TABLE OF CONTENTS

LIST OF FIGURES 1
1. 緒言 2

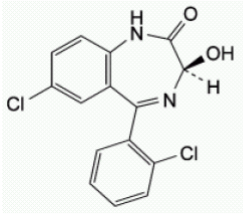
LIST OF FIGURES

Figure 1. ロラゼパムの構造 2

1. 緒言

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-aminobutyric 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，イヌの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。

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
1. まとめ 3
2. 効力を裏付ける試験 3
2.1. 各種重積発作モデルに対する効果 3
2.1.1. マウスのカイニン酸誘発てんかん重積発作モデル 3
2.1.2. 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 4
2.1.3. ラットのソマン誘発重積発作モデル 5
2.1.4. モルモットのソマン誘発重積発作モデル 5
3. 副次的薬理試験 5
4. 安全性薬理試験 5
5. 薬力学的薬物相互作用試験 5
6. 考察及び結論 6
7. 図表 6

LIST OF TABLES

Table 1. 抗けいれん作用の指標 4

略号・用語の定義一覧

略号，用語	省略していない表現または定義
C_0	plasma and serum concentration immediately after end of infusion：投与直後の血漿または血清中濃度
ED_{50}	50% effective dose：50%有効用量
EEG	electroencephalography：脳波
GABA	gamma amino butyric acid：γ-アミノ酪酸
LD_{50}	50% lethal dose：50%致死用量

1. まとめ

てんかんは，大脳神経細胞の過剰な電気的興奮によって起こる反復性発作を主徴とする疾患で，この発作がある程度以上に続くか，または，短い発作でも反復し，その間の意識の回復がないものはてんかん重積状態と定義され，近年は発作が 5 分以上続けばてんかん重積状態と診断される。この電気的興奮には細胞膜に発現するイオンチャネルや受容体が深く関与する。γ-アミノ酪酸（GABA）$_A$ 受容体は抑制性神経伝達に関与する GABA 作動性 Cl^-チャネルであり，GABA が結合すると Cl^-チャネルが活性化され，通常は Cl^-が細胞内に流入し，膜電位を過分極させ興奮を抑制する。ロラゼパムはベンゾジアゼピン系の薬剤であり，$GABA_A$ 受容体に結合することで，$GABA_A$ 受容体自体の構造を変化させ，その結果 GABA の作用を増強させ，Cl^-の透過性が亢進し，膜電位を低下させ興奮を抑制することで，抗てんかん作用を発揮すると考えられている[1]。

すでに初回申請時の承認申請資料において，抗てんかん薬の薬効スクリーニングとして汎用されているマウスの最大電撃けいれんモデルおよびマウスのペンテトラゾール誘発けいれんモデルの 2 種のけいれんモデルにおいてロラゼパムの有効性を評価した資料が提出されている（初回申請時資料概要参照）。

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。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。

なお，安全性薬理試験は，一般薬理試験として初回申請時の承認申請資料ですでに提出済みであり，本申請において追加の資料はない。

2. 効力を裏付ける試験

2.1. 各種重積発作モデルに対する効果

2.1.1. マウスのカイニン酸誘発てんかん重積発作モデル

添付資料番号 4.2.1.1.1（報告書番号 PD-1）

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[2,3,4]。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。

2.1.2. 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

添付資料番号 4.2.1.1.2（報告書番号 PD-2）

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[5]。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[6]。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（Table 1）。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[7]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。

Table 1.　抗けいれん作用の指標

	指標
1	全般性強直間代発作が薬物投与後も続く，不連続の電気的発作から連続した棘波を示す脳波に転換
2	脳波の転換無しで全般性強直間代発作が薬物投与後も続く
3	全般性強直間代発作が薬物投与後に無い，しかしながら短時間の全般性発作に加え局所運動発作が続く
4	全般性発作が薬物投与後に無い，しかしながら脳波に局所運動発作が続く
5	薬物投与後に運動性発作がない，しかしながら脳波にてんかん型の活動が続く
6	薬物投与後に運動性または脳波に発作の兆候なし

2.1.3. ラットのソマン誘発重積発作モデル

添付資料番号 4.2.1.1.3（報告書番号 PD-3）

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[8]。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。

2.1.4. モルモットのソマン誘発重積発作モデル

添付資料番号 4.2.1.1.4（報告書番号 PD-4）

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。

3. 副次的薬理試験

該当資料無し。

4. 安全性薬理試験

該当資料無し。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料無し。

---

[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

6. 考察及び結論

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。

7. 図表

本文中に記載した。

参考文献

[1] 杉浦嘉泰，宇川義一．てんかんとイオンチャネル．臨床神経学．2017;57(1):1-8

[2] 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.

[3] 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.

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

[5] 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.

[6] 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.

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

[8] 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.

TABLE OF CONTENTS

2.6.3.1 薬理試験一覧.....2

2.6.3.1 薬理試験一覧

被験物質：ロラゼパム

試験項目	動物種/系統	投与方法	試験実施施設	報告書番号	添付箇所
効力を裏付ける試験					
カイニン酸誘発てんかん重積発作モデル	マウス/C57BL/6	腹腔内	Royal College of Surgeons in Ireland.	PD-1	4.2.1.1.1
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/SD	腹腔内	UCLA School of Medicine.	PD-2	4.2.1.1.2
ソマン誘発重積発作モデル	ラット/SD	腹腔内	US Army Medical Research Institute of Chemical Defense.	PD-3	4.2.1.1.3
ソマン誘発重積発作モデル	モルモット/Hartley	筋肉内	US Army Medical Research Institute of Chemical Defense.	PD-4	4.2.1.1.4