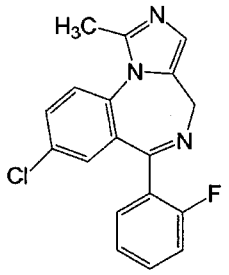
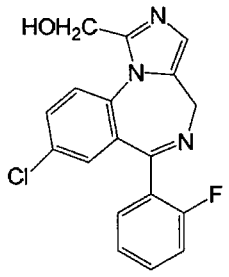
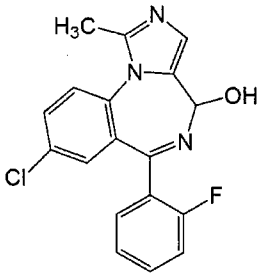
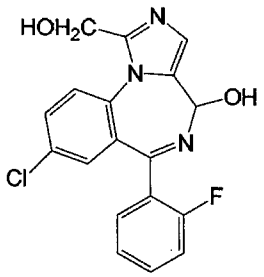
目次

略号一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 ミダゾラムの作用機序 5
2.4.2.2 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.2.1 ミダゾラムの in vitro 活性 6
2.4.2.2.2 ミダゾラムの in vivo 活性 6
2.4.2.3 副次的薬理試験 7
2.4.2.4 安全性薬理試験 7
2.4.2.4.1 中枢神経系 7
2.4.2.4.2 心血管系 8
2.4.2.4.3 呼吸器系 8
2.4.2.4.4 薬力学的薬物相互作用試験 9
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 吸収 9
2.4.3.2 分布 10
2.4.3.3 代謝 10
2.4.3.3.1 In vitro 試験 10
2.4.3.3.2 In vivo 試験 11
2.4.3.3.3 代謝の種差 11
2.4.3.4 排泄 11
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 11
2.4.4 毒性試験 11
2.4.4.1 単回投与毒性試験 11
2.4.4.2 反復投与毒性試験 12
2.4.4.3 遺伝毒性試験 13
2.4.4.4 がん原性試験 14
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 14
2.4.4.6 局所刺激性試験 15
2.4.4.7 その他の毒性試験 16
2.4.5 総括及び結論 16
2.4.6 参考文献一覧 17

表

表2.4-1　ウサギに静脈内及び舌下投与したときの血漿中ミダゾラムの薬物動態パラメータ
..... 9

略号一覧表

略号	一般名（略称）	化学構造式	由来
MDZ	ミダゾラム 【化学名： 8-Chloro-6-(2-fluorophenyl)-1-methyl-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepine】		原薬
1-OH-ミダゾラム	1-ヒドロキシミダゾラム 【化学名： 8-Chloro-6-(2-fluorophenyl)-1-hydroxy-methyl-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepine】		代謝物
4-OH-ミダゾラム	4-ヒドロキシミダゾラム 【化学名： 8-Chloro-6-(2-fluorophenyl)-1-methyl-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepine-4-ol, 1-Methyl-8-chloro-6-(2-fluoro-phenyl)-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepine-4-ol】		代謝物
1,4-OH-ミダゾラム	1,4-ヒドロキシミダゾラム 【化学名： 8-Chloro-6-(2-fluorophenyl)-4-hydroxy-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepine-1-methanol】		代謝物

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明（英語）	略していない表現又は説明（日本語）
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AUC	area under the concentration versus time curve	濃度-時間曲線下面積
CL	clearance	クリアランス
Cmax	maximum concentration	最高濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
EC_{50}	half-maximal effect	50%有効濃度
E_{max}	maximal effect	最大（脳波）作用
EU	European Union	欧州連合
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GABA	gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
$GABA_A$	gamma-aminobutyric acid A (receptor)	γ-アミノ酪酸 A（受容体）
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
IC_{50}	half-maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ICSS	intracranial self-stimulation	脳内自己刺激
IV	intravenous	静脈内
LD_{50}	lethal dose in 50% of animals	動物の 50%致死量
LV_{max} dP/dt	maximal rate of pressure development of the left ventricle	左室圧上昇最高速度
MedDRA	Medical Dictionary for Regulatory Activities	ICH 国際医薬用語集
NA	not applicable	該当なし
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
SE	status epilepticus	てんかん重積状態、てんかん重積発作
SL	sublingual	舌下
T1/2	half-life	終末相半減期
Vdss	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
VR	O-isobutyl S-(2-diethylamino)ethyl)-methyl phosphonothioate	O-イソブチル-S-2-ジエチルアミノエチル-メチルホスホノチオラート
VX	O-ethyl S-(2-(diisopropylamino)ethyl) methylphosphonothioate	O-エチル-S-（2-ジイソプロピルアミノエチル）メチルホスホノチオラート

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

SHP615〔0.5%ミダゾラム頬粘膜投与用液剤又はBUCCOLAM（欧州における販売名）〕は、小児患者集団（生後3ヵ月以上18歳未満）におけるてんかん重積状態（SE）の治療のために頬粘膜投与を目的として開発した。本非臨床試験の概括評価は、ミダゾラムとして2.5～10 mg(生後3ヵ月以上1歳未満:2.5 mg、1歳以上5歳未満:5 mg、5歳以上10歳未満:7.5 mg、10歳以上18歳未満：10 mg）の用量を用いる新投与経路〔頬粘膜（口腔粘膜）〕の日本での製造販売承認申請をサポートしている。SHP615は、催眠鎮静剤として既承認であるミダゾラム注射液〔欧州連合（EU）のHYPNOVEL及び日本のドルミカム〕と構成成分が同一であり有効成分が同濃度である。SHP615は、小児患者集団（生後3ヵ月以上18歳未満）の持続性の急性けいれん発作の治療を目的とした頬粘膜投与液として、BUCCOLAM（EMEA/H/C/002267）の販売名で2011年に欧州医薬品庁により承認されている。

なお、日本では、「てんかん重積状態」の効能・効果を有するミダゾラム製剤として、小児（修正在胎45週以上）に対する静脈内投与又は持続静脈内投与用のミダフレッサ静注0.1%（アルフレッサファーマ株式会社）が2014年に承認されている。

全身投与によるミダゾラムの非臨床薬理、薬物動態及び毒性はよく知られている。本非臨床試験の概括評価では、ミダゾラムの頬粘膜投与に特に重点を置き、適切な公表科学文献を引用し、薬理学、薬物動態学及び毒性学的に有効成分を総合評価した。

また、[redacted]により実施され、小児への頬粘膜投与時の安全性を裏づけることを目的とした、経口シロップ剤（VERSED経口シロップ）を用いた2週齢の幼若ラットにおける2種類の経口投与毒性試験（単回及び2週間反復投与）も用いて評価した（それぞれR8962M-SHP615 [138782]及びR8961M-SHP615 [139383]）。

なお、海外第2相試験であるMID001試験、並びに国内第3相試験であるSHP615-301及び302試験において、頬粘膜刺激に関連した有害事象の報告はなく、文献的に報告されている小児を対象とした様々な臨床試験でもミダゾラムの頬粘膜刺激の有害事象は報告されていない（2.6.6.7）。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 ミダゾラムの作用機序

ミダゾラムはイミダベンゾジアゼピン誘導体であり、脳内神経細胞のシナプス後膜上のγ-アミノ酪酸A（$GABA_A$）受容体のベンゾジアゼピン結合部位に結合し、$GABA_A$受容体とγ-アミノ酪酸（GABA）の親和性を増加させ、GABAの抑制性神経伝達物質としての作用を亢進すると考えられている[1][2][3][4]。以下に詳細を説明するように、ミダゾラムは、てんかん重積発作（SE）モデルを含む数種類のてんかん及び発作モデルにおいてin vivoで顕著な有効性を有することが示された。

2.4.2.2 効力を裏付ける試験

2.4.2.2.1 ミダゾラムの in vitro 活性

ミダゾラム（3、10 及び 30 μmol/L）は、有機リン酸誘発性発作活性を示す in vitro モルモット海馬切片モデルにおいて濃度依存的に有効性を示し、10 μmol/L 以上の濃度でソマン誘発性バーストの有意な減少（$p<0.01$）がみられた[5]。

2.4.2.2.2 ミダゾラムの in vivo 活性

8 週齢の C57BL/6 マウス（1 群当たり 6 匹）の扁桃核内カイニン酸誘発 SE モデルを用いてミダゾラムの短期作用を評価した結果、ミダゾラム又はロラゼパムの 8 mg/kg の腹腔内投与により、1 時間の評価期間中に類似したパターンの脳波のてんかん波形様活動低下が認められた。投与後 24 時間にミダゾラム投与マウスでみられた正常行動（毛繕い、活動レベル及び全体的回復性評価）への回復は、ロラゼパム投与マウスでみられた結果よりも優れていた[6]。

ペンチレンテトラゾール誘発性発作のラットモデルにおいて、ミダゾラム（静脈内投与）は血漿中濃度に依存した発作抑制作用を示した。脳波に対する作用に天井効果があるとした典型的な最大脳波効果の関係式に従い、抗けいれん活性に関する最大脳波作用（E_{max}）の 50%有効濃度（EC_{50}）〔平均値（標準誤差）〕を算出した結果、158（35） ng/mL であった。この EC_{50} は、脳波の β 活性増加（11.5～30 Hz）に対するミダゾラムの作用の EC_{50}〔平均値（標準誤差）〕である 105（10） ng/mL と同程度であった[7]。対照的に、ラットの直接電気皮質刺激発作モデルでは、ミダゾラム（静脈内投与）の作用に天井効果がなく、抗けいれん活性の増加が示された。局所性発作活性の閾値を 250 μA 増加させるために必要なミダゾラムの血中濃度〔平均値（標準誤差）〕は 67（10） ng/mL と推定された。なお、GABA アンタゴニストであるフルマゼニルを用いてミダゾラムの抗けいれん作用のメカニズムを検討した試験において、異なる 2 種類の作用部位が存在する可能性があることが示唆され、そのうち 1 種のみがフルマゼニルによって拮抗され、in vivo での皮質刺激により誘発される発作に対するベンゾジアゼピン系薬物の作用は、$GABA_A$ 受容体における作用では完全には説明できないと結論付けられている[8]。

実験的てんかんが in vivo でのベンゾジアゼピン系薬物の薬力学（PD）変化に関連するか否かを定量的に判定するため、更なる検討を行った。この目的で、扁桃核キンドリング、皮質刺激及び遺伝性欠神てんかんモデルの 3 種類の異なる実験的てんかんラットモデルを用いた統合的薬物動態（PK）/PD アプローチにより、ミダゾラムの PD を定量化した。ミダゾラムの PK に対するてんかんの影響は認められなかった。脳波の β 波活性（11.5～30 Hz）増加を高速フーリエ変換解析により導出し、PD 評価項目として用いた。3 モデルのいずれにおいても、最大作用の明らかな減少が認められた（扁桃核キンドリングモデルでは 28%、皮質刺激モデルでは 49%、遺伝性欠神てんかんモデルでは 37%）。その他の PD パラメータに差異は認められなかった[9]。

同様に、ラットを用いた 3 種類の棘徐波律動モデル〔律動的メトラゾール活性（ヒト欠神発作モデル）、軽微なメトラゾール発作及び低頻度皮質刺激誘発性てんかん性後発射（ヒトミオクロニー発作の推定モデル）〕に対するミダゾラム（0.1 及び 1 mg/kg 腹腔内投与）の作用を検討した。ミダゾラムは 3 種類のモデル全てで棘徐波活性を低下させたが、3 種類のモデル間で用量による違いが認められた。すなわち、低用量では律動的メトラゾール活性に対

してのみ有効性を示し、それ以外の2種類のモデルでは作用がほとんど認められなかった。一方、ミダゾラムの高用量では3種類のモデルのいずれに対しても明らかな作用が認められた[10]。

さらに、2種類の in vivo モルモットモデルを用いて、神経ガスのタブン、サリン、ソマン、シクロサリン、O-エチル-S-(2-ジイソプロピルアミノエチル)メチルホスホノチオラート(VX)及びO-イソブチル-S-2-ジエチルアミノエチル-メチルホスホノチオラート(VR)により誘発される発作に対する抗けいれん作用を検討した結果、ミダゾラムは筋肉内投与により抗けいれん作用を有することが示された[11]。

ミダゾラムの抗けいれん活性の経時的変化を、種々の実験プロトコルを用いて異なる投与経路で検討した結果、経口投与又は腹腔内投与後のいずれにおいてもほぼ即時的な作用発現が示された[12]。標準的な薬理学的方法(マウスを用いたRotarod試験、Chimney試験及び抗けいれん試験)を用いてマウスへの腹腔内投与後30分に測定したとき、ミダゾラムの代謝物である1-OH-ミダゾラムは、ミダゾラムの1/10～1/40の効力を示した。4-OH-ミダゾラム代謝物はヒトにおける生成量が極めて少なく、その効力は全体として1-OH-ミダゾラムと同程度であった。1,4-OH-ミダゾラムはほとんど活性を示さなかった。したがって、マウスに腹腔内投与後30分におけるミダゾラムの薬理作用に占める3代謝物の割合はごくわずかである[12]。

2.4.2.3 副次的薬理試験

SHP615の副次的薬理試験は実施していない。ミダゾラムは日本で30年以上にわたりヒトに使用されているため(最初のミダゾラム製剤「ドルミカム注射液」は1988年に市販された)、その薬理学的プロファイルはよく知られていると考え、新投与経路の申請区分として、本承認申請に関連し提出が必要と考えられる新たなデータはないと判断した。

2.4.2.4 安全性薬理試験

2.4.2.4.1 中枢神経系

SHP615は小児に使用される予定であるため、ミダゾラムへの反復曝露が小児の中枢神経系の発達を妨げるかが懸念される。ケタミン又はミダゾラムの反復投与による生後の樹状突起発達への影響を、マウスの海馬CA1領域における錐体神経細胞の樹状突起棘の形態学的検査により評価する試験を実施した。ケタミン(100 mg/kg)、ミダゾラム(50 mg/kg)又は生理食塩液(10 mL/kg)を、生後8～12日まで、1日1回腹腔内投与し、生後13日及び生後30日に、海馬CA1領域における錐体神経細胞の尖端部樹状突起棘の密度及び長さを共焦点顕微鏡で測定した。生後13日には、ケタミン群及びミダゾラム群のいずれにおいても、対照群と比較して、樹状突起棘の密度が低く、平均長が長かった。生後30日には、ケタミン群及びミダゾラム群ともに対照群との間で、樹状突起棘の密度及び平均長に有意差は認められなかった。結論として、本試験から、新生児マウスにミダゾラムを反復曝露すると、連投直後には樹状突起棘成熟が障害されるが、その影響は更なる生後発達の間に消失すると考えられた[13]。

2.4.2.4.2 心血管系

In vitro 電気生理学的機能（電位固定／パッチクランプ）試験において、ミダゾラムはヒト胎児腎（HEK）293 細胞（IC_{50}=17 μmol/L）又はアフリカツメガエル卵母細胞（IC_{50}=104 μmol/L）に発現させた心臓 Kv1.5 カリウムチャネルを阻害した[14]。また、同様の電気生理学的試験において、ミダゾラムはヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子（hERG）チャネルに対して、濃度依存的な低親和性阻害作用を示し、HEK293 細胞及びアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた場合の IC_{50} は、それぞれ 13.6 μmol/L 及び 170 μmol/L であった[15]。IC_{50} 値の差異は細胞の種類によるものであり、卵母細胞膜／卵黄嚢内の拡散障壁に起因すると考えられている。

覚醒下の腎性高血圧イヌにミダゾラムを治療用量（最大 10 mg/kg まで）で経口又は静脈内投与した結果、心血管系への影響は認められなかった。心拍数の軽度の増加がみられたが、この変化は、ベンゾジアゼピン系薬物をイヌに投与したときに通常みられる行動刺激に関連している可能性があると Pieri らは指摘している[12]。バルビツール酸塩麻酔下のイヌにミダゾラムを静脈内投与した結果、収縮期大動脈血圧、拡張期大動脈血圧、平均動脈血圧及びピーク時左室圧が軽度に低下した。作用持続時間は投与量により変動し、3 mg/kg を投与した動物では 2 時間以上作用が持続した[12]。

Jones らはミダゾラムマレイン酸塩及びジアゼパムの心血管系に対する作用を、覚醒下のイヌで比較した。ミダゾラムマレイン酸塩（0.25、1.0 及び 10.0 mg/kg）又はジアゼパム（0.5、1.0 及び 2.5 mg/kg）の静脈内投与の 3 分後に、全身の動脈圧、肺動脈圧及び中心静脈圧、心拍出量、左室圧上昇最高速度（LV_{max} dP/dt）、心拍数並びに局所冠動脈血流量を測定した。ミダゾラムマレイン酸塩は、3 用量全てで心拍数を 10%～20%増加させ、1.0 及び 10.0 mg/kg で平均動脈血圧を約 10%～20%低下させた。心拍出量は、ミダゾラムマレイン酸塩 3 用量全てで 10%～12%増加し、LV_{max} dP/dt は 2 高用量で 13%～16%減少した。いずれの薬物のいずれの投与量においても、局所冠動脈血流量、全身又は冠動脈血管抵抗、一回仕事量及び一回拍出量に変化は認められなかった。心血管系評価項目の最大の変化は、ミダゾラムマレイン酸塩を 1.0 及び 10.0 mg/kg の用量で静脈内投与したときに発現した[16]。この低用量（1 mg/kg、体表面積換算値：20 mg/m^2[17]）を用い、ヒトにミダゾラムを頬粘膜投与したときのバイオアベイラビリティが静脈内投与時の 74.5%（5.3.1.1-1）であることを考慮すると、心血管系に対するわずかな影響が認められる投与量は、ミダゾラムの予定頬粘膜投与量である 2.5～10 mg を日本人の標準体重データ[18]で除した約 0.16～0.57 mg/kg（静脈内投与量に換算すると約 0.12～0.42 mg/kg、体表面積換算値：約 3.0～10.6 mg/m^2、小児体重 20 kg を使用[17]）の約 2～8 倍（体表面積換算では約 2～7 倍）である。

なお、特記すべきこととして、ミダゾラムの頬粘膜投与の臨床試験において、本剤を予定用法・用量で投与したとき、ヒトの心血管系に対する有害事象はみられなかった（2.7.4）。

2.4.2.4.3 呼吸器系

ミダゾラム 0.1～1 mg/kg 用量の静脈内投与は、ペントバルビタール麻酔下のイヌの呼吸数に影響を及ぼさなかった[19]。

2.4.2.4.4 薬力学的薬物相互作用試験

SHP615 の薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。新投与経路の申請区分として、本承認申請に関連し提出が必要と考えられる新たなデータはないと判断した。

2.4.3 薬物動態試験

頬粘膜に投与したとき、ミダゾラムの大部分は体循環に直接吸収され、初回通過効果は少ない。ウサギでの試験において、ミダゾラム注射液を舌下投与したとき迅速な吸収及び良好なバイオアベイラビリティ（127%）が示され、このことはヒトにおいても一致しており、健康成人に頬粘膜投与後のミダゾラムのバイオアベイラビリティは 74.5%であった。小児に頬粘膜投与したときのミダゾラムの薬物動態は、重度のマラリア及び発作を有する小児患者での臨床試験（Muchohi et al）、SHP615 を用いた国内第 3 相試験（SHP615-301 試験）及び海外第 2 相試験（MID001 試験）で評価されている（2.5.3 及び 2.7.2）。

2.4.3.1 吸収

ラットに 15 mg/kg を経口投与及び 10 mg/kg を 5、30 及び 60 分にわたり静脈内投与したときのミダゾラムの薬物動態プロファイルを検討した。経口投与したときミダゾラムは迅速に吸収され 5～15 分で Cmax に到達した。経口投与後の全身バイオアベイラビリティは、45(9)%であった。静脈内投与したとき薬物動態は 2 相性を示した。CL、Vdss 及び T1/2 の値〔平均値（標準誤差）、n=20〕はそれぞれ、67（2） mL/min/kg、1.61（0.07） L/kg 及び 27（1）分であった[20]。

ウサギにミダゾラム注射液を舌下投与したときのミダゾラムの吸収を評価し、静脈内投与したときの曝露量と比較した。約 0.25 mg/kg を単回静脈内投与したとき、CL 及び Vdss はそれぞれ 0.14 (0.02) L/min 及び 14 (5) L であった。T1/2 の中央値は 88 分であった（表 2.4-1）。ウサギに舌下投与したとき、ミダゾラムは迅速かつ完全に吸収されることが示され、Tmax は 23 分であり推定バイオアベイラビリティは 127%であった（表 2.4-1 [21]）。ウサギに舌下投与したときの迅速な吸収と良好なバイオアベイラビリティはヒトにおける結果と一致しており、健康成人に頬粘膜投与したミダゾラムのバイオアベイラビリティは 74.5%であった（5.3.1.1-1）。

表 2.4-1　ウサギに静脈内及び舌下投与したときの血漿中ミダゾラムの薬物動態パラメータ

投与量[a] (mg/kg)	投与経路	AUC(0-inf) (ng·min/mL)	CL (L/min)	Vdss (L)	T1/2 (min)	Cmax (ng/mL)	Tmax (min)	F (%)
0.25	IV	7250 (1210)	0.14 (0.02)	14 (5)	88 (67～144)	314 (240～470)	NA	NA
0.25	SL	9210 (2440)	NA	NA	83 (72～91)	63 (55～82)	23 (15～30)	127

出典：Kaartama 2012 [21]

注記：Cmax、Tmax 及び T1/2 はウサギ n=4 の中央値及び（範囲）で示す。AUC は平均値及び（標準偏差）で示す。F%は平均値で示す。

AUC(0-inf)：0 時間から無限時間までの濃度-時間曲線下面積、CL：クリアランス、Cmax：最高濃度、F：バイオアベイラビリティ、IV：静脈内、NA：該当なし、SL：舌下、T1/2：終末相半減期、Tmax：最高濃度到達時間、Vdss：定常状態における分布容積

a ミダゾラムの投与量は各ウサギ当たり 1 mg であった。mg/kg の値は、試験に用いたウサギの体重 3.4～4.2 kg から推定された。

イヌにミダゾラムを 0.2 mg/kg の用量で静脈内、筋肉内又は直腸内に単回投与し、血漿中ミダゾラムの薬物動態プロファイルを検討した。静脈内投与したときの CL、Vdss 及び T1/2〔平均値（標準偏差）、n=6〕はそれぞれ、10.1（1.9） mL/min/kg、0.68（0.33） L/kg 及び 63.3（28.5）分であった。筋肉内投与したとき、ミダゾラムは迅速に吸収され投与後 7.8 分で Cmax 0.2 μg/mL に達した。筋肉内投与後のバイオアベイラビリティは 50（16）%であった。直腸内投与したとき、定量下限未満又は低い血漿中濃度のため、算出されたバイオアベイラビリティは一定しない結果となった[22]。

2.4.3.2 分布

ミダゾラムのヒト血漿蛋白結合率は約 96%であった[23]。

2.4.3.3 代謝

主な代謝物は 1-OH ミダゾラムであり、迅速にグルクロン酸と抱合する。代謝物 1-OH-ミダゾラムは生物活性を有するが、ミダゾラムよりも T1/2 は短い（1 時間未満）。In vitro 結合試験により、大脳のベンゾジアゼピン受容体への結合親和性は、ミダゾラムでは 1.4 nmol/L、非抱合の 1-OH-ミダゾラムでは 2.2 nmol/L であったのに対し、グルクロン酸抱合 1-OH-ミダゾラムでは 16 nmol/L であることが示された[24]。

ヒトの頬粘膜には数種のチトクローム P450（CYP）酵素が存在するが、CYP2C、CYP2D 及び CYP3A の活性は検出されない[25]。これは、ヒトにおける経口投与より頬粘膜投与（74.5%）のバイオアベイラビリティが高いことと一致している。頬粘膜投与における代謝プロファイル試験は実施していないが、ミダゾラムの代謝に寄与する CYP3A は小腸粘膜に比べ頬粘膜においては非常に少ないことから、ミダゾラムが経口投与に比べ頬粘膜投与によって、より広く代謝されるとは考え難い。

2.4.3.3.1 In vitro 試験

ヒトにおいて CYP3A によると考えられているミダゾラムのヒドロキシル化を、マウス及びヒト肝ミクロソームを用いて検討した。いずれの種においても代謝物 1-及び 4-OH-ミダゾラムは主要生成物であった。抗 CYP3A1 抗体を用いたウェスタンブロッティングにより、ヒト及びマウス試料ともに免疫反応蛋白質の単一バンドが検出されそれぞれ、0.45（0.12）及び 2.02（0.24） pmol/mg protein〔平均値（標準誤差）、n=3〕であった。ケトコナゾールはヒト肝ミクロソームによるミダゾラムの代謝物生成を強力に阻害した（IC_{50} 0.038～0.044 μmol/L）。ケトコナゾールはマウス肝ミクロソームにおいて 4-OH-ミダゾラムの生成も阻害した（IC_{50} 0.0076～0.025 μmol/L）。しかし、ケトコナゾール（10 μmol/L）がマウス肝ミクロソームにおいて 1-OH-ミダゾラムの 50%阻害を示さなかったことから、マウスでは他のチトクローム P450 分子種が 1-OH-ミダゾラムの生成に寄与している可能性が示唆された[26]。

2.4.3.3.2 In vivo 試験

ミダゾラムの 3 種の非抱合代謝物 1-OH-ミダゾラム、4-OH-ミダゾラム及び 1,4-OH-ミダゾラムが in vivo で及ぼす薬理学的影響は、ごくわずかと考えられる（2.6.2.2.2.4、[27]）。

2.4.3.3.3 代謝の種差

In vivo で投与したとき、ラットはミダゾラムを 1-OH-ミダゾラムに代謝しないが[28]、in vitro 試験で得られた結果からマウスとヒトとの間でミダゾラムの代謝経路に明らかな種差は認められていない[26]。

2.4.3.4 排泄

SHP615 の排泄を評価する特定の非臨床試験は実施しなかった。ヒトにおいて、投与したミダゾラムの 0.03%未満（0.011%～0.028%）が未変化体として尿中に排泄され、経口又は静脈内投与にかかわらずミダゾラムは実質的に完全に肝代謝により消失する[24][29]。更なる小児の排泄データについては 2.7.2 を参照のこと。

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ミダゾラムとその活性代謝物 1-OH-ミダゾラムとの間の薬物動態学的相互作用をラットで検討した。単独及び併用投与後に推定したときミダゾラムと 1-OH-ミダゾラムの薬物動態パラメータに差異は認められず、薬物動態学的相互作用はないことが示された[28]。

2.4.4 毒性試験

ミダゾラムの全身毒性に関する多くのデータが文献／試験から利用可能である。マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いた経口投与、静脈内投与又は筋肉内投与による単回及び反復投与毒性試験が文献で報告されている。2 週齢の幼若ラットを用いた経口投与による単回及び反復毒性試験が[redacted]により実施されている。In vitro 及び in vivo 遺伝毒性、並びにマウス及びラットを用いた経口投与によるがん原性が評価されている。マウス、ラット、ウサギを用いて経口投与及び静脈内投与による生殖発生毒性が評価されている。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いたミダゾラムの単回投与毒性試験が実施されており、様々な投与経路による 50%致死量（LD_{50}）が報告されている。

マウス及びラットにおいて、単回経口投与された 1600 mg/kg までの用量が LD_{50} として報告されており、同一用量を 5 日間連日投与したときの LD_{50} は約 1000 mg/kg まで低下した[37]。

マウス及びラットを用いた経口投与、静脈内投与又は筋肉内投与による急性毒性試験[30]では、自発運動低下、よろめき歩行、呼吸数減少、外的刺激への反応性低下及び腹臥又は横臥静止状態が観察された。また、体重減少及び体重増加抑制がマウス及びラットに認められた。

ビーグル犬にミダゾラムを 300 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、4 例中 3 例で死亡が認められた。100～300 mg/kg の用量で運動失調及び血液生化学パラメータの変化が認められた。ビーグル犬にミダゾラムを 3、10、30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したとき、中

枢神経系（CNS）抑制に一致する臨床徴候（10～100 mg/kg）及び臨床病理学的パラメータの変化（3～100 mg/kg）が観察された[31]。イヌを用いた静脈内投与試験では、10 mg/kg の用量で CNS 抑制の臨床徴候が認められた[31]。

幼若動物における単回投与毒性試験

2 週齢の Crl:CD®BR ラット（1 群当たり雌雄 5 匹）における急性経口投与毒性試験を、2 種類のミダゾラムシロップを用いて、10、20、40 又は 60 mg/kg（5、10、20 又は 30 mL/kg）の用量で実施した（R8962M-SHP615 [138782]）。ミダゾラムを 40 mg/kg（20 mL/kg）までの用量で幼若ラットに投与したときの忍容性は良好であった。CNS 抑制に一致する一般状態の変化が全てのミダゾラム投与ラットで観察された。一般状態の変化の重症度は、用量増加に伴い増加した。10、20 及び 40 mg/kg 群のラットでは、投与 1 日後にミダゾラムの作用からの回復が認められた。60 mg/kg（30 mL/kg）では、ミダゾラム群及び溶媒対照群の両方で死亡が観察された。ミダゾラム 60 mg/kg 群及び溶媒シロップ群のラットの死因はソルビトールの大量投与による脱水症であり、さらに、ミダゾラムの鎮静作用により適切な対応行動がとれなかったことによると考えられた。ミダゾラムシロップを 2 週齢のラットに経口投与したときの最大非致死量は 40 mg/kg（20 mL/kg）であった。

成人患者におけるミダゾラム経口投与時の推定最小バイオアベイラビリティ約 25%[31]を用いると、10 mg/kg はヒトにおける静脈内投与量 2.5 mg/kg（10 mg/kg×0.25）に相当すると考えられる。ヒトにミダゾラムを頬粘膜投与したときのバイオアベイラビリティは静脈内投与時の値の 74.5%(5.3.1.1-1)であることを考慮すると、2 週齢のラットにおける本用量(10 mg/kg)は、頬粘膜投与での約 3.4 mg/kg の用量 (2.5 mg/kg×1.34、体表面積換算値：約 20.1 mg/m^2[17])に相当する。これは小児における頬粘膜投与での予定用量 2.5～10 mg の体重[18]換算値である約 0.16～0.57 mg/kg（体表面積換算値：約 4.0～14.3 mg/m^2、小児体重 20 kg を使用[17]）の約 6～21 倍（体表面積換算では約 1.4～5 倍）である。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ミダゾラムの反復投与毒性に関するデータは、[redacted]により実施された試験や FDA による VERSED シロップの新薬承認申請の審査で審議された試験[31]を含む公開情報から利用可能である。ミダゾラムの反復投与毒性は数種の動物種において検討されている。

肝重量の増加又は減少、小葉中心性肝細胞肥大、脂肪化、肝臓の腫瘤又は結節、肝臓の斑状化及びその他の変化により示唆される肝毒性が、マウス（8.5～80 mg/kg/日）、ラット（1～80 mg/kg/日）及びイヌ（7～45 mg/kg/日）への経口投与、並びにウサギ（0.1～2.5 mg/kg/日）への静脈内投与により、ミダゾラムを 2 週間～24 ヵ月間連日投与したときに認められた。動物への反復投与でみられたその他の毒性変化は、白血球数の増加又は減少、体重増加量の増加又は減少、尿路の炎症、副腎重量増加又は副腎皮質肥大、甲状腺及び腎臓の重量増加、精巣及び下垂体の重量減少、血清グルコース減少、血清尿素窒素増加及びアルブミン尿、アルカリフォスファターゼの増加又は減少、ヘモグロビン、赤血球数又はヘマトクリットの減少、蛋白尿若しくは γ-グルタミルトランスペプチダーゼ活性の上昇等であった[31]。

ラット 13 週間混餌経口投与毒性試験（50、100 及び 200 mg/kg/日）において、100 mg/kg/日で肝重量が約 30%増加した。200 mg/kg/日において肝細胞の脂質及び酸性ムコ多糖類の含量がわずかに増加した[37]。

ラット 13 週間静脈内投与毒性試験（2.5、5、10 及び 20 mg/kg/日）では、2.5 mg/kg/日以上の用量でよろめき歩行、自発運動低下、鎮静及び睡眠様状態が観察された。5 mg/kg/日以上で投与部位の炎症性変化が認められた。20 mg/kg/日では、局所障害により静脈内投与が困難になったため腹腔内投与に変更した際、腹腔内の物理的刺激による腸管の癒着により雄 2 例及び雌 1 例（各 16 例中）が死亡した。20 mg/kg/日で体重増加抑制、摂餌量減少、血液学的検査値及び血液生化学的検査値の変化、胸腺重量の減少、脾臓重量の増加が認められたが、これらの変化は 5 週間の休薬期間後に回復した。無毒性量（NOAEL）は 2.5 mg/kg/日とされた[38]。

イヌ 13 週間経口投与毒性試験（5、15 及び 45 mg/kg/日）では、45 mg/kg/日の 6 例中 2 例に形態学的腎臓病変を伴わない蛋白尿（300 mg/100 mL）がみられた[37]。

イヌ 1 年間経口投与試験（1、7 及び 45 mg/kg/日）では、体重増加抑制、持続的な CNS 抑制症状、臨床病理学的パラメータ及び病理学的パラメータの変化が認められたが、全ての変化は 45 mg/kg/日の 7 例中 1 例を除き 14 日間休薬後に回復した[31]。

イヌ 13 週間静脈内反復投与毒性試験（2.5、5 及び 10 mg/kg/日）では、2.5 mg/kg/日以上の用量で後肢脱力、よろめき歩行、自発運動低下、横臥又は腹臥静止状態が認められた。5 mg/kg/日以上で、局所刺激性によると考えられる投与部位（前肢静脈）の炎症性変化、体重増加抑制、アルカリフォスファターゼ（ALP）の上昇が認められた。10 mg/kg/日で血小板数の増加及び肝重量の増加傾向がみられた。これらの変化は 5 週間の休薬期間後に回復した。NOAEL は 2.5 mg/kg/日とされた[39]。

幼若動物を用いた反復投与毒性試験

ミダゾラムシロップと媒体シロップとを比較する 2 週間反復経口投与毒性試験を、2 週齢の Sprague-Dawley ラット（1 群当たり雌雄各 9 匹）において 0（溶媒対照）、5 及び 10 mg/kg/日の用量を用いて実施した（R8961M-SHP615 [139383]）。ミダゾラムシロップを 10 mg/kg/日までの用量で投与したときの忍容性は良好であった。CNS 抑制に一致する一般状態の変化が全てのミダゾラム投与ラットで観察された。コレステロールの軽度な増加及び肝重量増加（雄で 2.5%～10.9%、雌で 0.2%～7.8%）が両用量で認められた。投与に関連すると考えられる病理組織学的所見又は肉眼病理所見は観察されなかった。本試験で忍容性がみられた投与量の 10 mg/kg は単回投与毒性試験（2.4.4.1）と同様、小児に対して体重換算で約 6～21 倍であり、体表面積換算で約 1.4～5 倍である。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

ネズミチフス菌（最高 500 μg/プレート）又は大腸菌（最高 278 μg/プレート）を用いた Ames 試験において、ミダゾラムは、S9 代謝活性化系存在下及び非存在下で変異原性を示さなかった。チャイニーズハムスター肺細胞由来 V79 細胞において正突然変異は認められなかった（代謝活性化系存在下及び非存在下で最高 150 μg/mL）。ミダゾラムは Saccharomyces cerevisiae D7（最高 288 μg/mL）、ヒトリンパ球（代謝活性化系存在下で最高 100 μg/mL、非存在下で最高

50 μg/mL）、並びに in vivo 小核試験（最高 800 mg/kg 経口投与）においても変異原性を示さなかった[31]。

2.4.4.4 がん原性試験

マウス及びラットにミダゾラムマレイン酸塩を 9 mg/kg/日までの用量で24ヵ月間経口投与した結果、いずれの動物種においてもがん原性のエビデンスは認められなかった。しかし、80 mg/kg/日の用量で 24 ヵ月間経口投与した雌マウスでは肝腫瘍の発生頻度増加が、同用量の雄ラットでは良性甲状腺濾胞細胞腫瘍の発生頻度増加が認められた。これらの変化は本薬を動物に長期投与した後に発生したが、ヒトでの使用は通常短期間であることから、ヒトにおけるミダゾラムの通常の使用とこれらの所見との関連性は明らかでない[40]。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験（ミダゾラム投与量：0、2.5、5 及び 10 mg/kg/日、静脈内投与）において、親動物では 2.5 mg/kg/日以上の群で興奮、よろめき歩行、筋弛緩、自発運動低下及び摂食様行動（雌雄）、外的刺激への反応性低下及び睡眠（雌）、腹臥／横臥鎮静又は睡眠状態（雄）、並びに体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。雌雄の交尾率及び受胎能に影響はみられなかった。胚・胎児では、胚致死、発育への影響及び催奇形性はみられなかった。NOAEL は、親動物の一般毒性に対して 2.5 mg/kg/日未満、親動物の生殖能に対して 10 mg/kg/日、次世代に対して 10 mg/kg/日であった[41]。

ラットにおける胎児の器官形成期投与試験（ミダゾラム投与量：0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/日、静脈内投与）において、母動物では 2.5 mg/kg/日以上の群でよろめき歩行、自発運動低下、摂食様行動、体重増加抑制及び摂餌量減少が観察され、20 mg/kg/日群で鎮静及び睡眠が認められた。胎児（帝王切開群）では、20 mg/kg/日群で母動物の体重増加抑制の二次的な影響と考えられる体重低下及び胸骨の不完全形成／骨化遅延が観察されたが、胚致死及び催奇形性は認められなかった。胎児（自然分娩群）では、20 mg/kg/日群で体重増加抑制及び発育遅延によると考えられる歯牙の萌出遅延が観察された。NOAEL は、母動物に対して 2.5 mg/kg/日未満、次世代に対して 10 mg/kg/日であった[42]。

ウサギにおける胎児の器官形成期投与試験（ミダゾラム投与量：0、1.25、2.5 及び 5 mg/kg/日、静脈内投与）において、母動物では 2.5 mg/kg/日群の 2 例で流産がみられた。1.25 mg/kg/日以上の群で鎮静、筋弛緩、外的刺激への反応性低下、体重及び摂餌量の減少が認められたが、帝王切開時の剖検でミダゾラム投与に関連した変化はみられなかった。胎児では、2.5 mg/kg/日以上の群で着床数に対する死亡率の増加（特に早期死亡胚数の増加）が認められたが、発育への影響及び催奇形性はみられなかった。NOAEL は、母動物に対して 1.25 mg/kg/日未満、次世代に対して 1.25 mg/kg/日であった[43]。

別途、マウス（経口投与）、ラット（経口及び静脈内投与）及びウサギ（経口及び静脈内投与）を用いて、ミダゾラムの生殖発生毒性が評価されており、経口投与における受胎能への影響及び催奇形性はヒト成人への経口投与量である 350 μg/kg のそれぞれ 7 及び 30 倍までの用量（mg/m^2 換算）で認められなかった[31][40]。

ラットにおける周産期及び授乳期投与試験（ミダゾラム投与量：0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/日、静脈内投与）において、母動物では 2.5 mg/kg/日以上の群でよろめき歩行、自発運動低

下、摂食様行動、軽度な睡眠状態、体重増加抑制及び摂餌量減少が観察された。5 mg/kg/日群の 1 例が分娩中に激しい出血を伴い死亡した。この動物の死因は不明であるが、より高用量群では死亡がみられず、単発的であったことから、ミダゾラム投与との関連性は低いと考えられた。5 mg/kg/日以上の群で分娩後 4 日までの哺育期間中に母動物の食殺等の哺育行動の異常により、生後 4 日までの新生児の生存率が顕著に低下した。新生児では、20 mg/kg/日群で生後 14 日以降の体重増加抑制、発育分化の指標としての眼瞼開裂（生後 16 日）及び骨化の遅延が認められたが、感覚機能、情動性、学習能及び生殖能に悪影響はみられなかった。NOAEL は、母動物に対して 2.5 mg/kg/日未満、次世代に対して 2.5 mg/kg/日であった[44]。

2.4.4.6 局所刺激性試験

原薬又は申請製剤の投与経路である頬粘膜（口腔粘膜）における局所刺激性を評価する非臨床試験は実施していない。そのため、SHP615（0.5%ミダゾラム含有、目標 pH 3.3）の口腔粘膜投与による頬粘膜の局所忍容性を担保するために以下の非臨床及び臨床データを利用した。

ミダゾラム溶液又は製剤（pH 3.3）をウサギの眼瞼に点眼したときの影響を検討した結果、濃度 0.5%及び 1.0%のミダゾラムの刺激性はそれぞれ実質的に陰性／陰性及び軽微であった[45]。眼粘膜の組織構造は、重層扁平上皮の被覆から成る頬粘膜と組織学的に共通する部位を有することから、頬粘膜の局所刺激性は、本試験に基づき推察可能と考えられる。

ミダゾラムをラット及びイヌに経口投与したときの忍容性は良好であった[37]。幼若ラットを用いた毒性試験では、40 mg/kg までの用量を単回経口投与しても剖検時の肉眼検査で変化は認められず（R8962M-SHP615 [138782]）、10 mg/kg/日までの用量で 2 週間経口投与しても、投与部位である胃を含む組織の肉眼病理検査及び病理組織学的検査で投与に関連すると考えられる変化は観察されなかった（R8961M-SHP615 [139383]）。

けいれん性てんかん重積状態の小児患者に SHP615 を頬粘膜投与し、主に有効性及び安全性を検討した非盲検、多施設共同、国内第 3 相試験である SHP615-301 及び 302 試験において、頬粘膜刺激に関連する有害事象の報告はなかった（2.7.4）。通常の待機的外科手術を受ける小児患者に SHP615 を頬粘膜投与し、安全性と薬物動態を検討した非盲検の海外第 2 相試験である MID001 試験において、頬粘膜刺激に関連する有害事象の報告はなかった（2.7.4）。頬粘膜刺激に関連する有害事象として MedDRA（SHP615-301 試験及び SHP615-302 試験：MedDRA/J ver. 20.0、MID001 試験：MedDRA/J ver. [redacted]）の基本語、口内炎、口腔内痛及び口腔内潰瘍形成を含めた。

ミダゾラム頬粘膜投与を用いた小児を対象とした比較対照及び非対照試験に関する公表文献において、頬粘膜刺激に関連する有害事象は報告されていない（表 2.7.4.2-10）。

健康成人 8 例を対象にミダゾラムの頬粘膜投与及び静脈内投与の薬物動態を比較した Schwagmeier（5.3.1.1-1）の試験（ダブルダミー、クロスオーバー試験）では、ミダゾラムの頬粘膜投与後及び静脈内投与後（プラセボ頬粘膜投与後）に各 2 例で頬粘膜刺激が報告されている。連続発作又はてんかん重積状態を有する成人患者を対象にミダゾラム頬粘膜投与とジアゼパム直腸内投与とを比較した前向き無作為化試験（Nakken[32]）において、口腔内での持続する苦味及びしびれ感がそれぞれ 43 例中 6 例及び 3 例に報告されている。口内炎、口腔内痛又は口腔内潰瘍等の明らかな頬粘膜刺激の報告はなかった。Klein[33]は、裂傷治療の

ために非経口的鎮静が必要でない小児にミダゾラムを経口、頬粘膜及び鼻腔内投与した試験における局所刺激性症状を報告している。ミダゾラム鼻腔内投与を受けた被験者群では、経口及び頬粘膜投与を受けた被験者群と比較して、刺激症状の発現頻度がより高かった（表2.6.6-13）。本試験での刺激症状には、咳嗽、空嘔吐及び咽頭痛の有害事象が含まれている。鼻腔内投与に関連する局所刺激性症状として、Haan[34]は、成人の難治性てんかん患者においてくしゃみ、咳嗽、口渇及び涙流（軽度から中程度の重症度）を、Knoester[35]は、健康成人において涙目、わずかな苦み及び咽頭ヒリヒリ感（6例中1例を除き10分以内に消失、1例は鼻腔内刺激が25分間持続）を報告している。Malinovsky[36]は、ミダゾラムの麻酔前投与を受けた小児において経口投与群及び鼻腔内投与群にくしゃみ、鼻腔内投与群に咳が認められ、直腸内投与群には局所刺激性症状はなかったと報告している。重度の局所副作用は報告されていない。

以上のように、SHP615又はミダゾラムをSHP615の予定投与部位（頬粘膜）又は組織学的に類似する部位（眼粘膜、経口、鼻腔内及び直腸内）に投与したときの局所刺激性に関する非臨床／臨床データは多数報告されている。これらの情報から総合的に判断し、SHP615の局所刺激性に特段の懸念はないと考えられる。

2.4.4.7 その他の毒性試験

薬物乱用

2ボトル選択試験において、スクロースとミダゾラムの混合液はスクロース単独と比較して多く摂取され、ミダゾラムに対する嗜好性があることが示された[46]。脳内自己刺激試験（ICSS）では、ミダゾラム投与により野生型マウスにおける反応頻度曲線の左方移動が認められ、ミダゾラムによる報酬効果の増強との関連が示唆された。側坐核における$GABA_A$受容体のα2サブユニットに点突然変異を有するマウスでは、ミダゾラムに対する嗜好性及び報酬効果増強の両方とも認められず、この$GABA_A$受容体サブユニットはミダゾラムの嗜好性及び報酬効果増強に必要であることが示された[46]。

薬物弁別試験では、アカゲザルにレバー押しにより食物の報酬を与え、ミダゾラム（0.56 mg/kg）の皮下投与と生理食塩液投与を識別するように訓練した。ミダゾラム投与に関連するレバー押し反応は用量依存的に増加し、0.32 mg/kg以上の用量でミダゾラム投与に関連するレバー押し反応は80%以上であった。このことよりミダゾラムは弁別刺激効果を有するものと考えられた[47]。

2.4.5 総括及び結論

本製造販売承認申請に係る投与経路は頬粘膜投与であり、小児にミダゾラムとして2.5～10 mg（生後3ヵ月以上1歳未満:2.5 mg、1歳以上5歳未満:5 mg、5歳以上10歳未満:7.5 mg、10歳以上18歳未満：10 mg）を投与する。

ミダゾラムは、脊髄、脳幹、小脳、大脳辺縁系、大脳皮質等、中枢神経系の種々の部位に存在する$GABA_A$受容体に結合する。

ミダゾラムは、SEモデルを含む数種類のてんかん及び発作モデルにおいて、in vivoで顕著な有効性を示した。非臨床試験において、ミダゾラムには高濃度で明らかな天井効果がなく、濃度と効果の非線形関係を伴う顕著な抗けいれん作用があることが示されている。ミダゾラ

ムの抗けいれん作用に対するフルマゼニルの拮抗作用は、異なる2種類の作用部位が存在する可能性があることを示唆していた。抗けいれん作用の経時的変化を、種々の実験プロトコルを用いて異なる投与経路で検討した結果、ほぼ即時的な作用発現が示された。

頬粘膜に投与したとき、ミダゾラムの大部分は全身循環に直接吸収され、初回通過効果は少ない。ウサギの試験において、ミダゾラム注射液を舌下投与したとき迅速な吸収及び良好なバイオアベイラビリティ（127%）が示され、このことはヒトにおいても一致していた。健康成人に頬粘膜投与後のミダゾラムのバイオアベイラビリティは74.5%であった。小児に頬粘膜投与したときのミダゾラムの薬物動態は、重度のマラリア及び発作を有する小児患者での臨床試験（Muchohi et al）、SHP615を用いた国内第3相試験（SHP615-301試験）及び海外第2相試験（MID001試験）で評価されている（2.5.3及び2.7.2）。

急性毒性は、小児患者への予定用量よりも高い用量で発現した。ラット及びイヌでの反復投与毒性試験における推定AUCをヒト曝露量と比較したときの安全域は、ラットで約4～5倍、イヌで約17～25倍であった。ミダゾラムに催奇形性は認められず、変異原性及びがん原性の懸念はなかった。非臨床及び臨床情報に基づき、SHP615を口腔粘膜に投与したときの頬粘膜の局所刺激性に関して特段の懸念はないと考えられる。

幼若ラット（2週齢）における毒性試験では、ミダゾラムシロップを10 mg/kg/日までの用量で2週間反復投与したときの忍容性は良好であった。

本申請をサポートするために、非臨床試験に関する文献の詳細な評価を実施した。公表されている臨床試験報告は、小児（生後3ヵ月以上18歳未満）におけるSEの治療に対して頬粘膜（口腔粘膜）投与によるミダゾラムの安全性及び有効性を裏付けている。これらのことは、本概括評価で示した非臨床所見によっても支持されている。

公開されている薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的データにより、小児（生後3ヵ月以上18歳未満）におけるSEの治療に対するSHP615の製造販売承認申請を支持するために十分な非臨床試験結果が得られていると考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

[1] Yu OF, Chiu TH, Rosenberg HC. A comparison of the effects of midazolam and pentobarbital on the dose-response of GABA-gated Cl^- influx in rat brain microsacs. Brain Res. 1988;451:376-80.

[2] Campo-Soria C, Chang Y, Weiss DS. Mechanism of action of benzodiazepines on $GABA_A$ receptors. Br J Pharmacol. 2006;148:984-90.

[3] Hanson SM, Czajkowski C. Structural mechanisms underlying benzodiazepine modulation of the $GABA_A$ receptor. J Neurosci. 2008;28:3490-9.

[4] Bialer M, White HS. Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. Nat Rev Drug Discov. 2010;9:68-82.

[5] Harrison PK, Sheridan RD, Green AC, Scott IR, Tattersall JE. A guinea pig hippocampal slice model of organophosphate-induced seizure activity. J Pharmacol Exp Ther. 2004;310:678-86.

[6] Diviney M, Reynolds JP, Henshall DC. Comparison of short-term effects of midazolam and lorazepam in the intra-amygdala kainic acid model of status epilepticus in mice. Epilepsy Behav. 2015;51:191-8.

[7] Mandema JW, Sansom LN, Dios-Vieitez MC, Hollander-Jansen M, Danhof M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the electroencephalographic effects of benzodiazepines. Correlation with receptor binding and anticonvulsant activity. J Pharmacol Exp Ther. 1991a;257:472-8.

[8] Hoogerkamp A, Arends RH, Bomers AM, Mandema JW, Voskuyl RA, Danhof M. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of benzodiazepines in the direct cortical stimulation model of anticonvulsant effect. J Pharmacol Exp Ther. 1996;279:803-12.

[9] Cleton A, Voskuyl RA, Danhof M. Adaptive changes in the pharmacodynamics of midazolam in different experimental models of epilepsy: kindling, cortical stimulation and genetic absence epilepsy. Br J Pharmacol. 1998;125:615-20.

[10] Kubová H, Mocková M, Mareš P. Midazolam suppresses spike-and-wave rhythm accompanying three different models of epileptic seizures. Physiol Res. 1999;48:491-500.

[11] Shih TM, Rowland TC, McDonough JH. Anticonvulsants for nerve agent-induced seizures: The influence of the therapeutic dose of atropine. J Pharmacol Exp Ther. 2007;320:154-61.

[12] Pieri L. Preclinical pharmacology of midazolam. Br J Clin Pharmacol. 1983;16(Suppl 1):17S-27S.

[13] Tan H, Ren RR, Xiong ZQ, Wang YW. Effects of ketamine and midazolam on morphology of dendritic spines in hippocampal CA1 region of neonatal mice. Chin Med J (Engl). 2009;122:455-9.

[14] Vonderlin N, Fischer F, Zitron E, Seyler C, Scherer D, Thomas D, Katus HA, et al. Inhibition of cardiac Kv1.5 potassium current by the anesthetic midazolam: mode of action. Drug Des Devel Ther. 2014;8:2263-71.

[15] Vonderlin N, Fischer F, Zitron E, Seyler C, Scherer D, Thomas D, Katus HA, et al. Anesthetic drug midazolam inhibits cardiac human ether-à-go-go-related gene channels: mode of action. Drug Des Devel Ther. 2015;9:867-77.

[16] Jones DJ, Stehling LC, Zauder HL. Cardiovascular responses to diazepam and midazolam maleate in the dog. Anesthesiology. 1979;51:430-4.

[17] United States Food and Drug Administration. Guidance for industry: estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. July 2005.

[18] 一般社団法人日本小児内分泌学会. 身長・体重パーセンタイル 2000 年. 2019 年 8 月 1 日閲覧. http://jspe.umin.jp/medical/files/fuhyo2.pdf.

[19] 矢島孝、桑原俊一、竹本千織、桑原明彦、古屋泉、高宮万里、田中雄四郎、ほか. Midazolam の薬理作用. 薬理と治療. 1985;13(Suppl. 4):1061-89.

[20] Mandema JW, Tukker E, Danhof M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the EEG effects of midazolam in individual rats: influence of rate and route of administration. Br J Pharmacol. 1991b;102:663-8.

[21] Kaartama R, Turunen E, Toljamo K, Kokki H, Lehtonen M, Ranta VP, Savolainen J, et al. The effect of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and sucrose on the sublingual absorption of midazolam in rabbits. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2012;81:178-83.

[22] Schwartz M, Muñana KR, Nettifee-Osborne JA, Messenger KM, Papich MG. The pharmacokinetics of midazolam after intravenous, intramuscular, and rectal administration in healthy dogs. J Vet Pharmacol Ther. 2012;36:471-7.

[23] Greenblatt DJ, Abernethy DR, Locniskar A, Harmatz JS, Limjuco RA, Shader RI. Effect of age, gender, and obesity on midazolam kinetics. Anesthesiology. 1984;61:27-35

[24] Dollery C. Midazolam (hydrochloride). In: Therapeutic drugs, second edition. Churchill Livingstone, Edinburgh: 1999;M175-M179.

[25] Vondracek M, Xi Z, Larsson P, Baker V, Mace K, Pfeifer A, et al.. Cytochrome P450 expression and related metabolism in human buccal mucosa. Carcinogenesis. 2001;22:481-8.

[26] Perloff MD, von Moltke LL, Court MH, Kotegawa T, Shader RI, Greenblatt DJ. Midazolam and Triazolam Biotransformation in Mouse and Human Liver Microsomes: Relative Contribution of CYP3A and CYP2C Isoforms. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2000;292(2):618-28.

[27] Pieri L. Preclinical Pharmacology of Midazolam. Br J Clin Pharmacol. 1983;16:17S-27S.

[28] Tuk B, van Oostenbruggen MF, Herben VM, Mandema JW, Danhof M. Characterization of the Pharmacodynamic Interaction Between Parent Drug and Active Metabolite In Vivo: Midazolam and α-OH-midazolam. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1999;289(2):1067-74.

[29] Smith MT, Eadie MJ, Brophy TO. The Pharmacokinetics of Midazolam in Man. Eur J Clin Pharmacol. 1981;19:271-8.

[30] 清水万律子、堀井郁夫、本間雅裕、高橋実、八木下正行、岡本敏、ほか. Midazolam の毒性に関する研究 <第 1 報> マウスおよびラットにおける急性毒性試験. 薬理と治療. 1985a:13 (Suppl. 4):871-8.

[31] Food and Drug Administration Pharmacology Review of VERSED Syrup NDA, Approval Package for NDA for Versed Oral Syrup (Hoffman-La Roche, Inc.); Approved 15 Oct 1998.

[32] Nakken KO, Lossius MI. 2011. Buccal midazolam or rectal diazepam for treatment of residential adult patients with serial seizures or status epilepticus. *Acta Neurol Scand*; 124(2): 99-103.

[33] Klein EJ, Brown JC, Kobayashi A, Osincup D, Seidel K. 2011. A randomized clinical trial comparing oral, aerosolized intranasal, and aerosolized buccal midazolam. *Ann Emerg Med*; 58(4): 323-9.

[34] Haan GJ, van der Geest P, Doelman G, Bertram E, Edelbroek P. A comparison of midazolam nasal spray and diazepam rectal solution for the residential treatment of seizure exacerbations. Epilepsia. 2010;51(3):478-82.

[35] Knoester PD, Jonker DM, Van Der Hoeven RT, Vermeij TA, Edelbroek PM, Brekelmans GJ, de Haan GJ. 2002. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of midazolam administered as a concentrated intranasal spray. A study in healthy volunteers. Br J Clin Pharmacol; 53(5): 501-7.

[36] Malinovsky JM, Populaire C, Cozian A, Lepage JY, Lejus C, Pinaud M. 1995. Premedication with midazolam in children. Effect of intranasal, rectal and oral routes on plasma midazolam concentrations. Anaesthesia; 50(4):351-4.

[37] Schläppi B. Safety Aspects of Midazolam. Br J Clin Pharmacol. 1983.;16:37S-41S.

[38] 堀井郁夫、小林和子、高橋実、蔵田幸次、宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 <第 2 報> ラットにおける 13 週間静脈内投与毒性試験. 薬理と治療 1985a.;13(Suppl. 4):879-916.

[39] 堀井郁夫、小林和子、堀江孝一、志賀敏彦、宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 <第 3 報> イヌにおける 13 週間静脈内投与毒性試験. 薬理と治療 1985b;13(Suppl. 4):917-53.

[40] AHFS Detailed Monograph;Midazolam Oral;2010.

[41] 清水万律子、竹内裕幸、堀井郁夫、宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 <第 5 報> ラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験. 薬理と治療. 1985b;13(Suppl. 4):985-94.

[42] 清水万律子、野田有俊、八木下和海、稲垣幹男、宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 <第 6 報> ラットにおける胎仔の器官形成期投与試験. 薬理と治療. 1985c;13(Suppl. 4):995-1010.

[43] 塩崎裕通、中川信一、稲垣幹男、内田英一、野田有俊、清水万律子、宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 <第 7 報> ウサギにおける胎仔の器官形成期投与試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl. 4):1011-9.

[44] 野田有俊、佐藤正伸、加藤智保、清水万律子、宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 <第 8 報> ラットにおける周産期および授乳期投与試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl. 4):1021-34.

[45] 磯部竹雄、小田島寿子、宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 <第 10 報> 局所刺激性試験.薬理と治療. 1985;13(Suppl. 4):1041-59.

[46] Engin E, Bakhurin KI, Smith KS, Hines RM, Reynolds LM, Tang W, Sprengel R, et al. Neural Basis of Benzodiazepine Reward: Requirement for α2 Containing GABAA Receptors in the Nucleus Accumbens. Neuropsychopharmacology. 2014;39:1805-15.

[47] Bai X, France CP, Gerak LR. The discriminative stimulus effects of midazolam are resistant to modulation by morphine, amphetamine, dizocilpine, and γ-butyrolactone in rhesus monkeys. Psychopharmacology (Berl). 2011;217(4):495-504.