

用量群 (mg/kg/日)	使用動物数 (動物番号)	
	雄	雌
0	10 (201~210)	10 (241~250)
100	10 (211~220)	10 (251~260)
300	10 (221~230)	10 (261~270)
1000	10 (231~240)	10 (271~280)

4.5. 被験物質投与液の調製

各用量 (0, 100, 300, 1000 mg/kg) の被験物質投与液を週に 2 回 (月曜日と金曜日), 1 回の調製あたり 120 mL ずつ調製した。なお, 動物の体重増加による投与用量増加のため, 2004 年 11 月 15 日以降は 1 回の調製あたり 160 mL ずつ調製した。用量群ごとに必要量の被験物質を秤量した後, 注射用水 (大塚製薬株式会社, 東京都) にて希釈・定容し, スターラーで攪拌した。各用量の投与液は 1 日分 (当初 30 mL で, 2004 年 11 月 15 日以降は 40 mL) ずつ小分けし, 投与日まで冷蔵庫 (設定値 5℃, 許容範囲 1~10℃ の冷蔵庫) にて保管した。投与当日, 投与の約 30 分前に室温にもどし, 投与に用いた。また, 対照群では注射用水を用いた。

4.6. 観察および検査項目

4.6.1. 死亡率

全動物について, 投与期間中少なくとも 1 日 2 回, 瀕死状態ないし死亡の有無をケージサイドから観察した。

各用量群の死亡率は, 死亡・切迫殺動物数を分子, 使用動物数を分母とする分数表示により, 投与週毎の累積死亡率として雌雄別に表した。

4.6.2. 一般状態の観察

一般状態の観察は, 少なくとも 1 日 1 回被験物質投与前に実施した。また, 触診を含む観察を少なくとも毎週 1 回実施した。一般状態の観察によって何らかの異常が認められた場合は, その発見日, 状態, 強度および持続期間を記録した。

4.6.3. 詳細な状態の観察

全動物について, 詳細な状態の観察を投与開始前 1 回と投与期間中毎週 1 回, 午前のほぼ一定時刻 (被験物質投与前) に実施した。詳細な状態の観察時には以下の項目について発現の有無あるいは程度を観察し, 採点 (スコアリング) した。

ケージ内: 興奮, 鎮静, 異常姿勢 (腹臥, 横臥など), 異常行動 (後ずさり, 常同行動, 自傷行動など)

ハンドリング： 取り扱い難さ，筋緊張の変化（亢進，低下），振戦，眼瞼閉鎖，瞳孔径の変化（散瞳，縮瞳），流涎，流涙，分泌物（鼻孔，耳孔，膣などからの分泌物），眼球突出，体温の変化（上昇，下降），呼吸異常音，被毛の変化（外陰部湿潤），皮膚および可視粘膜の変化（充血）

オープンフィールド： 跳躍，旋回，痙攣，歩様異常（運動協調性を含む，よろめき歩行，ひきずり歩行，後肢麻痺など），自発運動（亢進，低下），身づくろい動作（頻度），立ち上がり姿勢（頻度），呼吸（促迫，緩徐），発声，立毛，排尿（回数），排便（個数），異常姿勢（腹臥，横臥など），異常行動（後ずさり，常同行動，自傷行動など）

4.6.4. 機能検査

全動物について，投与 11 週時に以下の項目の機能検査を実施した。

自発運動量，握力（前肢，後肢），感覚運動反応（位置視覚，接近反応，聴覚反応，触覚反応，痛覚反応，空中立ち直り反射）

自発運動量は，遠赤外線方式の検出器（SUPER MEX®）を装着した運動量測定装置（室町機械株式会社，東京都）を用いて連続 1 時間，10 分ごとに測定した。握力はラット握力測定器 CPU gauge Model-9505（アイコーエンジニアリング株式会社，愛知県）を用いて測定した。感覚運動反応の各項目は以下の方法で行い，正常あるいは通常範囲を“0”に設定した尺度基準を用いて採点（スコアリング）した。

位置視覚：動物の尾部を持ち垂直にぶら下げた状態で，平面に近づけて行った際の前肢を伸ばすタイミングを判定

接近反応：動物の正面に検査棒をゆっくりと近づけた際の反応を判定

聴覚反応：動物の背後で突然クリッカーを鳴らした際の反応を判定

触覚反応：動物の背部をピンセットで軽く触れた際の反応を判定

痛覚反応：動物の尾部をピンセットで挟んだ際の反応を判定

空中立ち直り反射：動物を仰向けに持ち上げて約 20 cm の高さから落下させた際の着地の姿勢を判定

各検査は，群間に偏りが出ないように各用量群から動物番号の若い順に 1 匹ずつ選択し，この操作を繰り返して実施した。機能検査は午前 9 時から午後 3 時の間に実施した。

機能検査は以下の日程で実施した。

	雄	雌
投与 11 週時	2004 年 11 月 24～25 日	2004 年 12 月 1～2 日