TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
LIST OF FIGURES 1
1. 非臨床試験計画概略 2
2. 薬理試験 2
2.1. 効力を裏付ける試験 2
2.1.1. 各種重積発作モデルに対する効果 3
2.1.1.1. マウスのカイニン酸誘発てんかん重積発作モデル 3
2.1.1.2. ラットのコバルト/ホモシステイン誘発けいれん重積発作モデル 3
2.1.1.3. ラットのソマン誘発重積発作モデル 3
2.1.1.4. モルモットのソマン誘発重積発作モデル 4
2.2. 副次的薬理試験 4
2.3. 安全性薬理試験 4
2.4. 薬力学的薬物相互作用 4
3. 薬物動態試験 4
4. 毒性試験 5
4.1. 単回投与毒性 5
4.2. 反復投与毒性 5
4.3. 遺伝毒性試験 7
4.4. がん原性 7
4.5. 生殖発生毒性 7
4.6. 局所刺激性試験 8
4.7. その他の毒性試験 8
4.7.1. 溶血性試験 8
5. 総括及び結論 8
6. 参考文献 10

LIST OF TABLES

Table 1. 単回投与による急性毒性成績のまとめ 5

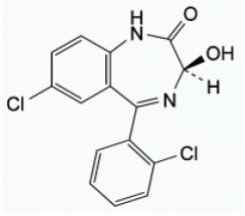
LIST OF FIGURES

Figure 1. ロラゼパムの構造 2

1. 非臨床試験計画概略

ロラゼパムはベンゾジアゼンピン系の薬剤であり，γ-アミノ酪酸（gamma-aminobutylic acid：GABA）$_A$受容体のベンゾジアゼピン結合部位に結合することで，$GABA_A$受容体自体の構造を変化させ，その結果，抑制性神経伝達物質である GABA の親和性を増大させるため，抗不安作用，鎮静作用，抗けいれん作用が発揮されると考えられている。ロラゼパムの構造を Figure 1 に示す。

Figure 1.　ロラゼパムの構造



および鏡像異性体

本邦で，ロラゼパムは 1977 年に錠剤（ワイパックス®錠 0.5 mg，1.0 mg）が承認され，現在「神経症における不安・緊張・抑うつ」ならびに「心身症（自律神経失調症，心臓神経症）における身体症候並びに不安・緊張・抑うつ」の効能・効果で市販されている。注射液（本剤）は外国で 1988 年に承認されて以来長く使用されており，有効性および安全性が確立している。

本剤については日本てんかん学会および日本小児神経学会から，てんかん重積状態に対する開発要望書が厚生労働省に提出され，「医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」において，医療上の必要性が高いと判断されたことを受けて，2010 年 12 月 13 日に出された開発要請書に基づき，本邦での開発に着手した。

初回承認申請時に提出されたロラゼパムの非臨床試験成績により，経口投与による有効性および安全性について評価されている。今回の「てんかん重積状態」を効能・効果とする注射液の承認申請では，効力を裏付ける試験として，カイニン酸誘発てんかん重積発作モデルマウスおよびコバルト/ホモシステイン誘導けいれん重積発作モデル，ラットおよびモルモットを用いたソマン誘発重積発作モデルに対する本剤の有効性について公表文献を用いて評価した。薬物動態試験としては，ロラゼパムを静脈内投与したときの薬物動態について，イヌにおけるトキシコキネティクスの成績を用いて評価した。また，他の動物種に静脈内投与したときの血中濃度推移について，公表文献に報告されている成績を用いて考察した。毒性試験として，ロラゼパム注射液の毒性プロファイルを評価するために，静脈内，筋肉内または腹腔内投与したときの単回投与毒性試験，最長 1 ヵ月間の反復投与毒性試験，胚・胎児発生に関する試験を実施した。加えて，局所刺激性試験および in vivo 溶血性試験を実施した。

今回申請するロラゼパムの効能・効果および用法・用量は添付文書（案）（CTD 1.8.1 項）に記載した。

2. 薬理試験

2.1. 効力を裏付ける試験

今回「てんかん重積状態」の効能・効果を追加するにあたり，効力を裏付ける試験として，マウスのカイニン酸誘発てんかん重積発作モデルおよびラットのコバルト/ホモシステイン誘発けい

れん重積発作モデル，ラットおよびモルモットのソマン誘発重積発作モデルにおけるロラゼパムの有効性について公表文献を用いて評価した。

2.1.1. 各種重積発作モデルに対する効果

2.1.1.1. マウスのカイニン酸誘発てんかん重積発作モデル

カイニン酸は，海藻から精製された興奮性アミノ酸の一種であり，カイニン酸をラットの脳内に局所注入するか，全身投与するとてんかん発作重積状態が起こる[1,2,3]。雄 C57BL/6 マウス（6 匹/群）の扁桃体基底外側核にカイニン酸（0.3 μg）を投与することにより，てんかん重積発作モデルを作製した。脳波をカイニン酸投与前 10 分からベースラインとして記録し，カイニン酸投与後 40 分にロラゼパム（8 mg/kg）またはミダゾラム（8 mg/kg）を腹腔内投与した。被験物質投与後 60 分まで脳波測定を行い，被験物質投与前後の脳波のトータルパワーおよび平均振幅を比較した。脳波データは Labchart 7（AD Instruments Ltd, Oxford, UK）を用いて解析した。その結果，ロラゼパムまたはミダゾラム投与によりてんかん発作重積状態における脳波の異常が改善された。

2.1.1.2. ラットのコバルト/ホモシステイン誘発けいれん重積発作モデル

ホモシステインはメチオニンの代謝における中間生成物であるが，組織中に多量に存在すると神経に影響を及ぼし，ラットに投与するとけいれんを引き起こす[4]。また，コバルトをラットの硬膜上に留置することで，皮質や海馬で激しいけいれん波が起こることが報告されている[5]。本試験では雄 SD 系ラット（6 匹/群）の左前頭硬膜上にコバルト末を載せ，硬膜外記録電極を留置し，その 5 日後以降にホモシステインチオラクトン（5.5 mmol/kg）を投与することにより，けいれん重積発作モデルを作製した。脳波と同時に行動もビデオ録画により記録し，目視によりけいれん重積状態を観察した。ホモシステインチオラクトンを投与後，1 回目の全般性強直間代発作が起きたときをけいれん重積状態の開始とし，2 回目の発作後または 1 回目の発作が 5 分以上継続した時に，ロラゼパムを 0（溶媒対照），0.33，0.67，1.0，1.5，2.0 および 3.0 mg/kg の用量で腹腔内投与した。ロラゼパムの抗けいれん作用は以下の指標で記録した（CTD2.6.2.2.1.2, Table 1 参照）。また，全般性強直間代発作に対する抑制作用の ED_{50} は Litchfield and Wilcoxon 法[6]により算出した。結果として，ロラゼパムは抗けいれん作用を示し，全般性強直間代発作に対する ED_{50} 値は 0.94 mg/kg（95%信頼限界：0.67～1.32 mg/kg）であった。このときのラットにおけるロラゼパムの血清中濃度は 196 ng/mL と推定された。日本人健康被験者にロラゼパム 2 mg を単回静脈内投与したときの血漿中ロラゼパム濃度は C_0 = 92.9 ng/mL であることから（CTD2.7.2.2.2.1.1 参照），承認申請用量である 4 mg 静脈内投与時の血漿中濃度を約 186 ng/mL と仮定すると，本けいれん重積発作モデルにおけるロラゼパムの有効血清中濃度はヒトにロラゼパムを投与した時の血漿中濃度とほぼ同等であった。

2.1.1.3. ラットのソマン誘発重積発作モデル

ソマンは有機リン酸塩系の神経作用物質であり，アセチルコリンエステラーゼを阻害することにより，けいれん重積様発作を誘発する[7]。雄 SD 系ラット（5～6 匹/群）に硬膜外記録電極を留置し，1 週間後ベースラインの脳波を 15 分間測定し，その後アセチルコリンエステラーゼ再活性化

作用を有する HI-6[a]（125 mg/kg）を腹腔内投与し，30 分後にソマン（180 μg/kg，1.6×LD_{50} に相当）を皮下投与した。脳波は Grass Model 78D polygraph により測定した。発作の開始は律動的な高振幅棘波または鋭波が 10 秒以上みられる状態と定義した。発作開始 5 分および 40 分後に，生理食塩液（対照）またはロラゼパム（3.0 mg/kg）を腹腔内投与した。ロラゼパムは，発作開始 5 分後では 6 例中 5 例で発作の抑制作用を示したが, 40 分後では作用は減弱し 5 例中 1 例で有効であった。

2.1.1.4. モルモットのソマン誘発重積発作モデル

雄 Hartley モルモット（4～6 匹/群）に硬膜外記録電極を留置し，少なくとも 1 週間以上の後，アセチルコリンエステラーゼに可逆的に結合する臭化ピリドスティグミン（0.026 mg/kg）を筋肉内投与し，その 30 分後にソマンを 56 μg/kg（2×LD_{50} に相当）皮下投与し，さらにソマン投与 1 分後にソマン中毒による急死を防ぐために, アトロピン (2 mg/kg) と塩化プラリドキシム (25 mg/kg) を筋肉内投与することにより，重積発作モデルを作製した。脳波を臭化ピリドスティグミン投与の少なくとも 15 分以上前から測定し，発作開始 5 分および 40 分後にロラゼパムを筋肉内投与した。ロラゼパム投与後 4 時間連続および 24 時間後の 30 分間，脳波を記録した。発作開始は脳波測定により 10 秒以上継続する棘波あるいは鋭波の反復がみられる状態と定義した。ロラゼパム投与による脳波の状態を基に，発作の終了の有無を判定し ED_{50} 値を求めた。さらに発作終了までに要した時間を計測した。結果として，ロラゼパムは発作抑制作用を示し，発作開始 5 分におけるロラゼパムの ED_{50} 値は 3.53 mg/kg（95%信頼限界：1.96-9.96 mg/kg）および発作終了までに要した時間は 108.68±13.56 分（±標準誤差）で，発作開始 40 分ではそれぞれ 6.67 mg/kg（95%信頼限界：4.61-10.25 mg/kg）および 69.33±10.64 分（±標準誤差）であった。

2.2. 副次的薬理試験

該当資料無し。

2.3. 安全性薬理試験

該当資料無し。

2.4. 薬力学的薬物相互作用

該当資料無し。

3. 薬物動態試験

ロラゼパムを静脈内投与したときの血中濃度推移について，イヌにおけるトキシコキネティクスの成績を用いて評価した。また，他の動物種に静脈内投与したときの血中濃度推移について，公表文献[8,9]に報告されている成績を用いて考察した。

雄のビーグル犬（6 匹/群）を用いてロラゼパムを 2，5 および 10 mg/kg の用量を 4 時間ごとに 2 回に分割して（1 回投与量 : 1，2.5 および 5 mg/kg）静脈内投与した時のトキシコキネティクスに

[a] 1-[[[4-(アミノカルボニル)ピリジニオ]メトキシ]メチル]-2-[(ヒドロキシイミノ)メチル]ピリジニウム・ジクロリド

ついて評価した。ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンとの包摂体を用いた。ロラゼパム投与後 0.25，0.5，1，2，4，4.25，6，8，12 および 24 時間に採血し，血漿中濃度を定量した。静脈内投与後のロラゼパムの最高血漿中濃度（C_0）および $AUC_{0-\infty}$は，それぞれ 1123，2205 および 3874 ng/mL ならびに 753，1760 および 3252 ng·hr/mL であった。いずれの用量および投与回においても t½は 0.37±0.04～0.56±0.17 時間とほぼ一定の値を示した。血漿からの消失は速やかであり，1 回目投与時と 2 回目投与時の血漿中濃度はいずれの用量においても類似していた。1，2.5 および 5 mg/kg における全身クリアランスの平均値はそれぞれ 23.4，26.2 および 35.1 mL/min/kg，V_{ss} の平均値はそれぞれ 0.97，1.31 および 1.36 L/kg であった。

Deguchi らは，CD マウス，SD ラット，ビーグル犬およびカニクイザルにロラゼパムを静脈内投与（ケトプロフェン，イミプラミンおよびレボフロキサシンとともにカセット投与）したときの全身クリアランスおよび分布容積を報告している[8]。CD マウス，SD ラット，ビーグル犬およびカニクイザルに 0.2 mg/kg の用量で静脈内投与したときの全身クリアランスはそれぞれ 13.0, 5.20, 18.6 および 13.8 mL/min/kg であり，各動物種における AUC はそれぞれ 256，641，179 および 242 ng·hr/mL と見積もられる。この文献では血漿中濃度は示されていないが，別の公表文献からロラゼパムを SD ラットに 0.05，0.1 および 0.5 mg/kg の用量で静脈内投与直後の血漿中濃度は，それぞれ約 45，85 および 250 ng/mL であった[9]。なお，Deguchi らの文献では CD マウス，SD ラット，ビーグル犬およびカニクイザルにおけるバイオアベイラビリティはそれぞれ 100%，100%，5%および 18%であったと報告されている。

4. 毒性試験

4.1. 単回投与毒性

マウス，ラットおよびイヌを用いて静脈内，筋肉内または腹腔内の急性毒性を検討した。溶媒についても同様に検討した結果，主たる急性毒性は溶媒に起因するものと考えられた（Table 1）。

Table 1. 単回投与による急性毒性成績のまとめ

動物種	投与経路	ロラゼパムの LD_{50}		溶媒の LD_{50}
		(mg/kg)	(mL/kg)	(mL/kg)
マウス	静脈内投与	24.0	4.8	5.5
	筋肉内投与	70.0	14.0	16.2
	腹腔内投与	46.0	9.2	9.3
ラット	筋肉内投与	59.0	11.8	14.3
	腹腔内投与	48.0	10.6	11.6
イヌ	静脈内投与	50.0	10.0	12.5

4.2. 反復投与毒性

反復投与毒性試験をラットおよびイヌを用いて実施した。すなわち，静脈内投与によるラットの 10 日間試験，ラットおよびイヌの 2 週間試験を実施したほか，ラットおよびイヌの 1 ヵ月試験を筋肉内投与試験により評価した。

ラットの 10 日間静脈内投与試験では，ロラゼパムの 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），4 および 8 mg/kg/日を 1 日 1 回投与した。雄 2 例（溶媒対照群および 4 mg/kg/日群）が試験期間中

に死亡した。軽度な鎮静が 4 mg/kg/日で，虚脱，重度の鎮静および運動失調が 8 mg/kg/日で認められた。体重増加抑制が 4 mg/kg/日以上の雄で認められた。眼科的検査，臨床病理検査，剖検，器官重量や病理組織学的検査においてロラゼパム投与に関連する影響はみられなかった。

ラット 2 週間静脈内投与試験［0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），1，5 および 10 mg/kg/日，追加試験：0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），0.25 および 2.5 mg/kg/日］では，鎮静などのロラゼパムの薬理作用に関連すると考える症状が認められた以外は，溶媒［ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン溶液（250 mg/mL）およびマンニトール（50 mg/mL）の水溶液：Encapsin HPB］によると考えられる変化が認められたのみであった。無毒性量は 0.25 mg/kg/日と考えられた。

ラットの 1 ヵ月間筋肉内投与毒性試験では，ロラゼパムの 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），5，10，および 20 mg/kg/日を 1 日 2 回に分けて投与した。20 mg/kg/日群の雌 2 例が投与 7 日または 12 日に死亡した。鎮静が 20 mg/kg/日で注射後約 30 分間認められた。この間，動物は覚醒しやすく，後肢の跛行がみられた。跛行は溶媒対照群でも認められた。体重，摂餌量および眼科的検査ではロラゼパムの影響は認められなかった。赤血球パラメータの減少が溶媒対照群とすべてのロラゼパム投与群で認められ，注射部位からの失血によるものと考えられた。20 mg/kg/日の雌 2 例では特に著しかった。うち 1 例が採血直後に死亡したが，溶媒による影響とは断定できなかった。血液生化学的パラメータには明らかにロラゼパムによると考えられる影響は認められなかった。脾臓の重量増加が 20 mg/kg/日群で認められ，病理組織学的には髄外造血の亢進がみられた。剖検および病理組織学的検査で，注射部位における炎症性反応が認められた。この炎症性反応は溶媒負荷量に依存して認められ，出血を伴っていたことから，赤血球パラメータの減少を伴う注射部位の変化は溶媒による影響と考えられた。また，肝臓重量の増加が 5 mg/kg/日以上の雌雄，腎臓重量の増加が 5 mg/kg/日以上の雌および 10 mg/kg/日以上の雄，副腎重量の増加が溶媒対照群および 10 mg/kg/日以上の雌雄で認められたが，いずれも関連する病理組織学的変化はみられなかった。

イヌ 2 週間静脈内投与試験［0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），2，5 および 10 mg/kg/日］では，運動失調などのロラゼパムの薬理作用に関連すると考える症状が認められた以外は，溶媒（Encapsin HPB）によると考えられる変化が認められたのみであった。無毒性量は 2 mg/kg/日未満と考えられた。

イヌの 1 ヵ月間筋肉内投与毒性試験では，ロラゼパムの 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），2.5，5，および 10 mg/kg/日を左右の後肢にそれぞれ 1 日 3 回に分けて投与した。試験期間中に死亡例は認められなかった。嘔吐，軟便のほか，軽度な鎮静，運動失調，振戦，不穏および不安がロラゼパム投与群でまれにみられた。摂水量の増加傾向がロラゼパム投与群で用量依存的に認められた。注射部位周辺の硬結腫脹および変色が溶媒対照群およびロラゼパム投与群でみられ，剖検および病理組織学的検査により，重度の炎症性反応が確認された。また，一部の動物では開放性滲出創がみられた。赤血球パラメータの減少が溶媒対照群およびロラゼパム投与群で認められ，注射部位からの失血によるものと考えられた。AST の上昇が 5 mg/kg/日以上，ALT の上昇が 10 mg/kg/日で認められた。尿検査および器官重量にはロラゼパム投与の影響は認められなかった。また，軽度から重度の脾臓における髄外造血および骨髄細胞の過形成を伴う血液沈降速度の増加が用量依存的に，精巣の退縮が 10 mg/kg/日で，コレステロールの増加が溶媒対照群および 10 mg/kg/日で認められた。

以上のように，ロラゼパムの反復投与により認められた変化は，基本的に，ロラゼパムの薬理作用に起因する変化，あるいは溶媒の静脈内または筋肉内投与に起因する二次的変化によるものと考えられた。

4.3. 遺伝毒性試験

該当資料無し。

4.4. がん原性

マウスやラットにおけるロラゼパムの 18 ヵ月間経口投与試験で発がん性を示唆する変化が認められなかったこと，および本剤は臨床において長期に投与される薬剤ではないことから，静脈内投与でのがん原性試験は実施しなかった。

4.5. 生殖発生毒性

妊娠ラットにロラゼパムを 0（溶媒対照），2，4，8 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 15 日に静脈内投与した。試験期間中に死亡例は認められなかった。すべてのロラゼパム投与群で投与期間中，運動失調および鎮静が用量依存的に認められ，すべてのロラゼパム投与群では有意な体重増加抑制が認められた。1 腹当たりの胎児数や胎児重量等の帝王切開時の成績にロラゼパムによる影響はみられなかった。胎児の外表，内臓および骨格検査ではロラゼパムによる影響は認められなかった。

妊娠した NZW ウサギにロラゼパムを 0（溶媒対照），1，2，4 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 18 日に静脈内投与した。試験期間中にロラゼパム投与による死亡例は認められなかった。投与期間中，鎮静，運動失調および有意な体重増加抑制がすべてのロラゼパム投与群でみられた。1 腹当たりの胎児数にロラゼパム投与による影響は認められなかった。胎児重量の減少傾向および胎児損失率の増加傾向が 4 mg/kg/日で認められたが，有意な変化ではなかった。口蓋裂，頭頂間骨欠損，過剰肋骨などの骨格や内臓の異常が散見されたものの，ロラゼパムとの関連性が示唆されるほどその頻度は高くなかった。

ロラゼパムの静脈内投与による「受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験」および「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験」を実施していないが，初回申請時に経口投与による「ラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験」および「ラットにおける周産期及び授乳期投与試験」を提出している（参考文献 4.3.1）。ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期経口投与試験（0，20，40 mg/kg）では，高用量の 40 mg/kg 投与により，ロラゼパムによる性欲に対する冷淡化作用のためと考えられる妊娠母動物数の減少が認められ，ラットを用いた周産期及び授乳期経口投与試験（0，2.5，10，33 mg/kg）では，高用量の 33 mg/kg 投与により，母動物の授乳能力の低下あるいは新生児に対する注意力の減少によるものと考えられる新生児死亡が多数みられていることから，両試験の用量設定は妥当であったと考えられる。また，ロラゼパムのラットにおけるバイオアベイラビリティは 100%であること [8]，C_{max} についてもヒトに 4 mg を 2 回静脈内投与した際の最大臨床曝露量の推定値（C_{max} : 166 ng/mL，$AUC_{0-\infty}$: 2272 ng･h/mL，CTD 2.7.2.3.2 の母集団薬物動態モデルから算出）を超えると推察されることから，静脈内投与による「受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験」および「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験」の成績については経口投与試験の成績で代替し得るものと考える。

なお，「胎仔の器官形成期投与試験」についても初回申請時に「マウスおよびラットを用いた胎児の器官形成期経口投与試験」および「ウサギを用いた胎児の器官形成期経口投与試験」を提出している（添付資料番号 4.3.1）。マウスおよびラットを用いた胎児の器官形成期経口投与試験（0, 0.4，4 mg/kg）については，14 日間経口投与用量設定試験でマウス，ラットともに 20 mg/kg 以上の投与によりほとんどの個体で立毛および衰弱がみられ，高用量を 4 mg/kg とした経緯があることから, 用量設定に問題はなく, 経口投与による成績を支持するものと考える。Dutch および NZW ウサギを用いた胎児の器官形成期経口投与試験（2，25，50 mg/kg）では，高用量の 50 mg/kg でも母動物および次世代動物への影響は認められておらず，昨今の判断基準に基づくと高用量の設定が適切であったとは言い難いが, ウサギに 2 mg/kg を経口投与した時の C_{max} は 207 ng/mL, AUC は 556.57 ng· h/mL[10]と報告されていることから，50 mg/kg 投与による成績はヒトでの安全性を担保し得るものと考える。

4.6. 局所刺激性試験

単回投与による局所刺激性の有無を検討するために，ロラゼパム 5 mg/mL を 2.0 mL の用量で，NZW ウサギに静脈（耳介辺縁静脈）内投与または筋肉（仙棘筋および大腿二頭筋）内投与した。静脈内投与，筋肉内投与のいずれによっても，ロラゼパムによる注射部位への影響は認められなかった。

反復投与による局所刺激性の有無を検討するために，ロラゼパムの海外市販製剤（ATIVAN® INJECTION 4 mg/mL，溶媒としてベンジルアルコール，ポリエチレングリコールおよびプロピレングリコールを含有）を同量の滅菌水で希釈して 2 mg/mL とし，1 mL の容量で耳介辺縁静脈に 1 日 1 回，1 週間投与したところ，生理食塩液注射と比較してより強い刺激がみられたが，いずれも刺激性があることが知られている溶媒成分（ベンジルアルコール，ポリエチレングリコールおよびプロピレングリコール）による可能性が示唆された。また，ロラゼパムの 1 mg/mL（溶媒：HPB 含有滅菌水）または 4 mg/mL（溶媒：HPB 含有生理食塩液）を 1 mL の容量で，ウサギの耳介辺縁静脈に 1 日 1 回，1 週間投与した。いずれの薬液も，生理食塩液を注射した場合と同様の静脈投与に対する刺激反応を示した。

4.7. その他の毒性試験

4.7.1. 溶血性試験

ロラゼパム注射液の臨床用量相当（0.1 mg/kg：0.04 mL/kg，2.5 mg/mL）をイヌに静脈内投与して血漿成分を分析したところ，溶血性は認められなかった。

5. 総括及び結論

今回「てんかん重積状態」の効能・効果を追加するにあたり，効力を裏付ける試験として，マウスのカイニン酸誘発てんかん重積発作モデルおよびラットのコバルト/ホモシステイン誘発けいれん重積発作モデル，ラットおよびモルモットを用いたソマン誘発重積発作モデルにおけるロラゼパムの有効性について公表文献を用いて評価した。今回は新投与経路医薬品の承認申請であるため，静脈内投与試験の成績を検索したが情報が得られなかった。そのため，非経口投与による試験成績を用いて評価した。その結果，各種重積発作モデルにおいてロラゼパムの有効性が示唆された。また，ラットの全般性強直間代発作に対して有効な血清中濃度は，ヒトに 4 mg のロラ

ゼパムを静脈内投与した時の推定血漿中濃度とほぼ同等であった。以上の結果は，ヒトのてんかん重積状態に対するロラゼパムの有効性を裏付けるものと考えた。

雄のビーグル犬を用いてロラゼパムを 1，2.5 および 5 mg/kg の用量を 4 時間ごとに 2 回静脈内投与したときのトキシコキネティクスについて評価した。静脈内投与後のロラゼパムの最高血漿中濃度（C_0）および $AUC_{0-\infty}$は，それぞれ 1123，2205 および 3874 ng/mL ならびに 753，1760 および 3252 ng･hr/mL であり，いずれの用量および投与回においても $t_{½}$はほぼ一定の値を示した。血漿からの消失は速やかであり，1 回目投与時と 2 回目投与時の血漿中濃度はいずれの用量においても類似していた。Deguchi らは，CD マウス，SD ラット，ビーグル犬およびカニクイザルにロラゼパムを静脈内投与したときの全身クリアランスおよび分布容積を報告している。CD マウス，SD ラット，ビーグル犬およびカニクイザルに 0.2 mg/kg の用量で静脈内投与したときの全身クリアランスはそれぞれ 13.0，5.20，18.6 および 13.8 mL/min/kg であり，各動物種における AUC はそれぞれ 256，641，179 および 242 ng･hr/mL と見積もられる。この文献では血漿中濃度は示されていないが，別の文献からロラゼパムをラットに 0.05，0.1 および 0.5 mg/kg の用量で静脈内投与直後の血漿中濃度は，それぞれ約 45，85 および 250 ng/mL であった。

ロラゼパムの注射液としての毒性プロファイルを明らかにするために一連の非臨床試験（一般毒性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験，溶血性試験）を実施した。その結果，ロラゼパムの薬理作用の延長上に発症したと考えられる鎮静，運動失調等の症状がみられたが，明らかな標的器官毒性を見出すことはできなかった。しかしながら，溶媒（ベンジルアルコール，ポリエチレングリコールおよびプロピレングリコールを含有）による影響として，注射部位の炎症性反応（硬結腫脹，出血等を含む）がみられ，その二次的影響として貧血や AST 上昇等が認められた。ロラゼパム注射液に溶血性はなく，局所刺激性もジアゼパムと同程度のものであった。血中濃度測定を行ったイヌの 2 週間静脈内投与試験では，低用量の 2 mg/kg/日の雌で中等度の体重減少がみられたことからこの試験における無毒性量は 2 mg/kg/日未満と考えられた。また，2 mg/kg/日での C_0 および $AUC_{0-\infty}$はそれぞれ 1123 ng/mL および 753 ng･h/mL であり，ヒトの 2 回投与時の臨床曝露量（小児の C_{max}：166 ng/mL，および成人の $AUC_{0-\infty}$：2272 ng･h/mL；CTD2.7.2.3.2 の母集団薬物動態モデルから算出）のそれぞれ 6.77 倍および 0.33 倍と推定された。

なお，ロラゼパム注射液の開発に際して新規変異原性試験は実施していないが，キイロショウジョウバエを用いた変異原性試験の結果，ロラゼパムには変異原性はないとされている[11]。

また，生殖発生毒性に関しては妊娠ラットへのロラゼパム 20 mg/kg/日の腹腔内投与（妊娠 9 日～18 日）により口蓋裂，眼瞼開裂，頭蓋骨の異常などの神経堤障害がみられたとの文献報告があるが[12]，投与経路，投与量ともにロラゼパム注射液の臨床用量［4 mg（=0.08 mg/kg），静脈内投与］に比べて著しく高い曝露量での成績と考えられ，妊婦への催奇形性を一義的に示唆するものではないと考えられる。以上の成績より，ロラゼパム注射液投与に関連する影響は，本薬の適応対象である患者への投与に際しては容認できるリスクであると考えられる。

以上のように，ロラゼパムをてんかん重積状態に使用されることに対して，非臨床における薬理，薬物動態および毒性は充分に評価されていると考える。

6. 参考文献

[1] Stafstrom CE, Thompson JL, Holmes GL. Kainic acid seizures in the developing brain: status epilepticus and spontaneous recurrent seizures. Brain Res Dev Brain Res. 1992;65(2):227-36.

[2] Tanaka T, Tanaka S, Fujita T, et al. Experimental complex partial seizures induced by a microinjection of kainic acid into limbic structures. Prog Neurobiol. 1992;38(3):317-34.

[3] Sperk G. Kainic acid seizures in the rat. Prog Neurobiol. 1994;42(1):1-32.

[4] Wuerthele SE, Yasuda RP, Freed WJ, et al. The effect of local application of homocysteine on neuronal activity in the central nervous system of the rat. Life Sci. 1982;31(24):2683-91.

[5] 菅谷愛子．細胞レベルにおけるけいれん発現機序と柴胡桂枝湯加芍薬の作用．薬学雑誌．2001;121(5):295-317.

[6] Litchfield JT Jr, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmacol Exp Ther. 1949;96(2):99-113.

[7] Taylor P. 抗コリンエステラーゼ薬．グッドマン・ギルマン 薬理書 第 11 版．廣川書店, 2007;246-65.

[8] Deguchi T, Watanabe N, Kurihara A, et al. Human pharmacokinetic prediction of UDP-glucuronosyltransferase substrates with an animal scale-up approach. Drug Metab Dispos. 2011;39(5):820-9.

[9] Atack JR, Scott-Stevens P, Beech JS, et al. Comparison of lorazepam [7-chloro-5-(2-chlorophenyl)-1,3-dihydro-3-hydroxy-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-one] occupancy of rat brain gamma-aminobutyric $acid_A$ receptors measured using in vivo [^{3}H]flumazenil (8-fluoro 5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4*H*-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepine-3-carboxylic acid ethyl ester) binding and [^{11}C]flumazenil micro-positron emission tomography. J Pharmacol Exp Ther. 2007;320(3):1030-7.

[10] Ventura CA, Giannone I, Musumeci T, et al. Technological evaluation and equivalence assessment of lorazepam tablets in rabbits. Pharmazie. 2007;62(7):515-8.

[11] Filippova, L.M., Rapoport LA., Shapiro, Y.L., Aleksandrovsku, A. Mutagenic activity of psychotropic preparations. Genetica. 1975;11(6):77-82.

[12] Pasbakhsh P, Mehrannia K, Barbarestani M, The teratogenic effects of Lorazepam on the organogenesis of the rat fetus. Acta Medica Iranica. 2003;41(1):29-32.