セリンクロ錠　10mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

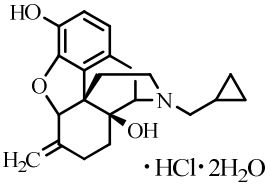
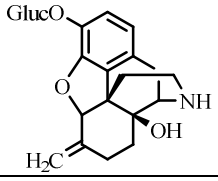
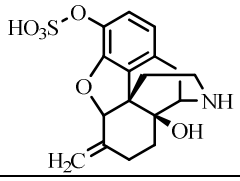
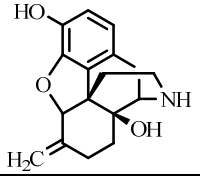
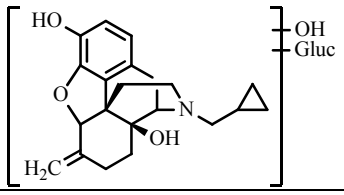
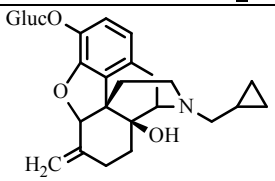
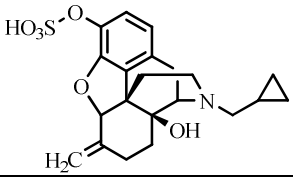
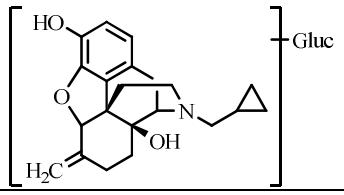
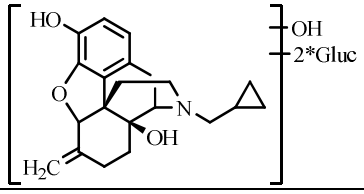
大塚製薬株式会社

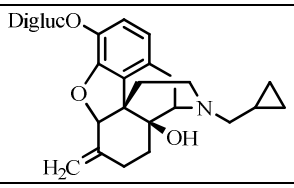
目次

目次 2
略号一覧 3
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 6
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験 6
2.4.2.1.1 *In vitro* 試験 6
2.4.2.1.2 *In vivo* 試験 7
2.4.2.2 安全性薬理試験 8
2.4.2.3 薬力学的薬物相互作用試験 9
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 吸収 9
2.4.3.2 分布 10
2.4.3.3 代謝 10
2.4.3.4 排泄 11
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 11
2.4.4 毒性試験 12
2.4.4.1 反復投与毒性試験 12
2.4.4.2 遺伝毒性試験 13
2.4.4.3 がん原性試験 14
2.4.4.4 生殖発生毒性試験 14
2.4.5 総括及び結論 15
2.4.6 参考文献 17

略号一覧

略号	省略していない表現
ADH	アルコール脱水素酵素
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{6h}	投与後 0 時間から 6 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{24h}	投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	乳癌耐性たん白質（別名，ABCG2）
BSEP	胆汁酸塩排出ポンプ（別名，ABCB11）
CD_{50}	半数のラットに間代性発作を起こすのに必要な用量
C_{max}	最高血漿中濃度
CYP	チトクローム P450
GLP	Good Laboratory Practice
HEK	ヒト胎児腎臓
hERG	ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子
IA	固有活性（Intrinsic activity）
IC_{50}	50%阻害濃度
K_i	阻害定数（Inhibition constant）
MDR1	多剤耐性たん白質 1（別名，P-糖たん白質，ABCB1）
MRP2	多剤耐性関連たん白質 2（別名，ABCC2）
OAT1	有機アニオントランスポーター1（別名，SLC22A6）
OAT3	有機アニオントランスポーター3（別名，SLC22A8）
OATP1B1	有機アニオントランスポーターポリペプチド 1B1（別名，SLCO1B1）
OATP1B3	有機アニオントランスポーターポリペプチド 1B3（別名，SLCO1B3）
OCT1	有機カチオントランスポーター1（別名，SLC22A1）
OCT2	有機カチオントランスポーター2（別名，SLC22A2）
UGT	UDP-グルクロン酸転移酵素

名称（由来）	構造式
ナルメフェン塩酸塩水和物（JAN） Lu AA36143	
ノルナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体 Lu AF27193 （代謝物，M1）	
ノルナルメフェン 3-*O*-硫酸抱合体 AF33154 （代謝物，M2）	
ノルナルメフェン Lu AE67947 （代謝物，M3）	
ヒドロキシナルメフェングルクロン酸抱合体 （代謝物，M4，M5，M13）	
ナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体 Lu AE67945 （代謝物，M6）	
ナルメフェン 3-*O*-硫酸抱合体 Lu AF33153 （代謝物，M8）	
ナルメフェングルクロン酸抱合体 （代謝物，M9）	
ヒドロキシナルメフェン二グルクロン酸抱合体 （代謝物，M11）	

ナルメフェン 3-*O*-二グルクロン酸抱合体 （代謝物, M12）	

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

薬理試験：

ナルメフェンの薬理作用を評価するために，*in vitro* 及び *in vivo* での効力を裏付ける試験，ならびに生体機能への潜在的影響を検討するための安全性薬理試験を実施した。また，ナルメフェンの代謝物についても，*in vitro* 及び *in vivo* 試験にて，薬理作用の評価を実施した。

薬物動態試験：

ナルメフェンの吸収，分布，代謝，排泄及び薬物動態学的薬物相互作用について検討した。単回投与における薬物動態はラット及びイヌにナルメフェンを経口又は静脈内投与して検討した。反復投与時の薬物動態はマウス，ラット，ウサギ及びイヌを用いた主要な毒性試験での結果について評価した。また，血清（血漿）たん白結合率，血液/血漿濃度比及び乳汁排泄についても試験を実施した。

毒性試験：

ナルメフェンの安全性評価のため，主な試験として反復投与毒性（ラット及びイヌ），遺伝毒性（*in vitro* 及び *in vivo*），がん原性（マウス及びラット）並びに生殖発生毒性（ラット及びウサギ）に関する試験を実施した。

2.4.2　薬理試験

ナルメフェンの薬理学的性質を，一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験にて評価した。*In vitro* 試験において，ナルメフェンのオピオイド受容体に対する選択性，結合親和性及び機能的活性を評価した。*In vivo* 試験において，ナルメフェンのオピオイド受容体に対する機能的活性，脳内受容体占有率及びアルコール依存症に対する効果を予測する動物モデルにおける作用を検討した。後述する効力を裏付ける試験成績より，ナルメフェンは，脳内のオピオイド受容体に対する作用に基づいて，アルコール依存症に対する有用性を示すものと考えられた。

2.4.2.1　効力を裏付ける薬理試験

2.4.2.1.1　*In vitro* 試験

In vitro 試験において, ナルメフェンは選択的なオピオイド受容体調節薬であることが示された。ナルメフェンはヒト組み換え型 μ，あるいは，ラット及びヒト組み換え型 κ オピオイド受容体に対して高い親和性（μ; K_i = 0.20～1.3 nmol/L，κ; K_i = 0.31～1.1 nmol/L）を示し，ヒト組み換え型 δ オピオイド受容体に対しては，それらよりやや弱い親和性（K_i = 16～53 nmol/L）を示した。オピオイド受容体に対する機能的活性を評価したところ，μ オピオイド受容体に対しては，アンタゴニストとして作用する場合もあれば，固有活性の低い（IA = 41%）部分アゴニストとして作用する場合もあった。ただし，モルモット摘出回腸を用いた試験では，ナルメフェンによるオピオイド受容体アゴニスト作用は認められず，モルヒネの作用に拮抗作用を示すことから，ナルメフェンはアンタゴニストとして作用することが示された。κ オピオイド受容体に対しては，比較的固有活性の高い（IA = 52%～80%）部分アゴニストとして作用し，δ オピオイド受容体に対しては，

アンタゴニストとして作用した。

ナルメフェンの代謝物についても検討を実施した。イヌ，ラット及びヒトにおける主要代謝物であるナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体はオピオイド受容体に対する活性が弱く，薬理作用への寄与は少ないと考えられる。ラットにおける主要代謝物であり，ヒトでも検出されるノルナルメフェンはオピオイド受容体アゴニストとしての作用を有する。ただし，ノルナルメフェンはラットにくも膜下投与すると，鎮痛作用を示すが，静脈投与しても鎮痛作用を示さないことから，中枢移行性が低く，中枢薬理作用への寄与は少ないことが示唆される。ナルメフェン 3-*O*-硫酸酸抱合体は，ナルメフェンと類似したオピオイド受容体結合親和性を示すが，ヒトにおける微量代謝物であることから，薬効への寄与は少ないと考えられる。また，ヒトでナルメフェンと同程度の血漿中濃度に達する代謝物ノルナルメフェン 3-*O*-硫酸酸抱合体は，オピオイド受容体に対する親和性は低い。以上の結果から，代謝物がナルメフェンの効果に寄与する可能性は低いことが示唆された。

2.4.2.1.2 *In vivo* 試験

In vivo 試験では，オピオイドアゴニストが鎮痛作用を示すマウス及びラットのテールフリック試験及びマウスライジング試験を行った。これらの試験において，ナルメフェンは鎮痛作用を示さず，オピオイドアゴニストの鎮痛作用に対して拮抗作用を示した。このことから，ナルメフェンは，*in vivo* においてオピオイド受容体アンタゴニストとして作用することが示された。

ラットを用いた *ex vivo* 受容体占有試験では，ナルメフェン（0.01～1 mg/kg）皮下投与後に，低い血漿中濃度（1 ng/mL 未満）で 50%以上の脳内 μ オピオイド受容体占有率が示された。μ オピオイド受容体に対する高い占有率は，別のラット *in vivo* 結合試験においても確認され，ナルメフェン（1 mg/kg）の皮下投与 1 時間後に μ オピオイド受容体だけでなく κ オピオイド受容体及び δ オピオイド受容体に対してもそれぞれ高い脳内受容体占有率（μ; 99%，κ; 93%，δ; 84%）が認められた。

In vivo 効力薬理試験として，エタノール摂取量に対するナルメフェンの作用を，エタノール多飲を誘導したラットを用いて行動薬理学的に検討した。図 2.4.2-1 に示すように，エタノール多飲を誘導したラットに，ナルメフェン（塩酸塩として 0.36 mg/kg）を 1 日 1 回 4 日間，皮下投与すると，ラットの自発的エタノール摂取量が有意に減少した。エタノール摂取量の有意な減少はナルメフェンの投与 24 時間後においても持続していた。ナルメフェンは，混餌投与した場合でも，ラットの自発的エタノール摂取量の有意な減少を示した。また，ナルメフェンを皮下投与後，休薬期間をおいて，再度皮下投与したところ，いずれの投与期間においても，ナルメフェン投与により，ラットのエタノール摂取量は有意に減少した。さらに，ナルメフェンはエタノール摂取中断後再開時におけるエタノール摂取量の上昇を抑制した。

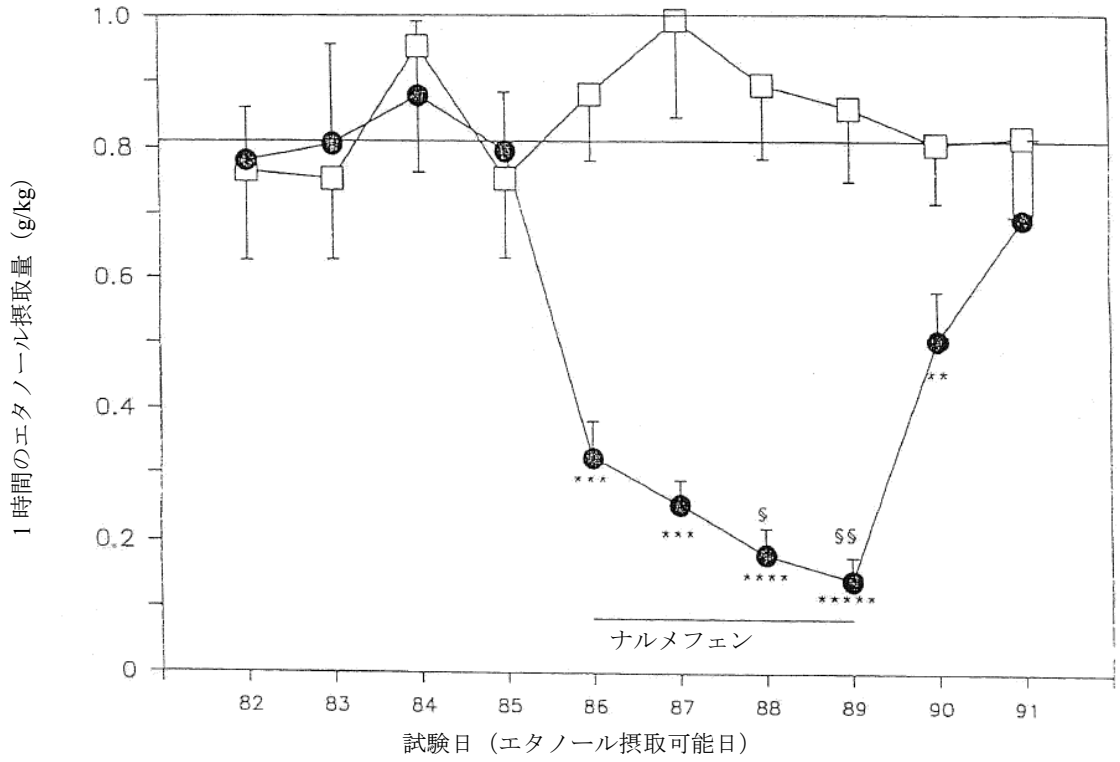


図 2.4.2-1　　自発的エタノール摂取（制限摂取）に対するナルメフェン（皮下投与）の効果

□ 対照群，● ナルメフェン投与群（0.36 mg/kg, 皮下投与）

**p = 0.0002, ***p < 0.0001, ****p < 0.00001, *****p < 0.000001（ベースライン値（ナルメフェン投与前 4 日間の平均エタノール摂取量）との比較，multiple t tests），§p = 0.022, §§p = 0.002（86 日目のナルメフェン投与群のエタノール摂取量との比較，multiple t tests）データは平均値 ± 標準誤差で示した。N = 15

＜資料番号 4.2.1.1-12：図 1＞

2.4.2.2　安全性薬理試験

ナルメフェンの中枢神経系，呼吸器系及び心血管系に対する影響について検討した。hERG 電流への影響を検討した試験の被験物質濃度分析が GLP 不適用であった以外，試験は GLP 適用で実施された。

中枢神経系及び呼吸器系に対する作用を，ラットを用いて経口投与で検討した結果，100 mg/kg で投与 90 分後に活動性の上昇がみられ，150 mg/kg では投与 30 分後に触反応亢進，排尿増加及び発声が, 180 分後に活動性の上昇が, 360 分後にカタレプシーがみられたが, 呼吸器系に関しては, 150 mg/kg まで呼吸数及び一回換気量に対して影響は認められなかった。

心臓に対する電気生理学的な作用を検討した *in vitro* 試験では，ウサギ摘出プルキンエ線維の活動電位に対して，200 ng/mL まで影響はみられなかったが，2000 ng/mL では 1 Hz の刺激頻度で活動電位振幅がわずかに低下し，0.25 Hz の刺激頻度では活動電位持続時間が延長した。HEK293 細胞における hERG 電流に対しては，200，600，2000 及び 6000 ng/mL でそれぞれ 12%，16%，34% 及び 47%の抑制がみられた。心血管系に対する影響を検討した *in vivo* 試験では，テレメーター装

着覚醒イヌにおける心血管系に対する作用を 1～50 mg/kg の漸増経口投与により検討した結果，25 及び 50 mg/kg で投与 6 時間後に QRS 幅がわずかに延長を示したがイヌにおける正常範囲内の変化であり，その他の心電図評価項目，血圧及び心拍数に影響はみられなかった。

上記の安全性薬理試験は，ナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の曝露量（C_{max}：22.3 ng/mL，AUC：154 ng·h/mL；資料番号 5.3.3.5-02 参照）を十分上回る曝露条件で実施された。すなわち，ウサギ心臓のプルキンエ線維を用いた試験で活動電位に影響がみられた濃度は 2000 ng/mL で，hERG 電流に対する IC_{50} は 6000 ng/mL をやや上回る値と推定された。また，*in vivo* 試験における曝露量は，ラットにナルメフェン 150 mg/kg を単回経口投与した際の C_{max} 及び AUC_{6h} は 1446 ng/mL 及び 1495 ng·h/mL（資料番号 4.2.2.2-02 参照），イヌにナルメフェン 50 mg/kg を単回経口投与した際の C_{max} 及び AUC_{6h} は 698 ng/mL 及び 968 ng·h/mL であった（資料番号 4.2.2.2-04 参照）。

したがって，これらの安全性薬理試験において呼吸器系に影響は認められず，中枢神経及び心血管系に対して認められた作用は臨床における曝露よりも非常に高い曝露条件下での作用であり，本薬の臨床使用に関して問題となるようなものではないと判断した。

2.4.2.3　薬力学的薬物相互作用試験

中枢性の薬力学的相互作用を確認するため，ナルメフェン，フルマゼニル（ベンゾジアゼピン拮抗薬）及び両薬剤併用投与による間代性痙攣発作惹起作用について検討を行ったところ，CD_{50} 値は，ナルメフェンが 7.45 mg/kg，フルマゼニルが 167.8 mg/kg であった。次に，両薬剤の CD_{50} 値を基に，ナルメフェンとフルマゼニルを 1：23 で混合して静脈内投与し，両薬物の相互作用を検討した結果，CD_{50} 値は 106.3 mg/kg となった。

2.4.3　薬物動態試験

ナルメフェンの吸収，分布，代謝，排泄及び薬物動態学的薬物相互作用について検討した。薬物動態試験は，放射性標識体及び非標識体を用いて，安全性評価に用いたラット及びイヌにおいて実施した。また，各種動物及びヒト生体試料を用いて *in vitro* 試験を実施した。

2.4.3.1　吸収

ラット（50～150 mg/kg）及びイヌ（50 mg/kg）にナルメフェンを単回経口投与したとき，ナルメフェンの血漿中濃度は投与後 0.25～0.30 時間（ラット）及び 1.19～1.20 時間（イヌ）に最高値を示し，ラットで投与量比を上回って増加した。イヌの絶対的生物学的利用率（50 mg/kg）は 10.1%であった。

ラット（100 mg/kg）及びイヌ（4 mg/kg）に ^{14}C-ナルメフェンを単回経口投与したとき，血液中放射能は投与後 0.583～4.5 時間（ラット）及び 0.5 時間（イヌ）に最高値に達した。ラット及びイヌの血液中放射能濃度に顕著な性差は認められなかった。ラットにおけるナルメフェンの吸収率は 94.4%～96.8%であった。

反復経口投与したときの薬物動態については主要な毒性試験で得られた結果に基づいて評価した。血中ナルメフェンは，マウス，ラット，ウサギ及びイヌにおいてそれぞれ 100 mg/kg/日，300 mg/kg/日，200 mg/kg/日及び 16 mg/kg/日まで，用量依存的に増加した。

2.4.3.2　分布

ラットに ^{14}C-ナルメフェンを 100 mg/kg で単回経口投与したとき，放射能は組織に速やかに分布し，多くの組織において組織内濃度は血中濃度と同程度又はそれ以上の値を示した。投与後 48 時間には，大半の組織において検出下限未満となった。脳内の放射能濃度は血液中濃度未満であった。有色ラットではメラニン含有組織において高い放射能濃度を示し，その消失も遅かったことから，ナルメフェン及びその由来成分はメラニン含有組織に対して親和性があると考えられた。^{14}C-ナルメフェンを 2 mg/kg で単回静脈内投与後の胎児組織中濃度は母体血中濃度と同程度以下であり，胎盤通過性が認められた。

ナルメフェンの *in vitro* 血液/血漿濃度比はラットで 1.26，イヌで 1.33 であり，血球及び血漿への分配に明確な差は認められなかった。ナルメフェンの *in vitro* たん白結合率はラットで 33%，イヌで 42%，ヒトで 32%であった。

2.4.3.3　代謝

ラット，イヌ及びヒトにおけるナルメフェンの代謝について*in vitro*及び*in vivo*で検討した結果，13種類の代謝物が確認され，そのうち6種類の代謝物の化学構造が同定された。ナルメフェンの推定代謝経路を図 2.4.3-1に示した。ナルメフェンの主要な代謝反応は，ナルメフェン3-*O*-グルクロン酸抱合体を生成するグルクロン酸抱合反応及びナルメフェンからノルナルメフェンを経てノルナルメフェン3-*O*-グルクロン酸抱合体を生成する抱合反応であった。ヒトで認められた代謝物はラット及びイヌのいずれかの動物種において，ヒト以上の血中曝露があることが確認された。ナルメフェンからノルナルメフェンへの代謝にはCYP3A4/5が，ナルメフェンのグルクロン酸抱合体化にはUGT2B7（主たる酵素），UGT1A3及びUGT1A8が関与すると考えられた。

ラットに ^{14}C-ナルメフェンを 100 mg/kg で単回経口投与したとき，血漿中には主にノルナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体が認められた。ナルメフェンより高曝露な代謝物としてナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体，ノルナルメフェン，ナルメフェン 3-*O*-硫酸抱合体が認められた。尿中には主にノルナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体が，糞中には主にノルナルメフェンが排泄された。

イヌに ^{14}C-ナルメフェンを 4 mg/kg で単回経口投与したとき，血漿中には主にナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体が認められ，ナルメフェンより高曝露な代謝物としてノルナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体が認められた。尿中には主にナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体が，糞中には主にナルメフェンが排泄された。

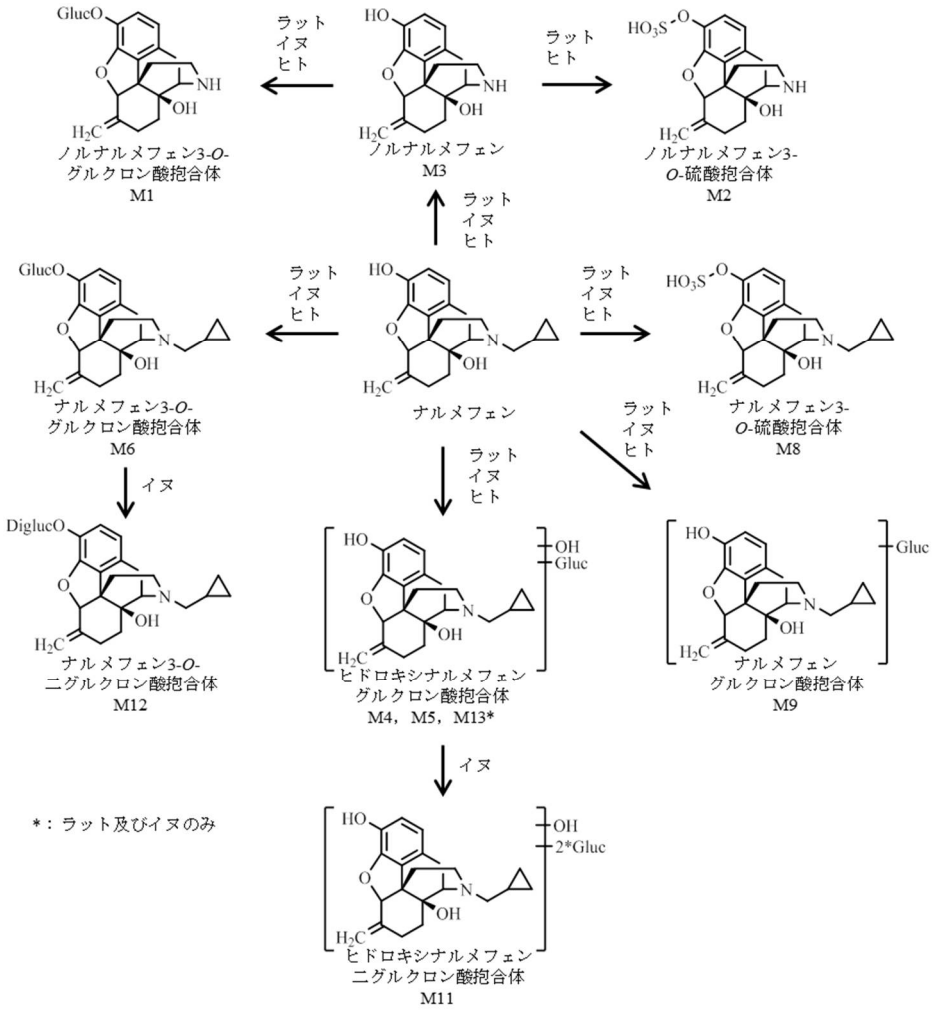


図 2.4.3-1　　ナルメフェンの推定代謝経路

2.4.3.4　排泄

ラットに ^{14}C-ナルメフェンを 100 mg/kg で単回経口投与したとき，投与後 168 時間までの尿及び糞中放射能排泄率はそれぞれ 28.86%～37.78%及び 50.26%～63.08%，投与後 48 時間までの胆汁中放射能排泄率は 64.15%～64.50%であった。

イヌに ^{14}C-ナルメフェンを 4 mg/kg で単回経口投与したとき，投与後 168 時間までの尿及び糞中放射能排泄率はそれぞれ 42.35%～43.45%及び 56.00%～57.22%であった。

授乳ラットに ^{14}C-ナルメフェンを 2 mg/kg で単回静脈内投与したとき，放射能の乳汁移行が認められ，乳汁中の放射能濃度は投与 1 時間後に血漿中濃度の約 3 倍に達し，投与 24 時間後までに血漿中濃度の約半分に減衰した。

2.4.3.5　薬物動態学的薬物相互作用

ナルメフェンは CYP2D6 を直接阻害し，IC_{50} 値は 18 μmol/L であった。その他の CYP 分子種（CYP1A2，CYP2A6，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2E1 及び CYP3A4/5），UGT 分子種（UGT1A1，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9 及び UGT2B7）及び ADH 阻害作用は低く，IC_{50} 値は 100 μmol/L より大きかった。CYP 誘導作用（CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9,

CYP2C19 及び CYP3A4/5）は 10 μmol/L までの濃度で認められなかった。ナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体，ノルナルメフェン，ノルナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体及びノルナルメフェン 3-*O*-硫酸抱合体の上記 CYP 分子種に対する IC_{50} 値はすべて 100 μmol/L より大きかった。

ナルメフェンは，MDR1，BCRP，MRP2，OATP1B1，OATP1B3 及び OCT1 への基質性はなかった。ナルメフェンは OCT1（IC_{50} 値：1.21 μmol/L）及び OCT2（IC_{50} 値：7.37 μmol/L）に阻害作用を示したが，MDR1，BCRP，MRP2，BSEP，OATP1B1，OATP1B3，OAT1 及び OAT3 に対する IC_{50} 値は 150 μmol/L より大きかった。

ナルメフェン 20 mg を被験者に 1 日 1 回 7 日間反復経口投与後の血中濃度（C_{max}）は 22.3 ng/mL であり，ナルメフェンが CYP，UGT 及びトランスポーター阻害並びに CYP 誘導により臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性はきわめて低いと考えられた。

2.4.4 毒性試験

ナルメフェンの主な毒性試験として反復投与毒性（ラット及びイヌ），遺伝毒性（*in vitro* 及び *in vivo*），がん原性（マウス及びラット）並びに生殖発生毒性（ラット及びウサギ）に関する試験を，すべて GLP 適用で実施した。

2.4.4.1 反復投与毒性試験

ラットの 13 週間混餌投与試験では 100 及び 500 mg/kg/日群で体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられ，無毒性量は体重への影響を考慮して 100 mg/kg/日と推定された。一方，52 週間混餌投与試験では，100 及び 300 mg/kg/日群で体重増加抑制がみられたが，1 年間に及ぶ長期投与期間を通じて体重は増加傾向にあり，ナルメフェンに起因した死亡及び一般状態の異常はなく，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査でも毒性変化は認められなかったことを踏まえ，無毒性量は 300 mg/kg/日と推定された。単回強制経口投与でのラットの概略致死量は 250 mg/kg で，中枢神経症状がみられたが（参考資料，資料番号 4.2.3.1-04 参照），ラットの反復投与試験における血漿中ナルメフェン濃度は混餌投与であったため，単回強制経口投与時に到達する血漿中濃度よりも低かったことが中枢神経系の毒性症状がみられなかった理由と考えられた。イヌの 13 週間及び 52 週間経口投与試験では，痙攣等の中枢神経系への毒性発現がみられ，13 週間投与試験の無毒性量は雌雄ともに 20 mg/kg/日，52 週間投与試験の無毒性量は雄が 4 mg/kg/日，雌が 16 mg/kg/日と推定された。イヌの 13 週間及び 52 週間反復投与試験は，いずれも 1985 年以前に実施されており，当時は標準的な検査項目ではなかった心電図評価は実施されていない。しかしながら，安全性薬理試験としてテレメーター装着覚醒イヌにおける心血管系に対する作用を検討し，本薬の臨床使用に関して問題となる影響がないことが確認されている。また，ラット及びイヌの反復投与試験ともに休薬後の回復性は検討されていないが，イヌでみられた中枢神経系への毒性発現以外に標的となる臓器組織はなく，毒性評価上問題とはならないと考えられた。

ラットの 13 週間及び 52 週間反復投与試験並びにイヌの 52 週間反復投与試験から得た血漿検体を用いて，それぞれトキシコキネティクス試験（参考資料，資料番号 4.2.3.2-15, -16，-18）が実施されているが，限られた曝露データしか得られていなかったため，ラット及びイヌ 4 週間反復投与トキシコキネティクス試験を追加実施し，ナルメフェン及び代謝物の曝露量について検討した

（表 2.4.4-1）。その結果，ラット，イヌともに吸収されたナルメフェンは速やかに代謝を受けることが示された。イヌの 52 週間投与試験の無毒性量におけるナルメフェンの AUC_{24h} は，ナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の値に比べ雄が 0.07 倍，雌が 0.26 倍と下回り，代謝物についてはナルメフェン抱合体が上回ったものの（雄 14.1 倍，雌 44.5 倍），ノルナルメフェン及びノルナルメフェン抱合体についてはほとんどの個体が定量下限未満であった。しかしながら，ラットの 52 週間投与試験の無毒性量におけるナルメフェンの AUC_{24h} はナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の値に比べ雄で 7.6 倍，雌で 2.6 倍と上回り，代謝物であるナルメフェン抱合体，ノルナルメフェン及びノルナルメフェン抱合体については，さらに高い曝露（20.7～310 倍）がみられた。なお，ナルメフェン抱合体及びノルナルメフェン抱合体はグルクロン酸抱合体と硫酸抱合体の合計で示されているが，ラット，イヌともにナルメフェン抱合体の大半はヒト主要代謝物であるナルメフェン 3-*O*-グルクロン酸抱合体（M6）であった（2.6.5.9 参照）。

表 2.4.4-1　　ラット及びイヌ 52 週間反復投与試験の無毒性量と臨床用量における曝露（AUC_{24h}）比較

項目	ラット[a]		イヌ[b]		ヒト[c]
	雄 300 mg/kg	雌 300 mg/kg	雄 4 mg/kg	雌 16 mg/kg	20 mg
ナルメフェン	1170 (7.6)	406 (2.6)	10.6 (0.07)	39.8 (0.26)	154
ナルメフェン抱合体	129000 (141)	98200 (107)	12900 (14.1)	40700 (44.5)	915
ノルナルメフェン	689 (20.7)	940 (28.2)	NA	NA	33.3
ノルナルメフェン抱合体	41800 (214)	60500 (310)	NA	NA	195

[a] 4 週間反復混餌投与後の AUC_{24h} ＜2.6.7.3 より引用＞。
[b] 4 週間反復経口投与後の AUC_{24h} ＜2.6.7.3 より引用＞。
[c] 併合薬物動態解析（資料番号 5.3.3.5-02）による反復投与後の解析データ＜2.7.2.2.11：表 2.7.2.2-16 より引用＞。
単位：ng· h/mL（括弧内に臨床曝露量に対する倍率を示した）。
NA：ほとんどの個体が定量下限未満のため未算出。

上述の通り，イヌ 52 週間投与試験の無毒性量におけるナルメフェンの曝露量は，ナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の曝露量よりもかなり下回っていたことから，これまで実施された臨床試験では中枢神経系への有害事象，特に痙攣発現について注意深くモニタリングを行ってきた。その結果，プラセボ群に比べてナルメフェン投与群で痙攣発現が増加することはなく（2.7.4.2.1.5 (2)参照），臨床使用上問題とならないと考えられた。

2.4.4.2　　遺伝毒性試験

細菌（ネズミチフス菌）を用いた復帰突然変異試験は最高 5000 μg/plate までの用量で，哺乳類細胞（マウスリンパ腫細胞）を用いた前進突然変異試験は最高 100 μg/mL までの用量で実施したが遺伝子突然変異は誘発されなかった。哺乳類細胞（ヒト末梢血リンパ球）を用いた染色体異常試験は，代謝活性化のない条件の 3 mg/mL で染色体異常が増加した。この染色体異常の増加は，細胞毒性を示す極めて高い濃度（3 mg/mL，8 mmol/L 相当；55%相対有糸分裂指数）での変化であり，*in vivo* の 2 試験（マウスの骨髄小核試験及びラットの骨髄染色体異常試験）はいずれも陰

性であったことから，ナルメフェンが臨床使用において遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

2.4.4.3　がん原性試験

マウスに 4，20 及び 100 mg/kg/日の用量で，80 週間混餌投与して評価した。その結果，いずれの用量においてもナルメフェン投与による生存率への影響はみられなかったが，100 mg/kg/日群で体重増加抑制がみられ，投与期間終了時の体重は対照群に比べ雄では 6%，雌では 11%低下した。しかしながら，最大耐量と考えられた 100 mg/kg/日においても，対照群に比較して統計学的に有意な発生頻度の変化を示した腫瘍はみられなかった。

ラットに 4，20 及び 100 mg/kg/日の用量で，104 週間混餌投与して評価した。その結果，いずれの用量においてもナルメフェン投与による生存率への影響はみられなかったが，各用量で体重増加抑制がみられ，100 mg/kg/日における投与期間終了時の体重は対照群に比べ雄は 19%，雌では 26%低下した。しかしながら，最大耐量と考えられた 100 mg/kg/日においても，対照群に比較して統計学的に有意な発生頻度の変化を示した腫瘍はみられなかった。ラットにナルメフェンを 100 mg/kg/日の用量で 4 週間混餌投与した際のナルメフェン，ナルメフェン抱合体，ノルナルメフェン及びノルナルメフェン抱合体の曝露量（AUC_{24h}）は，ナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の曝露量をいずれも上回っていた（表 2.4.4-2）。

表 2.4.4-2　　ラットがん原性試験の最大耐量と臨床用量における曝露（AUC_{24h}）比較

項目	ラット[a]		ヒト[b]
	雄 100 mg/kg	雌 100 mg/kg	男性 20 mg
ナルメフェン	242 (1.6)	263 (1.7)	154
ナルメフェン抱合体	31200 (34.1)	20000 (21.9)	915
ノルナルメフェン	600 (18.0)	784 (23.5)	33.3
ノルナルメフェン抱合体	27000 (138)	33700 (173)	195

[a] 4 週間反復混餌投与後の AUC_{24h} ＜2.6.7.3 より引用＞。

[b] 併合薬物動態解析（資料番号 5.3.3.5-02）による反復投与後の解析データ＜2.7.2.3.1.3：Panel 23 より引用＞。

単位：ng·h/mL（括弧内に臨床曝露量に対する倍率を示した）。

2.4.4.4　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影響：雌雄ラットに配偶子形成，交配及び妊娠の期間を通して 200 mg/kg/日（交配後に 100 mg/kg/日に減量）までの投与量を経口投与した試験及びラットの交配開始前から雄については交配終了まで，雌については着床までの期間 200 mg/kg/日までの投与量を経口投与した試験が実施され，これらの試験結果から，100 mg/kg/日まで雌雄の受胎能及び初期胚発生に関するパラメータに影響がないことが確認された。

胚・胎児発生に関する影響：妊娠ラット及びウサギに 200 mg/kg/日の投与量を各々経口投与した試験において，胚・胎児の生存性及び形態形成に影響は認められなかったが，ウサギにおいて胎児の軽度な発育遅延がみられた。また，妊娠ウサギに 8 mg/kg/日までの投与量を妊娠 6～18 日に静脈内投与した試験では，8 mg/kg/日まで胚・胎児の生存性及び形態形成に影響は認められなかった。

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する影響：配偶子形成，交配，妊娠，分娩及び授乳の期間を通して 200 mg/kg/日（交配後に 100 mg/kg/日に減量した）までの投与量を経口投与した試験の雌ラットにおいて，200 mg/kg/日群の母動物に哺育不良がみられ，出生児の生存率が有意に低下し，軽微な体重増加抑制がみられたが，妊娠期間，分娩時間，出生児数及び出生児の発達に影響は認められなかった。また，妊娠ラットに 100 mg/kg/日までの投与量を経口投与した試験においても，100 mg/kg において母動物の哺育不良が認められ，出生児の生存率が低下したが，その他のパラメータに影響は認められなかった。

2.4.5 総括及び結論

オピオイド受容体は脳で広範に分布しており，脊髄や末梢の感覚神経及び自律神経にも存在する[1]。オピオイド受容体は 3 つのサブタイプ（μ，κ 及び δ）からなり，いずれのサブタイプのオピオイド受容体も，7 回膜貫通型受容体であり，G_i/G_o ファミリーの G タンパクと関連している[2]。オピオイド受容体の作用は広範であり，鎮痛，鎮静，呼吸抑制，便秘，多幸感，身体依存などが挙げられ，その作用はオピオイド受容体サブタイプによって異なる[3]。例えば，μ オピオイド受容体を介した作用には，鎮痛，呼吸抑制及び消化管運動抑制が挙げられる。κ オピオイド受容体は鎮静及び嫌悪感をもたらし，δ オピオイド受容体は鎮痛に関与する。

すべてのオピオイド受容体は嗜癖に関与することが知られており，アルコールなどの嗜癖性物質は，μ オピオイド受容体の活性化を介して，正の強化効果をもたらす[4]。δ オピオイド受容体の活性化も，μ オピオイド受容体より程度は弱いが，同様に正の強化効果をもたらすと考えられる。一方で，κ オピオイド受容体の活性化は，μ 及び δ オピオイド受容体とは反対の作用を示すと考えられる[5]。ただし，κ オピオイド受容体の役割は，薬物嗜癖の段階に応じて異なるようであり，強迫的なエタノールの摂取を伴う依存状態では，κ オピオイド受容体の遮断が，エタノール摂取量の減少に有効であった[6,7]。また，多くのエビデンスから，嗜好性のある薬物の長期摂取には κ オピオイド系の活性化が関連することが示されており，これにより負の情動状態が引き起こされ，薬物嗜癖に対する負の強化効果が生じると考えられている[5]。

文献で報告されているラットを用いた試験[7]では，ナルメフェン投与によって，エタノール非依存ラットよりもエタノール依存ラットにおいてエタノールの摂取量がより減少した。ナルメフェンのエタノール依存ラットにおけるエタノール摂取量の減少効果は，μ 及び δ オピオイド受容体に対する選択的拮抗作用を示すナルトレキソンの効果よりも大きかった。また，選択的 κ オピオイド受容体拮抗薬であるノルビナルトルフィミンがエタノール依存ラットに対してのみエタノール摂取量低減効果を示した。最近の試験で，薬物強化効果を司る領域である中脳辺縁系にナルメフェン又は選択的オピオイド受容体拮抗薬を投与することによって，このエタノール摂取量低減効果が再現されている[8]。

ナルメフェンの薬理試験で得られた知見をまとめると，*in vitro* 及び *in vivo* における受容体親和性及び機能性試験の結果から，ナルメフェンは選択的オピオイド受容体調節薬であり，μ 及び δ オピオイド受容体に対しては拮抗薬として，κ オピオイド受容体に対しては部分的作動薬として作用することが示された。ラットを用いた *in vivo* 試験では，ナルメフェンは，アルコール依存症に対する効果を予測するモデルにおいて，エタノール摂取量減少効果を示した。*In vivo* 及び *ex vivo* オピオイド受容体占有率を検討した試験では，ナルメフェンがエタノール摂取量減少効果を示す

用量において，脳内のオピオイド受容体を占有することが示された。よって，*in vivo* 行動薬理試験におけるナルメフェンの有効性にはオピオイド受容体が関与することが示唆される。これらの薬理試験の結果は，ナルメフェンがアルコール依存症における飲酒量の低減に有効であることを示唆している。

安全性薬理試験では，中枢神経系及び呼吸器系に対する作用を，ラットに経口投与して検討した結果，100 mg/kg で投与 90 分後に活動性亢進がみられ，150 mg/kg では投与 30 分後に触反応亢進，排尿亢進及び発声が，180 分後に活動性亢進が，360 分後にカタレプシーがみられたが，呼吸器系に関しては，150 mg/kg の用量まで呼吸数及び一回換気量に対して影響は認められなかった。心臓に対する電気生理学的な作用を検討した *in vitro* 試験では，ウサギ摘出プルキンエ線維の活動電位に対して，2000 ng/mL で生理的な刺激頻度である 1 Hz（60 拍/分）で活動電位振幅をわずかに低下させ，非生理的徐脈に相当する刺激頻度である 0.25 Hz（15 拍/分）で活動電位持続時間を延長させた。また，hERG 電流に対しては，200～6000 ng/mL で濃度増加に伴い 12%～47%の抑制がみられ，IC_{50} 値は 6000 ng/mL をやや上回る値と推定された。心血管系に対する作用を検討した *in vivo* 試験では，テレメトリー装着覚醒イヌにおいて，25 及び 50 mg/kg の経口投与により投与 360 分後にわずかな QRS 間隔延長がみられたが生理的正常範囲内の変化であり，その他の心電図評価項目，血圧及び心拍数に影響は認められなかった。これら実施された安全性薬理試験におけるナルメフェンの曝露量は，ナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の曝露量を十分に上回る条件で実施されており，中枢神経及び心血管系に対してみられた変化は本薬の臨床使用に関して問題とならないと考えられた。

ナルメフェンの薬物動態試験は，薬理試験及び安全性試験で使用した動物種及び *in vitro* 試験で評価した。ナルメフェンは経口投与後，投与量に依存して血中に移行し，組織内濃度は多くの組織で血中より高かった。ナルメフェンは主に CYP3A4/5 及び UGT2B7 により代謝され，ヒトで認められた代謝物はすべて動物でも認められたことから，毒性試験の評価動物はナルメフェン及び代謝物の安全性評価に適切であったと考えられた。また，メラニン親和性，胎盤通過性及び乳汁移行が認められた。主排泄経路は胆汁を介した糞中への排泄であると考えられた。薬物代謝酵素及び薬物トランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

ナルメフェンの毒性を検討するため，反復投与毒性，遺伝毒性，がん原性及び生殖発生毒性に関する毒性試験を実施した。

反復投与毒性試験では，ラットで摂餌量減少に伴う体重の増加抑制がみられ，52 週間混餌投与試験では，高用量 300 mg/kg/日群における投与 52 週時の体重は対照群に比べ約 20%の低下を示したが，1 年に及ぶ長期投与期間を通じて体重は増加傾向にあり，ナルメフェン投与に起因した死亡及び一般状態の異常はなく，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査においても毒性変化はみられなかったことを踏まえ，無毒性量は 300 mg/kg/日と推定された。イヌでは痙攣等の中枢神経系への毒性発現がみられ，52 週間投与試験の無毒性量は雄が 4 mg/kg/日，雌が 16 mg/kg/日と推定された。ラット 52 週間投与試験の無毒性量におけるナルメフェン，ナルメフェン抱合体，ノルナルメフェン及びノルナルメフェン抱合体の曝露量はいずれもナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の曝露量を上回っていた。イヌではナルメフェンは速やかに代謝をうけてグルクロン酸抱合体となり，イヌ 52 週間投与試験の無毒性量におけるナ

ルメフェンの曝露量は，ナルメフェン 20 mg をヒトに反復経口投与した際の曝露量よりも下回っていたことから，これまで臨床試験では中枢神経系への有害事象，特に痙攣発現について注意深くモニタリングを行ってきた。しかしながら，プラセボ群に比べてナルメフェン投与群で痙攣発現が増加することはなく，臨床使用上問題とならないと考えられた。

遺伝毒性は，*in vitro* の 3 試験及び *in vivo* の 2 試験により評価され，ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 試験で染色体異常の増加がみられたことを除き，有意な陽性結果は認められなかった。この染色体異常の増加は，細胞毒性を示す極めて高い濃度（3 mg/mL，8 mmol/L に相当；55%相対有糸分裂指数）で代謝活性化系の非存在下での変化であり，マウス及びラットを用いた 2 種類の *in vivo* 試験では遺伝毒性は認められなかったことから，ナルメフェンが臨床使用において遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

マウス 80 週間及びラット 104 週間のがん原性試験において，マウス，ラットともに最大耐量の 100 mg/kg/日においても，対照群に比べ有意な発生頻度の変化を示した腫瘍はみられず，ナルメフェンはがん原性を示さないと考えられた。

生殖発生毒性試験では，受胎能，胚・胎児発生並びに出生前及び出生後発生への影響について評価した。ラットにおける受胎能に関する評価では，100 mg/kg/日まで生殖発生に関する影響は認められなかった。胚・胎児発生に関する評価では，ウサギにおいて 200 mg/kg/日で胎児の軽度な発育遅延が示唆されたが，ラット，ウサギともに催奇形性は示されなかった。ラットにおける出生前及び出生後発生に関する評価では，100 mg/kg/日以上で母動物の哺育不良がみられ，その二次的影響として出生児の体重増加抑制及び生存率低下が認められた。

以上の非臨床試験成績において，ナルメフェンは，選択的オピオイド受容体調節薬であり，μ 及び δ オピオイド受容体に対しては拮抗薬として，κ オピオイド受容体に対しては部分的作動薬として作用することが示された。*In vivo* 試験の結果から，ナルメフェンは脳内のオピオイド受容体に対する作用が認められ，更に，臨床使用上問題となる副作用を誘発しないと考えられることから，アルコール依存症患者の飲酒量低減に有用である可能性が示された。

2.4.6 参考文献

[1] Mansour A, Fox CA, Akil H, Watson SJ. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. Trends Neurosci. 1995; 18(1): 22-29.

[2] Law P, Wong YH, Loh HH. Molecular mechanisms and regulation of opioid receptor signaling. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2000; 40: 389–430.

[3] Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior: 2009. Peptides. 2010; 31(12): 2325-2359.

[4] Trigo JM, Martin-García E, Berrendero F, Robledo P, Maldonado R. The endogenous opioid system: A common substrate in drug addiction. Drug and Alcohol Dependence. 2010; 108(3): 183-194.

[5] Wee S, Koob GF. The role of the dynorphin-kappa opioid system in the reinforcing effects of drugs of abuse. Psychopharmacology. 2010; 210(2): 121-135.

[6] Hölter SM, Henniger MSH, Lipkowski AW, Spanagel R. Kappa-opioid receptors and relapse-like drinking in long-term ethanol-experienced rats. Psychopharmacology. 2000; 153: 93–102.

[7] Walker BM, Koob GF. Pharmacological evidence for a motivational role of kappa-opioid systems in ethanol dependence. Neuropsychopharmacology. 2008; 33(3): 643-652.

[8] Nealey KA, Smith AW, Davis SM, Smith DG, Walker BM. Kappa-opioid receptors are implicated in the increased potency of intra-accumbens nalmefene in ethanol-dependent rats. Neuropharmacology. 2011; 61(1-2): 35-42.