

**ストラテラカプセル 5 mg**

**ストラテラカプセル 10 mg**

**ストラテラカプセル 25 mg**

## **2.4 非臨床試験の概括評価**

**日本イーライリリー株式会社**

## 目次

2.4	非臨床試験の概括評価	1
2.4.1	非臨床試験計画概略	1
2.4.2	薬理試験	1
2.4.2.1	効力を裏付ける試験	1
2.4.2.2	副次的薬理試験	2
2.4.2.3	安全性薬理試験	2
2.4.2.4	薬力学的薬物相互作用試験	4
2.4.3	薬物動態試験	4
2.4.3.1	分析法	4
2.4.3.2	吸収	4
2.4.3.3	分布	5
2.4.3.4	代謝	5
2.4.3.5	排泄	6
2.4.3.6	薬物動態学的薬物相互作用	6
2.4.4	毒性	6
2.4.4.1	単回投与毒性試験	6
2.4.4.2	反復投与毒性試験	7
2.4.4.3	遺伝毒性試験	7
2.4.4.4	がん原性試験	7
2.4.4.5	生殖発生毒性試験	7
2.4.4.6	幼若動物を用いた試験	8
2.4.4.7	局所刺激性試験	9
2.4.4.8	その他の毒性試験	9
2.4.4.8.1	依存性試験	9
2.4.4.8.2	代謝物の毒性試験	9
2.4.4.8.3	不純物の毒性試験	9
2.4.5	総括及び結論	9
2.4.6	参考文献	14

## 2.4 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1 非臨床試験計画概略

アトモキセチン塩酸塩の非臨床試験は、長期間の使用を目的とした医薬品で推奨される標準的な開発計画、及び試験実施当時の規制ガイドラインに準拠して実施した。ほとんどの非臨床試験はイーライリリー・アンド・カンパニーの研究所で実施した。アトモキセチン塩酸塩の開発は長期にわたり、最初の非臨床試験は 19■■ 年初頭に実施された。当初、アトモキセチン塩酸塩はうつ病または尿失禁の治療薬として臨床開発されたが、これらの適応症での開発は中止された。米国におけるアトモキセチンの注意欠陥/多動性障害 (AD/HD) に対する臨床開発は、19■■ 年 ■ 月より開始された。

効力を裏付ける試験では、用量反応関係を評価するのに適切な用量域を設定した。各試験のエンドポイントに応じてそれぞれに最適な用量域を選択した。AD/HD の病態を反映する適切な動物モデルが存在しないことから、薬理試験から得られる情報を臨床試験の用量選択に外挿することはできなかった。毒性試験では動物において毒性作用を生じるような高用量及び無影響量 (no-observed-effect level: NOEL) あるいは無毒性量 (no-observed-adverse-effect level: NOAEL) が得られるように選択した。アトモキセチン塩酸塩の開発は長期にわたったため、開発の進展に伴い、いくつかの試験 (特に薬物動態試験) は新しい手法や基準を採用して再評価した。

小児 AD/HD の治療薬としてアトモキセチン塩酸塩を開発するに際し、通常の成熟動物を用いた反復投与毒性試験及び薬物動態試験に加えて、幼若ラット及び幼若イヌを用いた試験を実施し、動物の週齢または月齢の違いが毒性や薬物代謝に及ぼす影響を評価した。

毒性試験 (依存性試験を除く)、トキシコキネティクス試験、主要な安全性薬理試験は、試験実施時に有効であった GLP (Good Laboratory Practices) を遵守して実施した。効力を裏付ける試験及び薬物動態試験はこれら GLP の規制要件には該当していない。また、個々の試験方法に関しては、試験実施時に有効であった日米欧医薬品規制調和国際会議 (ICH) ガイドライン、欧州連合医薬品委員会 (CPMP) ガイダンス、米国食品医薬品局 (FDA) ガイダンスを参照した。

### 2.4.2 薬理試験

#### 2.4.2.1 効力を裏付ける試験

アトモキセチン塩酸塩は、ノルアドレナリントランスポーター (NAT)、ドパミントランスポーター (DAT) 及びセロトニントランスポーター (SERT) に対する放射性リガンド結合試験において、ヒト NAT に対して高い親和性 ( $K_i$  値: 5.36 nM) と選択性を示した。ラット脳シナプトソームへのモノアミン取り込みを評価した *in vitro* 試験から、アトモキセチン塩酸塩はノルアドレナリン (NA) の取り込みを強力に阻害する ( $K_i$  値: 4.47 nM) ことが明らかとなった。アトモキセチン塩酸塩の NA 取り込み阻害作用はセロトニン (5-HT) 及びドパミン (DA) 取り込み阻害作用に比べそれぞれ約 30 倍及び 145 倍選択的であった。

アトモセチン塩酸塩は *ex vivo* においても放射性リガンドの NAT への結合を強力かつ用量依存的に阻害したが (ED<sub>50</sub> 値 : 2.4 mg/kg)、60 mg/kg の用量でも SERT に対しては弱い阻害しか示さなかった。アトモセチン塩酸塩の NA 取り込み阻害作用を種々の神経毒を用いた *in vivo* 試験で評価したところ、アトモセチン塩酸塩は神経毒による NA 枯渇を阻害したが (ED<sub>50</sub> 値 : 1.1~7.7 mg/kg)、30 mg/kg の用量でも 5-HT 枯渇に対してはほとんど作用を示さなかった。

細胞外モノアミン濃度に及ぼすアトモセチン塩酸塩の作用をマイクロダイアリス試験により評価したところ、ヒトの“注意機能”に重要な役割を果たすとされる前頭前野では、アトモセチン塩酸塩投与 (0.3~3 mg/kg) により細胞外 NA 及び DA 濃度の統計学的に有意な上昇が認められた。一方、DAT が豊富に分布する側坐核及び線条体 (それぞれ DAT 阻害剤の報酬効果と運動機能への影響に関与するとされる) では、中枢刺激薬であるメチルフェニデート塩酸塩と異なり、アトモセチン塩酸塩は細胞外 DA 濃度に有意な影響を及ぼさなかった。別の *in vitro* 試験において、アトモセチン塩酸塩は前頭前野から調製したシナプトソームへの DA 取り込みを強力に阻害したが (EC<sub>50</sub> 値 : 5.9 nM)、線条体由来シナプトソームへの DA 取り込みに対しては弱い作用しか示さなかったことから、アトモセチン塩酸塩は、前頭前野における NAT を介した DA 取り込みを阻害することにより細胞外 DA 濃度を上昇させたと推測された。

アトモセチン塩酸塩 (3 mg/kg) をラットに投与し神経活動の指標とされる Fos の発現レベルを評価したところ、前頭前野における Fos 様免疫反応陽性の神経細胞数は対照群の約 3.7 倍に上昇したが、線条体及び側坐核では有意な変化は認められなかった。

アトモセチン塩酸塩の第 I 相反応主要代謝物 (4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体) の薬理活性を評価した。4-ヒドロキシ体はアトモセチン塩酸塩とほぼ同等の NA 取り込み阻害作用 (K<sub>i</sub> 値 : 3.00 nM) を示し、5-HT 取り込み及び DA 取り込みに対する阻害作用はアトモセチン塩酸塩と同様に弱かった (K<sub>i</sub> 値 : それぞれ 43 及び 576 nM)。N-デスメチル体の阻害活性はいずれのモノアミン取り込みに対してもアトモセチン塩酸塩より弱かった (K<sub>i</sub> 値 : 92~1431 nM)。

#### 2.4.2.2 副次的薬理試験

アトモセチン塩酸塩の NAT への高い親和性と比較して、アトモセチン塩酸塩及びその第 I 相反応主要代謝物 (4-ヒドロキシ体および N-デスメチル体) のアドレナリン、ムスカリン、ヒスタミン、ベンゾジアゼピン、GABA、5-HT 及び DA 受容体に対する親和性は相対的に低かった。

#### 2.4.2.3 安全性薬理試験

アトモセチン塩酸塩の中枢神経系、心血管系、呼吸器系、腎・泌尿器系、胃腸管系及び免疫機能に及ぼす影響を *in vivo* 試験で評価した。自律神経系への影響は摘出組織標本を用いて、心臓電気生理学的作用はイヌプルキンエ線維を用いて、それぞれ *in vitro* 試験で評価した。ヒト心筋 I<sub>Kr</sub> チャンネル (hERG) に対する影響は、アトモセチン塩酸

塩に加えてその第 I 相反応主要代謝物（4-ヒドロキシ体および N-デスメチル体）に関しても *in vitro* 試験で評価した。

アトモキセチン塩酸塩は、呼吸器系、腎・泌尿器系、胃腸管系及び免疫機能に重大な影響を及ぼさなかった。アトモキセチン塩酸塩は回腸や心房などの摘出組織標本に対してアゴニスト作用を示さず、回腸のアセチルコリン収縮、心房のイソプロテレノール収縮にも明らかな阻害作用を示さなかった。

げっ歯類にアトモキセチン塩酸塩を 50 mg/kg 以上の用量で単回経口投与した際に、一般症状の変化として中枢神経系作用（活動性低下、四肢脱力、異常歩行、振戦及び痙攣）が観察された。類似の所見がイヌを用いた毒性試験でも 25 mg/kg 以上の用量で認められた。げっ歯類では、上記の作用に加えて、軽度の体温低下、ヘキソバルビタール誘発睡眠時間の延長及び抗痙攣作用が認められた。アトモキセチン塩酸塩を最大 100 mg/kg の用量で単回経口投与しても、ラットの自発運動量、聴覚性驚愕反応、学習記憶能は影響を受けなかった。アトモキセチン塩酸塩の自発運動量に及ぼす影響をマウスで検討したところ、自発運動量を亢進させる中枢刺激薬と異なり、アトモキセチン塩酸塩は自発運動に影響を及ぼさないか、あるいは、低下させるという成績が得られた。

*In vitro* hERG 試験において、アトモキセチン塩酸塩は hERG チャネルを用量依存的に阻害し、その  $IC_{50}$  値は 0.869  $\mu$ M であった。この  $IC_{50}$  値とチトクローム P450 2D6 (CYP2D6) の Poor Metabolizer (PM) にアトモキセチン塩酸塩を申請臨床用量中の最高用量〔以下、申請最高用量と略す、1.8 mg/kg/日（1日2回投与）〕で投与した際の曝露量からは、安全域は 6.6 倍で PM では  $I_{Kr}$  電流が最大 26%阻害されると算出される。しかしながら、このような予測に反して、イヌのプルキンエ線維を用いた電気生理学的試験やイヌを用いた *in vivo* 試験からはアトモキセチン塩酸塩の QT 間隔延長作用を示唆するような成績は得られなかった。成熟イヌにアトモキセチン塩酸塩を最大 16 mg/kg の用量で単回経口投与しても、心電図波形やその他の循環器系パラメータに影響は認められず、また、最大 16 mg/kg の用量で 1 ヶ月間連日反復経口投与した幼若イヌにも本剤に起因すると考えられる心電図異常は認められなかった。イヌに 16 mg/kg 投与した際の非結合型アトモキセチンの最高血中濃度は、申請最高用量を投与した CYP2D6 の extensive metabolizre (EM) の最高血中濃度より 20 倍以上高く、また、PM の値より約 4 倍高かった。麻酔イヌにアトモキセチン塩酸塩を 6 mg/kg 以上の用量で静脈内投与すると PR 間隔の延長と心拍数の増加に加え、QTc 間隔の延長が認められたが、QTc 間隔の延長は Bazett の式を補正式に用いたことによる疑陽性であった可能性がある。N-デスメチル体及び 4-ヒドロキシ体も hERG チャネルを阻害し、その  $IC_{50}$  値はそれぞれ 5.71 及び 20.0  $\mu$ M であったが、アトモキセチン塩酸塩を申請最高用量で投与した際の曝露量からは安全域は、CYP2D6 の遺伝的多型に関わらずそれぞれ 130 倍及び 575 倍以上と算出され、これらの主要代謝物が心筋性  $I_{Kr}$  電流に及ぼす影響は非常に小さいと考えられた。以上の非臨床試験成績から、CYP2D6 の EM、PM、いずれにおいても申請最高用量で、アトモキセチン塩酸塩、N-デスメチル体あるいは 4-ヒドロキシ体に関連する QT/QTc 間隔延長の臨床上的危険性は示唆されないと結論された。

臨床血中濃度近傍で再分極電流 ( $I_{kr}$  電流など) を阻害するが、同時に、脱分極電流 ( $I_{Ca}$  電流や  $I_{Na}$  電流) に対しても阻害作用を示す薬剤 (ベラパミルなど) は不整脈を誘発する危険性が低くなると考えられている (Cavero 2000、Zhang 1999)。単離ヒト心筋細胞を用いて、アトモキセチン塩酸塩のヒト心筋 Ca チャネル及び Na チャネルに及ぼす影響を評価したところ、アトモキセチン塩酸塩は両チャネルをいずれも用量依存的に阻害し、その  $IC_{50}$  値はそれぞれ 1.93 及び 36.1  $\mu M$  であることが明らかとなった。アトモキセチン塩酸塩の Na チャネル阻害作用はより生理的な条件下では増強し、頻度及び電圧依存性を示したことから *in vivo* ではより強い阻害作用を示すものと推察された。以上の成績から、アトモキセチンの曝露量が心筋  $I_{kr}$  電流を阻害するほど上昇した場合でも、同時に心筋 Ca チャネルや Na チャネルが阻害を受け、その結果、QT/QTc 間隔の延長や随伴する不整脈の誘発が防止されるという機序が想定された。

#### 2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用を評価する目的で、特別な非臨床試験は実施しなかった。薬力学的薬物相互作用は、臨床薬理試験の一環として評価されている。臨床薬理試験試験では、 $\beta$  アドレナリン作動性受容体アゴニスト (サルブタモール) 及び中枢刺激薬 (メチルフェニデート塩酸塩) の血行力学的作用について、アトモキセチンが作用を増強するか否かについて検討した。その結果、アトモキセチンの併用により、静脈内投与によるサルブタモールの心拍数及び収縮期血圧上昇作用が増強した。一方、アトモキセチンと吸入投与によるサルブタモール併用による心血管系の変化は認められなかった。以上の結果より、サルブタモールもしくは他の  $\beta$  アドレナリン作動性受容体アゴニストを全身へ分布する投与経路により投与 (経口又は静脈内投与) している患者では、アトモキセチンを慎重に投与する必要がある。一方、アトモキセチンは、メチルフェニデート塩酸塩の血行力学的作用は増強しなかった。更に、アトモキセチンとアルコール (エタノール)、デシプラミン、フルオキセチン (国内未承認) 及びミダゾラムを併用投与しても薬理学的相互作用は認められなかった。しかし、アトモキセチンとパロキセチンを併用投与すると両薬剤の血行力学的作用が増強された。

#### 2.4.3 薬物動態試験

##### 2.4.3.1 分析法

生体試料中のアトモキセチン及びその代謝物の分析に用いた方法は十分な検出力を有していた。血漿中薬物濃度測定は、アトモキセチン、N-デスメチル体及び 4-ヒドロキシ体の血漿中濃度を同時に測定する液体クロマトグラフ・タンデムマススペクトル法 (LC/MS/MS) を用いた。用いた測定法の定量限界は動物試験として適切であった。

##### 2.4.3.2 吸収

アトモキセチン塩酸塩を動物に投与後のアトモキセチン及びその第 I 相反応主要代謝物 (N-デスメチル体及び 4-ヒドロキシ体) の血漿中濃度を測定した。マウス、ラット、イヌ及びサルにアトモキセチン塩酸塩を経口投与した際の吸収は良好であった。最も大

きな種差がみられたのは絶対的バイオアベイラビリティで、イヌ（約 74%）及びサル（約 45%）では比較的高かったのに対し、げっ歯類では低かった（約 4%）。この種差は、げっ歯類ではアトモキセチンの肝臓での初回通過効果が高いためと考えられ、その結果、アトモキセチンの全身曝露量は低く代謝物の曝露量が高くなると推察される。イヌ及びサルでは、アトモキセチンは初回通過効果による代謝はそれ程受けないと考えられた。

反復投与毒性試験（ラット 3 ヶ月間混餌投与試験、マウスを用いた 1 ヶ月間及び 3 ヶ月間混餌投与試験及びイヌ 3 ヶ月間反復経口投与試験）を実施し、アトモキセチン及びその第 I 相反応主要代謝物の血漿中動態を評価した。評価した動物種のいずれにおいても、反復投与時のアトモキセチンの血漿中濃度は比較的速やかに定常状態に達したと推察され、反復投与による蓄積はほとんど見られなかった。蓄積がほとんど認められなかったのは、評価した動物種のいずれにおいてもアトモキセチンのクリアランスが速やかであったためと考えられる。マウス、ラット及びイヌのいずれにおいても、アトモキセチンに比べ、4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体の血漿中濃度は低かった。非臨床試験に用いたいずれの動物種においても、血漿中薬物濃度は最長で投与開始 3 ヶ月後までしか測定しなかったが、さらに長期投与した場合でも血漿中濃度はほぼ同じであると推察される。

幼若ラット及び幼若イヌを用いて、単回及び反復投与による薬物動態の検討を行った。幼若ラットにアトモキセチン塩酸塩を経口投与したときの血漿中濃度は成熟ラットに比べてはるかに高値であったが、成熟するに従い成熟ラットに近い値となった。幼若イヌでは、アトモキセチン塩酸塩を経口投与したときの血漿中濃度は成熟イヌに比べてわずかに低かったが、ラットの場合と同様、成熟するに従い成熟イヌに近い値となった。

#### 2.4.3.3 分布

ラットでは、アトモキセチンあるいはその代謝物は主要組織の多くに速やかに分布し、組織内濃度が高かったのは消化管内容物及び肝臓であった。ラットを用いた胎盤移行に関する検討では、アトモキセチンあるいはその代謝物が胎盤を通過し胎児にも分布することが示唆されたが、胎児組織の曝露量は母動物の組織と比較し少なかった。ヒト、イヌ、ウサギ、ラット及びマウスの血漿におけるアトモキセチンの *in vitro* 血漿たん白結合率は、それぞれ 99、97、96、88 及び 82%であった。N-デスメチル体の血漿たん白結合率はアトモキセチンとほぼ同等であったが、4-ヒドロキシ体の血漿たん白結合率はアトモキセチンに比して低かった。

#### 2.4.3.4 代謝

*In vitro* 及び *in vivo* での代謝試験により、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトのいずれについても生体内変化の経路は類似していることが確認された。また、評価したほぼすべての動物種において、アトモキセチンの第 I 相反応主要代謝物は 4-ヒドロキシ体であり、主要最終代謝物は 4-ヒドロキシアトモキセチン-O-グルクロン酸抱合体であった。また、N-デスメチル体も血漿中に見られた第 I 相反応主要代謝物であった。主な第 I 相

代謝経路は、芳香環の水酸化、ベンジル部位のアルキル基の水酸化及び N-デスメチル化であった。これらに続く水酸化代謝物の O-グルクロン酸抱合反応又は O-硫酸抱合反応が、アトモキセチンの酸化代謝物の抱合体形成における主要第 II 相代謝経路であった。マウス、ラット及びイヌにおいて、アトモキセチン塩酸塩の経口投与により肝チトクローム P450 が誘導されたが、この作用は概して試験した高用量で認められた。更に、この誘導に関連した反復投与時のアトモキセチンの血漿中薬物動態への影響はないと考えられた。

#### 2.4.3.5 排泄

マウス、ラット、イヌ及びサルいずれにおいても、<sup>14</sup>C-アトモキセチンに由来する放射活性物質の主要排泄経路は尿中排泄であり、ヒトでも同様であった。胆管カニューレを挿入したラットでは糞中排泄が少なかったことから、胆管カニューレを挿入しない場合に見られる糞中排泄は胆汁排泄によるものと考えられた。未変化体のまま直接腎又は胆汁中に排泄されるアトモキセチンは極微量であり、全身クリアランスにおける主要経路ではないことが示唆された。ラットの乳汁排泄に関する検討から、乳児は母乳を介してアトモキセチンあるいはその代謝物に曝露される可能性があるが、母乳への排泄量は総投与量と比較すると極わずかであると考えられた。

#### 2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用を評価する目的で、特別な非臨床試験は実施しなかった。薬物動態学的薬物相互作用は、臨床薬理試験の一環として評価されている。CYP2D6 及び CYP3A で代謝される他の薬物のクリアランスに対して、アトモキセチンによる臨床的に問題となるような阻害又は誘導は認められなかった。*In vivo* 及び *in vitro* 試験の結果、アトモキセチンは CYP3A4、CYP1A2、CYP2D6 及び CYP2C9 を阻害しないこと、並びに CYP3A4 及び CYP1A2 を誘導しないことが確認された。ヒト血漿蛋白を用いた *in vitro* 薬物置換試験の結果、治療域濃度のアトモキセチンは、ワルファリン、アセチルサリチル酸、フェニトイン及びジアゼパムの蛋白結合率に影響を及ぼさなかった。同様に、上記薬剤は、アトモキセチンの蛋白結合率に影響を及ぼさなかった。外国人 CYP2D6 EM 健康成人において、CYP2D6 の特異的阻害剤 [パロキセチン及びフルオキセチン (国内未承認)] 併用投与時における定常状態の血漿中アトモキセチン濃度は上昇し、PM 被験者で認められた値に相当する高濃度になった。また、*in vitro* 試験の結果から、チトクローム P450 阻害剤を PM 被験者に併用投与しても、アトモキセチンの血漿中濃度は上昇する可能性は低いことが示唆された。

#### 2.4.4 毒性

##### 2.4.4.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験における経口投与時の半致死量 (LD<sub>50</sub>) は、イヌでは雌雄ともに 37.5 mg/kg を超える用量、ラットでは雄で 203 mg/kg、雌で 190 mg/kg、マウスでは雄で

330 mg/kg、雌で 274 mg/kg と推定された。毒性学的所見としては、散瞳、瞳孔反射低下、流涎、嘔吐、嗜眠、下肢脱力、振戦、ミオクロニー性攣縮及び痙攣が観察された。

#### 2.4.4.2 反復投与毒性試験

成熟動物を用いた反復投与毒性試験として、マウスでは 3 ヶ月間、ラット及びイヌでは最長 12 ヶ月間の毒性試験を実施した。アトモキセチン塩酸塩を混餌投与または強制経口投与した成熟げっ歯類における主要な毒性学的所見は、体重増加量減少及び軽度の肝毒性であった。アトモキセチン塩酸塩を 3 ヶ月及び 12 ヶ月間、飼料中濃度 0.03% (約 14 mg/kg/日に相当) 以上で混餌投与した雄ラットでは肝毒性が観察され、肝臓の斑紋形成及び褪色、相対肝重量の増加、肝細胞の空胞化及び血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の上昇 (18~46%) が認められた。同様の所見が、アトモキセチン塩酸塩 0.4% (約 600 mg/kg/日) を 3 ヶ月間混餌投与した雌雄マウスにおいても観察されたが、0.1% (約 150 mg/kg/日) 投与群では認められなかった。イヌでは、3 ヶ月及び 12 ヶ月間、16 mg/kg/日までの用量を投与しても肝毒性は認められず、散瞳、瞳孔反射低下、嘔吐及び振戦といった薬理作用に関連すると推察される一般症状が認められた。有害と考えられた作用は薬理作用に関連すると考えられる一般症状のみであり、最長 12 ヶ月までイヌに投与しても 8 mg/kg/日以下の用量では軽微であった。アトモキセチン塩酸塩はマウス、ラット及びイヌにおいて軽度の肝薬物代謝酵素誘導作用を示したが、アトモキセチンの明らかな代謝亢進は認められなかった。

#### 2.4.4.3 遺伝毒性試験

一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験においてアトモキセチンに遺伝毒性は認められなかった。

#### 2.4.4.4 がん原性試験

マウス及びラットにおける 2 年間のがん原性試験において、アトモキセチンとの関連性が懸念されるがん原性は認められなかった。

#### 2.4.4.5 生殖発生毒性試験

胎児検査を含む一代受胎能及び出生前/出生後試験では、予備試験結果 (飼料中濃度 0.04%以上の混餌投与により出生児の生存率低下及び 0.08%で出生児の体重低下) と異なり、用いた最高用量の 0.06%まで出生児に対する影響は観察されなかった。同試験における胎児検査で雌の胎児体重のわずかな減少が、親動物に影響を生じる用量よりも高い用量で認められた。これに伴い、明らかな用量依存性および統計学的有意差はないものの、胎児骨格において発育遅延を示唆する所見が高用量群で対照群よりもわずかに高い頻度で発現した。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、アトモキセチン塩酸塩による胚胎児に対する影響はないことが示唆された。なお、ウサギの胚・胎児発生に関する試験を 3 試験実施し、そのうち 1 試験で胎児生存率及び雌胎児体重の軽度な低下及び心臓及び大血管における異常の発現率のわずかな増加が認められ、

当初アトモセチン塩酸塩による影響を明確に否定できなかったが、その変化の程度は軽度かつ概して背景データの範囲内であったこと、更に再現性が得られなかったことから、アトモセチン塩酸塩の投与との関連性はないものと判断した。

#### 2.4.4.6 幼若動物を用いた試験

8週齢の幼若イヌにアトモセチン塩酸塩を4、8及び16 mg/kg/日の用量で1ヵ月間投与し、成熟イヌにおける一般毒性所見と比較評価した。幼若イヌにおけるアトモセチン塩酸塩の忍容性は16 mg/kg/日まで良好であり、観察された毒性学的所見は成熟イヌでも認められた一般症状（振戦、嘔吐等）のみであり、すべての試験用量で発現したが高用量になるに従い発生頻度及び程度が高まる傾向が見られた。成熟イヌでは16 mg/kg/日群のみで見られた振戦が幼若イヌでは4 mg/kg/日群から発現したこと、また、概して成熟イヌと比較して幼若イヌにおけるアトモセチンの血漿中曝露量が低かったことから、アトモセチン塩酸塩の薬理作用に対する感受性が幼若イヌではわずかに高くなることが示唆された。体重増加量、神経学的検査、眼科学的検査及び心電図検査においてアトモセチン塩酸塩の投与に関連した異常はなく、重大な臓器毒性も認められなかった。

10日齢の幼若ラットに成熟期に至るまでの期間、アトモセチン塩酸塩を1、10及び50 mg/kg/日の用量で連日投与する一連の毒性試験を実施し、一般毒性、成長、身体発育分化、神経行動発達、性成熟及び受胎能への影響を評価した。高用量では、体重増加量減少及び振戦などの一般症状が観察されたが、骨成長は正常で、重大な臓器毒性は認められず、最終的に身体、行動並びに性的に正常な成熟に達し、受胎能も正常であった。身体発育分化及び神経行動発達に対する評価では、切歯萌出のわずかな遅延と自発運動の亢進が認められたが、これらの変化は軽微もしくは一過性であり、永続的な変化ではなかった。性成熟（膣開口及び包皮分離の発現日）のわずかな遅延（1.3～2.6日）が認められたが、最終的にすべてのラットが性成熟に達し、膣及び包皮/陰茎亀頭の形成異常は認められず、更に性周期や生殖器官に対する形態学的異常も観察されなかったことから毒性学的な意義は低く、生殖能への実質的な影響はほとんどないと考えられた。また、精巣上部尾部の重量及び精子数がわずかに減少したが、これらの精巣上部への影響は、精子の成熟過程への影響ではなく、精巣上部での精子輸送を薬理的に促進したことによるものと推察された。精巣に対する影響は見られなかった。受胎能試験として10日齢の幼若ラットに性的発育期及び交配期間を通してアトモセチン塩酸塩を投与したが、生殖能、受胎能ともに変化はなかった。アトモセチン塩酸塩の作用部位であるノルアドレナリン作動性神経は、ラットにおいて精子輸送過程及び春機発動に関与するとされており、薬理学的作用の介在が示唆される（Ojeda 1994）。ヒトにおいても同様の作用が発現するか否かは不明であるが、ヒトでの性的発育期は青年期の幅広い年齢層にわたって発現するものであり、仮に軽度な性成熟の遅延が発現したとしても、臨床的意義は高くないと考えられる。また、ヒトにおいて精巣上部精子数が軽度に低下したと仮定しても、正常な精子形成が行われていれば生殖能への影響は考えにくい。以上の結果から、アトモセチン塩酸塩はラットの性成熟をわずかに遅延させ、精巣上部精子数を

軽度に減少させるものの、これらの作用は生殖能には実質的な影響をほとんど及ぼさないものと思われた。

本剤の作用機序、臨床で予定している適応症及び対象患者の年齢を考慮し、幼若ラット及び幼若イヌの毒性試験においてノルアドレナリントランスポーターが豊富な脳領域について特に詳細な病理組織学的検査を行ったが、特記すべき影響は認められなかった。

#### 2.4.4.7 局所刺激性試験

経口投与のため該当せず。

#### 2.4.4.8 その他の毒性試験

##### 2.4.4.8.1 依存性試験

サルを用いた自己投与試験の結果から、アトモセチン塩酸塩に自己投与の増強作用はないと考えられた。

##### 2.4.4.8.2 代謝物の毒性試験

N-デスメチル体（化合物 137877）の一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において遺伝毒性は認められなかった。なお、ヒトで確認された代謝経路はいずれも非臨床試験で用いた動物においても認められていることから、N-デスメチル体及びその他の代謝物については、アトモセチンの毒性試験で評価されていると考える。

##### 2.4.4.8.3 不純物の毒性試験

アトモセチン原薬の市販工程製造品ロットに含まれる類縁物質／不純物として、アトモセチンの [B] である化合物 [B] 及びアトモセチンの [A] である化合物 [A] の 2 種が同定された。原薬の規格としてこれらの不純物の許容基準を [%] および [%] に設定する予定であることから、その安全性を評価した。これらの不純物の血漿中濃度測定は行っていないため、投与量に基づき動物とヒトの摂取量を比較した結果、動物における両不純物の摂取量は複数の主要な毒性試験において申請最高用量（1.8 mg/kg）における不純物のヒトでの最大摂取量を概して上回っていた。さらに、化合物 [A] を多く含む原薬ロットは細菌を用いる復帰突然変異試験及びチャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いる染色体異常試験で陰性であった。以上から、化合物 [B] 及び化合物 [A] の申請規格が裏付けられたと考える。

#### 2.4.5 総括及び結論

一連の効力を裏付ける試験から、アトモセチン塩酸塩は NAT による NA 取り込みを強力かつ選択的に阻害することが明らかとなった。アトモセチン塩酸塩は前頭前野における細胞外 NA 及び DA 濃度を上昇させたが、これらの作用が本剤の AD/HD に対する治療効果に寄与している可能性が推察された。

安全性薬理試験において、アトモキセチン塩酸塩は、自律神経系、心血管系、中枢神経系、呼吸系、腎・泌尿器系、胃腸管系及び免疫機能に重大な影響を及ぼさなかった。hERG チャンネルに対する阻害作用が認められたが、イヌプルキンエ線維を用いた *in vitro* 試験やアトモキセチン塩酸塩をイヌに単回投与した試験では、アトモキセチン塩酸塩の QT 間隔延長作用を示唆するような成績は得られなかった。更に、最大 16 mg/kg/日の用量でアトモキセチン塩酸塩を幼若イヌに 1 ヶ月間連日経口投与した際にも、本剤に起因すると考えられる心電図異常は認められなかった。以上の成績から、アトモキセチン塩酸塩は *in vitro* で  $I_{Kr}$  チャンネルを阻害するが、QTc 間隔の延長作用を有さないことが示唆された。これまでに実施された臨床試験においても心臓の再分極に及ぼす臨床的に重大な影響は認められていない。以上の *in vitro* 及び *in vivo* 試験から得られた成績、並びに安全性に関する臨床成績を統合的に評価すると、アトモキセチン塩酸塩が QTc 間隔を延長させる危険性は低いと結論された。

非臨床薬物動態試験において、マウス、ラット、イヌ及びサルにアトモキセチン塩酸塩を経口投与した際の吸収は良好であり、アトモキセチン及びその第 I 相反応主要代謝物 (N-デスメチル体及び 4-ヒドロキシ体) の血漿中濃度は用量の増加に伴い増加した。反復投与による血漿中 AUC の明らかな増加はなく、蓄積がわずかであることが示唆された。マウス、ラット及びイヌで、アトモキセチン塩酸塩を反復経口投与により肝チトクローム P450 に変化が認められたものの、概して試験した高用量で見られた変化であり、また自己代謝の亢進はしないと考えられた。イヌでは成熟期間中にバイオアベイラビリティが増加した。アトモキセチンの血漿たん白結合率は比較的高かった。アトモキセチンをラットに経口投与した結果、多くの組織に分布し、組織内濃度が高かったのは消化管内容物及び肝臓であった。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの代謝経路は類似していることが確認された。しかし、げっ歯類では高度な初回通過効果を受けると考えられた。主な代謝経路は芳香環の水酸化、ベンジル部位のアルキル基の水酸化及び N-デスメチル化であった。アトモキセチンの活性代謝物である 4-ヒドロキシ体及びその主要最終代謝物である 4-ヒドロキシアトモキセチン-O-グルクロン酸抱合体は共に検討したすべての動物種で認められ、ヒトでも同様であった。このことから、毒性試験で選択した動物種は適切であり、アトモキセチン及びその代謝物の毒性が適切に評価されたと考える。アトモキセチン及びその代謝物の主要排泄経路は評価した動物種のいずれにおいても尿中であり、ヒトと同様であった。アトモキセチンあるいはその代謝物はラット乳汁中に移行した。この情報は添付文書 (案) に記載されている。

毒性試験において、急性症状として、アトモキセチン塩酸塩の高用量投与によりイヌ及びげっ歯類において散瞳、瞳孔反射低下、嘔吐、振戦及び痙攣など様々な中枢神経症状が認められた。成熟動物を用いた一連の反復投与毒性試験において、重大な標的臓器毒性は示されなかった。げっ歯類では高用量投与により肝臓における軽度な毒性変化が認められ、また、CYP450 の誘導が認められた。なお、臨床試験では肝臓に及ぼす重大な影響は見られなかったが、市販後の報告で本剤投与により、黄疸を伴う肝機能値の上昇などの肝毒性がまれに報告されており、添付文書 (案) には重大な副作用として「肝機能検査値の上昇を伴う肝機能障害、黄疸があらわれることがあるので、観察を十分に

行い、異常が認められた場合には、投与を中止するなど適切な処置をすること」と記載している。げっ歯類におけるすべての試験で体重及び摂餌量の低下が認められ、アトモキセチン塩酸塩の毒性作用と考えられた。幼若動物を用いた試験では、幼若イヌで低用量から振戦が発現した。振戦は成熟イヌでは高用量に限定して発現しており、幼若イヌの曝露量は成熟イヌよりも低かったことから、アトモキセチン塩酸塩の薬理作用に対する感受性が幼若イヌでは成熟イヌに比較し高いことが示唆された。幼若ラットでは性成熟のわずかな遅延、精巣上体尾部重量の低下及び精巣上体精子数の減少が見られたが、身体発育及び神経行動に関する指標は正常に成熟し、骨成長は正常で、重大な臓器毒性は認められず、交尾能、受胎能も正常であった。アトモキセチン塩酸塩は遺伝毒性を示さず、マウス及びラットにおいてがん原性は見られなかった。生殖発生毒性試験において、受胎能、生殖能並びに出生後の発育にアトモキセチン塩酸塩の影響は見られず、母動物に毒性の生じる用量のみでラット胎児の体重にわずかな低下が見られたものの、胚・胎児に選択的な毒性はなかった。依存性試験においてアトモキセチン塩酸塩は依存性傾向や乱用性を示唆する結果を示さなかった。なお、ヒトにおいて、アトモキセチン塩酸塩は多幸感を誘発せず、また、「嗜好性」、すなわち再度服薬したいという願望を惹起させるという知見も得られていない。

#### 毒性試験における曝露量に関する検討

各種実験動物及びヒトにおける非結合型のアトモキセチンの血漿中濃度を比較した（表 2.4.5-1）。血漿中アトモキセチン濃度は *in vitro* たん白結合データを基に血漿中非結合型薬物濃度として示した。ヒトの曝露量は、申請最高用量の 1.8 mg/kg/日（0.9 mg/kg 1日2回）を CYP2D6 の Extensive Metabolizer (EM) または Poor Metabolizer (PM) の集団に投与したときのデータを用いた。動物の曝露量は最長 3 ヶ月間までの反復投与時のデータを用いたが、動物ではアトモキセチン塩酸塩の高用量投与により肝薬物代謝酵素誘導が生じたものの代謝亢進はないと考えられたため、これら 3 ヶ月投与までのデータから、より長期投与時の曝露量が推察できると考える。

げっ歯類及びイヌではヒトのように CYP2D6 を発現しないが、アトモキセチンはヒトと同様に代謝され、同じ第 I 相反応主要代謝物である 4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体が循環血中に認められる。これらの代謝物について薬理活性を評価した結果、両代謝物ともに親化合物と同様にノルアドレナリントランスポーターに対する阻害が最も強く、4-ヒドロキシ体の活性はアトモキセチンと同等、一方、N-デスメチル体は約 20 分の 1 であった。N-デスメチル体の血漿中濃度はアトモキセチンより低いですが、PM での定常状態における血漿中濃度はアトモキセチン濃度の約 54% に達する。一方、4-ヒドロキシ体はさらなる代謝を受けるため血漿中ではごく低い濃度で循環するに過ぎない [EM 及び PM で、それぞれアトモキセチンの 2 及び 0.2% 未満]。

イヌでは、申請最高用量である 1.8 mg/kg/日（0.9 mg/kg 1日2回投与）を PM に投与したときの曝露量に相当する曝露量になるような量まで投与しても、重篤な毒性は認められなかった。げっ歯類では、マウスの試験で用いた高用量以外はヒトと比べて概して低い曝露量にしか達しなかった。しかしながら、各毒性試験における所見から、アトモ

キセチン塩酸塩は最大耐量付近まで投与されており、これ以上に用量を増量できなかったと考えられる。

以上、アトモキセチン塩酸塩は試験で用いたすべての動物種において一般症状を生じたが重大な毒性はなく、軽微な毒性のみであった。このときのアトモキセチン及びその第 I 相反応主要代謝物の曝露量は、申請最高用量をヒトに投与した時の曝露量と比較し同等以下の場合もあったが、一連の毒性試験において実施可能な範囲でアトモキセチン塩酸塩の安全性プロファイルは評価されたと考える。

なお、臨床試験においては、非臨床試験から予測された事象として、散瞳、浮動性めまい、悪心、食欲減退、体重への影響も見られている。

総合的な結論として、薬理試験、非臨床薬物動態試験及び毒性試験のデータは、推奨臨床用量及び用法で注意欠陥/多動性障害（AD/HD）の治療薬としてのアトモキセチン塩酸塩の承認を支持するものであったと考える。

表 2.4.5-1. 動物及びヒトにおけるアトモセチン曝露量の比較

動物種 用量	C <sub>max</sub> ng/mL	AUC <sub>0-t</sub> ng·hr/mL	非結合型アトモセチンの曝露倍数 <sup>a</sup>			
			C <sub>max</sub>		AUC	
			EM	PM	EM	PM
ヒト <sup>b</sup> EM : 1.8 mg/kg/日 PM : 1.8 mg/kg/日	6.7 (517) <sup>c</sup> 34 (2603)	48 (3660) 422 (32450)	-	-	-	-
成熟イヌ <sup>h</sup> (t=18h) NOAEL : 8 mg/kg/日 高用量 : 16 mg/kg/日	59 (1795) 138 (4178)	277 (8384) 767 (23243)	8.8 倍 21 倍	1.8 倍 4.1 倍	5.8 倍 16 倍	0.7 倍 1.8 倍
幼若イヌ (t=24h) 低用量* : 4 mg/kg/日 高用量 : 16 mg/kg/日	52 (1311) 155 (3877)	188 (4691) 693 (17329)	7.8 倍 23 倍	1.5 倍 4.6 倍	3.9 倍 15 倍	0.4 倍 1.6 倍
成熟ラット <sup>d</sup> (t=20h) 低用量* : 飼料中 0.01% (7~8 mg/kg/日) 高用量 : 飼料中 0.1% (69~75 mg/kg/日)	0.6 (4.8) 5.7 (47)	8.7 (72) 92 (759)	0.1 倍 0.8 倍	<0.1 倍 0.2 倍	0.2 倍 1.9 倍	<0.1 倍 0.2 倍
幼若ラット (t=24h) NOAEL <sup>e</sup> : 1 mg/kg/日 NOAEL <sup>f</sup> : 50 mg/kg/日	≤1.2 (≤ 4.9) 7.2-98 (60-409)	≤7.8 (≤33) 69-617 (573-2569)	≤0.2 倍 ≤1.1- 15 倍	<0.1 倍 ≤0.2- 2.9 倍	≤0.2 倍 ≤1.5- 13 倍	≤0.1 倍 ≤0.2- 1.5 倍
成熟マウス (t=24h) <sup>g</sup> NOAEL : 飼料中 0.1% (150 mg/kg/日) 高用量 : 飼料中 0.3% (450 mg/kg/日)	6.7 (37) 32 (179)	84 (466) 478 (2657)	1.0 倍 4.8 倍	0.2 倍 1.0 倍	1.8 倍 10 倍	0.2 倍 1.1 倍
妊娠ラット (t=24h) 胎児 NOAEL: (150 mg/kg/日)	118 (977)	353 (2918)	18 倍	3.5 倍	7.4 倍	0.8 倍
妊娠ウサギ (t=24h) 胎児 NOAEL : 100 mg/kg/日	42 (1114)	123 (3228)	6.3 倍	1.3 倍	2.6 倍	0.3 倍

PM=ヒト CYP2D6 低代謝能群；EM=ヒト CYP2D6 通常代謝能群；NOAEL=無毒性量；低用量\*=試験で用いた低用量から毒性が認められた

<sup>a</sup> 曝露倍数は、[動物での非結合型アトモセチンの C<sub>max</sub> 又は AUC<sub>0-t</sub>] ÷ [ヒト定常状態における非結合型アトモセチンの C<sub>max</sub> 又は AUC<sub>0-24</sub>] として算出した。

<sup>b</sup> ヒト血漿中 C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>0-24</sub> は、小児患者に対して 5~45 mg のアトモセチン塩酸塩を反復投与した時に収集したデータに基づき、0.9 mg/kg 1 日 2 回 (1.8 mg/kg/日) 投与時における平均曝露量を母集団薬物動態モデルから導いた。

<sup>c</sup> 血漿中の非結合型アトモセチン濃度。( ) 内は血漿中の総アトモセチン濃度。

<sup>d</sup> ラット 1 年間試験における低用量 (Tox 18)。曝露量はラット 3 ヶ月間混餌投与トキシコキネティクス試験 (Tox 32) の投与 90 日の値を外挿

<sup>e</sup> 一般毒性の無毒性量 (Tox 45)

<sup>f</sup> 発育分化・神経行動及び生殖能・受胎能の無毒性量 (Tox 48 及び 49)。

<sup>g</sup> マウスがん原性試験の無毒性量 (Tox 21)。曝露量はマウス 1 ヶ月間トキシコキネティクス試験 (Tox 55) の投与 35 日の値を外挿。

<sup>h</sup> イヌ 1 年間試験における無毒性量 (Tox 17)。曝露量はイヌ 3 ヶ月間反復投与トキシコキネティクス試験 (Tox 35) の投与 89 日の値を外挿。

#### 2.4.6 参考文献

- Cavero I, Mestre M, Guillon JM, Crumb W. 2000. Drugs that prolong QT interval as an unwanted effect: assessing their likelihood of inducing hazardous cardiac dysrhythmias. *Exp Opin Pharmacother* 1: 947-973.
- Ojeda SR, Urbanski HF. 1994. Puberty in the Rat. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*. Second Edition. New York: Raven Press Ltd. p 363-408.
- Zhang S, Zhou Z, Gong Q, Makielski JC, January CT. 1999. Mechanism of block and identification of the verapamil binding domain to HERG potassium channels. *Circ Res* 84:989-998.