を含めて（妊娠 9～12 日）認められた。帝王切開では，胎児体重の減少，吸収胚の増加，外表及び内臓異常（尾の異常，膜性部及び筋性部心室中隔欠損及び血管異常・変異）が認められた。

以上から，200 mg/kg 以上でレンボレキサント投与に関連した母動物毒性が妊娠期間に認められ，600 mg/kg では死亡，一般状態の変化，体重及び摂餌量の低下が，200 mg/kg では軽度な体重及び摂餌量の低下が観察された。600 mg/kg の平均胎児体重は陰性対照群に比べ低値を示した。レンボレキサント投与に関連した胎児の外表，内臓の異常は認められなかったが，TMD 陽性対照群では予測された膜性部心室中隔欠損を含む胎児の心臓異常が認められた。先に実施されたレンボレキサントのラット胚・胎児発生試験では膜性部心室中隔欠損が認められたが，本試験では重篤な母動物毒性が誘発された用量においても再現されなかった。

2.6.6.6.2.5 妊娠ウサギ用量設定試験（添付資料 4.2.3.5.2.5，試験番号 K12002［参考］）

レンボレキサントの 100，300 及び 1000 mg/kg を，NZW ウサギ（3～5 例/群）の妊娠 7～20 日に 1 日 1 回反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。

死亡及び重篤な毒性により，1000 mg/kg の群は妊娠 14 又は 15 日に早期終了した。また，300 mg/kg では妊娠 18～20 日までに全ての動物が死亡し，剖検を行った。全ての生存動物は妊娠 29 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。

1000 mg/kg では母動物 5 例中 2 例が妊娠 14 日の投与後に死亡し，残りの母動物は妊娠 14 日又は 15 日に安楽殺した。300 mg/kg では体重減少，摂餌量減少に伴う糞便減少/無便，腹臥位，強直性痙攣がみられ，全ての母動物が妊娠 18 又は 20 日に死亡した。300 mg/kg 以上では全て死亡あるいは早期終了したため，帝王切開を実施しなかった。100 mg/kg では投与期間中 4 例中 3 例の母動物において摂餌量が減少した。1 例の母動物は体重の減少，摂餌量の減少に関連した糞便の減少が認められ，妊娠 24 日に流産した。1 腹の胎児体重は対照群に比べ低値（–38%）を示したが，帝王切開で観察されたその他の項目に変化はなかった。また，胎児に外表異常はみられなかった。

以上から，ウサギの母動物において 300 及び 1000 mg/kg は致死量であった。100 mg/kg では摂餌量が減少し，1 例が流産した。また，100 mg/kg 以上の全ての動物において，薬理作用に基づく部分閉眼が認められた。剖検では，胎児体重の減少が 100 mg/kg の 1 腹で認められたが，全ての胎児に外表異常は認められなかった。

2.6.6.6.2.6 ウサギ胚・胎児発生試験（添付資料 4.2.3.5.2.6，試験番号 K12011）

レンボレキサントの 10，30 及び 100 mg/kg を，NZW ウサギ（20 例/群）の妊娠 7～20 日に 1 日 1 回反復経口投与した。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 29 日に帝王切開し，生存胎児の体重測定及び形態観察を行った。TK 測定のため，妊娠 20 日に各群 5 例から血液を採取した。

100 mg/kg では，投与期間中に母動物の摂餌量が減少した（妊娠 8 日に最大–20%）。投与期間中又は投与終了後に 2 例の母動物で体重が減少し，このうちの 1 例が妊娠 23 日に流産した。10 mg/kg 以上の動物において，薬理作用に基づく部分閉眼が試験期間を通して散発的に認められた。

剖検では，全ての群間で子宮パラメータに薬物の影響はみられなかった。胎児の形態観察で

は 100 mg/kg で骨格変異である頸肋の発生率の増加が認められたが，それ以外には投与に関連した変化はなかった。また，いずれの用量においても催奇形性を示唆する所見は認められなかった。

TK 測定結果を表 2.6.6-15 にまとめた。妊娠 20 日の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は，10 から 100 mg/kg まで用量依存的に増加したが，30 から 100 mg/kg まで $AUC_{(0-24)}$は投与量の増加以上に上昇した。

表 2.6.6-15　ウサギ妊娠 20 日における TK パラメータ

Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)
10	528.3	2904.2
30	1684	10,017
100	5746	61,388

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ are shown as the mean values of 5 pregnant females.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.6（K12011）.

以上から，レンボレキサントの経口投与により，100 mg/kg の投与期間中に母動物の摂餌量の減少が認められ，1 例が妊娠 23 日に流産した。子宮パラメータ及び胎児の形態観察において，100 mg/kg では頸肋の発生頻度の上昇を除いて投与に関連した変化は認められなかった。

これらの結果から，母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 30 mg/kg であった。レンボレキサントはウサギにおいて催奇形性はないと考えられた。

2.6.6.6.3 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

2.6.6.6.3.1 妊娠ラット用量設定試験（添付資料 4.2.3.5.3.1，試験番号 20060759［参考］）

レンボレキサントの 200，400 及び 600 mg/kg を，SD ラット（8 例/群）の妊娠 6 日～授乳 6 日に 1 日 1 回反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。全ての生存母動物を，授乳 7 日に安楽殺した。また，TK 測定のため，TK 測定群のラット（レンボレキサント投与群各 5 例）にレンボレキサントを同様に投与し，妊娠 17 日に血液を採取した。母動物については死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，哺育観察，分娩状態観察，剖検，着床痕数，TK 測定を，出生児については生存率，一般状態，体重測定及び肉眼検査を実施した。

全ての母動物は授乳 7 日まで生存し，剖検時の肉眼観察において異常は認められなかった。400 及び 600 mg/kg で妊娠期間中に体重増加抑制がみられ，妊娠 20 日には平均体重が低値を示した（対照群比–33%［400 mg/kg］及び–60%［600 mg/kg］）。これらの動物の平均体重は，授乳期間中も低かった。摂餌量の減少が，妊娠及び授乳期間を通して認められ，軽度の脱水症状を伴っていた。600 mg/kg の 4 例の母動物において，授乳期間中に単発的な円背位が観察された。200 mg/kg では妊娠早期に摂餌量が軽度に減少し，妊娠期間を通して軽度な体重増加抑制がみられた（対照群比–8%）。全動物が妊娠，分娩した。600 mg/kg では一腹当たりの死産児率が高く，生存率も低下した（対照群 100%に対して 76%）。また 600 mg/kg の出生児体重は授乳期間を通じて低値を示した（出生後 7 日：対照群比–25%）。全ての F1 出生児は出生後 7 日の剖検まで，一般状態に異常はみられなかった。

TK 測定結果を表 2.6.6-16 にまとめた。妊娠 17 日の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は 200 から 600 mg/kg まで上昇したが，投与量の増加に比べ低いものであった。

表 2.6.6-16　ラットの妊娠 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)
200	4401	65,046
400	6859	107,953
600	9286	131,148

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ are shown as the mean values of 5 animals.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.5.3.1（20060759）.

以上から，レンボレキサントを妊娠 6 日から授乳 6 日まで SD ラットに経口投与した結果，母動物の体重及び摂餌量の低下が 400 及び 600 mg/kg で，軽度の体重増加抑制が 200 mg/kg で認められた。また，600 mg/kg では死産児の増加，出生児体重の減少及び生存率の低下がみられた。

2.6.6.6.3.2 ラットにおける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（添付資料 4.2.3.5.3.2，試験番号 20060760]）

レンボレキサントの 30，100 及び 300 mg/kg を，SD ラット（22 例/群）の妊娠 6 日～授乳 20 日に 1 日 1 回反復経口投与した。対照群には媒体を投与した。授乳 21 日に母動物を安楽殺した。また，TK 測定のため，TK 測定群のラット（3 又は 4 例/群）にレンボレキサントを同様に投与し，妊娠 17 日に血液を採取した。母動物については死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，分娩状態，授乳及び哺育観察，TK，剖検，卵巣及び子宮パラメータについて評価した。出生児については生存率，一般状態，体重及び摂餌量測定，剖検に加え，性成熟，行動観察（聴覚性驚愕馴化，自発運動量，M 型水迷路），性周期，受胎能，大腿骨長，骨フッ素測定，大腿骨の病理組織学的検査，骨のバイオマーカー測定（血清中のカルシウム，無機リン，鉄，不飽和鉄結合能［UIBC］，総鉄結合能［TIBC］）を実施した。

全ての親世代（F0）母動物で途中死亡はみられず，レンボレキサント投与に関連した一般状態及び剖検での肉眼所見に異常は認められなかった。300 mg/kg で妊娠期間を通じて体重増加抑制がみられ（妊娠 6～20 日：対照群比–15%），妊娠 20 日の体重が低値を示した（対照群比–5%）。300 mg/kg の体重の低値は授乳期間中も継続した。平均摂餌量は妊娠期間（妊娠 6～20 日：対照群比–14%）及び授乳期間（授乳 1～14 日：対照群比–16%）を通じて減少した。全ての用量で妊娠期間，分娩，哺育など母動物の生殖への影響は，みられなかった。F1 出生児について，全ての群で離乳前後の腹児数，一般状態，生存率に影響はみられなかった。出生児体重は 300 mg/kg で生後 36 日まで低値を示したが（対照群比で最大–17%），それ以降は対照群と比べ概ね差はみられなくなった。低体重に関連した大腿骨長の低値が生後 21 日でみられたが（雄：–3%，雌：-5%），生後 70 日では対照群と差がみられなかった。生後 23 日に実施した聴覚性驚愕馴化検査では，反応の低下（平均及び最大）と潜時の延長が 300 mg/kg でみられたが，検査実施時の低体重に関連するものと考えられた（Blaszczyk and Tajchert, 1996; Hamilton and Timmons, 1979）。

100 又は 300 mg/kg で生後 21 日及び 70 日の UIBC 又は TIBC が対照群より低値を示した他は，血清中のカルシウム，リン，鉄について変化はみられなかった。骨中のフッ素量は生後 21 日に 300 mg/kg で増加した。また，100 mg/kg において一部の雌雄動物でわずかにフッ素を検出した。これらは，ラットにおける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たためと考えられた。これらの変化は組織学的変化を伴っておらず，毒性学的意義はないものと考えられた。また，F1 出生児の性成熟指標（膣開口及び亀頭包皮開裂），自発運動量，M 型水迷路による学習と記憶及び生殖能（性周期，受胎能，帝王切開及び出生児パラメータ，精巣及び精巣上体重量）に異常はみられなかった。

妊娠ラットにおけるレンボレキサントの TK 測定結果を表 2.6.6-17 にまとめた。妊娠 17 日の母動物の C_{max} は用量依存的に増加したが，30 から 100 mg/kg までの $AUC_{(0-24)}$の増加は投与量の増加に比べ高いものであった。100 から 300 mg/kg までの C_{max} と $AUC_{(0-24)}$の増加は投与量の増加に比べ低いものであった。

表 2.6.6-17　ラット（F0 母動物）の妊娠 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)
30	947	6448
100	3150	40,833
300	5625	90,718

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 4.2.3.5.3.2（20060760）.

以上から，レンボレキサントを SD ラットに妊娠 6 日から授乳 20 日まで反復経口投与した結果，300 mg/kg の母動物では妊娠及び授乳期間中に毒性（体重及び摂餌量の低下など）が認められた。300 mg/kg の F1 出生児では，体重の低値が離乳後 2 週間で観察され，この低体重に関連して生後 23 日の聴覚性驚愕馴化検査において反応の低下と潜時の延長がみられた。F0 母動物及び F1 出生児のその他のパラメータで異常は認められなかった。以上の結果より，F0 母動物の一般毒性及び F1 出生児の発育に対する無毒性量は 100 mg/kg，母動物の生殖（妊娠，分娩，哺育）及び F1 出生児の生存率，性成熟，自発運動量，学習と記憶及び生殖能に対する無毒性量は 300 mg/kg と考えられた。

2.6.6.7 局所刺激性試験

レンボレキサントは経口薬であるため，局所刺激性に関する毒性試験は実施していない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 毒性発現の機序に関する試験

2.6.6.8.1.1 ラットにおける 14 週間反復投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（添付資料 4.2.3.7.3.1，試験番号 6700122）

本試験は雌 SD ラットにレンボレキサントを 14 週間反復経口投与した際の骨及び歯の毒性，さらに 12 週間休薬後の回復性を検討する目的で実施した。

レンボレキサントを 1000 mg/kg の用量で投与した。対照群には媒体を投与した。レンボレキサント群において，投与開始 2 週間で著しい体重減少がみられたことから，投与 15 日から 7 日間休薬した後，投与 22 日に用量を 800 mg/kg に減量して投与を再開した。その後も著しい体重減少がみられた 16 例は対照群 16 例とともに投与 9 週で安楽殺し，残りの動物については 14 週まで投与を継続した。14 週間の投与期間後，レンボレキサント群及び対照群それぞれ 15 例ずつ，また 12 週間の休薬期間後（投与 26 週）にも 15 例ずつ剖検した。投与 93 日にレンボレキサント群の 1 例が死亡したが，その動物についても剖検を実施した。

レンボレキサント群において，摂餌量及び体重の減少に加え，活動性の低下や衰弱，部分閉眼，円背位が認められた。尿中フッ素排泄量の増加（対照群と比較して投与 9 週に最大で 28 倍，投与 14 週に最大で 53 倍）や，骨（投与 14 週に上腕骨で 14 倍）及び血清中のフッ素濃度の増加もみられた。

レンボレキサント群の多くの動物で，切歯の変色（白色化及び帯状白色化）が投与 5 週から試験終了時まで継続してみられた。

投与 14 週において，骨密度低下，石灰化率の減少，骨強度低下，骨代謝変化を示唆する様々な変化が認められた。すなわち，大腿骨の骨密度低下（DXA 法），腰椎の骨梁骨密度低下（peripheral quantitative computed tomography［pQCT］法），大腿骨遠位骨幹端の骨梁の減少（マイクロコンピュータ断層撮影），大腿骨及び腰椎の骨強度の著しい減少（生体力学的試験），大腿骨の石灰化率減少，また，これらに関連する骨吸収及び骨形成マーカーの変動などがみられた。

組織学的検査では，脛骨及び大腿骨の骨組織で骨梁の減少及び類骨の増加に伴う成熟層板骨の減少がみられ，骨密度低下や骨ジオメトリー値の減少に関連すると考えられた。切歯においては，肉眼所見や一般状態観察に関連して，エナメル芽細胞の変性及び鉄色素顆粒の減少が観察された。これらの組織学的変化は，ラット 13 週及び 26 週試験における変化及びラットフッ素症に関する報告と一致していた（Baylink and Bernstein, 1967; Lindemann, 1957; Lindemann, 1975; Lindemann and Nylen, 1979; Maurer et al., 1990; Noritake, 2014b）。投与 93 日に死亡した動物の死因はフッ素によると考えられる腎障害であった。著しい体重減少のため投与 9 週で安楽殺された動物においても，骨及び歯に投与 14 週と同様の変化が認められた。

投与 14 週のレンボレキサント群では，血清鉄の減少，副腎重量の減少及び副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）の減少も認められた。

休薬期間後は，骨や切歯において一部の変化が残存していたものの，いずれも明らかな回復傾向が認められた。尿中フッ素排泄量は 14 週週間投与後と比較して減少していたが，対照群に比較しレンボレキサント群では依然として高値であった。骨のフッ素濃度は 14 週間投与後と比較して軽度に減少していた。休薬期間後の剖検においてレンボレキサント群 3 例に骨折がみとめられたが，組織学的検査で仮骨形成を認めたことから，骨折は投与期間中あるいは休薬期間の極めて早い時期に生じたものと考えられた。

反復経口投与終了後（投与 98 日）の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$はそれぞれ，11,540 ng/mL 及び 204,463 ng·h/mL であった。

以上から，レンボレキサントを投与したラットでは，尿中，血清中及び骨中のフッ素が増加し，フッ素症と一致する変化が骨や歯に認められた。骨においては，骨梁の減少，骨強度の低

下，ミネラル密度の低下，骨ジオメトリー値の減少が観察され，組織学的には骨梁や成熟層板骨の減少，関連する骨代謝マーカーの変動もみとめられた。切歯においては，エナメル芽細胞の変性及び鉄色素顆粒の減少が認められた。観察された全ての変化は 12 週間の休薬期間後に回復傾向を示した。

2.6.6.8.1.2 雌ラットにおける 4 週間反復投与におけるフッ素測定（添付資料 4.2.3.7.3.2，試験番号 K14010［参考］）

レンボレキサントを 30，100 及び 1000 mg/kg の用量で雌 SD ラット（10 例/群）に 4 週間反復経口投与し，尿，血清及び骨中のフッ素濃度を測定した。対照群には媒体を投与した。さらに各群 5 例ずつの動物を用いて，投与 28 日の TK，投与 1，7 及び 28 日の血清中フッ素濃度を測定した。

尿中フッ素排泄量は，投与 1 日に用量依存的に増加し，100 mg/kg 以上で統計学的に有意であった。30 及び 100 mg/kg では反復投与による尿中フッ素排泄量の増加が認められた。同様の傾向が 1000 mg/kg でもみられたが，投与 7 及び 28 日の尿中フッ素排泄量は同程度であった。

血清中フッ素濃度は，30 及び 100 mg/kg において，投与 28 日の全ての動物において定量限界以下（<0.5 ppm）であった。1000 mg/kg においては，連投後（投与 7 及び 28 日）血清中フッ素濃度がわずかに高値（最大 1.4 ppm）を示す動物が認められた。

骨中フッ素濃度は，28 日間投与後，全ての用量において用量依存的に増加し，100 mg/kg 以上で統計学的に有意であった。

レンボレキサントを 30，100，又は 1000 mg/kg で 28 日間投与した際の C_{max} はそれぞれ 1754，4315，9494 ng/mL であり，$AUC_{(0\text{-}24)}$ は，4810，23,388，156,268 ng·h/mL であった。30 から 100 mg/kg において，C_{max} は用量に比例して，$AUC_{(0\text{-}24)}$ は用量比以上に増加した。一方，100 から 1000 mg/kg においては，C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$ の増加は用量比以下であった。

以上から，レンボレキサント投与により尿中フッ素排泄量及び骨中フッ素濃度は用量依存的に増加した。1000 mg/kg の反復投与により，血清中フッ素濃度の増加も認められた。

2.6.6.8.1.3 CYP 阻害剤併用投与ラットにおけるフッ素測定試験（添付資料 4.2.3.7.3.3，試験番号 K14014［参考］）

レンボレキサント投与により尿中フッ素排泄量が増加する機序を解明する目的で，レンボレキサント単独，又は非選択的 CYP 阻害剤である 1-アミノベンゾトリアゾール（1-ABT）と併用投与したラットの尿中フッ素排泄量を測定した。

SD ラット（5 例/性/群）に 100 及び 1000 mg/kg のレンボレキサントを 10 日間隔で 2 回経口投与した。2 回目の投与時には 100 mg/kg の 1-ABT による前処置（経口投与，レンボレキサント投与の 1 日前と 2 時間前）を行った。対照群には媒体を同様に投与した。それぞれの投与につき，投与 4 日前とレンボレキサント投与日（レンボレキサント単独又は 1-ABT 併用）に 24 時間蓄積尿を採取した。TK 測定のため，さらに 4 例/性/群のラットに同様に（レンボレキサント単独又は 1-ABT 併用）投与した。

レンボレキサント投与による動物の死亡はなかった。レンボレキサント単独投与された動物に一般状態の変化はみられなかったが，1-ABT と併用投与した雄の 1000 mg/kg，並びに雌の 100

及び 1000 mg/kg においては，投与翌日に活動性の低下がみられた。

レンボレキサント単独投与により尿中フッ素排泄量（表 2.6.6-18）は雌雄で用量依存的に増加したが，6 日間休薬後には対照群又は投与前と同程度に戻った。レンボレキサントを 1-ABT と併用投与した場合は，尿中フッ素排泄量の増加は認められなかった。

表 2.6.6-18　ラットの尿中フッ素排泄量

Sex/Dose (mg/kg)	Daily Fluoride Excretion (mg/day)				Daily Fluoride Excretion per Body Weight (mg/day/kg)			
	Before LEM	After LEM	Before LEM+ 1-ABT	After LEM+ 1-ABT	Before LEM	After LEM	Before LEM+ 1-ABT	After LEM+ 1-ABT
Male/0	0.024	0.021	0.021	0.030	0.091	0.080	0.077	0.102
Male/100	0.025	0.095	0.019	0.035	0.097	0.360	0.068	0.123
Male/1000	0.024	0.123##	0.023	0.029	0.091	0.464##	0.082	0.102
Female/0	0.015	0.015	0.014	0.018	0.084	0.084	0.078	0.098
Female/100	0.016	0.077**	0.012	0.014	0.089	0.440**	0.068	0.081
Female/1000	0.016	0.143**	0.018	0.013	0.090	0.814**	0.102	0.071

The values represent the mean of 5 animals.
1-ABT = 1-aminobenzotriazole, LEM = lemborexant.
##P<0.01 (Dunnett's rank test), **P<0.01 (Dunnett's test).
出典：添付資料 4.2.3.7.3.3（K14014）.

TK 測定結果を表 2.6.6-19 にまとめた。1-ABT との併用投与時の血漿中レンボレキサント濃度は，単独投与時と比較して顕著に増加した。

表 2.6.6-19　ラットにおける CYP 阻害剤併用投与時のレンボレキサントの TK パラメータ

Dose (mg/kg)	Parameter	Male		Female	
		Without 1-ABT Combination	With 1-ABT Combination	Without 1-ABT Combination	With 1-ABT Combination
100	C_{max} (ng/mL)	2237	5674	3430	5046
	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	13,066	89,264	27,067	78,182
1000	C_{max} (ng/mL)	3355	9794	5829	11,003
	$AUC_{(0-24)}$ (ng·h/mL)	42,637	144,202	96,518	176,234

C_{max} and $AUC_{(0-24)}$ values represent the mean of 4 animals.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from zero time to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.7.3.3（K14014）.

以上から，1-ABT 併用投与による CYP 阻害は，血漿中レンボレキサント濃度を顕著に増加させ，尿中フッ素排泄を抑制した。この結果から，レンボレキサント投与後にみられる尿中フッ素排泄量の増加は CYP を介した代謝により生じることが示唆された。

2.6.6.8.2 依存性試験

2.6.6.8.2.1 ラットにおける身体依存性試験（添付資料 4.2.3.7.4.1，試験番号 ES13070）

レンボレキサントの身体依存形成能を評価するために，レンボレキサントの 200 及び 600 mg/kg（各々，100 及び 300 mg/kg を約 10 時間間隔で 1 日 2 回投与）を雄ラット（10 例/群）に 28 日間反復経口投与した。TK 用動物（4 例/群）も設定し，同様に投与した。陽性対照群については，ジアゼパムを漸増で 200（投与 1 週），400（投与 2 週），600（投与 3 及び 4 週） mg/kg，28 日間反復経口投与した（各々，100，200 及び 300 mg/kg を約 6 時間間隔で 1 日 2 回投与）。陰性対照群については，媒体を同様に投与した。28 日間の投与終了後，7 日間の観察期間を設定し，身体依存形成の有無を評価した。

その結果，投与期間中に 200 及び 600 mg/kg 投与群で有意な摂餌量の減少，並びに 600 mg/kg で有意な体重減少がみられたが，一般状態に変化はみられなかった。7 日間の観察期間中は，いずれの投与量においても一般症状，摂餌量に異常はみられなかった。600 mg/kg では体重増加率が高かったが，200 mg/kg で体重に変化はみられなかった。

投与 8 及び 28 日の 600 mg/kg 群の 1 回目の投与後 24 時間の血漿中濃度は，各々336 及び 347 ng/mL であった。これらの値は，MRHD（10 mg）における血漿中濃度（定常状態における C_{max}=61.6 ng/mL）を十分上回った（添付資料 5.3.3.5.5）。

ジアゼパム群では，7 日間の観察期間中にハンドリング時の反応性の亢進，有意な摂餌量及び体重減少といった退薬症候が観察された。

以上，レンボレキサントを 28 日間，600 mg/kg まで投与したが，身体依存性は認められなかった。

2.6.6.8.2.2 サルにおける静脈内投与による用量設定試験（添付資料 4.2.3.7.4.2，試験番号 ES13261［参考］）

レンボレキサントの 0.04，0.2 及び 1 mg/kg を雌雄各 1 例のアカゲザルに静脈内投与し，引き続いて実施する自己投与試験（2.6.6.8.2.3 項参照）の投与量設定のために血漿中濃度を測定した。

その結果，投与前及び投与後 120 分までの臨床症状観察において異常所見は観察されなかった。

雄において 0.04，0.2 及び 1 mg/kg 投与 5 分後の血漿中濃度は，各々32.0，172.6 及び 543.8 ng/mL であった。また，雌においては各々26.8，146.0 及び 661.1 ng/mL であり，血漿中濃度に性差は認められなかった。

2.6.6.8.2.3 サルにおける自己投与試験（添付資料 4.2.3.7.4.3，試験番号 ES13262）

アカゲザルを用いた静脈内自己投与により，レンボレキサントの強化効果の有無を評価した。

陽性対照薬のペントバルビタール（1.0 mg/kg/infusion）に自己投与行動を示し，陰性対照物質（1 v/v% ジメチルスルホキシド／10 % 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン／グルコース溶液）には反応しない 4 例のカテーテル留置アカゲザル（雄 3 例，雌 1 例）を用いた。レンボレキサントの投与は漸減で 0.3，0.1，0.03，0.01 及び 0.003 mg/kg/infusion とし，各実験日の薬物摂取可能時間を 2 時間，1 用量当たり 4～7 日間を試行期間として自己投与を観察した。サル

がレバーを 5 回押すとカテーテルより一定量の投与液が静脈内投与される条件（Fixed Ratio 5）で自己投与を実施した。各用量について，最終 3 日間のデータを解析した。

その結果，陰性対照物質投与時と比較して，自己投与数の増加は認められなかった。また，レンボレキサントの自己投与実験期間中に，レバー押しが抑制されるような臨床症状もみられなかった。

以上より，レンボレキサントはアカゲザルを用いた静脈内自己投与で強化効果を示さなかった。

2.6.6.8.2.4 雌ラットにおける薬物弁別試験（添付資料 4.2.3.7.4.4，試験番号 463-058）

レンボレキサントがイミダゾピリジン系睡眠薬のゾルピデムと類似の感覚効果（自覚効果）を有するか否かについて，雌ラットを用いて評価した。さらに，レンボレキサントと同じ作用機序を持ち，米国においてスケジュール IV（非麻薬性規制物質）に分類されているスボレキサント（社内化合物番号 ER-000571794-000）に般化するか否かも併せて評価した。スボレキサントの暴露量は別の探索的試験（Walburn, 2016）で確認し，本試験の最高用量における暴露量は，スボレキサントの薬物弁別試験（Born et al., 2017）の暴露量と同等のものであった。

32 例の雌 SD ラットにゾルピデムの 3 mg/kg あるいは媒体を経口投与し，2 つのレバーを持つオペラントチャンバーを用いて各々の投与物質を識別できるよう訓練した（Fixed Ratio 10）。訓練において反応基準を満たしたラットには般化テストとして媒体，ゾルピデム，スボレキサント（比較対照薬），あるいはレンボレキサントを投与した。ゾルピデムは，全ての用量（0，0.32，0.56，1.0，1.8，3 及び 5.6 mg/kg）をテスト開始約 30 分前に投与した。レンボレキサントは，0，10，30 及び 100 mg/kg をテスト開始 1 時間前に，1000 mg/kg をテスト開始 24 時間前に投与した。スボレキサントは，全ての用量（0，30，100，300 及び 1000 mg/kg）をテスト開始 4 時間前に投与した。訓練の反応基準を満たしたラットを 6 例ずつ使用し，各用量を評価した（全 32 例に対し，訓練薬［ゾルピデムの 3 mg/kg］と媒体も評価した）。般化テストは，訓練薬と媒体の維持訓練の間に組み入れて実施した。

その結果，レンボレキサントは 1000 mg/kg までゾルピデムに対して般化を示さなかった。また，テスト期間中，1 秒あたりの反応数（レバー押し回数）に影響するような動作の変化もみられなかった。一方，市販のデュアル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，Born ら（Born et al, 2017）が報告したように，訓練薬であるゾルピデムの 3 mg/kg に部分般化を示し，反応数を有意に抑制した（図 2.6.6-1）。

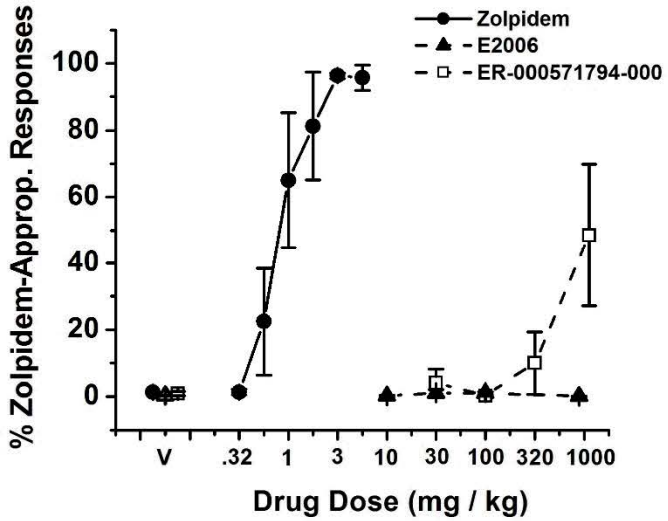


図 2.6.6-1　ゾルピデムでトレーニングしたラットにおけるレンボレキサントとスボレキサントの反応の比較

The group mean percentage of total lever press responses emitted on the zolpidem-appropriate lever in female rats trained to discriminate the presence versus absence of 3.0 mg/kg zolpidem expressed as a function of test dose. Trained rats were tested with various doses of zolpidem (closed circles), lemborexant (E2006, closed triangles) and a positive control article, suvorexant (ER-000571794-000, open squares).

以上，レンボレキサントはラットにおいて非ベンゾジアゼピン系睡眠薬のゾルピデムに般化を示さなかった。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。

2.6.6.8.3 代謝物の毒性試験

2.6.6.8.3.1 マウスにおける 4 週間反復投与 TK 試験（添付資料 4.2.3.7.5.1，試験番号 DMPKT2014-007［参考］）

レンボレキサントを CB6F1-nonTg rasH2 マウスへ 4 週間反復投与した際の定常状態における M10（ヒトの主要代謝物）の暴露量を測定した。本試験は探索的に実施し，マウスにおける M10 の測定法は完全にバリデートされたものではなかった。

マウスの血漿は別試験（2.6.6.3.2 項参照）で採取されたものを用いた。レンボレキサントの 100，300 及び 1000 mg/kg を CB6F1-nonTg rasH2 マウス（4 例/時点/性/群）に 4 週間反復経口投与した。投与 28 日の投与前，投与後 1，2，4，8 及び 24 時間に血液を採取し，M10 の血漿中濃度を測定した。

投与 28 日における M10 の TK パラメータ（C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$）を表 2.6.6-20 にまとめた。

表 2.6.6-20　CB6F1-nonTg rasH2 マウスの 4 週間反復投与における 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	279	2000	365	3700
300	28	343	4630	459	6300
1000	28	625	8830	1000	12,700

Data represents the mean of 4 animals.
The TK profile of lemborexant is summarized in 表 2.6.6-5.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.7.5.1（DMPKT2014-007）.

雌雄とも 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。C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ は雌の方が雄よりも高かった。

2.6.6.8.3.2 ラットにおける 4 週間反復投与 TK 試験（添付資料 4.2.3.7.5.2，試験番号 ES15364）

レンボレキサントの 30，100 及び 1000 mg/kg（雄），あるいは 10，100 及び 1000 mg/kg（雌）を SD ラット（4 例/性/群）に 4 週間反復経口投与し，レンボレキサント及びその代謝物（M4［ER-571789-00］，M9［ER-577483-00］及び M10［ER-571792-00］）の TK 測定を実施した。。投与 28 日の投与前，投与後 0.5，1，2，4，8 及び 24 時間に血液を採取し，レンボレキサント及びその代謝物（M4，M9 及び M10）の血漿中濃度を測定した。ヒト主要代謝物は M10 のみであるが，薬理活性を示す他の代謝物（M4 及び M9）も本試験で測定した。

投与 28 日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 TK パラメータ（C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$）を表 2.6.6-21 にまとめた。

表 2.6.6-21　ラット 4 週間反復投与におけるレンボレキサント，M4，M9 及び M10 の 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)
Lemborexant					
10	28	NE	NE	298	584
30	28	850	2630	NE	NE
100	28	3470	16,500	8040	39,100
1000	28	3470	40,000	15,100	223,000
M4					
10	28	NE	NE	1.20	2.13
30	28	90.1	238	NE	NE
100	28	347	1600	80.4	627
1000	28	224	2770	680	12,100
M9					
10	28	NE	NE	779	2100
30	28	779	2390	NE	NE
100	28	1070	4940	2220	13,600
1000	28	879	10,100	1790	25,100
M10					
10	28	NE	NE	0.946	1.76
30	28	3.65	9.85	NE	NE
100	28	17.6	74.1	35.1	204
1000	28	22.9	259	195	3070

Data represents the mean of 4 animals.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours, NE = not examined.
出典：添付資料 4.2.3.7.5.2（ES15364）.

投与 28 日の投与前と投与 24 時間後のレンボレキサント，M4，M9 及び M10 の血漿中濃度は同等であり，投与 28 日までに定常状態に達していると考えられた。レンボレキサントにおいて雌雄の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は 100 mg/kg まで投与量公比以上の増加が確認されたが，100 から 1000 mg/kg にかけては，投与量の増加に比べて低く，C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$の増加率は雄よりも雌で大きかった。代謝物の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は 1000 mg/kg まで用量依存的に上昇した。レンボレキサント，M4，M9 及び M10 の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は，100 及び 1000 mg/kg で雌の方が雄よりも高かったが，M4 の 100 mg/kg では雄の方が雌より高かった。

2.6.6.8.3.3 サルにおける 4 週間反復投与 TK 試験（添付資料 4.2.3.7.5.3，試験番号 ES15365）

レンボレキサントの 10，100 及び 1000 mg/kg をカニクイザル（3 例/性/群）に 4 週間反復経口投与し，レンボレキサント及びその代謝物（M4，M9 及び M10）の TK 測定を実施した。投与 28 日の投与前，投与後 0.5，1，2，4，8 及び 24 時間に血液を採取し，レンボレキサント及びその代謝物（M4，M9 及び M10）の血漿中濃度を測定した。ヒト主要代謝物は M10 のみであるが，薬理活性を示す他の代謝物（M4 及び M9）も本試験で測定した。

投与 28 日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 TK パラメータ（C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$）を表 2.6.6-22 にまとめた。

表 2.6.6-22　サル 4 週間反復投与におけるレンボレキサント，M4，M9 及び M10 の 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)
Lemborexant					
10	28	755	4090	1210	3820
100	28	9470	94,000	10,000	88,300
1000	28	7000	74,000	9820	162,000
M4					
10	28	425	2290	621	2020
100	28	2600	33,100	2170	25,200
1000	28	1860	23,000	3260	61,700
M9					
10	28	39.0	195	100	328
100	28	664	5660	920	5950
1000	28	345	2600	1220	13,200
M10					
10	28	63.4	353	80.9	320
100	28	403	3650	352	3210
1000	28	344	2820	357	6780

Data represents the mean of 3 animals.
$AUC_{(0-24)}$ = AUC from time zero to 24 hours.
出典：添付資料 4.2.3.7.5.3（ES15365）.

投与 28 日の投与前と投与 24 時間後のレンボレキサント，M4，M9 及び M10 の血漿中濃度は同等であり，投与 28 日までに定常状態に達していると考えられた。レンボレキサントでは雌雄の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ は 10 から 100 mg/kg にかけて用量依存的に増加したが，100 及び 1000 mg/kg の暴露量は同等であった。M4，M9 及び M10 についてもレンボレキサントの暴露量

と同様の傾向が認められた。レンボレキサント，M4，M9 及び M10 の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ に明らかな性差は認められなかった。

2.6.6.8.4 不純物の毒性試験（添付資料 4.2.3.7.6.1，4.2.3.7.6.2，4.2.3.7.6.3，4.2.3.7.6.4，4.2.3.7.6.5，4.2.3.7.6.6，4.2.3.7.6.7，4.2.3.7.6.8，4.2.3.7.6.9 及び 4.2.3.7.6.10，試験番号 14K5368G，14K5358G，15K2008G，15K1998G，15K2018G，14K5348G，16K8568G，14K3348G，964018 及び 15K1538G）

合成出発物質，中間体及び関連物質の 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* 及び 不純物J* ）について，ネズミチフス菌 TA100，TA1535，TA98，TA1537 及び大腸菌 WP2 *uvrA* を用いて Ames 試験（プレインキュベーション法）を実施した。これらの Ames 試験結果は 4.2.3.7.6 項に記載した。

これら 10 個の不純物のうち，5 個（不純物C*，不純物D*，不純物E*，不純物G*，不純物H* ）は陽性であり，これら不純物の管理戦略は Module 3.2.S.3.2.に記されている。

2.6.6.8.5 光安全性試験

2.6.6.8.5.1 In Vitro 光毒性試験（添付資料 4.2.3.7.7.1 及び 4.2.3.7.7.2，試験番号 T14019［参考］及び T17022）

模擬太陽光照射装置による光（主として紫外線 A 及び可視光）照射及び非照射下でレンボレキサントに暴露したマウス Balb/c 3T3 細胞の相対的生存率の減少を測定し，レンボレキサントの潜在的光毒性を調べた。最初に探索的な試験を実施し，2 回目に確認のための GLP 適用試験を実施した。

予備的実験においてレンボレキサントの 250 μg/mL 以上の濃度で沈殿物がみられたため，GLP 適用試験では光照射及び非照射下で，レンボレキサントの 0.78～100 μg/mL の用量を 3T3 細胞に処理した。細胞をレンボレキサントに 60 分間暴露した後，光照射下（紫外線 A の照射線量：探索試験；約 7.4 J/cm^2，GLP 試験；6 J/cm^2）あるいは非照射下でさらに 50 分間処理した。陰性対照には DMSO（1 v/v%），陽性対照にはクロルプロマジン塩酸塩を用いた。

レンボレキサントの潜在的な光毒性を評価するために，光照射の有無における 50%阻害濃度（IC_{50}）を比較した値（Photo Irritation Factor）及び細胞毒性のみられる範囲で光照射下と非照射下での用量反応曲線を比較した値（MPE）を算出した。

両試験において光照射の有無に関わらず最高用量の 100 μg/mL でもレンボレキサントの沈殿物は観察されなかった。光照射の有無に関わらず細胞毒性はみられず IC_{50} は算出されなかったが，MPE は探索試験で 0.014，GLP 試験で–0.022 であった。

以上より，2 回の光毒性試験において，レンボレキサントは光毒性を示さなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.8.6 その他の毒性試験

2.6.6.8.6.1 マラリア原虫成長に対する影響（添付資料 4.2.3.7.7.3，試験番号 W-20140891［参考］）

サル 13 週反復投与毒性試験（2.6.6.3.7 項参照）で 1000 mg/kg の雄 1 例でマラリア再燃がみられたことから，in vitro でマラリア原虫（*P. falciparum*）成長に対するレンボレキサント（0.1～100 μg/mL）の影響を検討した。レンボレキサントは 100 μg/mL の濃度まで，マラリア原虫の成長を促進せず，高濃度では逆に成長阻害がみられた。

2.6.6.9 考察及び結論

レンボレキサントの安全性を評価するため，マウス（4 週まで），ラット（26 週まで）及びカニクイザル（39 週まで）を用いた経口投与による単回及び反復投与毒性試験を実施した。また，遺伝毒性を評価するため，in vitro 試験（細菌を用いた復帰突然変異試験［Ames 試験］及びマウスリンフォーマ Tk 試験）及び in vivo のラット小核試験を実施した。がん原性については，Tg rasH2 マウス（26 週間）及びラット（104 週間）を用いたがん原性試験を実施し評価した。生殖発生毒性については，雌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，ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生試験，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に関する試験を実施した。また，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性試験，in vitro 光毒性試験も実施した。さらに，ラット長期毒性試験でみられた骨及び歯の変化の機序を解明するため，いくつかの検討試験を実施した。サルの 13 週間反復投与毒性試験において休眠マラリア原虫の再燃が認められたことから，レンボレキサントのマラリア原虫の成長に対する影響を in vitro で評価した。不純物の遺伝毒性は in silico あるいは in vitro（細菌を用いた復帰突然変異試験）で評価した。ヒトの主要代謝物である M10 の毒性に関与する可能性を評価するため，マウス，ラット，サルを用いて血漿中濃度を測定した。上記の毒性試験により，不眠症を適用とするレンボレキサントの安全性については，十分に評価されていると考えられる。

なお，本薬の毒性試験では薬理活性に関連した一般症状の変化（部分閉眼や嗜眠等，睡眠を示唆する所見）が予想されたが，夜行性のげっ歯類については，昼間の一般症状の観察で薬理活性に関連した変化は確認できなかった。しかし，脳波図（EEG）測定を用いた薬理試験において，マウスは 1 mg/kg 以上，ラットは ED_{50} 値 4.4 mg/kg で睡眠時間増加が確認されている。一方，昼行性の行動を示すウサギ及びサルにおいては薬理活性に関連した上記の一般症状の変化が本薬 10 mg/kg 以上の投与後に見られた。

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，軽度な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とその際の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24)}$を表 2.6.6-23 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 $AUC_{(0\text{-}24)}$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 を 14 日間反復投与した際の血中濃度：C_{max} = 61.6 ng/mL，AUC_{ss} = 441 ng·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 2.6.6-23　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

種	Dosing Period (weeks)	NOAEL (mg/kg)	C_{max}[a] (ng/mL)	Safety Margin[b]	$AUC_{(0\text{-}24)}$[a] (ng·h/mL)	Safety Margin[b]
Rat	4	1000 (M) 100 (F)	4222 (M) 4456 (F)	69 (M) 72 (F)	51,901 (M) 25,873 (F)	118 (M) 59 (F)
	13/26	100 (M) 30 (F)	2597 (M) 1543 (F)	42 (M) 25 (F)	18,015 (M) 5335 (F)	41 (M) 12 (F)
Monkey	4	30	3173	52	22,764	52
	13	20	2413	39	16,246	37
	39	10	1060	17	5240	12

$AUC_{(0\text{-}24)}$ = AUC from zero time to 24 hours,　F = female, M = male, NOAEL = no observed adverse effect level, TK = toxicokinetics.
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 TK 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 4.2.3.2.5，4.2.3.2.8，4.2.3.2.9，4.2.3.2.10 及び 4.2.3.2.11（K11004，K12033，SBL038-055，SBL038-067 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, 2014a; 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（$AUC_{(0\text{-}24)}$）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 ng·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 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が（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に関する試験並びに一般毒性試験の雄性生殖器における組織学的評価で変化は認められていない。デュアルオレキシン受容体拮抗薬である市販薬のスボレキサントでは，雌雄のラットにおいて生殖能の低下が報告されている（DailyMed, 2016）。

オレキシンは，視床下部-下垂体-副腎（HPA）軸に影響し，視床下部の副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモンの産生を刺激して，下垂体から ACTH の放出を増加させることが知られている（Spinazzi, et al., 2006）。実際，レンボレキサントによる ACTH 及び副腎への影響がいくつかの試験で認められている。ラットにオレキシン 2 受容体選択的作動薬であるオレキシン B（Ala^{11}, D-Leu^{15}）を脳室内投与した際の血漿中 ACTH 濃度の増加は，レンボレキサントを 3，10 及び 30 mg/kg 投与することにより，有意に抑制された（2.6.2.2.2.6 項参照［W-20110223］）。レンボレキサントのラットを用いた 14 週間反復投与毒性試験では，1000/800 mg/kg において副腎重量及び血清 ACTH の有意な減少が認められたが，副腎及び下垂体に組織学的な変化はみられなかった。26 週間反復投与毒性試験では，雌ラットの 1000 mg/kg において副腎重量の減少が認められた。ラットにレンボレキサントを投与した際の副腎及び下垂体への影響は軽微であり，HPA 軸への影響に関連した有害事象は認められなかった。

レンボレキサントを投与したラットでは催奇形性が認められたが，母動物で顕著な毒性が認められる用量における変化であり，再現性も認められなかった。ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験では，ラットの 600 mg/kg 投与群で臍帯ヘルニア，口蓋裂，膜性部心室中隔欠損を含む奇形がみられた。この用量における母動物の毒性として，活動性の低下，摂餌量の減少及び体重減少が認められた。膜性部心室中隔欠損は，しばしば正常なラット胎児にも観察されるが（Fleeman, et al., 2004; Nakatsuka, et al., 1997; Noritake, 2014a; Solomon, et al., 1997），一般的には新生児期に自然に閉鎖することが報告されている（Fleeman, et al., 2004）。別の試験施設で実施した追加試験では，陽性対照群（TMD）において膜性部心室中隔欠損が観察されたが，レンボレキサント投与群では催奇形性は再現されなかった。ラットの胚・胎児発生試験において矛盾した

催奇形性結果が得られた理由は不明であるが，最初の試験で観察された所見からラットの胚・胎児発生における無毒性量は 200 mg/kg と考えられた。

レンボレキサントはウサギでは催奇形性を示さなかった。ウサギにおける母動物毒性並びに胚・胎児発生の無毒性量は 30 mg/kg であった。

ラットにおける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において，母動物及び F1 出生児における毒性が 300 mg/kg で認められた。F1 出生児の変化は，主に投与終了後の早期の検査で認められ（生後 21~36 日齢），体重の低値，低体重に関連した大腿骨長の低値，及び聴覚性驚愕反応の低下，軽度の UIBC 及び TIBC の減少，及び病理学的変化を伴わない骨へのフッ素の蓄積が認められた。これらの変化は，母動物毒性による F1 出生児の軽度の発育遅延に関連したもの，若しくは，動物特異的な代謝によるレンボレキサントからのフッ素遊離によるものと考えられた。F1 出生児の体重及び大腿骨長は生後 70 日齢までには対照群と同等の値になった。母動物の一般毒性の無毒性量は 100 mg/kg，母動物の生殖能及び F1 出生児の無毒性量は 300 mg/kg であった。

レンボレキサントの生殖発生毒性試験における雌動物の無毒性量からの安全域（全身暴露量［$AUC_{(0\text{-}24)}$］に基づく）を表 2.6.6-24 に示した。レンボレキサントの薬理作用に関連した生殖能への影響は，MRHD（10 mg）における暴露量より 12 倍高い暴露量を示す用量で認められた。また，胚・胎児発生及び母動物毒性は，MRHD における暴露量よりウサギで 23 倍，ラットで 58 倍高い暴露量を示す用量で認められた。再現性の認められなかったラットにおける催奇形性は，MRHD における暴露量より 143 倍以上高い暴露量を示した用量でのみ認められた。

動物における生殖発生毒性は，MRHD（AUC_{ss} に基づく）よりも顕著に高い暴露量のみでみられたが，妊娠期間中は，治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみレンボレキサントを使用すべきである。

表 2.6.6-24　ヒトの暴露量及び雌動物の生殖試験における無毒性量での暴露量の比較

Studies	Parameters	NOAEL (mg/kg)	$AUC_{(0\text{-}24)}$ (ng·h/mL)	Safety Margin
Female FEED	Fertility	30	5335[a]	12
	Early embryonic development	100	26,486[a]	60
EFD (rat)	Maternal toxicity	60	25,529	58
	Embryo-fetal development	200	62,870	143
EFD (rabbit)	Maternal toxicity and embryo-fetal development	30	10,017	23
PPND	Maternal toxicity and F1 offspring growth	100	40,833	93

Safety margin was calculated with steady state AUC_{ss} (441 ng·h/mL) at 10 mg (添付資料 5.3.3.5.5).
$AUC_{(0\text{-}24)}$ = AUC from zero time to 24 hours. EFD = embryo-fetal development, FEED = fertility and early embryonic development, PPND = pre- and postnatal development.

a: Source: Rat 13/26-Week Toxicity Study (2.6.6.3.5 項参照).

出典：添付資料 4.2.3.5.1.2，4.2.3.5.2.2，4.2.3.5.2.3，4.2.3.5.2.6 及び 4.2.3.5.3.2（K13063，K12010，K12080，K12011 及び 20060760）．

唯一のヒト主要血漿中代謝物として M10 が同定された。ヒト特異的な血漿中代謝物は認めら

れなかった。M10 はマウス，ラット，並びにサルにおいても血漿中代謝物として認められている。ヒトの定常状態における血漿中 M10 暴露量とマウス，ラット及びサルの血漿中暴露量を比較したものを表 2.6.6-25 にまとめた。

表 2.6.6-25　ヒト及び動物における M10 暴露量の比較

Species	Dose	$AUC_{(0\text{-}24)}$ of M10 (ng·h/mL)		Animal to Human Exposure Ratio of M10[a]		Remarks
		Male	Female	Male	Female	
Human	10 mg/man	259±110		—	—	Proposed MRHD
Mouse[b]	100 mg/kg	2000	3700	7.72	14.3	–
	300 mg/kg	4630	6300	17.9	24.3	HD in carcinogenicity study was 500 mg/kg
	1000 mg/kg	8830	12,700	34.1	49.0	HD in 4-week study
Rat	10 mg/kg	ND	1.76	ND	0.007	–
	30 mg/kg	9.85	ND	0.04	ND	NOAEL (female) in 13-/26-week study
	100 mg/kg	74.1	204	0.29	0.79	NOAEL (male) in 13-/26-week study HD in carcinogenicity study was 300 mg/kg
	1000 mg/kg	259	3070	1.00	11.9	HD in 13-/26-week study and pre-EFD study
Monkey	10 mg/kg	353	320	1.36	1.24	NOAEL in 39-week study
	100 mg/kg	3650	3210	14.1	12.4	–
	1000 mg/kg	2820	6780	10.9	26.2	HD in 39-week study

$AUC_{(0\text{-}24)}$ = AUC from zero to 24 hours, HD = high dose, MRHD = maximum recommended human dose, ND = no data, NOAEL = no observed adverse effect level.
a: Human, mice, rat, and monkey plasma samples from the human multiple ascending dose study (2.7.2.1.2.1 項参照 [E2006-A001-002]), the mouse 4-week study (2.6.6.8.3.1 項参照), the rat 4-week study (2.6.6.8.3.2 項参照), and the monkey 4-week study (2.6.6.8.3.3 項参照), respectively, were used to determine exposure ratios.
b: The study (2.6.6.8.3.1 項参照) was considered exploratory (non-GLP) and the methods used for the measurement of M10 in mice were qualified but not fully validated.
出典：添付資料 4.2.3.7.5.1（DMPKT2014-007；マウス），4.2.3.7.5.2（ES15364；ラット）及び 4.2.3.7.5.3（ES15365；サル）.

表 2.6.6-25 に示した暴露量の比率から，ヒトにレンボレキサントを 10 mg 投与した際の M10 の血漿中暴露量のばらつき（AUC_{ss}：112–492 ng·h/mL［最小値–最大値］）を勘案しても，マウスの 100 mg/kg，ラットの 1000 mg/kg，サルの 10 mg/kg において M10 の毒性は適切に評価されている。

レンボレキサントの薬物依存性試験は，ラット及びアカゲザルを用いて評価し，いずれの試験においても薬物依存性は認められなかった。ラットにおける身体依存性試験では，レンボレキサント投与群は退薬期間中に退薬症候を示さなかったことから，ラットにおいて身体依存性は誘発しない事が示された。アカゲザルにおける精神依存性試験では，レンボレキサントは静脈内自己投与において強化効果を示さなかった。ラットにおける薬物弁別試験において，レンボレキサントは内受容性感覚を刺激せず，不眠症治療に広く用いられるゾルピデムに対して般化を示さなかった。一方，同じ試験で類薬（デュアルオレキシン受容体拮抗薬）であるスボレキサントは，ゾルピデムに対し部分般化を示した。以上から，非臨床安全性の観点からレンボレキサントは薬物乱用の危険性は極めて低い，あるいはないことが示唆された。

レンボレキサントは 3T3 細胞を用いた光毒性試験で陰性であり，ヒトで光毒性のリスクがないことが示唆された。

毒性試験で用いられたレンボレキサントの純度は[redacted]%から[redacted]%であった（2.6.7.4）。これは活性物質の規格である[redacted]%から[redacted]%と同等である。類縁物質の一つである　類縁物質A*　は，ICH（The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use）Q3A(R2)で明記されている安全性確認が必要な閾値（0.15%）を超えていた。類縁物質A* に関しては，主要なラット及びサルの反復毒性試験，ラット及びウサギの EFD 試験における不純物含有量（表 2.6.6-26 及び ICH M7(R1)）の基準から，規格は[redacted]%以下になるように設定した。

表 2.6.6-26　毒性試験結果に基づく 類縁物質A* 規格

Study Type	NOAEL (mg/kg)	Impurity Dose at NOAEL (mg/kg)[a]	Impurity Dose at the NOAEL (mg/m^2)	Multiple of the Human Dose Based on BSA[b]	CTD
13-/26-Week Rat Toxicity Study	100 (M)	[redacted] (M)	[redacted] (M)	[redacted]	2.6.6.3.5
	30 (F)	[redacted] (F)	[redacted] (F)	[redacted]	
13-Week Monkey Toxicity Study	20	[redacted]	[redacted]	[redacted]	2.6.6.3.7
Pivotal Rat EFD Study	60	[redacted]	[redacted]	[redacted]	2.6.6.6.2.3
Pivotal Rabbit EFD Study	30	[redacted]	[redacted]	[redacted]	2.6.6.6.2.6

BSA = body surface area, EFD = embryo-fetal development, F = female, M = male, MRHD = maximum recommended human dose, NOAEL = no observed adverse effect level.
a: All studies were conducted with Batch [redacted] that contained [redacted]% 類縁物質A* (2.6.7.4 項参照).
b: Proposed MRHD of lemborexant is 10 mg or 0.167 mg/kg. At the proposed specification for 類縁物質A* (≤[redacted]%), the maximum human dose of 類縁物質A* is 0.0006 mg/kg or 0.02 mg/m^2.

変異原性評価として，レンボレキサント合成過程で生じる不純物（出発物質及び中間体を含む）について，in silico ソフトウェア（Derek Nexus 及び CASE Ultra）及び必要に応じて細菌を

*新薬承認情報提供時に置き換え

用いた復帰突然変異試験を実施した（3.2.S.3.2 項参照）。細菌を用いた復帰突然変異試験は 10 個の不純物について実施され，そのうち 5 個が陽性であった。これらの 5 個の不純物に関しては，TTC 以下になるよう管理されているか，あるいは TTC よりはるかに低い濃度であることを確認した（3.2.S.3.2 項参照）。

以上から，レンボレキサントは毒性試験に用いられたいずれの動物種においても高い忍容性が確認され，主な毒性所見は薬理作用に起因した中枢症状，毒性試験の高い用量でみられた軽度の赤血球系パラメータの減少のみであった。ホルモン変動に起因すると考えられる雌の受胎能への影響及び胚・胎児毒性は，MRHD（10 mg）と動物の全身暴露量の比較から，十分に安全域（雌の受胎能：12 倍，胚・胎児毒性：143 倍）がある用量でのみみられた。骨及び歯にみられたフッ素症を示唆する所見は，レンボレキサントの代謝の種差により，げっ歯類特異的であることが確認された。ヒトでは，脱フッ素代謝物は検出されないことから，ヒトでのフッ素症の危険性は無いと考えられた。

レンボレキサントにおける毒性については，包括的な非臨床安全性試験により適切に評価され，不眠症を適用とする治療を目的として，安全に投与することが可能であると考えられた。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Baylink DJ, Bernstein DS. The effects of fluoride therapy on metabolic bone disease. A histologic study. Clin Orthp Relat Res. 1967;55:51–85.

Blaszczyk, J, Tajchert, K. Sex and strain differences of acoustic startle reaction development in adolescent albino Wistar and hooded rats. Acta Neurobiol Exp (Wars). 1996;56:919–25.

Born S, Gauvin DV, Mukherjee S, Briscoe R. Preclinical assessment of the abuse potential of the orexin receptor antagonist, suvorexant. Reg Toxicol Pharmacol. 2017;86:181–192.

DailyMed [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2014-2016. Belsomra-suvorexant tablet, film [cited 2018 May 16]; [about 35 pages].

Fleeman TL, Cappon GD, Hurtt ME. Postnatal closure of membranous ventricular septal defects in Sprague-Dawley rat pups after maternal exposure with trimethadione. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2004;71:185–90.

Hamilton, LW, Timmons, CR. Maturation of startle reflex habituation in rats. Bull Psychon Soc. 1979;14:427–30.

Kohsaka A, Watanobe H, Kakizaki Y, Suda T, Schiöth HB. A significant participation of orexin-A, a potent orexigenic peptide, in the preovulatory luteinizing hormone and prolactin surges in the rat. Brain Res. 2001;898:166–70.

Lindemann G. A lipid material in bone and teeth in experimental chronic fluorosis. Nature. 1957;180:926.

Lindemann G. Calcium fluoride in demineralized bones from rats with experimental chronic fluorosis. Scand J Dent Res. 1975:83:75–87.

Lindemann G, Nylen MU. Calcium fluoride containing granules produced in vitro in rat bones. Scand J Dent Res. 1979;87:381–9.

Maurer JK, Cheng MC, Boysen BG, Anderson RL. Two-year carcinogenicity study of sodium fluoride in rats. J Natl Cancer Inst. 1990;82:1118–26.

Nakatsuka T, Horimoto M, Ito M, Matsubara Y, Akaike M, Ariyuki F. Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) Survey on Background Control Data of Developmental and Reproductive Toxicity Studies in Rats, Rabbits and Mice. Congenital Anomalies. 1997;37:47–138.

Noritake, K. Background Data for Embryo-Fetal Development Study in Sprague Dawley Rats [Crl:CD(SD)], Study No. K13048, 2014a.

Noritake, K. Sodium fluoride: A 26-Week Oral Toxicity Study in Female Rats, Study No. K13084, 2014b.

Nurmio M, Tena-Sempere M, and Toppari J. Orexins and the regulation of the hypothalamic-pituitary-testicular axis. Acta Physiol. 2010;198:349–54.

Parker GA, Gibson WB. Liver lesions in rats associated with wrapping of the torso. Toxicol Pathol. 1995;23:507–12.

Perumal E, Paul V, Govindarajan V, Panneerselvam L. A brief review on experimental fluorosis. Toxicol Lett. 2013;223:236–51.

Porkka-Heiskanen T, Kalinchuk A, Alanko L, Huhtaniemi I, Stenberg D. Orexin A and B levels in the hypothalamus of female rats: the effects of the estrous cycle and age. Eur J Endocrinol. 2004;150:737–42.

Satomoto K, Kuroiwa Y, Masubuchi Y, Uemura H, Oshima Y, Okazaki S. Spontaneous convulsions in Sprague-Dawley rats in carcinogenicity studies. J Toxicol Sci. 2012;37:645–7.

Silveyra P, Lux-Lantos V, Libertun C. Both orexin receptors are expressed in rat ovaries and fluctuate with the estrous cycle: effects of orexin receptor antagonists on gonadotropins and ovulation. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007;293:E977–85.

Silveyra P, Cataldi NI, Lux-Lantos VA, Libertun C, Role of orexins in the hypothalamic-pituitary-ovarian relationship, Acta Physiol. 2010;198:355–60.

Small CJ, Goubillon ML, Murray JF, Siddiqui A, Grimshaw SE, Young H, et al. Central Orexin a has sitespecific effects on luteinizing hormone release in female rats. Endocrinology. 2003;144:3225–36.

Solomon HM, Wier PJ, Fish CJ, Hart TK, Johnson CM, Posobiec LM, et al. Spontaneous and induced alterations in the cardiac membranous ventricular septum of fetal, weanling, and adult rats. Teratology. 1997;55:185–94.

Spinazzi R, Andreis PG, Rossi GP, Nussdorfer GG. Orexins in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Pharm Rev. 2006;58(1): 46–57.

Takaoka M, Sehata S, Maejima T, Imai T, Torii M, Satoh H, et al. Interlaboratory comparison of short-term carcinogenicity studies using CB6F1-rasH2 transgenic mice. Toxicol Pathol. 2003;31:191–9.

Walburn JT. ER-000571794-000: Single oral pharmacokinetic study in female rats, Study No. 463-059, 2016.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 8
2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧 10
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 14
2.6.7.5 単回投与毒性試験 17
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 18
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 20
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験 45
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験 51
2.6.7.10 がん原性試験 53
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 65
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 67
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 72
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 90
2.6.7.15 その他の毒性試験 96

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: Lemborexant

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	100, 300, 1000	No	Eisai	S10042	4.2.3.1.1
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	0, 100, 300, 1000	Yes	Eisai	S10120	4.2.3.1.2
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	Single	0, 100, 300, 1000	Yes	Eisai	S10118	4.2.3.1.3
Repeated-Dose Toxicity							
Mouse/ICR	Oral gavage	7 days	300, 1000, 1500	No	Sunplanet	K12075	4.2.3.2.1
Mouse/CB6F1-nonTg rasH2	Oral gavage	4 weeks	0, 100, 300, 1000	Yes	Sunplanet	K14036	4.2.3.2.2
Mouse/CB6F1-nonTg rasH2 (Toxicokinetics study)	Oral gavage	4 weeks	100, 300, 1000	Yes	Sunplanet	K14035[c]	4.2.3.2.3
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	7 days	0, 100, 300, 1000	No	Eisai	S10043	4.2.3.2.4
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks	0, 30, 100[d], 1000[d]	Yes	Sunplanet	K11004 K12012[e] K13044[f]	4.2.3.2.5 4.2.3.2.6 4.2.3.2.7
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13/26 weeks	0, 30[g], 100[g], 1000	Yes	Sunplanet	K12033	4.2.3.2.8
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	4 weeks	0, 30, 100, 1000	Yes	[redacted]	SBL038-055	4.2.3.2.9
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	13 weeks	0, 20, 100, 1000	Yes	[redacted]	SBL038-067	4.2.3.2.10
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	39 weeks	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	6700074	4.2.3.2.11

Test Article: Lemborexant

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Genotoxicity							
Ames assay *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	In vitro	NA	313 to 5000 µg/plate	Yes	Eisai	S11002	4.2.3.3.1.1
Mouse lymphoma assay Mouse lymphoma L5178Y $tk^{+/-}$ cells	In vitro	NA	10 to 200 µg/mL	Yes	Sunplanet	K11008	4.2.3.3.1.2
Micronucleus assay Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	0, 500, 1000, 2000	Yes	Sunplanet	K11011	4.2.3.3.2.1
Carcinogenicity							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	104 weeks	0, 10(F), 30, 100, 300(M)	Yes	Sunplanet	K13092	4.2.3.4.1.1
Mouse/ CB6F1-Tg rasH2	Oral gavage	26 weeks	0, 50, 150, 500	Yes	Sunplanet	K15016	4.2.3.4.2.1
Reproduction Toxicity							
Rat(M)/Sprague Dawley	Oral gavage	28 days prior to mating, through the mating period (for a maximum of 13 days)	0, 30, 100, 1000	Yes	Sunplanet	K13078	4.2.3.5.1.1
Rat(F)/Sprague Dawley	Oral gavage	14 days prior to mating, through the mating period for a maximum of 13 days, and up to GD6	0, 30, 100, 1000[h]	Yes	Sunplanet	K13063	4.2.3.5.1.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 100, 300, 1000	No	Sunplanet	K12001	4.2.3.5.2.1

Test Article: Lemborexant

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 60, 200, 600[i]	Yes	Sunplanet	K12010	4.2.3.5.2.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 20, 60, 200[j]	Yes	Sunplanet	K12080	4.2.3.5.2.3
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 20, 60, 200, 600	Yes	[redacted]	20060758	4.2.3.5.2.4
Rabbit/New Zealand White (Kbl:NZW)	Oral gavage	GD7 to GD20	0, 100, 300, 1000	No	Sunplanet	K12002	4.2.3.5.2.5
Rabbit/ New Zealand White (Kbl:NZW)	Oral gavage	GD7 to GD20	0, 10, 30, 100	Yes	Sunplanet	K12011	4.2.3.5.2.6
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to LD6	0, 200, 400, 600	No	[redacted]	20060759	4.2.3.5.3.1
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to LD20	0, 30, 100, 300[k]	Yes	[redacted]	20060760	4.2.3.5.3.2
Other Toxicity Studies							
Mechanistic Studies for Bone Toxicity							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	14 weeks	0, 1000/800[l]	Yes	[redacted]	6700122	4.2.3.7.3.1
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks	0, 30, 100, 1000	No	Sunplanet	K14010	4.2.3.7.3.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	0, 100, 1000	No	Sunplanet	K14014	4.2.3.7.3.3
Dependence							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	28 days	200 (100×2), 600 (300×2)	Yes	[redacted]	ES13070	4.2.3.7.4.1
Monkey/Rhesus	Intravenous	Single	0.04, 0.2, 1	No	[redacted]	ES13261	4.2.3.7.4.2
Monkey/Rhesus	Intravenous	NA[m]	NA[m]	Yes	[redacted]	ES13262	4.2.3.7.4.3
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single[n]	0, 10, 30, 100, 1000	Yes	[redacted]	463-058	4.2.3.7.4.4

Test Article: Lemborexant

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Studies on Metabolites							
(Mouse/CB6F1-nonTg rasH2)	(Oral gavage)	(4 weeks)	(100, 300, 1000)	No	Eisai	DMPKT2014-007[o]	4.2.3.7.5.1
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks	10(F), 30(M), 100, 1000	Yes	[redacted]	ES15364	4.2.3.7.5.2
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	4 weeks	10, 100, 1000	Yes	[redacted]	ES15365	4.2.3.7.5.3
Studies on Impurities							
Ames assay (不純物A*) *S. typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	156 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	14K5368G	4.2.3.7.6.1
Ames assay (不純物B*) *S. typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	313 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	14K5358G	4.2.3.7.6.2
Ames assay (不純物C*) *S. typhimurium* and *E.coli*	In vitro	NA	19.5 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	15K2008G	4.2.3.7.6.3
Ames assay (不純物D*) *S. typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	19.5 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	15K1998G	4.2.3.7.6.4

*新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: Lemborexant

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Ames assay (不純物E*) *S. typhimurium* and *E.coli*	In vitro	NA	156 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	15K2018G	4.2.3.7.6.5
Ames assay (不純物F*) *S. typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	313 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	14K5348G	4.2.3.7.6.6
Ames assay (不純物G*) *S. typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	6.86 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	16K8568G	4.2.3.7.6.7
Ames assay (不純物H*) *S. typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	19.5 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	14K3348G	4.2.3.7.6.8
Ames assay (不純物I*) *S.typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	1.58 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	964018	4.2.3.7.6.9
Ames assay (不純物J*) *S.typhimurium* and *E. coli*	In vitro	NA	6.86 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	15K1538G	4.2.3.7.6.10
Phototoxicity							
Mouse BALB/c 3T3 cells	In vitro	NA	0.78 to 100 µg/mL	No	Eisai	T14019	4.2.3.7.7.1
Mouse BALB/c 3T3 cells	In vitro	NA	0.78 to 100 µg/mL	Yes	Eisai	T17022	4.2.3.7.7.2

*新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: Lemborexant

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Other Studies							
Plasmodium falciparum	In vitro	NA	0.1 to 100 µg/mL	No	Eisai	W-20140891	4.2.3.7.7.3

[redacted], [redacted], [redacted], Eisai = Eisai Co., Ltd., F = female, GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, [redacted], LD = lactation day, M = male, [redacted], NA = not applicable, NOAEL = no observed adverse effect level, NZW = New Zealand White, [redacted], Sunplanet = Sunplanet Co., Ltd., tk = thymidine kinase, Tg = transgenic, VSD = ventricular septum defect.

a: For single-dose and repeated-dose toxicity studies, where available, the NOAEL is underlined.
b: Indicates study includes a GLP Compliance statement.
c: Toxicokinetics study in CB6F1-nonTg rasH2 mice.
d: The NOAEL was 100 mg/kg in females and 1000 mg/kg in males.
e: Paraffin-embedded liver sections from 3 control females, and 3 females at 1000 mg/kg in which hepatocellular hypertrophy was observed in the 4-week oral toxicity study (添付資料 4.2.3.2.5［K11004］) were used (this portion of the study was conducted non-GLP).
f: Reevaluation of histopathology on bone tissue obtained in 添付資料 4.2.3.2.5（K11004）.
g: The NOAEL was 30 mg/kg in females and 100 mg/kg in males.
h: The NOAEL was 100 mg/kg for female general toxicity and early embryonic development, and 30 mg/kg for female fertility.
i: The NOAEL was 60 mg/kg for maternal animals, and the NOAEL for embryo-fetal development was 200 mg/kg with the exception of membranous VSD which occurred in one fetus at 60 and 200 mg/kg.
j: The NOAEL was 60 mg/kg for maternal animals, and 200 mg/kg for embryo-fetal development.
k: The NOAEL was 100 mg/kg for F0 maternal general toxicity and F1 offspring growth, and 300 mg/kg for maternal reproductive function (gestation, parturition, and lactation) as well as F1 offspring survival, sexual maturation, motor activity, learning and memory, and reproductive function.
l: Due to marked body weight loss during the first 2 weeks of the study, animals were given a 7-day dosing holiday starting on Day 15. Dosing was resumed on Day 22 with a reduced dose level of 800 mg/kg.
m: The animals were catheterized and allowed to self-administer lemborexant for 2 hours/day with a descending dose manner of 0.3, 0.1, 0.03, 0.01, and 0.003 mg/kg/infusion for 4 to 7 days/dose. Self-administration consisted of venous infusion of a specified volume of the dosing formulations through the catheter when animals pressed the lever set 5 times.
n: A pool of 32 female rats were trained to differentiate between oral gavage administrations of zolpidem and vehicle using a 2-choice drug versus vehicle 2-lever operant discrimination task under a fixed-ratio 10 schedule of reinforcement. Once the training criteria were met, testing sessions were initiated and animals were administered vehicles, zolpidem, comparator article (suvorexant), and lemborexant.
o: Mouse plasma samples collected from 添付資料 4.2.3.2.3（K14035）were used.