目次

略号一覧表 4
2.4 非臨床試験の概括評価 6
2.4.1 非臨床試験計画概略 7
2.4.1.1 薬理試験 7
2.4.1.2 薬物動態試験 7
2.4.1.3 毒性試験 7
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 10
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 10
2.4.2.5 薬理の考察及び結論 11
2.4.3 薬物動態試験 12
2.4.3.1 分析法 13
2.4.3.2 吸収 13
2.4.3.3 分布 14
2.4.3.4 代謝 15
2.4.3.5 排泄 17
2.4.3.6 トキシコキネティクス 18
2.4.3.7 相互作用 18
2.4.4 毒性試験 19
2.4.4.1 単回投与毒性試験 19
2.4.4.2 反復投与毒性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む） 20
2.4.4.2.1 ラサギリンの試験 20
2.4.4.2.2 ラサギリン／カルビドパの反復投与併用毒性試験 22
2.4.4.3 遺伝毒性試験 23
2.4.4.3.1 非哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験 23
2.4.4.3.2 哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験 23
2.4.4.3.3 哺乳動物系での *In vivo* 試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む） 25
2.4.4.4 がん原性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む） 25
2.4.4.5 生殖発生毒性試験（用量設定試験、及び補助的なトキシコキネティクス評価を含む） 28
2.4.4.5.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験 28
2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 29
2.4.4.5.3 母体機能を含む出生前及び出生後の発生に関する試験 30
2.4.4.5.4 新生児への投与及びその評価に関する試験 31
2.4.4.6 その他の毒性試験 31
2.4.4.6.1 免疫毒性試験 31

2.4.4.6.2 光毒性試験 31
2.4.4.6.3 依存性試験 31
2.4.4.6.4 代謝物に関する試験 31
2.4.4.6.5 不純物に関する試験 32
2.4.4.7 毒性試験の考察及び結論 33
2.4.5 総括及び結論 36
2.4.5.1 総括 36
2.4.5.1.1 薬理試験 36
2.4.5.1.2 薬物動態試験 37
2.4.5.1.3 毒性試験 38
2.4.5.2 結論 39
2.4.6 参考文献一覧 39

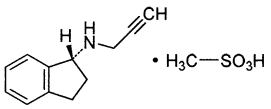
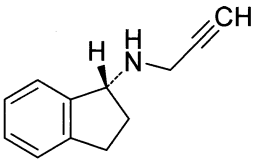
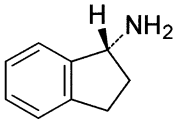
表

表 2.4.4.4-1 がん原性評価に使用した用量を 30 日間投与したマウスにおけるラサギリン及び 1-アミノインダンの全身（血漿）曝露量 26
表 2.4.4.4-2 がん原性評価に使用した用量を 30 日間、26 週間及び 52/53 週間投与したラットにおけるラサギリンの全身（血漿）曝露 28
表 2.4.4.4-3 がん原性評価に使用した用量で 30 日間、26 週間及び 52/53 週間投与したラットにおける 1-アミノインダンの全身（血漿）曝露 28
表 2.4.4.7-1 ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験で使用した用量範囲におけるラサギリン及び 1-アミノインダンに対する到達全身曝露量と 1 mg/患者/日でのヒト臨床曝露量の比較 34

図

図 2.4.1-1 ラサギリンメシル酸塩の構造 6
図 2.4.3-1 ^{14}C-ラサギリンメシル酸塩の構造式 13

類縁物質一覧表

略号	一般名（略称）	化学構造式	由来
TVP-1012	Rasagiline Mesilate ラサギリンメシル酸塩(JAN)		原薬
PAI（図表のみ使用）	Rasagiline ラサギリン		フリー体
AI（図表のみ使用）	1-アミノインダン		代謝物

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明
不純物A※	[redacted]（TVP-182 は塩のコード名）
不純物B※	[redacted]（TVP-184 は塩のコード名）
3-OH-PAI	3-ヒドロキシ-1-(*N*-プロパルギルアミノ)-インダン
3-OH-AI	3-ヒドロキシ-1-アミノインダン
3-OH-AAI	3-ヒドロキシ-1-(*N*-アセチルアミノ)-インダン
3-ケト-AAI	3-ケト-1-(*N*-アセチルアミノ)-インダン
3-ケト-PAI、3-PAIO	3-ケト-1-(*N*-プロパルギルアミノ)-インダン、3-*N*-プロパルギル-アミノインダン-1-オン（TV-3168 は塩のコード名）
3-ケト-AI	3-ケト-1-アミノインダン
ADME	吸収・分布・代謝・排泄
AGP	α_1-酸性糖蛋白質
α-MpT	alpha-methyl-p-tyrosine
AUC	血漿中濃度時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
BLD	検出下限未満
BLQ	定量下限未満
Caco-2 細胞	ヒト結腸癌由来の細胞株
CD	カルビドパ
C_{max}	最高濃度
CNS	中枢神経系
CYP	チトクローム P450
CV	変動係数（相対標準偏差、RSD）
DA	ドパミン
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid
ED_{50}	50%阻害用量
GC/MS	ガスクロマトグラフィー質量分析
HSA	ヒト血清アルブミン
HVA	Homovanillic acid
IC_{50}	50%阻害濃度
ip	腹腔内
iv	静脈内
LC/MS	液体クロマトグラフィー質量分析
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LD	レボドパ
MAO	モノアミン酸化酵素
MAO-A	モノアミン酸化酵素-A
MAO-B	モノアミン酸化酵素-B
MATE	Multidrug and toxin extrusion
NA	非該当
NE	評価不能
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
Papp	見かけの透過係数
PD	パーキンソン病
PEA	Phenethylamine
P-gp	P-糖蛋白質
po	経口
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
sc	皮下
$t_{1/2}$	半減期

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明
TLC	薄層クロマトグラフィー
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間
TV-3168	3-*N*-プロパルギルアミノインダン-1-オンメシル酸塩、 3-*N*-プロパルギル-アミノインダン-1-オンメシル酸塩（3-ケト-PAI、3-PAIO の塩のコード名）
TVP-101	ラサギリン塩酸塩
TVP-1011	*N*-プロパルギル-1-(*R*)-アミノインダン酒石酸塩
TVP-102、 TV-5701182B	1-*N*-プロパルギル-1-(*S*)-アミノインダン塩酸塩
TVP-1022	(*S*)-*N*-プロパルギル-1-アミノインダンメシル酸塩、 *N*-プロパルギル-1-(*S*)-アミノインダンメシル酸塩
TVP-136	(*R*)-1-アミノインダン塩酸塩、1-*R*-アミノインダン塩酸塩
TVP-137	(*S*)-1-アミノインダン塩酸塩
TVP-140	(*R*)-(-)-*N*,α-ジメチル-*N*-2-プロピニルフェネチルアミン塩酸塩—セレギリン塩酸塩
TVP-182	[redacted]、 [redacted]（不純物A※ の塩のコード名）
TVP-183	[redacted]（TVP-184のトランス体※）
TVP-184	[redacted]（シス体）（不純物B※ の塩のコード名）
TV-3168	3-*N*-プロパルギルアミノインダン-1-オンメシル酸塩、 3-*N*-プロパルギル-アミノインダン-1-オンメシル酸塩（3-ケト-PAI、3-PAIO の塩のコード名）
UV	紫外線

※新薬承認情報提供時に置き換え

2.4 非臨床試験の概括評価

本剤の有効成分はラサギリンメシル酸塩であり、化学名は *N*-[(1*R*)-Indan-1-yl]propyn-3-amine monomethanesulfonate、分子式は $C_{12}H_{13}N \cdot CH_4O_3S$、分子量は 267.34 である。構造式は図 2.4.1-1 のとおりである。

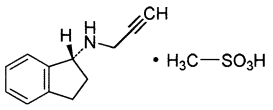


図 2.4.1-1　ラサギリンメシル酸塩の構造

パーキンソン病患者では大脳基底核及び線条体のドパミンが欠乏している。ドパミンは血液脳関門を通過しないため、治療の基本はこの関門の通過後に脱炭酸反応によってドパミンへ代謝される前駆体（レボドパ）の投与となる。しかしながら、疾患が進行し、後期の合併症が発現するようになると、レボドパによる治療効果が減弱してくる。また、末梢組織でドパミン生成量が増えることにより、悪心、嘔吐、起立性低血圧及び時には不整脈等の副作用が現れる可能性がある。従って、レボドパの有効性を高め、ドパミンによる副作用を可能な限り少なくするために、カルビドパやベンセラジド等の脱炭酸酵素阻害剤が併用される。

ヒトの脳でドパミンの代謝を担う主要な酵素がモノアミン酸化酵素-B（MAO-B）である[1]。選択的 MAO-B 阻害剤で線条体におけるドパミンの代謝を *in situ* で阻害することは、ドパミン量が減少しないか、又は増加することから、パーキンソン病に対する単独の、若しくはレボドパのとの併用の治療法になる。セレギリン［(*R*)-(-)-*N*,α-ジメチル-*N*-2-プロピニルフェネチルアミン塩酸塩］は、選択的 MAO-B 阻害剤であり、パーキンソン病治療においてレボドパとの非併用、併用療法として臨床使用が確立されている。ラサギリンも選択的 MAO-B 阻害剤であるが、セレギリンとは異なりアンフェタミン骨格構造を持たないためアンフェタミン及びメタンフェタミンは生成されない。インダン-1-イル-2-プロピニルアミンの(*R*)-体であるラサギリンは、(*S*)-体より MAO-B 阻害作用が約 1000 倍強い効力を有することから、非可逆的特異的 MAO-B 阻害剤として開発された。ヒト血漿中の生理的条件下、又は通常の保管条件で異性体へ転換しないことが確認されている。

本非臨床試験計画の目的は、ラサギリンを標的患者集団に推奨用量で安全に適切に投与することを支持するデータを得ることである。

当初、塩酸塩（TV5701182 又は TVP-101）を開発候補としていたが、後に安定性プロファイルがより良好であることから、メシル酸塩（TVP-1012）を開発候補とした。これらの 2 種類の塩で薬物動態及び毒性のプロファイルがほぼ同様であることは、非臨床試験で確認した。したがって、塩の変更以前に完了していた塩酸塩を用いた毒性試験を再度実施する必要はないと判断した。

非臨床（薬理、薬物動態及び毒性の項）の概要文及び概要表における投与量は、別途記載のない限りラサギリンの投与量（フリー体）として記載した。

主要な安全性試験は、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）によって定められたガイドライン及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。

本非臨床試験の概括評価では、ラサギリン塩基をラサギリン、TVP-101 をラサギリン塩酸塩、TVP-1012 をラサギリンメシル酸塩と表記する。本概括評価で考察する毒性評価で対象とした関連化合物はそれぞれの化学名で識別する。

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 薬理試験

ラサギリンの効力を裏付ける薬理試験としては、*in vitro* でのヒト及びラット由来の MAO-B 阻害作用の検討、*in vivo* での MAO-B 阻害作用、ドパミン代謝に対する作用、及びドパミン関連機能障害のモデルでの作用を検討した。副次的薬理作用としては、MAO-B 阻害以外の作用として神経保護作用について種々の *in vitro*、*in vivo* モデルでの検討を行った。安全性薬理試験としては、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験における一般状態観察、心電図及び血圧検査並びに麻酔ネコ及び覚醒ラットを用いた心血管系への影響を検討した試験において、ラサギリンの中枢神経系及び心血管系に及ぼす影響を評価した。呼吸系への影響については後述の背景から実施していない（2.4.2.3）。薬力学的薬物相互作用試験としては、臨床の場で併用される頻度が高いと想定されるレボドパとラサギリンを併用投与したときの薬力学的薬物相互作用の有無を検討した。

2.4.1.2 薬物動態試験

ラサギリンの薬物動態試験としては、放射能標識体及び非標識のラサギリンを用いて、体内分布、*in vivo* 及び *in vitro* での代謝、体外排泄等標準的な薬物動態試験を実施した。動物種としてはマウス、ラット及びイヌを用いた。また、薬物代謝酵素系の阻害及び誘導、薬物トランスポーターに対する阻害等、薬物間相互作用に関する検討を *in vitro* で行った。

2.4.1.3 毒性試験

ラサギリンの毒性試験としては、単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、並びに生殖発生毒性試験等からなる一連の毒性試験を実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

ラサギリンの主要な薬力学的作用は、MAO-B の選択的阻害作用である。ラサギリンの MAO 阻害に対する活性を、*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験で検討を行った。その結果、ヒト及びラットにおける *in vitro* 脳内 MAO-B 阻害の 50%阻害濃度（IC_{50}）は 2.5～20 nmol/L であり、MAO-A 阻害における IC_{50} の 1/20～1/90 であった。また、*In vitro* 肝 MAO-B 阻害においても、脳とほぼ同様の阻害活性及び MAO-B に対する選択性が認められた（2.6.2.2、表 2.6.2.2-1）。

In vitro でみられた脳及び末梢組織におけるラサギリンの高い阻害活性と相対的選択性は、単回投与後及び反復投与後の *in vivo* においても認められた（2.6.2.2、表 2.6.2.2-2、表 2.6.2.2-3）。*In vivo* で強力な脳内 MAO-B 阻害作用がみられたことから、ラサギリンは経口又は非経口投与後に血液脳関門を通過することが明らかになった。

ラット、イヌ及びコモンマーモセットを用いて、*in vivo* におけるラサギリンの MAO 阻害作用を検討した。ラットの脳及び肝臓における 50%効果用量（ED_{50}）比（MAO-A/MAO-B）

はそれぞれ77及び66と高く、ラサギリンは反復投与により選択的にMAO-Bを阻害することが示された。

ラサギリンの光学異性体である(*S*)-体の塩酸塩（TVP-102）及びメシル酸塩（TVP-1022）は、*in vitro* 及び *in vivo* で弱いMAO阻害活性を示したが、ラサギリンとは異なりMAO-Aと比較したときのMAO-Bに対する選択性は非常に低いか又はまったく認められなかった。また、ラサギリンの代謝物である1-(*R*)-アミノインダン（TVP-136）では、*in vitro* 及び *in vivo* で脳内MAO-Bの阻害作用は認められなかった（2.6.2.2、表2.6.2.2-1、表2.6.2.2-2）。

MAO-A及びMAO-Bは、ラサギリンの単回投与より反復投与の方が強く阻害された。これは非可逆的阻害の累積作用によるものと考える。実際、反復投与後のラットの脳及び肝臓のMAO-B阻害のED_{50}値はそれぞれ0.013及び0.014 mg/kg/日であり、単回投与後の同ED_{50}値と比べると、それぞれ約1/8及び1/3であった。MAOは非可逆的に阻害されるため、投与終了後にもMAOの不活化は維持された。活性の回復は検討した各動物種及び組織でMAOの代謝回転率に従い異なり、例えば、脳に比べ肝臓、腸管でのMAOの回復は早かった（2.6.2.2、図2.6.2.2-1）。

ラサギリンのMAOに対する阻害活性を、既存のMAO-B阻害剤（セレギリン）と比較検討した。阻害活性はセレギリンよりラサギリンの方が有意に強力であった。MAO-A阻害が軽微に認められるものの、ラットの脳内MAO-Bを80～90阻害する1日投与量は、ラサギリンはセレギリンの約1/20（0.05 mg/kg/日 対 1 mg/kg/日）であった（2.6.2.2、表2.6.2.2-3）。

ラサギリンのMAO-B阻害活性が強力であることは、マウス及びコモンマーモセットにおいて1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP)の神経毒性の抑制能がみられたことからも推定された。マウスを用いたMPTPの神経毒性試験で、MAO-B阻害活性はセレギリンよりラサギリンの方が強力であることが確認された。マウスでMPTPによる損傷を完全に抑制する上で必要なラサギリン塩酸塩の最小用量は、セレギリンの同用量の1/5であった（2.6.2.2、図2.6.2.2-2）。

ラットにラサギリンメシル酸をMAO-Bを選択的に阻害する0.05 mg/kg/日で反復皮下投与し、*in vivo* マイクロダイアリシス法で検討した。その結果、線条体の細胞外ドパミン濃度の上昇がみられた（2.6.2.2、表2.6.2.2-4）。このとき、ドパミン濃度が上昇しても、ドパミンの代謝物であるDOPAC及びHVAの濃度は減少しなかった。現時点では、この線条体におけるドパミン濃度の上昇は、内因性PEAの増加によるものと考えられる。PEAはMAO-Bの基質であり、MAO-B阻害剤を反復投与したときに蓄積されることが知られており、PEA濃度が上昇するとドパミンの放出が促進され、かつ再取り込みが抑制されると考えられる。

ハロペリドール又はα-MpTで誘発したドパミン関連機能障害の動物モデルにおいて、ラサギリンは正常な自発運動を回復させた（2.6.2.2、表2.6.2.2-5）。成熟ラットにラサギリン塩酸塩又はメシル酸塩を腹腔内に単回投与したところ、ハロペリドール誘発カタレプシー及びα-MpT誘発運動低下が抑制された。ラサギリンの単回投与後にみられた薬剤誘発ドパミン関連機能障害に対する拮抗作用は、MAOが阻害された結果、生理的なドパミン活性が回復したことによるものと考えられた。

ラサギリンメシル酸塩及び塩酸塩の反復投与では、低酸素で誘発した運動機能障害及び認知障害に対する改善効果が示された。低酸素負荷したラットにラサギリンを投与したとき、α-MpT誘発運動低下の抑制及びアンフェタミン誘発常同行動の増強がみられた（2.6.2.2、表

2.6.2.2-5）。低酸素負荷したラットにおける記憶能力及び学習能力（受動的回避、能動的回避及び水迷路）の低下は、ラサギリンを投与すると改善した（2.6.2.2、表 2.6.2.2-6）。また、ラサギリンの主要代謝物である 1-(*R*)-アミノインダンを投与したとき、α-MpT 誘発運動低下の回復活性がみられ、アンフェタミン誘発常同行動が増強され、受動的回避行動の低下が改善したことから、低酸素負荷したラットの低下した運動機能や認知機能に対するラサギリンの改善効果に寄与している可能性がある。ラサギリンと異なり、セレギリンでは低酸素負荷したラットにおいては、運動機能障害モデルでのみ改善効果がみられることもあったが、認知低下モデルでは効果が認められなかった。

ラサギリンの単回投与とは異なり、ラサギリン反復投与の効果の発現機序はより複雑で、神経保護作用が寄与していると考えられる。

2.4.2.2 副次的薬理試験

MAO-B 阻害作用以外のラサギリンの薬理作用の可能性を検討する目的で、中脳、大脳皮質及び海馬の初代培養ドパミン作動性神経細胞、PC12 細胞株及び SH-SY5Y 細胞株を用いて、*in vitro* におけるラサギリンの神経保護作用を検討した（2.6.2.3、表 2.6.2.3-1）。その結果、これらの細胞培養系において MAO 阻害活性のない PAI の(*S*)-体はほぼ同等の神経保護作用を示したため、ラサギリンの *in vitro* 神経保護作用が主にラサギリンの MAO 阻害作用以外の作用によるものと考えられる。更に、*In vitro* 神経保護作用をラサギリンとセレギリンとで比較したところ、ラサギリンの方が強力であった。また、NGF で分化誘導した PC12 細胞に酸素グルコース欠乏負荷を行ったところ、セレギリン代謝物である L-メタンフェタミンでは神経毒性が認められたのに対し、ラサギリン代謝物である 1-(*R*)-アミノインダンではこれらの細胞の生死に影響はみられなかった。したがって、1-(*R*)-アミノインダンは、上述のとおり、低酸素負荷したラットで低下した運動機能及び認知機能に対するラサギリンの改善効果に寄与している可能性はあるが、臨床におけるこれらの神経保護作用の寄与は不明である。

ラサギリンの神経保護作用は、*in vivo* 神経細胞傷害モデル〔低圧低酸素マウス、非開放性頭部損傷マウス、中大脳動脈永久閉塞局所脳虚血ラット、脳卒中易発性高血圧ラット、筋萎縮性側索硬化症（ALS）様症候群を呈する遺伝子導入 Cu/Zn SOD マウス、軸索切断により運動神経細胞アポトーシスを生じる未成熟ラット、6-ヒドロキシドパミン（6-OHDA）誘発黒質ドパミン作動性神経細胞変性を生じるラット〕で確認された（2.6.2.3、表 2.6.2.3-2）。

傷害動物モデルや易罹患性動物モデルにラサギリンを投与すると神経細胞の生存率が上昇することが確認されたが、これらの動物モデルで確認された運動、認知及び行動に関する機能性神経細胞の回復は、この神経細胞の生存率の上昇によるものと考えられる。*In vivo* モデルでも、ラサギリンを投与すると動物の生存率が上昇することが確認されている。*In vitro* で得られた所見と同様に、ラサギリンの *in vivo* 神経保護作用もラサギリンの MAO 阻害作用によるものではないと考えられる。

ラサギリンが特異的 MAO-B 阻害剤であることは、薬理作用発現濃度でカテコール-*O*-メチルトランスフェラーゼ等の他の重要な酵素が阻害されなかったこと、並びに神経細胞の受容体、トランスポーター及びイオンチャネルとの結合がほとんどみられなかったことによっても示された（2.6.2.3、表 2.6.2.3-3）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

1991 年に本剤の最初の臨床試験（CC547 試験）を海外で実施したが、それに先立ち単回投与毒性試験、反復投与毒性試験における一般状態観察、心電図及び血圧検査並びに麻酔ネコ及び覚醒ラットを用いた心血管系への影響を検討した試験において、ラサギリンの中枢神経系及び心血管系に及ぼす影響を評価した。一方、現行の「安全性薬理試験ガイドライン」（平成 13 年 6 月 21 日付 医薬審発第 902 号）では、臨床試験を開始する前に呼吸系に与える影響を評価することが求められているが、本剤においては既に海外で臨床試験を実施しており、国内における本剤の臨床試験の開始に際し、呼吸系に及ぼす影響に特化した安全性薬理試験は実施しなかった。この理由としては、これまでに実施したイヌのテレメトリー試験及び反復投与毒性試験でラサギリンの呼吸系に及ぼす影響がみられていないことから、ラサギリンの呼吸系に及ぼす影響に関する安全性薬理試験を改めて実施する必要はないと判断した。

ラサギリンが心血管系に与える影響については、イヌ、ラット、ネコ及び HEK293 細胞を用いて評価した。イヌを用いた試験では、覚醒下の動物にラサギリン（3 mg/kg）を単回経口投与し、テレメトリーによるモニタリングを行って、血圧、心拍数及び心電図（第 II 誘導）のパラメータを測定した。ラサギリン投与によるイヌの心血管系パラメータにおいて投与に関連した明らかな変化はみられなかった。ネコにおいてもラサギリン（最大 1 mg/kg 静脈内投与）による心血管作用は認められなかった。また、hERG チャネルを安定発現させた HEK293 細胞を用いて、ラサギリンメシル酸塩の hERG 電流に及ぼす影響を 1 μg/mL の濃度で検討した結果、hERG 電流の阻害は認められなかった。

ラサギリンを MAO-B を選択的に阻害する用量を上回る用量（2 mg/kg）でラットに反復経口投与したとき、心血管系パラメータに変化はみられなかった（2.6.2.4.1、表 2.6.2.4-1）。脊髄破壊ラットの血圧に対する影響をラサギリン（5 及び 10 mg/kg、単回静脈内投与）とセレギリン（5 及び 10 mg/kg、単回静脈内投与）とで比較評価した試験では、セレギリンのみで血圧が大幅に上昇した。これらの結果から、心血管系の安全性プロファイルはセレギリンよりラサギリンの方が良好であることが示唆された。

ラット及びイヌで検討したラサギリンの用量は、患者における臨床用量である 1 mg/日より 10 倍以上高い用量であり、十分な安全域が確認された。

ラサギリンメシル酸塩の経口投与が自発運動、行動、及び刺激反応を支配する中枢神経系機能に及ぼす影響をについて、ラットにおける Irwin 試験で観察した結果、ラサギリンによる異常はみられなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

ラサギリンはパーキンソン病患者に対してレボドパ非併用又はレボドパ併用として投与されることが想定される。ラサギリンとレボドパを併用投与したときの薬力学的相互作用の有無を検討した。一連の試験でレボドパによる昇圧反応に与える影響を、ラサギリンとセレギリンとで比較した（2.6.2.5、表 2.6.2.5-1）。MAO-B 阻害剤としての効力は、反復投与ではセレギリンよりラサギリンの方が、当初推定されていた 5 倍ではなく約 10 倍効力が高かった[2]。これらの試験の初期に用いられたセレギリンの用量はラサギリンの用量と比較して低かった。ただし、脊髄破壊ラットに両方の薬剤を 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与、更にレボドパを

単回静脈内投与すると、昇圧反応はセレギリンでは誘発されたが、ラサギリンでは誘発されなかった（2.6.2.5.1.1）。

ラサギリン（1 mg/kg/日）を 15 日間経口投与した後にレボドパとカルビドパを併用投与した試験では、昇圧反応は誘発されなかった（2.6.2.5.1.1）。

レボドパ/カルビドパを投与した患者で起立性低血圧が発現することがあるように、ラットにレボドパ/カルビドパを反復投与すると平均血圧が低下した（2.6.2.5.1.1）。ラサギリン（1 mg/kg）とレボドパ/カルビドパを投与したラットと生理食塩水とレボドパ/カルビドパを投与したラットの間に平均血圧に有意な差はなかった。レボドパ/カルビドパ投与後の降圧作用は、対照ラットよりセレギリン（5 mg/kg）を投与したラットの方が有意に大きかった。

上記の結果より、ラサギリンとレボドパ/カルビドパとを反復併用投与しても、レボドパ/カルビドパの降圧作用は増強されないと判断した。

また、MAO-A 阻害剤の服用中にチラミン含有量の多い食品（発酵製品、チーズ等）を摂取すると、致死的な昇圧作用が誘発されることがある。ラットを用いた複数の試験で、ラサギリンがチラミンによる昇圧反応に及ぼす影響を検討した（2.6.2.5.2、表 2.6.2.5-2）。ラサギリンを MAO-A が部分的にのみ阻害される薬理作用発現用量（最大 0.5 mg/kg/日、21 日間）で経口投与した後にチラミンを投与したが、昇圧反応は誘発されなかった。

2.4.2.5 薬理の考察及び結論

ラサギリンの主作用は選択的な MAO-B 阻害作用である。MAO-B を阻害すると、脳内のモノアミン、特にドパミンの濃度が上昇することによって、MPTP による神経毒性に対する保護作用、及び神経損傷によって低下した運動機能や認知機能の回復作用等の薬理効果が得られた。MAO 阻害活性とは別に、ラサギリンは *in vitro* 及び *in vivo* の神経変性モデルで顕著な神経保護効果を示した。ラサギリンが示したこれらの神経保護作用は副次的薬理作用と考えられる。従って、ラサギリンのパーキンソン病患者における有用な効果は、ラサギリンの MAO-B 阻害作用、及び神経保護作用といった複数の薬理作用によるものであると考えられるが、それぞれの実質的な寄与については不明である。

ラサギリンの MAO-B 阻害の効力に関しては、ヒト及びラットの脳における IC_{50} 値が 2.5～20 nM であった。経口投与後に血液脳関門を通過し、反復投与後においても MAO-B 阻害活性が維持された。*In vivo* で脳内 MAO-B が選択的に阻害されることは、ラット、マウス、イヌ及びコモンマーモセットで確認された。ラットで脳内 MAO-B 活性阻害率が 90%を上回るのに必要な 1 日経口投与量（0.05 mg/kg/日）は、セレギリンの同用量の約 1/10 であった。MAO-B 阻害の効力がセレギリンよりラサギリンの方が強力であることは、マウスの MPTP 神経毒性モデルでも示された。ラットの脳及び肝臓における ED50 比（MAO-A/MAO-B）はそれぞれ 45 及び 77 と高く、ラサギリンは反復投与後選択的に MAO-B を阻害することが示された。

ラットでの *in vivo* マイクロダイアリシスで、MAO-B を選択的に阻害する用量でラサギリンを反復経口投与したとき、線条体の細胞外ドパミン濃度は上昇するが、これに伴うドパミン代謝物濃度の減少はみられないことが確認された。ラサギリンを急性投与後に正常な自発運動が回復することは、ハロペリドール又は α-MpT で誘発したドパミン関連機能障害の動物モデルで示された。低酸素で誘発した運動機能障害及び認知障害のモデルにラサギリンを反

復投与（1～4 ヵ月間）すると、改善効果が認められた。一方、セレギリンは運動機能障害モデルで効果がみられるものの、認知障害モデルでは効果はみられなかった。

ラサギリン反復投与の有益な作用には、MAO-B 阻害作用に加えて神経保護作用が関与していると考えられる。ラサギリンは初代培養神経細胞及び神経細胞様の細胞株で生存率を上昇させた。ラサギリンの *in vitro* での神経保護活性は複数の *in vivo* 神経障害モデルで確認された。MAO-B に対する活性のないラサギリンの(*S*)-体がほぼ同等の神経保護作用を示したことから、ラサギリンの神経保護特性は MAO 阻害作用によるものではないことが示唆される。同系統における作用はセレギリンの方が小さく、さらにラサギリンとは異なりセレギリンでは神経毒性を有する代謝物（L-メタンフェタミン）が生成される。

臨床試験は、現行の「安全性薬理試験ガイドライン」（平成 13 年 6 月 21 日付 医薬審発第 902 号）及び「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価」（平成 21 年 10 月 23 日付 薬食審査発 1023 第 4 号）施行前に海外で開始された。ここに示す安全性薬理データはこれらガイドラインで実施が求められている範囲すべてを含むものではないが、これまでに実施されたラサギリンの非臨床試験結果に加え、臨床での使用実績も考慮すると、国内での本剤開発にあたり、動物を用いた安全性薬理試験をさらに実施する必要性はないと考えられた。患者に対する臨床用量であるラサギリンとして 1 mg/日の 10 倍以上高い用量で投与したイヌ及びラットで、ラサギリンは QT 間隔を含む心血管系パラメータに影響を及ぼさないことが示されている。また、ラサギリンとして 1 mg/日を投与した患者で測定された最高血漿中濃度（約 10 ng/mL）の 100 倍に相当する 1 μg/mL の濃度で hERG 電流の阻害は認められなかった。ラットを用いた Irwin 試験では、中枢神経系に望ましくない薬理作用を有する可能性は認められなかった。イヌを用いたテレメトリー試験、反復投与毒性試験で、呼吸系の有害事象は認められなかった。

ラサギリンはレボドパ併用として用いられることもあるため、ラサギリンがレボドパによる昇圧反応に与える影響を評価した。ラサギリンとレボドパ/カルビドパを反復併用投与しても、レボドパ/カルビドパの降圧作用は増強されなかった。ラサギリンを最大 0.5 mg/kg/日で 21 日間経口投与したラットで、チラミンによる昇圧反応は発現しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

マウス、ラット、イヌを用いてラサギリンの吸収、分布、代謝及び排泄を調べた。反復投与毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験の各試験では、ラサギリン及び代謝物 1-アミノインダンの全身（血漿）曝露量のトキシコキネティクスの測定を組み入れた。放射能標識体を用いた試験では、^{14}C-ラサギリンメシル酸塩（図 2.4.3-1）、^{14}C-ラサギリン塩酸塩及び ^{14}C-ラサギリンを使用した。また、ラット及びイヌを用いた試験で、ラサギリンとレボドパ及び末梢性脱炭酸酵素阻害剤であるカルビドパとを併用したときの薬物動態的薬物相互作用の有無を検討した。

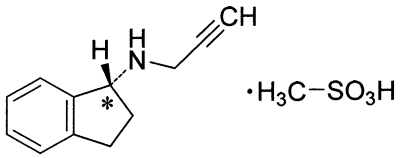


図 2.4.3-1　^{14}C-ラサギリンメシル酸塩の構造式

*: ^{14}C の標識位置

2.4.3.1 分析法

血漿中ラサギリン及び 1-アミノインダンは GC/MS を用いて、血漿中レボドパ及びカルビドパは HPLC を用いて測定した。分析法の開発及びバリデーションは 2.6.4.2 に示した。

2.4.3.2 吸収

(1) マウス

^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を CD-1 マウスに 1 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）の用量で単回経口投与すると、総放射能の血漿中濃度は 15 分で最大値に達し、その後速やかに低下した。45 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）で投与すると総放射能の血漿中濃度は 30 分で最大値に達し、その後緩やかに低下した（2.6.4.3.1）。ラサギリンの最大血漿中濃度（C_{max}）の算出値は用量 1 及び 45 mg/kg で 57 及び 1770 ng/mL であり、t_{max} における血漿中総放射能のそれぞれ約 12%及び 22%を占めた。

(2) ラット

ラットにラサギリンメシル酸塩を 0.2～3 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）の用量で静脈内投与すると、未変化体の終末相半減期は 0.5～1.6 時間であった（2.6.4.3.4.2（1）、表 2.6.4.3-13）。ラットにラサギリンメシル酸塩を 1 mg/kg の用量で静脈内投与したときの 1 日目のクリアランスは雄性及び雌性でそれぞれ 94.0 及び 126 mL/min/kg、分布容積は雄性及び雌性でそれぞれ 6.6 及び 5.5 L/kg であった（2.6.4.3.4.2（1）、表 2.6.4.3-13）。クリアランスは肝臓（29.8 mL/min/kg）及び腎臓（19.9 mL/min/kg）の血漿流量の平均値より大きく、分布容積は体内総水分量（0.67 L/kg）を上回った。

ラットにラサギリンメシル酸塩又は塩酸塩を等モル用量で単回経口投与したとき、ラサギリン及び 1-アミノインダンの全身曝露に差は認められなかった（2.6.4.3.2、表 2.6.4.3-2）。

雄性 Sprague Dawley ラットに ^{14}C-ラサギリン塩酸塩を 0.37 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）の用量で単回（強制）経口投与したとき、吸収は速やかであり、投与 15 及び 30 分後の時点で投与量の約 10～20%が消化管内容物から回収された（2.6.4.3.2）。総放射能の血漿中濃度は 15 分後に C_{max}（ラサギリンとして 275 ng/mL）に達し、61 時間の終末相半減期で消失した。投与後の同じ時点における総放射能の血漿中濃度は、雄性有色ラット及び雌雄白色ラットでほぼ同様であった。

(3) イヌ

イヌにラサギリンメシル酸塩を 0.5、2 及び 5 mg/kg/日（ラサギリンとしての投与量）の用量で 10 分間かけて静脈内投与すると、終末相半減期は 0.7～1.4 時間であった（2.6.4.3.4.2(2)、

表 2.6.4.3-15）。イヌにラサギリンメシル酸塩を 0.5 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）の用量で静脈内投与したときの 1 日目のクリアランスは雄性及び雌性でそれぞれ 46.5 及び 49.7 mL/min/kg であり、イヌの肝臓（17.9 mL/min/kg）及び腎臓（12.5 mL/min/kg）の血漿流量の平均値より大きかった（2.6.4.3.4.2（2）、表 2.6.4.3-15）。分布容積は 1 日目に雄性及び雌性でそれぞれ 3.9 及び 4.7 L/kg であった。分布容積は、イヌにおける体内総水分量（0.604 L/kg）を上回った。1-アミノインダンの曝露量は投与量を上回って増加し、また 1 日目より 28 日目の方が大きかった。代謝物比は、特に 28 日目に 5 mg/kg で大きかった。

イヌにラサギリンメシル酸塩又は塩酸塩を等モル用量で単回経口投与したとき、ラサギリン及び 1-アミノインダンの全身曝露に差は認められなかった（2.6.4.3.3、表 2.6.4.3-3）。

雄性ビーグル犬に ^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を 1 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与 1、2、4 及び 8 時間後の血漿中放射能成分を調べた（2.6.4.3.3）。血漿中放射能は、2 時間後に最高濃度の 935.5 ng/g に達した後低下し、最終採血時点（8 時間後）で 159.8 ng/g になった。採取した試料の TLC 分析を基に算出したところ、ラサギリン濃度は投与 1 時間後の 42 ng/g から減少し、8 時間後には 2.9 ng/g になった（2.6.4.5.1.2（2））。いずれの採血時点においても、血漿中放射能濃度と比べ全血中放射能濃度の方が低かった（2.6.4.3.3）。投与 1 及び 2 時間後におけるラサギリン及び 1-アミノインダンの濃度を定量したとき、ラサギリンは放射能投与量の 4.8%（1 時間後）及び 1.3%（2 時間後）、1-アミノインダンは放射能投与量の 4.7%（1 時間後）及び 4.6%（2 時間後）を占めた。したがって、血漿中放射能量のうちラサギリン及び 1-アミノインダンが占める割合は 10%に満たなかった。

（4）Caco-2 細胞透過性

トランスウェル上で培養した Caco-2 細胞を用いて、ラサギリンの頂端膜（apical（A））側から基底膜（basolateral（B））側への輸送について検討し、透過係数（Papp（$\times 10^{-6}$ cm/sec））により膜透過性を評価した。ラサギリンの 0.8、4.0 及び 8.0 μg/mL での Papp はそれぞれ 16.24～18.97、16.17～16.93 及び 17.14～18.72 であり、検討した濃度範囲で濃度依存性はほとんど認められなかった（2.6.4.3.5）。ラサギリンの Papp は高透過性として知られる化合物の Papp と同程度であったことから、ラサギリンの膜透過性は高いと考えられた。

2.4.3.3 分布

（1）組織分布

ラットに ^{14}C-ラサギリン塩酸塩を 0.37 mg/kg の用量で単回（強制）経口投与すると、大腸、膀胱及び涙腺（4 時間後）、小腸（2 時間後）、甲状腺（1 時間後）を除く組織の放射能濃度は投与 15～30 分後に最高濃度に達した（2.6.4.4.1）。検討したほとんどの組織において、総放射能濃度は全血中濃度よりも高かった。最も曝露量が大きかった組織は肝臓であり、次いで涙腺、膀胱、小腸、下垂体、肺、大腸、甲状腺、脳、胃、腎臓の順であった。放射能分布は血球と血漿とでほぼ同様であるとみられ、性腺の放射能濃度は雌雄のラットでほぼ同様であった。雄性有色ラットと雄性白色ラットで比較したところ、雄性有色ラットの方が眼及び皮膚における放射能濃度が高く、残留時間がやや長かった。上記の放射能の組織分布の定量パターンは、定量的全身オートラジオグラフィーでも確認された。オートラジオグラフィーでは、投与 24 時間後の時点で動脈壁に放射能が比較的高濃度で残留していることが示された。

（2）血球移行

^{14}C-ラサギリンを *in vitro* で雌雄のマウス、ラット、イヌ及びヒトの血液に添加した際の血球移行性を評価した（90、900 nmol/L）。血漿中への分配率は雄性マウス、ラット、イヌ及びヒトでそれぞれ64%、78～91%、91～99%及び89～96%、雌性マウス、ラット、イヌ及びヒトでそれぞれ58～60%、68～71%、84～85%及び68～74%であったことから、血球への分配はイヌとヒトで低く、ラット、マウスの順に高いと考えられた（2.6.4.4.2）。また、雄性に比べて雌性の方が血球移行は高かったが、濃度依存性はほとんど認められなかった。

（3）血漿蛋白結合

マウス、ラット、イヌ及びヒト血漿に^{14}C-ラサギリン塩酸塩を *in vitro* で添加し、限外ろ過法により血漿蛋白結合率を評価した。ラサギリンとして8.26、82.6、826及び8,264 ng/mLの濃度において、マウス、ラット及びイヌにおける蛋白結合率はそれぞれ、70.7～75.2%、75.2～81.3%及び80.9%～88.9%であり、イヌの最高濃度を除き検討した濃度範囲で濃度依存性はほとんど認められなかった。ヒトにおいてはラサギリンとして0.83、8.26及び82.6 ng/mLの濃度において、男性で90.4～93.7%、女性で88.6～92.8%であり、検討した濃度範囲で濃度依存性はほとんど認められなかった（2.6.4.4.2、表2.6.4.4-2）。^{14}C-ラサギリン塩酸塩を *in vitro* でヒト血清アルブミン（HSA）及びα_1-酸性糖蛋白質（AGP）溶液に添加し、限外ろ過法により蛋白結合率を評価した。ラサギリンとして0.83、8.26及び82.6 ng/mLの濃度において、^{14}C-ラサギリンとHSAの蛋白結合率は61.3～65.2%であり、検討した濃度範囲で濃度依存性はほとんど認められなかった。^{14}C-ラサギリンとヒトAGPの蛋白結合率は、33.8～64.1%であり、添加濃度上昇に伴い低下した（2.6.4.4.2）。イヌに^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を1 mg/kgの用量で単回経口投与後の *ex vivo* 蛋白結合率の平均値は、投与1時間後及び2時間後では17%であり、投与4時間後に28%、投与8時間後に44%に上昇した。

2.4.3.4 代謝

（1）*In vivo* 試験

1）マウス

CD-1マウスに^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を1又は45 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）の用量で経口投与すると、投与48時間までに投与放射能量の1.7%～3.5%が未変化体として尿中へ排泄された（2.6.4.5.1.1（1）、表2.6.4.5-1）。TLCにより、3-OH-PAI、1-アミノインダン、3-OH-AI、3-ケト-AI及び1-インダノンの5種類の代謝物が同定された。投与量に対する割合は、1-アミノインダンは約8～19%、3-OH-AIは約5～7%、その他の同定された代謝物はそれぞれ3%未満であった。また、未同定の高極性代謝物が検出され、投与量に対する割合は約32～43%であった。

2）ラット

ラットに^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を0.1又は3 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）の用量で単回経口投与し、48時間採取した尿試料中の代謝物組成を調べた（2.6.4.5.1.1（2）、表2.6.4.5-1）。放射能の排泄は速やかであり、大半は投与後24時間以内に排泄され、96時間後までに投与量の79.5～86.8%が回収された。TLCにより、3-OH-PAI、3-ケト-PAI、1-アミノ

インダン、3-OH-AI、3-ケト-AI、3-OH-AAI及び3-ケト-AAIの7種類の代謝物が認められた。主要代謝物は3-OH-AIであり投与量の約14～16%を占めた。2番目及び3番目に主要な代謝物であった1-アミノインダン及び3-OH-AAIは、それぞれ投与量の約8～11%及び約8～9%を占めた。同定されたその他の代謝物はいずれも投与量に対する割合は約3%以下であった。β-グルクロニダーゼで加水分解すると、1-アミノインダン、3-OH-PAI、ラサギリン及び主要代謝物以外の未同定代謝物由来の放射能の検出量が増大した。投与量の約30%が酵素処理により加水分解されない高極性の代謝物として排泄された。

3）イヌ

雄性ビーグル犬に^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を1 mg/kg（ラサギリンとしての投与量）の用量で単回経口投与し、血漿中及び尿中の代謝物についてLC/MSを用いて構造解析を行った。また、追加試験として、同じ試料を用いてTLCにより、代謝物組成を調べた（2.6.4.5.1.1（3）、表2.6.4.5-1、2.6.4.5.1.2（2））。

血漿ではトランス-3-OH-PAI、1-アミノインダン、3-OH-AI、3-ケト-AI、1-インダノール及び1-インダノンの6種類の代謝物が同定された。主要な非抱合代謝物は1-アミノインダン及び3-OH-AIであり、大半の試料で試料中放射能の約1～5%を占めた。その他の非抱合代謝物が試料中放射能に占める割合はいずれも約3%以下であった。β-グルクロニダーゼ/スルファターゼで加水分解すると、トランス-3-OH-PAI、1-アミノインダン、ラサギリン及び1種類の未同定代謝物由来の放射能の検出量が増大した（2.6.4.5.1.2（2））。

酵素処理による加水分解及びLC/MS分析により、尿中の主要放射能成分として3-OH-PAIの*O*-グルクロン酸抱合体が推定された。さらにLC/MS分析により、尿中に3-OH-PAI、1-アミノインダン及び3-OH-AIの存在が確認された。3-OH-PAIは尿中にシス体及びトランス体の両方が存在すると推定されたが、シス体は他の放射能成分と共に溶出したため確認には至らなかった。また、TLC及びHPLCによる分析では、ラサギリンが試料中放射能量に占める割合は2%未満であることが示され、また3-OH-PAI、1-アミノインダン、3-OH-AI及び3-ケト-AIの4種類の代謝物の存在が確認された。2種類の主要な非抱合代謝物（1-アミノインダン及び3-OH-AI）は投与放射能の約3%を占めた。3-ケト-AIが試料中放射能に占める割合は、投与0～8時間後は非常にわずかであったが、投与24～48時間後には7%であった。3-OH-PAIの抱合体は試料中放射能量の約50%を占めた（2.6.4.5.1.1（3）、表2.6.4.5-1）。

（2）*In vitro* 試験

マウス、ラット、イヌ及びヒト肝ミクロソームを用いて、*in vitro*でラサギリンの代謝を評価した。未処置のマウス、ヒト及びラットの肝臓及び肺のミクロソーム、並びにラサギリンメシル酸塩を投与したマウス（1又は45 mg/kg/日を28日間）及びラット（17 mg/kg/日を14日間）の肝臓及び肺のミクロソームを用いて、ラサギリンの肝代謝と肺代謝を比較する*in vitro*試験を実施した。生成した代謝物及び代謝経路の観点から、検討したすべての試験系（マウス、ラット、イヌ及びヒト）において、ラサギリンの*in vitro*代謝は定性的に類似していた。代謝の程度はヒトで最も低かった。ヒト肝ミクロソームにおいて生成した主要代謝物は1-アミノインダンであった。1-アミノインダン及び3-OH-PAIの生成は、CYP依存的な酸化的代謝によるものと示唆された（2.6.4.5.3.1）。

ラサギリンの代謝に関与するCYP分子種を*in vitro*において評価した。CYP分子種発現ミクロソームを用いた試験、及びCYP選択的阻害剤を用いた試験より、ラサギリンは主にCYP1A2によって代謝され、主代謝物として1-アミノインダンが生成することが示された（2.6.4.5.3.2）。

ヒト肝ミクロソームを用いた*in vitro*試験において、ラサギリンが各CYP分子種の標準基質代謝活性に阻害作用を及ぼす可能性を評価した。ラサギリンは、CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4又はCYP4Aをほとんど阻害しなかった（いずれも25%未満）。また、ラサギリンはCYP分子種に対して時間依存的阻害作用を起こさないことが示された。さらに、ヒト肝ミクロソームを用いて、3つのCYP分子種（CYP2B6、CYP2C8及び基質としてミダゾラムを用いたCYP3A4/5）についてラサギリンの阻害作用を評価した。ラサギリンによるCYP2B6、CYP2C8又はCYP3A4/5の直接的、時間依存的又は代謝依存的な阻害は3700 nmol/Lまでほとんどみられなかった。同様に、代謝物である1-アミノインダンのヒト肝ミクロソームにおける主要なCYP分子種に対する阻害の影響を評価した。1-アミノインダンによるCYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6又はCYP3A4/5の直接的、時間依存的又は代謝依存的な阻害は400 nmol/Lまでほとんどみられなかった（2.6.4.5.4）。

CYP分子種誘導におけるラサギリン及び1-アミノインダンの影響を検討した。ラサギリンは5 μmol/Lまで、1-アミノインダンは1.5 μmol/Lまで、CYP1A2、CYP2B6及びCYP3A4/5の活性並びにCYP1A2、CYP2B6及びCYP3A4のmRNA発現量の顕著な変動は認められず、CYP1A2、CYP2B6及びCYP3A4/5に対して臨床的に問題となる誘導作用を起こす可能性は低いと考えられた（2.6.4.5.5）。

2.4.3.5 排泄

（1）マウス

CD-1マウスに^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を1又は45 mg/kgの用量で単回経口投与すると、投与96時間後までに投与放射能量の73.6～75.2%及び5.8～8.8%がそれぞれ尿中及び糞中に排泄された（2.6.4.6、表2.6.4.6-1）。回収された総放射能の平均値は、1及び45 mg/kg群でそれぞれ91.7%及び90.1%であった。

（2）ラット

雄性Sprague Dawleyラットに^{14}C-ラサギリン塩酸塩を0.37 mg/kgの用量で単回経口投与すると、投与24時間後までに投与放射能量の79.7%が尿中に排泄された。以降、48、96及び168時間までの尿中への排泄は、それぞれ投与量の84.6%、87.0%及び89.4%であった（2.6.4.6、表2.6.4.6-2）。尿中排泄半減期は65時間であった。投与量に対する投与24及び168時間後までの糞中への排泄は、それぞれ投与量の3.9%及び5.8%であった。回収量の合計の平均値は95.3%であった。

（3）イヌ

雄性ビーグル犬に^{14}C-ラサギリンメシル酸塩を1 mg/kgの用量で単回経口投与すると、144時間後までに投与放射能量の93.1%が回収された（2.6.4.6、表2.6.4.6-3）。尿、糞及びケージ

洗浄液から回収された放射能量の合計の平均値は、それぞれ投与放射能量の 82.9%、5.3%及び 4.8%であった。放射能は初期に速やかに尿中及び糞中へ排泄され、24 時間後までに尿中への総排泄量の 90.2%、糞中への総排泄量の 65.2%が回収された。8～24 時間後の尿試料における代謝物組成では、ラサギリン及び 1-アミノインダンはそれぞれ投与量の 0.01～0.09%及び 2.7～4.2%を占めていた。以上より、投与 24 時間後までに尿中に排泄された総放射能に占めるラサギリン及び 1-アミノインダンの割合は 4.3%未満であった。

2.4.3.6 トキシコキネティクス

マウス、ラット及びイヌを用いたトキシコキネティクス試験で、経口及び経静脈で単回投与又は反復投与したときのラサギリン及びその代謝物 1-アミノインダンの曝露量を検討した。トキシコキネティクスのプロファイルは、低用量（最大約 5 mg/kg/日）では用量非依存性（線形）、高用量では用量依存性（非線形）を示した。ラサギリンは、動物種又は単回投与か反復投与かを問わず、また非常に幅広い用量範囲で、速やかに吸収され、通常投与 0.25～2.0 時間後までに C_{max} に達した。ラサギリンは、通常終末相半減期（$t_{1/2}$）約 1～2 時間で、血漿から消失した。

2.4.3.7 相互作用

（1）P-gp、BCRP 発現細胞における輸送

トランスウェル上で培養した MDCKII-MDR1 細胞、MDCKII-BCRP 細胞及びコントロール細胞を用いて、^{14}C-ラサギリン（0.3、3 及び 30 μmol/L）の A 側から B 側、B 側から A 側への輸送について検討し、Papp、排出比（$Papp_{B\rightarrow A}/Papp_{A\rightarrow B}$）及び補正した排出比（トランスポーター発現細胞での排出比/コントロール細胞での排出比）により P-gp、BCRP の基質であるか否かについて評価した（2.6.4.7.3（1））。対照として P-gp の基質であるジゴキシン（10 μmol/L）、BCRP の基質であるプラゾシン（1 μmol/L）、P-gp 阻害剤としてバルスポダール（10 μmol/L）、BCRP 阻害剤として Ko143（1 μmol/L）を用いた。ラサギリンの A→B 及び B→A 方向の透過係数は類似し、排出比はいずれの条件においても 2 未満であった。また、阻害剤の影響を受けなかったことから、ラサギリンは P-gp 及び BCRP の基質ではないことが示唆された。また、Papp に濃度依存性はほとんどみられず、ラサギリンの膜透過性は高いと考えられた。

（2）P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用

ラサギリン及び 1-アミノインダンによる各種トランスポーターに対する阻害作用を調べた（2.6.4.7.3（2））。Caco-2 細胞をトランスウェル上で培養し、P-gp の基質であるジゴキシン（10 μmol/L）の経細胞輸送に対するラサギリンメシル酸塩（30、100、300、1000、3000、5000 nmol/L）及び 1-アミノインダン塩酸塩（1、3、10、30、100、300 nmol/L）の影響を調べた。ラサギリン及び 1-アミノインダンの BCRP に対する阻害作用を検討するために、MDCKII-BCRP 細胞及びコントロール細胞をトランスウェル上で培養し、BCRP の標準基質であるプラゾシン（1 μmol/L）の経細胞輸送に対するラサギリンメシル酸塩（30、100、300、1000、3000、5000 nmol/L）及び 1-アミノインダン塩酸塩（1、3、10、30、100、300 nmol/L）の影響を調べた。また、ラサギリン及び 1-アミノインダンの OATP1B1、OATP1B3、OAT1、

OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用を検討するために、これらのトランスポーターの発現細胞及びコントロール細胞を用いて、各分子種の標準基質〔^{3}H-エストラジオールグルクロニド（50 nmol/L、OATP1B1 及び OATP1B3）、^{3}H-*p*-アミノ馬尿酸（1 μmol/L、OAT1）、^{3}H-エストロン硫酸（50 nmol/L、OAT3）、^{14}C-メトホルミン（10 μmol/L、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）〕の取り込みに対するラサギリンメシル酸塩（3、10、30、100、300、1000 及び 3000 nmol/L 又は 1、3、10、30、100、300 及び 400 nmol/L）及び 1-アミノインダン塩酸塩（0.3、1、3、10、30、100 及び 300 nmol/L）の阻害作用を調べた。ラサギリン及び 1-アミノインダンは、いずれのトランスポーターに対しても検討した濃度範囲において 50%以上の阻害作用を示さなかった。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

（1）マウス

ラサギリン塩酸塩を用いて雄に最大 529 mg/kg、雌に最大 1354 mg/kg を投与したところ、雄では 264 mg/kg 以上で、雌では 207 mg/kg 以上で死亡がみられた（2.6.6.2.1）。死亡は投与後 50 分から 44.5 時間の間にみられ、死亡及び生存動物にみられた異常は、自発運動減少、歩行失調、円背位、立毛であった。急性半数致死量（LD50）は、雄では 401 mg/kg、雌では 300 mg/kg であった。

（2）ラット

ラットにラサギリン塩酸塩を最大 397 mg/kg 投与したところ、雄では 155 mg/kg 以上、雌では 248 mg/kg 以上で死亡がみられた（2.6.6.2.2.3）。LD50 は、雄では 233 mg/kg、雌では 236 mg/kg であり、29～463 mg/kg の用量で投与した別試験においても、先の試験と同程度の投与量で死亡がみられた（2.6.6.2.2.2）。雌雄のラットにラサギリンメシル酸塩を最大 640 mg/kg 投与したところ、400 mg/kg 以上で投与後約 10 時間から 4 日目にかけて死亡がみられた（2.6.6.2.3）。LD50 は、雄では 245 mg/kg、雌では 268 mg/kg であった。ラサギリン塩酸塩及びラサギリンメシル酸塩を用いて比較したラットの単回投与経口毒性試験において、急性毒性所見は類似していた（2.6.6.2.2.1）。

ラサギリン塩酸塩の 69 mg/kg 以上をラットに静脈内投与したとき、投与後 10 分以内に死亡がみられた（2.6.6.2.2.4）。14 日間の観察期間終了時まで生存したラットにみられた投薬起因の主な一般状態所見は、あえぎ呼吸、眼瞼下垂、流涎、尿失禁、間代性痙攣、歩行失調、振戦、腹臥位であった。LD50 は、75 mg/kg（雄）及び 69 mg/kg（雌）であった。

（3）イヌ

ラサギリン塩酸塩 0.7～84 mg/kg の範囲内の 2 用量を雌雄のイヌに単回経口投与する最大耐量（MTD）試験（2.6.6.2.3）を実施した。なお、14 mg/kg の用量は、3 日間投与した。84 mg/kg を単回経口投与したイヌは、流涎、嘔吐、下痢、摂餌量の減少がみられ、投与 2～3 日後に死亡した。その他、顕著な一般状態所見はみられなかった。剖検では、胸膜、心臓、胸腺、腹膜、胆嚢、胃腸管の出血等の所見が認められた。下痢は 42 mg/kg でも認められ、14 及び 21 mg/kg では流涎が認められた。MTD は 42 mg/kg と判断した。

2.4.4.2 反復投与毒性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む）

2.4.4.2.1 ラサギリンの試験

（1）マウス

マウスがん原性試験の用量設定を目的とした試験を実施した。ラサギリンメシル酸塩を17.5～70 mg/kg の用量で 4 週間経口投与し（2.6.6.3.1.1）、5～100 mg/kg の用量で 13 週間経口投与した（2.6.6.3.1.2）。4 週間の試験では、全投与群、特に 45 mg/kg/日以上の群の雌で著明な体重増加量の減少が認められ、30 mg/kg/日以上の群の雄では軽微な肝細胞肥大を伴う肝重量の有意な増加が認められた（2.6.6.3.1.1）。13 週間試験では、45 mg/kg/日以上の群の体重増加量が試験期間の前半に対照群と比較して減少した（2.6.6.3.1.2）。100 mg/kg/日群の雌では、本変化は試験期間を通じてみられた。15 mg/kg/日以上を投与した雌及び 45 mg/kg/日以上を投与した雄では、活動亢進による飼料のこぼし量の増加がみられた。60 mg/kg/日以上の群の雄では肝臓の絶対値重量の平均値が増加し、45 mg/kg/日以上の群の雄及び 60 mg/kg/日以上の群の雌では体重に対する肝臓の相対値重量が増加し、45 mg/kg/日以上の群の雄では脳重量に対する肝臓の相対値重量も増加した。病理組織学的検査において、15 mg/kg/日以上の群の雄及び 60 mg/kg/日以上の群の雌で小葉中心性からび漫性の肝細胞肥大が認められた。

マウスに 5、45 及び 60 mg/kg/日を 13 週間経口投与した試験において、投与期間の 1、30、90 日目にラサギリン及びその代謝物である 1-アミノインダンの血漿曝露量を測定した（2.6.6.3.1.2）。C_{max} 及び AUC の平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.3.4.1（1））に示した。

（2）ラット

4 週間経口投与試験では、ラットにラサギリン塩酸塩を 0.14、0.7、2.8 及び 14.0 mg/kg/日の用量で投与した（2.6.6.3.2.1）。被験物質に対する忍容性は良好であり、病理組織学的検査で影響は認められなかった。14.0 mg/kg/日群では、雄雌共に摂餌量及び飲水量の減少と相関して体重増加量の減少が認められた。14.0 mg/kg 群の雄雌のラットは、いずれもそれぞれの対照群と比較して尿量が減少し、尿濃縮によりアルカリ性が増加した。

4 週間投与トキシコキネティクス試験では、Sprague-Dawley ラットにラサギリンメシル酸塩を 0.85、5.1 及び 17.0 mg/kg の用量で経口投与した（2.6.4.3.4.1（2））。5.1 及び 17.0 mg/kg/日群では、4 週間の投与期間中に 0.85 mg/kg/日を投与したラットと比較して用量に相関した体重増加量及び摂餌量の減少がみられた。これらの所見は、前述の 4 週間経口投与試験と同様であった。1 及び 28 日目に、GC/MS 法によりラサギリン及びその代謝物の 1-アミノインダンに対する全身（血漿）曝露量を測定した。C_{max} 及び AUC の平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.3.4.1（2）、表 2.6.4.3-7）に示した。

13 週間投与試験では、Sprague-Dawley ラットにラサギリン塩酸塩を 0.7、3.1 及び 14.0 mg/kg/日の用量で強制経口投与した（2.6.6.3.2.2）。3.1 及び 14.0 mg/kg/日では、過敏行動及び流涎がみられ、ときおり攻撃性も認められた。3.1 及び 14.0 mg/kg/日群では、摂餌量及び飲水量の減少と共に体重増加量が減少した。0.7 mg/kg/日を投与した雄でも、摂餌量の減少が認められた。高用量（14.0 mg/kg/日）群の雄 20 例中 5 例及び雌 20 例中 8 例に軽微な小葉中心性肝細胞肥大がみられた。GC/MS 法により、1 及び 90 日目にラサギリン及びその代謝物の 1-ア

ミノインダンに対する血漿曝露量を測定した。C_{max}及びAUCの平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.3.4.1（2）、表2.6.4.3-8）に示した。

26週間投与試験では、Sprague-Dawleyラットにラサギリンメシル酸塩を0.85、5.1及び17.0 mg/kg/日の用量で経口投与した（2.6.6.3.2.3）。17.0 mg/kg/日群の雄1例が、同じケージ内の動物との格闘により外傷を受けたために、投与2週目に安楽死処置を行った。また、同用量を投与した雌1例は自然発生性の悪性リンパ腫のために投与13週目に死亡した。17.0 mg/kg/日を投与した主に雄で、投与期間前半に攻撃性及び抑制行動が散発的にみられた。5.1及び17.0 mg/kg/日を投与した雄雌では、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。また、0.85 mg/kg/日を投与した雄においても、体重増加量及び摂餌量の軽度な減少が認められた。17.0 mg/kg/日では、肝重量が増加した。17.0 mg/kg/日を投与した雄雌で被験物質に起因する小葉中心性肝細胞肥大がみられ、5.1 mg/kg/日を投与した雌でも同変化の発生頻度が高かった。17.0 mg/kg/日を投与した雌では、甲状腺濾胞肥大の発生頻度も増加していた。本試験のNOAELは5.1 mg/kg/日と判断された。

ラサギリンメシル酸塩による全身毒性の有無を調べるために、ラットにラサギリンメシル酸塩を0.2、1.0及び3.0 mg/kgの用量で約10分間の静脈内インフュージョンにより4週間連日投与した（2.6.6.3.2.5）。その結果、1.0 mg/kg以上の群の雌及び3 mg/kg群の雄に認められた摂餌量及び体重増加量の減少を除いて、被験物質に起因する所見はみられなかった。1及び28日目に、GC/MS法によりラサギリン及びその代謝物の1-アミノインダンの血漿中薬物濃度を測定した。C_{max}及びAUCの平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.3.4.2（1）、表2.6.4.3-13）に示した。

（3）イヌ

イヌにラサギリン塩酸塩を0.28、1.4、7.0及び14.0 mg/kg/日の用量で4あるいは5週間経口投与したところ、投薬起因による異常は認められなかった（2.6.6.3.3.1）。

イヌにラサギリンメシル酸塩を0.85、5.1及び21.0 mg/kg/日の用量で経口投与し、ラサギリン及びその代謝物である1-アミノインダンの血漿曝露のプロファイルを明らかにするために、28日間トキシコキネティクス試験を実施した（2.6.6.3.3.2）。一般状態所見として、流涎、液状便及び嘔吐が散発的にみられただけであった。21.0 mg/kg/日群では、体重増加量が群平均値及び個体値としてわずかに減少した。血漿中薬物濃度測定はGC/MS法で行った。C_{max}及びAUCの平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.3.4.1（3）、表2.6.4.3-10）に示した。

ラサギリン塩酸塩のイヌ13週間投与試験を、0.7、1.9、5.2及び14.0 mg/kg/日の用量で実施した（2.6.6.3.3.3）。投薬起因の一般状態変化は認められなかった。14.0 mg/kg/日群では、他の群と比較して体重増加量がわずかに少なかった。14.0 mg/kg/日群の雌1例では、限局性の胆管過形成及び肝重量のわずかな高値が認められた。この病変は、52週間試験における高用量群（21 mg/kg/日群）では認められなかった。投与群においてその他の所見は認められなかった。血漿中薬物濃度測定として試験開始後1及び85日目にラサギリン及びその代謝物の1-アミノインダンの全身（血漿）曝露量の定量を行った。方法はGC/MS法で測定した（4.2.2.1-1）。C_{max}及びAUCの平均値を概要文（2.6.4.3.4.1（3）、表2.6.4.3-11）に示した。

イヌを用いて26週目に中間剖検を行う1年間経口投与試験を実施した（2.6.6.3.3.4）。ラサギリンメシル酸塩を0.85、5.1及び21.0 mg/kg/日の用量で投与した。21.0 mg/kg/日群の雌1

例で、33 週目に 1 回のみ痙攣がみられ、51 週目に死亡した。詳細な剖検及び病理検査を行ったが、正確な死因は特定されなかった。21.0 mg/kg/日群の雄の平均体重増加量は、その他の群と比較して有意な低値であった。本試験の NOAEL は 5.1 mg/kg/日と判断された。

ラサギリンメシル酸塩による全身毒性の有無を調べるために、0.5、2.0 及び 5.0 mg/kg/日の用量を 5%マンニトールに溶解し、10 分間かけて静脈内投与する 4 週間の試験を実施した（2.6.6.3.3.6）。その結果、毒性学的に有意な変化は認められなかった。5.0 mg/kg/日群の雄 2 例にごく軽度の小葉中心性又は小葉中間帯の肝細胞肥大が認められ、比体重肝重量が 5.0 mg/kg/日群では雄雌共に増加し、2.0 mg/kg/日群では雌で増加がみられた。1 及び 28 日目に、GC/MS 法を用いてラサギリン及びその代謝物 1-アミノインダンを測定する血漿中薬物濃度試験を行った。C_{max} 及び AUC の平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.3.4.2（2）、表 2.6.4.3-15）に示した。

2.4.4.2.2 ラサギリン／カルビドパの反復投与併用毒性試験

（1）ラット

ラサギリンメシル酸塩/カルビドパ/レボドパの併用投与を、ラットに 0/0/0、1.0/0/0、0/80/20、0.1/80/20、0.25/80/20（雄のみ）、0.5/80/20、及び 1.0/80/20 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与により実施した（2.6.6.3.4.1(3)）。この試験の用量は、一連の予備毒性試験及び血漿中薬物濃度試験を参考に設定した。ラットへの投与は、約 8 時間間隔で 1 日 2 回行い、1 回目はラサギリン/カルビドパ/レボドパを投与し、2 回目はカルビドパ/レボドパのみを投与した。ラサギリン/レボドパ/カルビドパの併用投与で生じた毒性所見は、ドパミン作用の増強に起因するもののみであった。血漿中薬物濃度試験として 30 日目にラサギリン、その代謝物の 1-アミノインダン、カルビドパ及びレボドパに対する全身（血漿）曝露を定量した。C_{max} 及び AUC の平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.7.1(2)、表 2.6.4.7-3）に示した。ラサギリンメシル酸塩をカルビドパ/レボドパと併用投与した場合、投与 30 日目のラサギリン及び 1-アミノインダンの曝露量は低下した。レボドパ/カルビドパの曝露量は、ラサギリンメシル酸塩との併用による影響を受けなかった。

（2）イヌ

ラサギリンメシル酸塩を 0.3、1.0 及び 2.0 mg/kg/日の用量で、80/20 mg/kg/日のレボドパ/カルビドパと併用してイヌに 13 週間経口投与した（2.6.6.3.4.2）。ラサギリンは 1 日 1 回投与し、レボドパ/カルビドパは等量に 2 分割して 1 日 2 回投与した。80/20 mg/kg/日のレボドパ/カルビドパを投与した群とラサギリン 2.0 mg/kg/日のみを投与した群の比較を目的とし、用量はラサギリンを 2.0 mg/kg/日を超える用量で 80/20 mg/kg/日のレボドパ/カルビドパと併用投与した場合に、体重減少の有無を確認した予備試験を参考にして設定した。ラサギリン/レボドパ/カルビドパの併用投与で生じた毒性所見は、ドパミン作用の増強に起因するもののみであった。血漿中薬物濃度試験として投与 6 週目に、GC/MS 法を用いてラサギリン、代謝物 1-アミノインダン、レボドパ及びカルビドパの血漿曝露を定量した。C_{max} 及び AUC の平均値を薬物動態試験の概要文（2.6.4.7.2、表 2.6.4.7-4）に示した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

ラサギリンが *in vitro* 及び *in vivo* の両条件下で変異原性及び/又は染色体異常を誘発する可能性を評価する試験を実施した。また、ラサギリン/レボドパ/カルビドパを経口投与したマウスにおいて骨髄小核が誘発される可能性を評価する試験も実施した。選択した試験系のエンドポイント及び感度の妥当性を検証するために適切な陽性対照を使用した。一連の標準的な *in vitro/in vivo* 遺伝毒性試験の結果に加えて、得られた結果の性質及びヒトの安全性に対する関連性を検討するための試験を行った。

In vitro 試験で使用した濃度は塩として表示し、*in vivo* 試験で使用した用量は塩基として表示する。

2.4.4.3.1 非哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験

ミクロソームを用いたサルモネラ菌（TA1535、TA1537、TA98、TA100 及び TA102 あるいは TA1535、TA1537、TA98、TA100 及び TA1538 株）のプレートインコーポレーション法エームス試験にて、メシル酸塩（TVP-1012）及び塩酸塩（TVP-101）の原核細胞における変異原性を検討した。メシル酸塩の 2 バッチ（P99208 及び 23029101-132）及び、塩酸塩の 1 バッチ（TV-5701182）について試験を実施した（2.6.6.4.1）。メシル酸塩は、50～5000 μg/プレートの濃度範囲で試験を実施した。塩酸塩では 2500 μg/プレートを超える濃度で背景菌の減少が観察されたため、変異原性試験で使用する濃度範囲は 25～2500 μg/プレートとした。これらいずれの試験においても S9 の有無にかかわらず、復帰突然変異コロニー数に統計的に有意な増加は認められなかった。

2.4.4.3.2 哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験

ラサギリンメシル酸塩の真核細胞における変異原性誘発能を評価するため、マウスリンフォーマ L5178Y 細胞のチミジンキナーゼ（TK）遺伝子座における変異原性を検出する前進突然変異試験を実施した（2.6.6.4.2.2）。

予備試験で、S9 存在下ではラサギリンはマウスリンフォーマ L5178Y 細胞に顕著な細胞毒性を示した。また、不死化したマウスリンフォーマ L5178Y 細胞に対するラサギリン塩の S9 存在下における細胞毒性は、非不死化細胞より強いことも明らかになった。この点について、不死化した CHO-K1-BH_4 チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株と薬物代謝能を有する非不死化シリアンゴールデンハムスター胚（SHE）細胞株に対するラサギリンメシル酸塩の細胞毒性をさらに比較検討した。S9 非存在下では、ラサギリンは、3.93～2000 μg/mL の濃度範囲で CHO 細胞に対して細胞毒性を示した。S9 存在下では、7.85 μg/mL 以上で細胞毒性を示したが、試験系にグルタチオンを添加することで減弱した。SHE 細胞は全く異なる反応を示し、上限 2000 μg/mL まではグルタチオンの有無にかかわらず細胞毒性を示さなかった。このように、ラサギリンの強い細胞毒性は、形質転換不死化細胞株に限定されていた。初代細胞株に対する細胞毒性は、細胞株が薬物代謝能を有している場合でもはるかに低かった。

そのため、S9 存在下及び非存在下でラサギリンメシル酸塩の突然変異誘発能をマウスリンフォーマ細胞で評価した（2.6.6.4.2.2）。また、S9 存在下で試験系にグルタチオンを添加したときの影響も検討した。S9 非存在下では、ラサギリンメシル酸塩は 1250 μg/mL 未満でマウスリンフォーマ細胞に著しい細胞毒性を示さなかったため、200～1000 μg/mL の範囲で突

然変異頻度を分析した。1000 μg/mL での突然変異頻度は、陽性反応の判定基準の最小値をわずかに上回った。S9 存在下でグルタチオン非存在下では、ラサギリンメシル酸塩は 0.25 μg/mL から中程度の細胞毒性を示し、5.0 μg/mL では強い細胞毒性を示した。0.25 及び 5.0 μg/mL 処理で突然変異頻度が上昇し陽性判定基準を超えたが、中間用量（0.5、1.0、2.5 μg/mL）では突然変異頻度は上昇しなかったことから、用量反応関係は確認されなかった。S9 とグルタチオンの存在下では、10.0～100.0 μg/mL の濃度範囲で突然変異頻度を分析した。陽性判定基準を満たす用量相関的な突然変異頻度の上昇が認められたが、それは 50.0 μg/mL 以上のみであった。

このように、ラサギリンメシル酸塩は、マウスリンフォーマ試験で S9 存在下で陽性反応を引き起こし、極めて強い細胞毒性も認められた。また、構造的に関連したパルギリンの試験（2.6.6.4.2.1）でも同様の反応が得られ、この反応は試験系にグルタチオンを添加することで抑えられた。S9 存在下で認められたラサギリンのマウスリンフォーマ細胞（形質転換不死化細胞株）に対する細胞毒性は、薬物代謝能を有する SHE 細胞株（初代細胞株）では明らかではなかったため、マウスリンフォーマ試験で認められた反応は臨床的意義のあるハザードを予見するものではないと考えられる。

ラサギリン（塩酸塩及びメシル酸塩）の染色体異常誘発能を末梢血ヒトリンパ球の初代培養細胞を用いて検討した場合、広範囲の濃度において有糸分裂阻害が認められた。この現象の反応曲線は閾値濃度（約 30 μg/mL）を超えるとプラトーに達し、用量依存性は消失した。S9 非存在下では、有糸分裂阻害が 50%を超える濃度でさえ、染色体異常を有する細胞頻度の増加は認められなかった。S9 存在下では、有糸分裂阻害がプラトーに達している濃度範囲において、染色体異常を有する細胞の頻度がわずかではあるが、統計的に有意（$p < 0.01$）に増加した。

ラサギリンの構造に類似しており、TVP-140 として特定されているセレギリン及びパルギリンの試験から、この現象がラサギリンに特有なものではないことが示された。また、細菌のコンタミネーション及び増殖を抑えるために細胞培養培地に通常添加している抗生物質（ゲンタマイシン硫酸塩）は、他の抗生物質と比較してパルギリンとより相互作用が強いことが明らかになった[3]。そこで、培地中のゲンタマイシンの存在が、パルギリンとの培養後にヒトリンパ球細胞で認められた染色体異常誘発性に対する影響を検討した。その結果、パルギリンによる染色体異常を有する細胞の増加は、ゲンタマイシンの存在下で最大となり、ゲンタマイシンの非存在下では減弱することが明らかになった。

S9 の存在下で、1 mmol/L グルタチオンの存在及び非存在下、並びにゲンタマイシンの非存在下において、ラサギリンメシル酸塩が末梢血ヒトリンパ球で染色体異常を誘発する可能性を検討した。グルタチオン存在下では、ラサギリンメシル酸塩 2673 μg/mL（10 mmol/L）までの濃度で染色体構造異常を有する細胞の発生率、数的異常を有する細胞の割合、又は核内倍加が誘発された細胞の割合に、増加は認められなかった。グルタチオン非存在下では、細胞をラサギリンメシル酸塩存在下で 3 時間培養し、19 時間後に細胞を回収したとき、10 mmol/L で染色体構造異常がごくわずかに増加したが、数的異常を有する細胞の割合又は核内倍化が誘発された細胞の割合は増加せず、処理開始から 46 時間後に細胞を回収したときには、そのような変化は認められなかった。

2.4.4.3.3 哺乳動物系での *In vivo* 試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む）

ラサギリンメシル酸塩は200 mg/kgが最大耐量と確認した後（2.6.6.4.3）、マウスに50、100、200 mg/kgの用量を単回経口投与する小核試験を実施した。投与24、48、72時間後に標的細胞における毒性を示唆する現象は見られず、また小核多染性骨髄赤血球頻度の増加は認められなかった。また、ラサギリンメシル酸塩をレボドパ/カルビドパと併用投与した後、マウス骨髄の小核頻度が増加しないことも明らかになった（2.6.6.4.3）。^{14}C標識物質を用いた別試験で、ラサギリン及びその主要代謝物である1-アミノインダンの骨髄曝露は全血中の濃度を上回ることが確認された（2.6.6.4.3）。

ラサギリンは、S9存在下でマウスリンフォーマL5178Y細胞の変異細胞発生率を高め、末梢ヒトリンパ球における染色体異常の頻度を高める作用が認められている。これらの作用はラサギリンの直接的な影響でない可能性が考えられ、ヒトにおける発がんを予見するものではないと考えられたが、*in vivo/in vitro* 不定期DNA合成試験を実施した。用量設定試験でラサギリンメシル酸塩は200 mg/kgが最大耐量であると確認されたため、25～200 mg/kgの用量をラットに経口投与し、肝細胞を採取して細胞を培養した（2.6.6.4.3）。肝細胞は投与から2～3時間後及び15～16時間後に肝臓を採取したものを用いた。200 mg/kgは顕著な毒性（2例の死亡を含む）がみられ、同用量の投与15～16時間後の肝細胞は培養することができなかった。そのため、50、100、200 mg/kgを投与したラットからは投与2～3時間後に、25、50、100 mg/kgを投与したラットからは投与15～16時間後に肝細胞を採取して、不定期DNA合成を評価した。ラサギリンメシル酸塩は、これらの条件下で不定期DNA合成を誘発することを示す結果は得られなかった。

2.4.4.4 がん原性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む）

（1）マウス

ラサギリンメシル酸塩を、0、1、15及び45 mg/kg/日の用量でCD-1マウス雄55例及び雌55例の群に104週間経口投与した（2.6.6.5.1）。この用量は、17.5、30、45、70 mg/kg/日で4週間経口投与した用量設定試験（2.6.6.3.1.1）及び5、15、45、60、100 mg/kg/日で13週間投与した用量設定試験（2.6.6.3.1.2）の結果を考慮して選択した。

予備試験では、45 mg/kg/日以上の用量を経口投与した雌雄のマウスで、対照群と比較して明瞭な体重増加量の減少がみられた。同投与量群においては、ラサギリンで誘発された活動亢進による餌こぼし量の増加がみられ、それによるみかけ上の摂餌量増加が認められた。器官重量では、60 mg/kg/日以上を投与した雄の肝重量平均値、45 mg/kg/日を投与した雄及び60 mg/kg/日以上を投与した雄雌の肝重量/体重比、並びに45 mg/kg/日以上を投与した雄の肝/脳重量比に、対照群と比較して統計学的に有意な高値が認められた。病理組織学的検査では、15 mg/kg/日以上の群の雄及び60 mg/kg/日以上の群の雌で小葉中心性からび漫性の肝細胞肥大がみられた。ラサギリンとその代謝物1-アミノインダンのトキシコキネティクスパラメータを統計学的に比較した結果、45 mg/kg/日以上の群で代謝経路の飽和及び/又はラサギリンの代謝プロセスの遅延の可能性が示された。

がん原性試験終了時の生存率は、雄ではそれぞれ46、32、40、29%、雌では49、33、42、33%であった。投与群の雄の累積平均体重増加量は、対照群の値のそれぞれ98、94、87%であった。雌では、投与群の累積平均体重増加量は、対照群の値のそれぞれ93、92、77%であ

った。餌こぼし量の増加から示された活動亢進は、45 mg/kg/日群で特に明らかであった。その他、投薬に起因する変化として、雄の 45 mg/kg/日群における被毛粗造、被毛の黄色化（毛づくろい行動の欠如）、並びに腹部皮膚の黄色化（尿による被毛汚染と推察）の発生率の増加が認められた。この用量群では、腹部の腫脹及び振戦の増加も認められた。

投薬に起因する非腫瘍性変化が雄雌の肝臓及び雄の膀胱にみられた。15 mg/kg/日以上の投与群で、肉眼的な肝臓の肥大、病理組織学的な肝細胞肥大、壊死、小葉中心性色素沈着、巨大核、分裂像の増加が認められた。45 mg/kg/日を投与した雄で病理組織学的な膀胱拡張が剖検時の肉眼所見に一致してみられ、MAO 阻害により薬理学的に誘発されるドパミン濃度増加による排尿効果に関連する変化と考えられた[4]。

対比較の結果では、雌雄で細気管支・肺胞腺腫/癌の発生率が、雄でハーダー腺の腺腫/癌の発生率が統計学的に有意に上昇した。しかしながら、これらの腫瘍は CD-1 マウスでしばしば自然発生するものであり、傾向検定の結果では、雄マウスのハーダー腺の腺腫/癌の発生率及び雌マウスの細気管支・肺胞腺腫/癌の発生率は、発がん性陽性基準（$p \leq 0.005$）を満たさなかった[5]。雄においては細気管支・肺胞腺腫/癌の発生率の p 値は、傾向検定において $p = 0.0002$ であった。しかしながら、その発生率は、試験施設の CD-1 マウスの背景データ範囲（雄は最大 46%、雌は最大 28.6%）と比較すると、45 mg/kg/日群においても雌はそれをわずかに上回るのみであり、雄はその範囲内であった。

30 日目（投与後 8 時間までの AUC 算出に必要な採血時点）及び 26 週目の終了時（投与後 15 分及び 2 時間時点）において、GC/MS 法（4.2.2.1-7）によりラサギリン及びその代謝物 1-アミノインダンの全身（血漿）曝露量を定量した。52 週終了時に投与 15 及び 30 分後に採取した血漿試料を保存したが、その後、分析せずに廃棄した。1 mg/日を投与したヒトに対するマウスのラサギリン曝露比（AUC マウス/AUC ヒト）は、1、15 及び 45 mg/kg/日を投与した雄でそれぞれ 6、213、1418、雌でそれぞれ 4、144、419 であった（2.6.6.5.1）。

表 2.4.4.4-1　がん原性評価に使用した用量を 30 日間投与したマウスにおけるラサギリン及び 1-アミノインダンの全身（血漿）曝露量

性別	用量(mg/kg/日)	30 日間			
		C_{max} (ng/mL)		$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	
		ラサギリン	1-アミノインダン	ラサギリン	1-アミノインダン
雄	1	83	148	65	292
	15	2071	1520	2349	5841
	45	4347	2837	15673	25820
雌	1	65	95	53	201
	15	1260	1243	1933	4886
	45	2741	1960	5613	10971

臨床試験で得られたヒト曝露データ：1 mg/日投与時の AUC が 11.05（男性）及び 13.39（女性）ng·hr/mL。（TVP-1012/231：パーキンソン病患者における新規 MAO-B 阻害剤の TVP-1012 の忍容性）

（2）ラット

ラサギリンメシル酸塩のラットにおけるがん原性を評価するために、ラットの各群雄 65 例に 0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg/日を、各群雌 65 例に 0.5、2.0、5.0 及び 17.0 mg/kg/日を 1 日 1 回 104 週間経口投与した（2.6.6.5.2）。対照群にはそれぞれ雄 65 例及び雌 65 例からなる 2 群を設定した。投与量は毒性学的及び薬物動態学的指標の組み合わせを用いて設定され、こ

れら指標は、既に終了した群飼条件下での毒性試験に加えて、群飼条件下で確立された毒性プロファイルが単飼条件により影響を受けないことを確認したラット試験の結果から決定された。選択した用量は、試験を通じて体重増加量を少なくとも10%抑制すると予想された。

試験終了時の生存率は、雄の群でそれぞれ32、31、38、34、37%（0、0、0.3、1.0、3.0 mg/kg/日群に対して）、雌の群で34、34、35、25、31、34%（0、0、0.5、2.0、5.0、17.0 mg/kg/日群に対して）であった。投薬に直接起因する生存率への影響はなかったが、3.0 mg/kg/日群の雄では、ラサギリンの内因性ドパミン濃度に対する作用との関連が考えられる高頻度の尿路系の炎症に関連した死亡が発生した。しかし、この死亡は52週目の停電及び78週目の採血処置と一致して生じており、それらの要因がストレスとなり生体アミンの上昇を誘発していた可能性がある。0.5 mg/kg/日群の雌を除いたすべての投与群で、用量依存的な体重増加抑制が投与初期に生じた。試験の進行に伴い、総合的な体重増加率は回復したが、対照群との差は試験終了時まで明確であった。0.5 mg/kg/日群の雌を除くすべての投与群で、摂餌量減少が用量依存性に認められた。

一般状態観察で主要な投薬起因変化は、投薬各群の雄及び2.0 mg/kg/日以上の群の雌における対照群に比較して高頻度の四肢の腫脹及び/又は傷、3.0 mg/kg/日群の雄における攻撃的行動、活動亢進、脱毛、2 mg/kg/日以上の群の雌における活動亢進及び脱毛、並びに5 mg/kg/日以上の群の雌における被毛の黄色化であった。また、3.0 mg/kg/日群の雄及び5 mg/kg/日以上の群の雌で歯の過成長（不正咬合）、17.0 mg/kg/日群の雌で赤色鼻汁の発生率が増加した。3.0 mg/kg/日群の雄及び17.0 mg/kg/日群の雌では、対照群2群と比較して腋窩部及び腹部の腫脹及び腫瘤の発生率は全般的に低かった。1.0及び3.0 mg/kg/日群の雄でみられた末梢血白血球数の変化は、四肢の病変と関連していると想定された。

器官重量の変化には、投与起因変化はみられなかった。3.0 mg/kg/日群の雄の死亡動物では、ラサギリンに関連した剖検所見として、膀胱拡張、膀胱腔内液貯留、膀胱漿膜の暗調化及び腎盂拡張の発生率の増加が認められた。一般状態観察においてみられた四肢病変は、死亡及び生存動物の剖検時にも確認された。3.0 mg/kg/日群の雄及び17 mg/kg/日群の雌で下垂体肥大の発生率が低下した。2 mg/kg/日以上の群の雌では、乳腺の肥厚又は腫瘤の発生率が増加した。

病理組織学的検査では、ラサギリン投与と関連した2つの非腫瘍性病変が認められた。投与各群の雄及び2.0 mg/kg/日以上の群の雌で表皮の慢性活動性炎症及び潰瘍形成を特徴とする四肢の病変が増加した。3.0 mg/kg/日群の雄では、腎盂及び尿細管拡張並びに尿細管変性を伴う膀胱及び前立腺の急性炎症及び出血を特徴とする尿生殖器の炎症が有意な発現頻度増加を示した。3.0 mg/kg/日群の雄及び17.0 mg/kg/日群の雌では、多くの典型的な加齢性病変の発現減少が認められた。

腫瘍性病変の発現頻度には、ラサギリンと関連した増加はみられなかった。統計学的解析では、高用量群において一部の腫瘍（副腎髄質褐色細胞腫、下垂体腺腫、甲状腺濾胞腺腫/癌、並びに乳腺線維腺腫及び腺癌）の頻度減少のみがみられた。観察された下垂体及び乳腺腫瘍の頻度減少は、以前に他のMAO-B阻害剤で報告されている[6][7]。

30日間の投与後並びに26週及び52/53週に、適切にバリデーションを実施した高感度のGC/MS試験法（4.2.2.1-8）を用いて、ラサギリン及びその代謝物である1-アミノインダンに対する血漿（全身）曝露量を定量した。78週目に得られた試料は、解析せずに廃棄するまで

保存した。1 mg/日を投与したヒトに対するラットのラサギリン曝露比（AUC ラット/AUC ヒト）は、0.3、1.0、3.0 mg/kg/日を投与した雄でそれぞれ 6、23、84 であり、0.5、2.0、5.0、17.0 mg/kg/日を投与した雌でそれぞれ 6、32、96、399 であった（2.6.6.5.2、表 2.6.6.5-2）。

表 2.4.4.4-2　がん原性評価に使用した用量を 30 日間、26 週間及び 52/53 週間投与したラットにおけるラサギリンの全身（血漿）曝露

性別	用量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)		
		30 日目	26 週目	52/53 週目	30 日目	26 週目	52/53 週目
雄	0.3	19	31	54	26	50	66
	1.0	78	122	159	95	196	258
	3.0	345	474	717	470	728	927
雌	0.5	51	87	68	51	78	80
	2.0	250	436	459	240	397	429
	5.0	687	689	915	835	1117	1286
	17.0	3018	2255	2556	3940	3975	5338

臨床試験で得られたヒト曝露データ：1 mg/日投与時の AUC が 11.05（男性）及び 13.39（女性）ng·hr/mL（TVP-1012/231: パーキンソン病患者における新規 MAO-B 阻害剤の TVP-1012 の忍容性）

表 2.4.4.4-3　がん原性評価に使用した用量で 30 日間、26 週間及び 52/53 週間投与したラットにおける 1-アミノインダンの全身（血漿）曝露

性別	用量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)		
		30 日目	26 週目	52/53 週目	30 日目	26 週目	52/53 週目
雄	0.3	14	16	14	32	36	44
	1.0	44	45	47	111	113	130
	3.0	105	113	127	294	328	412
雌	0.5	39	39	46	89	113	114
	2.0	134	120	148	384	365	429
	5.0	264	256	318	849	774	1012
	17.0	811	584	910	2626	1846	3027

2.4.4.5 生殖発生毒性試験（用量設定試験、及び補助的なトキシコキネティクス評価を含む）

ラサギリンメシル酸塩が、ラットの受胎能及び生殖機能、ラット及びウサギの胚・胎児発生、ラットの出生前及び出生後発生に対する影響を評価した。また、ラサギリンをレボドパ/カルビドパと併用投与した場合に胚・胎児発生に及ぼす影響を、ラット及びウサギで検討した。

2.4.4.5.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験

Sprague Dawley ラットにおいて雄の受胎能及び生殖能力に対する影響を評価するために、ラサギリンメシル酸塩を、無処置雌との交配 28 日前から 18 日間は 0、0.5、2.0 及び 5.0 mg/kg/日の用量で連日強制経口投与し、5.0 mg/kg/日で体重及び摂餌量に対する影響がみられたことから用量を調節して、その後は 0、0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg/日の用量で連日強制経口投与した（2.6.6.6.1.1）。受胎能、生殖能力、血漿プロラクチン濃度、精子の特性に対する影響を評価するために、43～45 日間投与した。投与と関連した死亡又は一般状態の所見はなく、受胎能、生殖能力、精子の特性に対する影響はなかった。投与群では、血漿プロラクチン濃度は用量依存的に低下した。

ラサギリンメシル酸塩を雌 Sprague Dawley ラットに無処置雄との交配の 14 日前から交尾 17 日後まで投与し、雌の受胎能及び生殖能力、血漿プロラクチン濃度に対する影響を評価した（2.6.6.6.1.3）。用量は予備試験（2.6.6.6.1.2）を参考にして、0、0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg/日を選択した。母毒性として摂餌量及び体重増加量の減少が 3.0 mg/kg/日でみられた。ラサギリンの 3.0 mg/kg/日の投与では、受胎能及び生殖能力又は血漿プロラクチン濃度に対する影響はみられなかった。交配前期間の 14 日目に、GC/MS 法（4.2.2.1-2）によりラサギリン及びその代謝物である 1-アミノインダンの血漿（全身）曝露量を測定した（2.6.6.6.1.3）。AUC 及び C_{max} の平均値を概要文（2.6.6.6.1.3、表 2.6.6.6-4）に示した。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

2.4.4.5.2.1 ラサギリンの試験

（1）ラット

ラサギリンメシル酸塩を雌 Sprague Dawley ラットに無処置雄との交配 14 日前から交尾 17 日後まで投与し、胚・胎児発生に対する影響を評価した（2.6.6.6.1.3）。予備試験（2.6.6.6.1.2 及び 2.6.6.6.2.1）を参考にして、投与量は 0、0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg/日を選択した。母毒性として摂餌量及び体重増加量の減少が 3.0 mg/kg/日でみられた。ラサギリンは、3.0 mg/kg/日以下の用量では、交尾 17 日後までの胚・胎児発生に影響を及ぼさなかった。交尾後 17 日目に、GC/MS 法（4.2.2.1-2）によりラサギリン及びその代謝物である 1-アミノインダンの血漿（全身）曝露量を測定した（2.6.6.6.1.3）。AUC 及び C_{max} の平均値を概要文（2.6.6.6.1.3、表 2.6.6.6-4）に示した。

（2）ウサギ

ラサギリンメシル酸塩の 0、1、7 及び 45 mg/kg/日を、チンチラウサギの交尾 6～20 日後に強制経口投与した（2.6.6.6.2.2）。投与量は予備試験（2.6.6.6.2.2）の結果を参考に設定した。45 mg/kg/日では、母動物で投与期間中の摂餌量及び体重増加量の減少がみられた。45 mg/kg/日群のウサギ 2 例が剖検までに流産し、1 例は全胎児が死亡した。母体に毒性を及ぼす 45 mg/kg/日群では、平均着床後胚死亡率が増加し、平均胎児体重が減少した。45 mg/kg/日以下の経口投与では、生殖及びその他すべての胚・胎児パラメータには影響はみられなかった。

5、15 及び 45 mg/kg/日を交尾 7～20 日後に連日投与した後、予備的な胚・胎児発生毒性試験で使用したウサギから得られた試料（2.6.6.6.2.2）を用い GC/MS 法（4.2.2.1-9）により、ラサギリン及びその代謝物である 1-アミノインダンに対する全身（血漿）曝露量を測定した（2.6.6.6.2.2）。C_{max} 及び AUC の平均値を概要文（2.6.6.6.2.2、表 2.6.6.6-6）に示した。

また、ラサギリンメシル酸塩の 0、1、6 及び 36 mg/kg/日をニュージーランドホワイトウサギの交尾 6～19 日後に強制経口投与した（2.6.6.6.2.2）。投与量は予備試験（2.6.6.6.2.2）の結果を参考に設定した。36 mg/kg/日では 2 例が剖検までに流産した。6 mg/kg/日以上の群では、母動物で投与期間中の摂餌量及び体重増加量の減少がみられた。36 mg/kg/日を投与した群まで、生殖及び全ての胚・胎児パラメータに影響はみられなかった。ラサギリン及びその代謝物である 1-アミノインダンに対する全身（血漿）曝露量を測定した（2.6.6.6.2.2）。C_{max} 及び AUC の平均値を概要文（2.6.6.6.2.2、表 2.6.6.6-9）に示した。

2.4.4.5.2.2 ラサギリン／レボドパ／カルビドパの併用試験

(1) ラット

ラサギリンメシル酸塩及びレボドパ/カルビドパの0/0/0、1.0/0/0、0/80/20、0.1/80/20、0.3/80/20及び1.0/80/20 mg/kg/日（ラサギリン/レボドパ/カルビドパ）を交尾後8～17日目に連日強制経口併用投与し、ラットの胚・胎児発生及ぼす影響を検討した（2.6.6.6.2.3）。これらの用量は、3/80/20 mg/kg/日（ラサギリン/レボドパ/カルビドパ）が極めて高い毒性を示した予備試験（2.6.6.6.2.3）を参考にして選択した。レボドパ/カルビドパは、40/10 mg/kg/日（レボドパ/カルビドパ）をそれぞれ朝晩に分割して投与した。ラサギリンは、レボドパ/カルビドパの朝の投与と共に1日1回投与した。溶媒対照群及びラサギリン（1.0 mg/kg/日）のみ又はレボドパ/カルビドパ（80/20 mg/kg/日）のみを投与した群との比較を行ったところ、溶媒対照を除く全群で、ほとんどの投与日において、母動物に被毛の汚れがみられた。0.3/80/20及び1.0/80/20 mg/kg/日を投与したラットでは摂餌量の減少が、1.0/80/20 mg/kg/日では摂餌量及び体重増加量の減少がみられた。0.3/80/20 mg/kg/日以上を投与したラットから得られた胎児における波状肋骨の発生率の増加以外は、投与に関連した変化はみられなかった。波状肋骨は一過性及び可逆性の所見であり、母体－胎盤循環の障害の二次的な影響である可能性が最も高いと考えられている[8]。妊娠17日目の投与後にレボドパ及びカルビドパの血漿中薬物濃度を測定した。平均C_{max}及びAUC値を概要文（2.6.6.6.2.3、表2.6.6.6-11）に示した。

(2) ウサギ

レボドパ/カルビドパ（80/20 mg/kg/日）と0、0.1、0.6及び1.2 mg/kg/日のラサギリンをチンチラウサギの交尾後6～18日目に強制経口併用投与し、胚・胎児発生に対する影響を評価した（2.6.6.6.2.4）。レボドパ/カルビドパはラットの試験と同様に1日2回に分けて投与し（40/10 mg/kg）、ラサギリンは朝の投与時に投与した。この投与方法は、ラサギリンの1、3及び10 mg/kg/日をレボドパ/カルビドパ80/20 mg/kg/日と併用投与した予備試験(2.6.6.6.2.4)の結果を基に設定した。予備試験ではラサギリンの10 mg/kg/日群で死亡がみられ、3 mg/kg/日群で体重増加量の顕著な減少（対照の31%）が認められた。主試験の対照群には、溶媒、ラサギリンの3 mg/kg/日、又はレボドパ/カルビドパの80/20 mg/kg/日を投与した。主試験では、ラサギリン/レボドパ/カルビドパを投与した全群で投与初期（6～11日目）に明らかな摂餌量及び体重の減少がみられた。平均着床後胚死亡率は、ラサギリン/レボドパ/カルビドパの0.6/80/20及び1.2/80/20 mg/kg/日で着床後死亡率の高値がみられた。投与最終日の血漿中薬物濃度のデータからラサギリン、その代謝物の1-アミノインダン、レボドパ及びカルビドパについて平均血漿C_{max}及びAUC値を算出した。これらの値を概要(2.6.6.6.2.4、表2.6.6.6-13)に示した。

2.4.4.5.3 母体機能を含む出生前及び出生後の発生に関する試験

Sprague Dawleyラットを用いて、交尾後6日目から出産後20日目までラサギリンメシル酸塩を0、0.1、0.3及び1.0 mg/kg/日の用量で経口投与し、妊娠/授乳中の雌及び性的成熟までの胎児発生に対する影響を評価する試験を実施した（2.6.6.6.3.1）。用量の選択は、0、3、8、17 mg/kgの用量を投与し、3.0 mg/kg以上の群で授乳障害が生じた予備試験（2.6.6.6.2.1）を参考にした。この予備試験の結果は、プロラクチン分泌及び放出に対するラサギリンのドパ

ミン媒介性作用と一致している。本試験では、0.3 及び 1.0 mg/kg/日群で妊娠中の F0 雌の平均摂餌量が減少し、1.0 mg/kg/日群で体重増加量が減少した。1.0 mg/kg/日を投与した F0 雌も、授乳開始から 14 日間に摂餌量の減少を示した。0.3 及び 1.0 mg/kg/日群では出生児死亡がわずかに増加し、1.0 mg/kg/日群では生後 35 日目の出生児体重が低下した。出生児の発達及び行動又は生殖能力に対する影響はなかった。

2.4.4.5.4 新生児への投与及びその評価に関する試験

ヒトの乳児にラサギリンが投与されることは想定されていないため、新生児への投与及び新生児の評価を含む動物試験は実施しなかった。

2.4.4.6 その他の毒性試験

2.4.4.6.1 免疫毒性試験

標準的な反復投与毒性試験で、免疫毒性を示唆する変化は認められず、薬理学的な作用機序に基づく免疫毒性のリスクもなかった。したがって、「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」（平成 18 年 4 月 18 日付 薬食審査発第 0418001 号）に従い、免疫毒性試験は実施しなかった。

2.4.4.6.2 光毒性試験

ラサギリンの光反応性の評価にあたり、290 から 700 nm の波長におけるモル吸光係数（MEC）を測定した。その結果、290 から 700 nm の波長におけるラサギリンの MEC は 1000 L mol^{-1} cm^{-1} 未満であったため、「医薬品の光安全性評価ガイドライン」（平成 26 年 5 月 21 日付 薬食審査発 0521 第 1 号）に従い、ラサギリンは直接的光毒性を引き起こすほどの光反応性がないと判断し、さらなる非臨床の光毒性試験は実施しなかった。なお、光毒性に関連する有害事象として光線過敏性反応は日本人を対象に国内で実施した臨床試験ではみられず、海外市販後の副作用報告において 4 件報告されているものの（2017 年 1 月時点）、これらはいずれも本剤の光安全性を評価する上でリスクを示唆するものではなかったため、本剤投与による光毒性の懸念は特段ないものと考えられる。

2.4.4.6.3 依存性試験

ラサギリンの薬物乱用及び薬物依存性を評価する独立した試験は実施していないが、非臨床で実施した毒性試験及び安全性薬理試験からはラサギリンの薬物依存性を示すデータは得られていない。

なお、ラサギリンの種々の受容体、イオンチャネル、酵素に対する活性を評価したが、薬物依存性と関係があることが知られている受容体（オピオイド受容体、5-HT やドパミンのトランスポーター又は受容体、GABA、ニコチン性アセチルコリン等の受容体等）に対しては有意な作用は示さなかった。

2.4.4.6.4 代謝物に関する試験

既知のラサギリン代謝物を用いて、以下の単回投与毒性及び遺伝毒性試験を実施した。

2.4.4.6.4.1 単回投与毒性試験

（1）(*R*)-1-アミノインダン塩酸塩（TVP-136）

Sprague Dawley ラットにおける経口投与（2.6.6.8.2）及び静脈内投与（2.6.6.8.3）試験を実施した。1600 mg/kg の単回経口投与後 2 時間以内に雄 5 例中 1 例が死亡した。1260 mg/kg の単回経口投与後、雌ラットに死亡はみられなかった。100 mg/kg の単回静脈内投与により、投与後 1 時間以内に雄ラット 5 例中 2 例が死亡した。雌には死亡はみられなかった。

（2）1-インダノン

雌雄の Sprague Dawley ラットに単回経口投与（2.6.6.8.1）又は腹腔内投与（2.6.6.8.1.1）した。500 mg/kg の単回経口投与後又は 300 mg/kg の単回腹腔内投与後に死亡はみられなかった。

2.4.4.6.4.2 遺伝毒性試験

（1）(*R*)-1-アミノインダン塩酸塩（TVP-136）

(*R*)-1-アミノインダン塩酸塩（TVP-136）のサルモネラ菌株 TA98 及び TA100 に対する変異原性の有無を検討した（2.6.6.8.10）。最高 5000 μg/プレートの濃度を使用し、ラット肝ミクロソームの存在下及び非存在下で変異原性試験を 1 回実施した。これらの試験条件下では、TA98 又は TA100 の復帰変異体は増加しなかった。

2.4.4.6.5 不純物に関する試験

既知の不純物及び潜在的分解産物について以下の単回投与毒性及び遺伝毒性試験を実施した。

2.4.4.6.5.1 単回投与毒性試験

（1）1-*N*-プロパギル-1-(*S*)-アミノインダン塩酸塩（TVP-102、TV-5701182B）

雌雄の Sprague Dawley ラットに 267、400、600 及び 900 mg/kg を単回経口投与したところ（2.6.6.8.5.1）、400 mg/kg 以上の用量で死亡がみられた。投与後 4 日間（600 mg/kg 群の雄 1 例では 10 日間）にわたり円背位、歩行失調、振戦、尿失禁、身づくろい低下等の投薬起因の異常がみられた。

（2）(*S*)-*N*-プロパギル-1-アミノインダンメシル酸塩（TVP-1022）

ラットへの単回経口投与では、320 mg/kg（雄 1 例）及び 500 mg/kg（雄 4 例及び雌 1 例）で死亡がみられた（2.6.6.8.8）。ラットに対する静脈内投与時の最小致死量は、100 mg/kg であった（2.6.6.8.9）。100 mg/kg の静脈内投与後の生存動物でみられた立毛、円背位、よたつき歩行、嗜眠、呼吸数の減少、眼瞼下垂、四肢蒼白、流涎、あえぎ呼吸、眼の突出、虚脱状態、間代性痙攣、振戦、挙尾等の一般状態の異常は、投与後 3 日目までに全て回復した。

（3）(*S*)-1-アミノインダン塩酸塩（TVP-137）

雄雌各 5 例の Sprague Dawley ラットのに 1260 mg/kg（雄）及び 640 mg/kg（雌）を単回経口投与した（2.6.6.8.4）。投与 6 時間以内に雄 3 例が死亡した。80 及び 100 mg/kg/日の静脈内投与で投与 1 時間以内に死亡がみられた（2.6.6.8.5）。生存例でみられた、ふらつき、立毛、

円背位、よたつき歩行、嗜眠、呼吸数の減少、痙攣、振戦等の一般状態の異常は 80 mg/kg の投与群では 2 日目まで、100 mg/kg の投与群では投与後 3 日目までに全て回復した。

（4）3-*N*-プロパルギルアミノインダン-1-オンメシル酸塩（TV-3168、3-PAIO とも呼ばれる 3-ケト-PAI の塩のコード名）

ラットに 300 mg/kg を単回経口投与しても死亡はみられなかった（2.6.6.8.6）。200 mg/kg の静脈内投与後、雄 1 例が死亡した（2.6.6.8.7）。静脈内投与後の生存動物でみられた立毛、円背位、嗜眠、よたつき歩行/ふらつき歩行、呼吸数の増加、眼瞼下垂、四肢蒼白、つま先歩行、身づくろい低下、青色/冷たい四肢、軟便、水様便、胴体の振戦、尾のあざ等の一般状態の異常は、投与後 11 日目までに全て回復した。

2.4.4.6.5.2 遺伝毒性試験

（1）(*S*)-1-アミノインダン塩酸塩（TVP-137）

(*S*)-1-アミノインダン塩酸塩（TVP-137）のサルモネラ菌株 TA98 及び TA100 に対する変異原性の有無を検討した（2.6.6.8.10）。最高 5000 μg/プレートの濃度を使用し、ラット肝ミクロソームの存在下及び非存在下で変異原性試験を 1 回実施した。これらの試験条件下では、TA98 又は TA100 において復帰変異体は増加しなかった。

（2）3-*N*-プロパルギルアミノインダン-1-オンメシル酸塩（TV-3168、3-PAIO とも呼ばれる 3-ケト-PAI の塩のコード名）

3-*N*-プロパルギルアミノインダン-1-オンメシル酸塩（TV-3168）のサルモネラ菌（TA1535、TA1537、TA98、TA100 株）及び大腸菌（WP2*uvrA* 株）に対する変異原性の有無を検討した（2.6.6.8.10）。最高 5000 μg/プレートの濃度を使用し、ラット肝ミクロソームの存在下及び非存在下で変異原性試験を実施した。これらの試験条件下では、どの菌株でも変異原性を示す結果は得られなかった。

（3）[redacted]（TVP-182、不純物A※の塩のコード名）

50、150、500、1500 及び 5000 μg/プレートからなる濃度を使用して、サルモネラ菌株 TA98 及び TA100 を用いて変異原性試験を実施した（2.6.6.8.10）。ラット肝 S9 の存在下及び非存在下で試験を実施した。代謝活性化系の非存在下では、復帰突然変異コロニーは増加しなかった。代謝活性化系の存在下では、復帰突然変異体コロニー数に用量と関連した増加が認められた。サルモネラ菌の同じ菌株及び 0.015、0.05、0.15、0.5、1.5、5.0 及び 15.0 μg/プレートの濃度を使用し、ラット肝 S9 の存在下及び非存在下で追加試験を実施した（2.6.6.8.10）。0.5 μg/プレートを超える濃度では、S9 の存在下で復帰突然変異体コロニー数は用量に依存して増加した。

2.4.4.7 毒性試験の考察及び結論

単回投与毒性試験を静脈内投与ではラットで、経口投与ではマウス、ラット及びイヌで実施した。試験は、当初は塩酸塩を用いて実施したが、その後、より安定したメシル酸塩を用

いて実施した。試験に先立ち、塩酸塩とメシル酸塩の毒性、動態プロファイルを検討したところ、本質的に同じであることを確認した。静脈内投与によりラットで 69 mg/kg/日以上の用量で死亡がみられた。経口投与ではマウスで 207 mg/kg 以上、ラットで 155 mg/kg 以上、イヌで 84 mg/kg 以上の用量で死亡がみられた。死亡は、生体アミンの酸化を阻害する化合物を過量投与したときに想定される過剰な神経薬理学的変化の結果と考えられた。ラット及びマウスに対する経口投与時の最大非致死量（MTD）は約 100 mg/kg/日であり、イヌにおける MTD は 42 mg/kg であった。

反復投与毒性試験は、ラサギリン誘発性 MAO-B 阻害に薬理学的に反応することが示されているラット及びイヌを使用して実施した。4 週間の反復静脈内投与毒性試験を、ラットでは 3 mg/kg/日、イヌでは 5 mg/kg/日を最大用量として実施した。また、反復経口投与毒性試験を、ラットでは 0.14～17 mg/kg/日の用量範囲で最長 26 週間の投与期間で実施し、イヌでは 0.28～21.0 mg/kg/日の用量で最長 52 週間までの投与期間で実施した。以下の表は、ラット及びイヌの反復投与毒性試験で使用した用量範囲におけるラサギリン及び 1-アミノインダンに対する全身曝露量と、ヒト投与量の 1 mg/日の曝露量を比較したものである。

表 2.4.4.7-1　ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験で使用した用量範囲におけるラサギリン及び 1-アミノインダンに対する到達全身曝露量と 1 mg/患者/日でのヒト臨床曝露量の比較

動物種	性別	用量	連日投与の回数／期間	C_{max}（ng/mL）		AUC(0-inf)（ng·hr/mL）	
				ラサギリン	1-アミノインダン	ラサギリン	1-アミノインダン
ラット	雄	0.7 mg/kg/日	90	64	17	74	50
		17.0 mg/kg/日	28	1503	679	2706	3399
	雌	0.7 mg/kg/日	90	80	31	78	89
		17.0 mg/kg/日	28	1537	827	2829	6528
イヌ	雄	0.7 mg/kg/日	85	74	25	65	95
		21.0 mg/kg/日	28	1604	1388	2807	7280
	雌	0.7 mg/kg/日	85	16	20	29	69
		21.0 mg/kg/日	28	5358	1745	5781	10785
ヒト	男性	1 mg/患者	10 週間	5.8	2.0	9.6	6.6
	女性	1 mg/患者	10 週間	6.1	3.2	10.8	10.4

*TVP-1012/231 臨床試験（パーキンソン病患者における新規 MAO-B 阻害剤の TVP-1012 の忍容性）から得られたヒト曝露量データ

このように、反復投与毒性試験の最小用量では、ヒトにおける 1 mg/日の用量の少なくとも 2 倍のラサギリンの平均 C_{max} 及び AUC_{last} 値に達した。対照的に、反復投与毒性試験の最大用量では、ヒトにおける 1 mg/日の用量の少なくとも 250 倍のラサギリン C_{max} 及び AUC_{last} 値に達した。

静脈内及び経口投与後にみられた主な毒性は、高い曝露レベルに伴う MAO-B への選択性の喪失と関連して現れた変化、すなわち、ラットにおける摂餌量及び体重増加量の減少、活動亢進及び/又は攻撃性であった。経口投与の高い投与量では、ラットで肝重量増加及び肝細胞形態の適応性変化を伴う場合があった。これらの肝臓の変化は肝ミクロソーム酵素誘導物質を投与したラットで観察される変化と同じであったが、毒性試験内で肝ミクロソーム蛋白質の測定は実施されず、この仮説を支持するエビデンスは得られていない。ラット 26 週間経

口投与試験で甲状腺及び膀胱に形態学的変化が疑われたが、ラット4週間及び13週間経口投与試験ではいずれもそれを支持する変化は認められなかった。ラットの26週間投与後及びイヌの52週間投与後におけるNOAELは、いずれの動物種も5.1 mg/kg/日であった。AUC_{last}値に関しては、動物のNOAELでのラサギリンに対する曝露量は、1 mg/患者/日の臨床用量での曝露量の少なくとも15倍であった。

ラサギリンとレボドパ及び末梢脱炭酸酵素阻害剤（カルビドパ）との併用によって予想されるドパミン作用以外の影響がみられるかを調べる試験を実施した。ラサギリン/カルビドパ/レボドパを併用投与した場合ラット及びイヌのいずれも、レボドパ/カルビドパのドパミン作用の増強によると考えられる変化以外はみられなかった。

ラサギリンの突然変異の誘発能について*in vitro*条件下で非哺乳類及び哺乳類細胞系を用いて、染色体異常の誘発能について*in vitro*及び*in vivo*条件下で哺乳類細胞系で、不定期DNA合成の誘発能について単回経口投与後のラットから得られた肝細胞培養系で評価され、様々な遺伝毒性試験で詳細かつ広範に評価した。

ラサギリンが非哺乳類細胞系で復帰突然変異の発生頻度若しくは代謝活性化系非存在下の哺乳類細胞培養において復帰突然変異体の発生頻度又は染色体異常の発生頻度を上昇させる可能性を示唆する一貫性及び再現性のある結果は得られなかった。代謝活性化系存在下で不死化哺乳類細胞をラサギリンとともにインキュベーションすると、顕著な細胞毒性が生じた。この細胞毒性は、培地からゲンタマイシンを除去した場合及び/又はグルタチオン存在下で低下した。ヒトリンパ球を代謝活性化系存在下でラサギリンと培養したときに染色体異常頻度が増加したが、グルタチオン存在下又はゲンタマイシンの非存在下では、そのような増加は認められなかった。代謝活性化系存在下でラサギリンはマウスリンフォーマL5178Y細胞に対して細胞毒性を示したため、細胞毒性を示さない濃度で復帰突然変異頻度が増加するかについて適切に評価できなかった。

マウスにラサギリンを単剤で、又はレボドパ/カルビドパとの併用により経口投与して骨髄における小核多染性赤血球の頻度が増加するか評価したが、それを示唆する結果は得られなかった。また、ラサギリンメシル酸塩を25～200 mg/kgの用量で経口投与したラットから採取した肝培養細胞において不定期DNA合成は誘導されなかった。したがって、ラサギリンには*in vivo*の曝露条件下で遺伝毒性のリスクはないと総合的に結論した。

マウスがん原性試験では、15及び45 mg/kg/日群の雌雄で細気管支・肺胞腺腫/癌の発生率が、45 mg/kg/日群の雄でハーダー腺の腺腫/癌の発生率が、それぞれ対照群より高くなった。1 mg/日を投与したヒトに対するマウスのラサギリン曝露比（AUCマウス/AUCヒト）は、1、15、45 mg/kg/日を投与した雄でそれぞれ6、213及び1418、雌でそれぞれ4、144及び419であった。これらの腫瘍はいずれもCD-1マウスに高い頻度で発生し、本試験におけるこれら腫瘍の群間の分布はおおむね既報の背景データの範囲内であった[9][10]。傾向検定において、雌の肺腫瘍及び雄のハーダー腺腫瘍の発生率は、一般的腫瘍の発がん性陽性基準（$p \leq 0.005$）を満たさなかった。なお、傾向検定において、雄の細気管支・肺胞腺腫/癌の発生率のp値は$p = 0.002$であった。しかしながら、ラットでは同様の変化は認められず、慢性毒性試験においても前がん病変の増加はみられなかった。したがって、細気管支・肺胞腺腫/癌及びハーダー腺腫瘍にみられた群間の差異は偶発的に生じたものと結論付けた。

ラサギリンがラットの受胎能、生殖能力、並びに周産期及び出生後の発生並びにラット及びウサギの胚・胎児発生に悪影響を及ぼす可能性を評価する試験を実施した。米国 FDA の審査者からの助言及びコメントに応じて、ラサギリン/レボドパ/カルビドパの併用投与により胚・胎児発生に悪影響が生じる可能性を検討する試験も実施した。

ラサギリンを 0.5、2.0 及び 5.0 mg/kg/日の用量で非投与雌ラットとの交配の 28 日前から雄ラットに投与したとき、血清プロラクチン濃度は明らかに用量に依存して低下したが、雄ラットの受胎能又は生殖能力に影響は生じなかった。同様に、雌に、未投与の雄との交配の 14 日前から交尾 17 日後まで 0.3、1.0 及び 3.0 mg/kg/日の用量で投与した試験では、受胎能及び生殖能力又は胚・胎児発生に対する悪影響はなかった。雌ウサギに 1、7 及び 45 mg/kg/日の用量で交尾後 6～20 日目に経口投与したとき、母体毒性を示す 45 mg/kg/日で平均着床後胚損失率が増加し、平均胎児体重が減少した。胚・胎児発生に対する他の有害な作用はなかった。ラサギリン/レボドパ/カルビドパをラット母動物に 0.3/80/20 mg/kg/日以上の用量で交尾後 8～17 日目に投与したとき、ラット胎児で波状肋骨の発生率が増加した。この所見は、母体－胎盤循環の乱れに起因する一過性及び可逆性の現象であり、毒性学的重要性はなかった。ラサギリン/レボドパ/カルビドパをウサギに 0.1/80/20、0.6/80/20 及び 1.2/80/20 mg/kg/日を交尾後 6～18 日後に併用投与したとき、母体毒性が生じ、0.6/80/20 及び 1.2/80/20 mg/kg/日の用量では平均着床後胚損失率が増加した。

予備的な試験から、ラットでは 3 mg/kg 以上の用量で授乳が抑制されたことから、0.1、0.3 及び 3.0 mg/kg/日の用量でラットの周産期及び出生後の発生に悪影響を及ぼす可能性を評価した。0.3 及び 1.0 mg/kg/日の用量で母体毒性が認められ、0.3 及び 1.0 mg/kg/日では出生児死亡がわずかに増加し、3.0 mg/kg/日では出生から生後 35 日目の出生児体重が減少した。児の発生及び行動又は児の生殖能力に対する明らかな影響はなかった。

原薬及び製剤中で監視する不純物及び/分解産物は、[redacted]（不純物A※）、[redacted]、[redacted]であった。

不純物A※ はラサギリン塩酸塩及びラサギリンメシル酸塩の潜在的分解産物であり、細菌を用いた復帰突然変異試験では 0.5 μg/プレートを超える濃度で活性化肝 S9 分画の存在下でのみ陽性であった。不純物A※ を比較的高い濃度で含むラサギリン塩酸塩のバッチを用いた最長 13 週間の毒性試験（ラットでは最大 14 mg/kg を、イヌでは最大 17 mg/kg を投与）では、特段の懸念は生じなかった（表 2.6.7.4）。更に、2.3.S.4.1 及び 2.3.P.5.1 に記載のとおり、本不純物/又は分解産物は、毒性学的懸念の閾値（TTC：threshold of toxicological concern）から求めた許容量より十分に低いレベルで管理されるため、特段の懸念はない。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 総括

2.4.5.1.1 薬理試験

ラサギリンは、強力な非可逆的特異的 MAO-B 阻害剤であり、ヒト及びラット脳に対する IC_{50} 値は 2.5～20 nM である。*In vivo* で脳内 MAO-B が選択的に阻害されることは、ラット、マウス、イヌ及びコモンマーモセットで確認された。ラットを用いた *in vivo* マイクロダイアリシスでは、MAO-B を選択的に阻害する用量で反復経口投与したとき、線条体の細胞外ド

パミン濃度は上昇するが、これに伴うドパミン代謝物濃度の減少はみられないことが確認された。薬物誘発性ドパミン機能不全、低酸素誘発性運動機能障害及び認知障害のモデルにおいて、改善効果を発揮することが示された。*(S)*体の MAO-B 阻害活性は無視できるほど小さいが、両異性体は、神経傷害の *in vitro* 及び *in vivo* モデルにおいて神経保護作用を示した。ラサギリンの神経保護作用は、長期的な潜在的有効性に寄与する可能性がある。ラサギリンは、臨床的に関連する用量で望ましくない薬理作用を示さず、0.5 mg/kg/日を 21 日間投与したラットでは MAO-A 媒介性チラミンによる昇圧反応の顕在化は生じなかった。

2.4.5.1.2 薬物動態試験

主要な毒性試験で用いた各動物種（マウス、ラット、イヌ）におけるラサギリンの吸収、分布、代謝、排泄、トキシコキネティクス、薬物動態的薬物相互作用のデータを示す。試験は ^{14}C-標識体及び非標識体を用いて実施した。バリデーション済みの多様な分析法を用いてラサギリン及びその代謝物である 1-アミノインダンを定量した結果、パーキンソン病治療におけるラサギリンの使用を裏付ける上で十分な、ラサギリンの薬物動態の特徴を明らかにするデータが得られた。

絶対的バイオアベイラビリティは、ヒトの 34～35%と比較してラットでは 42.2～69.6%、イヌでは 14.8～43.7%と推定された。ラサギリンは初回通過効果を受け、肝臓及び腎臓を通じた血漿流量を上回る速度で排出されることから、肝外及び腎臓外のクリアランスの存在が示された。分布容積が体内総水分量を上回ったことから、血液以外の組織での選択的局在が示された。放射性標識体を経口投与した試験で、未変化体は全身の血流から速やかに除去され、その成分はより長期間にわたり持続することが確認されたため、代謝物の結合能は未変化体より低いと考えられる。

ラットを用いた組織分布試験から、速やかで広範な組織取り込みが明らかになった。全血組織比と大きい分布容積との間に矛盾は認められなかった。*In vitro* の血漿蛋白結合率は、試験した動物種及び薬物濃度に応じて変動し、70.7%から 93.7%であった。一方、^{14}C-ラサギリンを単回経口投与したイヌでは、*ex vivo* 血漿蛋白結合率は 1～8 時間後に 17%から 44%であった。

ラサギリンの代謝は CYP に依存していると思われ、その代謝プロファイルは、マウス、ラット、イヌ、ヒトで定性的に同じである。生体内変化として未変化体の *N*-脱アルキル化により 1-アミノインダンが形成され、水酸化により 3-OH-PAI が形成される。また、副代謝経路では、酸化的脱アミノ化により 1-インダノンへ代謝される。1-アミノインダン及び 3-OH-PAI は、それぞれさらに水酸化及び *N*-脱アルキル化を受けて 3-OH-AI に代謝される。3-ケト-PAI 及び 3-ケト-AI は、それぞれ 3-OH-PAI 及び 3-OH-AI がさらに酸化されたことによる生成物である。1-インダノンは還元されて 1-インダノールに代謝される。第 II 相代謝では、ラサギリン及びその代謝物と硫酸及び/又はグルクロン酸との抱合及び *N*-アセチル化が含まれる。

マウス、ラット、イヌを用いたマスバランス試験から、未変化体の排泄がほとんど、又はまったくないことが示された。ラットに経口投与した ^{14}C-ラサギリンの 95.3%は 168 時間以内に回収され、イヌにおける回収率は 144 時間後までに 93.1%に達した。マウスにおける回収を投与 96 時間後まで追跡調査した結果、その間に投与した放射能の 81.0～82.5%が尿及び糞便から回収された。すべての種で尿が主要な排泄経路であり、糞便中には投与量の 9%未

満が排泄された。尿中代謝物プロファイルの半定量分析では、マウス、ラット、イヌ、ヒトの間に大きな差はみつからなかった。

大半の毒性試験でラサギリン及び1-アミノインダンへの全身（血漿）曝露量の定量を行った。これらの検討から、MAO-B 阻害の薬理学的選択性が維持されていた用量で、並びに約 5 mg/kg/日まで、曝露量は線形を示すことが明らかになった。より高用量を投与したとき、ラサギリン及び1-アミノインダンへの曝露量は非線形を示した。

2.4.5.1.3 毒性試験

ラサギリンの単回及び反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖毒性の各試験を GLP 下で実施した。ラサギリン/レボドパ/カルビドパの併用投与により生じると予想されるドパミン作用とは無関係の毒性を誘発する可能性も評価し、選択した代謝物及び不純物を使用して単回投与毒性及び細菌を用いた突然変異誘発性試験を実施した。

69 mg/kg/日以上の静脈内投与によりラットで死亡が生じた。マウスで 207 mg/kg 以上、ラットで 155 mg/kg 以上、イヌで 84 mg/kg 以上の経口投与により死亡が生じた。ラット及びマウスに対する経口投与時の最大非致死量（MTD）は約 100 mg/kg/日であり、イヌにおける MTD は 42 mg/kg であった。これらの用量は、臨床用量である 1 mg/日を大きく上回る。

反復投与毒性試験の実施には、ラサギリン誘発性 MAO-B 阻害に薬理学的に反応することが明らかになっているラット及びイヌを選択した。反復投与毒性試験で使用した最小用量は、ラサギリンについて 1 mg を投与されたヒトと比較して少なくとも 2 倍の平均 C_{max} 及び AUC_{last} 値をもたらした。対照的に、反復投与毒性試験で使用した最大用量は、ラサギリンについて少なくとも 250 倍のヒト臨床 C_{max} 及び AUC_{last} 値をもたらした。

毒性は、主に高い曝露レベルに伴う MAO-B の選択性の喪失と関連して現れた（すなわちラットにおける摂餌量及び体重増加量の減少、活動亢進及び攻撃性）。高い経口投与量では、これらの所見に伴ってラットにおける肝重量増加及び肝細胞形態の適応性変化が認められた。ラットでの26週間の投与及びイヌでの52週間の経口投与後に決定したNOAELは、5.1 mg/kg/日であった。AUC_{last} 値に関しては、動物に NOAEL で投与したときのラサギリン曝露量は、1 mg/日の臨床用量で投与したときの曝露量の少なくとも 15 倍であった。ラサギリン/レボドパ/カルビドパを投与したラット又はイヌに、レボドパ/カルビドパの作用の増強によるものと考えられた作用以外は生じなかった。

ラサギリンは、骨髄小核試験及びラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期 DNA 合成（UDS）試験において陰性であった。細菌又は哺乳類系における復帰突然変異体の頻度、又は哺乳類細胞における代謝活性化なしの条件での染色体異常の頻度を高める可能性を示す確固たるエビデンスはなかった。代謝活性化の条件下における染色体異常及び TK 突然変異体の増加は、臨床で関連する用量では到達できない濃度で生じる極めて強い細胞毒性と関連していた。このように、ラサギリンには *in vivo* の曝露条件下で遺伝毒性のリスクはないと考えられる。

ラサギリンをラットに MTD までの用量で最長 104 週間投与しても、腫瘍の発生率又は分布に影響は生じなかった。マウスがん原性試験では、15 及び 45 mg/kg/日群の雌雄で細気管支・肺胞の腺腫/癌の発生率が、45 mg/kg/日群の雄でハーダー腺の腺腫/癌の発生率が対照群と比較して高かった。これらの腫瘍はいずれも CD-1 マウスでの自然発生率が高く、背景デ

ータ変動範囲や統計学的な発がん性陽性基準との比較、ラットで同様の変化がみられないこと、慢性毒性試験で前がん病変の増加がみられないことを考慮すると、ヒトでの発がん性の危惧を示す知見ではないと考えられる。1 mg/日を投与したヒトに対するマウスのラサギリン曝露比（AUC マウス/AUC ヒト）は、1、15、45 mg/kg/日を投与した雄でそれぞれ 6、213、1418、雌でそれぞれ 4、144、419 であった。

ラサギリンがラットの受胎能、生殖能力、並びに周産期及び出生後の発生並びにラット及びウサギの胚・胎児発生に悪影響を及ぼす可能性を評価する試験を実施した。また、ラサギリン/レボドパ/カルビドパの併用投与により胚・胎児発生に悪影響が生じる可能性を検討する試験も実施した。

ラサギリンは、単剤で投与したとき、又はレボドパ/カルビドパと併用投与したとき、ラットの受胎能又は全般的な生殖能力に影響せず、ラット又はウサギの胚・胎児発生に悪影響を及ぼさなかった。また、ラットに最大 3 mg/kg/日の用量で投与したとき、周産期及び出生後の発生、又は児の発生及び生殖能力に対する影響はなかった。3 mg/kg/日を超える用量を用いた予備試験では、授乳を抑制する可能性が認められた。

原薬及び製剤中で監視する不純物及び/又は分解産物は、[redacted]（不純物A※）、[redacted]、[redacted]であった。

不純物A※ はラサギリン塩酸塩及びラサギリンメシル酸塩の潜在的分解産物であり、活性化肝 S9 分画の存在下でインキュベーションしたとき細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性であった。しかしながら、2.3.S.4.1 及び 2.3.P.5.1 に記載のとおり、本不純物は、TTC から求めた許容量より十分に低いレベルで管理されるため、特段の懸念はない。

2.4.5.2 結論

以上、一連の非臨床試験で確認されたラサギリンの薬効プロファイル、薬物動態プロファイル、安全性プロファイルは、パーキンソン病治療薬として本剤の臨床使用を支持するものと判断した。

2.4.6 参考文献一覧

[1] Foley P, Gerlach M, Youdim MBH, Riederer P. MAO-B inhibitors: Multiple roles in the therapy of neurodegenerative disorders? Parkinsonism Related Disorders 2000;6:25-47.

[2] Youdim MBH, Gross A, Finberg JPM. Rasagiline [N-propargyl-1R (+)-aminoindan], a selective and potent inhibitor of mitocholdrial monoamine oxidase B. Br J Pharmaco 2001;132(2)500-6.

[3] Mayne AM, Evans PJ. Effects of antibiotics on the binding of pargyline to monamine oxidase in cultured hepatocytes. Biochem Pharmacol 1988;37:2823-2832.

[4] Oneglia C, Maestri M. Dysuria as a side effect of dopamine therapy. Cardiovascular Drugs Therapy 1994;8:515.

[5] Lin K. Carcinogenicity studies of pharmaceuticals. In: Encyclopaedia of Biopharmaceutical Statistics, ed, Chow S. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc., 2000:88-103.

[6] Thyagarajan S, Felten SY, Felten DL. Antitumor effect of L-deprenyl in rats with carcinogen-induced mammary tumors. Cancer Letters 1998;123(2):117-183.

[7] Thyagarajan S, Meites J, Quadri SK. Deprenyl reinitiates estrous cycles, reduces serum prolactin, and decreases the incidence of mammary and pituitary tumors in old acyclic rats. Endocrinology 1995;136(3):1103-1110.

[8] Kast A. "Wavy ribs" a reversible pathologic finding in rat fetuses. Exp Toxic Pathol, 1994;46:203-210.

[9] Engelhardt JA, Gries CL, Long GG. Incidence of spontaneous neoplastic and nonneoplastic lesions in Charles River CD-1® mice varies with breeding origin. Tox Path 1993;21:538-541.

[10] Maita K Hirano M, Harada T, Mitsumori K, Yoshida A, Takahashi K, Nakashima N, Kitazawa T, Enomoto A, Inui K, Shirasu Y. Mortlity, major cause of moribundity, and spontaneous tumors in CD-1 mice. Tox Path 1988;16:340-349.