目次

略号一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 8
2.4.1 非臨床試験計画概略 8
2.4.1.1 原薬及び製剤 8
2.4.1.2 薬理試験 8
2.4.1.3 薬物動態試験 9
2.4.1.4 毒性試験 9
2.4.1.5 GLP 適合性状況 10
2.4.2 薬理試験 10
2.4.2.1 緒言 10
2.4.2.2 効力を裏付ける試験 10
2.4.2.2.1 *in vitro* 試験 11
2.4.2.2.2 *in vivo* 試験 12
2.4.2.3 副次的薬理試験 15
2.4.2.4 安全性薬理試験 15
2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用 16
2.4.3 薬物動態試験 16
2.4.3.1 緒言 16
2.4.3.2 分析法 17
2.4.3.3 吸収 17
2.4.3.4 分布 17
2.4.3.5 代謝 18
2.4.3.6 排泄 19
2.4.3.7 薬物動態学的薬物相互作用 20
2.4.3.8 その他の薬物動態試験 20
2.4.4 毒性試験 20
2.4.4.1 緒言 20
2.4.4.2 単回投与毒性試験 21
2.4.4.3 反復投与毒性試験 21
2.4.4.3.1 死亡率、体重及び臨床的所見 21
2.4.4.3.2 腎臓及び肝臓に対する作用 23
2.4.4.4 遺伝毒性試験 25
2.4.4.5 がん原性試験 25
2.4.4.6 生殖発生毒性試験 25
2.4.4.7 幼若動物試験 26
2.4.4.8 局所刺激性試験 26
2.4.4.9 薬物乱用性試験 27
2.4.4.10 不純物の毒性試験 27

2.4.4.11 曝露安全域 28
2.4.5 総括及び結論 30
2.4.5.1 薬理試験 30
2.4.5.2 薬物動態試験 31
2.4.5.3 毒性試験 33
2.4.5.4 結論 33
2.4.6 参考文献 34

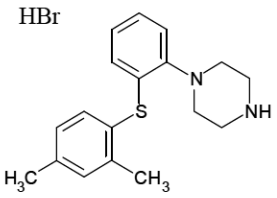
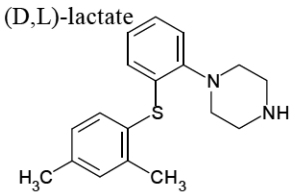
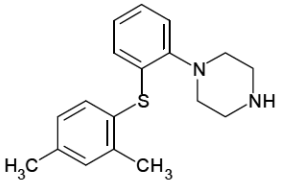
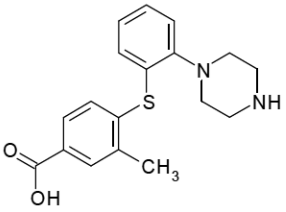
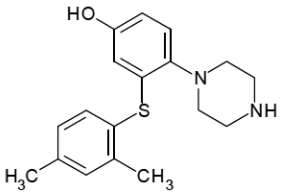
表

表 2.4.2-1 ヒト及びラット 5-HT_3、5-HT_7、5-HT_{1D}、5-HT_{1B} 及び 5-HT_{1A} 受容体並びに SERT を発現する組換え細胞株／皮質組織における Lu AA21004 の *in vitro* 特性 11
表 2.4.4-1 主要な反復経口投与毒性試験で観察された主な一般状態所見 22
表 2.4.4-2 Lu AA21004 及び Lu AA34443 の毒性試験 NOAEL（反復投与及び胚・胎児発生毒性試験）と臨床用量 20 mg/日の曝露量（AUC）比較 28
表 2.4.4-3 Lu AA21004 及び Lu AA34443 の毒性試験 NOAEL 及び非発がん量と臨床用量 20 mg/日の曝露量（Cmax）比較 29

図

図 2.4.2-1 Lu AA21004 のラットに対する各投与量の脳内標的占有率 12
図 2.4.3-1 Lu AA21004 の推定代謝経路 19

略号一覧表

略号	一般名（略称）	化学名	化学構造式	由来
Lu AA21004-HBr	ボルチオキセチン臭化水素酸塩	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine monohydrobromide		原薬
Lu AA21004-(D,L)-lactate	ボルチオキセチン乳酸塩	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine (D,L)-lactate		原薬
Lu AA21004	ボルチオキセチン	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine		フリー体
Lu AA34443	—			代謝物
Lu AA39835	—			代謝物

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
5-HT	serotonin	セロトニン
5-HTP	5-hydroxytryptophan	5-ヒドロキシトリプトファン
5-HTx	serotonin receptor subtype x	セロトニン受容体サブタイプ X
α-BGTX	alpha-bungarotoxin	α-ブンガロトキシン
ACh	acetylcholine	アセチルコリン
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
A/G	albumin to globulin ratio	アルブミン/グロブリン比
AGP	α_1-acid glycoprotein	α_1酸性糖たん白質
ALP	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
aVF, aVL, aVR	augmented unipolar ECG lead	増大単極 ECG 誘導
AUC	area under the curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC(0-inf)	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC(0-t)	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t (hr)	0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティー
BID	twice daily	1 日 2 回
BCRP	breast cancer resistance protein	－
BP	blood pressure	血圧
BrdU	5-bromo-2-deoxyuridine	5-ブロモ-2-デオキシウリジン
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
BSEP	bile salt export pump	－
Caco-2	Human colon carcinoma	ヒト大腸がん由来細胞
Cdyn	dynamic lung compliance	動肺コンプライアンス
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
cIC_{50}	$cIC_{50}=IC_{50}/(1+S/Km)$, where S is the radio-substrate concentration and Km is the Michaelis-Menten rate constant for radio-substrate to the transporter	$cIC_{50}=IC_{50}/(1+S/Km)$: S は放射性基質濃度、Km はトランスポーターに対する放射性基質の Michaelis-Menten 定数
CLp	plasma clearance	血漿クリアランス
Cmax	maximum observed plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CV5RL	precordial chest ECG lead	胸部 ECG 誘導
CYP	cytochrome P-450	チトクローム P450
DA	dopamine	ドパミン
DAT	dopamine transporter	ドパミントランスポーター
dLVP/dt	rate of change in left ventricular pressure	左心室内圧の変化率
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DRN	dorsal raphe nucleus	背側縫線核
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
ECAC	Executive Carcinogenicity Assessment Committee	がん原性評価委員会
ECG	electrocardiogram; electrocardiographic	心電図；心電図の
ED_{50}	median effective dose	50%有効量
EMEA	European Medicines Agency	欧州医薬品審査庁
FDA	US Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FLIPR	fluorometric imaging plate reader	蛍光測定画像解析用プレートリーダー
GABA	gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
GD	Gestation Day	妊娠日齢

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
GTPγS	guanosine 5'-O-[gamma-thio]triphosphate	グアノシン 5'-O-[γ-チオ]三リン酸
hSERT	human serotonin transporter	ヒトセロトニントランスポーター
h5-HTx	human 5-HT receptor subtype x	ヒトセロトニン受容体サブタイプ X
HA	histamine	ヒスタミン
h β x	human beta-adrenergic receptor, subtype x	ヒト β-アドレナリン受容体、サブタイプ X
HBr	hydrobromide	臭化水素酸塩
hδ	human delta opioid	ヒトデルタ-オピオイド
HED	human equivalent dose	ヒト相当用量
HEK-293	human embryonic kidney - 293 variation	ヒト胎児由来腎臓細胞-293 変異株
HeLa	cell type in an immortal cell line derived from cervical cancer cells taken from human	ヒト子宮頚がん細胞由来不死化細胞株
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト遅延整流カリウムイオンチャンネル遺伝子
hH_2	human histamine H_2	ヒトヒスタミン H_2
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
hμ	human μ opioid	ヒトミュー-オピオイド
hNAT	human noradrenaline transporter	ヒトノルアドレナリントランスポーター
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HP-β-CD	hydroxypropyl-beta-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
Hgb	hemoglobin	ヘモグロビン
HR	heart rate	心拍数
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IA	intrinsic activity	内因活性
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IKr	rapid activating delayed rectifier potassium current	急速活性型遅延整流カリウム電流
IP	intraperitoneal(ly)	腹腔内
IV	intravenous(ly)	静脈内
Kb	binding constant	結合定数
Ki	inhibitory constant	阻害定数
LC	locus coeruleus	青斑核
LC/MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LD	lactation day	哺育日数
Lead I, II, III	bipolar ECG leads	双極 ECG 誘導
LLNA	local lymph node assay	局所リンパ節試験
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
Lu AA21004	test article	被験物質
Lu AA25790	sulfoxide metabolite (M4(a))	スルホキシド体代謝物（M4(a)）
Lu AA34443	carboxylic acid metabolite	カルボン酸体代謝物
Lu AA34994	hydroxy intermediate (of Lu AA34443)	（Lu AA34443 の）ヒドロキシ中間体
Lu AA39835	hydroxy metabolite (M8)	ヒドロキシ体代謝物（M8）
Lu AE22404	*N*-hydroxy intermediate (for M11 and M12)	（M11 及び M12 の）*N*-ヒドロキシ中間体
LVP	left ventricular pressure	左心室内圧
M3	glucuronide of Lu AA39835	Lu AA39835 のグルクロン酸抱合体
M4(a)	sulfoxide metabolite (Lu AA25790)	スルホキシド体代謝物（Lu AA25790）
M4(b)	acyl glucuronide of Lu AA34443	Lu AA34443 のアシルグルクロン酸抱合体
M8	hydroxy metabolite (Lu AA39835)	ヒドロキシ体代謝物（Lu AA39835）

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
M11	glucuronide of Lu AE22404	Lu AE22404 のグルクロン酸抱合体
M12	glucuronide of Lu AE22404	Lu AE22404 のグルクロン酸抱合体
MABP	mean arterial blood pressure	平均動脈血圧
MATE	multidrug and toxin extrusion	－
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney	Madin-Darby Canine Kidney 細胞
MDD	major depressive disorder	大うつ病性障害
MDR1	Multidrugresistance 1	多剤耐性たん白質
MED	minimally effective dose	最小有効量
MIST	metabolites in safety testing	代謝物の安全性試験
mPFC	medial prefrontal cortex	内側前頭前皮質
mRNA	messenger ribonucleic acid	伝令リボ核酸
MS	mass spectrometry	質量分析
MS/MS	tandem mass spectrometry	タンデム質量分析
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NAS	nucleus accumbens	側坐核
NAT	noradrenaline transporter	ノルアドレナリントランスポーター
NDA	New Drug Application	新薬承認申請
NE	norepinephrine	ノルエピネフリン
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
NOEL	no-observed-effect level	無作用量
NOR	novel object recognition test	新奇物体認識試験
OB	olfactory bulbectomized	嗅球摘出
OAT	organic anion transporter	－
OATP	organic anion transporting polypeptide	－
OCT	organic cation transporter	－
Papp	Permeation coefficient	透過係数
P peak/wave	ECG peak/wave in the PR interval	心電図 P 波
pCO_2	partial carbon dioxide pressure	二酸化炭素分圧
PCPA	4-chloro-DL-phenylalanine methyl ester hydrochloride	4-クロロ-DL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩
Penh	enhanced pause, an index of airway constriction	エンハンスドポウズ、気道収縮の指標
P-gp	P-glycoprotein	P-糖たん白質
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態（学）
PO	oral(ly)	経口
pO_2	partial oxygen pressure	酸素分圧
PQ interval	ECG interval representing conduction time through the cardiac atrium, atrioventricular node and the bundle of His	心電図 PQ 間隔：興奮が心房、房室結節及びヒス束を伝わる伝導時間を表す心電図間隔
PR interval	ECG interval representing conduction time through the cardiac atrium, atrioventricular node, the bundle of His and Purkinje fiber	心電図 PR 間隔：興奮が心房、房室結節、ヒス束及びプルキンエ線維を伝わる伝導時間を表す心電図間隔
QRS axis	sum of vectors during cardiac depolarization	心電図 QRS 軸：心室脱分極期のベクトルの合計
QRS interval	ECG interval representing conduction time for ventricular depolarization	心電図 QRS 間隔：心室脱分極の伝導時間を表す心電図間隔
QT interval	ECG interval representing the conduction time for ventricular de- and re-polarization	心電図 QT 間隔：心室脱分極から再分極までの伝導時間を表す心電図間隔
QTc	QT interval corrected for HR	心拍数で補正した心電図 QT 間隔
QTcV	QT interval corrected for HR by the use of Van de Water's correction formula.	Van de Water の補正式を用いて、心拍数で補正した QT 間隔
R peak/wave	ECG peak/wave in the QRS complex	心電図 R 波：QRS 複合体のピーク／波
r5-HTx	rat 5-HT receptor subtype x	ラットのセロトニン受容体サブタイプ X
R_L	airway resistance	気道抵抗

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
rNa+	rat sodium ion	ラットのナトリウムイオン
RR interval	ECG interval representing the time between two successive ECG complexes	心電図 RR 間隔：2 つの連続した心電図波形間の時間を表す心電図間隔
SA	spontaneous alternation test	自発的交替行動試験
SC	subcutaneous(ly)	皮下
SCN5A	cardiac sodium channel	心筋に発現するナトリウムチャネル
SERT	serotonin transporter	セロトニントランスポーター
SNRI	serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor	セロトニン-ノルエピネフリン再取り込み阻害薬
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitor	選択的セロトニン再取り込み阻害薬
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T wave	ECG wave representing cardiac ventricular repolarization	心電図 T 波：心室再分極を表す心電図波形
Tmax	time to reach Cmax	最高血漿中濃度到達時間
TOF-SIMS	time-of-flight secondary ion mass spectrometry	飛行時間型二次イオン質量分析法
UHP	ultra high purity	超高純度
USV	ultrasonic vocalization	超音波発声
UV	ultraviolet	紫外線
V_{10}	precordial chest ECG lead	標準胸部誘導
Vd	volume of distribution	分布容積
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積
VHip	ventral hippocampus	腹側海馬
VTA	ventral tegmental area	腹側被蓋野

2.4 非臨床試験の概括評価

Lu AA21004（1-[2-(2,4-ジメチルフェニルスルファニル)フェニル]ピペラジン）は武田薬品工業株式会社と H. Lundbeck A/S 社が共同開発している大うつ病性障害（MDD）治療薬であり、本邦においては、うつ病・うつ状態の治療薬として開発を進めている。

Lu AA21004 は新しい化学的分類（ビス-アリル-スルファニル誘導体）に属する化合物であり、現在承認されている抗うつ薬とは異なる構造を持つ。本薬は、セロトニン（5-HT）神経シナプス前終末におけるセロトニントランスポーター（SERT）阻害と、後シナプス側における 5-HT 受容体の両方に親和性を示すセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する点で、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）、及びノルアドレナリン作動性・特異的セロトニン作動性抗うつ薬（NaSSA）とは異なる新規の作用機序を有するといえる。海外においても既に、SSRI、SNRI、及び NaSSA とは異なるカテゴリーとして分類されている[1]。非臨床薬理試験でこれまでに得られた知見から、特にセロトニン受容体サブタイプ 3（5-HT_3）受容体アンタゴニスト作用、5-HT_{1A}受容体アゴニスト作用、SERT 阻害作用が主な作用点であると考える[2][3]。これら多様な薬理作用を介することで、脳内で 5-HT、ドパミン（DA）、ノルエピネフリン（NE）、アセチルコリン（ACh）、ヒスタミン（HA）等の神経伝達物質が遊離され、それによる臨床的有用性が期待できる新規作用機序の抗うつ薬である。

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 原薬及び製剤

本非臨床試験では、Lu AA21004 をヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HP-β-CD）水溶液に溶解させ、マウス、ラット、イヌ及びウサギに経口、皮下（皮下に埋め込まれた浸透圧ミニポンプによる持続投与を含む）、腹腔内、又は静脈内投与した。

主要な毒性試験は、Lu AA21004 の臭化水素酸塩（HBr）を用いて実施した。また、薬理試験は、塩酸塩を使用したヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子（hERG）試験を除いて、すべて HBr を用いた。本稿では、使用した塩の種類に拘わらず被験物質を Lu AA21004 と表記する。

すべての *in vivo* 試験で使用する薬剤の濃度及び用量の単位はフリー体に換算し、それぞれ ng/mL、mg/kg（free base）で表記する。

2.4.1.2 薬理試験

クローン化ヒト受容体及びトランスポーターを発現する組換え細胞株を使用して、Lu AA21004 及びその代謝物の *in vitro* の結合親和性及び機能的活性を検討した。また、高度から中等度の親和性を有する標的について、Ki 及び Kb/50%阻害濃度（IC_{50}）を測定した。さらに、動物モデルでの所見の解釈のため、Lu AA21004 の薬理効果に寄与すると考えられる標的について、ラットの標的への結合親和性及び機能的活性を検討した。

in vivo 試験では、ラットを用いた単回及び 3 日間反復投与試験により、特定の脳部位における細胞外の神経伝達物質濃度［5-HT、NE、DA、ACh、HA、γ-アミノ酪酸（GABA）及びグルタミン酸］に対する作用、並びに 5-HT、NE、DA ニューロンの発火頻度の調節に関して検討し、Lu AA21004 の特性を解明した。その結果、神経伝達物質濃度及びニューロン発火

頻度と、*ex vivo* 又は *in vivo* の結合法を用いて測定された *in vivo* の標的占有率には関連が認められた。さらに、Lu AA21004 の抗うつ、抗不安、認知機能改善作用及び鎮痛作用を齧歯類の行動試験で検討し、性機能障害を誘導する可能性についても検討した。

安全性薬理試験では、Lu AA21004 の中枢神経系、心血管系及び呼吸系に対する作用に加えて、腎・泌尿器系及び胃腸管系に対する作用も検討した。

本薬理学的試験プログラムでは、薬力学的相互作用試験は実施しなかった。

2.4.1.3 薬物動態試験

Lu AA21004 及び放射能で標識した Lu AA21004（[^{14}C]Lu AA21004）を用いてマウス、ラット及びイヌにおける吸収、分布、代謝、排泄について検討した。また、これら動物種由来の試料を用いた *in vitro* 試験において本薬の分布、代謝に関する検討を実施した。

さらに、ヒト由来の代謝酵素を用いて本薬及びその代謝物のヒトにおける代謝について検討するとともに、P-糖たん白質（P-gp）活性に対する基質性及び各種トランスポーター阻害作用についても検討した。

Lu AA21004 の薬物動態試験では、バリデートされた生体試料分析方法を使用した。非標識体を用いた試験では、各動物種の生体試料中での定量的分析方法を開発し、バリデートした。また、これらの生体試料中での安定性についても確認した。

2.4.1.4 毒性試験

毒性試験では、マウス及びラットを用いた単回投与毒性試験、マウス、ラット及びイヌを用いたそれぞれ最長 13、26 及び 52 週間の反復投与毒性試験、細菌、ヒト末梢血リンパ球及びラットを用いた *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いた 2 年間がん原性試験、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚・胎児発生に関する試験、出生前及び出生後の発育並びに母体の機能に関する試験並びにラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験を実施した。毒性試験における投与経路は、Lu AA21004 の臨床適用予定投与経路と同じ経口投与とした。

他に、ラットを用いた幼若動物毒性試験、ラットを用いた 13 週間毒性試験の一部として免疫毒性試験、ラット及びイヌを用いた静脈内投与による 7 日間及び 14 日間毒性試験、マウスを用いた皮膚感作性評価のための経皮投与（塗布）による局所リンパ節試験、並びにイヌにみられた痙攣発現の機序検討及びラットを用いた肝臓及び腎臓における結晶性物質の機序検討の各検討試験を実施した。

Lu AA21004 はラット及びマウスにおいて薬理作用を示し、イヌでも薬理作用にもとづく反応が認められたため、反復投与毒性試験における試験系として妥当と考えられた。毒性試験に用いたいずれの動物種においても臨床曝露量に比較して十分な Lu AA21004 の曝露が得られた。

Lu AA21004 の薬物乱用性については、欧州医薬品審査庁（EMEA[4]）及び米国食品医薬品局（FDA[5]）のガイドライン及び「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」（平成 22 年 2 月 19 日 第 4 号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）に従って評価した結果、独立した *in vivo* 薬物乱用性試験を実施する必要はないと判断された。

2.4.1.5 GLP 適合性状況

生体試料分析業務を委託した試験施設（[redacted]）において不十分な科学的判断及び GLP の不徹底から発生した不正行為が発覚したため、H. Lundbeck A/S 社及び武田薬品工業株式会社は、生体試料分析試験の評価におけるデータ不備の影響について検討した。その結果、[redacted] で薬物濃度測定を実施した GLP 毒性試験 9 試験のうち、幼若ラットを用いた強制経口投与毒性試験（12980、4.2.3.5.4-3）を除く、8 試験のデータに影響がみられたが、問題解決のための是正措置を行った結果、生体試料分析データの信頼性に懸念はなく、非臨床試験全体の評価に影響はないと判断された。したがって、本非臨床試験を含め製造販売承認申請資料として添付することは妥当と判断した。

なお、本調査及び是正措置の詳細な報告についてはモジュール 4 [4.2.3.7.7-6]を参照のこと。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 緒言

Lu AA21004 の抗うつ薬としての薬効に結びつく薬理学的特性を明らかにするために、*in vitro* 及び *in vivo* での効力を裏付ける試験を種々実施した。さらに、抗うつ作用以外の薬効に結びつく作用、ならびに抗うつ薬として最もよく処方されている SSRI や SNRI の投与において多く認められる有害事象に関する本薬の特性を明らかにするために、副次的薬理試験を実施した。安全性薬理試験としては中枢神経系、心血管系、呼吸系に対する作用を検討するためのコアバッテリー試験に加えて腎・泌尿器系及び胃腸管系に対する作用を検討する試験も実施した。

in vitro 及び *in vivo* における効力を裏付ける試験の結果を総合すると、Lu AA21004 は 5 つの 5-HT 受容体サブタイプへの直接的な修飾及び SERT の阻害という 2 つの薬理作用機序を通じて、その治療効果をもたらしていると考えられ、セロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する抗うつ薬と考えられる。

2.4.2.2 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験として、標的に対する親和性及び機能的活性の評価を目的とした *in vitro* 試験と、神経伝達物質の遊離、神経細胞の発火、抗うつ作用の評価を目的とした *in vivo* 試験を実施した。*in vitro* 試験では、種々の 5-HT 受容体ならびに SERT に対する親和性及び機能的活性をヒト、ラットについて検討し、Lu AA21004 が 5 つの 5-HT 受容体サブタイプへの直接的な修飾（5-HT_3、5-HT_7 及び 5-HT_{1D} 受容体アンタゴニスト作用、5-HT_{1B} 受容体部分アゴニスト作用、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用）及び SERT の阻害という 2 つの薬理作用機序を持ち、SSRI、SNRI、及び NaSSA とは異なるセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する抗うつ薬であることを明らかにした。*in vivo* 試験では、ラットにおいて Lu AA21004 が複数の脳部位において 5-HT、DA、NE、ACh、HA の遊離を上昇させること、背側縫線核（DRN）の 5-HT ニューロンの発火を変化させることを示した。またマウスでの尾懸垂試験、強制水泳試験、新規性誘発摂食抑制試験で抗うつ作用を示した。

2.4.2.2.1 *in vitro* 試験

組換え細胞株を用いた *in vitro* 試験の結果、Lu AA21004 はヒト及びラットの両方において、5-HT_3、5-HT_7、5-HT_{1D} 受容体のアンタゴニスト、5-HT_{1B} 受容体の部分的アゴニスト、5-HT_{1A} 受容体のアゴニスト、及び SERT 阻害薬として作用することが明らかとなった（表 2.4.2-1）。

表 2.4.2-1　ヒト及びラット 5-HT_3、5-HT_7、5-HT_{1D}、5-HT_{1B} 及び 5-HT_{1A} 受容体並びに SERT を発現する組換え細胞株／皮質組織における Lu AA21004 の *in vitro* 特性

標的	ヒト			ラット		
	結合親和性	機能性		結合親和性	機能性	
	Ki (nmol/L)(a)	IC_{50}/EC_{50} (nmol/L)	Kb (b) (nmol/L)	Ki (nmol/L)	IC_{50} (nmol/L)	Kb (b) (nmol/L)
5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用	3.7 (c)	12 (d) 10 (e)	3.5 (d)	1.1 (c)	0.18 (d)	ND
5-HT_7 受容体アンタゴニスト作用	19.2 (c)	1271 (e)	450 (e)	200 (e)	11,000 (e)	2080 (e)
5-HT_{1D} 受容体アンタゴニスト作用	54.2 (c)	369(c)	25	3.7 (c)	260 (c)	43 (c)
5-HT_{1B} 受容体部分的アゴニスト作用	33 (f)	120, IA=55% (g) 460, IA=22% (h)	NR	17 (i)	ND	NR
5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用	15 (c)	200, IA=96% (c)	NR	232 (i)	ND	NR
SERT 阻害作用	1.6 (j)	5.9 (c)	5.4 (c) (k)	ND	5.3 (l)	ND

EC_{50}=50%有効濃度、IA=内因性活性（完全作動薬と比較した有効性）、ND=測定なし、NR=関連性なし。
(a) Y nmol/L Lu AA21004 = 0.29845 x Y ng/mL Lu AA21004.
(b) Kb=cIC_{50}=IC_{50}/(1 + ([A]/(アゴニストの EC_{50}))。本実験のアゴニストの EC_{50}、[A] はアゴニストの濃度を示す。
(c) チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞；(d) アフリカツメガエル卵母細胞；(e) ヒト胎児由来腎臓細胞-293 変異株（HEK 293）細胞；(f) ヒト子宮頸がん細胞由来不死化細胞株（HeLa）細胞；(g) HeLa 細胞のグアノシン 5'-O-[γ-チオ]三リン酸（GTPγS）アッセイ；(h) HeLa 細胞の環状アデノシン一リン酸（cAMP）アッセイ：(i) 大脳皮質；(j) Peak Rapid 293 細胞；
(k) cIC_{50} = IC_{50}/(1+S/Km)、S は放射性基質濃度、Km はトランスポーターに対する放射性基質の Michaelis-Menten 定数
(l) シナプトソーム
原データはモジュール 2.6.3 薬理試験概要を参照。

Lu AA21004 はヒト及びラットの SERT、5-HT_{1B} 受容体に対し、同程度の阻害作用（SERT）あるいは結合親和性（5-HT_{1B}）を示したが、5-HT_3 及び 5-HT_{1D} 受容体のアンタゴニストとしてはヒトに比べてラットでより強い結合親和性及びアンタゴニスト作用（アッセイによって 4～10 倍）を示し、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト及び 5-HT_7 受容体アンタゴニストとしてはヒトに比べてラットでより弱い結合親和性（5-HT_{1A}、5-HT_7）及びアンタゴニスト作用（5-HT_7）（およそ 10 倍）を示した（表 2.4.2-1）。この結果から、ラットで測定した *in vivo* 作用はヒトに対する作用と比較して、5-HT_3 及び 5-HT_{1D} 受容体アンタゴニストとしてはやや過大評価、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト及び 5-HT_7 受容体アンタゴニストとしてはやや過小評価されている可能性がある。

Lu AA21004 は *in vitro* において hβ_1 受容体に中程度の親和性（Ki = 40～100 nmol/L）を示し、hNAT、hβ_2 受容体、hH_2 受容体、h5-HT_{1E} 受容体、h5-HT_{1F} 受容体、h5-HT_{5A} 受容体、h5-HT_6 受容体、ヒトデルタ-オピオイド（hδ）受容体、ヒトミュー-オピオイド（hμ）受容体及びラットのナトリウムイオン（rNa^+）チャネル（site2）に対しては低い親和性（100～1000 nmol/L）を示し、その他約 60 の標的に対する基質結合阻害は 1 μmol/L において 55%未満であった。

こうした親和性の低さから、これらの標的はいずれも本薬の薬理作用の対象として含まれないものと予想される（2.6.2.2.1, 2.6.2.3.1）。

Lu AA21004 の臨床第 1 相試験で見られた代謝物（Lu AA34443、Lu AA25790、Lu AA39835）の *in vitro* 及び *in vivo* プロファイルから、いずれの代謝物も親化合物の薬理作用に寄与する可能性は低いと考えられた（2.6.2.2.1.10）。

以上、組換え細胞系を用いた *in vitro* 試験の結果、Lu AA21004 は 5-HT_3、5-HT_7 及び 5-HT_{1D} 受容体アンタゴニスト、5-HT_{1B} 受容体部分的アゴニスト、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト、SERT 阻害薬として作用することが確認された。

2.4.2.2.2 *in vivo* 試験

2.4.2.2.2.1 標的占有率

急性投与の作用機序試験及び行動試験における Lu AA21004 の薬理学的作用量はおよそ 2.5～20 mg/kg であった。これらの用量範囲は図 2.4.2-1 で示されたとおり、50%を超える SERT 占有率に相当する。この用量範囲の最低用量では、r5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用及び rSERT 阻害が薬理作用に寄与する可能性が高い。用量範囲の最大用量においては、r5-HT_{1B} 受容体部分的アゴニスト作用、r5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用、及び r5-HT_{1D} 受容体、5-HT_7 受容体アンタゴニスト作用が *in vivo* での薬理作用に寄与する可能性が高い。Lu AA21004 の *in vivo* 標的プロファイルは、セロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用であると考えられる。

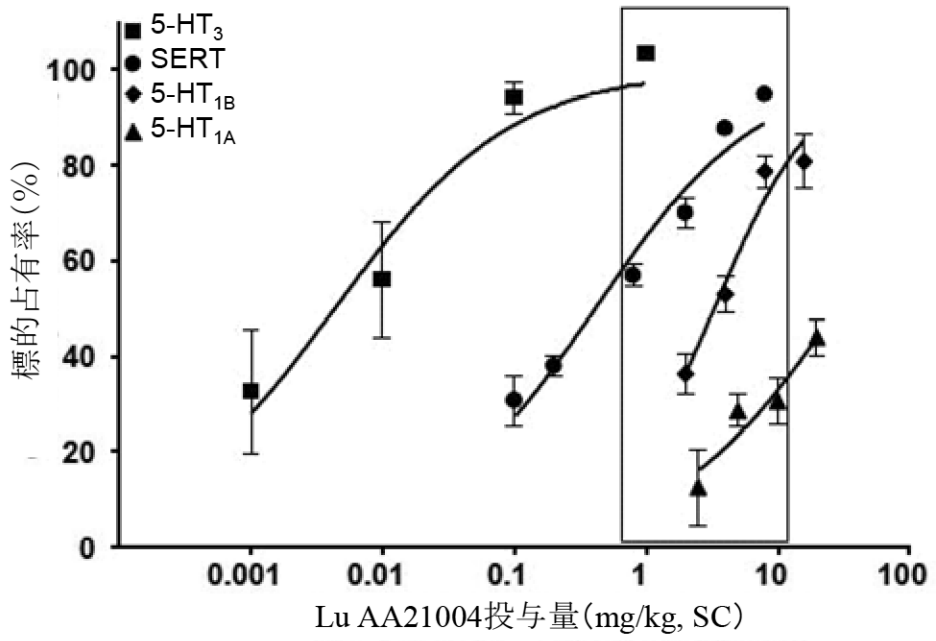


図 2.4.2-1　Lu AA21004 のラットに対する各投与量の脳内標的占有率

ラットへの Lu AA21004 投与による SERT、5-HT_3、5HT_{1B} 及び 5HT_{1A} 受容体における *in vivo* の脳内占有率を図にまとめた（モジュール 2.6.2, 図 2.6.2.6-1）。枠内は臨床用量に相当する用量範囲を示す（50～90% SERT 占有率）。

2.4.2.2.2.2 神経伝達物質の遊離に対する作用

5-HT 受容体の調節と SERT 阻害の複合作用により、負のフィードバック機構の抑制を介して、SSRI の作用を上回る細胞外 5-HT 濃度の上昇を示すことが複数の文献で報告されている。さらに、非セロトニン作動性ニューロン上のヘテロ受容体としての 5-HT 受容体への作用を介して、その他の神経伝達物質（NE、DA、ACh 及び HA）の濃度も上昇する可能性がある[6][7][8][9]。

マイクロダイアリシス試験の結果、高い SERT 占有率（80%～90%）に相当する用量で Lu AA21004 を急性投与することにより、細胞外 5-HT 濃度が SSRI の作用を超える上昇を示したことに加えて、細胞外神経伝達物質濃度（NE、DA、ACh 及び HA）にも有意な上昇が認められた。Lu AA21004 投与による変化の作用機序に関する詳細は不明だが、以下に要約するとおり、複数の受容体機構が寄与している可能性が複数の文献で報告されている。

5-HT_3 受容体アンタゴニストは、GABA 作動性ニューロン及びグルタミン酸作動性ニューロンへの作用を介した DRN－前頭前皮質ループの脱抑制により、大脳皮質の 5-HT 神経伝達を上昇させる。これらは GABA 作動性ニューロンを介したコリン作動性ニューロンの抑制を解除することによって、大脳皮質の ACh 濃度を上昇させる。5-HT は神経終末領域での NE 放出を阻害し、5-HT_3 アンタゴニストは神経終末領域において、上記の作用を阻害することが示されている[10]。同様に、5-HT_3 アンタゴニストは青斑核（LC）における 5-HT による NE ニューロンの発火抑制を阻害し[11]、SSRI 投与による細胞外 5-HT の増加を促進する[6]。5-HT_{1B} 受容体アンタゴニストは、海馬及び皮質-辺縁系領域において、コリン作動性及びグルタミン酸作動性ニューロンの脱抑制を引き起こし、これが ACh 濃度の上昇につながる[7][6]。さらに、5-HT_{1B} 及び 5-HT_{1D} 受容体アンタゴニストもまた、細胞外 5-HT に対する SSRI の作用を増強する[8][9]。5-HT_{1A} 受容体アゴニストの急性投与により、5-HT ニューロンの発火は抑制され、これによって神経終末領域における 5-HT 放出は低下するが、5-HT_{1A} 受容体アゴニストの反復投与により、細胞体樹状突起 5-HT_{1A} 自己受容体の脱感作の速度が速まり、SSRI の 5-HT 増加作用が増強される可能性がある[12]。さらに、5-HT_{1A} 受容体アゴニストは海馬における細胞外 NE 濃度も引き上げる[13]。また、5-HT_7 受容体アンタゴニストは大脳皮質の細胞外 5-HT、NE 及び DA 濃度を引き上げ、SSRI の 5-HT 増加作用を増強する[14][15]。

細胞外 HA 濃度の上昇に関与する Lu AA21004 の受容体機構については、いまだ十分に解明されていない。しかし、過去に実施されたマイクロダイアリシス試験の結果から、5-HT 濃度の上昇が脳内における HA 放出を促進することが示唆されている[16]。

上記のとおり、Lu AA21004 のラット 5-HT_{1A} 受容体及び 5-HT_7 受容体に対する親和性はヒトのこれらの受容体に対する親和性よりも低いため、ラットの脳内神経伝達物質濃度に対する Lu AA21004 の作用における 5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用及び 5-HT_7 受容体アンタゴニスト作用の寄与は、ヒトにおける寄与と比べて小さい可能性がある。

Lu AA21004 を皮下に埋め込んだ浸透圧ミニポンプで 3 日間連続投与した結果、溶媒を投与した対照群と比較して、細胞外 5-HT［内側前頭前皮質（mPFC）及び腹側海馬（VHip）の SERT 占有率はそれぞれ 57%～98%、89%～98%］、NE（mPFC 及び VHip の SERT 占有率 98%）並びに DA（mPFC の SERT 占有率 98%）の濃度に持続的かつ統計的に有意な上昇が認められた（2.6.2.2.2.2 (3)）。特に、SERT 占有率 41%に相当する低用量の Lu AA21004 投与により、細胞外 5-HT 濃度は VHip において対照群の 200%と統計的に有意な上昇を示した（2.6.2.2.2.2

(3)）。同様の試験条件で SSRI を使用した場合、5-HT 濃度の有意な上昇を惹起するには、通常、約 80%の SERT 占有率とおよそ 14 日間の投与期間が必要となる[17]。

2.4.2.2.2.3 DRN の 5-HT ニューロンの発火に対する作用

5-HT 神経伝達を増強させる化合物の作用から想定されるとおり[17]、Lu AA21004 の急性投与により、DRN の 5-HT ニューロンの発火活動は抑制された。この作用は、5-HT_{1A} 受容体アンタゴニストである WAY-100635 によって拮抗されたことから、5-HT_{1A} 受容体に依存した機構を介した作用であることが示唆される。興味深いことに、Lu AA21004 は約 50%の SERT 占有率でニューロン発火率を 50%低下させたが、フルオキセチンではニューロン発火率を 50%低下させるのに 80%以上の SERT 占有率を必要とした（2.6.2.2.2.2 (4)）。以上の結果から、Lu AA21004 は SSRI フルオキセチンとは異なる薬理学的機構を介して、5-HT ニューロン発火率を調節していることが示唆される。また、5-HT_3 受容体アゴニスト SR57227 が Lu AA21004 による DRN の発火抑制を弱めたとの所見から、本試験では、Lu AA21004 の実際の効果に 5-HT_3 受容体阻害作用が寄与していることが示唆される。SERT 占有率 40～50%に相当する Lu AA21004 の投与により（5 mg/kg/日の用量で浸透圧ミニポンプを介して皮下投与）、ミニポンプ埋め込みから 5～10 時間後に DRN のニューロンの発火頻度に有意な低下が認められた。また、ミニポンプ埋め込みから 24 時間後には発火頻度が対照群と同程度にまで回復し、投与後 3、7、14 日目にもこの状態を維持していたことからも示されるとおり、ニューロン活動抑制の急速な回復が認められた。発火頻度が対照群と同程度に回復するまで 7～14 日間を要した SSRI フルオキセチンに比べ、Lu AA21004 投与後の回復は急速であったと考えられる。5-HT_3 受容体アゴニスト SR57227 は、Lu AA21004 の DRN ニューロン発火に対する抑制作用を阻害し、DRN のニューロン発火の回復を遅らせたことから、Lu AA21004 の 5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用がニューロン発火の急速な回復に関与していると思われる（2.6.2.2.2.2 (5)）。

2.4.2.2.2.4 抗うつ作用

Lu AA21004 は、マウスの尾懸垂試験や強制水泳試験等の標準的な行動試験において、抗うつ様プロファイルを示した（2.6.2.2.2.3）。Lu AA21004 の有効用量は用いた用量範囲内における最大用量であり、5-HT_3 受容体や SERT に加え、さらに多くの標的がその薬理作用に関与していることが予想される（図 2.4.2-1）。Lu AA21004 はマウスの新規性誘発摂食抑制試験でも持続的な抗不安／抗うつ様作用を示し、その作用は海馬神経細胞の増殖や成熟といった海馬可塑性の活性化を示唆する知見とよく一致した。

以上、効力を裏付ける試験の結果を要約すると、Lu AA21004 は、その *in vivo* 薬理プロファイルから、SSRI、SNRI、及び NaSSA とは異なる本薬固有のセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用という新規の作用機序を介した抗うつ作用を有する可能性が考えられる。

2.4.2.3 副次的薬理試験

Lu AA21004 は、ラットの恐怖条件付け発声試験、社会性相互作用試験等の標準的な行動試験において、抗不安様プロファイルを示した（2.6.2.3.2.1）。ラットの社会性相互作用試験を除き、Lu AA21004 の有効用量は用いた用量範囲内における最大用量であり、5-HT_3 受容体や SERT に加え、さらに多くの標的がその薬理作用に関与していることが予想される（図 2.4.2-1）。Lu AA21004 はラット社会性相互作用試験で有効性を示したが、この用量において SERT 占有率は 20%を下回っていたため SERT 阻害作用はほとんど寄与しないと考えられ、5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用を介した効果である可能性が高い。この見解は、本試験系において選択的 5-HT_3 受容体アンタゴニストが強力な抗不安様作用を示したとする文献報告と一致している[18]。興味深いことに、SSRI や SNRI とは異なり、Lu AA21004 は急性投与により、社会性相互作用試験や恐怖条件付け試験において抗不安様作用を示した。

ラットの文脈的恐怖条件付け試験や NOR において、SERT 占有率約 90%に相当する用量での Lu AA21004 の投与により、記憶力の改善作用が確認された（2.6.2.3.2.2）。正常ラットを用いたこれらの試験では、SSRI のエスシタロプラムでも SERT 占有率 90%以上に相当する用量での投与により作用が認められた[19][20]。しかし、エスシタロプラムやデュロキセチンとは異なり、Lu AA21004 の投与は 0.1 mg/kg（SERT 占有率 20%未満に相当）という低用量でもラットでの 5-HT 欠乏による認知機能障害の改善を示した。さらに、5-HT_3 受容体アンタゴニストや 5-HT_{1A} アゴニストを用いた検討から、Lu AA21004 の本試験における認知機能改善作用は、これら受容体に対する作用が寄与している可能性が考えられた。これらの所見から、Lu AA21004 が SSRI や SNRI とは異なる作用機序（5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用や 5-HT_{1A} アゴニスト作用）を介した認知機能の改善効果を有することが示唆される。

Lu AA21004 は、中枢性感作が関与する疼痛モデル（マウスのホルマリンモデル）及び神経障害性疼痛モデル（慢性圧迫性神経損傷モデルラット）に対して鎮痛作用を示したが、カラゲニン誘発足浮腫モデルを用いて評価したところ、炎症性疼痛に対しては鎮痛作用を示さなかった。この結果から、Lu AA21004 は神経因性疼痛の治療に有効である可能性が示された（2.6.2.3.2.3）。

SSRI 及び SNRI の多くは治療起因の性機能障害を誘発することが多いため、雄性ラットを用いて Lu AA21004 に関して性行動試験を実施した（2.6.2.3.2.4）。この結果、Lu AA21004 及び比較対照薬として使用した SSRI（フルオキセチン）の最終投与後 8～9 時間の SERT 占有率はともに高レベルを示したが（フルオキセチンの 98%に対して Lu AA21004 では 70%）、Lu AA21004 投与は、SSRI 投与と異なり、雄性ラットの性行動に影響しなかった。これらの所見から、SSRI 又は SNRI などの抗うつ剤に比べて、Lu AA21004 投与による性機能に対する有害事象発現のリスクは低いと考えられる。

2.4.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理コアバッテリー試験を実施し、Lu AA21004 の中枢神経系、心血管系、呼吸系に対する作用を検討した。さらに、本薬の腎・泌尿器系及び胃腸管系に対する作用も検討した。

イヌにおいて行動観察を実施した結果、中枢神経系の主な症状は鎮静であった。この徴候は毒性試験で観察されたものと一致していた。

心血管系の試験においては、Lu AA21004 の高曝露量で hERG チャネル、クローン化心臓 SCN5A ナトリウムイオンチャネル、刺激伝導系、心拍数（HR）及び血圧にわずかな影響がみられたが、臨床曝露量に相当する低曝露量では影響はみられなかった。イヌを用いた急性静脈内投与の心血管系試験では、PR 間隔のわずかな延長が認められた。また、イヌを用いた 4 週間経口投与毒性試験では PR 延長が観察された［無作用量（NOEL）の血漿曝露量＝雄／雌で 101／84 ng/mL］。一方、イヌを用いた 13 週間及び 52 週間経口投与毒性試験では、PR 間隔を含む心電図パラメータはすべて正常範囲内であり、不整脈は観察されなかった。結論として、臨床最大用量である 20 mg/日投与時の血漿中 Lu AA21004 曝露量（AUC=646 ng·hr/mL, 2.7.2, 表 2.7.2.3-2）の約 5 倍となる曝露量［イヌ 52 週間毒性試験の無毒性量（NOAEL）7.5 mg/kg/日投与時］においても、心血管系に作用はみられなかった。

ラット、イヌ、モルモットを用いた呼吸系試験では、臨床的に意味のある Lu AA21004 曝露量において、呼吸機能への影響は認められなかった。

ラットの反復投与毒性試験で腎臓毒性がみられたため、ラットを用いた腎機能試験を実施した。Lu AA21004 を 5 日間、1 日 2 回（BID）の用量で経口投与した結果、20 mg/kg BID の用量では腎臓への薬力学的作用は認められなかった。40 mg/kgBID の用量では、ナトリウム及びクロライドの排泄量、尿浸透圧、並びに尿中アルブミン値に変化がみられた。クレアチニンクリアランスに変化はなかった。結論として、臨床最大用量である 20 mg/日の 6 倍に相当する Lu AA21004 曝露量において、ラットの腎機能に影響はみられなかった。

イヌを用いた予備的な毒性試験及び心血管試験において、1.5 mg/kg 以上の投与後、腹痛様の症状が認められたため、ラットを用いた胃腸管系試験で、Lu AA21004（最大用量 100 mg/kg）を単回経口投与した。Lu AA21004 投与後、胃の内容物が用量依存的に増加したが、小腸での移動時間はわずかな低下を示しただけであった。

以上、Lu AA21004 は安全性薬理試験において、臨床的に意味のある Lu AA21004 曝露量で高い忍容性を示した。中枢神経、心血管、呼吸、腎・泌尿器及び胃腸管系に安全性上問題となるような有害作用は認められなかった。

2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用

該当なし

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 緒言

Lu AA21004 及び[^{14}C]Lu AA21004 をマウス、ラット、イヌに投与し、その吸収、分布、代謝、排泄及び血中動態を評価した。また、これら動物種由来の試料を用いた *in vitro* 試験において本薬の分布、代謝に関する検討を実施した。

さらに、ヒト由来の代謝酵素を用いて本薬及びその代謝物のヒトにおける代謝について検討するとともに、P-糖たん白質（P-gp）活性に対する基質性及び各種トランスポーター活性に対する阻害作用についても検討した。経口投与及び静脈内投与試験においてはヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HP-β-CD）水溶液又はグルコースで等張化した HP-β-CD 水溶液として動物に投与した。

2.4.3.2 分析法

Lu AA21004 の薬物動態試験では、バリデートされた生体試料分析方法を使用した。非標識体を用いた試験では、液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法を用いて各動物種の生体試料中での定量的分析方法を開発し、バリデートした。また、これらの生体試料中での安定性についても確認した。

2.4.3.3 吸収

経口吸収に関する試験では、Lu AA21004 若しくは[^{14}C]Lu AA21004 をラット、イヌに単回経口又は静脈内投与した際の Lu AA21004 及びその由来成分の全身循環への移行性並びに血中濃度推移に関する検討を実施した。また、*in vitro* での Caco-2 及び Madin-Darby Canine Kidney（MDCK）細胞を用いた Lu AA21004 の透過性についての検討も実施した。

[^{14}C]Lu AA21004 を経口投与した際のラットの尿中及び胆汁中への放射能排泄率から、Lu AA21004 の消化管からの良好な吸収が示唆された。しかしながら、ラット及びイヌにおける高いクリアランスを反映し、経口投与時のバイオアベイラビリティー（BA）はラットでは 11.2%、イヌでは 36.1%であった。なお、消失半減期（$t_{1/2}$）はラット及びイヌでそれぞれ 4.0 及び 6.0 時間であった。Lu AA21004 はラットにおいて小腸及び大腸から門脈を介して未変化体として吸収されること、さらにはリンパ経路を介した吸収の寄与は小さいことが示唆された。

Lu AA21004 をラットに 2、6、20 mg/kg の用量で、イヌに 0.25、0.75、2.5 mg/kg の用量で単回経口投与し、Lu AA21004 の血漿中濃度推移における線形性を調べた。ラット、イヌ共に試験した投与量の範囲で概ね線形動態を示したが、ラット、イヌ共に最高用量においてやや投与量比を上回る血中動態を示した。

Lu AA21004 は MDCK 細胞を用いた *in vitro* 試験で中程度又は良好な膜透過性を示した。P-gp を発現する MDCK 細胞を使用した *in vitro* 試験において、Lu AA21004 が P-gp の良好な基質ではないと考えられた。また、P-gp の輸送活性に対する Lu AA21004 の IC_{50} 値は 4.14 μmol/L であり、Lu AA34443 は阻害作用を示さなかった。

2.4.3.4 分布

白色ラットを用いた[^{14}C]Lu AA21004 の組織分布試験において、放射能は経口投与後速やかに広く組織に分布し、顕著な残留性を示すことなく組織から消失した。同様の結果がラットを用いた全身オートラジオグラムによる組織分布試験から得られた。また、有色ラットを用いた検討において放射能が眼球血管膜に認められたことから、Lu AA21004 及びその由来成分はメラニン親和性を有することが示された。

Lu AA21004 の *in vitro* 血漿たん白結合率はマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトで高値を示し（98.2%～99.9%）、検討した濃度範囲において結合率に濃度依存性は認められなかった。さらに、Lu AA34443 の *in vitro* たん白結合率は、これらヒトを含めた動物種で未変化体よりも低く（60.7%～76.6%）、それら結合率は添加濃度に依存しなかった。また、[^{14}C]Lu AA21004 のラット、イヌ及びヒトにおける *in vitro* 血球移行率を調べた結果、いずれの種においても移行率はヘマトクリット値よりも高く、添加濃度に関わらずほぼ一定であった（65.4%～75.5%）。マウス、ラット及びイヌにおいて、[^{14}C]Lu AA21004 を経口投与した

後の血液中放射能濃度は血漿中とほぼ同等であったことから、*in vivo* においても Lu AA21004 及びその由来成分は血球に移行すると考えられた。妊娠ラットを用いた試験により、Lu AA21004 及びその由来成分は胎盤を通過して胎児に移行することが示された。

2.4.3.5 代謝

[^{14}C]Lu AA21004 を用いた検討から、血漿中の主成分はマウスでは Lu AA21004 及び Lu AA34443、ラットでは Lu AA34443、イヌでは Lu AA34443、M4(b)及び Lu AA21004 であることが明らかとなった。マウス、ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]Lu AA21004 を単回経口投与又は Lu AA21004 を反復経口投与したときの代謝物の全身曝露量を比較すると、安全性評価で用いた少なくとも 1 つの動物種における代謝物の曝露量は、臨床最大用量付近での曝露量以上又は同程度であったことが示された。また、経口投与された Lu AA21004 はマウス、ラット、イヌの体内で大部分が代謝され、主に Lu AA34443 として尿及び糞中に排泄されることが明らかとなった。

In vitro ではヒト肝 S9 画分、ヒト肝ミクロソーム及び様々な動物種（マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ミニブタ及びヒト）の肝細胞を用いて Lu AA21004 の代謝を検討した。Lu AA21004 は全ての動物種で代謝され、ヒト肝細胞では酸化代謝及びそれに続くグルクロン酸抱合によって 6 種類の代謝物が生成された。カルボン酸体 Lu AA34443 がヒトを含む全ての動物種における主代謝物であった。

In vitro 試験から、チトクローム P450（CYP）の 7 種類の分子種（CYP2D6、CYP3A4/5、CYP2A6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2C8 及び CYP2B6）が Lu AA21004 の代謝に関与していると考えられた。Lu AA21004 及び主代謝物 Lu AA34443 は CYP 分子種阻害作用を全く示さないか又はわずかに CYP 阻害作用を示したが、代謝物 Lu AA39835 は CYP2C19 活性を阻害し、Ki 値は 1 μmol/L 未満であった。Lu AA21004 及び主代謝物 Lu AA34443 の CYP 誘導作用をヒト肝細胞を用いて検討した結果、Lu AA21004 では 2.54 μmol/L まで、Lu AA34443 では 20 μmol/L までの濃度で CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 の酵素活性又は mRNA 量に対する影響はほとんど認められなかった。

Lu AA21004 の推定代謝経路を図 2.4.3-1 に示す。

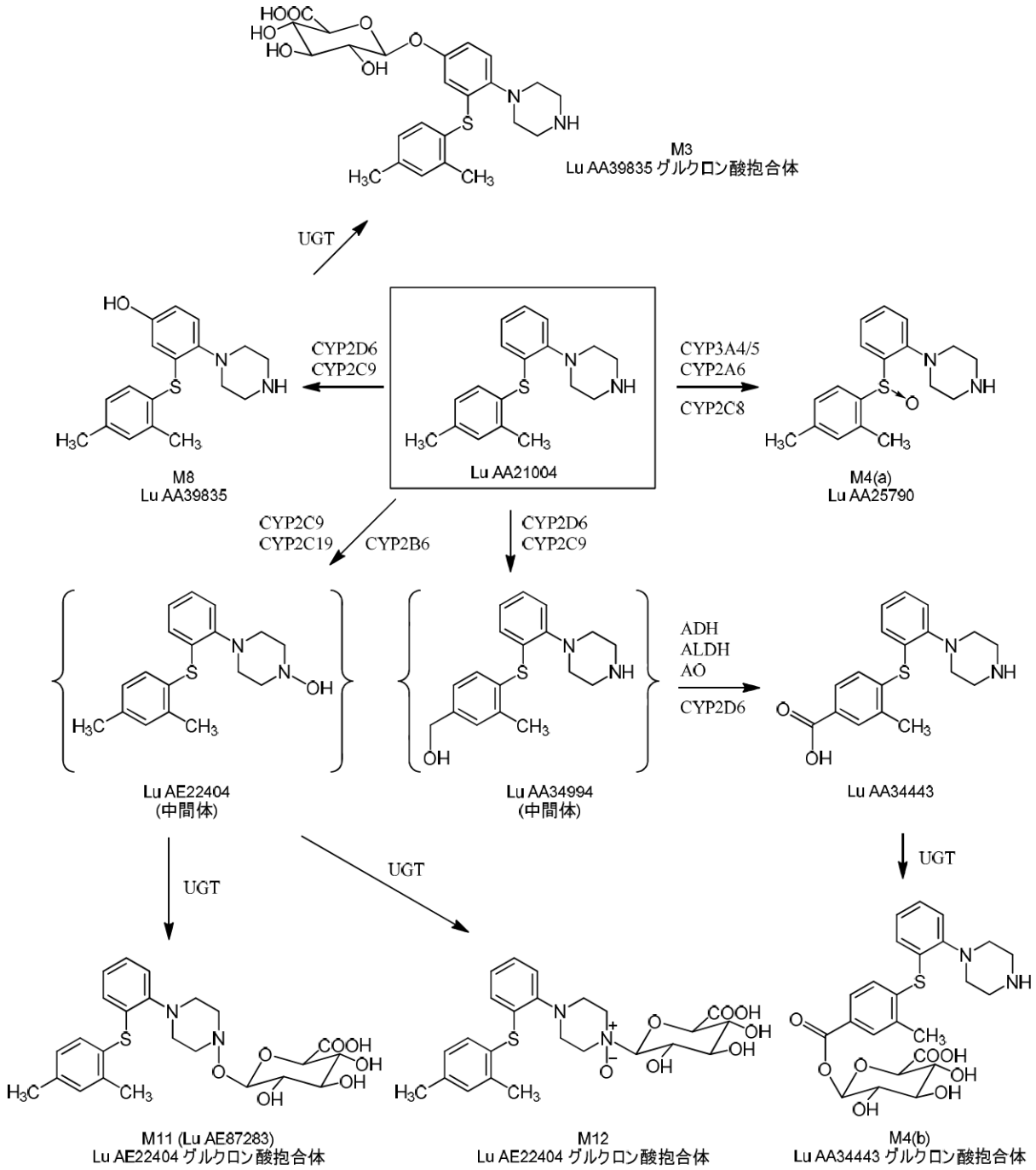


図 2.4.3-1 Lu AA21004 の推定代謝経路

括弧内に表記された中間体は *in vivo* 試験では検出されなかったが、*in vitro* 試験では認められた。

2.4.3.6 排泄

マウス、ラット及びイヌに[^{14}C]Lu AA21004 を経口投与したときの排泄経路を検討した。マウス、ラット及びイヌにおける[^{14}C]Lu AA21004 及びその由来成分の主要排泄経路は糞であり、投与量に対する糞排泄の割合はそれぞれ 85.3/83.0%（雄/雌、以下同様）、63.3/75.3%及び 65.0/52.1%であった。放射能の尿排泄はマウス、ラット及びイヌでそれぞれ投与量の 12.5/14.7%、38.2/27.8%及び 27.5/38.1%であった。また、[^{14}C]Lu AA21004 及びその由来成分の一部は授乳ラットにおいて乳汁に移行し、乳汁を介して排泄されることが確認された。

2.4.3.7 薬物動態学的薬物相互作用

Breast cancer resistance protein（BCRP）、Bile salt export pump（BSEP）、Organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1、OATP1B3、Organic anion transporter（OAT）1、OAT3、Organic cation transporter（OCT）1、OCT2、Multidrug and toxin extrusion（MATE）1 及び MATE2-K の発現ベシクル又は発現細胞を用いて、各トランスポーターに対する Lu AA21004 及びその代謝物 Lu AA34443 の阻害効果を検討した。その結果、Lu AA21004 は OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の輸送活性を阻害し、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する IC_{50} 値はそれぞれ 1.93、12.3、21.7 及び 43.7 µmol/L と算出された。また、Lu AA34443 は OCT1 及び MATE1 の輸送活性を阻害し、OCT1 及び MATE1 に対する IC_{50} 値はそれぞれ 9.18 及び 18.5 µmol/L と算出された。その他のトランスポーターに対して Lu AA21004 及び Lu AA3444 は阻害作用を示さなかった。

2.4.3.8 その他の薬物動態試験

反復経口投与後に齧歯類において認められた腎臓及び肝臓中の結晶成分を質量分析法で分析した結果、それらは代謝物の Lu AA34443 及び M3（Lu AA39835 のグルクロン酸抱合体）で構成されており、それら成分による結晶形成は尿量及び胆汁量における種差、並びに Lu AA34443 及び M3 の生成及びそれに続く排泄動態における種差が原因であり、齧歯類特異的な所見であると判断された。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 緒言

単回投与試験から 26 週間及び 52 週間反復投与試験に至る齧歯類及び非齧歯類を用いて毒性試験を実施した。齧歯類では主にラットを、非齧歯類では主にイヌを選択した。マウス、ラット、ウサギといった動物種では血漿中消失半減期が比較的短いことから、Lu AA21004 を 1 日 2 回投与した。しかし、重篤な毒性がみられたため、マウスでは 4 週間毒性試験から投与を 1 日 1 回に変更した。イヌを用いた試験では Lu AA21004 を 1 日 1 回投与した。

Lu AA21004 の投与液を調製する際、溶解度と経口生物学的利用率を向上させるため、溶媒として HP-β-CD を使用した。

文献報告によると、動物に対する HP-β-CD の毒性は広く研究されており、H P-β-CD の濃度が 10%を下回る投与液を経口投与した場合、多くの動物種で良好な忍容性が示されている[21][22]。しかし、ウサギを使用した実験では、体重、摂餌、糞便に溶媒を介した影響が認められており（2.6.6.6.2）、がん原性試験では、大腸で溶媒を介した影響が確認された（2.6.6.5.4）。

独立した免疫毒性試験は実施しなかったが、ラットを用いた 13 週間毒性試験の一環として、免疫毒性試験を実施した（2.6.6.3.4.2 及び 2.6.6.8.1）。また、薬物乱用性／依存性試験については、2.6.6.8.3 に記載しているように、独立した *in vivo* 薬物乱用／薬物依存性試験の実施の必要はないと判断した。

ヒト代謝物に関してはその安全性評価のための独立した毒性試験は実施しなかった。しかし、イヌにおける 13 週間毒性試験（2.6.6.3.6.2）において 2 例で痙攣が認められたため、代謝物 Lu AA34443 を用いた 2 つのイヌ静脈内投与機作検討試験を実施した（2.6.6.8.4）。不純物の安全性担保は、Lu AA21004 を用いた毒性試験によって可能なため、特別な不純物試験

の実施は不要と判断した。光毒性試験については、ラット及びイヌの反復毒性試験において光毒性の兆候（眼球又は皮膚変化）はみられず、また、健常人あるいは市販後データを含む患者での Lu AA21004 の使用データから光毒性の発生との関連は示唆されていないことから、Lu AA21004 は光毒性ポテンシャルを有さないと考えられ、独立した光毒性試験は不要と判断した（2.6.6.8.7）。

2.4.4.2 単回投与毒性試験

Lu AA21004 の単回経口投与によるマウス及びラットの概略の致死量はそれぞれ 500 mg/kg 及び> 500 mg/kg、MTD はそれぞれ 300 mg/kg 及び 500 mg/kg であった（2.6.6.2）。これらの用量における主な所見は、外的刺激に対する過敏性、呼吸促迫、鼻周囲汚染（褐色）であった。また、MTD を超える用量で痙攣が認められた。これらの試験においては、その他の毒性標的器官を示唆する症状はみられていない。

非齧歯類を用いた急性毒性試験は実施しなかったが、反復投与毒性試験の用量設定のための MTD 試験の結果、イヌの概略の致死量は> 25 mg/kg、MTD は 25 mg/kg/日であった。本用量での主な毒性所見として、嘔吐や腹筋収縮がみられた。

2.4.4.3 反復投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いてそれぞれ最長 13、26 及び 52 週間の反復投与毒性試験を実施した（2.6.6.3）。

用量設定試験を含む反復投与毒性試験では、マウス、ラット及びイヌにそれぞれ最大 300 mg/kg BID、150 mg/kg BID 及び 25 mg/kg/日の用量で経口投与した。反復投与毒性試験で認められた主な所見として、Lu AA21004 の中枢神経系（CNS）への作用に関連した症状、齧歯類の代謝や排泄に関連した肝臓及び腎臓における変化がみられた。各動物における最長の反復投与毒性試験であるマウス 13 週、ラット 26 週及びイヌ 52 週間毒性試験における無毒性量（NOAEL）は、それぞれ 50 mg/kg/日, 10 mg/kg BID 及び 7.5 mg/kg/日であった。臨床との関連性が疑われるすべての重要な所見について、以下のセクションで考察する。

2.4.4.3.1 死亡率、体重及び臨床的所見

死亡率

Lu AA21004 の主要な反復投与毒性試験における途中死亡発生率は低かった（2.6.6.3.2, 2.6.6.3.4 及び 2.6.6.3.6）。

マウスを使用した初回の 4 週間経口投与毒性試験において、重篤な毒性及び死亡率を考慮し、雌マウスに対する投与量を当初の最大 250 mg/kg BID から最大 200 mg/kg/日に変更したが、途中剖検例が 27 例発生し、このうち 13 例で投薬との関連性が疑われた。マウスを用いて 200 mg/kg/日を高用量に設定して実施した 4 週間及び 13 週間経口投与毒性試験では、投薬に起因した死亡例はみられなかった。

ラットを用いた 26 週間経口投与毒性試験では、人道的理由により、15 週目に高用量群（40 mg/kg BID）の雄ラット 1 例を安楽死処分した。剖検では尿管病変が認められ、この病変が状態悪化の要因であると考えられた。このラットにみられた腎臓所見は、試験期間終了

時に雄ラットでみられた変化と比較して、その重篤度は軽度ではあったものの類似の変化であったことから、投薬との関連性は否定できなかった。

イヌを用いた 13 週間経口投与毒性試験では、10 mg/kg/日及び 15 mg/kg/日の用量で、痙攣を含む重篤な急性症状が発生したため、投与開始から 2 日以内に雌 2 例を安楽死処分した。

体重

Lu AA21004 の初回投与後 1 週間以内に、マウス及びラットの体重に一時的にわずかな減少が認められたが、イヌでは体重の変化は認められなかった。

一般状態所見

Lu AA21004 の反復経口投与毒性試験では、主に CNS に関連した症状が認められた。最も頻繁にみられた症状は、ラット及びイヌの流涎及びイヌの散瞳であった。

主な症状、その発現用量及び血漿曝露レベルの概要を表 2.4.4-1 に示す。

表 2.4.4-1 主要な反復経口投与毒性試験で観察された主な一般状態所見

動物種	一般状態所見 [添付資料番号]	性別	発現用量 (mg/kg/日)	AUC(0-24) (ng·hr/mL)	Cmax (ng/mL)
マウス	被毛の汚れ [4.2.3.2-3]	F	200	22,925	2310
	啼鳴 [4.2.3.2-3]	F	200	22,925	2310
	呼吸音異常 [4.2.3.2-3]	F	≥50	≥9361	≥1485
	振戦 [4.2.3.2-3]	M+F	≥50	≥9361	≥1485
	立毛 [4.2.3.2-3]	M+F	≥50	≥9361	≥1485
	腹部膨満 [4.2.3.2-3]	M+F	≥50	≥9361	≥1485
	自発運動の抑制 [4.2.3.2-3]	M	≥100	≥21,950	≥2851
	運動失調 [4.2.3.2-3]	F	200	22,925	2310
	過活動 [4.2.3.2-5]	F	≥150	≥10,771	≥1071
ラット	流涎 [4.2.3.2-7, 4.2.3.2-8, 4.2.3.2-9]	M+F	≥10 BID	≥677	≥89.5
イヌ	瞳孔散大 [4.2.3.2-11,4.2.3.2-12, 4.2.3.2-15]	M+F	≥3.75	≥667	≥83.9
	流涎 [4.2.3.2-11, 4.2.3.2-12]	M+F	≥7.5	≥2960	≥304
	多尿 [4.2.3.2-12]	M	≥5	2027	255
	異常／不安定歩行 [4.2.3.2-12]	M+F	≥5	≥2027	≥255
	痙攣 [4.2.3.2-12]	F	≥10	≥2349 (a)	≥354 (a)
	攻撃行動 [4.2.3.2-12]	M	7.5	2960	304
	衰弱 [4.2.3.2-12]	M+F	15	3674	364
	筋肉の痙攣 [4.2.3.2-12]	M	7.5	2960	304
	異常発声 [4.2.3.2-12]	M+F	≥5	≥1514	≥192

AUC(0-24)=時間 0 から 24 時間後までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積、Cmax=最高血漿中薬物濃度
(a) 痙攣がみられた 13 週間毒性試験での 10 mg/kg/日投与 1 日目のイヌ（雌イヌ No. 148）における Lu AA21004 の AUC(0-24)及び Cmax[4.2.3.2-12]。
比較として、ヒトに最大推奨用量である 20 mg/日投与した後の曝露量は、646 ng.hr/mL（AUC(0-24)）及び 33 ng/mL（Cmax）であった（2.7.2、表 2.7.2.3-2）。

痙攣

Lu AA21004 の毒性試験で使用したイヌ 100 例中、イヌを用いた 13 週間毒性試験の初回投与時の 2 例（それぞれ 10 mg/kg/日及び 15 mg/kg/日）で痙攣が認められた。イヌを用いた MTD 試験では、25 mg/kg/日の用量で最大 7 日間投与（Lu AA21004 の平均曝露値：Cmax 1045 ng/mL、

AUC(0-24) 27,492 ng·hr/mL）しても痙攣はみられなかった（2.6.6.3.5.1）。また、最大 15 mg/kg/日を投与したイヌ 4 週間毒性試験でも痙攣は認められなかった（2.6.6.3.6.1）。イヌを用いた 52 週間毒性試験における痙攣に対する無作用量は 7.5 mg/kg/日であったが、同用量の血漿曝露レベルは、臨床最大用量である 20 mg/日投与の約 5 倍に相当する（2.6.6.3.6.3）。イヌは特に薬物誘発性痙攣を起こしやすいとされているため、イヌの所見と曝露レベルの安全域から想定されるリスクよりも、実際の痙攣リスクは低いと考えられる[23]。

なお、代謝物 Lu AA34443 と痙攣との関連を調べるため、痙攣が認められた Lu AA21004 のイヌ 13 週間経口投与毒性試験の 10 mg/kg/日における血漿中 Lu AA34443 濃度の約 2 倍となるよう Lu AA34443 をビーグル犬に静脈内投与し、痙攣発現機序検討及びトキシコキネティックス試験を実施した。その結果、痙攣やその他の CNS に関連する症状は認められなかった（2.6.6.8.4）。

マウスとラットでは、Lu AA21004 の MTD 又はそれを上回る用量で経口又は静脈内投与すると痙攣が認められた。

2.4.4.3.2 腎臓及び肝臓に対する作用

反復投与毒性試験で認められた標的臓器は腎臓（ラット）及び肝臓（マウス及びラット）であった。これらの臓器における毒性は、それぞれ腎尿細管及び胆管を閉塞する結晶性物質によって生じたものであった。また、イヌの肝臓及び腎臓では、結晶性物質は認められなかった。

腎臓

ラットを用いた MTD、13 週間及び 26 週間経口投与毒性試験において、40 mg/kg BID 以上の用量で雄ラットに腎毒性が認められた。13 週間毒性試験では糸球体腎炎として認められ、26 週間毒性試験においては結晶性物質による腎尿細管の閉塞を示す所見として認められた。病理組織学的検査では、腎尿細管の全体に結晶性物質が認められ、腎尿細管の閉塞を反映した変化が確認されたが、尿素窒素及びクレアチニンの血漿中濃度との関連はみられなかった。尿組成の変化（希釈尿量の増加、尿潜血及び尿電解質の変化）ならびに血漿中電解質の変化がみられ、本薬の腎機能への作用を示唆する変化と考えられた。40 mg/kg BID の用量で投与した雄ラット 6 例中 1 例のみに、12 週間の休薬回復期後にも 26 週間投与期間終了時と同様の腎臓所見が認められた（2.6.6.3.4.3）。

肝臓

ラットでは、20 mg/kg BID 以上の用量で肝臓重量高値と小葉中心性肝細胞肥大が認められ、これは肝酵素誘導を示唆していると考えられた。しかし、40 mg/kg BID の用量で複数の動物に認められた肝細胞壊死は、本薬投与に起因する毒性を示唆しており、胆管過形成の発現頻度の増加及び胆管における結晶性物質は、本薬関連物質の析出と関連するものであった。血漿 ALP 活性の高値は、この胆管の変化により生じた可能性が高いと考えられるが、肝臓の組織変化と血漿中のトランスアミナーゼ活性や総ビリルビン濃度との関連はみられなかった。これら肝細胞の変化により血漿中の尿素及び蛋白濃度が変化した可能性がある。26 週間毒性

試験の 40 mg/kg BID の用量では、12 週間の休薬回復期後においても雄ラットで胆管過形成が認められたが、その他の肝臓及び胆管所見は回復した（2.6.6.3.4.3）。

マウスでは、100 mg/kg/日以上の用量で肝細胞壊死、胆管過形成、胆管の結晶性物質の析出及び肝細胞の有糸分裂の増加を特徴とする肝毒性が認められた(2.6.6.3.2.2 及び 2.6.6.3.2.3)。

イヌを用いた 4 週間毒性試験では、15 mg/kg/日の用量で軽度の肝細胞の空胞化が認められたが、この変化の原因は特定できなかった。イヌを用いたより長期の毒性試験では、肝臓の変化は認められなかった（2.6.6.3.6）。

腎臓及び肝臓内の結晶性物質

齧歯類における結晶性物質析出についてさらに検討するため、ラットの腎及び肝組織断面の飛行時間二次イオン質量分析（TOF-SIMS）を行った。その結果、この結晶性物質はカルボン酸代謝物 Lu AA34443 と M3（AA39835 のグルクロン酸抱合体）から構成されていることが明らかとなった。従って、この結晶性物質はこれら代謝物が析出したものと判断した（2.6.4.8.1）。

齧歯類では高濃度の M3 が検出されたが、ヒトの便、尿からは微量検出されたのみであった。一方、この結晶性物質を構成しているもう一つの代謝物 Lu AA34443 は、マウス、ラット、イヌ及びヒトの糞便中、尿中に排泄される主要代謝物の一つであった。

析出に関しての種差を検討するため、ラット、イヌ及びヒトの尿中の Lu AA34443 の溶解度を測定した。Lu AA34443 の尿中濃度は、[^{14}C]Lu AA21004 ADME 試験の結果並びにヒト及びその他動物の尿量に関する文献報告値に基づいて推定した（表 2.6.4.8.1-1）。

ラットを用いた試験では、Lu AA34443 の推定尿中濃度が溶解限度を上回っていたが、一方、イヌを用いた試験では、Lu AA34443 の推定尿中濃度が溶解限度を下回っており、そのためイヌの腎臓では結晶が検出されなかったと考えられた。ヒトに 20 mg/日の用量で Lu AA21004 を投与した後の推定尿中 Lu AA34443 濃度は、溶解限度の 1/10～1/33 と考えられる（表 2.6.4.8.1-1）。

胆汁中の Lu AA34443 の溶解限度は測定しなかったが、文献[24][25][26][27]によれば、胆汁は尿に比べて Lu AA34443 の溶解度が高いものと予想される。Lu AA34443 の推定胆汁中濃度は、[^{14}C]Lu AA21004 ADME 試験及びヒト及びその他動物の胆汁量に関する文献報告値に基づいて算出した（表 2.6.4.8.1-1）。Lu AA34443 のヒト胆汁中濃度はマウス及びラットの濃度のそれぞれ 1/23 及び 1/5 と推定された（表 2.6.4.8.1-1）。

要約すると、Lu AA34443 及び M3 の生成とそれに続く排泄における動物種間の差、並びに胆汁量及び尿量の違いから、結晶析出は齧歯類に特異的な所見と考えられる。

結論として、標的臓器毒性は腎臓（ラット）及び肝臓（マウス及びラット）のみに見られ、これらはそれぞれ尿細管及び胆管を閉塞する結晶性物質によるものであることが明らかとなった。ヒトに対する臨床用量レベルで結晶性物質が析出する可能性は低いと考えられるため、マウス及びラットの所見から想定される臨床におけるリスクは低いと考えられる。

腎臓及び肝臓障害を有する被験者を対象とした 2 つの臨床試験を実施し、Lu AA21004 の薬物動態について検討した結果、用量調節を必要とするような薬物動態に及ぼす影響は認められなかった（2.7.2）。また、その他の臨床試験においても、本薬の腎臓及び肝臓の毒性を示唆する変化は認められなかった（2.7.4）。

2.4.4.4 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰変異原性試験、ヒト末梢血リンパ球を用いる *in vitro* 染色体異常試験及びラットを用いる *in vivo* 小核試験において、Lu AA21004 は遺伝毒性を示さなかった。ラット小核試験では、ヒトへの臨床最大用量 20 mg/日に比較して 44 倍の曝露量に相当する血漿中濃度（Cmax）で、ラット骨髄における小核誘発性を調べたが、結果は陰性であった（2.6.6.4）。

2.4.4.5 がん原性試験

マウス及びラットを用いた 2 年間のがん原性試験で Lu AA21004 の発がん性を評価した。試験デザイン及び投与量は、米国食品医薬品局がん原性試験評価委員会（FDA ECAC）にプロトコル案を提出し、そのレビュー結果をもとに設定した。

これらのがん原性試験の結果、高用量群（雄ラット. 20 mg/kg BID; 雌ラット, 40 mg/kg BID; 雄マウス, 50 mg/kg/日）の雌雄ラットと雄のマウスで肝細胞腺腫の発生率上昇が認められた（2.6.6.5）。これらの用量は MTD または MTD を上回る用量と考えられ、持続的な肝毒性を示唆する変化が認められた。いずれの動物種においても、肝胆道系における結晶析出及びこの結晶性物質の刺激に対する反応とみられる二次的な炎症性変化が見られた。しかし上述したように臨床用量でヒトの肝胆道系に結晶析出とその二次的な変化が起こる可能性は低いと考えられる。雄ラットでは、腸間膜リンパ節における良性血管腫の発現頻度の上昇が認められ、これは血管腫様過形成の発現頻度上昇を伴っていた。ラットは血管増殖性の刺激に対する感受性が高いため、この良性の腫瘍性変化はラットに特異的なものと考えられる[28][29]。

主に高用量群の雌ラットで、数例の直腸ポリープ状腺腫が認められた。HP-β-CD はラットの大腸粘膜に対して成長促進作用があり、大腸上皮の過形成及び炎症並びにラット特異的な大腸ポリープ状腫瘍を発生させることが知られている[21][30]。今回の試験でも溶媒対照薬を含むすべての投与群で大腸粘膜の過形成が認められたことから、上記の直腸ポリープ状腫瘍は、HP-β-CD によって誘発された粘膜の炎症や過形成に関連したものであり、Lu AA21004 投与に起因したものではないと考えられた。

以上、本薬投与に関連した腫瘍はいずれも良性腫瘍であり、また、臨床での発がん性を示唆する所見はないと判断した。

2.4.4.6 生殖発生毒性試験

ラットの受胎能及び着床までの初期胚・胎児発生に関する試験において、雌雄ラットに Lu AA21004 を毒性用量（60 mg/kg BID）まで投与した結果、受胎能、交配行動、生殖器官又は精子形態及び運動性に影響は認められなかった。さらに、マウス、ラット及びイヌの反復投与毒性試験においても、生殖器官やそれと関連した内分泌系に病理組織学的所見は認められなかった。

雌雄ラットの受胎能に関する Lu AA21004 の無毒性量（NOAEL）は 60 mg/kg BID であり、ヒト臨床最大用量 20 mg/日での曝露量のそれぞれ 24 倍（雄ラット）及び 17 倍（雌ラット）の血漿曝露量に相当する（2.6.6.6.1.2）。

胚・胎児発生試験においては、ラット（最高用量 80 mg/kg BID）及びウサギ（最高用量 15 mg/kg BID）に Lu AA21004 を投与した結果、妊娠パラメータへの影響や奇形の誘発、胎児生存率への影響はみられなかった。60 mg/kg BID 以上の用量を投与したラット及び 5 mg/kg

BID 以上の用量を投与したウサギにおいて胎児体重への影響が認められた。また、骨化遅延がラットやウサギにみられた（5～80 mg/kg BID）。骨化は出生後の成長でも継続する発生過程である。従って、本変化は一過性と考えられるが、胎児発育にわずかな遅延が生じることを示している（2.6.6.6.2）。

上記の所見から、Lu AA21004 投与により、ヒト胎児発育に遅延が生じる潜在的なリスクは排除できない。

ラットの出生前及び出生後の発育並びに母体の機能に関する試験において、最高用量 60 mg/kg BID を投与した母動物から生まれた出生児に体重減少及び体重増加量抑制がみられた。母体毒性が認められなかった用量でも出生児の発育に影響が認められた。発育への影響には、出生児の死亡率上昇、体重増加の抑制、開眼の遅延などが含まれる。これらの所見は出生児の全身状態の軽微な衰弱を反映するものであり、吸乳行動が弱いために胃内に乳がない状態を引き起こし、さらなる状態悪化を招いた可能性、あるいは、Lu AA21004 が母動物に育児放棄させるような影響を与えて新生児の成長に対して間接的に影響を与えた可能性が考えられた（2.6.6.6.3）。

上記の成績から、Lu AA21004 投与により、ヒトの出生前及び出生後の発育に影響が生じる可能性は排除できないと考えられる。

2.4.4.7 幼若動物試験

生後 21 日の幼若ラットを用いて毒性試験を実施した（2.6.6.6.4）。20 mg/kg BID 又は 40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を 10 週間投与した結果、血液学、血液生化学及び尿検査のパラメータに軽微な変化が認められた。行動評価では、本薬を投与したすべての雄ラットで活動量の上昇がみられ、さらに 40 mg/kg BID では雄ラットで聴覚刺激に対する反応性が上昇した。また、肝臓及び腎臓で小葉中心性の軽度の肝細胞肥大及び空胞化並びに腎皮髄境界部の軽度の鉱質沈着などの病理組織学的変化が認められた。いずれの所見にも部分的あるいは完全な回復性がみられた。40 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を雌幼若ラットに 10 週間投与後、交配・妊娠させ、出産させたところ、出生児の生後 1～7 日間の生存率は低レベルであった。この投与群の出生児は体重、体温が低値を示し、乳の胃内残留量がわずかであるかまったく残っていない傾向がみられた。しかし、剖検時には肉眼的異常所見は認められなかった。以上の成績から、幼若ラットを用いた試験では、成熟ラットを用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の結果と質的に異なる新規所見はなかったと結論した。無毒性量（NOAEL）は 20 mg/kg BID であった。なおラットの行動評価において観察された所見の臨床的意義については不明である。

2.4.4.8 局所刺激性試験

ラット及びイヌを用いた 14 日間静脈内投与毒性試験において、Lu AA21004 の反復静脈内投与後の局所刺激性を検討した。ラットに最大 7 mg/kg BID を、イヌに最大 1.5 mg/kg BID の用量で Lu AA21004 を反復静脈内投与した結果、良好な忍容性が確認された（2.6.6.7）。

2.4.4.9 薬物乱用性試験

EMEA[4]及び FDA[5]のガイダンス並びに「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」（平成 22 年 2 月 19 日 第 4 号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）に従い、Lu AA21004 の *in vitro* 受容体結合性及び有効性プロファイル、*in vivo* 試験における強化効果に関連するような所見、薬物動態学的特性並びに投与終了後の経過観察に基づいて、本薬の乱用性を評価した。

Lu AA21004 は 5-HT 受容体調節及び SERT 阻害を介して薬理作用を発揮し、薬物乱用性と関連していることが知られている標的、すなわち、ドパミントランスポーター、オピオイド受容体、または GABA-A 受容体（GABA-A 受容体のベンゾジアゼピン結合部位等）とは相互作用しなかった（2.6.2.2.1.1）。側座核（NAS）の細胞外 DA 濃度の急速な上昇が、多くの乱用性薬物の強化及び報酬特性をもたらしていると考えられていることから、Lu AA21004 の薬物乱用性を検討するため、無拘束下のラットを用いたマイクロダイアリシス試験で NAS における細胞外モノアミン濃度に対する作用を検討した。その結果、NAS の細胞外 DA 及び NE 濃度に上昇は認められなかったが、同じ脳内領域における細胞外 5-HT 濃度には用量依存的な上昇が認められた（2.6.2.2.2.2）。これらの成績は、Lu AA21004 に薬物乱用性がないことを示唆するものである。

ヒトにおける Lu AA21004 の吸収は比較的緩やかであり、血中半減期は約 66 時間であった（2.7.2）。この薬物動態学的特性からも突然の断薬によって退薬症状が起こる可能性は低いことが考えられる。また、薬物乱用性がないとする見解は、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において、回復試験動物の休薬後、退薬症状がみられなかったこと（2.6.6.3）及び臨床試験でも顕著な退薬症状がみられなかったこと（2.7.4）からも裏付けられている。

上記の非臨床試験の結果及び毒性並びに臨床試験における成績から、Lu AA21004 には薬物乱用性はないものと推察される。

2.4.4.10 不純物の毒性試験

原薬 Lu AA21004-HBr の開発期間において、化学形態に変化はなかった。概して、最終的な化学合成プロセスで製造された原薬と比較して、初期の非臨床及び臨床試験で使用した原薬の不純物混入レベルは高かった（2.6.7.4）。

Lu AA21004-HBr の化学合成プロセスに関連するすべての化学物質（出発物質、試薬、中間体、副生成物、又はその他存在する可能性のある不純物）について、遺伝毒性不純物が存在する可能性の有無を ICH-M7 に基づき QSAR による評価プログラム Leadscope で検討した。その結果、合成過程において 2,4-ジメチルアニリンと 2-ブロモアニリンが遺伝毒性や変異原性アラートを有する化合物として検出された。2,4-ジメチルアニリンは Class 1 の化合物であるため、Lu AA21004-HBr の投与量 20 mg/日に基づき、出発物質である 2,4-ジメチルフェノール中の含有量が 0.0075%以下で管理されている。2-ブロモアニリンは Leadscope で変異原性アラートを有する化合物として検出されたが、アラートに関する専門家の分析と利用可能な遺伝毒性データから、変異原性がない Class 5 の化合物と判断された。

最終的な原薬及び製剤における不純物の規格値は、いずれも ICH ガイダンス Q3A 及び Q3B で安全性確認が必要と定められている閾値を下回る値に設定されている。

2.4.4.11 曝露安全域

毒性試験における無毒性量（NOAEL）での全身曝露量を表 2.4.4-2 及び表 2.4.4-3 に示す。

主な反復投与毒性試験及び胚･胎児発生毒性試験のトキシコキネティクスデータ（表 2.4.4-2 に示す）をまとめ、これら試験における曝露安全域を臨床最大用量 20 mg/日投与後のヒトにおける AUC 平均値と動物の NOAEL における AUC 平均値の比較に基づいて計算した。

表 2.4.4-3 に表示の試験では、サンプル数が限られ AUC 値を算出していないため、臨床最大用量 20 mg/日投与後のヒトにおける Cmax 平均値と動物での最高平均曝露量の比較に基づいて曝露安全域を算出した。

Lu AA21004 のラットを用いた出生前及び出生後試験における出生児ラットの成長発育に対する影響及びラットがん原性試験における雄ラット腸間膜リンパ節における良性血管腫の発現頻度の増加を除いて、NOAEL 又は非発がん量での曝露量は臨床最大用量（20 mg/日）の曝露量を上回っていた（表 2.4.4-2 及び表 2.4.4-3 を参照）。さらに、NOAEL を規定している齧歯類（腎及び肝毒性）及び非齧歯類（イヌの痙攣）の所見は、ヒトに対する外挿性は低いと考えられる（2.6.6.9.1.を参照）。

結論として、Lu AA21004 を抗うつ薬として用いるにあたり臨床最大用量 20 mg/日の安全性を担保可能な安全域が確立されたと考えられる。

表 2.4.4-2 Lu AA21004 及び Lu AA34443 の毒性試験 NOAEL（反復投与及び胚・胎児発生毒性試験）と臨床用量 20 mg/日の曝露量（AUC）比較

非臨床毒性試験の評価項目	動物種	用量	AUC(0-24) (a)(ng·hr/mL) 雄/雌	曝露安全域 (b) 雄/雌	添付資料番号
Lu AA21004					
NOAEL/反復投与	マウス	50 mg/kg/日 （13 週間）	12,695/6371	20/10	[4.2.3.2-5]
NOAEL/反復投与	ラット	10 mg/kg BID（26 週間）	1471/1026	2/2	[4.2.3.2-9]
NOAEL/反復投与	イヌ	7.5 mg/kg/日 （52 週間）	3052/3150	5/5	[4.2.3.2-15]
非発がん量/がん原性	マウス	15/100 mg/kg/日	NA	NA	[4.2.3.4.1-1]
非発がん量/がん原性	ラット	2/15 mg/kg BID	NA	NA	[4.2.3.4.1-2]
NOAEL/胚・胎児発生	ラット	80 mg/kg BID	22,682 (c)	35	[4.2.3.5.2-3]
NOAEL/胚・胎児発生	ウサギ	15 mg/kg BID	1275 (c)	2	[4.2.3.5.2-7]
Lu AA34443					
NOAEL/反復投与	マウス	50 mg/kg/日 （13 週間）	1668/1537 (d)	3/3	[4.2.3.2-5]
NOAEL/反復投与	ラット	10 mg/kg BID（26 週間）	9792/5261	17/9	[4.2.3.2-9]
NOAEL/反復投与	イヌ	7.5 mg/kg/日 （52 週間）	9547/NC	17/NC	[4.2.3.2-15]
非発がん量/がん原性	マウス	15/100 mg/kg/日	NA	NA	[4.2.3.4.1-1]
非発がん量/がん原性	ラット	2/15 mg/kg BID	NA	NA	[4.2.3.4.1-2]
NOAEL/胚・胎児発生	ラット	80 mg/kg BID	58,921 (c)	105	[4.2.3.5.2-3]
NOAEL/胚・胎児発生	ウサギ	15 mg/kg BID	NA	NA	[4.2.3.5.2-7]

NA=トキシコキネティクス分析に必要な血漿中濃度データ数が十分でないため算出せず又は未測定

NC=トキシコキネティクス分析のための信頼できる血漿中濃度データ数が十分でなかったため算出せず[4.2.3.7.7-6]

(a) 最終測定時のデータ

(b) 非臨床 AUC(0-24) / 臨床 AUC(0-24)。ヒト血漿 AUC(0-24)値は 1 日 1 回 20 mg 投与時の値である。Lu AA21004 及び Lu AA34443 の曝露マージンはヒトに対する 1 日 1 回 20 mg 投与後の平均 AUC 値（それぞれ 646 及び 563 ng·hr/mL）をベースに算出している（2.7.2, 表 2.7.2.3-2, CTD 5.3.5.3-1, Appendix 5, Table 5.2）。

(c) 雌

(d) AUC(0-8) 値

表 2.4.4-3　Lu AA21004 及び Lu AA34443 の毒性試験 NOAEL 及び非発がん量と臨床用量 20 mg/日の曝露量（Cmax）比較

非臨床毒性試験の評価項目	動物種	用量	Cmax (ng/mL) (a) 雄/雌	曝露安全域 (b) 雄/雌	添付資料番号
Lu AA21004					
NOAEL/反復投与	マウス	50 mg/kg/日 (13 週間)	1451/762	44/23	[4.2.3.2-5]
NOAEL/反復投与	ラット	10 mg/kg BID (26 週間)	192/173	6/5	[4.2.3.2-9]
NOAEL/反復投与	イヌ	7.5 mg/kg/日 (52 週間)	309/289	9/9	[4.2.3.2-15]
非発がん量/がん原性	マウス	15/100 mg/kg/日 (雄/雌,103/104 週間)	777/1099(c)	24/33	[4.2.3.4.1-1]
非発がん量/がん原性	ラット	2/15 mg/kg BID (雄/雌, 104 週間)	13.0/311(c)	0.4/9	[4.2.3.4.1-2]
NOAEL/胚・胎児発生	ラット	80 mg/kg BID	1615(d)	49	[4.2.3.5.2-3]
NOAEL/胚・胎児発生	ウサギ	15 mg/kg BID	190(d)	6	[4.2.3.5.2-7]
in vivo 小核 – 雄	ラット	305 mg/kg/日	1444 (e)	44	[4.2.3.3.2-1]
NOAEL/生殖行動 – 雄	ラット	60 mg/kg BID	783 (e)	24	[4.2.3.5.1-3]
NOAEL/生殖行動 – 雌	ラット	60 mg/kg BID	557 (d)	17	[4.2.3.5.1-3]
NOAEL/出生児ラットの発育	ラット	5 mg/kg BID	35 (d)	1	[4.2.3.5.3-1]
NOAEL/F1 出生児の発育	ラット	60 mg/kg BID	1026 (d)	31	[4.2.3.5.3-1]
Lu AA34443					
NOAEL/反復投与	マウス	50 mg/kg/日 (13 週間)	1091/665	33/20	[4.2.3.2-5]
NOAEL/反復投与	ラット	10 mg/kg BID (26 週間)	1722/1030	52/31	[4.2.3.2-9]
NOAEL/反復投与	イヌ	7.5 mg/kg/日 (52 週間)	963/NC	29/NC	[4.2.3.2-15]
非発がん量/がん原性	マウス	15/100 mg/kg/日 (雄/雌,103/104 週間)	97.5/1472(c)	3/45	[4.2.3.4.1-1]
非発がん量/がん原性	ラット	2/15 mg/kg BID (雄/雌, 104 週間)	190/794(c)	6/24	[4.2.3.4.1-2]
NOAEL/胚・胎児発生	ラット	80 mg/kg BID	3875(d)	117	[4.2.3.5.2-3]
NOAEL/胚・胎児発生	ウサギ	15 mg/kg BID	NA	NA	[4.2.3.5.2-7]
in vivo 小核 – 雄	ラット	305 mg/kg/日	6223(e)	189	[4.2.3.3.2-1]
NOAEL/生殖行動 – 雄	ラット	60 mg/kg BID	3626(e)	110	[4.2.3.5.1-3]
NOAEL/生殖行動 – 雌	ラット	60 mg/kg BID	2552(d)	77	[4.2.3.5.1-3]
NOAEL/出生児ラットの発育	ラット	5 mg/kg BID	152(d)	5	[4.2.3.5.3-1]
NOAEL/F1 出生児の発育	ラット	60 mg/kg BID	2755(d)	83	[4.2.3.5.3-1]

NA=未測定

NC=トキシコキネティクス分析のための信頼できる血漿中濃度データ数が十分でなかったため算出せず[4.2.3.7.7-6]

(a) 最終測定時のデータ。一部の試験では Cmax は限られた採血回数での最高平均曝露量（ng/mL）である（以前のトキシコキネティックスデータとの比較のため、採血回数を制限した。）

(b) 非臨床 Cmax／臨床 Cmax。ヒト血漿 Cmax 値は 1 日 1 回 20 mg 投与時の値である。Lu AA21004 及び Lu AA34443 の曝露マージンはヒト 20 mg 投与後の平均 Cmax 値（いずれも 33 ng/mL）をベースに算出している（2.7.2, 表 2.7.2.3-2, CTD 5.3.5.3-1, Appendix 5, Table 5.2）。

(c) 投与 2 時間後の血漿中濃度

(d) 雌

(e) 雄

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理試験

効力を裏付ける試験の結果、Lu AA21004 は 2 つの異なる標的クラス（5-HT 受容体及び SERT）が関与したセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有することが明らかとなった。組換え細胞系の *in vitro* 試験の結果、Lu AA21004 は、h5-HT_3、h5-HT_7、h5-HT_{1D} 受容体アンタゴニスト、h5-HT_{1B} 受容体の部分アゴニスト、h5-HT_{1A} 受容体アゴニスト及び hSERT 阻害剤であることが確認された。ヒトとラット間の受容体親和性の相違により、ラットにおける *in vivo* 薬効においては、ヒトでの薬効に比べて 5-HT_3 及び 5-HT_{1D} 受容体アンタゴニスト作用の影響がやや過大評価され、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用及び 5-HT_7 受容体アンタゴニスト作用の影響がやや過小評価されている可能性がある（2.4.2.2.1）。

健常被験者を対象とした結合リガンドを用いたポジトロンエミッショントモグラフィー診断の結果、ヒトに対する投与量 5 mg/日及び 20 mg/日（反復投与）に相当する縫線核における SERT 占有率はそれぞれ約 50%、約 85～90%となった（2.7.2）。非臨床試験における Lu AA21004 の薬理学的有効量においては SERT 占拠率は 50%を上回り、*in vivo* 及び *ex vivo* 結合試験の結果、多様な 5-HT 受容体での占有率がこの用量範囲内における Lu AA21004 の作用機序に関与していることが明らかとなった。これらの非臨床所見から、Lu AA21004 は臨床用量において SERT 及び多様な 5-HT 受容体に結合することが示唆される。*in vitro* でのヒトの受容体への結合能の順位（h5-HT_3 > h5-HT_{1A} ≈ h5-HT_7 > h5-HT_{1B} > h5-HT_{1D}）から、用量が増加するに従って、これらの受容体機構が次第に薬効に寄与することが予測される。

in vivo 及び *ex vivo* 結合試験の結果ならびにマイクロダイアリシス法を用いた試験の結果から、5-HT 受容体調節と SERT 阻害の複合作用は、mPFC や VHip など、うつ病に関連する脳内領域において、SERT の低い占有率（40～50%）での細胞外 5-HT の有意な上昇及び SERT の高い占有率での複数の神経伝達物質の上昇（SSRI の作用を超える 5-HT の上昇及び NE、DA、ACh 及び HA の上昇）に繋がることが示された。さらに、ラット脳波測定による解析では覚醒レベルの増加も報告されている[31]。2.4.2.2.2 で検討したとおり、Lu AA21004 がこのような複数の神経伝達物質の細胞外濃度上昇作用を示す機序の詳細についてはいまだ不明だが、非臨床薬理試験でこれまでに得られている知見から、Lu AA21004 の持つ多様な 5-HT 受容体サブタイプへの作用が寄与している可能性が示唆されている。その中でも特に 5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用、SERT 阻害作用が主な作用点であると考える[2][3]。さらに、上記の段落で検討したとおり、（*in vitro* 親和性強度の順に従い）5-HT_3、5-HT_{1A}、5-HT_7、5-HT_{1B} 及び 5-HT_{1D} 受容体の調節及び SERT 阻害が、Lu AA21004 の臨床用量での薬理作用をもたらすものと予想される。要約すると、これまで述べてきた効力を裏付ける試験の結果から、Lu AA21004 は臨床投与量の範囲内において、特に最高用量を投与した患者において、複数の神経伝達物質の細胞外レベルを引き上げることが強く示唆されている。複数の神経伝達物質系の増強は、Biler 他（2010 年）等の文献報告にあるとおり[32]、臨床における SSRI の増強試験での例と同様に、臨床での有効性を向上させる可能性がある。

高用量 SSRI（SERT 占有率 90%超）と同様に、高用量 Lu AA21004（SERT 占有率 90%超）の投与により、正常ラットにおいて認知機能の改善が認められた（2.6.2.3.2.2）。興味深いことに、Lu AA21004 は 0.1 mg/kg 未満という低用量（図 2.4.2-1 で SERT 占有率 20%未満）においても、5-HT 神経の活動の低いラットにおける認知（記憶力）障害に顕著な効果を示した。

SSRI であるエスシタロプラムは本モデルでは作用を示さない。このような記憶能力の改善についての正確な作用機序については不明であるが、5-HT_3 受容体アンタゴニストや 5-HT_{1A} アゴニストを用いた検討から、これら受容体に対する作用が寄与している可能性が考えられた。また、非臨床の電気生理学的検討の結果、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト及び 5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用により、GABA 作動性介在ニューロンの脱抑制を介して、大脳皮質におけるグルタミン酸作動性ニューロンの発火が増強されることが報告されている[33][34]。これらの所見に関する正確な機序は現在のところ解明されていない。しかし、様々な神経伝達物質レベルへの影響及び大脳皮質におけるグルタミン酸作動性ニューロン発火の増強が、今回観察された認知能力の改善に寄与している可能性がある。

雄性ラットを用いて Lu AA21004 又はフルオキセチンの慢性投与後の性行動を検討した結果、Lu AA21004 は SSRI に比べて、性機能への副作用の可能性が低いことが示唆された。こうした差が生じる原因となった機序については不明である。5-HT_{1A} 受容体のアゴニスト作用及び 5-HT_{1B} 受容体アンタゴニスト作用は雄性ラットの性行動を亢進することが報告されているが[35][36]、5-HT_3 及び 5-HT_7 受容体の役割についてはそれほど研究されていない。
Lu AA21004 はラット 5-HT_{1A} 受容体への親和性が低いため、この機序はそれほど重要ではない可能性がある。臨床では、特に SSRI 投与後に引き起こされた性的欲求の低下に対する 5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用の可能性に関する研究が多く実施されている[37][38]。
Lu AA21004 の 5-HT_{1A} 受容体への高い親和性を考慮すると、この機序は臨床的な転帰に関係している可能性があるが、その他の 5-HT 受容体サブタイプの調節も関係している可能性がある。

結論として、非臨床試験における Lu AA21004 の薬理学的プロファイルは、新規の作用機序であるセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有し、複数の 5-HT 受容体サブタイプ、特に 5-HT_3 受容体と 5-HT_{1A} 受容体への直接作用、および SERT の阻害作用を介して 5-HT をはじめとした多様な神経伝達物質（NA、DA、ACh、HA）の放出を調節することに基づいており、SSRI、SNRI、及び NaSSA とは異なっていた。Lu AA21004 の薬理学的プロファイルから、この化合物は臨床における高い忍容性に加え、抗うつ及び抗不安作用を有し、さらにうつ病に伴う認知機能障害に対する改善作用も持ち合わせている可能性が高いことが明らかとなった。また鎮痛作用も持ち合わせている可能性がある。

安全性薬理試験において、Lu AA21004 は臨床での曝露量で良好な忍容性を示し、ヒトの安全性に関連した中枢神経、心血管及び呼吸系の有害事象は認められなかった。さらに、腎・泌尿器及び胃腸管系の検査でも目立った所見はなかった。

2.4.5.2 薬物動態試験

ラット及びイヌに経口投与された Lu AA21004 の吸収は速やかであった。また静脈内投与時の血中濃度推移から、Lu AA21004 のこれら動物における全身のクリアランス及び分布容積は高値を示すことがわかった。これら Lu AA21004 の薬物動態学的特徴から Lu AA21004 は初回通過効果が高く、広く組織に分布するために Lu AA21004 及びその由来物質は良好な吸収性を示すものの BA はラットでは 11.2%、イヌでは 36.1%程度と低く算出されたと考えられた。Lu AA21004 はラットにおいて小腸及び大腸から門脈を介して未変化体として吸収され、リンパ経路を介した吸収の寄与は小さいことが示唆された。ラット及びイヌにおける

線形性試験では、検討した投与量の範囲で概ね線形動態を示したが、ラット、イヌとも最高用量においてやや投与量比を上回る血中動態を示した。

Lu AA21004 は MDCK 細胞を用いた *in vitro* 試験で中程度又は良好な膜透過性を示した。MDR1 を発現する MDCK 細胞株を使用した *in vitro* 試験において、Lu AA21004 は P-gp の良好な基質ではないと考えられた。また、P-gp の輸送活性に対する Lu AA21004 の IC_{50} 値は 4.14 μmol/L であった。

ラットを用いた[^{14}C]Lu AA21004 の組織分布試験において、放射能は経口投与後速やかに広く組織に分布し、顕著な残留性を示すことなく組織から消失することがわかった。また、Lu AA21004 及びその由来成分はメラニン親和性を有することがわかった。Lu AA21004 の *in vitro* 血漿たん白結合率はマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトで高値を示した（98.2%～99.9%）。また、[^{14}C]Lu AA21004 のラット、イヌ及びヒトにおける *in vitro* 血球移行率を調べた結果、いずれの種においても移行率はヘマトクリット値よりも高かった（65.4%～75.5%）。妊娠ラットを用いた試験により、Lu AA21004 及びその由来成分は胎盤を通過して胎児に移行することが示された。

[^{14}C]Lu AA21004 を投与後のマウス血漿中では Lu AA21004 及び Lu AA34443 が、ラット血漿中では Lu AA34443 が、イヌ血漿中では Lu AA34443、M4(b)及び Lu AA21004 が主成分であった。また、経口投与された Lu AA21004 はマウス、ラット、イヌの体内で大部分が代謝され、主に Lu AA34443 として尿、糞中に排泄されることが明らかとなった。

In vitro 及び *in vivo* での Lu AA21004 の代謝試験は、Lu AA21004 が主に酸化及びグルクロン酸抱合によって代謝されることを示した。また *In vitro* 試験から、7 種類の CYP 分子種（CYP2D6、CYP3A4/5、CYP2A6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2C8、及び CYP2B6）が Lu AA21004 の代謝に関与すると考えられた。

マウス、ラット及びイヌ並びにヒトに[^{14}C]Lu AA21004 を単回経口投与又は Lu AA21004 を反復経口投与したときの代謝物の全身曝露量を比較すると、安全性評価で用いた少なくとも 1 つの動物種における代謝物の曝露量は、臨床最大用量付近での曝露量以上又は同程度であったことが示された。

Lu AA21004 及びその代謝物 Lu AA34443 は、ヒト CYP 分子種に対して全く又はわずかな阻害作用しか示さなかったが、代謝物 Lu AA39835 は CYP2C19 活性を阻害し Ki 値は 1 μmol/L 未満であった。ヒト肝細胞を用いて Lu AA21004 及び Lu AA34443 の誘導作用を検討した結果、CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 の酵素活性あるいは mRNA 量に対してほとんど影響を与えなかった。

[^{14}C]Lu AA21004 及びその由来成分は、マウス、ラット及びイヌにおいて経口投与後、糞中及び尿中の両方に排泄され、糞中排泄が尿排泄を上回った。これら動物における放射能の排泄はほぼ定量的であり、体内残留性は示さなかった。また、[^{14}C]Lu AA21004 及びその由来成分の一部は授乳ラットにおいて乳汁に移行し、乳汁を介して排泄されることが確認された。

Lu AA21004 及びその代謝物 Lu AA34443 の BCRP、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K、OAT1 及び OAT3 に対する阻害効果を検討した結果、Lu AA21004 は OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の輸送活性を阻害し、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する IC_{50} 値はそれぞれ 1.93、12.3、21.7 及び 43.7 μmol/L と算出された。また、

Lu AA34443 は OCT1 及び MATE1 の輸送活性を阻害し、OCT1 及び MATE1 に対する IC_{50} 値はそれぞれ 9.18 及び 18.5 μmol/L と算出された。その他のトランスポーターに対して Lu AA21004 及び Lu AA3444 は阻害作用を示さなかった。

以上、薬物動態試験において実施した動物種の全身循環での代謝物分析の結果から、毒性試験でのこれら動物種の全身暴露はヒトで検出された Lu AA21004 及びその代謝物の曝露量を上回ること、又は同程度であることが確認された。さらにこれら動物種を用いた薬物動態試験の成績から、これら動物種における Lu AA21004 の吸収、分布、代謝、排泄が考察可能であることが示された。

2.4.5.3 毒性試験

一般毒性試験に用いたすべての動物種において、Lu AA21004 投与後、痙攣を含めて主に中枢神経系に関連した症状が認められた。イヌを用いた一般毒性試験及び安全性薬理試験では、鎮静及び活動低下がみられた。

標的臓器毒性は腎臓（ラット）及び肝臓（マウス及びラット）に限られ、それぞれ腎尿細管、胆管における結晶性物質による閉塞が毒性の主な原因と考えられた。臨床用量の範囲で結晶析出は発生しにくいと考えられるため、これらの所見のヒトへの外挿性は低いとみられる。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において、Lu AA21004 は遺伝毒性を示さなかった。

Lu AA21004 は齧歯類において良性腫瘍を誘発したが、ヒトに対する発がん性リスクはないと考えられる。

Lu AA21004 はラットの受胎能、交配行動、生殖器官又は精子形態及び運動性に影響しなかった。

Lu AA21004 のラット及びウサギへの投与後、催奇形性作用はみられなかったが、本薬投与に関連した胎児の体重低値及び骨化遅延は認められた。このことから、本薬により、ヒトの胎児発育に遅延が生じるリスクは排除できない。

ラットを用いた出生前、出生後試験において、母体毒性が認められなかった用量においても、出生児ラットの死亡率の上昇、体重増加の抑制、出生児ラット発育の遅延が認められた。このことから、本薬投与によりヒトの出生前後の発育への影響が生じる可能性は排除できない。

幼若ラットの毒性試験において、Lu AA21004 投与に関連した所見はすべて、成熟ラットを用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験における結果と同様であった。

Lu AA21004 にヒトに対する薬物乱用性はないと考えられる。

2.4.5.4 結論

Lu AA21004 の薬理学的プロファイルは、新規の作用機序であるセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する薬剤であり、SSRI、SNRI、及び NaSSA とは異なり 5 つの 5-HT 受容体サブタイプ及び SERT という異なる標的クラスに作用することで、多様な神経伝達物質の遊離作用を介して強力な抗うつ・抗不安作用を示すことが明らかとなった。非臨床薬理試験でこれまでに得られている知見から、その中でも特に $5\text{-}HT_3$ 受容体アンタゴニスト作用、$5\text{-}HT_{1A}$ 受容体アゴニスト作用、SERT 阻害作用が主な作用点であると考える。

さらに本化合物は、うつ病に伴う認知機能障害に対する改善作用も持ち合わせている可能性が高いことが明らかとなった。これらの結果から、Lu AA21004 のうつ病患者における有効性が期待された。

安全性薬理試験及び毒性試験で認められたすべての有害事象に関して、無毒性量（NOAEL）は確立されており、これら NOAEL における曝露量は、出生児ラットの発育に関する影響を除いて、最大臨床用量（20 mg/日）での曝露量を上回っていた（2.4.4.11）。従って、Lu AA21004 を MDD（本邦においては、うつ病・うつ状態）の治療薬として最大 20 mg/日の用量で投与しても、安全性に問題はないものと考えられる。

2.4.6 参考文献

[1] Mandrioli R. New-Generation, Non-SSRI Antidepressants: Therapeutic Drug Monitoring and Pharmacological Interactions. Part 1: SNRIs, SMSs, SARIs. Curr Med Chem. 2017;24:1-21.

[2] Garnock-Jones KP. Vortioxetine: a review of its use in major depressive disorder. CNS Drugs. 2014;28(9):855-74.

[3] Nutt DJ. Beyond psychoanaleptics - can we improve antidepressant drug nomenclature? J Psychopharmacol 2009;23(4):343-5

[4] Guideline on the Non-Clinical Investigation of the Dependence Potential of Medicinal Products. European Medicines Agency. 23 March 2006. Publication No. EMEA/CHMP/SWP/94227/2004.

[5] Guidance for industry: Assessment of abuse potential of drugs. Food and Drug Administration. January 2017.

[6] Bétry C, Overstreet D, Haddjeri N, Pehrson AL, Bundgaard C, Sanchez C, et al. A 5-HT3 receptor antagonist potentiates the behavioral, neurochemical and electrophysiological actions of an SSRI antidepressant. Pharmacol Biochem Behav. 2015;131:136-42.

[7] Hu XJ, Wang F, Stenfors C, Ogren SO, Kerh J. Effects of the 5-HT_{1B} receptor antagonist NAS-181 on extracellular levels of acetylcholine, glutamate and GABA in the frontal cortex and ventral hippocampus of awake rats: A microdialysis study. Eur Neuropsych 2007;17(9):580-6.

[8] Malagie I, Trillat AC, Bourin M, Jacquot C, Hen R, Gardier AM. 5-HT_{1B} Autoreceptors limit the effects of selective serotonin re-uptake inhibitors in mouse hippocampus and frontal cortex. J Neurochem 2001;76(3):865-71.

[9] Rollema H, Clarke T, Sprouse JS, Schulz DW. Combined administration of a 5-hydroxytryptamine (5-$HT)_{1D}$ antagonist and a 5-HT reuptake inhibitor synergistically increases 5-HT release in guinea pig hypothalamus *in vivo*. J Neurochem 1996;67(5):2204-7.

[10] Matsumoto M, Yoshioka M, Togashi H, Tochihara M, Ikeda T, Saito H. Modulation of norepinephrine release by serotonergic receptors in the rat hippocampus as measured by *in vivo* microdialysis. J Pharmacol Exp Ther 1995;272(3):1044-51.

[11] Betry C, Etievant A, Oosterhof C, Ebert B, Sanchez C, Haddjeri N. Role of 5-HT_3 receptors in the antidepressant response. Pharmaceuticals 2011;4:603-29.

[12] Blier P, Ward NM. Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? Biol Psychiatry 2003;53(3):193-203.

[13] Hajos-Korcsok E, McQuade R, Sharp T. Influence of 5-HT_{1A} receptors on central noradrenergic activity: microdialysis studies using (+/-)-MDL 73005EF and its enantiomers. Neuropharmacology 1999;38(2):299-306.

[14] Matthys A, Haegeman G, Van Craenenbroeck K, Vanhoenacker P. Role of the 5-HT_7 receptor in the central nervous system: from current status to future perspectives. Mol Neurobiol 2011;43(3):228-53.

[15] Wesolowska A, Kowalska M. Influence of serotonin 5-HT(7) receptor blockade on the behavioral and neurochemical effects of imipramine in rats. Pharmacol Rep 2008;60(4):464-74.

[16] Laitinen KS, Tuomisto L, Laitinen JT. Endogenous serotonin modulates histamine release in the rat hypothalamus as measured by *in vivo* microdialysis. Eur J Pharmacol 1995;285(2):159-64.

[17] El Mansari M, Sanchez C, Chouvet G, Renaud B, Haddjeri N. Effects of acute and long-term administration of escitalopram and citalopram on serotonin neurotransmission: an *in vivo* electrophysiological study in rat brain. Neuropsychopharmacology 2005;30(7):1269-77.

[18] Jones BJ, Costall B, Domeney AM, Kelly ME, Naylor RJ, Oakley NR, et al. The potential anxiolytic activity of GR38032F, a 5-HT_3-receptor antagonist. Br J Pharmacol 1988;93(4):985-93.

[19] Montezinho LP, Miller S, Plath N, Jensen NH, Karlsson JJ, Witten L, et al. The effects of acute treatment with escitalopram on the different stages of contextual fear conditioning are reversed by atomoxetine. Psychopharmacology (Berl) 2010;212(2):131-43.

[20] Schilstrom B, Konradsson-Geuken A, Ivanov V, Gertow J, Feltmann K, Marcus MM, et al. Effects of S-citalopram, citalopram, and R-citalopram on the firing patterns of dopamine neurons in the ventral tegmental area, N-methyl-D-aspartate receptor-mediated transmission in the medial prefrontal cortex and cognitive function in the rat. Synapse 2011;65(5):357-67.

[21] Gould S, Scott RC. 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-beta-CD): a toxicology review. Food Chem Toxicol 2005;43(10):1451-9.

[22] Thackaberry EA, Kopytek S, Sherratt P, Trouba K, McIntyre B. Comprehensive investigation of hydroxypropyl methylcellulose, propylene glycol, polysorbate 80, and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin for use in general toxicology studies. Toxicol Sci 2010;117(2):485-92.

[23] Easter A, Bell ME, Damewood JR, Jr., Redfern WS, Valentin JP, Winter MJ, et al. Approaches to seizure risk assessment in preclinical drug discovery. Drug Discov Today 2009;14(17-18):876-84.

[24] Yu JN, Zhu Y, Wang L, Peng M, Tong SS, Cao X, et al. Enhancement of oral bioavailability of the poorly water-soluble drug silybin by sodium cholate/phospholipid-mixed micelles. Acta Pharmacol Sin 2010;31(6):759-64.

[25] Mithani SD, Bakatselou V, TenHoor CN, Dressman JB. Estimation of the increase in solubility of drugs as a function of bile salt concentration. Pharm Res 1996;13(1):163-7.

[26] Kalantzi L, Persson E, Polentarutti B, Abrahamsson B, Goumas K, Dressman JB, et al. Canine intestinal contents vs. simulated media for the assessment of solubility of two weak bases in the human small intestinal contents. Pharm Res 2006;23(6):1373-81.

[27] Persson EM, Gustafsson AS, Carlsson AS, Nilsson RG, Knutson L, Forsell P, et al. The effects of food on the dissolution of poorly soluble drugs in human and in model small intestinal fluids. Pharm Res 2005;22(12):2141-51.

[28] Roe FJ, Lee PN, Conybeare G, Kelly D, Matter B, Prentice D, et al. The Biosure Study: influence of composition of diet and food consumption on longevity, degenerative diseases and neoplasia in Wistar rats studied for up to 30 months post weaning. Food Chem Toxicol 1995;33 Suppl 1:1S-100S.

[29] Ohnishi T, Arnold LL, Clark NM, Wisecarver JL, Cohen SM. Comparison of endothelial cell proliferation in normal liver and adipose tissue in B6C3F1 mice, F344 rats, and humans. Toxicol Pathol 2007;35(7):904-9.

[30] Stella VJ, He Q. Cyclodextrins. Toxicol Pathol 2008;36(1):30-42.

[31] Leiser SC, Pehrson AL, Robichaud PJ, Sanchez C. Multimodal antidepressant vortioxetine increases frontal cortical oscillations unlike escitalopram and duloxetine--a quantitative EEG study in rats. Br J Pharmacol. 2014;171(18):4255-72.

[32] Blier P, Ward HE, Tremblay P, Laberge L, Hebert C, Bergeron R. Combination of antidepressant medications from treatment initiation for major depressive disorder: a double-blind randomized study. Am J Psychiatry 2010;167(3):281-8.

[33] Puig MV, Santana N, Celada P, Mengod G, Artigas F. *In vivo* excitation of GABA interneurons in the medial prefrontal cortex through 5-HT_3 receptors. Cereb Cortex 2004;14(12):1365-75.

[34] Llado-Pelfort L, Santana N, Ghisi V, Artigas F, Celada P. 5-HT_{1A} Receptor Agonists Enhance Pyramidal Cell Firing in Prefrontal Cortex Through a Preferential Action on GABA Interneurons. Cereb Cortex 2011.

[35] Fernandez-Guasti A, Escalante A, Agmo A. Inhibitory action of various 5-HT_{1B} receptor agonists on rat masculine sexual behaviour. Pharmacol Biochem Behav 1989;34(4):811-6.

[36] Ahlenius S, Larsson K, Arvidsson LE. Effects of stereoselective 5-HT_{1A} agonists on male rat sexual behavior. Pharmacol Biochem Behav 1989;33(3):691-5.

[37] Fabre LF, Brown CS, Smith LC, Derogatis LR. Gepirone-ER treatment of hypoactive sexual desire disorder (HSDD) associated with depression in women. J Sex Med 2011;8(5):1411-9.

[38] Landen M, Eriksson E, Agren H, Fahlen T. Effect of buspirone on sexual dysfunction in depressed patients treated with selective serotonin reuptake inhibitors. J Clin Psychopharmacol 1999;19(3):268-71.