酸塩経口投与試験)

(試験番号 : B130595)

三菱化学メディエンス株式会社

1. 試験実施概要

1.1 表題

サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験 (マレイン酸塩経口投与試験)

1.2 試験番号

B130595

1.3 試験目的

P092・マレイン酸塩をカニクイザルに単回経口投与し、血漿中及び脳脊髄液中の濃度推移を確認する。

1.4 適用ガイドライン

なし

1.5 適用 GLP

なし

1.6 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

1.7 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

1.8 試験施設

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

1.9 試験責任者

大西 康之

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 : 0479-46-3461, FAX : 0479-46-7505

1.10 試験日程

試験開始:

本試験計画書への試験責任者署名日

動物移管： 2013年7月12日
投与： 2013年7月17日
最終報告書草案提出予定： 2013年8月15日
試験終了予定： 2013年9月30日

1.11 試験計画書の変更

試験計画書を変更する場合は、変更内容及びその理由を記載した試験計画書変更書を作成し、試験責任者が日付を記し署名、捺印する。

1.12 報告書

最終報告書は和文で作成し、写し1部を試験委託者に提出する。

1.13 保存

次項に示す試験関係資料を試験施設の資料保存施設に保存する。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。

1.14 保存する資料

- (1) 試験計画書
- (2) 試験計画書変更書（作成した場合）
- (3) 被験物質に関する資料
- (4) 使用動物に関する資料
- (5) 試験結果に関する資料
- (6) 通信記録等の記録文書
- (7) 最終報告書

1.15 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2013-0411）を得た。

2. 材料及び方法

2.1 被験物質

2.1.1 名称

P092・マレイン酸塩

2.1.2 ロット番号

W6ANM-JT

2.1.3 提供者

国立大学法人岐阜大学

2.1.4 保存条件 (KSOP/TSB/1002)

冷蔵 (許容範囲: 1~10°C), 遮光, 密封 (窒素封入)

2.1.5 取扱上の注意

保護メガネ, マスク, ゴム手袋着用

2.2 媒体

2.2.1 名称

注射用生理食塩液 (株式会社大塚製薬工場)

2.3 投与液

2.3.1 調製方法及び頻度 (KSOP/TSB/5001)

被験物質投与液は, 以下の手順で投与当日に調製する. 調製は紫外線をカットした蛍光灯下で行う.

- (1) P092 を正確に秤量する.
- (2) 生理食塩液を少量ずつ加え, 被験物質を溶解させる.
- (3) 続いて, 生理食塩液を加え, 所定量に定容する.
- (4) pH を測定し, 記録する.

2.4 試験動物

2.4.1 動物

カニクイザル (*Macaca fascicularis*)

2.4.2 性別

雌雄

2.4.3 動物種選択の理由

非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。

2.4.4 購入先

株式会社日本医科学動物資材研究所

2.4.5 仕出国

ベトナム社会主義共和国（生産業者：NAFOVANNY）

2.4.6 検疫・馴化

指定動物（サル）の検査場所指定施設である当試験施設で、30日間以上の輸入検疫期間を含めて検疫・馴化を6週間以上行い、健康状態が良好であることを確認した動物を本試験へ移管する。

2.4.7 移管動物数

雌雄各1頭

2.4.8 投与前検査

動物移管後、投与前検査として以下の検査を群わけ日まで実施する。観察及び検査方法は、2.8項の記載に従う。

- ・ 一般状態観察（毎日）
- ・ 体重測定〔動物移管日、投与前日〕
- ・ 摂餌量測定（毎日）

2.4.9 投与时年齢

3～5歳齢

2.4.10 投与时体重

2.0～4.5 kg

2.4.11 動物の識別（KSOP/ANH/1001, 6004）

個体識別は入れ墨番号（動物生産施設の個体番号）により行う。個体管理は、入れ墨番号、試験施設の個体番号、ケージ番号及び本試験での動物番号の対応表を用いて行う。

動物のケージには試験番号等必要な情報を記載したラベルを付ける。

2.5 動物飼育

2.5.1 飼育室

サル飼育室（7323室）

2.5.2 飼育環境 (KSOP/AMC/1001, 1002, 1003)

2.5.2.1 温度

許容範囲 : 23.0~29.0°C

2.5.2.2 相対湿度

許容範囲 : 35.0~75.0%

2.5.2.3 換気

10~30回/時, オールフレッシュエアー供給

2.5.2.4 照明時間

12時間/日 (7:00~19:00) 点灯

19:00以降であっても非定期の一般状態観察などの飼育室内作業を行う場合は点灯する。

2.5.3 飼育器材 (KSOP/AMC/3014)

2.5.3.1 ケージ

ステンレス製ケージ (680W×608/658D×770H mm, トキワ科学器械株式会社)

ケージは毎日水洗する。

2.5.3.2 給餌器

ステンレス製給餌器 (トキワ科学器械株式会社)

給餌器は毎日水洗する。

2.5.3.3 給水装置

自動給水装置 (トキワ科学器械株式会社)

2.5.3.4 架台

ステンレス製水洗式架台 (2段, トキワ科学器械株式会社)

架台は毎日水洗する。

2.5.3.5 エンリッチメント (KSOP/MAN/9002)

動物福祉向上のために, 金属製玩具を使用する。

2.5.4 収容動物数 (KSOP/AMC/3014)

1頭/ケージ

2.5.5 飼料 (KSOP/AMC/4002, 5001)

2.5.5.1 種類

サル用固型飼料, CMK-2 (日本クレア株式会社)

2.5.5.2 給餌法

制限給餌 (100 g/日, 1日1回給餌)

投与日は, 麻酔から十分覚醒したことを確認したのち, 給餌する. その他の期間は午前中に給餌し, 翌朝に残存している飼料を回収, 廃棄する. 投与翌日 (安楽殺実施日) は給餌しない.

2.5.5.3 汚染物質の確認

飼料の供給元から分析結果を入手し, 使用するロットの残留農薬等の汚染物質濃度が, 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する.

2.5.6 飲用水 (KSOP/AMC/4001, 5002)

2.5.6.1 種類

5 µm フィルター濾過後, 紫外線照射した水道水

2.5.6.2 給水法

自由摂取

2.5.6.3 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する.

2.6 群構成

| 群 | 被験物質 | 投与用量 (mg/kg) | 投与液量 (mL/kg) | 投与液 濃度 (mg/mL) | 動物数 (動物番号) | |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------|-----------|
| | | | | | 雄 | 雌 |
| 1 | P092・マレ イン酸塩 | 250 | 5 | 50 | 1 (10101) | 1 (50101) |

2.6.1 投与用量及びその設定理由

先に実施した単回投与試験 (P092・HCL のカニクイザルを用いた単回経口投与毒性試験, 試験番号: N-O359, 株式会社ボゾリサーチセンター実施および P092 を用いた 2 週間反復経口投与毒性試験, 試験番号: B120719, 三菱化学メディエンス株式会社) のデータと比較するため, 本試験の投与用量は, 当該試験と同じ 250 mg/kg を設定する.

2.7 投与 (KSOP/ANH/1005, 6007)

2.7.1 投与経路

経口 (強制経口投与)

2.7.2 投与経路の選択理由

予定臨床適用経路に準ずる。

2.7.3 投与液量

5 mL/kg とする。

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する。

2.7.4 投与回数・期間

1 回

2.7.5 投与方法

ディスポーザブルシリンジ及び経口カテーテルを用いて強制的に胃内に経口投与する。

2.8 観察・検査項目

全生存例について、下記の項目を検査する。

日と週の表記は、投与日を第-1日、投与日を第1日とする。

2.8.1 一般状態 (KSOP/ANH/1002, 6005)

動物移管日から投与第2日まで毎日、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する。観察頻度を以下に示す。

投与日： 1日2回 (投与前, 投与後に各1回)

投与期間以外：1日1回 (午前中)

上記の観察時間以外に一般状態の異常が認められた場合にも所見を記録する。

2.8.2 体重 (KSOP/ANH/1002, 6003)

以下の測定日の給餌前 (投与日は投与前) に体重を測定する。測定には電子天秤を用いる。

動物移管日, 投与前日, 投与日 (第1日)

2.8.3 摂餌量 (KSOP/ANH/6006)

動物移管日から投与日まで毎日測定する。

給餌 (2.5.5.2 項参照) の翌朝 (投与期間は投与前) に残餌量を目測する。残餌量から1日あたりの摂取量 (完食, 2/3, 1/3, 未食) を得る。

2.9 血漿中及び脳脊髄液中薬物濃度測定 (KSOP/ANL/3001)

2.9.1 採血及びPK測定試料の採取 (KSOP/ANH/1006, 1012, 6011; KSOP/ANL/1001; KSOP/CLI/1201, 1202)

全動物から以下の通り採血し、血漿 (PK 測定試料) を得る。

(1) 採血時点

投与後 1, 2, 4, 8, 24 時間

(2) 採血方法

採血量： 約 0.5 mL/時点

採血部位： 橈側皮静脈又は伏在静脈

抗凝固剤： ヘパリン (ナトリウム塩) (ヘパリン加注射筒にて採血)

採取容器： ポリプロピレン (PP) 製チューブ

採取した血液は、採血後直ちに採取容器に入れて氷冷する。

(3) 血漿採取及び保管条件

採取した血液を遠心分離して個体毎に血漿を得る。遠心分離は採血後速やかに行う。

遠心条件： 約 10000×g, 3 分, 約 4°C

保存容器： PP 製チューブ

保存条件： 遠心分離後、直ちにドライアイス保冷

その後、約 -80°C (許容範囲： -60°C 以下) で保存

2.9.2 脳脊髄液の採取 (KSOP/ANH/6012, 6018; KSOP/ANL/1001)

全動物から以下の通り採取し、脳脊髄液 (測定試料) を得る。

採取時点

投与後 2~4 時間に 1 回及び投与後 24 時間

採取及び保管条件

採取量： 約 1 mL

採取部位： 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) の静脈内投与による麻酔下で、椎間関節穿刺により採取する。

採取容器： ポリプロピレン (PP) 製チューブ

保存条件： 採取した脳脊髄液は、直ちに採取容器に入れドライアイスで保冷する。その後、約 -80°C (許容範囲： -60°C 以下) で保存する。

2.9.3 血漿中及び脳脊髄液中の薬物濃度測定

サル血漿中及び脳脊髄液中の P092 濃度測定試験 (試験番号： B130426) の方法に従い、薬物濃度を測定する。

2.10 サンプル採取後の動物の処置

投与後 24 時間の脳脊髄液採取後、動物は、麻酔下で総頸動脈及び腋窩動静脈から放血して安

楽死させる。