目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 11
2.6.6.4 遺伝毒性試験 21
2.6.6.5 がん原性試験（TK 評価を含む） 22
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及び TK 評価を含む） 25
2.6.6.7 局所刺激性試験 32
2.6.6.8 その他の毒性試験 32
2.6.6.9 考察及び結論 43
2.6.6.10 図表 50
2.6.6.11 参考文献 50

毒性試験の概要文の略号一覧表

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）
1-ABT	1-aminobenzotriazole	1-アミノベンゾトリアゾール
ACTH	adrenocorticotropic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
$AUC_{(0\text{-}24)}$	AUC from time zero to 24 hours	投与時から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
BSA	body surface area	体表面積
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DLT	dose limiting toxicity	用量制限毒性
DXA	dual energy X-ray absorptiometry	二重エネルギーX 線吸収測定法
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生
F0	parental generation	親世代
F1	first filial generation	第一世代
FEED	fertility and early embryonic development	受胎能及び着床までの初期発生
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
HD	high dose	高用量
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
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
MC	methylcellulose	メチルセルロース
MNU	*N*-nitroso-*N*-methylurea	*N*-ニトロソ-*N*-メチル尿素
MPE	mean photo effect	－
MRHD	maximum recommended human dose	ヒトにおける最高臨床推奨用量
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
ND	no data	データなし
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NZW	New Zealand White	－（ウサギ系統名）
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構

PAS	Periodic acid-Schiff	－
PPND	pre- and postnatal development	出生前及び出生後の発生
pQCT	peripheral quantitative computed tomography	末梢骨定量的コンピュータ断層撮影
S9	9000×g supernatant of homogenate	ホモジネート 9000×g 上清
SD	Sprague Dawley	－（ラット系統名）
Tg	transgenic	遺伝子組換え
TIBC	total iron binding capacity	総鉄結合能
tk	thymidine kinase	チミジンキナーゼ
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TMD	trimethadione	トリメタジオン
TTC	threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
UIBC	unsaturated iron binding capacity	不飽和鉄結合能

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

オレキシン受容体の拮抗薬であるレンボレキサントの毒性を評価するため，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，Sprague Dawley（SD）ラットを用いた 2 年間のがん原性試験，トランスジェニック（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。主要代謝物である ER-571792-00（以降，M10 と記載）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，カニクイザルの 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投与量はフリー体換算で記載し，特に記載しない限り，媒体は 1 mol/L 塩酸：0.5%メチルセルロース（MC）溶液（1:4, v/v）を用いた。

主要な試験は Good Laboratory Practice（GLP）及び関連するガイドラインに準拠して行った。全ての GLP 試験は経済協力開発機構（OECD）の化学品安全性データ相互受理システムに参加する国の実験施設で実施した。レンボレキサントは，アカゲザルを用いた依存性試験を除き，臨床での投与経路である経口投与を行った。レンボレキサントの毒性試験リストを表 2.6.6-1 に示した。

表 2.6.6-1　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	経口	ラット	否
単回投与（拡張型）	経口	ラット・カニクイザル	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
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

表 2.6.6 -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
光安全性試験			
探索光毒性試験 光毒性試験	in vitro in vitro	BALB/c 3T3 細胞 BALB/c 3T3 細胞	否 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（ 不純物A* ， 不純物B* ， 不純物C* ， 不純物D* ， 不純物E* ， 不純物F* ， 不純物G* ， 不純物H* ， 不純物I* ， 不純物J* ）を評価した。
d: ネズミチフス菌 TA100，TA1535，TA98，TA1537 及び大腸菌 WP2 *uvrA*。

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，軽度な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。

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），

*新薬承認情報提供時に置き換え

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，網状赤血球数の代償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，臨床レジメのヒトにおける最高臨床推奨用量（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。

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。

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生じ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）。

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。

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, 2014a; 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。

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。

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（2.7.2.2.2.2 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。

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されているか，あるいは TTC よりはるかに低い濃度であることを確認している。評価については 3.2.S.3.2 章を参照のこと。

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。

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（*Plasmodium 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。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラットにおける単回投与毒性試験（添付資料 4.2.3.1.1，試験番号 S10042［参考］）

SD ラットにおける単回投与毒性試験では，レンボレキサントを 0.5%MC 溶液に懸濁し，100，300 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のラット（3 例/性/群）に単回経口投与した。その結果，1000 mg/kg まで死亡はみられなかった。いずれの投与量においても，一般状態，体重，摂餌量，あるいは剖検で異常は認められなかった。

2.6.6.2.2 ラットにおける拡張型単回投与毒性試験（添付資料 4.2.3.1.2，試験番号 S10120）

SD ラットにおける拡張型単回投与毒性試験では，レンボレキサントを媒体に懸濁し，100，300 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のラット（10～15 例/性/群）に単回経口投与した。対照群（15 例/性/群）には媒体を投与した。動物は，投与翌日（10～12 例/性/群）あるいは 2 週間の観察終了後（対照群と 1000 mg/kg のみ，5 例/性/群）に剖検した。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられなかった。また，一般状態，体重，摂餌量，血液及び血液生化学的検査，剖検所見，病理組織学的検査においても薬物起因性の変化は認められず，呼吸器系及び中枢神経系に対する影響もみられなかった。投与翌日に剖検した動物では，1000 mg/kg の雄と 300 mg/kg 以上の雌で，血液・血液生化学的変化あるいは病理組織学的変化を伴わない肝重量の増加（対照群との比較で 12%～20%）がみられたが，これは酵素誘導に伴う適応性の変化であり，毒性学的な意義はないと考えられた。2 週間の観察期間終了後，異常はみられなかった。

トキシコキネティクス（TK）測定の結果を表 2.6.6-2 にまとめた。雄の C_{max} は，全ての投与量で同様の値であった。雌では 300 から 1000 mg/kg にかけて，投与量の増加に伴う C_{max} の上昇がみられたが，投与量の増加に比べて低かった。また，雌雄ともに 100 から 1000 mg/kg にかけて，投与量の増加に伴う投与時から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0-24)}$）上昇はみられたが，いずれも投与量の増加に比べて低いものであった。

表 2.6.6-2　ラット拡張型単回投与毒性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Male		Female	
	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
100	2460	11,028	3312	19,672
300	2720	28,639	2948	42,864
1000	3308	47,016	7332	95,753

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ values were obtained from the mean of 4 animals per time point.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.1.2（S10120）.

以上から，SD ラットにおける拡張型単回投与毒性試験の無毒性量は 1000 mg/kg（C_{max}：雌雄各 3308 及び 7332 ng/mL，$AUC_{(0-24)}$：雌雄各 47,016 及び 95,753 ng·h/mL）と考えられた。

2.6.6.2.3 サルにおける拡張型単回投与毒性試験（添付資料 4.2.3.1.3，試験番号 S10118）

カニクイザルにおける拡張型単回投与毒性試験では，レンボレキサントを媒体に懸濁し，100，300 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のサル（3～5 例/性/群）に単回経口投与した。対照群には媒体を投与した。動物は，投与翌日（3 例/性/群）あるいは 2 週間の観察終了後（対照群と 1000 mg/kg のみ，2 例/性/群）に剖検した。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられなかった。薬物起因性の変化は 1000 mg/kg のみで認められ，嘔吐は雌雄各 4 例で，軟便は雄 2 例で観察された。血清クロールの低下（投与前との比較で–17%）は，投与翌日に嘔吐と軟便のみられた雄 1 例で観察された。

300 mg/kg では，投与翌日に雄 1 例で嘔吐がみられたが，それ以外の臨床症状はみられず，血清中の電解質にも影響がなかったことから，毒性学的な意義は低いものと考えられた。レンボレキサントの薬理作用と関連すると思われる部分閉眼が，投与 4 時間後に 1000 mg/kg の雌雄各 2 例で観察された。投与翌日に剖検した動物では，いずれの投与量においても体重，摂餌量，血液学的検査，臓器重量，剖検所見，病理組織学的検査で薬物起因性の変化は認められなかった。また，2 週間の観察期間中，1000 mg/kg 投与群の動物に異常はみられなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-3 にまとめた。雌雄ともに 100 から 1000 mg/kg にかけて，投与量の増加に伴う C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$の上昇はみられたが，いずれも投与量の増加に比べて低いものであった。また，C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$に性差は認められなかった。

表 2.6.6-3　サル拡張型単回投与毒性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Male		Female	
	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
100	3166	46,688	4298	54,783
300	3839	68,057	4488	82,771
1000	5859	96,718	4890	85,200

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ values were obtained from the mean of 3 to 5 animals per time point.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.1.3（S10118）.

以上から，サルにおける拡張型単回投与毒性試験の無毒性量は 300 mg/kg（C_{max}：雌雄各 3839 及び 4488 ng/mL，$AUC_{(0-24)}$：雌雄各 68,057 及び 82,771 ng·h/mL）と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.3.1 マウスにおける 7 日間用量設定毒性試験（添付資料 4.2.3.2.1，試験番号 K12075［参考］）

ICR マウスにおける 7 日間用量設定毒性試験では，レンボレキサントを媒体で懸濁し，300，1000 及び 1500 mg/kg の投与量で雌雄のマウス（21 例/性/群）に 1 日 1 回経口投与した。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられなかった。1500 mg/kg では，投与 5～7 日にかけて雄 1 例と雌 2 例で体重減少と摂餌量低下がみられ，別の雌 1 例では活動性の低下，糞便量減少と鼻周囲の汚れがみられた。剖検では，雌雄各 1 例で肝肥大がみられた。1000 mg/kg 以下では，毒性学的意義のある変化はみられなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-4 にまとめた。雄では，300 から 1000 mg/kg にかけて C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は増加したが，投与量の増加に比べて低いものであり，1000 及び 1500 mg/kg の暴露量は同等であった。雌では，300 から 1500 mg/kg にかけて暴露量は同等であった。また，1000 mg/kg 以上において雄の暴露量は雌に比べてやや高かった（2.1 倍以下）。

表 2.6.6-4　マウス 7 日間反復投与毒性試験における TK パラメータ（用量設定試験）

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
300	7	3292	43,899	3935	56,253
1000	7	8668	109,747	4368	52,381
1500	7	7959	106,757	4973	63,686

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ values were obtained from mean of 3 animals per time point.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.1（K12075）.

2.6.6.3.2 NonTg rasH2 マウスにおける 4 週間 TK 及び用量設定毒性試験（添付資料 4.2.3.2.2 及び 4.2.3.2.3，試験番号 K14036 及び K14035）

CB6F1-nonTg rasH2 マウスにおける 4 週間用量設定毒性試験では，レンボレキサントを媒体に懸濁し，0，100，300 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のマウス（K14036 における毒性評価群：10 例/性/群，K14035 における TK 群：25 例/性/群）に 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられなかった。1000 mg/kg の雌雄と 300 mg/kg の雌では，体重の増加（対照群との比較で最大+6%），肝重量の増加（対照群との比較で最大 1.8 倍），ALT の上昇（対照群との比較で最大 2 倍）がみられた。1000 mg/kg の雌雄では，小葉中心性肝細胞肥大が認められ，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）。

TK 測定の結果を表 2.6.6-5 にまとめた。雌の C_{max} は，100，300，1000 mg/kg の雄の C_{max} のそれぞれ 1.6 倍，1.3 倍，1.4 倍高値を示した。雌の $AUC_{(0-24)}$ も同様に雄よりも 2.2 倍，1.3 倍，1.1 倍高値を示した。100 から 1000 mg/kg にかけて，投与量の増加に伴う C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ の上昇はみられたが，いずれも投与量の増加に比べて低いものであった。

表 2.6.6-5　CB6F1-nonTg ras H2 マウスの 4 週間反復投与 TK 試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
100	28	1117	8299	1826	18,328
300	28	1460	20,692	1946	27,272
1000	28	3628	52,509	5026	55,877

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ values were obtained from mean of 4 animals per time point.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.3（K14035）.

2.6.6.3.3 ラットにおける 7 日間用量設定毒性試験（添付資料 4.2.3.2.4，試験番号 S10043［参考］）

SD ラットにおける 7 日間用量設定毒性試験では，レンボレキサントを 0.5 %MC 溶液で懸濁し 0，100，300 及び 1000 mg/kg の用量で雌雄のラット（3 例/性/群）に 1 日 1 回 7 日間経口投与した。その結果，いずれの投与量においても死亡はみられなかった。雄では，いずれの用量においても毒性学的に意義のある変化はみられなかった。雌の 1000 mg/kg では，投与 5～7 日にかけて軽度の摂餌量減少，血清総コレステロールの軽度な上昇（対照群の 1.6 倍），軽度な肝重量増加（対照群の 1.5 倍）がみられた。いずれの投与量においても，一般状態，体重，血液学的検査，肝薬物代謝酵素量，剖検所見，病理組織学的検査で薬物起因性の変化は認められなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-6 にまとめた。投与 1 及び 7 日の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は雌の方が雄よりも高かった。雄では，投与初日の 100 から 300 mg/kg にかけて，投与量の増加以上に C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$の上昇がみられたが，300 から 1000 mg/kg にかけては，投与量の増加に比べて低いものであった。雌では，投与初日の 100 から 1000 mg/kg にかけて，投与量の増加に伴う C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$の上昇はみられたが，いずれも投与量の増加に比べて低いものであった。7 日間反復投与により，C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は投与初日よりも増加した。

表 2.6.6-6　ラット 7 日間反復投与毒性試験における TK パラメータ（用量設定試験）

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
100	1	98.1	656.8	617.1	3384.3
	7	347.1	1815.5	762.0	4910.5
300	1	800.0	4006.4	1161.1	11,454.2
	7	983.8	5095.8	2670.3	24,255.7
1000	1	1018.7	4970.4	2037.2	19,778.0
	7	2844.7	25,538.9	4509.9	46,303.5

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ values were obtained from mean of 3 animals per time point.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.4（S10043）.

2.6.6.3.4 ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.5，4.2.3.2.6 及び 4.2.3.2.7，試験番号 K11004，K12012 及び K13044）

SD ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験では，レンボレキサントを媒体に懸濁し，30，100 及び 1000 mg/kg の投与量で（10 例/性/群）反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。動物は 4 週間反復投与後に剖検した。TK 測定群では，ラット（4 例/性/群）にレンボレキサント若しくは媒体を同様に投与した。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられず，一般状態，眼科学的検査及び尿検査で薬物起因性の変化は認められなかった。雌の 1000 mg/kg で，摂餌量の減少を伴う体重増加抑制（対照群との比較で–23%）がみられ，二次的変化として網状赤血球数の減少，腎前性の尿素窒素の増加，骨髄の造血細胞の減少及び胸腺のリンパ球減少が観察された。これらの動物では，

さらに肝重量の増加（対照群平均の 2 倍），軽度の小葉中心性肝細胞肥大，総タンパク（1.2 倍）及び総コレステロール（2.5 倍）の増加がみられた。雄の全ての用量と雌の 100 mg/kg 以下で，異常はみられなかった。

肝細胞肥大が認められたため，別試験として，肝薬物代謝酵素（チトクローム P450［CYP］1A2，CYP3A1，CYP3A4）特異的抗体を用いて，対照群と 1000 mg/kg 群（雌 3 例/群）の肝における免疫組織学的評価を行った。その結果，レンボレキサント投与群では，中等度～重度の肝酵素誘導が認められた。

ラットにおける 13 及び 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5 ）で骨に対する影響が観察されたことから，本試験のサンプルを用いて，別試験として骨（大腿骨及び胸骨）の病理組織学的な再評価を行った。その結果，1000 mg/kg の大腿骨でフッ素蓄積に起因する非常に軽度な色素沈着がみられた。本変化は，骨格筋系の障害を伴っておらず，100 mg/kg 以下の大腿骨や全用量の胸骨において病変は認められなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-7 にまとめた。C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$には性差が認められ（雌>雄），特に 30 mg/kg で顕著であった。雌の C_{max} を除き，30 から 100 mg/kg にかけて，雌雄の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は投与量の増加以上に上昇した。一方，100 から 1000 mg/kg にかけては，雌雄の各パラメータの上昇は投与量の増加に比べて低いものであった。4 週間反復投与によって，C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$の明らかな変化は認められなかった。

表 2.6.6-7　ラット 4 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
30	1	351	824	1369	3301
	8	380	1181	1409	3130
	28	352	1541	1867	3981
100	1	1762	11,094	2537	18,058
	8	2235	11,987	4119	21,333
	28	1792	13,206	4456	25,873
1000	1	2973	38,084	3951	62,795
	8	3727	44,857	8018	128,515
	28	4222	51,901	7025	88,431

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ were obtained from the mean of 4 rats per time point.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.5（K11004）.

以上から，ラットにおけるレンボレキサントの 4 週間経口反復投与により，主に雌の 1000 mg/kg で摂餌量減少を伴う体重増加抑制，肝重量の増加とそれに関連した臨床検査項目の変化を伴う適応性の肝細胞肥大が認められた。無毒性量は，雄で 1000 mg/kg，雌で 100 mg/kg で，雌雄で平均の C_{max} と $AUC_{(0-24)}$はほぼ同じであった。

2.6.6.3.5 ラットにおける 13 及び 26 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.8，試験番号 K12033）

SD ラットにおける 13 及び 26 週間経口反復投与毒性試験では，レンボレキサントを媒体で懸濁し，30，100 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のラットに 13 週間（10 例/性/群）あるいは 26 週間（12 例/性/群）反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。全生存動物は各投与期間終了後に剖検した。TK 測定群では，ラット（4 例/性/群）にレンボレキサント若しくは媒体を同様に投与した。

その結果，いずれの投与量においても眼科学的検査及び尿検査において投与に起因した変化はみられず，投与開始後 13 週間までに投与に関連した死亡はみられなかった。1000 mg/kg では投与 127～153 日にかけて瀕死若しくは人道的理由から雄 1 例と雌 3 例を安楽殺した。安楽殺した雄 1 例と雌 2 例に骨折が認められた。また，1000 mg/kg において認められた投与に起因した一般状態の変化は，投与 36 日（雌）あるいは 50 日（雄）以降の切歯の白色化（全体若しくは帯状），投与 13 週までの活動性の低下（雌），口周囲の汚れ（雄），無便（雌雄）であった。1000 mg/kg では，散発的な摂餌量減少を伴う軽度の体重減少が雌では投与 36 日以降，雄では投与 106 日以降（対照群と比較して雄で最大–6.9%，雌で最大–8.2%）にみられた。投与に起因した変化は 13 週間及び 26 週間反復投与群において主として骨と歯に認められた。大腿骨及び脛骨では，病理組織学的検査で骨梁及び成熟層板骨の減少が雌雄にみられ，雌では二重エネルギーX 線吸収測定法（DXA）で骨密度の減少が認められた。大腿骨及び脛骨における成熟層板骨の減少は 13 週間及び 26 週間反復投与群の 1000 mg/kg の雌雄にみられ，大腿骨及び脛骨における骨梁の減少は 13 週間反復投与群の 1000 mg/kg の雌，26 週間反復投与群の 1000 mg/kg の雌雄（雄は大腿骨のみ）で認められた。これらの変化は雌雄で血清カルシウムの増加と雌の血清鉄（26 週間のみ測定）の減少を伴っていたが，血清中の骨形成及び骨吸収マーカーの変動はみられなかった。切歯では，病理組織学的検査でエナメル芽細胞の鉄色素顆粒の減少及び変性が 13 週間反復投与群で認められ，26 週間反復投与群ではその頻度や程度が増加していた。

肝薬物代謝酵素誘導に関連した適応性変化として，13 週間及び 26 週間反復投与群の 100 及び 1000 mg/kg の雌雄で肝重量の増加，1000 mg/kg の雌雄で肝細胞肥大及び甲状腺濾胞上皮細胞の肥大（雌のみ）がみられ，13 週間反復投与群の 100 及び 1000 mg/kg の雄と 26 週間反復投与群の 100 及び 1000 mg/kg の雌雄で血清総タンパクの増加，13 週間反復投与群の 1000 mg/kg の雌雄と 26 週間反復投与群の 100 mg/kg の雌と 1000 mg/kg の雌雄で血清総コレステロールの増加がみられた。また，組織学的変化を伴わない副腎重量の減少が 26 週間反復投与群の雌の 1000 mg/kg で認められた。その他に 13 週間及び 26 週間反復投与群の 1000 mg/kg では雌雄で軽度なヘモグロビン濃度の減少，雌雄で軽度なヘマトクリット，平均赤血球容積［MCV］，平均赤血球ヘモグロビン量［MCH］の減少，雌で反応性の網状赤血球の増加（26 週のみ），雌で白血球数の増加及び血清カリウムの増加，雌雄で血清尿素窒素の増加，雄で活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長がみられた。これらの変化に加え，病理組織学的検査で，フッ素蓄積に起因すると考えられる骨の皮質骨内側及び骨梁の好塩基性～褐色の小球/顆粒状の色素沈着が全ての投与群でみられた。色素沈着は，大腿骨では 13 週間反復投与群の 30 mg/kg の雄及び 100 及び 1000 mg/kg の雌雄で，26 週間反復投与群の 30，100 及び 1000 mg/kg の雌雄で，脛骨では 13 週間及び 26 週間反復投与群の 100 及び 1000 mg/kg の雌雄で，胸骨では 13 週間反復投与群の

1000 mg/kg の雌と 26 週間反復投与群の 100 及び 1000 mg/kg の雌雄で，歯槽骨では 13 週間反復投与群の 100 mg/kg の雄，1000 mg/kg の雌雄と 26 週間反復投与群の 1000 mg/kg の雌雄でみられた。色素沈着は概して用量及び投与期間依存的に認められた。同様の色素沈着は切歯の象牙質では 13 週間反復投与群の 100 mg/kg の雄と 1000 mg/kg の雌雄，26 週間反復投与群の 100 及び 1000 mg/kg の雌雄で，臼歯の象牙層では 13 週間反復投与群の 1000 mg/kg の雌雄と 26 週間反復投与群の 1000 mg/kg の雌にもみられた。この色素はベルリン青染色（鉄染色）及び Periodic acid-Schiff（PAS）反応で陽性であった。

100 mg/kg では骨と歯において類似の変化が認められたものの，より軽度であり，主に 26 週間反復投与群の雌のみで認められた。また，100 mg/kg では軽度なヘモグロビン濃度，ヘマトクリット，MCV，MCH の減少が雄で，血清カルシウムの増加が雌雄で 13 週間反復投与群にみられたが，26 週間反復投与群では血清カルシウムの増加が雌でみられたのみであった。また，雌雄の肝重量の増加と雌の副腎重量の減少が 13 及び 26 週間反復投与群でみられた。30 mg/kg では，軽度の骨の色素沈着がみられ、また雄 1 例で切歯の白色化が投与 176 日からみられたが，組織学的変化は伴っていなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-8 にまとめた。C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は性差があり（雌>雄），雌の C_{max} と $AUC_{(0-24)}$は雄と比較してそれぞれ最大 2.9 倍及び 4.0 倍高かった。雌の C_{max} を除き，30 から 100 mg/kg にかけて，雌雄の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は投与量の増加以上に上昇した。一方，100 から 1000 mg/kg にかけては，雌雄の各パラメータの上昇は投与量の増加に比べて低かった。雄の 1000 mg/kg を除き，反復投与により C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$の増加が認められた。

表 2.6.6-8　ラット 13 及び 26 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
30	1	371	609	955	1886
	92	662	2195	1829	5207
	183	690	2330	1543	5335
100	1	1816	10,233	2711	16,661
	92	2650	21,470	3667	21,971
	183	2597	18,015	5230	26,486
1000	1	4151	67,457	7461	115,969
	92	4819	56,749	10,811	168,962
	183	4798	60,697	13,906	240,344

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ were obtained from the mean of 4 rats per time point.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.8（K12033）.

以上から，ラットにおけるレンボレキサントの 13 及び 26 週間反復経口投与により，1000 mg/kg で体重増加量，摂餌量，赤血球系パラメータの軽度減少が認められた。1000 mg/kg

の投与 19～22 週において骨折が雄 1 例，雌 2 例でみられた。骨の組織学的な構造の変化若しくは骨密度の減少及び切歯エナメル芽細胞の組織学的変化が雌の 100 mg/kg 以上と雄の 1000 mg/kg でみられた。30 mg/kg の数例で骨の色素沈着若しくは歯の白色化がみられたが，組織の構造的な変化を伴わなかったため，毒性学的な意義はほとんどないと考えられた。骨，歯の構造的変化及び骨密度の減少は毒性変化と考えられたが，毒性発現機序に関する試験（2.6.6.8.1 項参照）より，これらの事象はげっ歯類特異的な代謝に伴うフッ素蓄積に起因する変化であり，ヒトへの外挿性がない事象であることが示された。無毒性量は雄では 100 mg/kg，雌で 30 mg/kg と考えられた。

2.6.6.3.6 サルにおける 4 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.9，試験番号 SBL038-055）

カニクイザルにおける 4 週間反復投与毒性試験では，レンボレキサントを媒体で懸濁し，30，100 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のカニクイザル（4 例/性/群）に 4 週間反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。4 週間の投与期間終了後，全生存動物について剖検を実施した。

いずれの群にも死亡はみられず，体重・摂餌量・眼科学的検査・心電図検査において異常はみられなかった。嘔吐の頻度増加が 100 及び 1000 mg/kg 群それぞれの雄全例，雌 3 例にみられた。軽度で一過性の流涎が 100 mg/kg 群の雄及び 1000 mg/kg 群の雌雄で投与直後にみられた。これらの他に，レンボレキサントの薬理作用に起因した一般状態変化として，横臥位が 30 mg/kg 群の雄 1 例，鎮静及び座位が 1000 mg/kg の雄 2 例，部分閉眼及び傾眠が 1000 mg/kg の雄 1 例で，いずれも投与約 4 時間後までみられた。赤血球数（投与開始前に比較して−15%から−12%）・ヘマトクリット値（−15%から−8%）・ヘモグロビン濃度（−18%から−14%）の減少，網状赤血球数の増加（投与開始前の 1.8 倍）などの赤血球パラメータの軽度の変化が 1000 mg/kg 群でみられた。30 mg/kg 群では雌雄ともに毒性学的に意義のある変化はみられなかった。1000 mg/kg 群の雄 1 例において，薬物との関連性が不明の糸球体腎症，肺血栓，皮下浮腫，大腸における炎症とそれに関連した尿中蛋白質の増加，血中アルブミンの減少，血中尿素窒素の上昇，電解質バランスの異常，血中コレステロールの増加などの臨床病理パラメータの変化がみられた。同じ投与量で実施した 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験において，同様な変化はみられていないことから，本個体においてみられた変化は偶発性であると判断された。

TK 測定の結果を表 2.6.6-9 に示した。それぞれのパラメータにおいて個体差がみられたものの概ね次の傾向にあった。C_{max} は 30 から 100 mg/kg の間で雌雄とも用量比以下の増加であったが，$AUC_{(0-24)}$は用量依存性に増加した。100 及び 1000 mg/kg 群の C_{max} 並びに $AUC_{(0-24)}$は，雌雄で同程度であった。1000 mg/kg 群の 28 日目の $AUC_{(0-24)}$を除き，反復投与によって C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は増加傾向を示した。

表 2.6.6-9　サル 4 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
30	1	2249	17,627	1995	10,537
	7	3635	29,735	2774	19,230
	28	3314	27,335	3031	18,192
100	1	3312	43,734	3878	44,880
	7	6289	85,738	4849	55,867
	28	7165	70,446	8500	80,856
1000	1	3362	64,655	3226	48,143
	7	6590	106,448	7737	125,210
	28	5611	88,409	3945	39,299

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ are shown as the mean values of 4 animals.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.9（SBL038-055）.

以上から，サルにおけるレンボレキサントの 4 週間反復投与により，嘔吐及び赤血球パラメータの減少が 1000 mg/kg 群でみられた。100 mg/kg 群では嘔吐及び軽度の流涎がみられた。本試験における無毒性量は 30 mg/kg であった。

2.6.6.3.7 サルにおける 13 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.10，試験番号 SBL038-067）

カニクイザルにおける 13 週間反復投与毒性試験では，レンボレキサントを媒体で懸濁し，20，100 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のカニクイザル（4 例/性/群）に 13 週間反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。100 mg/kg 群の雄 1 例は，投与 41 日で投与過誤により死亡したが，その他の全生存動物については 13 週間の投与期間終了後，剖検した。

いずれの投与量においても薬物投与に起因した死亡は認められなかった。また，摂餌量・尿検査・眼科学的検査・心電図検査においても薬物投与に起因した異常はみられなかった。1000 mg/kg において，投与 2 日目の約 4 時間後に雌雄各 1 例で薬理作用に基づく鎮静及び座位が認められた。また，嘔吐や流涎の頻度増加が 100 及び 1000 mg/kg でみられた。さらに，マラリア症が顕著であった 1000 mg/kg の雄 1 例を除き，赤血球数（投与開始前に比較して最大–28%）・ヘマトクリット値（最大–21%）・ヘモグロビン濃度（最大–27%）の減少と網状赤血球数の増加（3.6 倍）といった軽度の赤血球パラメータの変化が 100 mg/kg 以上でみられた。また，反応性の赤血球造血亢進を示唆するハウエル・ジョリー小体あるいは赤芽球が 100 mg/kg 以上の群の数例の動物にみられた。トリグリセリドの増加（1.7 から 16.1 倍）及び肝重量の増加が 1000 mg/kg 群でみられた。20 mg/kg 群では雌雄ともに特筆すべき変化はみられなかった。1000 mg/kg の雄 1 例では活動性の低下が投与 91 日と 92 日にみられ，体重も減少した。この個体ではマラリア原虫（*Plasmodium spp.*）が末梢血赤血球中に確認され，マラリア症に関連する典型的な所見（好酸球増加，肝及び脾の暗色調及び肥大，脾，肝及び骨髄における顕著なマラリ

ア色素沈着）を伴った重度の貧血（赤血球：−85%）がみられた。100 mg/kg 以上では，末梢血のマラリア原虫，脾，肝及び骨髄におけるマラリア色素沈着の頻度及び程度の増加が用量依存的にみられた。対照群においても脾に軽度のマラリア色素沈着がみられたことから，この試験に用いた複数の動物では，マラリア原虫に不顕性に感染していたものと考えられた。

TK 測定の結果を表 2.6.6-10 に示した。雌雄の C_{max} は，20 から 1000 mg/kg にかけて上昇したが，投与量の増加に比べて低いものであった。雌雄の $AUC_{(0-24)}$は，20 から 100 mg/kg まで投与量の増加にほぼ伴い上昇し，100 から 1000 mg/kg の間ではその上昇は投与量の増加に比べ低かった。C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$には明らかな性差は認められなかった。投与 56 日と 91 日の 1000 mg/kg の雌の $AUC_{(0-24)}$を除き，連投により雌雄の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は増加した。

表 2.6.6-10　サル 13 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
20	1	1185	7805	1070	5299
	28	2246	15,524	1761	11,628
	56	2459	17,355	2476	14,667
	91	2655	19,696	2171	12,795
100	1	3354	56,623	2745	20,705
	28	6444	74,099	8438	68,539
	56[a]	6268	69,769	9978	80,375
	91[a]	6680	72,183	6871	56,480
1000	1	5906	103,650	3842	72,601
	28	7223	111,759	6050	94,490
	56	9473	165,788	4756	58,294
	91	8660	132,720	4887	70,875

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ are shown as the mean values of 4 animals.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
a: For males, n=3 as a result of the accidental death of 1 male on Day 41.
出典：添付資料 4.2.3.2.10（SBL038-067）.

以上から，サルにおけるレンボレキサントの 13 週間反復投与により，100 mg/kg 以上で嘔吐，流涎，軽度の赤血球パラメータの減少がみられた。マラリア原虫による極度の貧血と臨床症状が 1000 mg/kg の雄 1 例にみられた。マラリア症や関連した病理組織学的変化が 100 及び 1000 mg/kg 群の他の動物でもみられたが，in vitro の実験でレンボレキサントはマラリア原虫の成長を促進せず，高濃度ではむしろ抑制したことから，これらの変化はレンボレキサントの投与に直接起因したものではないと考えられた。以上から，サルにおける 13 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，雌雄いずれも 20 mg/kg と考えられた。

2.6.6.3.8 サルにおける 39 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.11，試験番号 6700074）

カニクイザル（マラリア陰性）における 39 週間経口反復投与毒性試験では，レンボレキサントを媒体に懸濁し，10，100 及び 1000 mg/kg の投与量で雌雄のサル（4 例/性/群）に経口投与した。対照群には媒体を投与した。全ての動物は 39 週間の投与期間後に剖検した。

投与に起因する死亡はなかった。どの用量においても体重，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，凝固検査及び末梢血の顆粒球機能に影響は認められなかった。100 mg/kg 以上では散発的な嘔吐及び便の異常が認められたが，動物の全身健康状態に影響がなかったため毒性学的意義はないと考えられた。10 mg/kg 以上では薬理作用に起因する活動性の低下及び傾眠が認められた。

100 mg/kg 以上では軽度の赤血球数（投与開始前と比較して最大–15%），ヘモグロビン濃度（最大–17%），ヘマトクリット値（最大–15%）の減少並びに網状赤血球数の増加（最大 2.3 倍）を伴う赤血球系パラメータの変化がみられた。その他，血清トリグリセリド（最大 5.7 倍）及びリン（最大 1.4 倍）の増加がみられた。また，尿中フッ素排泄量の増加（最大 12.3 倍）も認められた。鉄代謝の変化を示唆する所見として 100 mg/kg 以上の雌雄で総鉄結合能の増加，100 mg/kg の雌と 1000 mg/kg の雌雄で不飽和鉄結合能の増加，100 mg/kg の雌雄と 1000 mg/kg の雄で血清鉄の軽度増加が認められた。鉄代謝の変化は，全身のフッ素量が増加したこと（Noritake, 2014b），赤血球の代謝回転が亢進したことなどが関連すると考えられた。。

投与に起因する病理組織学的変化は脾，骨髄，肝及び大腿骨のみにみられた。100 mg/kg 以上で脾におけるうっ血を伴うヘモジデリン沈着の増加，骨髄では造血亢進及びヘモジデリン沈着の増加が認められた。血液学的検査の結果からも，赤血球の造血亢進が示唆された。肝では，100 mg/kg 以上で用量依存的に重量が増加し，1000 mg/kg の肉眼検査で肝肥大及び暗色調，組織学的検査で肝細胞の肥大が認められた。大腿骨においては 1000 mg/kg で骨梁にフッ素由来の色素沈着が確認された（Baylink and Bernstein, 1967; Lindemann, 1957; Lindemann, 1975; Lindemann and Nylen, 1979）が他の形態学的な変化は認められず，骨密度，骨構造及び骨代謝マーカーの変化もみられなかった。

10 mg/kg の雌 1 例，100 mg/kg の雄 2 例で，サイトカイン放出の亢進，ナチュラルキラー細胞の数及び活性の低下，あるいはヘルパーT 細胞数の減少が認められ，100 mg/kg の雄 1 例に病理組織学的検査で背景病変としてよくみられる炎症性の変化があったが，陰性対照群を含めて個体間のばらつきが大きいこと，明らかな用量相関が無いこと，発現頻度が低いことから，薬物投与との関連性は不明であった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-11 にまとめた。レンボレキサントの血中暴露量は投与量の増加に伴い上昇したが，投与量増加に比べて低かった。投与 269 日の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は，投与 1 日と比較して概ね増加していたが，一部の動物では増加を示さなかった。また，明らかな性差は認められなかった。

表 2.6.6-11　サル 39 週間毒性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
10	1	584	2850	506	2650
	85	1280	6670	763	4370
	269	960	5510	1160	4970
100	1	1880	28,000	3780	34,600
	85	5580	48,000	6600	54,800
	269	6930	82,900	8660	82,800
1000	1	4250	70,700	3640	53,500
	85	5480	75,900	4590	56,500
	269	9620	155,000	6930	98,200

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ are shown as the mean values (n=4).
$AUC_{(0-24)}$ = AUC time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.2.11（6700074）.

以上から，サルにおけるレンボレキサントの 39 週間経口投与により，10 mg/kg 以上で薬理作用に起因する活動性の低下や傾眠が認められた。100 mg/kg 以上では，便の異常及び嘔吐が散発的に認められたが，動物の全身健康状態に影響はなかった。網状赤血球の増加と脾の病理組織学的変化を伴う赤血球系パラメータの低下，肝細胞肥大も認められた。また，投与量依存的な尿中フッ素排泄量の増加が認められ，1000 mg/kg でのみ大腿骨にフッ素由来の色素沈着がみられたが，骨への影響を示すその他のパラメータや組織構造には影響がなかった。サルにおける 39 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，雌雄いずれも 10 mg/kg と考えられた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

レンボレキサントの遺伝毒性を評価するため，標準的組合せの in vitro 試験として細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験），マウスリンフォーマ試験，in vivo 試験としてラットを用いた小核試験を実施した。

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（添付資料 4.2.3.3.1.1，試験番号 S11002）

レンボレキサントの復帰突然変異試験では，ネズミチフス菌（TA100，TA1535，TA98，TA1537）及び大腸菌 WP2 *uvrA*（pKM101）を用いてプレインキュベーション法により Ames 試験を実施した。用量設定試験（39～5000 µg/plate）及び主試験（313～5000 µg/plate）は，それぞれ陰性及び陽性対照を設定し，代謝活性化（ラット肝ホモジネートの 9000×g 上清［S9］mix）の存在下及び非存在下で実施した。復帰変異コロニー数を数えて評価を行った。細胞毒性は，陰性対照と比較して，復帰変異コロニー数あるいは細菌のバックグラウンドローンの減少により評価した。また，被験物質の沈殿の有無も評価した。

用量設定試験と主試験において，細胞毒性は S9 mix 非存在下及び存在下のいずれにおいても

みられなかった。被験物質の沈殿は，S9 mix 非存在下では 625 μg/plate 以上，S9 mix 存在下では 1250 μg/plate 以上でみられた。

いずれの菌株についても復帰変異コロニー数の増加は S9 mix 非存在下及び存在下で 5000 μg/plate まで認められなかった。これらの結果は，用量設定試験及び主試験で再現された。

以上から，レンボレキサント（39～5000 μg/plate）は，ネズミチフス菌の TA100，TA1535，TA98，TA1537 及び大腸菌 WP2 *uvrA*（pKM101）において，S9 mix の有無にかかわらず，突然変異誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.2 マウスリンフォーマ *Tk* 試験（添付資料 4.2.3.3.1.2，試験番号 K11008）

チミジンキナーゼ遺伝子座 $tk^{+/-}$をヘテロ接合体としてもつマウスリンフォーマ L5178Y $tk^{+/-}$細胞を用いた変異原性試験を，1）代謝活性化系（S9 mix）の存在下あるいは非存在下での 3 時間の短時間処理法，2）S9 mix 非存在下での 24 時間の連続処理法の両処理条件下で実施した。

用量設定試験は，レンボレキサント 1.56～400 μg/mL の用量で，主試験は 10～200 μg/mL の用量で実施した。S9 mix 存在下の陽性対照にはシクロフォスファミド水和物，S9 mix 非存在下の陽性対照にはメチルメタンスルホン酸を用いた。陰性対照には媒体であるジメチルスルホキシドを用いた。

用量設定試験において，3 時間の短時間処理法では S9 mix の存在下及び非存在下で，レンボレキサントのいずれの濃度でも著しい細胞毒性は認められなかったものの，200 μg/mL 以上で沈殿がみられた。S9 mix 非存在下の 24 時間の連続処理法では 100 μg/mL で顕著な細胞毒性（80%以上）がみられた。

その結果，S9 mix 存在下あるいは非存在下での短時間処理法及び S9 mix 非存在下での連続処理法のいずれの処理条件下においても，突然変異頻度の有意な増加はみられなかった。

以上から，レンボレキサントは，マウスリンフォーマ *tk* 試験において，S9 mix 存在下及び非存在下で突然変異誘発作用あるいは染色体異常誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.3 ラットにおける小核試験（添付資料 4.2.3.3.2.1，試験番号 K11011）

レンボレキサントの 500，1000 及び 2000 mg/kg を雄の SD ラット（5 例／群）に単回経口投与した。対照群には等量の媒体を投与した。陽性対照群には 10 mg/kg のシクロフォスファミドを投与した。レンボレキサント投与の 24 あるいは 48 時間後に骨髄を採取し，小核を有する多染性赤血球の誘発頻度と多染性赤血球数率の測定を行った。また，死亡，一般状態，体重，摂餌量も評価した。

その結果，いずれの投与量においても，一般状態，体重に影響はみられなかったが，2000 mg/kg の 1 例で投与 2 日後に摂餌量の軽度な減少がみられた。小核を有する多染性赤血球の頻度あるいは全赤血球数における多染性赤血球数の割合は，レンボレキサントと陰性対照群の間に有意な差はなかった。

以上から，レンボレキサントのラット小核試験は陰性であった。

2.6.6.5 がん原性試験（TK 評価を含む）

ラットを用いた 2 年間がん原性試験における用量設定は，ラットにおける 13 週及び 26 週間

反復投与毒性試験（2.6.6.3.5 項参照）での毒性学的エンドポイントに基づき設定し，CB6F1-Tg rasH2 マウスにおける 26 週間がん原性試験では，non-Tg マウスにおける 4 週間用量設定毒性試験（2.6.6.3.2 項参照）での MTD に基づき設定した。

2.6.6.5.1 ラットを用いたがん原性試験（添付資料 4.2.3.4.1.1，試験番号 K13092）

SD ラットにおける 2 年間がん原性試験では，レンボレキサントを媒体に懸濁し，雄ラットに 30，100 及び 300 mg/kg，雌ラットに 10，30 及び 100 mg/kg（60 例/性/群）を 104 週間反復経口投与した。対照群は 2 群設定し，媒体を投与した。全生存例を 104 週間投与後に剖検した。TK 測定のため，ラット（4 例/性/群）にレンボレキサント若しくは媒体を同様に投与した（26 週まで）。

その結果，雌雄いずれの投与量においても，良性あるいは悪性腫瘍の増加はみられなかった。104 週間投与後の生存率は，全ての群で雌雄ともに 65%以上であり，いずれの群においても腫瘍に関連する死亡の増加はみられなかった（表 2.6.6-12）。また，高用量群の雄において，投与 1 年後から，統計学的に有意な体重の低値（投与 728 日で 2 つの対照群の平均値と比較して–11%）が認められたが，摂餌量の変化はみられなかった。軽微な一般状態の変化として，雌の 10 mg/kg 以上で尾の痂疲，雄の 300 mg/kg 及び雌の 100 mg/kg で胼胝の発現頻度の増加が認められた。既に販売されているオレキシン受容体阻害剤であるスボレキサントでは，ラット 2 年間試験で網膜萎縮が報告されている（Daily Med, 2016）が，レンボレキサントを投与したラットでは眼科学的あるいは組織学的検査のいずれにおいても同様の変化は認められなかった。

表 2.6.6-12　ラット 2 年間がん原性試験における生存率

Sex	**Male**					**Female**				
Group No.	**00**	**01**	**03**	**04**	**05**	**00**	**01**	**02**	**03**	**04**
Dose (mg/kg)	**0**	**0**	**30**	**100**	**300**	**0**	**0**	**10**	**30**	**100**
No. of animals assigned	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**
26 weeks [a]	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0
52 weeks [a]	0	3	1	0	2	1	2	0	0	1
78 weeks [a]	2	5	2	7	7	1	4	1	2	2
Terminal [a]	15	18	13	20	17	15	17	7	9	9
Number of survivors	45	42	47	40	43	45	43	53	51	51
Survival rate (%)	75.0	70.0	78.3	66.7	71.7	75.0	71.7	88.3*	85.0	85.0

a: Shown as cumulative number of animals that died or sacrificed moribund (including humane reasons).
*: $P<0.05$ (significantly different from the control group [Group 00 plus Group 01], log-rank test).
出典：添付資料 4.2.3.4.1.1（K13092）.

投与 113 日から，対照群を含む全ての投与群で間代性痙攣が認められた（ラットの 26 週試験では，投与 185 日まで観察したが，最高用量の 1000 mg/kg まで痙攣はみられていない）。雄 30 mg/kg の発現頻度は，最高用量群を含めた他の群よりも高頻度であった。痙攣の持続時間は通常 30 秒以内であり，ケージ移動，投与や一般状態観察時の保定などの外部刺激が引き金となり発現することが多かった。発現頻度に用量相関性はなく，所見の特徴は対照群を含む全ての投与群で共通であったことから，本試験で認められた間代性痙攣は，ラットの長期試験で発現することが知られている自然発生性の痙攣であると考えられた（Satomoto, 2012）。

レンボレキサントの代謝過程で生じるフッ化物イオンに関連した変化として，全投与群で歯

の白色化が，雄の 300 mg/kg で四肢の腫脹及び切歯の歯折頻度の増加がみられた。病理組織学的検査では，全用量で骨並びに切歯において，フッ素に起因する色素の沈着，100 mg/kg 以上で用量依存的なエナメル芽細胞の変性，雄の 300 mg/kg で手足の骨における骨フッ素症がみられた。骨フッ素症は，踵や趾関節の炎症，外骨腫症を含めた骨の増生等を特徴とする病変で，骨組織への色素沈着の増加を伴っていた。雄の 100 mg/kg 以上及び雌の 30 mg/kg 以上で，肝薬物代謝酵素誘導に伴う用量依存的な小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。下垂体並びに乳腺腫瘍の減少が雌の 100 mg/kg で，副生殖器及び乳腺の萎縮が雄の 300 mg/kg で認められた。これらの変化は，本薬の肝薬物代謝酵素誘導作用，又は視床下部-下垂体-性腺（HPG）軸に対するオレキシン受容体阻害を介した薬理作用によって生じた内分泌環境の変化によると考えられた（Silveyra, et al., 2010）。

TK 測定の結果を，表 2.6.6-13 にまとめた。C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$において，性差が認められた（雌>雄）。雄の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は，30 から 100 mg/kg で用量比以上に増加し，100 から 300 mg/kg では投与量の増加に比べて低い増加であった。雌の C_{max} は投与量がともに増加したが，$AUC_{(0-24)}$は 10 から 100 mg/kg で投与量比以上に上昇した。投与 93 日目と投与 178 日目では，C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$の明らかな変化は認められなかった。

表 2.6.6-13　ラット 2 年間がん原性試験における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
10	93	–	–	529	836
	178	–	–	491	916
30	93	536	2307	1566	5350
	178	954	3574	2159	7516
100	93	2628	17,041	3887	36,956
	178	4645	32,185	6810	48,270
300	93	3147	38,346	–	–
	178	3355	36,034	–	–

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ are shown as the mean values of 4 animals.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.4.1.1（K13092）.

以上から，いずれの用量，いずれの性においても統計学的に有意な腫瘍性病変の増加は認められず，レンボレキサントの SD ラットにおけるがん原性はないと判断された。

2.6.6.5.2 Tg rasH2 マウスを用いたがん原性試験（添付資料 4.2.3.4.2.1，試験番号 K15016）

CB6F1-Tg rasH2 マウスにおける 26 週間がん原性試験では，レンボレキサントを媒体に懸濁し，50，150 及び 500 mg/kg の用量で雌雄（25 例/性/群）に 26 週間反復経口投与した。陰性対照群には媒体を投与した。全生存例を，各群の投与期間終了後に剖検した。陽性対照群（15 例/性）は，

N-nitroso-*N*-methylurea（MNU）75 mg/kg を投与 1 日に単回腹腔内投与した。

その結果，レンボレキサント投与群においては，いずれの投与量においても死亡，瀕死数あるいは腫瘍性病変の増加はみられなかった。150 mg/kg 以上の雌雄で，切歯の白色化が認められた。50 mg/kg の雄と 150 mg/kg 以上の雌雄で，陰性対照群と比較して軽度の体重増加（26 週時に最大+7%）が認められたが，いずれの投与量でも摂餌量に変化はみられなかった。病理組織学的検査では，雄の高用量群において血管肉腫の発現頻度が陰性対照群と比較して有意に高かったが，試験施設及び文献報告（Takaoka, et al., 2003）の背景値の範囲内であった。レンボレキサント投与に関連した非腫瘍性病変は，肝及び大腿骨に認められた。500 mg/kg の雌雄では，適応性の変化として肝薬物代謝酵素誘導に伴う小葉中心性肝細胞肥大が肝で認められ，一部では二次的な限局性の被膜下肝細胞の変性・壊死を伴っていた。また，150 mg/kg 以上の雌では，大腿骨に色素沈着が認められたが，これはラットの 13 及び 26 週間反復投与毒性試験でみられた変化と類似しており，レンボレキサントの代謝過程で遊離したフッ素の骨への蓄積によるものと考えられた（Lindemann and Nylen, 1979，Noritake, 2014b，2.6.6.3.5 及び 2.6.6.8.1.3 項参照）。骨への色素沈着は，その他の組織学的変化を伴わないことから，毒性学的な意義はないと考えられた。150 mg/kg 以上の雌雄で肉眼的に認められた切歯の白色化についても，組織学的な変化を伴わないことから，フッ素のエナメル質に対するごく軽度な影響であり，毒性学的な意義はないと考えられた。

MNU を投与した陽性対照群では，動物の死亡及び状態悪化による瀕死が投与 72 日以降に高頻度で認められたため，雄は投与 134 日，雌は投与 154 日に全生存例を剖検した。病理組織学的検査では，MNU 投与あるいは Tg rasH2 マウスで報告されている悪性リンパ腫や前胃及び皮膚における扁平上皮癌や乳頭腫が高頻度に認められ，これらの病変が死因あるいは瀕死に関連していると考えられた。

以上から，薬物に起因した腫瘍性病変の増加は認められず，レンボレキサントは CB6F1-Tg ras H2 マウスにおいてがん原性を示さなかった。

2.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及び TK 評価を含む）

2.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.1.1 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（添付資料 4.2.3.5.1.1，試験番号 K13078）

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，レンボレキサントの 30，100 及び 1000 mg/kg を SD ラット（20 例/群）に交配前 28 日から交配期間中（最大 13 日）反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。交配は，未処置雌と 1 対 1 で最長 14 日間同居させた。雄動物は交配期間終了後に剖検し，生殖器を含む肉眼的観察を実施した。交尾確認された雌動物については妊娠 14 日に帝王切開を実施した。

その結果，全ての用量で，死亡率，一般状態，剖検所見，交配，受胎能及び初期胚発生に毒性学的に意義のある影響は認められなかった。

以上から，雄ラットの一般毒性及び生殖に対する無毒性量は 1000 mg/kg と考えられた。

2.6.6.6.1.2 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（添付資料 4.2.3.5.1.2，試験番号 K13063）

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，レンボレキサントの 30，100 及び 1000 mg/kg を SD ラット（20 又は 22 例/群）に交配前 14 日から交配期間中（最大 13 日）及び妊娠 6 日まで反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。交配は，未処置雄と 1 対 1 で最長 14 日間同居させた。交尾が確認された雌動物について，妊娠 14 日に帝王切開を実施した。また，死亡又は瀕死により安楽殺した雌動物については，原因確認のため，病理組織学的検査を実施した。

その結果，1000 mg/kg の 3 例が投与過誤により死亡した。妊娠 10 日に瀕死により安楽殺された 1000 mg/kg の 1 例については，自発運動の低下，呼吸音の異常，糞便の減少/無便，鼻及び生殖器周囲の汚れ，体重及び摂餌量の減少がみられた。死因については，病理組織学的検査において投与過誤によるものと推測されたものの，特定できなかった。生存動物で，毒性学的に意義のある一般状態の変化はみられなかった。1000 mg/kg では，投与期間中に摂餌量の低下を伴った体重減少（交配前 13 日：対照群比–9%）及び体重増加抑制（妊娠 0～6 日：対照群比–76%）がみられた。性周期の異常が 20 例中 7 例でみられ，妊娠率が低下した（64.7%）。帝王切開では，黄体数，着床数及び生存胎児数の減少が認められた。100 mg/kg では，性周期の異常（20 例中 4 例）及び妊娠率の低下（73.7%）が認められた。

以上から，1000 mg/kg で投与期間中の体重減少，体重増加抑制及び摂餌量の低下がみられ，帝王切開において黄体数，着床数及び生存胎児数の減少が認められたこと，性周期の異常と妊娠率の低下が 100 mg/kg 以上で認められたことから，雌ラットの一般毒性及び初期胚発生に対する無毒性量は 100 mg/kg，受胎能に対する無毒性量は 30 mg/kg と考えられた。

2.6.6.6.2 胚及び胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 妊娠ラット用量設定試験（添付資料 4.2.3.5.2.1，試験番号 K12001［参考］）

レンボレキサントの 100，300 及び 1000 mg/kg を，SD ラット（7 例/群）の妊娠 6 日～17 日に反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。全ての瀕死動物を剖検し，生存した母動物は妊娠 20 日に帝王切開し，生存胎児の体重測定及び外表観察を行った。

その結果，1000 mg/kg の母動物 1 例において，投与期間中に活動性の低下，側臥位，摂餌量減少及び体重減少などがみられたため，妊娠 15 日に安楽殺した。他の 1000 mg/kg の生存例においても，投与期間を通して摂餌量の減少を伴う体重減少又は体重増加抑制が観察された（妊娠 18 日の平均体重で対照群比–18%）。そのうち 2 例では，妊娠 16～18 日に，活動性の低下又は糞便量の減少が認められた。

帝王切開では，1000 mg/kg の母動物 1 例で着床後胚死亡率が高かった（20%）。また，3 腹で胎児の低体重が認められた。また，母動物 6 例中 2 腹において計 7 例（8.3%）の胎児で口蓋裂が観察された。これらの変化は，摂餌量が顕著に減少した母動物でのみ認められた。

300 mg/kg においても，母動物で軽度から中等度の摂餌量の減少が，妊娠 6～13 日に一過性にみられたが，300 mg/kg 以下では，子宮のパラメータの変化及び胎児の外表異常は認められなかった。

2.6.6.6.2.2 ラット胚・胎児発生試験（添付資料 4.2.3.5.2.2，試験番号 K12010）

レンボレキサントの 60，200 及び 600 mg/kg を，SD ラット（20 又は 22 例/群）の妊娠 6～17 日に反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。全ての生存母動物を，妊娠 20 日に帝王切開し，生存胎児の体重測定及び形態観察（外表，内部臓器及び骨格）を行った。TK 測定のため，TK 測定群の妊娠ラット（5～6 例/群）にレンボレキサント及び媒体を同様に投与し，妊娠 17 日に血液を採取した。

その結果，600 mg/kg では，母動物で投与期間を通じて摂餌量の減少を伴う体重減少，妊娠 17 日又は 18 日に活動性の低下及び肛門生殖器周囲の汚れがみられた。200 mg/kg では，母動物で一過性の摂餌量の減少（妊娠 6～9 日）及び体重減少（妊娠 6 日～7 日）がみられた。

剖検では，600 mg/kg において，死亡胎児数の増加及び胎児の低体重（対照群比–7%）がみられたが，他の子宮パラメータに変化は認められなかった。

胎児の形態観察では 600 mg/kg において，臍帯ヘルニア（2 例/2 腹），口蓋裂（1 例），膜性部心室中隔欠損（5 例/4 腹）を含む外表及び内臓異常が認められ，膜性部心室中隔欠損は，60 及び 200 mg/kg の胎児でもそれぞれ 1 例ずつ観察された。600 mg/kg では，14 肋骨及び胎児の低体重と関連した骨化不全（頸椎椎弓及び胸椎椎体の不完全骨化）を含む骨格変異の増加がみられた。

TK 測定の結果を，表 2.6.6-14 にまとめた。妊娠 17 日の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は，60 から 600 mg/kg まで上昇したが，投与量の増加に比べて低かった。

表 2.6.6-14　ラット妊娠 17 日における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
60	2006	25,529
200	4770	62,870
600	10,476	171,321

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ are shown as the mean values of 5 or 6 pregnant females.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.2（K12010）.

以上から，600 mg/kg において，母動物で活動性の低下及び摂餌量の減少を伴う体重減少が認められた。200 mg/kg においても，体重及び摂餌量が一過性に減少した。剖検では，600 mg/kg において，死亡胎児数の増加及び胎児の低体重がみられた。胎児の形態観察では，600 mg/kg 群で，臍帯ヘルニア，口蓋裂，膜性部心室中隔欠損が認められ，14 肋骨の頻度が上昇した。膜性部心室中隔欠損は，60 及び 200 mg/kg の胎児でもそれぞれ 1 例ずつ観察された。以上より，母動物の無毒性量は 60 mg/kg と考えられた。胚・胎児発生に対する無毒性量については，60 及び 200 mg/kg の胎児で 1 例ずつ観察された膜性部心室中隔欠損と被験物質投与との関連性を追加試験で精査し，確認することとした。

2.6.6.6.2.3 ラット胚・胎児発生試験（追加試験）（添付資料 4.2.3.5.2.3，試験番号 K12080）

先に実施したラット胚・胎児発生試験の無毒性量を明らかにするため追加試験を実施した。

レンボレキサントの 20，60 及び 200 mg/kg を，SD ラット（20 例/群）の妊娠 6～17 日に反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。全ての生存した母動物を，妊娠 20 日に帝王切開し，生存した胎児の体重測定及び形態観察（外表及び内部臓器）を行った。TK 測定のため，TK 測定群の妊娠ラット（5 例/群）にレンボレキサントの 20 mg/kg 又は媒体を同様に投与し，妊娠 17 日に血液を採取した。

その結果，200 mg/kg では，母動物の一過性の摂餌量の減少（妊娠 6～7 日）及び体重減少（妊娠 7～8 日）が認められた。剖検では，子宮のパラメータに投与群間の差はなかった。胎児の形態観察では，投与に関連した外表及び内部臓器の異常は 200 mg/kg までみられなかった。膜性部心室中隔欠損は，20 mg/kg の胎児 1 例と 60 mg/kg の 2 腹の胎児 1 例ずつにみられたが，200 mg/kg では観察されなかった。これらの膜性部心室中隔欠損は，発現頻度が低く，用量相関性もないことから，被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

レンボレキサントの 20 mg/kg を，5 例の妊娠ラットに経口投与した妊娠 17 日の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$は，それぞれ 647 ng/mL 及び 2845 ng·h/mL であった。

以上より，2 つのラット胚・胎児発生試験の結果から，母動物の無毒性量は 60 mg/kg，胚・胎児発生に対する無毒性量は 200 mg/kg と考えられた。

2.6.6.6.2.4 ラットにおける膜性部心室中隔欠損の回復性に関する試験（添付資料 4.2.3.5.2.4，試験番号 20060758）

先に実施したラット胚・胎児発生試験（2.6.6.6.2.2 及び 2.6.6.6.2.3 項参照）で認められた膜性部心室中隔欠損を含む胎児所見の再現性及び生後の自然閉鎖を確認するため，陽性対照として trimethadione（TMD）群を加えて本試験を実施した。本試験は，実施施設及び使用したラットの供給先が先に実施した試験と異なるが，レンボレキサントのバッチ及び投与デザインについては同条件で実施された。

レンボレキサントの 20，60，200 及び 600 mg/kg（2～5 群）を雌の SD ラットに妊娠 6 日～17 日まで経口投与した。陰性対照群（1 群）には媒体を投与した。陽性対照群（6 群）には，TMD の 600 mg/kg（300 mg/kg を 12 時間間隔，1 日 2 回，10 mL/kg）を妊娠 9 日と 10 日の 2 日間投与した。

各用量群はさらに，妊娠 21 日に帝王切開を実施するサブグループ A（1～5 群：20 例/群，6 群：10 例/群）及び膜性部心室中隔欠損の回復性を評価するためのサブグループ B/C（1～5 群：35 例/群）に分けられた。サブグループ A のレンボレキサント投与群で投与に起因した心臓の変化が認められなかったため，サブグループ B/C の全ての母動物と胎児を検査に供することなく安楽殺した。

レンボレキサントの 600 mg/kg 群では脱水，円背位，摂餌量の減少を伴う一過性の体重減少，体重増加量の減少（妊娠 6～18 日：対陰性対照群比–82%）が認められ，1 例は妊娠 17 日に安楽殺した。200 mg/kg では軽度の体重増加量の減少（妊娠 6～18 日：対陰性対照群比–11%）及び摂餌量の低下がみられた。600 mg/kg の平均胎児体重は陰性対照群より低値を示した（妊娠 21 日：対陰性対照群比–10%）。母動物の剖検，卵巣，子宮パラメータ，妊娠 21 日胎児の外表，内臓検査において，全てのレンボレキサント投与群で投与に関連した変化はみられなかった。

TMD 陽性対照群では，母動物において脱水，円背位，体重減少及び摂餌量の低下が投与期間