TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
本項で使用する用語・略語 3
1. まとめ 4
1.1. 単回投与毒性試験 5
1.2. 反復投与毒性試験 5
1.3. 生殖発生毒性試験 6
1.4. 局所刺激性試験 6
1.5. 溶血性試験 7
2. 単回投与毒性試験 7
2.1. マウスにおける単回静脈内投与毒性試験 7
2.2. マウスおよびラットにおける単回（筋肉内および腹腔内）投与毒性試験 7
2.3. イヌにおける単回静脈内投与毒性試験 8
3. 反復投与毒性試験 8
3.1. ラットにおける 10 日間静脈内投与毒性試験 9
3.2. ラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験 9
3.3. ラットにおける 1 ヵ月間筋肉内投与毒性試験 11
3.4. イヌにおける 2 週間静脈内投与毒性試験 12
3.5. イヌにおける 1 ヵ月間筋肉内投与毒性試験 14
4. 遺伝毒性試験 15
5. がん原性試験 15
6. 生殖発生毒性試験 15
6.1. 静脈内投与試験 15
6.1.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 15
6.1.2. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 16
6.2. 経口投与試験 17
7. 局所刺激性試験 18
7.1. ウサギにおける単回静脈内投与局所刺激性試験 18
7.2. ウサギにおける 1 週間静脈内投与局所刺激性試験 18
8. その他の毒性試験 19

8.1. イヌにおける溶血性試験 19
9. 考察及び結論 20
10. 図表 20
11. 参考文献 21

LIST OF TABLES

Table 1. ロラゼパムの毒性試験一覧 4
Table 2. 単回投与による急性毒性成績のまとめ 7
Table 3. イヌの 2 週間静脈内投与毒性試験における TK パラメータ 13

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
ALP, AP	alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the serum concentration-time curve ：血清中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinite time：0 時間から投与後無限大時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
CK	creatine kinase：クレアチンキナーゼ
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPB	hydroxypropyl-β-cyclodextrin：ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
MCH	mean corpuscular hemoglobin：平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	mean corpuscular volume or mean cell volume：平均赤血球容積
NOAEL	no observable adverse effect level：無毒性量
NZW	New Zealand White
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構

1. まとめ

ロラゼパム（Wy-4036，Wy 4036 または WY-04,036）を非経口投与したときの非臨床毒性プロファイルを単回投与毒性試験，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に加え，局所刺激性試験および in vivo 溶血性試験により評価した（Table 1）。反復投与毒性試験および局所刺激性試験の一部は米国 FDA の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。その他の多くの試験は，1960 年～1970 年代前半に実施されており，GLP 施行前に実施された試験のため GLP 非適用である。

Table 1.　ロラゼパムの毒性試験一覧

試験の種類 および試験期間	動物種	投与経路	報告書番号	GLP 適用
単回投与毒性試験				
単回投与	マウス	静脈内，筋肉内，腹腔内	GTR 1761，GTR 1693	非適用
	ラット	筋肉内，腹腔内	GTR 1693	非適用
	イヌ	静脈内	GTR 1761	非適用
反復投与毒性試験				
10 日間	ラット	静脈内	TOX-1[a]	非適用
2 週間投与	ラット	静脈内	GTR 22661，GTR 22668	適用
1 ヵ月間	ラット	筋肉内	TOX-2[a]	非適用
2 週間投与	イヌ	静脈内	GTR 21644	適用
2 回投与（トキシコキネティクス試験）	イヌ	静脈内	GTR 21620	非適用
1 ヵ月間	イヌ	筋肉内	TOX-3[b]	非適用
生殖発生毒性試験				
胚･胎児発生に関する試験	ラット	静脈内	GTR 4865	非適用
胚･胎児発生に関する試験	ウサギ	静脈内	GTR 5045	非適用
局所刺激性試験				
単回	ウサギ	静脈内，筋肉内	GTR 2382	非適用
1 週間	ウサギ	静脈内	GTR 19916	適用
その他の毒性試験				
溶血性	イヌ	静脈内	GTR 4470	非適用

a 試験成績を EU の申請資料概要から抜粋
b 分散して作成されている報告書を 1 報にまとめた

薬物動態プロファイルおよび主要代謝経路がヒトに類似していることから，一般毒性試験に用いる動物種としてラット（げっ歯類）およびイヌ（非げっ歯類）を選択した。特に記載のない限り，毒性試験の投与経路は臨床適用経路である静脈内投与とした。また，筋肉内および腹腔内投与による成績も静脈内投与による成績を補足するものと考え，本項に収載した。なお，特に記載のない限り，溶媒には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の混合液を用いた。

1.1. 単回投与毒性試験

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。

1.2. 反復投与毒性試験

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。

1.3. 生殖発生毒性試験

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。

1.4. 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。

1.5. 溶血性試験

ロラゼパム注射液（酒石酸製剤）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。

2. 単回投与毒性試験

急性毒性をマウスおよびイヌへの静脈内投与，マウスとラットへの筋肉内投与および腹腔内投与により評価した。各試験における LD_{50} を Table 2 に示した。

Table 2.　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

2.1. マウスにおける単回静脈内投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.1.2（報告書番号 GTR 1761）

CD-1 マウス（雌雄各 5 匹/群）にロラゼパムを単回静脈内投与し，投与後 14 日間観察して急性毒性を評価した。ロラゼパムの用量は 0（溶媒対照），15.9，20.0，25.1 および 31.6 mg/kg とした。溶媒としてはポリエチレングリコール 0.18 mL，ベンジルアルコール 0.02 mL をプロピレングリコールで 1.0 mL に調製したものを使用した。

15.9 mg/kg 以上の静脈内投与により死亡例が認められた。中等度から強度のけいれんがロラゼパムの全用量および溶媒対照群でみられた。けいれんは投与直後（1 分間足らず）に認められた。生存例では呼吸数および運動量の減少が認められたが，その他の行動異常はみられなかった。また，投与容量でみた場合，ロラゼパムの LD_{50} と溶媒の LD_{50} はほぼ同等であった。以上の成績より，本試験で認められた毒性所見はいずれも溶媒投与によっても認められるものであった。

2.2. マウスおよびラットにおける単回（筋肉内および腹腔内）投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.1.1（報告書番号 GTR 1693）

CD-1 マウス（雌雄各 5 匹/群）および SD ラット（雌雄各 5 匹/群）にロラゼパムを単回筋肉内または腹腔内投与し，投与後 14 日間観察して急性毒性を評価した。マウスにおけるロラゼパムの用量は筋肉内投与で 0（溶媒対照），56.2，63.1，70.8，79.5 および 89.0 mg/kg，腹腔内投与で 0（溶媒対照），39.8，44.6，50.1 および 56.3 mg/kg，ラットにおけるロラゼパムの用量は筋肉内投与で 0（溶媒対照），39.8，50.1，63.0 および 79.5 mg/kg，腹腔内投与で 0（溶媒対照），39.8，44.6，50.1 および 56.3 mg/kg とした。溶媒としてはポリエチレングリコール 0.18 mL，ベンジルアルコール 0.02 mL をプロピレングリコールで 1.0 mL に調製したものを使用した。

マウスでは 63.1 mg/kg 以上の筋肉内投与，39.8 mg/kg 以上の腹腔内投与により，ラットでは 39.8 mg/kg 以上の筋肉内投与，44.6 mg/kg 以上の腹腔内投与により死亡例が認められた。溶媒対照群を含むすべての動物で鎮静が認められ，マウスでは 70.8 mg/kg 以上の筋肉内投与，50.1 mg/kg 以上の腹腔内投与により，ラットでは 63.0 mg/kg 以上の筋肉内投与，50.1 mg/kg 以上の腹腔内投与により，生存例では呼吸数の減少と共に側臥位が投与後 24 時間までみられた。また，マウスでは 63.1 mg/kg 以下の筋肉内投与，44.6 mg/kg 以下の腹腔内投与により，ラットでは 50.1 mg/kg 以下の筋肉内投与，44.6 mg/kg 以下の腹腔内投与により，中等度の鎮静がみられた。その他には特記すべき症状は認められなかった。また，投与容量でみた場合，ロラゼパムの LD_{50} と溶媒の LD_{50} はほぼ同等であった。以上の成績より，本試験で認められた毒性所見はいずれも溶媒投与によっても認められるものであった。

2.3. イヌにおける単回静脈内投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.1.2（報告書番号 GTR 1761）

ビーグル犬（雌雄各 1 匹/群）にロラゼパムを 5～6 分かけて橈側皮静脈から単回投与し，投与後 14 日間観察して急性毒性を評価した。ロラゼパムの用量は 0（溶媒対照），25，50 および 75 mg/kg とした。溶媒としてはポリエチレングリコール 0.18 mL，ベンジルアルコール 0.02 mL をプロピレングリコールで 1.0 mL に調製したものを使用した。

50 mg/kg 以上の静脈内投与により死亡例が認められた。強度の流涎が全ての動物で認められ，種々の程度の運動失調および鎮静がほぼ用量依存的にみられた。鎮静は溶媒対照群でも認められたが，その程度はロラゼパム投与群より軽度であった。溶媒対照群（10 mL/kg）では鎮静が現れる前に呼吸数および運動量の増加がみられた。50 mg/kg 群の生存例 1 例，25 mg/kg 群の 1 例および溶媒対照群の 4 例全例では血尿が認められた。血尿は投与後約 1～3 時間後にみられたが，溶媒対照群（15 mL/kg）の 1 例では投与後 3 分に血尿が認められた。いずれの動物においても投与後 24 時間には血尿はみられなかった。その他には特記すべき症状は認められなかった。また，投与容量でみた場合，ロラゼパムの LD_{50} と溶媒の LD_{50} はほぼ同等であった。本試験で認められた毒性所見はいずれも溶媒投与によっても認められるものであった。

3. 反復投与毒性試験

反復投与毒性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における 10 日間投与試験に加え，ラットおよびイヌにおける 2 週間静脈内投与試験ならびにラットおよびイヌにおける 1 ヵ月間筋肉内投与試験により評価した。

3.1. ラットにおける 10 日間静脈内投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.2.1（報告書番号 TOX-1）

チャールス･リバー産の SD ラット（雌雄各 18 匹/群）にロラゼパムを 0（生理食塩液対照：3.2 mL/kg/日），0（溶媒対照：3.2 mL/kg/日），4 mg/kg/日（1.6 mL/kg/日）および 8 mg/kg/日（3.2 mL/kg/日）の用量で 1 日 1 回，10 日間静脈内投与した。溶媒としてはポリエチレングリコール 0.18 mL，ベンジルアルコール 0.02 mL をプロピレングリコールで 1.0 mL に調製したものを使用し，投与前に同量の生理食塩液で希釈した。一般状態観察，体重測定，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科的検査，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

試験期間中，溶媒対照群の雄 1 例が投与 8 日，4 mg/kg/日群の雄 1 例が投与 9 日に死亡した。摂水行動の亢進が試験開始当初に対照群およびすべてのロラゼパム投与群で認められた。4 mg/kg/日群では投与直後に軽度な鎮静がみられたが，10 分以内に回復した，投与 4 ないし 5 日以降は一般状態の異常はみられなかった。8 mg/kg/日群では重度の鎮静および運動失調が投与後 2～3 時間継続し虚脱状態となったが，投与 4 ないし 5 日後には症状は軽減した。雄では 4 mg/kg/日群で投与 3 日以降，8 mg/kg/日群で投与 2 日以降，体重増加量の有意な抑制が認められた。雌の体重増加量にはロラゼパム投与による影響はみられなかった。眼科的検査ではロラゼパム投与による異常はみられなかった。

血液学的検査では統計学的に有意な変化が散見されたが生物学的に意義があると思われるものはなかった。血液生化学的検査では，尿素窒素の増加が 4 mg/kg/日群の雌，8 mg/kg/日群の雌雄ならびに雌雄の生理食塩液対照群で認められた。血清脂質の低下が雄のロラゼパム投与群および溶媒対照群で認められた。

雄では精巣および副腎の相対重量の増加が 4 および 8 mg/kg/日群，腎臓，心臓および脳の重量の増加が 8 mg/kg/日群でいずれも対照群に比し有意に認められた。雌では胸腺重量が 8 mg/kg/日群で対照群に比し有意に減少した。病理組織学的検査では，注射部位の局所反応を除きロラゼパム投与に関連した所見はみられなかった。ロラゼパム投与群の局所反応は溶媒対照群のそれとほぼ同等であった。

以上のように，本試験では低用量の 4 mg/kg/日投与によっても死亡例が認められたが，溶媒による可能性も否定できなかった。

3.2. ラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.2.2，4.2.3.2.3（報告書番号 GTR 22661，GTR 22668）

SD ラット（雌雄各 10 匹/群）にロラゼパムを 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），1，5 および 10 mg/kg/日の用量（いずれの群も 2.5 mL/kg/日）で 1 日 1 回，2 週間静脈内投与した。また，当該試験で無毒性量が得られなかったことから，ロラゼパムを 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），0.25 および 2.5 mg/kg/日の用量（いずれの群も 2.5 mL/kg/日）で同様に 2 週間静脈内投与する追加試験を実施した。追加試験では生理食塩液対照群，溶媒対照群および 2.5 mg/kg/日群に雌雄各 10 匹/群を加え，2 ヵ月間の回復性試験に供した。両試験とも溶媒対照群には溶媒としてヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン溶液（Encapsin HPB；250 mg/mL）およびマンニトール

（50 mg/mL）の水溶液のみを同様に投与した。一般状態観察，体重測定，摂餌量，眼科的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。

最初の試験

ロラゼパム投与群で最も頻繁にみられた症状は，運動失調および運動量の減少で，これらの症状はロラゼパムの薬理作用の延長上に発症したものと考えられた。その他，ウェット・ドッグ・シェイク，眼瞼下垂，低体位，高体位，投薬直後の食欲亢進などがロラゼパム投与に関連する症状と考えられた。これらの症状はロラゼパム投与群で様々な発現頻度で生じた。血液学的検査では，赤血球数，MCV，MCH，小型赤血球比率，大型赤血球比率，赤血球分布幅，血小板数および網状赤血球数の軽度な変化が主に 5 および 10 mg/kg/日群でみられたが，いずれの変化も，発現頻度または程度が軽度であったことから毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

雌では MCH および小型赤血球比率の軽度な変化が認められ，Encapsin HPB に起因すると考えられたが，いずれの変化も，発現頻度または程度が軽度であったことから毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。腎臓の変化（重量増加，皮質の肉眼的変色，尿細管上皮の空胞化）および肺の変化（肺胞マクロファージの増加）の発現頻度または程度は，Encapsin HPB 負荷量に依存して重篤化が認められ，主に溶媒対照群および 5 および 10 mg/kg/日群でみられた。腎臓および肺の病変は，Janssen Pharmaceutica によるラットの 3 ヵ月間静脈内毒性試験に記載されている Encapsin HPB による変化と符合するものであった。

また，ロラゼパム投与によるものか，溶媒（Encapsin HPB）に起因するものかは明らかでなかったが，軽度な体重増加抑制（溶媒対照群の雌および全ロラゼパム投与群），総タンパク質および総グロブリンの軽度な減少とそれに伴う A/G 比の軽度な増加が認められた。これらの変化は，ロラゼパム投与群の雌および溶媒対照群の雌で認められたが，その発現頻度または程度が軽度であったことから毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

以上の成績より，1 mg/kg/日投与によっても眼瞼下垂，低体位などがみられたことから無毒性量は 1 mg/kg/日未満と考えられた。

追加試験

すべてのロラゼパム投与群および溶媒対照群では，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検所見に変化は認められなかった。生理食塩液対照群の雄 5 例および雌 2 例については，投与初日に生じた誤投与のため，投与 7 日に安楽殺した。

ロラゼパム投与群では主に運動失調，運動量の減少がみられ，その発現頻度は 2.5 mg/kg/日群の方がより高頻度であった。ロラゼパム投与群では眼瞼下垂および低体位もみられたが，これらの症状はロラゼパムの薬理作用の延長上に発症したものと考えられた。

病理組織学的検査では，溶媒対照群（雄 7/10 例，雌 2/10 例）および 2.5 mg/kg/日群（雄 8/10 例，雌 3/10 例）で尿細管ネフローゼがみられ，溶媒中の Encapsin HPB に起因したものと考えられた。両群の Encapsin HPB 負荷量は 156.25 mg/kg で，先に実施した Encapsin HPB での試験成績と符合するものであった。尿細管ネフローゼは 2 ヵ月間の休薬により回復傾向がみられ，可逆性の変化

と考えられた。2.5 mg/kg/日群の雌で認められた腎臓相対重量の増加は 2 ヵ月間の休薬により回復した。肺には Encapsin HPB 投与に関連する変化は認められなかった。

以上の成績より，0.25 mg/kg/日投与によっても運動失調および運動量の減少がみられたが，薬理作用の延長上に発症したものと考えられたことから，本試験における無毒性量は 0.25 mg/kg/日と考えられた。

3.3. ラットにおける 1 ヵ月間筋肉内投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.2.4（報告書番号 TOX-2）

チャールス･リバー産の SD ラット（雌雄各 10 匹/群）にロラゼパムを 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），5，10 および 20 mg/kg/日の用量で 33～37 日間筋肉内投与した。溶媒としてはポリエチレングリコール 0.18 mL，ベンジルアルコール 0.02 mL をプロピレングリコールで 1.0 mL に調製したものを使用した。1 日あたりの投与量を午前と午後の 2 回に分けて左右の後肢に半量ずつ投与した。一般状態観察，体重および摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科的検査，器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。

20 mg/kg/日群の雌 2 例が投与 7 日または 12 日に死亡した。1 例は採血直後に死亡した。20 mg/kg/日群では中等度の鎮静が投与後約 30 分間認められ，一連の症状は薬理作用に関連した症状と考えられた。その間動物は容易に覚醒し，後肢の跛行もみられ，この状態は約 2 時間持続した。同様の症状は軽度ながらより低用量でも認められ，後肢の跛行は溶媒対照群でもみられた。注射部位では炎症性反応の徴候はほとんど認められなかったが，生理食塩液対照群を除いたすべての群で出血がかなり頻繁に認められた。20 mg/kg/日群の 1 例では，つま先や左足の一部を噛む動作がみられた。

体重増加量にはロラゼパム投与の影響はみられなかった。摂餌量も体重に類似した推移を示したが，溶媒対照群で試験期間の後半の摂餌量が他の群より少ない傾向がみられた。

血液学的検査では，赤血球数の減少が溶媒対照群および 10 mg/kg/日群の雌で，ヘマトクリット値の減少が 20 mg/kg/日群の雄で認められたが，いずれも正常範囲内の値であった。個体別には赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少が生理食塩液対照群を除く全ての群で散見されたが，注射部位からの周期的な失血によるものと考えられた。20 mg/kg/日群の雌 2 例では失血に伴う貧血が認められ，うち 1 例は採血直後に死亡した。この動物では末梢血塗抹標本において有核赤血球および Howell-Jolly 体が多数認められ，貧血に対する応答性変化と考えられた。

血液生化学的検査では，雄でカリウム（溶媒対照群）および ALT（20 mg/kg/日群）の増加およびグルコース（10 mg/kg/日群）および ALP（10 および 20 mg/kg/日群）の減少，雌でコレステロール（10 mg/kg/日群）の減少がいずれも統計学的に有意に認められたが，グルコースの減少を除き，これらはいずれも軽度な変動で，毒性学的意義は乏しいと考えられた。個体別にはグルコースの減少（雌の 10 および 20 mg/kg/日群），カルシウムおよびマグネシウムの軽度な増加（5 mg/kg/日群の 3 例，10 mg/kg/日群の 1 例，20 mg/kg/日群の 2 例），カルシウムの増加（溶媒対照群および 20 mg/kg/日群の各 1 例），AST（推定値）の上昇（10 mg/kg/日群の 1 例），ALT および ALP の上昇（対照群の 1 例），ALP の上昇（対照群の 1 例）などが認められたが，10 mg/kg/日群の 1

例で認められた AST の上昇を除き，いずれも正常範囲内の値であり，これらすべての変化は毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

眼科的検査では異常所見はみられなかった。

器官重量測定では，肝臓重量の増加がすべての用量群の雌雄で，脾臓重量の増加が 20 mg/kg/日群の雌雄で，腎臓重量の増加が雌のすべての用量および雄の 10 mg/kg/日群で，副腎重量の増加が 10 および 20 mg/kg/日群と溶媒対照群の雌雄で有意に認められ，投与に起因した変化と考えられた。なお，膵臓重量の増加が 5 mg/kg/日群の雌および 10 mg/kg/日群の雌雄で認められたが，用量依存性のない変化であった。他にも雄で心臓の実重量のみの減少，腎臓，脳，膵臓，精巣の相対重量のみの増加が散見されたが，これらは雄の生理食塩液対照群の体重が他の群よりやや高かったことを反映した変化と考えられた。

病理組織学的検査では，脾臓における髄外造血の顕著な亢進が 20 mg/kg/日群でみられた。また，注射部位における重篤な組織反応（筋肉の変性・壊死，局所の出血，急性および慢性の炎症，線維化等）が溶媒対照群およびロラゼパム投与群で溶媒負荷量に依存して認められ，溶媒に関連した影響と考えられた。重量増加の認められた肝臓には関連すると思われる病理組織所見はみられなかった。

以上のように, 本試験では低用量の 5 mg/kg/日投与によっても注射部位における重篤な組織反応, 赤血球パラメータの減少, 肝臓重量増加など, 溶媒によると考えられる影響が認められた。なお, 20 mg/kg/日投与により認められた死亡例については，溶媒による影響とは断定しきれなかった。

3.4. イヌにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.2.5，4.2.3.2.6（報告書番号 GTR 21644，GTR 21620）

ビーグル犬（雌雄各 3 匹/群）にロラゼパムを 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），2，5 および 10 mg/kg/日の用量（いずれの群も 2.5 mL/kg/日）を 2 週間静脈内投与した。1 日あたりの投与量を 2 分割し，約 4～5 時間間隔で投与した。溶媒としてヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン溶液（Encapsin HPB；250 mg/mL）およびマンニトール（50 mg/mL）の水溶液のみを同様に投与した。一般状態観察（理学的検査），体重測定，摂餌量，眼科的検査，心電図検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。また，ロラゼパムおよび HPB の血漿中濃度を投与初日の投与後 0.25，0.5，1，2，4，4.25，6，8，12 および 24 時間後に測定した。

ロラゼパム投与群，溶媒対照群とも，死亡例はなく，摂餌量，眼科的検査，心電図検査，尿検査，器官重量および剖検所見に変化は認められなかった。

ロラゼパム投与に起因する変化としては，3 例で体重の中等度の減少（2 mg/kg/日群の雌，5 mg/kg/日群の雄および 10 mg/kg/日群の雌）が認められたが，ストレスによる可能性も考えられた。また，ロラゼパム投与群ではほぼ全例で運動失調，振戦，運動量減少，眼瞼下垂，嘔吐，頭部圧迫，頻呼吸，過度の発声，流涎，四肢の開脚・外転，ケージへの噛みつき，前肢の足踏み，頭部の病変，投薬直後の覚醒亢進が投与直後に用量依存的にみられ，ロラゼパムの薬理作用の延長上の症状と考えられた。ロラゼパム投与群では，呼吸困難，糞便中の血液（ヘマテストによって確認）が低発生率ながら認められた。

血液学的検査で赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値）の軽度な減少が 5 mg/kg/日群の雌および 10 mg/kg/日群の雌雄で，血液生化学的検査で ALT，AST，ALP および CK の散発的な上昇が 2 mg/kg/日群の雌および 2 mg/kg/日以上の群の雄で認められた。いずれもロラゼパム投与に関連するものの，発現頻度または程度が比較的軽度であることから毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

肺胞の泡沫マクロファージの軽微から軽度の増加が溶媒対照群およびすべてのロラゼパム投与群で観察され，ロラゼパムとは関連のない，溶媒（Encapsin HPB）投与に起因する変化と考えられた。この肺胞マクロファージの増加は，Janssen Pharmaceutica によるイヌの 3 ヵ月間静脈内毒性試験に記載されている Encapsin HPB による変化と符合するものであった。

なお，トリグリセリドの軽度で散発的な減少（溶媒対照群の雄，5 および 10 mg/kg/日群），注射部位の軽度から中等度のびらん（溶媒対照群，全ロラゼパム投与群），フィブリノゲンの中等度の一過性増加（溶媒対照群の雌，全ロラゼパム投与群）が，Encapsin HPB を溶媒としたロラゼパム投与群で認められたものの，ロラゼパムによるものか，Encapsin HPB によるものか，明確に判断することはできなかった。

雄のビーグル犬（6 匹/群）を用い， 2，5 および 10 mg/kg の用量のロラゼパムを 4 時間間隔で 2 回に分けて静脈内投与したトキシコキネティクス試験を実施した。トキシコキネティクスパラメータは，1 回目と 2 回目の投与後で類似していた（Table 3）。ロラゼパム，HPB とも，一相性に消失し，半減期は約 0.5 時間であった。また，ロラゼパムおよび HPB の $AUC_{0-\infty}$はほぼ用量依存的に増加した。なお，HPLC による濃度測定であることから，血漿中で HPB 包接体として存在するロラゼパムの割合については言及できない。

Table 3.　イヌの 2 週間静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg/日）			ロラゼパム			HPB		
ロラゼパム	HPB		$AUC_{0-\infty}$ (ng•hr/mL)	Normalized AUC[a]	$t_{½}$ (hr)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•hr/mL)	Normalized AUC[a]	$t_{½}$ (hr)
2	125	1 回目投与	681	681	0.37	405	6.48	0.61
		2 回目投与	824	824	0.56	404	6.47	0.58
		平均値	753	753	0.47	405	6.47	0.59
5	312.5	1 回目投与	2083	833	0.48	939	6.01	0.59
		2 回目投与	1437	574	0.49	844	5.40	0.57
		平均値	1760	704	0.49	892	5.71	0.58
10	625	1 回目投与	3809	761	0.51	2093	6.70	0.62
		2 回目投与	2694	538	0.54	2021	6.47	0.55
		平均値	3252	650	0.53	2057	6.59	0.59

[a] Nornalized to a 1 mg/kg.

以上の成績より，2 mg/kg/日投与によっても体重減少が認められたことから，本試験における無毒性量は 2 mg/kg/日未満と考えられた。

3.5. イヌにおける 1 ヵ月間筋肉内投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.2.7（報告書番号 TOX-3）

ビーグル犬（雌雄各 2 匹/群）にロラゼパムを 0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），2.5，5 および 10 mg/kg/日の用量で 33～34 日間筋肉内投与した。1 日あたりの投与量を 6 分割し，左右の後肢に 3 回に分けて投与した。溶媒としてはポリエチレングリコール 0.18 mL, ベンジルアルコール 0.02 mL をプロピレングリコールで 1.0 mL に調製したものを使用した。溶媒対照群には溶媒のみを同様に投与した。一般状態観察，体重，摂餌量および摂水量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，眼科的検査，器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。

試験期間中に死亡例は認められなかった。嘔吐が散見され，5 mg/kg/日群の 2 例，10 mg/kg/日群の 1 例で試験期間の 30～50%において認められた。ロラゼパム投与群では軟便が散見された他，軽度の鎮静，運動失調，振戦，不穏，不安，流涎がまれにみられ，薬理作用に関連した症状と考えられた。加えて，抑鬱状態および流涎が溶媒対照群でもまれに観察された。注射部位周辺の硬結腫脹および変色がロラゼパム投与群では投与 8 日までに，溶媒対照群では投与 14 日までに認められ，発症後は前脚へ薬液を注射した。投与期間の進行に伴い，溶媒対照群の 2 例（剖検前に治癒），5 mg/kg/日群の 1 例（剖検前に治癒）および 10 mg/kg/日群の 3 例で開放性滲出創が増悪した。溶媒対照群および薬物投与群では心拍数の軽度な増加が認められた。

体重および摂餌量はすべての群でほぼ同等に推移した。摂水量は生理食塩液対照群や溶媒対照群よりロラゼパム投与群が多い傾向がみられた。

血液学的検査では，赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少が，溶媒対照群およびすべてのロラゼパム投与群で認められた。溶媒対照群および 2.5，5，10 mg/kg/日群の各 1 例の赤血球パラメータは貧血レベルに近く，10 mg/kg/日群の 1 例ではより強度の影響が認められた。これらの赤血球パラメータの減少は，注射部位での失血によるものである可能性が高いものと考えられた。赤血球沈降速度の促進（高値）が，溶媒対照群の 3 例，2.5 mg/kg/日群の 3 例，5 mg/kg/日群の 1 例，および 10 mg/kg/日群の全例で認められ，一部の例では白血球数の増加を伴っていたことから，注射部位での炎症性反応に起因する可能性が示唆された。フィブリノゲンにはロラゼパム投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査では，コレステロールの増加が溶媒対照群および 10 mg/kg/日群，AST の上昇が 5 および 10 mg/kg/日群，ALT の上昇が 10 mg/kg/日群で認められた。BUN の減少が溶媒対照群ならびに 5 および 10 mg/kg/日群で認められたが，生理食塩液対照との差は小さく，毒性学的意義は低いと考えられた。個体別には 5 および 10 mg/kg/日群で AST および ALP の上昇傾向を示す個体が散見された。また，溶媒対照群の 3 例，2.5 mg/kg/日群の 3 例および 10 mg/kg/日群の 1 例において A/G 比が 1 以下となり，肝臓の関与が示唆されたが，関連する器官には病理組織学的変化はみられなかった。

尿検査の群平均値にロラゼパム投与による影響を示唆する変化は認められなかった。個体別にも比重，尿モル浸透圧濃度，血漿モル浸透圧濃度および尿モル浸透圧濃度／血漿モル浸透圧濃度比は，いずれも変動の正常範囲内であった。

眼科的検査では，ロラゼパム投与による影響を示唆する変化は認められなかった。

器官重量測定では，脾臓および左腎の相対重量の増加が 10 mg/kg/日群で認められた。なお，雌 3 例で子宮重量の増加が認められたが，剖検直前に発情状態にあったことによるものであった。

病理組織学的検査では，注射部位に重度の炎症性反応がロラゼパム投与群および溶媒対照群の全例でみられたが，生理食塩液対照群の動物での反応は軽微であった。脾臓の髄外造血が 10 mg/kg/日群の全例，5 mg/kg/日群の 1 例，溶媒対照群の 2 例で強度に，2.5 mg/kg/日群の 1 例で中等度に，5 mg/kg/日群の 1 例，2.5 mg/kg/日群の 2 例，溶媒対照群の 1 例および生理食塩液対照群の 1 例で軽度にみられた。骨髄細胞の過形成が 5 および 10 mg/kg/日群ならびに溶媒対照群の各 2 例に認められた。これらの変化は注射部位からの失血およびストレスの結果と考えられ，10 mg/kg/日群の雄 2 例で軽度な精巣の退縮がみられたことからもストレスによる影響が示唆された。したがって，これらの変化は非特異的で，可逆的なものと考えられた。

以上のように，本試験では低用量の 2.5 mg/kg/日投与によっても注射部位における重篤な組織反応，赤血球パラメータの減少など，溶媒によると考えられる影響が認められた。なお，10 mg/kg/日投与により認められた ALT の上昇などについては，溶媒による影響と断定しきれなかった。

4. 遺伝毒性試験

ロラゼパム注射液の開発に際して新たな遺伝毒性試験は実施していない。

5. がん原性試験

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。

6. 生殖発生毒性試験

胚・胎児発生に関するロラゼパムの静脈内投与の影響をラットおよびウサギで検討した。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）。

6.1. 静脈内投与試験

6.1.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

添付資料番号 4.2.3.5.2.1（報告書番号 GTR 4865）

妊娠 SD ラット（35 または 36 匹/群）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，母動物および胚・胎児発生に関する影響を評価した。溶媒としてはポリエチレングリコール 18 mL，ベンジルアルコール 2 mL をプロピレングリコールで 100 mL に調製したものを使用し，投与前に同量の生理食塩液で希釈した。母動物の一般状態観察，体重測定を実施し，妊娠 20 日に帝王切開した。妊娠子宮重量，着床数，生存胎児数，吸収胚数，性別，体重を記録し，生存胎児については外表，内臓および骨格の異常を観察した。

試験期間中に死亡例は認められなかった。2 mg/kg/日群では投与後に軽度な鎮静および運動失調が投与開始後 4 日間認められた。4 mg/kg/日群では投与後の鎮静および運動失調が投与期間を通して認められたが，その間に鎮静の程度は減弱した。同群では投与後約 10 秒間，回転・旋回運動がみられることもあった。8 mg/kg/日群では投与期間を通じて鎮静および運動失調がより強度に認められ，回転・旋回運動も散見された。4 および 8 mg/kg/日群では投与初期には投与後約 2 時間みられた鎮静が，投与期間と共に短縮し，投与終了時には約 20 分間であった。対照群を含むすべてのラットで，投与期間初期に摂水行動が頻繁に認められた。すべてのロラゼパム投与群で投与期間中に有意な体重増加抑制が認められた。2 mg/kg/日群では妊娠 20 日にも体重の有意な低値が認められた。

1 腹あたりの胎児数にはロラゼパム投与による影響は認められなかった。吸収胚数の減少が 4 mg/kg/日群で有意に認められたが，2 および 8 mg/kg/日群の吸収胚率は対照群と同等であった。妊娠子宮重量にはロラゼパムによる影響はみられなかった。胎児重量は 2 および 8 mg/kg/日群で有意に増加したが，4 mg/kg/日群では有意に減少し，変化に用量依存性がみられなかった。

帝王切開時の検査では外表奇形はみられなかった。内臓の検査に先立ち，ブアン液から胎児を取り出したところ，4 および 8 mg/kg/日群の胎児の中には正常よりもやや大きく，しわのない半透明な胎児がみられた。これらの胎児の大きさは正常範囲であるものの眼球が小さいようにみえたが，ウィルソン法による切片を撮影して精査したところ小眼は認められなかった。胎児の内臓検査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。

以上のように，2 mg/kg/日以上の投与により母動物の体重増加抑制（投与期間中）が認められたが，8 mg/kg/日投与によっても母動物の妊娠への影響および胎児発生への影響はみられなかったことから，母動物の一般毒性に関する無毒性量は 2 mg/kg/日未満，母動物の生殖および胎児の発生に関する無毒性量は 8 mg/kg/日と考えられた。

6.1.2. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

添付資料番号 4.2.3.5.2.2（報告書番号 GTR 5045）

妊娠した NZW ウサギ（13 または 14 匹/群）にロラゼパムを 0（溶媒対照）1，2 および 4 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 18 日に静脈内投与し，母動物および胚・胎児発生に関する影響を評価した。溶媒としてはポリエチレングリコール 18 mL，ベンジルアルコール 2 mL をプロピレングリコールで 100 mL に調製したものを使用し，投与前に滅菌食塩液と 1:1.5 の割合で希釈した。母動物の一般状態観察，体重測定を実施し，妊娠 28 日に帝王切開した。妊娠子宮重量，着床数，生存胎児数，吸収胚数，性別，体重を記録し，生存胎児については外表，内臓および骨格の異常を観察した。

対照群の 2 例が試験期間中に死亡した。1 例は妊娠 11 日に安楽殺され，他の 1 例は妊娠 23 および 24 日に流産が認められ，妊娠 28 日に死亡した。投与期間中，すべてのロラゼパム投与群の母動物で鎮静および運動失調がみられ，軽度ながら有意な体重増加抑制が認められた。

ロラゼパム投与群では, 1 母動物あたりの胎児数の減少傾向が認められたが, 用量依存性がなく，対照群との有意差もなかった。1 腹あたりの吸収胚数は対照群で最も多かったが，胎児の損失率は対照群よりも 4 mg/kg/日群の方が高い傾向がみられた。妊娠子宮重量の減少傾向がすべてのロ

ラゼパム投与群で認められたが，用量依存性はみられず，胎児重量は 4 mg/kg/日群で低値の傾向が認められた。

胎児の外表検査ではロラゼパムによる影響は認められなかった。骨格検査ではロラゼパム投与群の胎児 4 例で骨格奇形が認められた。頭頂間骨欠損が 1 mg/kg/日群で 1 例，頸椎および胸部骨格の複合奇形，第 13 肋骨の分離，第 2-5 胸骨の癒合が 4 mg/kg/日群で各 1 例にみられた。しかしながら，これらの骨格奇形は個々の発生頻度が低く，発生状況にも一貫性がみられないことから，薬物誘発性の奇形とは考え難かった。また，内臓異常が胎児 5 例で認められた。口蓋裂が 4 mg/kg/日群で 1 例，硬膜静脈洞の血栓症に起因する脳病変が対照群，1 および 2 mg/kg/日群で各 1 例，右腎臓および尿管の無形成が 1 mg/kg/日群で 1 例にみられた。なお，硬膜静脈洞の血栓症に起因する脳病変について精査したが，脳の発生異常を示唆する所見は認められなかった。口蓋裂および腎無形成はそれぞれ孤立した奇形であり，正常動物においてもみられるものであり，薬物投与と関連のない偶発例と考えられた。

以上のように，1 mg/kg/日以上の投与により母動物の投与期間中の体重増加抑制が認められたが，4 mg/kg/日投与によっても母動物の妊娠への影響および胎児発生への影響はみられなかったことから，母動物の一般毒性に関する無毒性量は 1 mg/kg/日未満，母動物の生殖および胎児の発生に関する無毒性量は 4 mg/kg/日と考えられた。

6.2. 経口投与試験

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[1]，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。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[2]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。

7. 局所刺激性試験

7.1. ウサギにおける単回静脈内投与局所刺激性試験

添付資料番号 4.2.3.6.1（報告書番号 GTR 2382）

ロラゼパム 5 mg/mL または溶媒を 2.0 mL の容量で NZW ウサギに単回静脈（耳介辺縁静脈）内投与（雌雄計 8 匹，1～3 匹/処置）または単回筋肉内（仙棘筋および大腿二頭筋）投与（雌雄計 18 匹，3 匹/処置）した。溶媒としてはポリエチレングリコール 0.18 mL，ベンジルアルコール 0.02 mL をプロピレングリコールで 1.0 mL に調製したものを使用した。静脈内投与では投与後 24 および 72 時間後まで，筋肉内投与では投与後 2，24 および 72 時間後まで観察した。生理食塩液を陰性対照とし，同様に投与して観察した。

静脈内投与:投与後 24 時間に屠殺した群では, 3 例中 1 例で鎮静が投与後数分以内にみられたが，投与後 4 時間以降に症状の認められた個体はなかった。投与後 72 時間に屠殺した群では，5 例中 2 例で鎮静が投与直後に認められ，うち 1 例では運動失調もみられたが，投与後 4 時間には回復し，以降症状の認められた個体はなかった。溶媒および生理食塩液のみ投与した動物ではいずれも症状はみられなかった。

筋肉内投与：鎮静が投与後数分以内に全例で，投与後2時間にはうち1例で運動失調も認められたが，投与後4時間には症状は認められなくなった。溶媒および生理食塩液のみ投与した動物ではいずれも症状はみられなかった。

ウサギへの静脈内単回投与，筋肉内単回投与のいずれによっても，注射部位でロラゼパムによる影響は認められなかった。

7.2. ウサギにおける 1 週間静脈内投与局所刺激性試験

添付資料番号 4.2.3.6.2（報告書番号 GTR 19916）

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，NZW ウサギ（雌雄各 4 匹/群）の左耳介辺縁静脈に 1 日 1 回，1 週間投与した。ロラゼパムのシクロデキストリン含有製剤の 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 の容量で同様に投与した。なお，右耳介静脈には生理食塩液を同様に投与した。一般状態観察，体重･摂餌量測定，理学的検査に加え，投与後約 6 時間および 21～24 時間に注射部位を観察した。剖検後，耳介辺縁静脈周辺について紅斑，浮腫および壊死の有無を観察し，注射部位および肉眼的病変部位の病理組織学的検査を行った。

試験期間中に死亡例は認められなかった。運動量の減少および呼吸促迫がすべての群で，中等度から強度の静脈投与に対する刺激反応が海外市販製剤群でみられた。すべての群で摂餌量の減少を伴う軽度な体重減少が認められた。

剖検では海外市販製剤群で耳介辺縁静脈に接する組織に強度の紅斑および壊死がみられ，シクロデキストリン含有製剤群で軽度から中等度で限局性ないし多巣性の紅斑がみられた。肉眼的にはシクロデキストリン含有製剤群の方が耳介の病変は軽度であった。

病理組織学的検査では海外市販製剤群で強度の壊死，慢性活動性炎症，血管内の血栓，二次的な線維化および種々の程度の出血や浮腫が認められた。シクロデキストリン含有製剤群では種々の程度の出血や浮腫，初期の血管内の血栓がみられ，4 mg/mL 群では限局性に血管の類線維素壊死が認められた。生理食塩液投与によっても耳介静脈に接する組織に種々の病変が軽度から中等度にみられ，紅斑部位では軽度から中等度の限局性ないし多巣性の浮腫や出血が認められた。

以上の成績より，海外市販製剤でみられた強い刺激性は，溶媒成分（プロピレングリコール，ポリエチレングリコールおよびベンジルアルコール：いずれも刺激性があることが知られている）に起因する可能性が示唆された。なお，シクロデキストリン含有 1 mg/mL 製剤が，試験した 3 種類の製剤の中では最も刺激性が弱かった。

8. その他の毒性試験

8.1. イヌにおける溶血性試験

添付資料番号 4.2.3.7.7.1（報告書番号 GTR 4470）

ロラゼパム酒石酸製剤の溶血性の有無を，雄ビーグル犬（3 匹/群）を用いて臨床用量に準じて，0.1 mg/kg（0.04 mL/kg，2.5 mg/mL）の用量で評価した。ロラゼパム酒石酸製剤はロラゼパム 2.5 mg に対し，酒石酸 40 mg，無水エタノール 0.2 mL，ベンジルアルコール 0.02 mL，プロピレングリコール 0.4 mL，モノエタノールアミン 0.0331 mL を混合し，注射用滅菌水で 1.0 mL に調製したものを使用した。また海外市販製剤の溶媒（0.04 mL/kg）に加え，水溶性のベンゾジアゼピン［Wy-14855 および Wy-14896：いずれも 0.1 mg/kg（0.04 mL/kg，2.5 mg/mL）］およびその溶媒（注射用滅菌水 USP，0.04 mL/kg）についても同様に評価した。加えて，注射用ペントバルビタールナトリウムについても，ヒト麻酔鎮静に推奨される最小投与量［2.0 mg/kg（0.033 mL/kg，60 mg/mL）］およびイヌの通常の麻酔投与量［35.0 mg/kg（0.583 mL/kg，60 mg/mL）］で同様に試験した。

海外市販製剤の溶媒（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の混合液）は，全例で血漿ヘモグロビンの増加傾向がごく軽微に認められたが，いずれも正常範囲内の値であった。また，ロラゼパム酒石酸製剤，水溶性のベンゾジアゼピンである Wy-14855 および Wy-14896，注射用滅菌水のいずれも，本試験の実験条件下では溶血性を示唆する兆候を示さなかった。なお，ペントバルビタール 35.0 mg/kg のみ投与後 15 分で血漿ヘモグロビンが一過性に増加し，3 例中 2 例は軽微な溶血性と判定されるレベルに達したが，投与後 60 分には正常範囲内に回復した。ペントバルビタール 2.0 mg/kg では血漿ヘモグロビンに変化は認められなかった。

以上の成績より，ロラゼパム酒石酸製剤は臨床使用条件では溶血性を示さないものと考えられた。

9. 考察及び結論

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。なお，反復投与試験については筋肉内投与，生殖発生毒性試験については経口投与による試験成績も考慮した。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（CTD 2.6.4.3.1 項参照），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；CTD 2.7.2.3.2 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[3]。

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[4]，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。

10. 図表

図表は，本文中に記載した。

11. 参考文献

[1] 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;39:820-9.

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

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

[4] 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.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 4
2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表 5
2.6.7.5. 単回投与毒性試験 6
2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 7
2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験 9
2.6.7.8. IN VITRO 遺伝毒性試験 17
2.6.7.9. IN VIVO 遺伝毒性試験 17
2.6.7.10. がん原性試験 17
2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 17
2.6.7.12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 17
2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 18
2.6.7.14. 生殖発生毒性試験：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 19
2.6.7.15. 新生児を用いた試験 19
2.6.7.16. 局所刺激性試験 20
2.6.7.17. その他の毒性試験 21

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表　　**被験物質：ロラゼパム**

試験項目	動物種/系統 [a]	投与方法	投与期間	投与量 [b] (mg/kg)	GLP 適用	試験実施施設*	報告書番号	添付箇所
単回投与毒性試験	マウス／CD-1	静脈内 筋肉内 腹腔内	単回	0, 15.9, 20.0, 25.1, 31.6 0, 56.2, 63.1, 70.8, 79.5, 89.0 0, 39.8, 44.6, 50.1, 56.3	非適用	Wyeth Research	GTR 1761 GTR 1693 GTR 1693	4.2.3.1.2 4.2.3.1.1 4.2.3.1.1
	ラット／SD	筋肉内 腹腔内	単回	0, 39.8, 50.1, 63.0, 79.5 0, 39.8, 44.6, 50.1, 56.3	非適用	Wyeth Research	GTR 1693 GTR 1693	4.2.3.1.1 4.2.3.1.1
	イヌ／ビーグル	静脈内	単回	0, 25, 50, 75	非適用	Wyeth Research	GTR 1761	4.2.3.1.2
反復投与毒性試験 [c]	ラット／SD	静脈内	10 日間	0（生理食塩液対照）， 0（溶媒対照）, 4, 8	非適用	Wyeth Research	TOX-1	4.2.3.2.1
	ラット／SD	静脈内	2 週間	0（生理食塩液対照）， 0（溶媒対照）, 1, 5, 10 0（生理食塩液対照）， 0（溶媒対照）, 0.25, 2.5	適用	Wyeth Research	GTR 22661 GTR 22668	4.2.3.2.2 4.2.3.2.3
	ラット／SD	筋肉内	1 ヵ月間	0（生理食塩液対照）， 0（溶媒対照）, 5, 10, 20	非適用	Wyeth Research	TOX-2	4.2.3.2.4
	イヌ／ビーグル	静脈内	2 週間 雄：2 回	0（生理食塩液対照）， 0（溶媒対照）, 2, 5, 10	適用 非適用	Wyeth Research	GTR 21644 GTR 21620	4.2.3.2.5 4.2.3.2.6
	イヌ／ビーグル	筋肉内	1 ヵ月間	0（生理食塩液対照）， 0（溶媒対照）, 2.5, 5, 10	非適用	Wyeth Research	TOX-3	4.2.3.2.7
生殖発生毒性試験 [c]	ラット／SD	静脈内	雌：妊娠 6～15 日	0, 2, 4, 8	非適用	Wyeth Research	GTR 4865	4.2.3.5.2.1
	ウサギ／NZW	静脈内	雌：妊娠 6～18 日	0, 1, 2, 4	非適用	Wyeth Research	GTR 5045	4.2.3.5.2.2

*：現 Pfizer Worldwide Research & Development，NA：該当せず
a：特に記載がない場合は，雌雄を示す。
b：特に記載がない場合は mg/kg または mg/kg/日を示す。
c：無毒性量が求められた場合は該当する投与量に下線を付した。

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表　　**被験物質：ロラゼパム**

試験項目	動物種/系統 [a]	投与方法	投与期間	投与量 [b] (mg/kg)	GLP 適用	試験実施施設*	報告書番号	添付箇所
局所刺激性試験	ウサギ／NZW	静脈内，筋肉内	単回	0（溶媒対照および生理食塩液対照），5 mg/mL; 2 mL	非適用	Wyeth Research	GTR 2382	4.2.3.6.1
	ウサギ／NZW	静脈内	1 週間	0（溶媒対照および生理食塩液対照），1, 2, 4 mg/mL	適用	Wyeth Research	GTR 19916	4.2.3.6.2
その他の毒性試験（溶血性試験）	イヌ／ビーグル	静脈内	単回	0（溶媒対照および滅菌水），0.1 mg/kg (0.04 mL/kg, 2.5 mg/mL)	非適用	Wyeth Research	GTR 4470	4.2.3.7.7.1

*：現 Pfizer Worldwide Research & Development，NA：該当せず
a：特に記載がない場合は，雌雄を示す。
b：特に記載がない場合は mg/kg または mg/kg/日を示す。

2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 **被験物質：ロラゼパム**

試験の種類	試験系	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	GLP 適用	報告書番号	添付箇所
2 週間反復投与毒性試験	イヌ／ビーグル	静脈内	2, 5, 10	非適用	GTR 21620	4.2.3.2.6

2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表 **被験物質：ロラゼパム**

ロラゼパムの AUC

投与量 (mg/kg/日)		イヌ	
		$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	Normalized AUC
2	1回目投与	681	681[a]
	2回目投与	824	824[a]
	平均値	753	753
5	1回目投与	2083	833[a]
	2回目投与	1437	574[a]
	平均値	1760	704
10	1回目投与	3809	761[a]
	2回目投与	2694	538[a]
	平均値	3252	650

a：Normalized to a 2 mg/kg.

Hydroxypropyl-β-cyclodextrin の AUC

投与量 (mg/kg/日)		イヌ	
		$AUC_{0-\infty}$ (μg·h/mL)	Normalized AUC
125	1回目投与	405	6.48[a]
	2回目投与	405	6.47[a]
	平均値	405	6.47
312.5	1回目投与	939	6.01[a]
	2回目投与	844	5.40[a]
	平均値	892	5.71
625	1回目投与	2093	6.70[a]
	2回目投与	2021	6.47[a]
	平均値	2057	6.59

a：Normalized to a 125 mg/kg.

2.6.7.5. 単回投与毒性試験　　**被験物質：ロラゼパム**

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量 (mg/kg)	性別および一群の動物数	ロラゼパムのLD_{50} (mg/kg)	溶媒のLD_{50} (mL/kg)	特記すべき所見	報告書番号
マウス／CD-1	静脈内（溶媒[a]/溶液）	0, 15.9, 20.0, 25.1, 31.6	雌雄各5匹/群	24	5.5	溶媒含む全用量：けいれん（中等度～強度） 生存例：呼吸数および運動量の減少	GTR 1761
	筋肉内（溶媒[a]/溶液）	0, 56.2, 63.1, 70.8, 79.5, 89.0	雌雄各5匹/群	59	14.3	溶媒含む全用量：鎮静 低用量：中等度の鎮静 高用量：呼吸数の減少，側臥位（投与後24時間）	GTR 1693
	腹腔内（溶媒[a]/溶液）	0, 39.8, 44.6, 50.1, 56.3	雌雄各5匹/群	48	11.6	溶媒含む全用量：鎮静 低用量：中等度の鎮静 高用量：呼吸数の減少，側臥位（投与後24時間）	GTR 1693
ラット／SD	筋肉内（溶媒[a]/溶液）	0, 39.8, 50.1, 63.0, 79.5	雌雄各5匹/群	70	16.2	溶媒含む全用量：鎮静 低用量：中等度の鎮静 高用量：呼吸数の減少，側臥位（投与後24時間）	GTR 1693
	腹腔内（溶媒[a]/溶液）	0, 39.8, 44.6, 50.1, 56.3	雌雄各5匹/群	46	9.3	溶媒含む全用量：鎮静 低用量：中等度の鎮静 高用量：呼吸数の減少，側臥位（投与後24時間）	GTR 1693
イヌ／ビーグル	静脈内（溶媒[a]/溶液）	0, 25, 50, 75	雌雄各1匹/群	50	12.5	全用量：流涎，運動失調，鎮静 溶媒対照群（10 mL/kg）：呼吸数および運動量の増加，血尿（4例） 25 mg/kg：血尿（1例） 50 mg/kg：血尿（1例）	GTR 1761

PEG：ポリエチレングリコール，BnOH：ベンジルアルコール，PG：プロピレングリコール
a：Lot No; 345B-401：PEG 0.18 mL, BnOH 0.02 mLをPGで1.0 mLに調製

2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験　　**被験物質：ロラゼパム**

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別および一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号
ラット/SD	静脈内（溶媒[a]/溶液）	10日間	0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），4, 8	雌雄各18匹/群	溶媒含む全投与群：摂水行動の亢進 溶媒対照群：死亡（1例） 4 mg/kg：死亡（1例），鎮静（軽度），体重増加量の抑制（雄），尿素窒素増加（雌）精巣および副腎の総体重量減少 8 mg/kg：鎮静（重度），運動失調，体重増加量の抑制（雄），尿素窒素増加，精巣および副腎の総体重量減少，腎臓・心臓および脳の重量増加，胸腺重量の減少（雌）	TOX-1
ラット/SD	筋肉内（溶媒[b]/溶液）	1ヵ月間	0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），5, 10, 20	雌雄各10匹/群	溶媒対照群：後肢の跛行，注射部位の出血，赤血球数の減少（雌），副腎重量の増加，注射部位における重篤な組織反応 5 mg/kg：後肢の跛行（軽度），注射部位の出血，肝臓重量の増加，腎臓重量の増加（雌），注射部位における重篤な組織反応 10 mg/kg：後肢の跛行（軽度），注射部位の出血，赤血球数の減少（雌），グルコースの減少（雄），ASTの上昇（1例），肝臓重量の増加，腎臓重量の増加（雌雄），副腎重量の増加，注射部位における重篤な組織反応 20 mg/kg：死亡（2例），鎮静，後肢の跛行，注射部位の出血，ヘマトクリット値の減少（雄），失血に伴う貧血（雌），肝臓重量の増加，脾臓重量の増加，腎臓重量の増加（雌），副腎重量の増加，脾臓の髄外造血の亢進，注射部位における重篤な組織反応	TOX-2
イヌ/ビーグル	筋肉内（溶媒[c]/溶液）	1ヵ月間	0（生理食塩液対照），0（溶媒対照），2.5, 5, 10	雌雄各2匹/群	溶媒対照群：注射部位周辺の硬結腫脹および変色，心拍数の増加（軽度） 2.5 mg/kg：軟便，軽度の鎮静，運動失調，振戦，不穏，不安，流涎，注射部位周辺の硬結腫脹および変色，心拍数の増加（軽度） 5 mg/kg：嘔吐，軟便，軽度の鎮静，運動失調，振戦，不穏，	TOX-3

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別および一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号
					不安，流涎，注射部位周辺の硬結腫脹および変色，心拍数の増加（軽度） 10 mg/kg：嘔吐，軟便，軽度の鎮静，運動失調，振戦，不穏，不安，流涎，注射部位周辺の硬結腫脹および変色，心拍数の増加（軽度）	

PEG：ポリエチレングリコール，BnOH：ベンジルアルコール，PG：プロピレングリコール
a：PEG 0.18 mL, BnOH 0.02 mL を PG で 1.0 mL に調製後，同量の生理食塩液で希釈
b：PEG 0.18 mL, BnOH 0.02 mL を PG で 1.0 mL に調製
c：Lot No; 345B-401：PEG 0.18 mL, BnOH 0.02 mL を PG で 1.0 mL に調製

2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A ラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

被験物質：ロラゼパム

報告書タイトル：Lorazepam: two week intravenous toxicity study – rat

動物種/系統：SD ラット
試験開始週齢：8 週齢
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日

投与期間：2週間
休薬期間：なし
投与方法：静脈内
溶媒/投与形態：HPB 250 mg/mL, マンニトール 50 mg/mL を滅菌水で溶解 (Lot No; 893002) /溶液

報告書番号：GTR 22661
CTD における記載箇所：4.2.3.2.2
GLP 適用：適用

特記事項：
無毒性量：1 mg/kg/日未満

ロラゼパム投与量 (mg/kg/日)	**0（生理食塩液対照）**		**0（溶媒対照）**		**1**		**5**		**10**	
HPB投与量 (mg/kg/日)	**0**		**625**		**62.5**		**313**		**625**	
動物数	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
特記すべき所見										
死亡および屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重 (g, %) [a]	338.0	222.2	+1.1	-5.2	-3.2	-3.4	-2.8	-4.8	-1.3	-4.3
摂餌量 (g, %) [a]	23.8	18.4	+3.6	-11.5	-1.7	-11.5	-0.8	-4.0	+0.8	-7.6
一般状態 [b]										
運動失調	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
ウェット・ドッグ・シェイク	0	0	0	0	0	0	1	1	10	1
運動量の減少	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
眼瞼下垂	0	0	0	0	2	1	4	3	0	0
低体位	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
高体位	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0

a：投与終了時の生理食塩液対照群との差を%で示す
b：投与 1 週または 2 週に観察された最大の例数

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A ラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験（続き）

被験物質：ロラゼパム

投与量 (mg/kg/日)	**0（生理食塩液対照）**		**0（溶媒対照）**		**1**		**5**		**10**	
HPB投与量 (mg/kg/日)	**0**		**625**		**62.5**		**313**		**625**	
動物数	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査										
赤血球数 (10^6/μL)	6.86	6.57	7.03	6.28	7.12	6.50	6.81	6.32	6.70	6.19
平均赤血球容積 (fL)	58.40	58.40	58.20	60.50	58.10	59.50	60.10	62.30	60.60	62.70
平均赤血球ヘモグロビン量 (pg)	21.89	21.84	21.65	22.43	21.41	22.08	22.48	23.19	22.39	23.01
小型赤血球比率 (%)	72.70	73.80	72.60	69.90	72.30	71.70	69.10	65.00	69.30	64.80
大型赤血球比率 (%)	9.80	9.50	9.40	9.90	10.00	9.90	10.40	11.60	10.50	11.80
赤血球分布幅 (%)	65.00	64.50	66.00	70.00	66.50	67.50	70.00	74.00	69.50	74.00
血小板数 (10^4/μL)	710.20	825.50	629.20	875.50	664.40	761.80	719.10	832.20	761.50	884.40
網状赤血球 (%)	6.25	7.16	6.64	8.68	6.61	7.38	8.47	9.96	8.76	10.85
血液生化学的検査										
総蛋白 (g/dL)	5.85	6.19	5.98	6.01	5.93	5.97	5.88	5.94	5.88	5.96
グロブリン濃度 (g/dL)	2.59	2.63	2.59	2.47	2.54	2.48	2.48	2.44	2.51	2.45
A/G比	1.26	1.36	1.32	1.44	1.34	1.42	1.38	1.43	1.35	1.44
器官重量 (%) [a]										
腎臓 (g)	2.73	1.82	+2.5	+4.7	+0.0	+0.0	+0.7	4.2	+7.5	+7.1
剖検所見										
腎臓：皮質の変色										
軽微	0	0	4	5	0	0	3	0	4	8
軽度	0	0	3	1	0	0	1	0	0	0
中等度	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

a：投与終了時の生理食塩液対照群との差を%で示す

-：特記すべき所見なし

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A ラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験（続き）

被験物質：ロラゼパム

投与量 (mg/kg/日)	**0（生理食塩液対照）**		**0（溶媒対照）**		**1**		**5**		**10**	
HPB投与量 (mg/kg/日)	**0**		**625**		**62.5**		**313**		**625**	
動物数	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
病理組織学的検査										
肺：肺胞マクロファージ	1	2	10	10	5	0	7	9	10	9
腎臓：尿細管ネフローゼ（尿細管上皮の空胞化）	0	0	10	10	3	2	10	10	10	10

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7B ラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

被験物質：ロラゼパム

報告書タイトル：Lorazepam: two week intravenous toxicity study with recovery – rat

投与期間：2週間
休薬期間：2ヵ月間
投与方法：静脈内
溶媒/投与形態：HPB 250 mg/mL, マンニトール 50 mg/mL を滅菌水で溶解 (Lot No; 893002) /溶液

報告書番号：GTR 22668
CTD における記載箇所：4.2.3.2.3
GLP 適用：適用

動物種/系統：SD ラット
試験開始週齢：8 週齢
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日

特記事項：
無毒性量：0.25 mg/kg/日

ロラゼパム投与量 (mg/kg/日)	0（生理食塩液対照）		0（溶媒対照）		0.25		2.5	
HPB投与量 (mg/kg/日)	0		156.25		15.625		156.25	
動物数 [a]	M:20	F:20	M:20	F:20	M:10	F:10	M:20	F:20
特記すべき所見								
死亡および屠殺動物数	5	2	0	0	0	0	0	0
体重 (g, %) [b]	334.8	216.7	-0.7	+3.1	+2.3	+2.3	-1.7	+1.5
摂餌量 (g, %) [b]	23.2	16.5	-2.7	0.0	+1.7	+2.9	-4.5	-3.8
一般状態 [c]								
運動失調	0	0	0	0	0	0	20	20
運動量の減少	0	0	0	0	10	10	20	20
眼瞼下垂	0	0	0	0	5	3	14	13
低体位	0	0	0	0	0	0	2	1

NA：実施せず
a：回復性試験の動物も含む
b：投与終了時の生理食塩液対照群との差を%で示す
c：投与 1 週または 2 週に観察された最大の例数

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7B ラットにおける 2 週間静脈内投与毒性試験（続き）

被験物質：ロラゼパム

投与量 (mg/kg/日)	**0（生理食塩液対照）**		**0（溶媒対照）**		**0.25**		**2.5**	
HPB投与量 (mg/kg/日)	**0**		**156.25**		**15.625**		**156.25**	
動物数 [a]	M:20	F:20	M:20	F:20	M:10	F:10	M:20	F:20
血液生化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 (%) [b]								
腎臓 (g)	2.63	1.81	+1.5	+8.6	+8.4	+4.7	+0.8	+6.7
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査								
動物数	5	8	10	10	10	10	10	10
腎臓：尿細管ネフローゼ	0	0	7	2	0	0	8	3
回復性の評価	-	-	-	-	NA	NA	-	-

NA：実施せず，-：特記すべき所見なし

a：回復性試験の動物も含む

b：投与終了時の生理食塩液対照群との差を%で示す

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7C イヌにおける 2 週間静脈内投与毒性試験

被験物質：ロラゼパム

報告書タイトル：Lorazepam: two week intravenous toxicity study – dog

投与期間：2週間
休薬期間：なし
投与方法：静脈内
溶媒/投与形態：HPB 250 mg/mL, マンニトール 50 mg/mL を滅菌水で溶解 (Lot No; 893002) /溶液

報告書番号：GTR 21644，GTR 21620
CTD における記載箇所：4.2.3.2.5, 4.2.3.2.6
GLP 適用：適用

動物種/系統：ビーグル犬
試験開始週齢：12 ヵ月齢
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日

特記事項：
無毒性量：2 mg/kg/日未満

ロラゼパム投与量 (mg/kg/日)	**0（生理食塩液対照）**		**0（溶媒対照）**		**2**		**5**		**10**	
HPB投与量 (mg/kg/日)	**0**		**625**		**62.5**		**313**		**625**	
動物数 [a]	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
トキシコキネティクス：C_{max} (µg/mL)										
1回目投与[b]	NA	NA	NA	NA	1325±277	NA	2687±1190	NA	4042±2004	NA
2回目投与[c]	NA	NA	NA	NA	920±221	NA	1723±401	NA	3706±1817	NA
トキシコキネティクス：$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)										
1回目投与[b]	NA	NA	NA	NA	681±226	NA	2083±744	NA	3809±2598	NA
2回目投与[c]	NA	NA	NA	NA	824±240	NA	1437±294	NA	2694±1012	NA
特記すべき所見										
死亡および屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重 (kg, %) [d]	7.83	7.90	+5.7	+2.1	+2.1	+2.1	+1.8	+5.6	+8.2	+0.9

TK パラメータは平均値±標準偏差を示す。HPB：ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン，NA：実施せず
a：トキシコキネティクス試験は雄 6 匹/群
b：C_0-concentrations, estimated by log-linear extrapolation.
c：C_0-concentrations, for 0 hr time point after second dose.
d：投与終了時の生理食塩液対照群との差を%で示す

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7C イヌにおける 2 週間静脈内投与毒性試験（続き）

被験物質：ロラゼパム

ロラゼパム投与量 (mg/kg/日)	**0（生理食塩液対照）**		**0（溶媒対照）**		**2**		**5**		**10**	
HPB投与量 (mg/kg/日)	**0**		**625**		**62.5**		**313**		**625**	
動物数	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
一般状態 [a]										
運動失調	0	0	0	0	3	3	3	3	3	3
運動量の減少	0	0	0	0	1	1	2	1	2	2
嘔吐	0	0	1	0	2	3	3	3	2	3
過度の発声	0	0	0	0	3	2	2	2	2	3
頭部圧迫	0	0	0	0	3	3	3	3	3	3
四肢の開脚	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3
頻呼吸	0	0	1	1	1	2	2	2	2	3
眼瞼下垂	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3
流涎	0	0	0	0	1	2	2	1	3	2
振戦	0	0	0	0	1	3	2	2	2	3
四肢の外転	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
呼吸困難	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
前肢の足踏み	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
ケージへの噛みつき	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
糞便中の血液	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
頭部の病変（頭部圧迫による）	0	0	1	1	2	0	1	0	1	2
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし
a：試験期間中に観察された最大の例数

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7C イヌにおける 2 週間静脈内投与毒性試験（続き）

被験物質：ロラゼパム

ロラゼパム投与量 (mg/kg/日)	**0（生理食塩液対照）**		**0（溶媒対照）**		**2**		**5**		**10**	
HPB投与量 (mg/kg/日)	**0**		**625**		**62.5**		**313**		**625**	
動物数	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
血液学的検査										
赤血球数 (10^6/μL)	6.90	6.59	6.76	6.38	6.87	6.72	6.53	6.50	6.29	6.02
ヘモグロビン量 (g/dL)	16.50	15.90	15.23	15.13	16.10	16.33	15.33	15.60	14.90	14.20
ヘマトクリット値 (%)	43.63	42.37	40.97	40.50	42.97	44.37	41.23	41.60	40.07	38.50
フィブリノゲン量 (mg/dL)	201.33	186.00	246.67	202.67	226.67	185.67	211.33	212.00	242.67	213.67
血液生化学的検査										
ALT (U/L)	39.33	31.00	36.33	29.00	42.00	41.67	38.33	26.33	35.00	34.67
AST (U/L)	40.33	35.67	40.00	38.33	42.00	40.33	43.33	38.33	39.33	38.00
アルカリフォスファターゼ (U/L)	58.00	50.33	53.00	65.00	72.67	80.67	59.67	62.00	62.33	67.00
クレアチンキナーゼ (U/L)	168.00	195.00	195.00	159.33	195.33	188.33	178.00	255.67	164.00	133.00
トリグリセリド (mg/dL）)	49.67	46.00	33.67	39.67	38.33	50.33	29.00	37.33	32.00	35.67
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査										
肺：肺胞マクロファージ	1	0	3	3	3	2	3	3	3	3
注射部位：びらん（蜂窩織炎）	1	1	2	3	3	3	3	3	3	2

-：特記すべき所見なし

2.6.7.8. In Vitro 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.9. In Vivo 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.10. がん原性試験

該当なし

2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

2.6.7.12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当なし

2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験　　**被験物質：ロラゼパム**

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別および一群の動物数	無毒性量 (mg/kg/日)	特記すべき所見	報告書番号
ラット /SD	静脈内（溶媒[a]/溶液）	10 日間（妊娠 6～15 日）	0（溶媒対照），2, 4, 8	妊娠雌 35～36 匹/群	母動物 一般毒性：<2 mg/kg/日 生殖：8 mg/kg/日 胎児 8 mg/kg/日	母動物 鎮静，運動失調 (≧2 mg/kg/日)；回転･旋回運動 (≧4 mg/kg/日) 体重増加抑制 (≧2 mg/kg/日) 胎児 吸収胚数の減少 (4 mg/kg/日) 胎児重量の増加 (2, 8 mg/kg/日)；減少 (4 mg/kg/日)	GTR 4865
ウサギ /NZW	静脈内（溶媒[b]/溶液）	13 日間（妊娠 6～18 日）	0（溶媒対照），1, 2, 4	妊娠雌 13～14 匹/群	母動物 一般毒性：<1 mg/kg/日 生殖：4 mg/kg/日 胎児 4 mg/kg/日	母動物 鎮静，運動失調 (≧1 mg/kg/日) 体重増加抑制 (≧1 mg/kg/日) 胎児 胎児損失率の増加傾向 (4 mg/kg/日) 胎児重量の減少傾向 (4 mg/kg/日) 骨格奇形： 頭頂間骨欠損 (1 mg/kg/日：1 例) 頸椎および肋骨の奇形 (4 mg/kg/日：1 例) 第 13 肋骨の分離 (4 mg/kg/日：1 例) 第 2-5 胸骨の癒合 (4 mg/kg/日：1 例) 内臓異常： 口蓋裂 (4 mg/kg/日：1 例) 硬膜静脈洞の血栓症に起因する脳病変 (対照群，1，2 mg/kg/日：各 1 例) 右腎臓および尿管の無形成 (1 mg/kg/日：1 例)	GTR 5045

PEG：ポリエチレングリコール，BnOH：ベンジルアルコール，PG：プロピレングリコール
a：Batch No; 1/E/2029：PEG 18 mL, BnOH 2 mL を PG で 100 mL に調製後，同量の生理食塩液で希釈
b：Batch No; 1/E/2029：PEG 18 mL, BnOH 2 mL を PG で 100 mL に調製後，滅菌食塩液と 1:1.5 の割合で希釈

2.6.7.14. 生殖発生毒性試験：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

該当なし

2.6.7.15. 新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16. 局所刺激性試験　　**被験物質：ロラゼパム**

動物種/系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別および 一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号
ウサギ /NZW	静脈内または 筋肉内 （溶媒[a]/溶液）	単回	0（溶媒対照および 生理食塩液対照）， 2.0 mL （5 mg/mL）	雌雄計8匹， 1～3匹/処置 （静脈内） 雌雄3匹/処置 （筋肉内）	静脈内投与，筋肉内投与： 注射部位にロラゼパムによる影響は認められなかった	GTR 2382
ウサギ /NZW	静脈内 （溶媒[b]，溶媒[c] または溶媒[d]/溶液）	1週間	0（溶媒対照および 生理食塩液対照）， 海外市販製剤： 2 mg/mL， シクロデキストリン 含有製剤： 1 mg/mL（HPB含有 滅菌水）， 4 mg/mL（HPB含有 生理食塩液）	雌雄各4匹/群	すべての群：摂餌量の減少を伴う軽度な体重減少，運動量の減少 海外市販製剤群：中等度から強度の静脈の刺激反応，耳介静脈に接する組織に強度の紅斑および壊死，強度の壊死，慢性活動性炎症，血管内の血栓，二次的な線維化および種々の程度の出血や浮腫 シクロデキストリン含有製剤群： 1 mg/mL以上の群：呼吸促迫，軽度から中程度で限局性ないし多巣性の紅斑 4 mg/mL群：限局性の血管の類線維素壊死 溶媒投与群：耳介静脈に接する組織に種々の病変（軽度～中等度），紅斑部位の軽度から中等度の多巣性の浮腫や出血	GTR 19916

PEG：ポリエチレングリコール，BnOH：ベンジルアルコール，PG：プロピレングリコール，HPB：ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
a：Lot No; 345B-490：PEG 0.18 mL, BnOH 0.02 mL を PG で 1.0 mL に調製
b：Batch No; 0VWN：HPB 62.5 mg/mL, マンニトール 12.5 mg/mL を滅菌水で溶解
c：Batch No; 0VWN：HPB 250 mg/mL, マンニトール 50 mg/mL を生理食塩液で溶解
d：Lot No; 4910077：PEG 0.18 mL, BnOH 0.02 mL を PG で 1.0 mL に調製後，同量の滅菌水で希釈

2.6.7.17. その他の毒性試験　　**被験物質：ロラゼパム**

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別および一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号
溶血性試験						
イヌ/ビーグル	静脈内 （溶媒[a]，溶媒[b] /溶液）	単回	0（溶媒対照および滅菌水）， ロラゼパム酒石酸製剤 (0.1 mg/kg), Wy-14855[c] (0.1 mg/kg), Wy-14896[c] (0.1 mg/kg), 溶媒[b] (0.04 mL/kg), 注射用滅菌水 (0.04 mL/kg), 注射用ペントバルビタールナトリウム (2.0 および 35.0 mg/kg)	雄 3 匹/群	溶血性は認めず	GTR 4470

PEG：ポリエチレングリコール，BnOH：ベンジルアルコール，PG：プロピレングリコール
a：Lot No; 345C-265：酒石酸 40 mg, 無水エタノール 0.2 mL, BnOH 0.02 mL, PG 0.4 mL, モノエタノールアミン 0.0331 mL を注射用滅菌水で 1.0 mL に調製
b：Lot No; 345B-521：PEG 0.18 mL, BnOH 0.02 mL を PG で 1.0 mL に調製
c：Wy-14855 および Wy14896；水溶性のベンゾジアゼピン