目次

略語・略号一覧 2
2.4 非臨床試験の概要文及び概要表 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.2 薬理試験 4
2.4.3 薬物動態試験 8
2.4.4 毒性試験 10
2.4.5 総括及び結論 15
2.4.6 参考文献一覧 19

略語・略号一覧

略語・略号	内容
ACTH	副腎皮質刺激ホルモン
A/G	アルブミン・グロブリン比
ALAT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT)
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
ASD	自閉スペクトラム症 (Autism spectrum disorder)
AUC	血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein
C_{max}	最高血漿中濃度
FSH	卵胞刺激ホルモン
GABA	γ-アミノ酪酸 (γ-aminobutyric acid)
GH	成長ホルモン
GLU	グルコース
5-HT	セロトニン (Serotonin)
in silico	コンピュータ・シミュレーション
LH	黄体形成ホルモン
MT	メラトニン (Melatonin)
OATP	有機アニオントランスポーティングポリペプチド
P-gp	P-糖たん白質
PT	プロトロンビン時間
T_3	甲状腺ホルモン(3 つのヨウ素を持つトリヨードサイロニン)
T_4	甲状腺ホルモン(4 つのヨウ素を持つサイロキシン)
TG	中性脂肪
TP	総蛋白
TSH	甲状腺刺激ホルモン
UDP-GT	グルクロン酸転移酵素(uridine diphosphate glucuronyl transferase)
UGT	ウリジン 2 リン酸 (UDP) グルクロン酸転移酵素
UN	尿素窒素
γGT	γグルタミルトランスペプチダーゼ

2.4 非臨床試験の概要文及び概要表

本剤の適応疾患は、小児期の神経発達症に伴う入眠困難の改善である。本剤は 1 g 中にメラトニン（MT）2 mg を含む顆粒 0.2%の製剤であり、添加物として D-マンニトール、ヒドロキシプロピルセルロース、軽質無水ケイ酸を含んでいる。

不眠症治療薬としては、従来から $GABA_A$ 受容体アゴニスト（ベンゾジアゼピン系や非ベンゾジアゼピン系睡眠薬）が使用されており、さらに 2010 年に承認された MT 受容体アゴニストのラメルテオン及び 2014 年に承認されたオレキシン受容体拮抗薬のスボレキサントが睡眠障害の治療薬として処方されている。この他、MT 自体は医薬品として承認されてはいないが、自閉スペクトラム症（ASD）などの神経発達症の小児の睡眠障害に対し、数多くの臨床試験において MT の有効性が報告されていることから MT の輸入サプリメントや試薬が使用されている[1),2),3),4),5)]。

一方、海外では MT 製剤として、Neurim 社（イスラエル）により「55 歳以上の原発性不眠症」を効能・効果とする Circadin®が 2007 年に欧州で、2009 年にオーストラリアで承認されている。その後、Neurim 社は、MT の小児用製剤を開発し、2018 年に欧州において「ASD 又はスミス・マゲニス症候群を伴う 2～18 歳の小児又は青年の不眠症」の効能・効果で承認を取得している。

本剤の主成分である MT の睡眠作用に関し、動物を用いた試験において入眠潜時短縮作用、総睡眠時間の増加作用及び概日リズムの再同調作用などが認められ、睡眠構造には影響を与えなかったことから、MT でみられる睡眠作用は自然睡眠に近いものであった。また、現在市販されている鎮静型睡眠薬でみられる筋弛緩作用に伴う運動障害、前向性健忘作用による学習障害、持ち越し効果及び睡眠構造の変化などの作用は MT では認められず、安全性は高いと推察される。従って、本剤は小児期の神経発達症に伴う入眠困難の改善に対し有用性及び安全性の高い治療薬となりうると考えられる。

2.4.1 非臨床試験計画概略

非臨床試験において、MT の効力を裏付ける試験、副次的薬理試験については、1958 年の MT の発見以来、多数の非臨床及び臨床試験に関する文献が報告されていることから、新たな薬理試験は実施せず、PubMed 検索により収集した文献の中から試験方法、使用された実験動物種などを考慮し、メラトニンの睡眠改善作用に関する効力を裏付ける試験、副次的薬理試験の内容として適切と考えられる文献を採択し、CTD 様式に編集して参考資料とした。安全性薬理試験に関しても公表文献からの収集に加え、GLP に準拠して実施された反復投与毒性試験で得られた一般状態及び行動並びに循環器系に対する試験結果を用いて CTD を作成した。

MT の非臨床薬物動態に関する研究報告は、その他の非臨床試験や臨床試験に比べ多くない。従って、薬物動態試験では、単回投与時の吸収、たん白結合（in vitro）、血球移行、胎盤通過、in vivo 代謝、in vitro 代謝及び排泄試験については公表文献の試験結果を使用し、反復投与時の血漿中濃度については、毒性試験に付随するトキシコキネティクス試験の結果を評価した。分布試験として全身オートラジオグラフィー（白色及び有色ラット）を、薬物動態学的相互作

用試験については、ガイドライン[6)]に準じた in vitro 試験を実施し、これらの試験結果を用いて CTD を作成した。

毒性試験については、NPC-15（MT）の安全性を評価するため、イヌを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、細菌、チャイニーズハムスター肺細胞及びラットを用いた遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験並びに幼若ラットを用いた試験を実施した。

単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験及び幼若ラットを用いた試験については医薬品毒性試験法ガイドラインに準拠して実施した。用量設定試験及び検討試験を除くすべての試験は GLP に準拠して実施した。なお、がん原性試験は実施しなかった。NPC-05 は生体内物質である MT と同一成分であり、生理的な濃度を超える曝露となるものの、MT の生物学的作用である睡眠効果を期待して投与されることから、必ずしもがん原性試験の実施は必要ないと考えた。しかしながら、現在までに得られた NPC-15 の安全性試験成績、海外における MT の安全性情報、MT の生物学的特性及び MT 受容体作動薬の安全性情報を踏まえ NPC-15 のがん原性に関する知見については＜2.6.6＞に記述した。

MT の不純物の変異原性評価試験として、「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン（平成 27 年 11 月 10 日付け薬生審査発 1110 第 3 号）」に準拠し、NPC-15 の原薬製造工程由来の不純物＜2.3.S.3.2＞、製剤中に存在が予想される分解生成物＜2.3.P.5.5＞の化学構造について、対象となる 14 物質の in silico 変異原性予測を実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

(1) In vitro 薬効試験

＜添付資料 4.2.1.1-1（参考）、4.2.1.1-3（参考）＞

In vitro MT 受容体結合親和性試験において、MT はヒト、サル及びニワトリの MT 受容体 1 及び 2 に対し、ピコモルオーダーの濃度で結合親和性を示したが、ハムスターの MT 受容体 3 に対する結合親和性はマイクロモルオーダーの濃度であり、MT 受容体 1 及び 2 のそれに比べて低かった。また、ヒト、ブタ及びラットのセロトニン（5-HT）受容体のサブタイプ（5-HT_{1A}、5-HT_{2A}、5-HT_{2B}及び5-HT_{2C}）に対し、5-HT_{1A}及び5-HT_{2B}受容体を除いて MT はほとんど結合親和性を示さなかった。しかしながら MT の 5-HT_{1A}及び5-HT_{2B}に対する親和性はマイクロモルオーダーと、MT 受容体への親和性に比べて低かった。MT はフォルスコリン誘発性環状アデノシン一リン酸の生成を抑制した。

(2) In vivo 薬効試験

＜添付資料 4.2.1.1-4（参考）、4.2.1.1-5（参考）、4.2.1.1-6（参考）、
4.2.1.1-7（参考）、4.2.1.1-8（参考）＞

In vivo 試験において、MT を単回投与及び反復投与した無麻酔無拘束のサルに対し、入眠前に投与したとき、MT は入眠までの時間を短縮させるとともに総睡眠時間を増加させた。ネコにおいても MT を昼期に投与したとき、MT は入眠潜時を短縮させる傾向を示した。ラットの回転かご廻し法における活動量を指標に、明暗サイクルを前進させたときの概日リズムの再同調に対する MT の作用を検討した試験において、MT は再同調促進作用を示した。ラット睡眠相後退症候群モデルにおいて、後退した同調行動リズムは MT 投与により前進することが示された。

2.4.2.2 副次的薬理試験

＜添付資料 4.2.1.1-1（参考）、4.2.1.2-1（参考）、4.2.1.2-2（参考）＞

サルの 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine（MPTP）誘発パーキンソン病モデルにおいて認められた睡眠障害を MT は改善した。

ラットのバルプロ酸誘発性ASDモデルにおいて観察された社会性相互作用の低下をMTは回復させた。

MT の諸種神経伝達物質受容体に対する親和性を検討した試験において、受容体いずれに対しても MT は 10 μmol/L で 50%以上の阻害作用を示さなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

(1) 中枢神経に対する作用

＜添付資料 4.2.1.3-1（参考）、4.2.1.3-2（参考）、4.2.1.3-3（参考）、4.2.1.3-4（参考）、4.2.3.5.4-1＞

マウスに MT を 8、16、64、128、256 mg/kg の用量で腹腔内投与し、Irwin の方法に従い行動を観察した。8 mg/kg では行動に影響を及ぼさなかったが、16 mg/kg 以上の用量で鎮静、恐れ、反応性と筋緊張及び体温の低下が認められた（添付資料 4.2.1.3-1（参考））。

マウスに MT を 0、30 mg/kg の用量で腹腔内投与し、ビデオ・トラッキング・システムを用いて自発運動量を測定したとき、自発運動量への影響は認められなかった（添付資料 4.2.1.3-2（参考））。

マウスに MT を 0、64、128 及び 256 mg/kg を腹腔内投与し、抗不安作用を評価した試験において、抗不安作用の指標として4プレート法で電撃刺激からの逃避数(Number of punished cross)及び尾懸垂法で無力状態の期間（Duration of immobility）を測定した。MT のいずれの用量でもこれらの測定項目に変化はみられなかったが、MT をジアゼパム（0.5 mg/kg 経口投与）と併用投与すると逃避数の増加と無力状態の期間の延長が認められた(添付資料 4.2.1.3-3(参考))。

NPC-15 の毒性試験として幼若ラットに MT を 0、15、75、375 mg/kg の用量で生後 7 日から 4 週間反復経口投与し、一般状態への影響を検討した。その結果、375 mg/kg の雌雄に自発運動の低下及び削痩、雄に腹臥位及び緩徐呼吸が認められ、雄 6 例と雌 3 例が死亡した。15 及び 75 mg/kg では、投与期間を通して、MT 投与に起因した異常は認められなかった。自発運動の低下は MT の中枢作用ではなく、動物の一般状態が悪化したことに起因した変化と考えられた（添付資料 4.2.3.5.4-1)。

カニクイザルにテレメトリーを装着し、第1週にMTを0（媒体）、0.2、2、20 mg/kgの順に24時間間隔で毎日9:00に経口投与した。第4週に同様の手順でMTを16:00に投与した。第5週に3日間間隔でMT 200 mg/kgを9:00と16:00の2回投与した。テレメトリーのプローブを用いて、腹腔内の体温を中核体温（core body temperature: CBT）として継続的に測定した。その結果、MTを9:00に投与したとき、200 mg/kgの用量では有意なCBTの低下が認められたが、2及び20 mg/kgでは有意な作用は認められなかった。MTを16:00に投与したとき、CBTへの作用はみられなかった。MTを9:00に投与した場合のCBT低下はMTの睡眠導入作用の機序のひとつと考えられる。MTを16:00に投与した場合にCBT低下がみられなかった理由として、日内変動である夜間のCBT低下がMTの作用をマスクした可能性が考えられる。（添付資料4.2.1.3-4（参考））。

(2) 循環器系に対する作用

＜添付資料4.2.1.3-5（参考）、4.2.1.3-6（参考）、4.2.3.2-4、4.2.3.2-5＞

ラットのランゲンドルフ灌流心にMTを0、5、10、20、50 μmol/Lの濃度で灌流し、静止膜電位、活動電位振幅、APD_{90}（90%再分極した時の活動電位持続時間）、再灌流性不整脈への影響を検討した。MTは静止膜電位、活動電位振幅及びADP_{90}に影響しなかった。一方、冠動脈左前下行枝を10分間結紮後再灌流したときに発生する不整脈をMTは有意に減少させた（添付資料4.2.1.3-5（参考））。

ヒヒに麻酔下でMTを0.3～0.4 mg/kgの用量で静脈内投与し、血圧、心拍数、心電図、放射性核種心室造影法で左室拡張末期容積（EDV）、左室収縮末期容積（ESV）、一回拍出量（SV）、心拍出量（CO）及び左室駆出分画率（LVEF）をMT投与後60分にわたって測定した。MTは投与直後にCOを増加させ、投与直後と30分後にLVEFを増加させたが、投与後60分には回復した。心電図を含むその他の検査項目に変化は認められなかった（添付資料4.2.1.3-6（参考））。

NPC-15の毒性試験としてイヌにMTを0、15、75、375 mg/kgの用量で4週間、0、15、75及び250 mg/kgの用量で39週間反復経口投与し心電図に対する影響を検討した。その結果、いずれの試験においてもMT投与に起因した心電図の変化は認められなかった(添付資料4.2.3.2-4、4.2.3.2-5)。

(3) 呼吸器系（動脈血酸素飽和度）に対する作用

＜添付資料4.2.1.3-7（参考）＞

ラットを用いた試験において、環境心毒性物質2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin（TCDD)、MT、TCDD＋MT及び対照群(Control)の4群を設け、心重量、動脈血酸素飽和度(PO_2%)、心拍数（HR）及び平均血圧（MBP）に対する作用を検討した。TCDDは2 μg/kgの用量で週1回経口投与し、MTは5 mg/kgを1日1回、45日間腹腔内投与した。その結果、MTはいずれの測定項目にも影響を示さなかった。

(4) 消化器系に対する作用

＜添付資料 4.2.1.3-8（参考)、4.2.1.3-9（参考）＞

ラットに MT を 0.001、0.01、0.03、0.1、1、3、10、30、100 mg/kg の用量で腹腔内投与し、胃排泄率（mL/5 min）を測定した。その結果、MT の 3 及び 10 mg/kg は有意な胃排泄抑制作用を示した（添付資料 4.2.1.3-8（参考))

ラットに MT を 1、10、100、1000 μg/kg の用量で腹腔内投与し、消化管運動の指標としてコチニール色素に染色された消化管の長さを測定した。その結果、低用量の 1 及び 10 μg/kg は消化管運動を亢進し、高用量の 100 及び 1000 μg/kg は消化管運動を抑制した。MT 10 μg/kg の消化管運動亢進作用は、MT 受容体拮抗薬 luzindol（0.25 mg/kg 腹腔内投与）で抑制され、コリン作動薬 neostigmine（0.01 mg/kg 腹腔内投与）及びムスカリン受容体拮抗薬 atropine（0.01 mg/kg 腹腔内投与）の影響を受けなかった。以上の結果から、MT の消化管運動亢進は副交感神経の興奮を介さず、MT 受容体を介した作用と考えられた。(添付資料 4.2.1.3-9 (参考))

(5) 腎／泌尿器系に対する作用

＜添付資料 4.2.3.5.4-1、4.2.3.2-3、4.2.3.2-5＞

NPC-15 のラット及びイヌを用いた毒性試験において、尿検査及び血液生化学的検査の腎パラメーターにおける MT の作用を検討した。幼若ラットに MT を 0、15、75、375 mg/kg の用量で生後 7 日から 4 週間経口反復投与した。その結果、尿検査に異常は認められなかった。血液生化学的検査では 375 mg/kg 群で雌雄に尿素窒素の高値、雌にクロライドの高値が認められた。しかし、375 mg/kg 群の雌雄では自発運動の低下及び削痩、加えて死亡例も認められたことから、尿素窒素とクロライドの高値は腎機能以外の変化を反映した可能性もあると考えられる（添付資料 4.2.3.5.4-1)。ラットに MT を 0、15、75、375 mg/kg の用量で 26 週間反復経口投与した。その結果、腎パラメーターに変化は認められなかった（添付資料 4.2.3.2-3)。イヌに MT を 0、15、75、250 mg/kg の用量で 39 週間経口反復投与した。その結果、尿検査では 250 mg/kg 群の雄にビリルビン陽性反応とカリウム排泄量の低値が認められた。血液生化学検査では 250 mg/kg 群の雄に尿素窒素及びカルシウムの低値が認められた。しかし、250 mg/kg 群の雌雄では嘔吐、摂餌量と体重の低下から死亡例が認められており、幼若ラットと同様にこれらの変化は腎機能以外の変化を反映した可能性もあると考えられる(添付資料 4.2.3.2-5)。

(6) 自律神経系に対する作用

＜添付資料 4.2.1.1-1（参考)、4.2.1.3-10（参考）＞

受容体結合試験において MT 10 μmol/L はアドレナリン、ニューロペプチド、ムスカリン、ニコチン受容体並びにカルシウム、ナトリウムチャネルに対して 50%以上の阻害作用を示さなかった（2.6.2.3.3)。

ラットの脳室にウレタン麻酔下で MT 100 μg/animal 及び IL-1β 100 ng/animal を投与し、血漿中アドレナリン（Ad）及びノルアドレナリン（NA）を測定し MT の交感神経－副腎髄質系への影響を検討した。その結果、MT は血漿中 Ad 及び NA 濃度に影響しなかった。IL-1β（100 ng/animal）は血漿中 Ad 濃度に影響しなかったが、血漿中 NA 濃度を有意に増加させた。

MT の前投与は IL-1β の血漿中 NA 濃度増加に影響しなかった。従って、脳室内に投与された MT は交感神経－副腎髄質系に影響しないと考えられた（添付資料 4.2.1.3-10（参考））。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

＜添付資料 4.2.2.2-1（参考）、4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-4、4.2.3.2-5、4.2.3.5.4-1＞

ラット、イヌ及びサルに MT を静脈内投与したとき、血漿中 MT 濃度は半減期 0.31～0.57 時間で速やかに低下した。MT をラットに静脈内（5 mg/kg）、腹腔内（10 mg/kg）及び経口（10 mg/kg）投与したときの血漿中 MT 濃度の AUC から求めた経口吸収率及び生物学的利用率は、それぞれ 72 及び 53.5%であった。イヌに MT を経口投与したときの生物学的利用率は、16.9（1 mg/kg）及び＞100%（10 mg/kg）であり非線形性が示唆された。サルに MT を経口投与（10 mg/kg）したときの生物学的利用率は＞100%であった。

ラット及びイヌに MT を経口投与したときの用量依存性と反復投与の影響を、トキシコキネティクス試験により評価した。雌雄ラットに MT を 15、75 及び 375 mg/kg 単回経口投与したとき、MT は速やかに最高血漿中濃度に達し、その後速やかに消失した。投与量の増加率を上回る C_{max} 及び AUC の上昇が認められ、消失半減期も高用量では遅延したことから、非線形性が示された。反復投与により、低用量群では血漿中濃度の上昇が認められたが、投与量の増加に伴い、上昇の程度は小さくなり、その結果、反復投与後には非線形性が減弱した。投与量及び投与回数にかかわらず性差はみられなかった。幼若雌雄ラットに MT を 15、75 及び 375 mg/kg の用量で単回経口投与したとき（投与時 1 週齢）の血漿中濃度（C_{max} 及び AUC_{0-6h}）は、成熟ラットの単回投与後（投与時 5 週齢）と比較して明らかに高値を示したが、4 週間反復投与後（5 週齢）には低下し、成熟ラットの単回投与時（5 週齢）とほぼ同程度となった。雌雄イヌに MT を 15、75 及び 375 mg/kg 単回経口投与したとき、MT は速やかに最高血漿中濃度に達し、その後速やかに消失した。ラットと同様に非線形性がみられたが、反復投与による変化はみられなかった。投与量及び投与回数にかかわらず性差はみられなかった。

2.4.3.2 分布

＜添付資料 4.2.2.3-1、4.2.2.3-2（参考）、4.2.2.3-3（参考）、4.2.2.3-4（参考）＞

雄性白色ラット及び有色ラットに[^{14}C]MT を単回経口投与（15 mg/kg）し、定量的全身オートラジオグラフィーにより放射能の組織分布を検討した。白色ラット及び有色ラットのいずれにおいても、[^{14}C]MT は速やかに吸収されて全身に分布し、投与後 0.25 時間には、膀胱内尿を除くすべての組織で最高放射能濃度を示した。投与後 1 時間では、膀胱内尿を除くすべての組織中放射能が速やかに低下し、投与後 24 時間では多くの組織で定量下限未満となった。有色ラットと白色ラットの比較では、ブドウ膜を除くといずれの組織及び時点においても放射能濃度に顕著な差は認められなかった。有色ラットのブドウ膜には放射能の分布が確認されたことから、

MT 及び/又はその代謝物は MT への親和性を有するものと考えられたが、ブドウ膜からの放射能の消失は他の組織と同様に速やかであった。

MT のラット及びヒトにおける血漿たん白結合率を平衡透析法により検討した結果、種差は認められず、いずれの結合率も 50～60%であった。結合たん白は主としてアルブミンであるが、α1 酸性糖たん白の寄与も確認された。

妊娠サルに[^{3}H]MT を静脈内投与したとき、胎仔血漿中に[^{3}H]MT の移行が確認された。

2.4.3.3 代謝

＜添付資料 4.2.2.4-1（参考）、4.2.2.4-2（参考）、4.2.2.4-3（参考）、4.2.2.4-4（参考）、4.2.2.4-5（参考）、4.2.2.4-6（参考）、4.2.3.2-1＞

ラットに放射性同位元素で標識した MT 又は非標識 MT を投与した後の尿を分析し、MT の代謝経路について検討した。MT の主たる代謝経路は 6 位の水酸化に続く硫酸抱合及びグルクロン酸抱合であり、その他の代謝経路として、N-脱アセチル化、5 位の脱メチル化及びインドールの開環が認められた。6 位の水酸化は、CYP1A1、CYP1A2 及び CYP1B1 により触媒され、5 位の脱メチル化は主に CYP2C19 により触媒された。MT の主たる代謝酵素は CYP1A2 であると考えられた。

2.4.3.4 排泄

＜添付資料 4.2.2.4-1（参考）、4.2.2.4-2（参考）、4.2.2.5-1（参考）＞

放射性同位元素で標識した MT をラットに静脈内投与したとき、投与後 24 時間までの尿及び糞中に、それぞれ投与放射能の 60～70%及び 15%が排泄された。ウサギに[^{14}C]MT を投与し、投与後 1 時間に胆嚢から回収した胆汁中放射能は投与放射能の 0.5%であり、尿中排泄率に対する割合はわずかに 4%であった。授乳中のラットに[^{3}H]MT を皮下投与したとき、仔の胃内に[^{3}H]MT が検出された。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

＜添付資料 4.2.2.6-1、4.2.2.6-2、4.2.2.6-3＞

MT の CYP 分子種、UGT 分子種及び薬物トランスポーターに対する阻害作用、並びに CYP 分子種に対する誘導作用を検討した結果、いずれに対しても影響は認められなかった。このことから、MT は併用他剤の薬物動態に影響を与える可能性は低いと考えられた。MT のトランスポーターによる輸送の評価では、MT は P-gp、OATP1B1 及び OATP1B3 では輸送されなかった。一方、MT は BCRP の弱い基質であることが示唆されたが、薬物相互作用が懸念されるものではなかった。MT は主として CYP1A2 により代謝されるため、同酵素の阻害剤又は基質と併用投与すると、血漿中濃度が上昇する。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.1-1（参考）、4.2.3.1-2＞

MT をマウス、ラットに単回経口投与した際の 50%致死量は、マウスで 1250 mg/kg、ラットで 3200 mg/kg 以上であった。また、静脈内投与では、マウスで 472 mg/kg、ラットで 356 mg/kg であった。マウス及びラットとも高用量群では四肢の血管拡張、立毛、眼瞼下垂、筋弛緩、自発運動の減少及び運動失調がみられた。死亡例では、正向反射・踏み直り反射などの低下、体温の低下及び呼吸困難が認められた。

NPC-15 をイヌに単回経口投与した際の概略致死量は、1000 mg/kg 以上であった。雌雄とも投与後 1～2 時間より、吐物、結膜の充血、潮紅、歩行異常及び振戦が認められ、投与日に全例で摂餌量の低値、投与後 2 日に雄 1 例及び雌全例で体重の減少がみられたが、その後はいずれも回復傾向を示した。剖検では異常はなかった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.2-1、4.2.3.2-2、4.2.3.2-3、4.2.3.2-4、4.2.3.2-5＞

ラットの反復投与毒性試験ではいずれの試験においても死亡は認められなかった。概略の致死量を、幼若ラットの 4 週間反復投与毒性試験の致死量とその曝露量（$AUC_{0\text{-}6h}$）から換算すると 2000 mg/kg 付近となり、急性毒性症状は自発運動の低下、削痩及び体重の低値が考えられる。

NPC-15 をラットに 4、13 及び 26 週間、イヌに 4 及び 39 週間反復経口投与して毒性を検討した。ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（15、75、375 mg/kg/day）では、いずれの投与群においても死亡は認められず、全身毒性を示唆する変化も認められなかった。

375 mg/kg/day では黒色便（雌雄）及び尿ビリルビン陽性反応（雌）が観察された。また、雌雄で肝 UDP-GT 酵素活性の高値が、雌で肝臓重量の高値が認められたが、肝機能に関連する血液生化学的検査値の変動及び肝臓の病理組織学的検査において異常は認められなかったことから、肝臓重量の変動は、生体の適応性反応（薬物代謝酵素誘導）を反映したもので、毒性学的に意義のない変化と判断した。黒色便については、肝 UDP-GT 酵素活性が高値であったことから、ビリルビンの抱合が亢進され、多量の抱合型ビリルビンが腸管に分泌され、便の色調変化を生じたものと考えられた。また、尿ビリルビン陽性反応については、抱合型ビリルビンの一部が尿から排泄されたことに起因したものと考えられた。これらの変化については、薬物代謝酵素誘導に関連して発現した可能性が考えられることから、毒性学的に意義のない変化と判断した。本試験における無毒性量は、雌雄とも 375 mg/kg/day と判断した。

ラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（15、75、375 mg/kg/day）では、死亡は認められず、375 mg/kg/day では 4 週間反復経口投与試験と同様に黒色便及び尿ビリルビン陽性反応が観察された。同群では、甲状腺の褐色化並びに甲状腺重量の高値ないし高値傾向が認められ、病理組織学的検査において、濾胞上皮細胞の肥大及び褐色色素沈着が認められた。血液生化学的検査ではグルコースの高値が 75 及び 375 mg/kg/day の雌に、総コレステロール及びリン脂質の高値が 375 mg/kg/day の雌雄及び 75 mg/kg/day の雌にみられた。副腎では、束状帯の

皮質細胞における空胞の増加が 375 mg/kg/day に認められた。卵巣の黄体の減少が 75 及び 375 mg/kg/day に、卵胞嚢胞及び膣粘膜上皮細胞の変性／壊死が 375 mg/kg/day に認められた。その他、375 mg/kg/day では、肝臓重量の高値及び小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。これらの肝臓の変化については、4 週間反復経口投与試験と同様に、生体の適応性反応（薬物代謝酵素誘導）を反映した変化と判断した。本試験における無毒性量は、雄で 75 mg/kg/day、雌で 15 mg/kg/day と判断した。

ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（15、75、375 mg/kg/day）では死亡は認められず、375 mg/kg/day では黒色便及び尿ビリルビン陽性反応が観察された。血液生化学的検査では 375 mg/kg/day で総コレステロール及びリン脂質の高値がみられた。器官重量では 75 及び 375 mg/kg/day の雄で副腎重量の低値が、375 mg/kg/day で甲状腺及び肝臓重量の高値が認められた。病理組織学的検査では 375 mg/kg/day の雌雄で副腎の束状帯の皮質細胞の空胞化が、甲状腺では 75 mg/kg/day の雄及び 375 mg/kg/day の雌雄に濾胞上皮細胞の褐色色素沈着、375 mg/kg/day の雄に濾胞上皮細胞の肥大が認められた。375 mg/kg/day の肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。本試験における無毒性量は、雄で 15 mg/kg/day、雌で 75 mg/kg/day と判断した。

イヌにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（15、75 及び 375(150) mg/kg/day）では、死亡は認められなかった。しかし 375 mg/kg/day の雄では自発運動の低下、削痩、無便、粘液便及び結膜の充血が認められ、摂餌量及び体重の有意な低値が認められた。そのため、375 mg/kg/day での投与継続は困難と判断し、第 15 日より投与量を 150 mg/kg/day に変更した。その後、異常症状は次第に消失し、体重及び摂餌量もほぼ回復した。

375(150) mg/kg/day の雌雄では嘔吐、振戦、歩行異常及び黒色便などが認められた。血液学的検査では、375(150) mg/kg/day の雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網状赤血球率の低値、血小板数の高値が認められ、雌でもヘマトクリット値の低値及び血小板数の高値が認められた。血液生化学的検査では、375(150) mg/kg/day の雄で ALAT の高値傾向及び γGT の高値が認められ、病理組織学的検査では雄の肝臓で、小葉中心性肝細胞肥大、肉眼的な陥凹巣を伴う小葉辺縁性の肝細胞変性及び褐色色素貪食マクロファージの浸潤が認められた。さらに肝細胞内グリコーゲンの増加、胸腺の萎縮、骨髄における造血細胞の減少及び副腎の皮質束状帯細胞の脂肪滴の減少が認められた。これらの変化は投与開始初期の全身状態の悪化に関連すると考えられ、回復期間終了時にはいずれも回復性が確認された。心電図検査、眼科学的検査、尿検査及び器官重量測定では、薬物投与に起因した変化は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄とも 75 mg/kg/day と判断した。

イヌの 39 週間反復経口投与毒性試験(15、75 及び 250(150) mg/kg/day)では、250 mg/kg/day の雄 1 例が摂餌量の低値、体重減少及び自発運動の低下を伴って第 217 日に死亡した。同群の他の動物においても同様の症状が認められたため、雄は第 217 日より、雌は第 209 日より投与用量を 150 mg/kg/day に変更した。

死亡例の投与 12～13 週の検査では、尿中ビリルビンの高値、赤血球数の低値、PT 及び APTT の延長並びに γGT の高値が認められ、剖検では黄疸及び肝臓の白色斑がみられ、病理組織学的

検査では、肝硬変及び胆汁栓が認められた。また、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大を伴う褐色色素沈着、精細管の萎縮に伴う間質細胞の増加、並びに精巣上体管及び前立腺の萎縮が認められた。

生存例では、250(150) mg/kg/day の雄 2 例及び雌全例において嘔吐及び流涎が認められた。雌雄各 1 例が投与期間の末期に摂餌量の低値を示し体重が減少したが、投与量の変更後には回復した。なお、薬物投与群の全例で黒色便が認められたが、消化管の病理組織学的検査に異常は認められていないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

250(150) mg/kg/day では、雄で尿中ビリルビンの高値が、雌 1 例で尿中カリウムの低値（13 週検査のみ）がみられた。血液学的検査では、雄で血小板数の高値、雌で高値傾向が認められた。血液生化学的検査では、雌雄で ALAT 及び γGT の高値が認められた。器官重量では、250(150) mg/kg/day の雌雄及び 75 mg/kg/day の雌で甲状腺重量の高値が認められた。また、250(150) mg/kg/day の雄では精巣重量の低値が、雌では肝臓重量の高値が認められた。病理解剖検査では、250(150) mg/kg/day の雌雄で甲状腺の黒色化及び大型化が認められた。また、雄では肝臓の黄色化、胸水の貯留、膵臓周辺組織の水腫、十二指腸の潰瘍、並びに精巣及び前立腺の小型化が認められた。病理組織学的検査では、250(150) mg/kg/day の雌雄で、淡明化肝細胞巣及び胆管上皮の空胞化が認められ、同群の雄 1 例には肝硬変、胆汁栓が認められた。同群では甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が認められ、75 及び 250(150) mg/kg/day の雌雄で濾胞上皮細胞における褐色色素の沈着が認められた。濾胞上皮細胞に沈着した褐色色素は、特殊染色検査によりリポフスチン様のものと判断された。また、250(150) mg/kg/day の雄では精細管の萎縮に伴う間質細胞の増加、並びに精巣上体管及び前立腺の萎縮が認められた。この他、膵臓周囲組織の水腫及び十二指腸のびらん／潰瘍がみられた。心電図検査及び眼科学的検査では、薬物投与に起因した変化は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄とも 15 mg/kg/day であると判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

＜添付資料 4.2.3.3.1-1、4.2.3.3.1-2、4.2.3.3.2-1＞

細菌を用いた復帰突然変異試験では突然変異誘発性は認められなかった。また、チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL/IU)株を用いた in vitro 染色体異常試験及びラットにおける骨髄小核誘発性を指標とした in vivo 染色体異常試験のいずれにおいても染色体異常誘発性は認められなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

該当する試験を実施していない。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

＜添付資料 4.2.3.5.1-1、4.2.3.5.2-1、4.2.3.5.2-3、4.2.3.5.3-1＞

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（15、75、375 mg/kg/day）では、雌雄とも試験期間を通して死亡例は認められなかった。375 mg/kg/day では雌雄で黒色便が散見され、甲状腺の褐色化が認められた。また、雌では発情周期（日）の延長及び発情回数の低値傾向が認められた。着床率、着床前死亡率、着床後死亡率及び生存胚数に薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄の親動物の一般毒性に対しては 75 mg/kg/day、生殖能に対しては雄で 375 mg/kg/day 及び雌で 75 mg/kg/day、初期胚発生に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

ラットの胚・胎児発生に関する試験（15、75、375 mg/kg/day）では、試験期間を通して死亡例は認められなかった。375 mg/kg/day では、母動物で黒色便が散見され、投与初期から妊娠中期まで体重の増加抑制傾向及び摂餌量の低値がみられた。着床後死亡率（早期吸収胚率、後期吸収胚率及び死亡胎児率)、生存胎児数、性比、胎児体重及び胎盤に薬物投与の影響は認められなかった。胎児の形態学的検査（外表、内臓及び骨格検査）及び骨化進行度にも薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、母動物に対しては 75 mg/kg/day、胚・胎児発生に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験（30、100、300 mg/kg/day）では、薬物投与に起因した死亡は認められなかった。300 mg/kg/day では、母動物で潮紅及び黒色便が散見され、体重及び摂餌量の低値が認められ、生存胎児では体重の低値がみられた。着床後死亡率（早期吸収胚率、後期吸収胚率及び死亡胎児率)、生存胎児数、性比及び胎盤の肉眼的所見に薬物投与の影響はみられなかった。胎児の骨格検査では、300 mg/kg/day で胸骨分節の癒合に高値がみられた。外表及び内臓検査並びに骨化進行度の検査では、薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生に対していずれも 100 mg/kg/day と判断した。

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験(15、75、375 mg/kg/day)では、試験期間を通して死亡は認められなかった。375 mg/kg/day では、母動物で潮紅及び黒色便が散見されたほか、投与初期から妊娠期間を通して体重の増加抑制傾向がみられ、摂餌量も低値を示した。剖検では甲状腺の褐色化が認められた。出生児では、375 mg/kg/day の生後 21 日の体重で、雄に低値が、雌に増加抑制傾向が認められた。出生児の生存率、離乳後の生後発達、学習・行動及び生殖能に及ぼす薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、母動物の一般毒性及び出生児に対してはいずれも 75 mg/kg/day、母動物の生殖機能に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

2.4.4.6 新生児毒性試験

＜添付資料 4.2.3.5.4-1＞

幼若ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験(15、75、375 mg/kg/day)では、375 mg/kg/day の雄 6 例、雌 3 例が死亡し、雌雄で体重の低値がみられた。375 mg/kg/day の雌の眼科学的検査において網膜襞の発生頻度に増加傾向が認められた。375 mg/kg/day の血液学的検査では雌で白血球数の低値が、また、血液生化学的検査では雌雄で ALAT、GLU 及び UN の高値並びに α1 グロブリンの低値が認められた。さらに雄では A/G 比の高値及び α2 グロブリンの低値が、雌

では TP 及び TG の低値が認められた。これらの変化はいずれも軽度な変動であり、関連する器官・組織（造血器系、消化管、肝臓、腎臓、心臓、骨格筋）への影響がみられないことから、全身状態の悪化に伴う栄養障害によるものと考えられた。発育分化検査、感覚機能検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査では、薬物投与に関連した明らかな変化は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄とも 75 mg/kg/day と判断した。

2.4.4.7 局所刺激性試験

該当する試験を実施していない。

2.4.4.8 その他の毒性試験

(1) ラットの血漿中ホルモンに対する影響

＜添付資料 4.2.3.7-1（参考）＞

ラット（Crl:CD(SD)系、雌雄各 8 匹/群）に NPC-15 の 0（溶媒）、15、75 mg/kg/day を 2 週間（雄）又は 3 週間（雌）反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、性周期検査を実施するとともに、血漿中ホルモン濃度に対する影響を検討した。測定項目は、TSH、T_3、T_4、FSH、LH、プロラクチン、GH、コルチコステロン、テストステロン（雄のみ）とした。なお、対照群及び 75 mg/kg/day 群では休薬期間（雄で 14 日間、雌で最大 17 日間）を設け、同様の観察を実施した。

その結果、一般状態観察、体重測定、性周期検査において、本薬に関連した変化はみられなかった。血漿中ホルモンのうち、雌雄の TSH、T_3 及び T_4、雄の FSH、LH 及びテストステロン、並びに雌のプロラクチン及びコルチコステロンに対して薬物投与の影響は認められなかった。また、75 mg/kg/day の約 2 週間休薬後においても変化はみられなかった。なお、雌雄の GH、雄のプロラクチン及びコルチコステロン並びに雌の FSH 及び LH では、個体値のバラツキが大きかったことから、薬物投与の影響は明らかでなかった。

(2) 不純物の変異原性の評価

＜添付資料 4.2.3.7-2（参考）＞

「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン（平成 27 年 11 月 10 日付け薬生審査発 1110 第 3 号）」に準拠し、NPC-15 の原薬製造工程由来の不純物及び製剤中に存在が予想される分解生成物の化学構造について、in silico 変異原性予測を実施した。

14 物質のうち 12 物質（[redacted]）の化学構造には警告構造のないことが示されたが、残り 2 物質（ [redacted] A* 、 [redacted] B* ）については「警告構造あり」と判断され、変異原性に関する懸念が示された。うち、 [redacted] A* は本品の合成工程において除去され、原薬中に残留することはないことから、本薬の安全性に影響はないものと考える。原薬の製造工程においては、75 ppm 以下で管理する。

製剤中の [redacted] B* はメラトニン代謝の経路で [redacted] に酵素的に代謝され、尿中に排泄されることが知られている。メラトニンの遺伝毒性試験（Ames 試験、染色体異常試験）では、代

謝活性化系の存在下で曝露した場合でも遺伝毒性は認められず、また、ラット及びイヌの長期反復投与毒性試験において前癌病変等を示唆する変化はみられず、₆　₈* を含むメラトニン代謝物が遺伝毒性を有する可能性は低いものと考えられる。本剤中の₆　₈* の含有量の規格は、構造決定の閾値である 0.5%以下とすることで管理する。

2.4.5 総括及び結論

(1) 薬理試験

ヒトと同様な昼行性動物のサルの睡眠覚醒に対する MT の単回投与による作用を検討した試験では、MT を単回投与（投与時間は暗期の 18:00 直前に 0.3、1 及び 3 mg/kg 経口投与）したとき、MT 低用量において入眠潜時の有意な短縮作用が認められた。また、有意ではないが総睡眠時間を MT は増加させた。徐波睡眠時の脳波の周波数解析の結果では、MT の睡眠脳波パターンは自然睡眠時のパターンと同様であった。サルの睡眠覚醒に対する MT の反復投与による作用を検討した試験では、MT（5～320 μg/kg）を反復投与（投与時間は暗期 18:00 の 2 時間前に投与）したとき、総睡眠時間の増加及び入眠潜時の短縮が認められ、起床時間に対しては影響を認めなかった。また、サルの MT 反復投与試験では、耐性や反跳性不眠なども認められなかった。ネコは昼行性でも夜行性でもない薄明性動物だが、ネコを用いた試験においても MT を昼期 10:00 前後の時間に単回投与したとき、睡眠増加作用が認められた。

概日リズム障害に対する MT の作用に関しては、ラットの行動を指標にした概日リズムの位相を 8 時間前進させた際の再同調を MT は促進させた。さらに、ラット睡眠相後退症候群モデルにおいて 24 時間暗期の環境の中で形成されたラットの同調行動リズム後退は、MT を投与することにより前進した。これらの結果から、MT は概日リズム障害に対し、リセットする作用があることから MT を就寝前に投与することで睡眠相後退症候群の治療においても有効性が期待される。

神経発達症を有する小児患者の睡眠障害に対する MT の作用に関しては、MT は入眠までの時間を短縮するとともに総睡眠時間を増加させることが多数報告されている[1),2),3),4),5),7)]。従って、サルの試験で認められた MT の睡眠作用は臨床試験の結果を支持するものと考えられる。

安全性薬理試験に関し、ICH S7A に従い安全性薬理試験のコアバッテリーとして検討すべき中枢神経系、循環器系及び呼吸器系に加え、補足的安全性薬理として腎／泌尿器系、自律神経系、消化器系に対する MT の影響についても情報を収集し評価した。

MT の中枢神経系に対する作用として、マウスでは鎮静、恐れ、反応性と筋緊張及び体温の低下が、サルでは体温の低下が認められた。循環器系に対する作用として、MT はラットランゲンドルフ灌流心の静止膜電位、活動電位振幅及び ADP_{90} に影響しなかった。ヒヒの血圧、心拍数及び心電図に対しても MT は影響を与えなかった。呼吸器系に対する作用では、MT はラットの動脈血酸素飽和度に影響しなかった。腎／泌尿器系に対する作用では、NPC-15 のラット及びイヌを用いた毒性試験において、幼若ラットに血中尿素窒素の高値とクロライドの高値が認められた。また、イヌに尿のビリルビン陽性反応とカリウム排泄量の低値、血中の尿素窒素及びカルシウムの低値が認められた。しかし、これらの変化は動物の一般状態が悪化した用量のみで

₆₀　⌐

認められていることから、腎機能以外の変化を反映した可能性もあると考えられた。自律神経系に対する作用として、自律神経活動に係わる受容体並びにチャネルに対して MT は阻害作用を示さなかった。また、ラットの脳室に投与された MT は血漿中 Ad 及び NA 濃度を変化させず、交感神経－副腎髄質系に影響しないと考えられた。消化管に対する作用として、MT はラットの胃排泄を抑制した。また、ラットの消化管運動を低用量では亢進し、高用量では抑制した。

安全性薬理試験において MT が作用を示さない血中 MT $_{Cmax}$ と健常男性に NPC-15 を 5 mg の用量で単回投与したときの血中 MT C_{max} から無影響域を算出した（表 2.6.2-6）。その結果、MT の薬理作用と考えられるサルの体温低下以外の変化において広い無影響域が認められたことから、MT が臨床用量付近の用量で中枢神経系、心血管系、呼吸系、腎／泌尿器系及び自律神経系に影響を及ぼす懸念はほとんどないと判断した。なお、ラットの消化管運動亢進が MT の低用量で認められたが、幼若ラット、ラット及びイヌを用いた MT の反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.5.4-1、4.2.3.2-1～5）において消化管への作用に対する広い安全域が認められたことから安全性上懸念される作用ではないと考えられた。

(2) 薬物動態試験

ラットに MT を経口投与（10 mg/kg）したときの吸収率及び生物学的利用率は、それぞれ 72 及び 53.5%であった。イヌに MT を経口投与したときの生物学的利用率は、16.9（1 mg/kg）及び＞100%（10 mg/kg）であり非線形性が示唆された。サルに MT を経口投与（10 mg/kg）したときの生物学的利用率は＞100%であった。ラット及びイヌのトキシコキネティクス試験において、MT 血漿中濃度は経口投与後速やかに C_{max} に達した後、速やかに低下した。初回投与後では、投与量の増加以上の C_{max} 及び AUC の増加並びに高用量における消失の遅延が認められ、MT の体内動態は非線形であることが示された。反復投与により、低用量群では血漿中濃度の上昇がみられたが、投与量の増加に伴い、反復投与の影響は小さくなり、結果として反復投与後には非線形性が減弱した。ラット及びイヌのいずれにおいても、投与量及び投与期間にかかわらず性差はみられなかった。

雄性白色ラット及び有色ラットに[^{14}C]MT を単回経口投与（15 mg/kg）し、定量的全身オートラジオグラフィーにより放射能の組織分布を検討した。白色ラット及び有色ラットのいずれにおいても、経口投与された[^{14}C]MT は速やかに吸収され全身に分布した。膀胱を除くすべての組織中放射能が投与後 0.25 時間に最高濃度を示した。投与後 24 時間では多くの組織で定量下限未満となったことから、吸収された MT は速やかに体外に排泄されることが示された。有色ラットと白色ラットの比較では、全身の放射能分布に差異はみられなかったが、有色ラットのブドウ膜には放射能の分布が確認された。白色ラットでは眼球組織内に局所的な放射能は認められなかったことから、MT 及び/又はその代謝物は MT への親和性を有するものと考えられたが、ブドウ膜からの放射能の消失は他の組織と同様に速やかであった。MT のラット及びヒトにおける血漿たん白結合率を平衡透析法により検討した結果、種差は無く、いずれも 50～60%であった。結合たん白は主としてアルブミンであるが、α1 酸性糖たん白（α1-AGP）の寄与も確認された。

MT の主たる代謝経路は 6 位の水酸化に続く硫酸抱合及びグルクロン酸抱合であり、その他の代謝経路として、N-脱アセチル化、5 位の脱メチル化及びインドールの開環が認められた。6

位の水酸化は、CYP1A1、CYP1A2 及び CYP1B1 により触媒され、5 位の脱メチル化は主に CYP2C19 により触媒された。MT の主たる代謝酵素は CYP1A2 であると考えられた。

放射性同位元素で標識した MT をラットに投与したときの放射能の尿・糞中排泄率の検討から、MT の主たる排泄経路は尿であることが示された。ウサギを用いた検討から、MT 排泄における胆汁排泄の寄与は小さいものと考えられた。

MT の CYP 分子種、UGT 分子種及び薬物トランスポーターに対する阻害作用並びに CYP 分子種に対する誘導作用を検討した結果、いずれに対しても影響は認められなかった。このことから、MT は併用他剤の薬物動態に影響を与える可能性は低いと考えられた。MT のトランスポーターによる輸送の評価では、MT は P-gp、OATP1B1 及び OATP1B3 では輸送されなかった。一方、MT は BCRP の弱い基質であることが示唆されたが、薬物相互作用が懸念されるものではなかった。MT は主として CYP1A2 により代謝されるため、同酵素の阻害剤又は基質と併用投与すると、血漿中濃度が上昇する。

(3) 毒性試験

単回投与毒性試験において MT をマウス、ラットに単回経口投与したときの 50%致死量は、マウスで 1250 mg/kg、ラットで 3200 mg/kg 以上であった。両種とも高用量群では四肢の血管拡張、立毛、眼瞼下垂、筋弛緩、自発運動の減少及び運動失調がみられた。イヌに単回経口投与したときの概略致死量は 1000 mg/kg 以上であった。雌雄とも投与後 1 時間より、吐物、結膜の充血、潮紅、歩行異常及び振戦が認められたが、病理解剖検査では異常はなかった。

反復投与毒性試験では、NPC-15 をラットに 4、13 及び 26 週間、イヌに 4 及び 39 週間反復経口投与して毒性を検討した。

ラット 4 週間経口投与毒性試験では、全身毒性を示唆する変化は認められなかったが、13 週間及び 26 週間経口投与毒性試験では 375 mg/kg/day で肝臓重量の増加及び肝細胞の肥大とともに甲状腺の重量増加、甲状腺濾胞上皮の肥大及び褐色色素の沈着がみられ、肝 UDP-GT 酵素活性が上昇した。甲状腺の変化は肝 UDP-GT 酵素活性の上昇により甲状腺ホルモンの抱合活性が亢進し、血中甲状腺ホルモンが減少したことによる適応反応と考えられた。これらの変化は種特異的変化であることが知られており、ヒトでの変化を示唆する所見ではないと考えられた。その他、ラット 13 週間及び 26 週間経口投与毒性試験の 375 mg/kg/day で副腎束状帯の空胞化、75 mg/kg/day 以上で卵巣黄体の減少が認められた。MT は ACTH、グルココルチコイド及びゴナドトロピンの分泌を抑制することが知られており、これらの変化は本薬の薬理作用の過剰発現の可能性が考えられた。ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は、雄で 15 mg/kg/day、雌で 75 mg/kg/day であった。

イヌ 4 週間及び 39 週間経口投与毒性試験では、それぞれ 375 mg/kg/day 及び 250 mg/kg/day で自発運動の低下、削痩、無便などがみられ、体重及び摂餌量が有意に低値となり、死亡あるいは瀕死状態を呈する動物がみられたことから用量を変更した。その後、異常症状は消失し、体重及び摂餌量はほぼ回復した。また、同群では貧血、血小板数の高値、ALAT・γGT の高値、肝細胞の肥大及び変性などが認められた。

4 週間経口投与毒性試験では甲状腺に異常はみられなかったが、39 週間経口投与毒性試験では、肝臓重量の増加とともに甲状腺の重量増加並びに濾胞上皮の肥大及び褐色色素の沈着がみられた。イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は、雌雄とも 15 mg/kg/day であった。

遺伝毒性試験において、細菌を用いた復帰突然変異試験では突然変異誘発性は認められなかった。また、チャイニーズハムスター肺細胞由来(CHL/IU)株を用いた in vitro 染色体異常試験及びラットの骨髄小核試験のいずれにも染色体異常誘発性は認められなかった。

生殖発生毒性試験において、ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、375 mg/kg/day の雌で発情周期（日）の延長及び発情回数の低値傾向が認められた。無毒性量は、親動物（雌雄）の一般毒性では 75 mg/kg/day、生殖能に対しては雄で 375 mg/kg/day 及び雌で 75 mg/kg/day、初期胚発生に対しては 375 mg/kg/day であった。

ラットの胚・胎児発生に関する試験では、375 mg/kg/day の母動物で投与初期から妊娠中期まで体重の増加抑制傾向及び摂餌量の低値がみられた。無毒性量は、母動物では 75 mg/kg/day、胚・胎児発生では 375 mg/kg/day であった。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、300 mg/kg/day の母動物で体重及び摂餌量の低値が、生存胎児で体重の低値がみられた。胎児の骨格検査では、300 mg/kg/day で胸骨分節の癒合が高値であった。無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生でいずれも 100 mg/kg/day であった。

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験では、375 mg/kg/day の母動物で投与初期から妊娠期間を通して体重の増加抑制傾向がみられ、摂餌量も低値を示した。出生児では、375 mg/kg/day の生後 21 日の体重で、雄に低値が、雌に増加抑制傾向が認められた。無毒性量は、母動物の一般毒性及び出生児でいずれも 75 mg/kg/day、母動物の生殖機能では 375 mg/kg/day であった。

新生児の毒性試験では、幼若ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験においては 375 mg/kg/day で、雄 6/12 例、雌 3/12 例が死亡し、雌雄で体重の低値がみられた。また、雌の眼科学的検査において網膜襞の発生頻度に増加傾向が認められた。血液学的検査では雌で白血球数の低値が、血液生化学的検査では雌雄で ALAT、GLU 及び UN の高値並びに α1 グロブリンの低値が認められた。さらに雄では A/G 比の高値及び α2 グロブリンの低値が、雌では TP 及び TG の低値が認められた。これらの変化はいずれも全身状態の悪化に伴う栄養障害によるものと考えられた。無毒性量は、雌雄とも 75 mg/kg/day であった。

ラットの血漿中ホルモンに対する影響を検討した試験では、NPC-15（最高用量 75 mg/kg/day）を雄ラットに 2 週間、雌ラットに 3 週間反復経口投与した結果、一般状態観察、体重測定、性周期検査に異常はみられなかった。血漿中ホルモンのうち、雌雄の TSH、T3 及び T4、雄の FSH、LH 及びテストステロン並びに雌のプロラクチン及びコルチコステロンに対して NPC-15 の影響は認められなかった。また、75 mg/kg/day の 2 週間休薬後においても変化はみられなかった。

不純物の変異原性の評価に関する試験では、対象となる 14 物質のうち 12 物質（[redacted]）については化学構造に警告構造のないことが示され、変異原性に関する懸念はなかったが、残り 2 物質（ ㋐ A* 、㋑ B*

㋒ 「

[redacted])については「警告構造あり」と判断され、変異原性に関する懸念を有することが示された。

(4) まとめ

睡眠障害の治療薬として、これまでの睡眠薬は主として$GABA_A$受容体アゴニスト（ベンゾジアゼピン及び非ベンゾジアゼピン系睡眠薬）が使用されているが、$GABA_A$受容体アゴニストでみられる睡眠誘発作用は睡眠の質の観点から自然睡眠とは異なる。また、$GABA_A$アゴニストの懸念点として、$GABA_A$受容体アゴニストが有する筋弛緩作用に伴う運動障害や前向性健忘作用による学習障害などが挙げられるが、これらの副作用は高齢者や小児の不眠症患者を治療する上で深刻な問題である。従って、自然な睡眠をプロモートし、かつ筋弛緩作用や学習障害を惹起しない睡眠障害改善薬が望まれるが、上記結果の通りMTの睡眠作用は自然睡眠に近いものであった。

以上の結果をまとめると、本剤は小児の神経発達症に伴う入眠困難の改善に対し有用性及び安全性の高い治療薬となりうると考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

[1] van Geijlswijk IM, Korzilius HP, Smits MG. The use of exogenous melatonin in delayed sleep phase disorder: a meta-analysis. Sleep. 2010 Dec;33(12):1605-14.＜4.3.1-13＞

[2] Tordjman S, Najjar I, Bellissant E, Anderson GM, Barburoth M, Cohen D, Jaafari N, Schischmanoff O, Fagard R, Lagdas E, Kermarrec S, Ribardiere S, Botbol M, Fougerou C, Bronsard G, Vernay-Leconte J. Advances in the research of melatonin in autism spectrum disorders: literature review and new perspectives. Int J Mol Sci. 2013 Oct 14;14(10):20508-42.＜4.3.1-14＞

[3] Andersen IM, Kaczmarska J, McGrew SG, Malow BA. Melatonin for insomnia in children with autism spectrum disorders. J Child Neurol. 2008 May;23(5):482-5.＜4.3.1-21＞

[4] Gringras P, Gamble C, Jones AP, Wiggs L, Williamson PR, Sutcliffe A, Montgomery P, Whitehouse WP, Choonara I, Allport T, Edmond A, Appleton R; MENDS Study Group. Melatonin for sleep problems in children with neurodevelopmental disorders: randomised double masked placebo controlled trial. BMJ. 2012 Nov 5;345:e6664.＜4.3.1-22＞

[5] Gringras P, Nir T, Breddy J, Frydman-Marom A, Findling RL. Efficacy and Safety of Pediatric Prolonged-Release Melatonin for Insomnia in Children With Autism Spectrum Disorder. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 2017 Nov;56(11):948-957.＜4.3.1-23＞

[6] 「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（最終案）」の公表について（平成26年7月8日付け厚生労働省医薬食品局審査管理課事務連絡）＜4.3.2-1＞

[7] Rossignol DA, Frye RE. Melatonin in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. Dev Med Child Neurol. 2011 Sep;53(9):783-792.＜4.3.1-20＞