

目次

2.4. 非臨床試験の概括評価	4
2.4.1 非臨床試験計画概略	4
2.4.2 薬理試験	7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験	7
2.4.2.2 副次的薬理試験	8
2.4.2.3 安全性薬理試験	8
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験	9
2.4.3 薬物動態試験	10
2.4.3.1 分析法	10
2.4.3.2 吸収	10
2.4.3.3 分布	11
2.4.3.4 代謝	11
2.4.3.5 排泄	14
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用	15
2.4.3.7 その他の薬物動態試験	15
2.4.4 毒性試験	16
2.4.4.1 単回投与毒性試験	16
2.4.4.2 反復投与毒性試験	16
2.4.4.3 遺伝毒性試験	17
2.4.4.4 がん原性試験	17
2.4.4.5 生殖発生毒性試験	17
2.4.4.6 毒性発現の機序に関する試験	18
2.4.4.7 依存性試験	18
2.4.4.8 代謝物の毒性試験	19
2.4.4.9 不純物の毒性試験	19
2.4.4.10 光安全性試験	19
2.4.4.11 その他の毒性試験	19
2.4.5 総括及び結論	19
2.4.6 参考文献一覧	29

非臨床試験の概括評価の略号一覧表

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ACTH	corticotropin	副腎皮質刺激ホルモン
AUC _(0-inf)	AUC from zero time extrapolated to infinite time	投与時から投与後無限大までの濃度-時間曲線下面積
AUC _(0-t)	AUC from zero time to time of last quantifiable concentration	投与時から定量が可能であった最終採血時間（t）までの濃度-時間曲線下面積
AUC ₍₀₋₂₄₎	AUC from zero time to 24 hours	投与時から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸移送ポンプ
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CL	total plasma clearance	（血漿基準の）全身クリアランス
C _{max}	maximum observed concentration	最高濃度
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物間相互作用, 薬物動態学的薬物相互作用
DLT	dose limiting toxicity	用量制限毒性
ECG	electrocardiogram	心電図
ED ₅₀	50% effective dose	50%有効用量
EEG	electroencephalogram	脳波図
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生
EMG	electromyogram	筋電図
eq.	equivalent	当量
F	absolute bioavailability	絶対的バイオアベイラビリティ
F1	first filial generation	第一世代
FPD	field potential duration	細胞外電位持続時間
GABA	γ-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
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
HDL	high-density lipoprotein	高密度リポタンパク質
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
hES	human embryonic stem	ヒト胚性幹
HPA	hypothalamic-pituitary-adrenal	視床下部-下垂体-副腎
HPG	hypothalamic-pituitary-gonadal	視床下部-下垂体-性腺
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IC ₅₀	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IKs	slow component of delayed rectifier potassium currents	遅延整流性カリウム電流の遅い成分
K _i	inhibition constant	阻害定数

k _{off}	dissociation rate constant	解離定数
k _{on}	association rate constant	結合定数
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析
LDL	low-density lipoprotein	低密度リポタンパク質
LSC	liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxin extrusion	多剤・毒性化合物排出
MIST	metabolites in safety testing	—
MRHD	maximum recommended human dose	ヒトにおける最高臨床推奨用量
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーRNA
MT1	melatonin 1	メラトニン 1
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NZW	New Zealand White	— (ウサギ系統名)
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
PK	pharmacokinetic, pharmacokinetics	薬物速度論, 薬物動態, ファーマコキネティクス
QTc	corrected QT	心拍数で補正した QT
RBA	receptor binding assay	受容体結合性試験
R _B	blood to plasma concentration ratios	血液／血漿中濃度比
rCYP	recombinant human cytochrome P450	遺伝子組み換えヒトチトクローム P450
SD	Sprague Dawley	— (ラット系統名)
S9	9000×g supernatant of homogenate (subcellular fraction containing microsomes and cytosol)	ホモジネート 9000×g 上清 (ミクロソーム及びサイトゾルを含む細胞内画分)
TDI	time dependent inhibition	時間依存的阻害作用
Tg	transgenic	遺伝子組換え
TIBC	total iron binding capacity	総鉄結合能
TK	toxicokinetic, toxicokinetics	トキシコキネティクス
TTC	threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
t _{1/2}	terminal elimination phase half-life	最終消失半減期
UIBC	unsaturated iron binding capacity	不飽和鉄結合能
V _{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積

2.4. 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

レンボレキサントは、OX1R 及び OX2R 両方に対し競合的拮抗を示すデュアルオレキシン受容体拮抗剤であり、OX2R により強い親和性を有する。近年、オレキシン受容体拮抗薬は、不眠症治療における新たなアプローチとして注目されてきた。臨床における安全な使用を企図して、非臨床試験（薬理、安全性薬理、薬物動態、代謝及び毒性）を実施した。実施した試験は、関係する医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに準拠し、欧州指令 2001/83（改定版）第 8.3 項の必須要件を満たしている。

主要な毒性試験及び安全性薬理試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用で実施した。さらに、全ての GLP 試験は、化学物質の安全性評価の相互受入可能な経済協力開発機構（OECD）加盟国の試験施設で実施した。レンボレキサントの動物実験における投与ルートは、臨床と同じ経口投与であったが、アカゲザルにおける依存性試験及び麻酔イヌにおける心血管系試験のみ静脈内投与であった。

非臨床試験で使用されたレンボレキサントは、フリー体であり、各試験における用量はフリー体で表示した。

レンボレキサントの主要薬理試験として、受容体結合性試験（RBA）、細胞を用いた機能性試験（レポーターアッセイ）におけるアゴニスト性又はアンタゴニスト性の評価、in vivo における OX2R 機能性試験、マウス及びラットにおける睡眠試験及びラットにおける耐性や反跳性不眠を評価するための連投試験などを行った。さらに、ヒト血漿中で同定された 12 の代謝物に対する RBA を行った。

副次的薬理試験として、レンボレキサント及びヒト血漿中濃度が比較的高かった代謝物（M4, M9 及び M10）に対して、オレキシン受容体選択性を調べる目的で、種々受容体等に対する結合性試験を行った。さらに、細胞を用いた機能性試験により、レンボレキサントのヒトメタボニン 1（MT1）受容体及び GABA_A 受容体に対する作用を評価した。In vivo 試験では、マウスを用いて、情動刺激誘発カタプレキシー、協調運動及びエタノール麻酔の持続に対するレンボレキサントの影響を調べた。

レンボレキサントの安全性薬理試験は、in vitro 及び in vivo 試験により評価した。in vitro の電気生理学試験では、レンボレキサント及びその代謝物のヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）末尾電流に及ぼす影響を評価した。さらにレンボレキサントについては、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた遅延整流性カリウム電流の遅い成分（IKs）に対する阻害及びヒト胚性幹（hES）細胞由来心筋細胞を用いた細胞外電位持続時間（FPD）に及ぼす影響を評価した。イヌ及びサルを用いた in vivo 試験では、レンボレキサントの心拍数、血圧及び心電図（ECG）パラメータに及ぼす影響を評価した。レンボレキサントの中枢神経系及び呼吸系に及ぼす評価は、覚醒ラットを用いた拡張型単回投与毒性試験の一部として実施した。

レンボレキサントの薬物動態（PK）試験は、薬理試験及び毒性試験で使用した動物種（系統）であるラット（SD [Sprague Dawley]）及びサル（カニクイ）を用いて実施した。反復投与時の薬物動態は、マウス（CB6F1-nonTg rasH2）、ラット（SD）及びサル（カニクイ）での毒性試験時のトキシコキネティクス（TK）の結果を利用した。白色ラット（SD）、有色ラット（Brown Norway）及びカニクイザルの吸収、分布、代謝及び排泄は、¹⁴C 標識レンボレキサント

($[^{14}\text{C}]$ レンボレキサント)を用いて評価した。また、妊娠ラットにおける胎児移行性及び授乳中ラットにおける乳汁中排泄についても $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを用いて評価した。血漿タンパク結合率及び血球移行性は、in vitro で評価した。代謝については、肝細胞、遺伝子組換えヒトチトクローム P450 (rCYP)、肝ミクロソーム又は他の細胞内画分 (S9) を用いた in vitro 試験系により評価した。チトクローム P450 (CYP) 誘導及び阻害作用は、それぞれヒト肝細胞及びヒト肝ミクロソームを用いて評価した。トランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用は、トランスポーター発現細胞又は膜小胞を用いて評価した。

レンボレキサントの毒性として、ラット及びカニクイザルを用いた拡張型単回投与毒性試験、マウス、ラット、カニクイザルを用いたそれぞれ 4, 26, 39 週までの反復投与毒性試験、in vitro 及び in vivo の遺伝毒性試験、SD ラットを用いた 2 年間のがん原性試験、Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間のがん原性試験を実施した。生殖発生毒性試験では、SD ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響、SD ラットと New Zealand White (NZW) ウサギを用いた胚・胎児発生 (EFD)、そして SD ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能を評価した。13 及び 26 週のラット反復投与毒性試験でみられた骨及び歯の変化の発現機序を明らかにするため、追加で 3 試験を実施した。薬物乱用の可能性については、ラットを用いた身体依存性試験及び薬物弁別試験、アカゲザルを用いた自己投与試験で評価した。光安全性については in vitro の系で評価した。不純物 10 化合物の遺伝毒性を評価するため、復帰突然変異試験を実施した。ヒト主要代謝物である M10 の毒性評価のため、マウス、ラット及びサルで M10 の血漿中濃度を測定した。さらに、サルの 13 週反復投与毒性試験でマラリア症がみられたため、マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の増殖に対するレンボレキサントの影響を評価した。レンボレキサントの毒性試験リストを表 2.4-1 に示した。

表 2.4-1 毒性試験プログラム

試験の種類と投与期間	投与経路	動物種	GLP の適否
単回投与毒性試験			
単回投与 単回投与 (拡張型)	経口 経口	ラット ラット・カニクイザル	否 適
反復投与毒性試験			
7 日間	経口	マウス・ラット	否
4 週間	経口	マウス・ラット・カニクイザル	適
13 及び 26 週間	経口	ラット	適
13 週間	経口	カニクイザル	適
39 週間	経口	カニクイザル	適
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	in vitro	細菌 ^a	適
マウスリンフォーマ Tk 試験	in vitro	L5178Y tk ^{+/+} 細胞	適
小核試験	経口	ラット	適

表 2.4 -1 毒性試験プログラム (続き)

試験の種類と投与期間	投与経路	動物種	GLP の適否
がん原性試験			
104 週間	経口	ラット	適
26 週間	経口	マウス (Tg rasH2)	適
生殖発生毒性試験			
雄の受胎能・初期胚発生	経口	ラット	適
雌の受胎能・初期胚発生	経口	ラット	適
用量設定 (胚・胎児発生)	経口	ラット・ウサギ	否
胚・胎児発生	経口	ラット ^b ・ウサギ	適
用量設定 (出生前後の発生並びに母体機能)	経口	ラット	否
出生前後の発生並びに母体機能	経口	ラット	適
毒性発現の機序に関する試験			
14 週間	経口	ラット	適
フッ素測定	経口	ラット	否
フッ素測定及び CYP 阻害	経口	ラット	否
依存性試験			
身体依存	経口	ラット	適
用量設定 (自己投与)	静脈内	アカゲザル	否
自己投与	静脈内	アカゲザル	適
薬物弁別	経口	ラット	適
代謝物の毒性試験			
TK 試験	経口	マウス	否
TK 試験	経口	ラット・カニクイザル	適
不純物の毒性試験			
復帰突然変異試験 ^c	in vitro	細菌 ^d	適
光安全性試験			
探索光毒性試験	in vitro	BALB/c 3T3 細胞	否
光毒性試験	in vitro	BALB/c 3T3 細胞	適
その他の毒性試験			
マラリア原虫増殖に対する影響	in vitro	マラリア原虫	否

CYP = cytochrome P450, GLP = Good Laboratory Practice, Tg = transgenic, tk = thymidine kinase, TK = toxicokinetics.

a: ネズミチフス菌 TA100, TA1535, TA98, TA1537 及び大腸菌 WP2 *uvrA*(pKM101)。

b: ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験は、追加試験を含む 3 試験を実施した。

c: 計 10 化合物 (ER-888055-00, ER-888236-00, ER-001150623-000, ER-001150620-000, ER-001150874-000, ER-091047-00, 2-acetamido-5-aminopyridine, ER-889716-00, ER-888234-00, ER-897450-00) を評価した。

d: ネズミチフス菌 TA100, TA1535, TA98, TA1537 及び大腸菌 WP2 *uvrA*。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 In Vitro 薬理試験

レンボレキサントは、OX1R 及び OX2R 両方に対し競合的拮抗を示すデュアルオレキシン受容体拮抗剤であり、OX2R により強い親和性を有する。ヒト組換え OX1R 及び OX2R に対する RBA における本薬の 50%阻害濃度 (IC_{50}) は、それぞれ 6.1 及び 2.6 nmol/L であった。本薬は、ヒト OX1R 及び OX2R に対して速い結合及び解離を示す。OX1R に対する結合定数 (k_{on}) 及び解離定数 (k_{off}) はそれぞれ $0.0262 \text{ L}\cdot\text{nmol}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 及び 0.244 min^{-1} であり、解離半減期は 2.8 分であった。OX2R に対する k_{on} 及び k_{off} はそれぞれ $0.0496 \text{ L}\cdot\text{nmol}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 及び 0.0626 min^{-1} であり、解離半減期は 11.1 分であった。本薬は、細胞を用いた機能性試験（レポーターアッセイ）において、評価した 4 種類全ての受容体（ヒト OX1R 及び OX2R, マウス OX1R 及び OX2R）に対して作動性は示さず、それぞれの阻害定数 (K_i) 14.1, 0.391, 16.3 及び 0.366 nmol/L の競合的拮抗剤として作用した。細胞を用いた機能性試験（カルシウム動員試験）における、ヒト OX1R 及び OX2R, マウス OX1R 及び OX2R, ラット OX1R 及び OX2R に対する K_i 値は、それぞれ 8.1, 0.48, 23, 0.44, 23 及び 0.68 nmol/L であった。ヒト血漿中で同定された 12 の代謝物のうち、9 の代謝物（M3, M4, M7, M8, M9, M10, M13, M14, M15）に、本薬と同程度のヒトオレキシン受容体結合性が確認された。（2.6.2.2.1 項参照）

2.4.2.1.2 In Vivo 薬理試験

脳波図（EEG）及び筋電図（EMG）測定より、マウスにおいて、本薬は 1 mg/kg（経口）以上で総睡眠時間（ノンレム睡眠時間とレム睡眠時間の合計）を増加させ、睡眠潜時（入眠するまでにかかる時間）を減少させる傾向を示した。本薬は、プレプロオレキシン遺伝子（*Hcrt*）欠損マウス及びオレキシン神経欠損マウス（*orexin/ataxin-3 Tg/+*）において 30 mg/kg（経口）でも睡眠時間を増加しなかったことから、本薬の睡眠時間増加作用はオレキシン受容体シグナル伝達を介すると考えられた。ラットにおいて、本薬の総睡眠時間の増加に対する 50%有効用量（ ED_{50} ）は 4.4 mg/kg（経口）であった。マウス、ラットとも、媒体投与群と比較して総睡眠時間に対するレム睡眠時間の割合に有意な違いは認められなかったことから、本薬は、生理的な睡眠を増加させることが期待される。さらに、ラットにおいて、覚醒状態からノンレム睡眠を経ずに直接レム睡眠へ移行するようなナルコレプシー様症状も 300 mg/kg（経口）まで観察されなかった。また、ラットに本薬（30 mg/kg）を 3 週間経口投与後 2 日間休薬した試験において、3 週間の投与期間中の効果に耐性は認められず、休薬による反跳性不眠も観察されなかった。

一方、同じラット試験において、広く不眠症治療に用いられている非ベンゾジアゼピン系入眠剤のゾルピデムは、耐性及び反跳性不眠を惹き起こした。さらに、ゾルピデムは、レム睡眠をほとんど完全に抑制するが、この抑制は投与期間が長くなると弱くなったことから耐性が形成されたと考えられた。

ラット機能性評価試験において、本薬は、OX2R 選択的ペプチド作動性リガンドである[Ala¹¹, D-Leu¹⁵]オレキシン B の脳室内投与による生理的な反応（血漿中の副腎皮質刺激ホルモン [ACTH] の増加）を 3 mg/kg（経口）以上で抑制した。（2.6.2.2.2 項参照）

以上の非臨床試験の結果を受けて、レンボレキサントを不眠症治療薬として開発可能である

と判断した。

2.4.2.2 副次的薬理試験

レンボレキサント及びその代謝物（ヒト血漿中濃度が比較的高かった M4, M9 及び M10）の選択性を評価する目的で、生理的意義の高い 88 種（代謝物に対して 86 種）の標的分子（受容体、神経伝達物質トランスポーター及びイオンチャネル）に対する放射性リガンド結合性試験を行った。本薬及び代謝物は、10 μ mol/L でヒトメラトニン 1 (MT1) 受容体に対してのみ 50%以上の結合阻害を示した。本薬は、ヒト MT1 受容体に対して K_i 値 922 nmol/L のアンタゴニスト活性を有することが確認された。また、本薬は、GABA_A 受容体発現細胞における GABA 誘発電流に影響しなかった。(2.6.2.3.1~2.6.2.3.3 項参照)

情動刺激誘発カタプレキシーマウスモデルにおいて、本薬は、チョコレート投与による陽性情動刺激下では、10 mg/kg（経口）以上でカタプレキシー様症状を示した。(2.6.2.3.4 項参照)

マウスロータロッド試験において、本薬は 300 mg/kg（経口）まで協調運動に影響しなかった。一方、ゾルピデムは 100 mg/kg（経口）で投与後 2 時間まで協調運動を抑制した。(2.6.2.3.5 項参照)

マウスエタノール麻酔試験において、本薬及び他のオレキシン受容体拮抗剤アルモレキサントは 300 mg/kg（経口）までエタノール麻酔の持続に影響しなかったが、ゾルピデムは 10 mg/kg（経口）からエタノール麻酔の持続を延長した。(2.6.2.3.6 項参照)

以上より、レンボレキサントは MT1 受容体にアンタゴニスト活性があり、メラトニンの催眠効果を弱める可能性が危惧されたが、MT1 受容体及び OX2R に対する本薬の K_i 値は、それぞれ 922 及び 0.48 nmol/L である。よって、本薬の MT1 受容体に対する作用は弱く十分な乖離があることから、臨床におけるメラトニンの催眠効果に影響しないと考えられる。本薬は、マウスにおいて、強い陽性情動刺激下でカタプレキシー様症状を惹き起こしたが、臨床試験結果より、臨床でこのような症状が起こる可能性は限定的であると考えられる。(2.7.4.2.1.1.5.1 項参照)

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験として、心血管系、中枢神経系及び呼吸系に対するレンボレキサントの影響を評価した。(2.6.2.4 項参照) 重要な安全性薬理試験は、GLP に従って実施した。

2.4.2.3.1 心血管系安全性薬理

レンボレキサントの心血管系パラメータに対する評価は、2 つの GLP 試験（in vitro hERG 試験及び覚醒カニクイザルのテレメトリ試験）及び 2 つの探索的試験（麻酔ビーグル犬の心血管系試験及び覚醒ビーグル犬のテレメトリ試験）の結果に基づいて実施した。日中投与した覚醒カニクイザルの GLP 試験でみられた QT 間隔延長に対する追加情報を得るために、2 つの in vitro 試験（CHO 細胞における IKs 試験及び hES 細胞由来心筋細胞における FPD 試験）及び 1 つの in vivo 試験（覚醒カニクイザルの消灯前投与によるテレメトリ試験）も実施した。(2.6.2.4 項目参照)

レンボレキサントは、hERG カリウム電流を阻害し、 IC_{50} 値は 6.1 μ mol/L であった。レンボレキサントの 3 つの代謝物 M4, M9 及び M10 は、濃度依存的に hERG カリウム電流を阻害し、

IC₅₀ 値は、それぞれ 5.2, 11.2 及び 9.0 µmol/L であった。レンボレキサントは、IKs を 10 µmol/L で 24.3%阻害した。レンボレキサントは、hES 細胞由来心筋細胞の FPD を濃度依存的に延長し、その延長の程度は 10 µmol/L で約 10%であった。

レンボレキサントの心血管系への影響を評価するために in vivo の 4 試験を実施した。GLP 試験において、雄 4 例の覚醒カニクイザルに 10, 30 及び 100 mg/kg を日中経口投与し、心拍数、血圧及び ECG パラメータに及ぼす影響を評価した。レンボレキサントは、100 mg/kg まで血圧、心拍数、PR 間隔及び QRS 時間に影響を及ぼさなかった。レンボレキサントは、10 mg/kg で QT 及び心拍数で補正した QT (QTc) 間隔に影響を及ぼさなかったが、より高い用量で統計学的に有意な QTc 間隔の延長がみられ、その延長は投与前値に対して 30 mg/kg で 6.3%及び 100 mg/kg で 4.2%であった。さらに、レンボレキサントの QTc 間隔延長の影響を検討するために、雄 4 例の覚醒カニクイザルに 30 及び 100 mg/kg を消灯時間前に経口投与し、心拍数、血圧及び ECG パラメータに及ぼす影響を評価した。レンボレキサントは、30 mg/kg で QTc 間隔に影響を及ぼさなかったが、100 mg/kg で統計学的に有意な QTc 間隔の延長が認められ、その延長は投与前値に対して 11%であった。

覚醒ビーグル犬を用いた探索的試験において、レンボレキサントの経口投与により 30 mg/kg まで QTc 間隔を延長しなかった。麻酔ビーグル犬を用いた第 2 の探索的試験において、レンボレキサントの静脈内投与により、1.08 mg/kg では PQ 間隔は短縮し、3.6 mg/kg で心拍数が増加した。

2.4.2.3.2 中枢神経系安全性薬理

中枢神経系パラメータ（機能観察総合評価法による全身的な身体状態、行動及び直腸温度）に及ぼすレンボレキサント（100, 300 及び 1000 mg/kg）の影響を SD ラットにおける拡張型単回投与毒性試験の中で評価した。1000 mg/kg まで中枢神経系に影響を及ぼさなかった。（2.6.2.4 項参照）

2.4.2.3.3 呼吸系安全性薬理

呼吸系（呼吸数、1 回換気量及び分時換気量）に及ぼすレンボレキサント（100, 300 及び 1000 mg/kg）の影響を SD ラットにおける拡張型単回投与毒性試験の中で全身プレスチモグラフ法を用いて評価した。1000 mg/kg まで呼吸系に影響を及ぼさなかった。（2.6.2.4 項参照）

以上より、安全性薬理試験の結果から、レンボレキサントは中枢神経系及び呼吸系の有害作用を起こす可能性は低いことが示唆された。覚醒サル of in vivo 試験における ECG パラメータの軽微な変化、hERG の弱い阻害活性（IC₅₀ 値 6.1 µmol/L）、IKs の弱い阻害活性（24.3%）及び hES 細胞由来心筋細胞における FPD の弱い用量依存的延長から、レンボレキサントは QT 延長を起こす可能性を有することが示唆された。ヒトで QT 延長を起こす可能性を調べる臨床試験から、レンボレキサントにはこのリスクがほとんどないことが明らかとなった。（2.7.2.3.6 項参照）

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

薬物動態試験には、被験物質として非標識レンボレキサントあるいは $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを用いた。SD ラット及びカニクイザルの血漿中レンボレキサント及びその代謝物 (M4, M9 及び M10) の濃度の定量には、測定法バリデーションを施した液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC-MS/MS) を用いた。 $[^{14}\text{C}]$ レンボレキサントを用いた場合、放射能濃度の測定には、外部標準線源法による液体シンチレーションカウンター (LSC) を用い、放射能の濃度はレンボレキサント当量 (ng eq./g or mL) として表示した。(2.6.4.2 項参照)

2.4.3.2 吸収

雄 SD ラット及び雄カニクイザルにレンボレキサントを単回静脈内及び経口投与後の血漿中 PK プロファイルを評価した。レンボレキサントは、ラット及びサルどちらの動物種においても、中程度から高い全身クリアランス (CL) を示し、定常状態における分布容積 (V_{ss}) は中程度であった。単回静脈内投与後の最終消失半減期 ($t_{1/2}$) は、ラット (0.3 及び 1 mg/kg) で 1.61 及び 1.64 時間、サル (0.3 及び 1 mg/kg) で 6.25 及び 5.16 時間であった。ラット (10, 30 及び 100 mg/kg) に単回経口投与後の最高濃度 (C_{max}) は、10~30 mg/kg において用量比を上回って増加し、30~100 mg/kg において用量比を下回る増加を示した。投与時から投与後無限大までの濃度-時間曲線下面積 ($AUC_{(0-\infty)}$) は、検討した投与量の範囲 (10~100 mg/kg) において、用量比を上回る増加を示した。ラットにおける絶対的バイオアベイラビリティ (F) は、投与量が 10, 30 及び 100 mg/kg のとき、それぞれ 2.5%, 11.0%及び 22.6%であった。サルに単回経口投与後 (1, 3 及び 10 mg/kg) の C_{max} 及び $AUC_{(0-\infty)}$ は、概ね用量に比例して増加した。サルにおける F は、投与量が 1, 3 及び 10 mg/kg のとき、それぞれ 19.8%, 16.1%及び 23.4%であった。(2.6.4.3.1 及び 2.6.4.3.2 項参照)

レンボレキサントを 1 日 1 回、4 週間反復経口投与 (投与量: 100, 300 及び 1000 mg/kg) したときのマウス (CB6F1-nonTg rasH2, 雌雄) におけるレンボレキサントの暴露量は、雄よりも雌の方が高く、 C_{max} 及び投与時から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積 ($AUC_{(0-24)}$) における雌雄の差は 2.2 倍以内であった。雌雄ともに、 C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ は 100 から 1000 mg/kg において用量比を下回る増加を示した。(2.6.4.3.3 項参照)

ラット (SD, 雌雄) にレンボレキサントを 1 日 1 回、4, 13 及び 26 週間反復経口投与 (投与量: 30, 100 及び 1000 mg/kg) したとき、30 から 100 mg/kg では、 C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ は概して投与量比を上回る増加を示し (雌の C_{max} を除く)、一方、100 から 1000 mg/kg では、用量比を下回る増加を示した。雌の暴露量は、雄の暴露量より高かった。雌雄ともに 4 週間の反復投与後の蓄積は観察されなかったが、13 又は 26 週間の反復投与後では、雄の 1000 mg/kg を除く雌雄全ての投与群で蓄積が観察された。(2.6.4.3.4 項参照)

サル (カニクイ, 雌雄) にレンボレキサントを 1 日 1 回、4, 13 及び 39 週間反復経口投与 (投与量: 30, 100 及び 1000 mg/kg の 4 週間投与, 20, 100 及び 1000 mg/kg の 13 週間投与, 10, 100 及び 1000 mg/kg の 39 週間投与) したときの C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ は、概して用量比を下回る増加を示した。 C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ の顕著な性差は認められなかった。蓄積は各試験を通して観察

された。(2.6.4.3.5 項参照)

2.4.3.3 分布

CD-1 マウス, SD ラット, カニクイザル及びヒトにおけるレンボレキサントの血漿中タンパク結合率は、いずれの動物種においても比較的高く、78.4%から 88.7% (検討濃度: 100~1000 ng/mL) であった。ヒト血漿においてレンボレキサントは、主にヒト血清アルブミン (HSA)、低密度リポタンパク質 (LDL) 及び高密度リポタンパク質 (HDL) に結合した。CD-1 マウス, SD ラット, カニクイザル及びヒトにおける血液/血漿中濃度比 (R_B) 値は 0.610 から 0.964 (検討濃度: 100~1000 ng/mL) であった。CD-1 マウス, SD ラット, カニクイザル及びヒトにおけるレンボレキサント及びその代謝物 (M4, M9 及び M10) の *in vitro* 血漿タンパク結合率及び R_B 値に、濃度依存的な変動は認められなかった (検討濃度: 100~1000 ng/mL)。

(2.6.4.4.3 及び 2.6.4.4.4 項参照)

雄 SD ラット及び雄カニクイザルにそれぞれ 10 及び 3 mg/kg の [14 C]レンボレキサントを単回経口投与したとき、放射能は速やかに吸収され、体内に広く分布した。いずれの動物種においても、投与した放射能は、投与後 336 時間までにほとんどの組織からほぼ完全に消失した。雄有色ラット (Brown Norway) に 10 mg/kg の [14 C]レンボレキサントを単回経口投与後、放射能は体内に広く分布した。メラニン含有組織 (皮膚及び眼球) への顕著な放射能の残留は認められなかった。妊娠 13 及び 18 日の SD ラットに 10 mg/kg の [14 C]レンボレキサントを単回経口投与後、放射能の胎児移行性は低く、投与後 24 時間までの胎児の放射能は、投与放射エネルギーに対して 0.01% 以下であった。(2.6.4.4.2 項参照)

M4, M9 及び M10 は、ヒト血漿中で比較的高暴露量の代謝物であり、ヒトオレキシン受容体に対してレンボレキサントと同程度の高い結合親和性を有することから、レンボレキサント及びその代謝物 (M4, M9 及び M10) の脳移行性をラット及びサルで評価した。ラットにレンボレキサントを単回経口投与 (100 mg/kg) したときのレンボレキサントの脳脊髄液 (CSF) /血漿中非結合型薬物濃度比は、投与後 2 時間以降において M4 又は M10 の CSF /血漿中非結合型薬物濃度比の約 2~4 倍高い値であり、M9 の CSF /血漿中非結合型薬物濃度比と同等であった。サルにレンボレキサントを単回経口投与 (10 mg/kg) したときのレンボレキサントの CSF /血漿中非結合型薬物濃度比は、投与後 8 時間において M4 又は M9 の CSF /血漿中非結合型薬物濃度比の約 2 倍高い値であり、M10 の CSF /血漿中非結合型薬物濃度比と同等であった。(2.6.4.4.1 項参照)

2.4.3.4 代謝

レンボレキサントと肝ミクロソーム (CD-1 マウス, SD ラット, カニクイザル及びヒト) のインキュベーション結果から、レンボレキサントの主な代謝経路は酸化代謝であることが示唆された。肝ミクロソーム試料から 10 種類の代謝物が検出され、ヒトに特異的な代謝物は認められなかった。代謝物の構造を代謝物標品と比較して同定したところ、M1, M3, M5, M7, M8 及び M9 は水酸化体, M2, M4 及び M10 は *N*-オキシド体, M6 は酸化体であった。10 種類の代謝物は、全て rCYP3A4 及び rCYP3A5 によって、レンボレキサントから生成された。(図 2.4-1)。

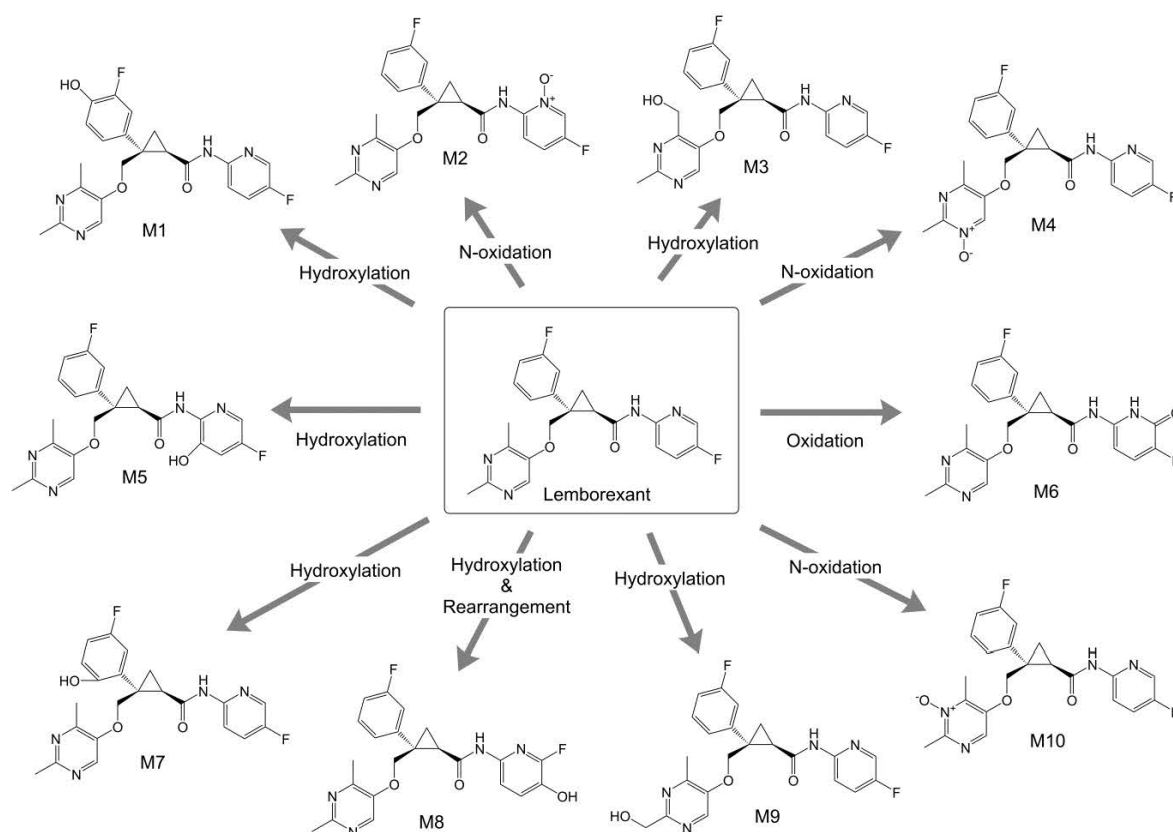


図 2.4-1 In vitro で同定された代謝物に基づくレンボレキサントの推定代謝経路

M 番号は in vitro 又は in vivo 代謝試験で同定された代謝物の番号を示す。

出典：試験番号 C12062, 2.6.4.5.2 項参照

^{14}C レンボレキサントを SD ラット (10 mg/kg) に単回経口投与した後のレンボレキサントの代謝プロファイルを検討した結果、血漿及び血球に含まれる放射能のうちレンボレキサントが占める割合は 5%以下であり、M9 が主な代謝物であった。ラットにおける主な代謝経路は酸化代謝であり、更なる酸化代謝、グルタチオン抱合あるいはその両方を受けた代謝物が認められた。妊娠ラット及び授乳期のラットに ^{14}C レンボレキサントを単回経口投与した後の胎児 (全身)、胎児血漿及び母乳における主な放射性成分は、レンボレキサント及び M3 と M9 の共溶出であった。

^{14}C レンボレキサントをカニクイザル (3 mg/kg) に単回経口投与した後のレンボレキサントの代謝プロファイルを検討した結果、血漿及び血球中の主な放射性成分は、レンボレキサント、M4, M13 (レンボレキサントの二酸化体)、M14 (レンボレキサントの二酸化体) 及び M16 (M1 のグルクロン酸抱合体) であった。サルにおけるレンボレキサントの主な代謝経路は、ラットと同様に酸化代謝であり、それらが更なる酸化代謝、硫酸抱合及びグルクロン酸抱合された代謝物が検出された。(2.6.4.5.1 項参照)

健康成人に 10 mg の用量で ^{14}C レンボレキサントを単回経口投与した試験 (外国 007 試験,

マスバランス試験 [E2006-A001-007] で得られた血漿、尿及び糞中の代謝物を分析したとき、血漿中ではレンボレキサントが最も多く、総放射能の 26.5% を占めた。代謝物では、M10、M9、M4 及び M18 (M3 のグルクロン酸抱合体) が主に検出され、総放射能の 6.0%~12.5% であり、M10 のみが薬物関連物質の総暴露量の 10% を超える代謝物であった。本試験において、検出された血漿中代謝物は、ラットあるいはサルにおいても認められ、ヒト特異的な血漿中代謝物は検出されなかった。本試験の代謝プロファイルから、ヒトにおけるレンボレキサントの主要代謝経路は酸化代謝であり、さらに酸化代謝、グルクロン酸抱合あるいはその両方を受けた代謝物が認められた。(図 2.4-2)。(2.6.4.5.1 項参照)

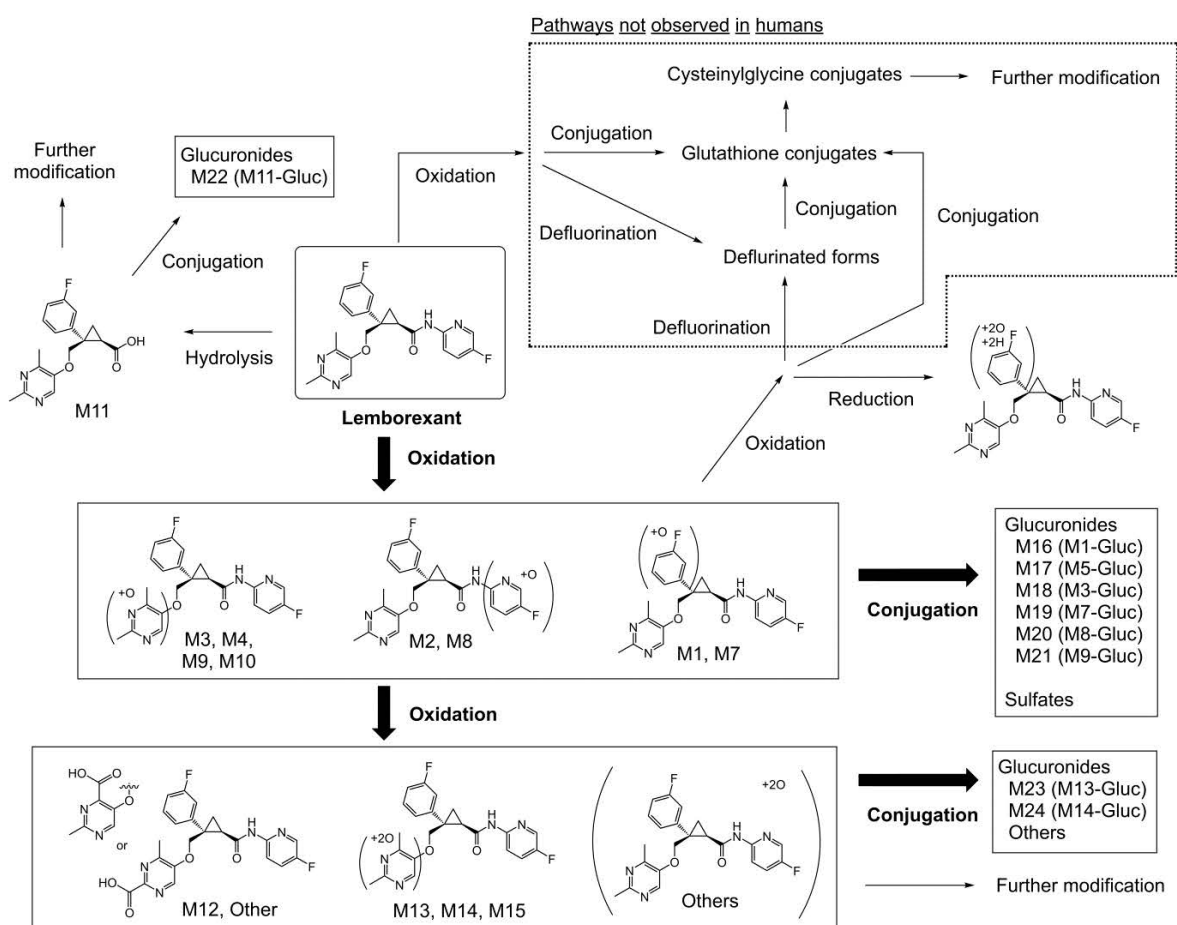


図 2.4-2 ラット、サル及びヒト (in vivo) で観察された代謝物に基づくレンボレキサントの推定代謝経路

M 番号は in vitro 又は in vivo 代謝試験で同定された代謝物の番号を示す。太い矢印はヒトの主要代謝経路を示す。Gluc = glucuronide.

出典：試験番号 AE-7077-G, AE-7078-G, AE-7433-G 及び DMPKT2012-008, 2.6.4.5.2 項参照

ヒトと動物（マウス、ラット及びサル）との間で、定常状態における M10 の血漿中暴露量を比較した結果、非臨床毒性試験における M10 の血漿中暴露量がヒトにおける最高臨床推奨用量（MRHD）である 10 mg レンボレキサント経口投与後の M10 血漿中暴露量よりも大きいことが示された。（2.6.4.9 及び 2.6.6.9 項表 2.6.6-25 参照）

レンボレキサント及びその代謝物（M4, M9 及び M10）の代謝に関与する CYP 分子種について rCYP を用いて *in vitro* で検討した結果、レンボレキサント、M4, M9 及び M10 の CYP による代謝は、主に CYP3A が関与することが示された。また、CYP 阻害剤存在下又は非存在下におけるヒト凍結肝細胞を用いたレンボレキサントの *in vitro* 代謝検討から、レンボレキサントが主に CYP3A により代謝されること及び非 CYP 酵素はレンボレキサントの代謝に関与しないことが示された。（2.6.4.5.4 項参照）

ヒト CYP 分子種（CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 及び CYP3A）に対するレンボレキサント及びその代謝物（M4, M9 及び M10）の阻害作用について、ヒト肝ミクロソームを用いて検討した。レンボレキサントは CYP2A6 に対して可逆的な阻害を示し、 IC_{50} は 7.8 $\mu\text{mol/L}$ であった。CYP2C19 に対する阻害作用が次いで強く、 IC_{50} は 24.6 $\mu\text{mol/L}$ であった。その他の CYP 分子種（CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6 及び CYP3A）に対するレンボレキサントの可逆的阻害作用の IC_{50} 値は 30 $\mu\text{mol/L}$ 以上と推定された。M4, M9 及び M10 は、CYP を可逆的に阻害しないか、あるいは阻害してもその作用は弱く、いずれの分子種に対しても IC_{50} は 30 $\mu\text{mol/L}$ 以上であった。レンボレキサント及びその代謝物（M4, M9 及び M10）は、3 $\mu\text{mol/L}$ 以上の濃度で CYP2E1 の活性化及び CYP3A に対する時間依存的な阻害作用（TDI）を示した。（2.6.4.5.5 項参照）

レンボレキサント及びその代謝物（M4, M9 及び M10）の CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導作用について、3 名のドナーから得たヒト凍結肝細胞のメッセンジャーRNA（mRNA）発現量を測定して評価した。レンボレキサント（0.3～80 $\mu\text{mol/L}$ ）及び代謝物（M4, M9 及び M10）（1～10 $\mu\text{mol/L}$ ）は CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA を濃度依存的に誘導した。また、レンボレキサントは 3 $\mu\text{mol/L}$ 以上（最高評価濃度 80 $\mu\text{mol/L}$ ）で CYP1A2 の mRNA をわずかに誘導した。一方、代謝物（M4, M9 及び M10）は CYP1A2 の mRNA に対してほとんど誘導作用を示さなかった。（2.6.4.5.5 項参照）

2.4.3.5 排泄

雄 SD ラットに ^{14}C レンボレキサント（10 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与した放射能の排泄は速やかで、投与後 48 時間以内に投与放射エネルギーの約 96%が排泄物中に回収された。投与後 168 時間までの尿及び糞中の放射能の累積排泄率は、それぞれ投与放射エネルギーの 5.9%及び 90.6%であり、総排泄率は投与放射エネルギーの 96.5%であった。胆管カニューレ処置ラット（SD, 雄）に ^{14}C レンボレキサント（10 mg/kg）を単回経口投与したとき、投与後 48 時間までの胆汁、尿及び糞中に回収された放射能の累積排泄率は、それぞれ投与放射エネルギーの 100.0%, 1.1%及び 1.2%であり、ラットに経口投与した ^{14}C レンボレキサントは体内にほぼ完全に吸収され、放射能は主に胆汁中に排泄されることが示唆された。（2.6.4.6.1 及び 2.6.4.6.2 参照）

授乳期の SD ラットに 10 mg/kg の ^{14}C レンボレキサントを単回経口投与後、放射能の乳汁への排泄が認められ、乳汁中放射能濃度は、 $AUC_{(0-\infty)}$ 比として血漿中放射能濃度より 3.06 倍高か

った。(2.6.4.6.3 項参照)

雄カニクイザルに^[14C]レンボレキサント (3 mg/kg) を単回経口投与したとき、投与した放射能は、投与後 192 時間以内にほぼ完全に尿及び糞中に排泄された。投与後 336 時間までの尿中及び糞中の放射能の累積排泄率はそれぞれ投与放射エネルギーの 22.5%及び 75.1%であり、排泄物中への総排泄率は投与放射エネルギーの 97.5%であった。(2.6.4.6.1 項参照)

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

非臨床 in vivo における薬物間相互作用 (DDI) 試験は検討されていない。In vitro 評価系によるヒト代謝酵素誘導及び阻害については 2.4.3.4 項に示し、トランスポーターに対する基質認識性及び阻害活性については 2.4.3.7 項に示した。

「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン (2018 年)」に基づいて、代謝酵素の阻害剤及び誘導剤、トランスポーターの阻害剤として、レンボレキサント及びその代謝物 (M4, M9 及び M10) が DDI を引き起こす可能性について評価を行った。ガイドラインのクライテリアに基づき評価した結果、レンボレキサントは、MRHD (10 mg) において、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導作用、又は CYP3A の TDI に基づく DDI を引き起こす可能性が考えられた。外国 004 試験 (E2006-A001-004, 2.7.2.2.2.4.1 項参照) において、レンボレキサントを反復投与した際に、典型的な CYP3A 基質であるミダゾラムの血漿中暴露量に対して影響を与えなかったが、CYP2B6 基質である S-ブプロピオンの血漿中暴露量を 45.5%減少させた。したがって、レンボレキサントは MRHD (10 mg) では、CYP3A に対して阻害作用も誘導作用も示さないが、CYP2B6 の弱い誘導剤となる可能性が示された。一方、MRHD (10 mg) での血漿中濃度を考慮すると、レンボレキサント及びその代謝物 (M4, M9 及び M10) は、他の CYP 分子種の阻害作用や CYP1A2 の誘導作用、並びに検討したトランスポーターの阻害作用に基づく DDI を引き起こす可能性は低いと考えられた。(2.6.4.7 項参照)

2.4.3.7 その他の薬物動態試験

In vitro にてレンボレキサント及び代謝物の各種トランスポーターに対する基質性及び阻害作用を検討した。レンボレキサントは P 糖タンパク (P-gp) に対して弱い基質性を示し、代謝物 M4, M9, M10, M13, M14 及び M15 は P-gp の基質であった。レンボレキサント, M4, M9, M10, M13, M14 及び M15 は乳癌耐性タンパク (BCRP) の基質ではなかった。レンボレキサント, M4, M9 及び M10 は有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1B1 又は OATP1B3 の基質ではなかった。レンボレキサントは有機アニオントランスポーター (OAT) 1 に対して阻害作用を示さなかったが、P-gp, BCRP, 胆汁酸移送ポンプ (BSEP), 多剤・毒性化合物排出 (MATE) 1, MATE2-K, OATP1B1, OATP1B3, OAT3, 有機カチオントランスポーター (OCT) 1 及び OCT2 に対して弱い阻害作用を示し、IC₅₀ は 7.4 から 32.2 µmol/L であった。OCT2 以外では、レンボレキサントは代謝物 (M4, M9 及び M10) より強い阻害作用を示した。(2.6.4.8 項参照)

以上、これらの薬物動態及び代謝プロファイルの結果に基づいて、非臨床毒性試験は適切な動物種で行われていることが示され、また、非臨床におけるレンボレキサント及びその代謝物の薬物動態特性は適切に評価されている。レンボレキサントは CYP2B6 を弱く誘導する可能性

があると考えられたが、臨床での血漿中濃度を考慮すると、レンボレキサント及びその代謝物は、他の CYP や薬物トランスポーターに対する阻害による DDI を引き起こさないと考えられた。一方、レンボレキサントは CYP3A によって代謝されることから、CYP3A の阻害剤又は誘導剤との併用によって、レンボレキサントの薬物動態が影響を受けると考えられた。動物における経口投与後のレンボレキサントの薬物動態試験結果は、レンボレキサントを不眠症治療薬として使用するのに十分な知見を示している。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

レンボレキサントの単回経口投与による毒性試験を、ラット（2 試験）とカニクイザル（1 試験）を用いて実施した。いずれの動物種においても、1000 mg/kg まで忍容性は良好であった。

ラットにおける拡張型単回投与毒性試験（2.6.6.2.2 項参照）では、300 mg/kg 以上の雌と 1000 mg/kg の雄で、軽度の肝重量の増加が認められた。いずれも投与後 2 週間で回復性がみられた。

サルにおける拡張型単回投与毒性試験（2.6.6.2.3 項参照）では、1000 mg/kg で投与に起因した嘔吐、軟便、半眼及び血清クロールの低下がみられた。300 mg/kg 以下では、毒性学的に意義のある所見はみられなかった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

レンボレキサントの反復投与毒性試験は、マウス（4 週まで）、ラット（26 週まで）、カニクイザル（39 週まで）を用いて実施した。これらの動物種で共通にみられた所見は、高用量での赤血球系パラメータの軽度減少、肝薬物代謝酵素誘導に伴う変化、そして動物特異的な代謝に関連したフッ素症のみであった。

マウス（2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 項参照）では、雄の 1000 mg/kg 及び雌の 300 mg/kg 以上で軽度の体重増加と、軽度の alanine aminotransferase (ALT) 上昇を伴う肝重量の増加がみられた。投与に起因した病理組織学的所見は、1000 mg/kg の雌雄でみられた肝細胞肥大のみで、数例では限局性の肝細胞の変性・壊死を伴っていた。肝細胞の変性・壊死は被膜下に限局しており、肝肥大に伴う腹部内圧上昇による二次的な変化と考えられた（Parker and Gibson, 1995）。

ラット（2.6.6.3.3～2.6.6.3.5 項参照）では、最高用量（1000 mg/kg）で軽度かつ散発的な摂餌量の減少を伴う体重の増加抑制がみられた。100 mg/kg 以上では、赤血球数とヘモグロビン濃度の軽度減少及び網状赤血球数の反応性増加を含む、赤血球系パラメータの軽度な変化がみられた。高用量では、肝重量の増加、肝細胞肥大（肝薬物代謝酵素誘導に伴う小葉中心性の肥大）、総タンパク及び総コレステロールの増加もみられた。

13 及び 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5 項参照）では、100 mg/kg 以上の雌と 1000 mg/kg の雄で、骨（組織学的な構造変化、骨密度減少及び骨折）及び歯（白色化及びエナメル芽細胞の病理学的変化）の変化が観察された。複数の機序検討試験によって、これらの変化は動物特異的なレンボレキサントの代謝過程で生じるフッ化物イオンを原因とするフッ素症であることが示された。なお、脱フッ素代謝物はヒトでは検出されていない。

サル（2.6.6.3.6～2.6.6.3.8 項参照）では、100 mg/kg 以上で投与に起因した嘔吐と異常便が観察

された。赤血球系パラメータの軽度減少や、網状赤血球数の反応性の増加もみられた。39 週間反復投与毒性試験では、肝細胞肥大がみられた。用量依存的に軽度の尿中フッ素排泄の増加がみられたが、骨の器質的な変化は認められなかった。

13 週試験 (2.6.6.3.7 項参照) では、1000 mg/kg の雄 1 例でマラリア症が認められたが、他のいずれの毒性試験においても、投与に起因する免疫機能の変化あるいは免疫抑制を示唆する毒性所見はみられていない。

げっ歯類における用量制限毒性 (DLT) は、マウスの 4 週試験で 300 mg/kg 以上でみられた肝の被膜下肝細胞の変性・壊死、ラットの 13 週以上の試験で 1000 mg/kg でみられた骨折を含む骨毒性であるが、これらの変化はいずれもげっ歯類特異的でありヒトへの外挿性はない。サルでは、レンボレキサントは 1000 mg/kg まで十分な忍容性があり、39 週間までの投与で重篤な毒性所見はみられなかった。長期毒性試験における無毒性量 (NOAEL) は、雄ラットで 100 mg/kg、雌ラットで 30 mg/kg、サルで 10 mg/kg と考えられた。これらの投与量における全身暴露は、臨床レジメの MRHD である 10 mg/day におけるヒトでの全身暴露より高く、レンボレキサントは現在の適応症において十分な安全域を有していると考えられる。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

レンボレキサントは、標準的な *in vitro* バッテリー試験 (復帰突然変異試験 [2.6.6.4.1 項参照] 及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験 [2.6.6.4.2 項参照]、いずれも代謝活性化の存在下・非存在下で実施) 及び *in vivo* 試験 (ラット小核試験 [2.6.6.4.3 項参照]) で陰性であった。

2.4.4.4 がん原性試験

レンボレキサントは、ラットを用いた 2 年間の経口投与によるがん原性試験 (2.6.6.5.1 項参照) 及び Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間のがん原性試験 (2.6.6.5.2 項参照) のいずれにおいてもがん原性を示さなかった。これらの試験における投与量は、それぞれラットにおける 13 及び 26 週間の経口反復投与毒性試験の毒性学的エンドポイントと、non-Tg マウスにおける 4 週間経口反復投与毒性試験の最大耐量 (MTD) に基づき決定した。投与量は雄ラットが 30, 100 及び 300 mg/kg、雌ラットが 10, 30 及び 100 mg/kg、雌雄マウスが 50, 150 及び 500 mg/kg であった。マウス及びラットでみられた主な非腫瘍性病変は、肝薬物代謝酵素誘導に伴う小葉中心性肝細胞肥大並びに、レンボレキサントの代謝過程で遊離したフッ化物イオンに起因すると考えられる大腿骨の色素沈着及び歯の白色化であった。これらの試験の高用量における (AUC に基づく) 全身暴露量は、MRHD におけるヒト AUC (10 mg, AUC = 441 ng·h/mL) と比較して 25 倍以上高かった (雄ラットは 82 倍、雌ラット 109 倍及びマウス 47 倍以上)。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

雄ラットの受胎能及び初期胚の発生に関する試験 (2.6.6.6.1.1 項参照) では、1000 mg/kg まで毒性学的に意義のある所見はみられなかった。雌ラットの受胎能及び初期胚の発生に関する試験 (2.6.6.6.1.2 項参照) では、1000 mg/kg において投与期間中に体重減少、体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。レンボレキサントの薬理作用 (オレキシン受容体拮抗作用) に基づく変化として、1000 mg/kg で黄体数、着床数及び生存胎児数の減少、100 mg/kg 以上で性周期の不

規則化と受胎率の低下 (Porkka-Heiskanen, et al., 2004; Kohsaka, et al., 2001; Silveyra, et al., 2007; Small, et al., 2003) がみられた。雌ラットの一般状態及び初期胚の発生に関する無毒性量は 100 mg/kg, 受胎能に関しては 30 mg/kg であった。

レンボレキサントは、ラットの 600 mg/kg で催奇形性を示し、臍帯ヘルニア及び口蓋裂を含む胎児の外表異常並びに膜性部心室中隔欠損が観察された (2.6.6.6.2.2 項参照)。この用量では、母動物に活動性の低下、摂餌量の減少及び体重減少がみられたことから、母動物の毒性用量と考えられた。別途実施した追加試験 (2.6.6.6.2.3 及び 2.6.6.6.2.4 項参照) においては、催奇形性は再現しなかった。これらの結果から、ラットの胚・胎児発生の無毒性量は 200 mg/kg と考えられた。レンボレキサントは、ウサギにおいては催奇形性を示さなかった (2.6.6.6.2.6 項参照)。

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 (2.6.6.6.3.2 項参照) では、300 mg/kg で母動物に体重減少、体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。300 mg/kg では、第一世代 (F1) 出生児に体重の低値、大腿骨長の低値、聴覚性驚愕反応の低下及び最大反応振幅までの潜時の延長傾向がみられた。聴覚性驚愕反応の低下は、体重の低値に関連すると考えられた (Blaszczyk and Tajchert, 1996; Hamilton and Timmons, 1979)。母動物の一般毒性並びに F1 出生児の成長に関する無毒性量は 100 mg/kg, 母動物の生殖能及び F1 出生児のその他の測定項目の無毒性量は 300 mg/kg であった。

雌ラットの受胎能試験における薬理作用に関連した変化や催奇形性試験で見られた毒性に関する無毒性量の AUC に基づく全身暴露は、MRHD (10 mg, AUC = 441 ng·h/mL) の全身暴露より 12 倍以上高かった。

2.4.4.6 毒性発現の機序に関する試験

ラットの長期毒性試験でみられた骨及び歯の変化の機序を明らかにするため複数の検討試験 (2.6.6.8.1.1~2.6.6.8.1.3 項参照) を行った。骨及び歯の変化は、フッ化ナトリウムの長期投与によって引き起こされる変化と類似しており (Noritake, 2014; Perumal, et al., 2013), レンボレキサントの代謝過程における動物特異的な脱フッ素反応によって生じたフッ素症であることが示された。ラットでみられた脱フッ素代謝物は、微量ながらサルでも検出されたが、ヒトでは検出されなかった。

2.4.4.7 依存性試験

レンボレキサントに関連した薬物乱用の可能性を確認するため、SD ラットを用いた身体依存性 (2.6.6.8.2.1 項参照) 及び薬物弁別試験 (2.6.6.8.2.4 項参照), さらにアカゲザルを用いた自己投与試験 (2.6.6.8.2.3 項参照) を実施した。ラットあるいはアカゲザルにおいて身体依存性あるいは強化効果はみられず、レンボレキサントの薬物乱用リスクはないと考えられた。さらにレンボレキサントは、非ベンゾジアゼピン系睡眠薬であるゾルピデムで訓練を行ったラットを用いた薬物弁別試験で、ゾルピデムと般化しなかった。一方、市販のオレキシン受容体拮抗薬である対照薬のスボレキサントは、部分般化を示した。レンボレキサントは、ゾルピデムとスボレキサントにおいて主観的な類似性がないことを踏まえると、現在承認されている睡眠補助薬と比べて乱用のリスクが低いと考えられた。

2.4.4.8 代謝物の毒性試験

ヒトにおける唯一の主要な血中代謝物は M10 であり (2.7.2.2.2 項参照), ヒト特異的な血中代謝物は同定されていない。M10 が非臨床安全性試験で適切に評価されているかを確認するために, マウス (2.6.6.8.3.1 項参照), ラット (2.6.6.8.3.2 項参照), カニクイザル (2.6.6.8.3.3 項参照) において M10 の血漿中濃度の測定, 並びに全身暴露量 (AUC) を算出した。これらの試験において, 定常状態における M10 の全身暴露は MRHD における暴露量よりも高い値を示した。したがって, これまで実施された毒性試験で, 代謝物の毒性評価は適切に行われていると考えられた。

2.4.4.9 不純物の毒性試験

不純物 10 化合物に関して復帰突然変異試験 (2.6.6.8.4 項参照) を実施し, うち 5 化合物が陽性であった。陽性となった 5 化合物については, 毒性学的懸念の閾値 (TTC) 以下となるように管理, あるいは TTC 以下であることを確認している。詳細については 3.2.S.3.2 項を参照のこと。

2.4.4.10 光安全性試験

レンボレキサントは, 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験 (2.6.6.8.5.1 項参照) で陰性であった。

2.4.4.11 その他の毒性試験

サルの 13 週間反復投与毒性試験でマラリア症がみられたが, マラリア原虫 (*P. falciparum*) を用いた in vitro の試験 (2.6.6.8.6.1 項参照) で, レンボレキサントはマラリア原虫の増殖を促進しなかった。

2.4.5 総括及び結論

レンボレキサントは, OX1R 及び OX2R 両方に対し競合的拮抗を示すデュアルオレキシン受容体拮抗剤であり, OX2R により強い親和性を有する。スボレキサントは不眠症治療薬として初めて承認されたデュアルオレキシン受容体拮抗薬であり, OX1R と OX2R を同程度に拮抗する (Beuckmann, et al., 2017)。ヒト OX1R 及び OX2R に対する本薬とスボレキサントの in vitro 活性を表 2.4-2 に示した。OX1R と OX2R のどちらがより覚醒/睡眠に寄与しているかは, 未だ十分に解明されていないが, OX2R の方が覚醒/睡眠の調整により重要な役割を担っていることが示唆されている (Akanmu and Honda, 2005; Dugovic, et al., 2009; Hondo, et al., 2010)。さらに, デュアルオレキシン受容体拮抗剤は, どちらか片方のオレキシン受容体拮抗剤より強い睡眠促進作用があると考えられている (Morairty, et al., 2012)。

表 2.4-2 ヒト OX1R 及び OX2R に対するレンボレキサントとスボレキサントの比較

Assay	Lemborexant		Suvorexant	
	hOX1R	hOX2R	hOX1R	hOX2R
Binding affinity	IC ₅₀ : 6.1 nmol/L	IC ₅₀ : 2.6 nmol/L	IC ₅₀ : 8.8 nmol/L K _i : 0.55 nmol/L ^a	IC ₅₀ : 12.0 nmol/L K _i : 0.35 nmol/L ^a
Binding kinetics	k _{on} : 0.0262 L·nmol ⁻¹ ·min ⁻¹	k _{on} : 0.0496 L·nmol ⁻¹ ·min ⁻¹	k _{on} : 0.049 L·nmol ⁻¹ ·min ^{-1a}	k _{on} : 0.0052 L·nmol ⁻¹ ·min ⁻¹ 0.00763 L·nmol ⁻¹ ·min ^{-1a}
	k _{off} : 0.244 min ⁻¹	k _{off} : 0.0626 min ⁻¹	k _{off} : 0.0085 min ^{-1a}	k _{off} : 0.0164 min ⁻¹ 0.0078 min ^{-1a}
Cell-based functional reporter enzyme assay	K _i : 14.1 nmol/L	K _i : 0.391 nmol/L	—	—
Cell-based calcium mobilization assay	K _i : 8.1 nmol/L 4.8 nmol/L	K _i : 0.48 nmol/L 0.61 nmol/L	IC ₅₀ : 49.9 nmol/L ^a K _i : 1.4 nmol/L	IC ₅₀ : 54.8 nmol/L ^a K _i : 2.2 nmol/L

hOX1R=ヒト OX1R, hOX2R = ヒト OX2R, IC₅₀=50%阻害濃度, K_i=阻害定数, k_{off}=解離定数, k_{on}=結合定数, — = 該当なし。

a: PMDA ウェブサイト (<http://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuSearch/>) より引用。

出典: 表 2.6.2-7。

レンボレキサントの OX1R 及び OX2R に対する内在性基質を用いたシルドプロットの傾きは全て約 1 であったため、OX1R 及び OX2R のオルソステリック結合部位（内在性基質の結合部位と同一）に対する競合的な阻害剤であることが示された。さらに、ヒト及びマウス OX2R において、3 種の異なるペプチドアゴニストに対して同様の阻害作用を示したことから、オルソステリックであることが確認された (Kenakin, 2004)。In silico 分子ドッキング法においても、本薬のヒト OX1R 及び OX2R に対する結合部位はオルソステリックサイトであると予測され、スボレキサントの OX1R (Yin, et al., 2016) 及び OX2R (Yin, et al., 2015) に対する結合部位と同様であった。

In vivo 試験では、マウスにおいて、本薬は 1 mg/kg（経口）以上で総睡眠時間を増加させ、ラットにおいて、本薬の総睡眠時間の増加に対する ED₅₀ 値は 4.4 mg/kg（経口）であった。マウス、ラットとも、媒体投与群と比較して総睡眠時間に対するレム睡眠時間の割合に有意な違いは認められなかったことから、本薬は生理的な睡眠を増加させることが期待される。本薬は、プレプロオレキシン遺伝子 (*Hcrt*) 欠損マウス及びオレキシン神経欠損マウス (*orexin/ataxin-3 Tg/+*) において 30 mg/kg（経口）でも睡眠時間を増加しなかったことから、本薬の睡眠時間増加作用はオレキシン受容体シグナル伝達を介すると考えられた。ラット機能性評価試験において、OX2R 選択的ペプチドアゴニスト誘発 ACTH 分泌促進を抑制したことから、OX2R 拮抗剤として作用することが確認された。また、ラットに本薬 (30 mg/kg) を 3 週間経口投与後 2 日間休薬した試験において、3 週間の投与期間中の効果に耐性は認められず、休薬による反跳性不眠も観察されなかった。

一方、マウス及びラット試験において、非ベンゾジアゼピン系入眠剤のゾルピデムは、総睡眠時間に対するレム睡眠時間の割合を減少させた。ゾルピデムが総睡眠時間に対するレム睡眠時間の割合を減少させることは、一般的に知られている (Renger, et al., 2004)。また、ゾルピデムはラットにおける 3 週間経口投与後 2 日間休薬した試験において、耐性及び休薬による反跳性不眠を惹き起こしたが、同様の事象が Ebert, et al. (2008) によって報告されている。

覚醒/睡眠の調整にかかわるオレキシン受容体以外の他の標的 (GABA_A 受容体における GABA 及びベンゾジアゼピン結合部位, プロスタグランジン D2 及び E2 受容体, セロトニン受容体, ノルアドレナリン受容体, ヒスタミン受容体, アセチルコリン受容体, ドーパミン受容体, ガラニン受容体, 副腎皮質刺激ホルモン放出因子受容体) を含む, 88 種中の 87 種の標的分子 (代謝物は 86 種中の 85 種) に対して, 本薬及び代謝物 (M4, M9 及び M10) は結合性を示さなかった。唯一, MT1 受容体に結合性を示し, アンタゴニスト活性があることが確認された。しかし, 細胞を用いた機能性試験における, MT1 受容体及び OX2R に対する本薬の K_i 値は, それぞれ 922 及び 0.48 nmol/L であり, 十分な乖離があることから, 本薬の MT1 受容体拮抗作用は臨床におけるメラトニンの催眠効果に影響しないと考えられる。また, GABA_A 受容体は睡眠の調節や睡眠薬の主なターゲットとされてきたため, GABA_A 受容体発現細胞を用いてパッチクランプ法により機能性試験を行った。その結果, 本薬は, GABA_A 受容体の機能に影響しないことが確認された。

In vivo マウス試験において, 本薬は, 10 mg/kg (睡眠誘発用量の 10 倍) 以上の経口投与で, 強い陽性情動刺激であるチョコレートと併用により有意にカタプレキシー様症状を惹き起こした。この結果は, 本薬がカタプレキシーを惹き起こす可能性を示唆しているが, 臨床試験におけるカタプレキシーとの相関性は不明である。

本薬は 300 mg/kg (睡眠誘発用量の 300 倍) の用量まで, マウスにおける協調運動やエタノール麻酔の持続に影響しなかった。一方, ゾルピデムは低用量からマウスにおける協調運動を悪化させるだけでなくエタノール麻酔の持続を延長させた。ヒトにおいて, ベンゾジアゼピン及び非ベンゾジアゼピン系睡眠薬が, 協調運動の悪化やエタノール麻酔の持続を延長させることが報告されている (Mets, et al., 2010)。

レンボレキサントは, hERG カリウム電流を IC₅₀ 値 6.1 µmol/L で阻害した。本薬は, IKs も 10 µmol/L で有意に 24.3%阻害した。本薬は, 濃度依存的に FPD を延長し, 10 µmol/L で約 10% 延長した。麻酔イヌにおける静脈内持続投与及び覚醒イヌにおける経口投与の探索的試験において, それぞれ 6958.0 及び 973.8 ng/mL の血漿中濃度で QTc 間隔の延長はみられなかった。しかし, 本薬は, 覚醒サルに 30 及び 100 mg/kg の日中投与で QTc 間隔を統計学的に有意に延長し, その延長は投与前値に対して 30 mg/kg で 6.3%及び 100 mg/kg で 4.2%であった。30 mg/kg 投与後の血漿中濃度は, 投与後 2 及び 4 時間でそれぞれ 1335 (血漿中遊離型濃度 235.0 ng/mL) 及び 1316 ng/mL (血漿中遊離型濃度 231.6 ng/mL) であった。覚醒サルに 100 mg/kg の消灯時間前投与においても QTc 間隔の有意な延長がみられた。投与後 4 から 12 時間の間, 投与前値に対して 9.5%から 11.0%延長した。投与後 4 時間の QTc 間隔の延長は, 統計学的に有意であった。100 mg/kg 投与後の血漿中濃度は, 投与後 4 及び 14 時間で, それぞれ 2167 (血漿中遊離型濃度 381.4 ng/mL) 及び 3193 ng/mL (血漿中遊離型濃度 561.9 ng/mL) であった。

in vitro の 3 試験において, 本薬は, 1 µmol/L 以上で hERG チャネルの阻害活性を示し, 10 µmol/L で IKs チャネルの阻害活性を示し, 10 µmol/L 以上で hES 細胞由来心筋細胞の FPD 延長作用を示した。両イオンチャネルの阻害の程度は大きくないが, 両チャネルの阻害は, FPD 及び QTc 間隔の延長に相乗的に寄与した可能性がある。覚醒サルに本薬を日中投与 (30 及び 100 mg/kg) 及び消灯時間前投与 (100 mg/kg) した際に QTc 間隔を延長する用量に違いがあった。日中投与後の覚醒サルにおける QTc 間隔延長は, 明確な用量依存性はなかった。反復投与臨床

試験において、400 ng/mL (Murphy, et al., 2017) まで暴露しても QTc 間隔延長が検出されなかったことは、臨床における QT 延長リスクがほとんどないことを示唆している。

中枢神経系及び呼吸系に対する本薬の影響を SD ラットにおける拡張型単回投与毒性試験の中で評価した。1000 mg/kg まで中枢神経系及び呼吸系に影響はなかった。このことから中枢神経系及び呼吸系の有害作用を起こす可能性は低いと考えられた。

雄 SD ラット及び雄カニクイザルに単回静脈内投与後のレンボレキサントの PK プロファイルは、どちらの動物種も CL が中程度から高い値（ラット：2730～2870 mL/h/kg，サル：1190～1210 mL/h/kg）であり、 V_{ss} は中程度（ラット：3.40～4.21 L/kg，サル：3.31～4.73 L/kg）であった。ラットに単回経口投与した（10, 30 及び 100 mg/kg）後の PK プロファイルは非線形性を示し、 C_{max} は 10～30 mg/kg において用量比を上回って増加し、30～100 mg/kg において用量比を下回る増加を示した。 $AUC_{(0-inf)}$ は 10～100 mg/kg において用量比を上回る増加を示した。ラットにおける絶対的バイオアベイラビリティは、2.5%から 22.6%であった。サルに単回経口投与した（1, 3 及び 10 mg/kg）後の PK プロファイルは線形性を示し、 C_{max} 及び $AUC_{(0-inf)}$ は概ね用量に比例して増加した。サルにおける絶対的バイオアベイラビリティは、投与量が 1 から 10 mg/kg で 16.1%から 23.4%であった。

マウス、ラット及びサル（いずれも雌雄）にレンボレキサントを反復経口投与したとき、マウス及びラットの暴露量に性差が認められたが、サルの雌雄の暴露量は同等であった。反復投与による暴露量の蓄積が観察された。

雄 SD ラット及び雄カニクイザルにそれぞれ 10 及び 3 mg/kg の ^{14}C レンボレキサントを単回経口投与した後、 ^{14}C レンボレキサントは速やかに吸収され、投与 0.83 及び 1.8 時間後に最も高い血液中放射能濃度を示した。ラット、サルともに血液中放射能濃度の $t_{1/2}$ は 110 時間であった。いずれの種においても投与した放射能は主に糞中に排泄され、尿中への排泄は比較的少なかった。投与された放射能の大部分は排泄物中に回収され、ラットでは投与後 168 時間までに投与された放射能の 96.5%が、サルでは投与後 336 時間までに 97.5%が回収された。雄 SD ラットに ^{14}C レンボレキサントを経口投与後、放射能は組織内に広く分布した。放射能は投与後 336 時間以内に多くの組織からほぼ完全に消失し、全ての組織で残留放射能は最高放射能濃度の 1%以下若しくは定量限界値未満となった。雄有色ラット(Brown Norway)に 10 mg/kg の ^{14}C レンボレキサントを単回経口投与したとき、全ての組織で放射能濃度は速やかに消失し、投与後 24 時間までに最高値の 9%以下に低下した。肺及び脾臓を除く全ての組織における放射能濃度は投与後 336 又は 672 時間で定量限界を下回った。肺及び脾臓では投与 672 時間後にも放射能が低濃度で検出され、比較的緩やかに消失し、放射能の $t_{1/2}$ はそれぞれ 1330 時間（55.4 日）及び 2210 時間（92.1 日）であったが、非臨床安全性試験では肺又は脾臓におけるレンボレキサント由来の所見は観察されなかった。また、有色ラットにおけるメラニン含有組織（皮膚及び眼球）への放射能の蓄積は認められなかった。

CD-1 マウス、SD ラット、カニクイザル及びヒトにおけるレンボレキサントの血漿中タンパク結合率はいずれの動物種においても比較的高く、78.4%～88.7%（検討濃度：100～1000 ng/mL）であった。ヒト血漿においてレンボレキサントは、主に HSA, LDL 及び HDL に結合した。CD-1 マウス、SD ラット、カニクイザル及びヒトにおける R_B 値は 0.610 から 0.964（検討濃度：100～1000 ng/mL）であった。マウス、ラット、サル及びヒトにおけるレンボレキサント及びそ

の代謝物 (M4, M9 及び M10) の *in vitro* 血漿タンパク結合率及び R_B 値には濃度依存的な変動は認められなかった (検討濃度: 100~1000 ng/mL)。

ラット, サル及びヒトの *in vitro* 試料及び生体試料の代謝物分析から, 全ての動物種においてレンボレキサントの主消失経路は代謝によるものであり, レンボレキサントは, 酸化代謝を一次代謝反応とする多様かつ逐次的な経路を介して代謝されることが示された。レンボレキサントは, 最初に複数の一酸化体に代謝され, そのいくつかは, さらに酸化されてカルボン酸体又は二酸化体に代謝され, さらに抱合代謝を受けた。なお, ヒトに特異的な血漿中代謝物は認められなかった。

ヒトマスバランス試験 (外国 007 試験 [E2006-A001-007]) において, M10 のみが血漿中の薬物関連総暴露量の 10%以上を示す主要な血漿中代謝物であった。そのため, FDA の metabolites in safety testing (MIST) ガイダンス (“Safety Testing of Drug Metabolites. Guidance for Industry” US FDA, 2016) 及び International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) M3(R2) ガイダンス (“Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals”, 2012) の勧告に従って, ヒト及び毒性試験で用いた動物種での M10 の血漿中暴露量を比較することで, レンボレキサントを用いた非臨床安全試験において M10 への十分な暴露が達成されているか確認を行った。この M10 の暴露量の比較検討により, レンボレキサントの毒性を評価した (発がん性を含む) 少なくとも 1 種の動物種において M10 が毒物学的に適正に評価されていることが示された (2.6.6.9 項表 2.6.6-25 参照)。

いくつかの脱フッ素代謝物がラット及びサルの排泄物中に検出され, 酸化的脱フッ素化がラット及びサルにおけるレンボレキサントの代謝経路の 1 つであることが示された。また, ラットの毒性試験では, フッ素症に関連する骨格及び歯の変化が認められている。追加で実施した毒性試験の結果, レンボレキサントの代謝過程で生じたフッ化物イオンがラットのフッ素症を引き起こすことが明らかになった (2.6.6.8.1 項参照)。一方, ヒトにおいては, 脱フッ素代謝物は検出されておらず, レンボレキサントがヒトにおいてフッ素症を引き起こす可能性は低いと考えられた。

代謝物 M4, M9 及び M10 はヒト血漿中で比較的高い暴露量を示すとともに, ヒトオレキシン受容体に対してレンボレキサントと同等の高い結合親和性を有する代謝物である。レンボレキサント及びその代謝物 (M4, M9 及び M10) は, OX1R よりも OX2R に対して高い親和性を示すことから, レンボレキサント, M4, M9 及び M10 の血漿中非結合型暴露量及び OX2R に対する *in vitro* 結合親和性を基に, ヒトにおける睡眠誘発効果への寄与を見積もった。 C_{max} 及び AUC ベースでの寄与率は, それぞれレンボレキサントで 62.3%及び 46.7%, M4 で 21.8%及び 28.0%, M9 で 6.8%及び 7.1%, M10 で 9.0%及び 18.2%であった。M4 はこれら代謝物の中で最も高い寄与を示したが, M4 が P-gp 基質であること, 又, ラット及びサルにおける M4 の CSF/血漿中非結合型薬物濃度比がレンボレキサントの CSF/血漿中非結合型薬物濃度比よりも少なくとも 2 倍低いことを考慮すると, ヒトにおいて M4 の脳移行性は, レンボレキサントの脳移行性よりも低いと考えられた。したがって, レンボレキサント (未変化体) がヒトにおける薬理作用に主に寄与していると考えられ, 代謝物の寄与は低いと推察された。 (2.6.4.9 項表 2.6.4-47 参照)

レンボレキサントのエナンチオマーもジアステレオマーもヒトの生体試料中には認められず,

レンボレキサントの立体異性体への変換はヒトでは生じないことが示唆された。

In vitro 代謝試験により、レンボレキサントが主に CYP3A によって代謝されることが示された。また、臨床薬物相互作用試験（外国 004 試験 [E2006-A001-004] 及び外国 012 試験 [E2006-A001-012], 2.7.2.2.4 項参照）において、強力な CYP3A 阻害剤であるイトラコナゾール又は中等度の CYP3A 阻害剤であるフルコナゾールの反復投与との併用によって、レンボレキサントの $AUC_{(0-inf)}$ 及び C_{max} の中程度の増加が認められ、強力な CYP3A 誘導剤であるリファンピシンの反復投与との併用によって、レンボレキサントの $AUC_{(0-inf)}$ 及び C_{max} の顕著な減少が認められている。これらの知見は、in vitro 試験の結果と一致していた。レンボレキサントは、P-gp, BCRP, OATP1B1 又は OATP1B3 の基質ではないことから、これらのトランスポーターの阻害に起因する DDI の可能性は低いと考えられる。In vitro 試験により、レンボレキサント及びその代謝物（M4, M9 及び M10）は、CYP3A を阻害又は誘導し、CYP2B6 を誘導する可能性が示唆された。そのため、臨床薬物相互作用試験（外国 004 試験 [E2006-A001-004]）で精査した結果、MRHD（10 mg）において、レンボレキサントの反復投与は典型的な CYP3A 基質であるミダゾラムの血漿中暴露量に影響を与えなかったが、CYP2B6 基質である *S*-ブプロピオンの $AUC_{(0-inf)}$ 及び C_{max} を減少させ、*S*-ブプロピオンに対するブプロピオンの[*S,S*]-ヒドロキシ代謝物の投与時から定量が可能であった最終採血時間（t）までの濃度-時間曲線下面積（ $AUC_{(0-t)}$ ）比を増加させた。したがって、レンボレキサントは MRHD（10 mg）において、CYP3A に対して阻害作用も誘導作用も示さないが、CYP2B6 の弱い誘導剤となる可能性が示された。MRHD（10 mg）での血漿中濃度を考慮すると、レンボレキサント及びその代謝物（M4, M9 及び M10）は、CYP1A2 の誘導、又は他の CYP 分子種及び検討したトランスポーター（OATP1A1, OATP1B3, MATE1, MATE2-K, OAT1, OAT3 及び OCT2）に対する阻害による DDI を引き起こさないと考えられた。

単回投与毒性試験では、ラット及びサルいずれにおいても 1000 mg/kg まで忍容性は良好だった。

反復投与毒性試験では、ラット及びサルの 100 mg/kg 以上で一般状態及び赤血球系のパラメータに影響がみられた。マウスの 1500 mg/kg, ラットの 1000 mg/kg で、軽度の摂餌量の減少が散発的に認められた。サルでは、10 mg/kg 以上でレンボレキサントの薬理作用に起因した活動性の低下及び傾眠が認められた。100 mg/kg 以上で嘔吐、軟便がみられたが、動物の一般状態に影響がなかったことから有害作用ではないと考えられた。ラット及びサルの 1000 mg/kg では、網状赤血球数の減少（ラット 4 週間反復投与毒性試験）、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少、あるいは網状赤血球数の増加（ラット 26 週間反復投与毒性試験、サルの全反復投与毒性試験）を含む、赤血球系パラメータへの軽度の影響が認められた。また、マウス、ラット、サルの 1000 mg/kg では、適応性の変化である肝細胞の肥大が認められ、ラットの肝を用いた免疫組織学的染色の結果、CYP 誘導に関連したものであることが明らかとなった。

レンボレキサント投与に起因した病理組織学的変化は、げっ歯類の高用量でみられた骨及び歯の所見のみであり、これは動物に特異的な代謝の結果として誘発されたフッ素症であることが確認された。

ラット及びサルを用いた投与期間 4 週以上の反復投与毒性試験における無毒性量、 C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ を表 2.4-3 に示した。安全域は、動物及びヒトの定常状態における C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ の比較に基づいて算出した（ヒトの暴露量：レンボレキサント 10 mg における血中濃度： $C_{max} =$

61.6 ng/mL, $AUC_{(0-24)} = 441 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$ [添付資料 5.3.3.5.5])。これらの毒性試験における無毒性量の血漿中濃度と MRHD における血漿中濃度を比較した際の安全域は最小で 12 倍であった。

表 2.4-3 ヒト及び動物（ラット・サル）における定常状態の暴露量の比較

Species	Dosing Period (weeks)	NOAEL (mg/kg)	$C_{\max}^a$ (ng/mL)	Safety Margin ^b	$AUC_{(0-24)}^a$ (ng·h/mL)	Safety Margin ^b
Rat	13/26	100 (M) 30 (F)	2597 (M) 1543 (F)	42 (M) 25 (F)	18,015 (M) 5335 (F)	41 (M) 12 (F)
Monkey	39	10	1060	17	5240	12

$AUC_{(0-24)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to 24 hours, AUC_{ss} = AUC at steady state, F = female, M = male, NOAEL = no observed adverse effect level.

a: In monkeys, mean steady state values for males and females at the NOAEL are presented. In rats, mean steady state values for each sex at the NOAEL are presented because of sex-related differences in toxicokinetic parameters.

b: The steady state $C_{\max}$ and AUC_{ss} at the proposed MRHD (10 mg) were 61.6 ng/mL and 441 ng·h/mL, respectively (添付資料 5.3.3.5.5 [CPMS-E2006-004R]). These exposure values were used for calculation of the animal to human ratios.

出典：添付資料 4.2.3.2.8 及び 4.2.3.2.11 (K12033 及び 6700074)。

ラットの長期毒性試験でみられた骨及び歯の変化（骨の形態学的な変化、骨密度の減少、骨折、切歯の白色化及びエナメル芽細胞の組織学的変化）の機序を解明するため、検討試験を実施した。その結果、レンボレキサントによって引き起こされた骨及び歯の変化は、フッ化ナトリウムの長期投与で認められる所見と類似し、レンボレキサントの代謝により生じたフッ化物イオンによるフッ素症であると考えられた (Noritake, 2014; Perumal, et al., 2013)。ラットではレンボレキサントの代謝過程でフッ化物イオンが遊離し、反復投与によって骨に蓄積することが確認されており、最終的にフッ素症として知られる病態に至ることが示された (Perumal, et al., 2013)。フッ素症は、レンボレキサントを投与した Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験でもみられた。サルの 39 週間反復投与毒性試験では、尿中フッ素濃度の軽度増加が用量依存的にみられたが、最高用量（1000 mg/kg）においても、骨及び歯に組織学的な変化は認められなかった。In vitro 並びに in vivo におけるラット、サル及びヒトの代謝物プロファイルを精査した結果、レンボレキサントの代謝によって生じる脱フッ素代謝物の量には動物種差があることが示唆された (2.6.4.5.2 項参照)。脱フッ素代謝物はラットで検出され、サルでも少量認められたが、ヒトでは検出されなかった。以上より、ヒトにおいてはレンボレキサント服用によるフッ素症の危険性は無いと考えられた。

サルの 13 週間反復投与毒性試験 (2.6.6.3.7 項参照) では、本試験に用いた動物が対照群を含めマラリア原虫 (*Plasmodium spp.*) に不顕性感染していたことが示唆され、1000 mg/kg の雄 1 例でマラリア再燃に起因する重度の貧血がみられた。薬物の免疫系への影響（免疫修飾若しくは免疫抑制）を示唆する毒性学的な所見は、いずれの毒性試験においても認められていない。さらに、in vitro の試験でレンボレキサントはマラリア原虫 (*P. falciparum*) の成長を促進しなかったため、レンボレキサントとマラリア再燃に直接的な因果関係はないと考えられた。

レンボレキサントの遺伝毒性は、in vitro の細菌を用いた復帰突然変異及び哺乳類細胞を用い

た染色体異常, さらに *in vivo* のラット骨髄を用いた染色体異常からなる遺伝毒性試験の標準バッテリーで評価され, いずれも陰性であった。これらのデータから, レンボレキサントは遺伝毒性の潜在的リスクはないことが示唆された。

レンボレキサントのがん原性を評価するため, SD ラットを用いた 2 年間がん原性試験並びに Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験を実施した。レンボレキサントはラット及び Tg rasH2 マウスのいずれにおいてもがん原性がないことが示された。ラット及びマウスがん原性試験の MTD における全身暴露量 ($AUC_{(0-24)}$) は, 臨床試験の MRHD (10 mg) における定常状態の全身暴露量 ($AUC: 441 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$, 添付資料: 5.3.3.5.5) と比較して, それぞれ 82 倍, 109 倍, 及び 47 倍以上高かった (ラット: 雄 300 mg/kg 及び雌 100 mg/kg [2.6.6.5.1 項参照], マウス: 500 mg/kg [2.6.6.5.2 項参照])。

レンボレキサントを用いたげっ歯類の毒性試験では, 肝の薬物代謝酵素誘導による適応性の肝細胞肥大及び甲状腺ろ胞上皮細胞の肥大が観察された。肝薬物代謝酵素誘導に関連して, げっ歯類特異的な肝及び甲状腺腫瘍の増加がよく知られているが, Tg rasH2 マウスの 26 週間がん原性試験並びにラットの 2 年間がん原性試験のいずれの試験においても, これらの腫瘍の増加は認められなかった。レンボレキサントと同じデュアルオレキシン受容体拮抗作用薬である市販薬のスボレキサントについては, 同様の肝及び甲状腺の非腫瘍性病変が認められており, 2 年間のラットがん原性試験では, これらの臓器で腫瘍発現頻度の増加が報告されている (DailyMed, 2016)。

スボレキサントを用いたラットの 2 年間がん原性試験においては, 全ての投与群で網膜萎縮の頻度の増加が報告されている (DailyMed, 2016)。一方, レンボレキサントのラットの 2 年間がん原性試験では, 投与 54, 77, 103 週に詳細な眼科学的検査を実施するとともに組織学的にも精査したが, 網膜萎縮の頻度増加はみられなかった。

レンボレキサントの生殖発生毒性について, 雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では, 投与に起因した生殖能及び初期胚発生への影響はいずれの用量でも認められなかった。雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では, 母体への毒性として 1000 mg/kg で摂餌量の低下を伴う体重減少がみられ, 帝王切開時に黄体数, 着床数及び生存胎児数の減少が認められた。また, 100 mg/kg 以上で性周期の不規則化及び受胎率の低下がみられた。オレキシンは視床下部-下垂体-性腺 (HPG) 軸を制御することが報告されており, これらの変化はレンボレキサントの薬理作用に関連したホルモンの変化によるものと考えられた (Porkka-Heiskanen, et al., 2004; Kohsaka, et al., 2001; Nurmio, et al., 2010; Silveyra, et al., 2010; Small, et al., 2003)。また, オレキシン受容体選択的拮抗薬である SB-334867-A (オレキシン 1 受容体選択的) 及び JNJ-10397049 (オレキシン 2 受容体選択的) の単独あるいは併用投与により, 発情前期のラットで性腺刺激ホルモン (黄体形成ホルモン及び卵胞刺激ホルモン) 及び排卵数が減少することから, オレキシンは排卵過程に何らかの影響を及ぼすことが示唆されている (Silveyra, et al. 2007)。しかし, レンボレキサントのマウス, ラット, サルを用いたいずれの反復投与毒性試験においても, 卵巣及びその他の雌性生殖器官に組織学的な変化は認められなかったことから, レンボレキサントによるホルモン等への影響は比較的軽微なものであると考えられた。雄ラットにおいてもオレキシンに関連したホルモンの変動が報告されている (Nurmio, et al., 2010), レンボレキサントの雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生