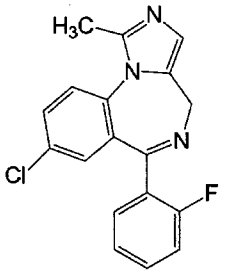
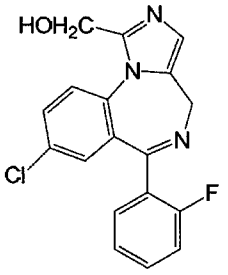
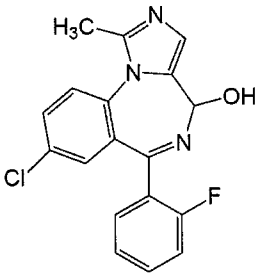
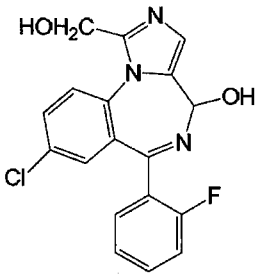
目次

略号一覧表 2
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.4 遺伝毒性試験 14
2.6.6.5 がん原性試験 14
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 15
2.6.6.7 局所刺激性試験 16
2.6.6.8 その他の毒性試験 19
2.6.6.9 考察及び結論 21
2.6.6.10 図表 21
2.6.6.11 参考文献一覧 21

表

表 2.6.6-1　毒性試験プログラム 4
表 2.6.6-2　ミダゾラムの急性毒性 7
表 2.6.6-3　マウス及びラットにおける急性毒性試験の概要 8
表 2.6.6-4　イヌにおける急性毒性試験の概要 9
表 2.6.6-5　ラットにミダゾラムを 13 週間投与したときの血漿グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、血漿アルカリフォスファターゼ、血漿総ビリルビン及び血清総蛋白質 11
表 2.6.6-6　ラットにおける 13 週間静脈内投与毒性試験のまとめ 12
表 2.6.6-7　イヌにおける 13 週間静脈内反復投与毒性試験のまとめ 13
表 2.6.6-8　ラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験のまとめ 15
表 2.6.6-9　ラットにおける胎児の器官形成期投与試験のまとめ 15
表 2.6.6-10　ウサギにおける胎児の器官形成期投与試験のまとめ 16
表 2.6.6-11　ラットにおける周産期及び授乳期投与試験のまとめ 16
表 2.6.6-12　ウサギにおける眼粘膜刺激性試験のまとめ 17
表 2.6.6-13　治験薬投与の忍容性 18
表 2.6.6-14　マウスにおけるミダゾラムの薬物乱用を評価する試験条件 19
表 2.6.6-15　サルにおけるミダゾラムの薬物乱用を評価する試験条件 20
表 2.6.6-16　ミダゾラムを小児患者に頬粘膜又は静脈内投与したときのミダゾラムの Cmax 及び AUC 20

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
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the concentration versus time curve	濃度-時間曲線下面積
Cmax	maximum concentration	最高濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
F1	-	次世代
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
$GABA_A$	gamma-aminobutyric acid A (receptor)	γ-アミノ酪酸 A（受容体）
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GPT	glutamic-pyruvic acid transaminase	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
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
LD_{50}	lethal dose in 50% of animals	動物の 50%致死量
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration	平均ヘモグロビン濃度
MedDRA	Medical Dictionary for Regulatory Activities	ICH 国際医薬用語集
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
SD rat(s)	Sprague-Dawley rat(s)	SD ラット
SE	status epilepticus	てんかん重責状態

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

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。本製造販売承認申請に係る投与経路は頬粘膜投与であり、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。

ミダゾラムの急性毒性は、患者の体重及び年齢に基づく2.5～10 mg用量よりも高い投与量で発現した。数種類の反復投与毒性試験データを非臨床安全性評価に用いた。ラット及びイヌでの反復静脈内投与試験における推定曝露量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際に、頬粘膜の局所刺激性に関して特段の懸念は示されなかった。

小児患者への経口投与をサポートするため、経口シロップ剤（VERSED経口シロップ）を用いた幼若ラット（2週齢）における2つの経口投与毒性試験（単回投与及び2週間反復投与毒性試験）が、[redacted]により実施された（R8962M-SHP615 [138782]、R8961M-SHP615 [139383]）。これらの試験から、SHP615の申請用量の小児での使用により、体重に基づく投与量では約6～21倍（体表面積換算では約1.4～5倍）の安全域が推定された。

なお、引用した科学論文では、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）の適合状況に関する記載はないものの、試験の大部分は、専門家による相互評価（ピアレビュー）が行われた雑誌に公表されており、いくつかの研究論文は成書に記載されている。また、幼若ラットの2つの毒性試験はGLP基準に準拠して実施されている。

小児に対するSHP615の頬粘膜投与での使用をサポートする試験の概要を以下に記載し、一覧を表2.6.6-1に示す。

表2.6.6-1　毒性試験プログラム

試験種類	投与経路	試験系	試験報告書／参考文献	記載場所
単回投与毒性	経口	マウス	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.1-1
			清水 1985a [2]	4.2.3.1-2
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
		幼若ラット	R8962M-SHP615 [138782]'	4.2.3.1-4
		ラット	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.1-1
			清水 1985a [2]	4.2.3.1-2
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3

表 2.6.6-1　毒性試験プログラム（続き）

試験種類	投与経路	試験系	試験報告書／参考文献	記載場所
単回投与毒性	経口	ラット	Centers for Disease Control and Prevention 2003 [4]	4.2.3.1-5
		イヌ	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
	静脈内	マウス	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.1-1
			清水 1985a [2]	4.2.3.1-2
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
			Centers for Disease Control and Prevention 2003 [4]	4.2.3.1-5
		ラット	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.1-1
			清水 1985a [2]	4.2.3.1-2
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
			Centers for Disease Control and Prevention 2003 [4]	4.2.3.1-5
		ウサギ	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
		イヌ	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
	筋肉内	マウス	清水 1985a [2]	4.2.3.1-2
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
			Centers for Disease Control and Prevention 2003 [4]	4.2.3.1-5
		ラット	清水 1985a [2]	4.2.3.1-2
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
			Centers for Disease Control and Prevention 2003 [4]	4.2.3.1-5
		ウサギ	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.1-3
反復投与毒性	経口	マウス	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.2-1 （4.2.3.1-3 と同一）
		幼若ラット	R8961M-SHP615 [139383]'	4.2.3.2-2

表 2.6.6-1　毒性試験プログラム（続き）

試験種類	投与経路	試験系	試験報告書／参考文献	記載場所
反復投与毒性	経口	ラット	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.2-3（4.2.3.1-1と同一）
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.2-1（4.2.3.1-3と同一）
		イヌ	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.2-3（4.2.3.1-1と同一）
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.2-1（4.2.3.1-3と同一）
	静脈内	ラット	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.2-3（4.2.3.1-1と同一）
			堀井 1985a [5]	4.2.3.2-4
		ウサギ	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.2-1（4.2.3.1-3と同一）
		イヌ	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.2-3（4.2.3.1-1と同一）
			堀井 1985b [6]	4.2.3.2-5
	筋肉内	ラット	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.2-1（4.2.3.1-3と同一）
		イヌ	Schläppi 1983 [1]	4.2.3.2-3（4.2.3.1-1と同一）
遺伝毒性	in vitro/in vivo	ネズミチフス菌、大腸菌	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.3.1-1（4.2.3.1-3と同一）
		V79 細胞（チャイニーズハムスター肺細胞由来）	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.3.1-1（4.2.3.1-3と同一）
		Saccharomyces cerevisiae D7 細胞	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.3.1-1（4.2.3.1-3と同一）
		ヒトリンパ球	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.3.1-1（4.2.3.1-3と同一）
		小核試験（動物種の情報なし）	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.3.2-1（4.2.3.1-3と同一）
がん原性	経口	マウス	AHFS Monograph 2010 [7]	4.2.3.4.1-1
		ラット	AHFS Monograph 2010 [7]	4.2.3.4.1-1

表 2.6.6-1　毒性試験プログラム（続き）

試験種類	投与経路	試験系	試験報告書／参考文献	記載場所
生殖発生毒性	経口	マウス	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.5.2-3（4.2.3.1-3と同一）
		ラット	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.5.1-2（4.2.3.1-3と同一）
		ウサギ	FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.5.2-3（4.2.3.1-3と同一）
	静脈内	ラット	清水 1985b [8]	4.2.3.5.1-1
			清水 1985c [9]	4.2.3.5.2-1
			野田 1985 [10]	4.2.3.5.3-1
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.5.2-3（4.2.3.1-3と同一）
			AHFS Monograph 2010 [7]	4.2.3.5.1-3 4.2.3.5.2-4（4.2.3.4.1-1と同一）
		ウサギ	塩崎 1985 [11]	4.2.3.5.2-2
			FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]	4.2.3.5.2-3（4.2.3.1-3と同一）
			AHFS Monograph 2010 [7]	4.2.3.5.2-4（4.2.3.4.1-1と同一）
局所刺激性	点眼	ウサギ	磯部 1985 [12]	4.2.3.6-1
その他の毒性：薬物乱用	ミダゾラム溶液に継続してアクセス可能な経口摂取、腹腔内	マウス	Engin 2014 [13]	4.2.3.7.4-1
	皮下	サル	Bai 2011 [14]	4.2.3.7.4-2

[1] 試験報告書は GLP 適合陳述書を含む

2.6.6.2 単回投与毒性試験

多くの単回投与毒性試験により、様々な投与経路における下記動物種の 50%致死量（LD_{50}）が報告されている。ミダゾラムの LD_{50} を表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2　ミダゾラムの急性毒性

動物種	投与経路	投与頻度	LD_{50} (mg/kg)
マウス	経口	単回	1600[a]、500（雄）/>500（雌）[b]、258～457[c]
	経口	5 日間連日	1000[a]
	静脈内	単回	50[a,d]、>200[b]、34～67[c]
	静脈内	5 日間連日	50[a]
	筋肉内	単回	>25[c]～>50[d,b]
ラット	経口	単回	1600[a]、294（雄）/215（雌）[b]、221[c]、215[d]
	経口	5 日間連日	1000[a]
	静脈内	単回	75[a,d]、>100[b]、29[c]、357[d]

表 2.6.6-2　ミダゾラムの急性毒性（続き）

動物種	投与経路	投与頻度	LD_{50} (mg/kg)
ラット	静脈内	5 日間連日	75[a]
	筋肉内	単回	>50[d,b]、>5[c]
ウサギ	静脈内	単回	>5[c]
	筋肉内	単回	>2.5[c]
イヌ	経口	単回	300[e]
	静脈内	単回	>10[e]

LD_{50}：使用動物における 50%致死量
(a) Schläppi 1983 [1]
(b) 清水 1985a [2]
(c) FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]
(d) Centers for Disease Control and Prevention 2003 [4]
(e) 致死量：FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]

清水らの報告によるミダゾラムのマウス及びラットにおける急性毒性試験[2]の試験条件及び特記所見を表 2.6.6-3 にまとめる。

表 2.6.6-3　マウス及びラットにおける急性毒性試験の概要

動物種	投与経路	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数／群	特記所見
ICR マウス	経口	0、256、320、400、500	雄：10 雌：10	≥256 mg/kg：自発運動低下、よろめき歩行、歩行困難、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、体重減少／増加抑制 ≥320 mg/kg：睡眠様状態、流涙 500 mg/kg：雄 5 例及び雌 4 例死亡
	静脈内	0、100、200	雄：10 雌：10	≥100 mg/kg：よろめき歩行、歩行困難、自発運動低下、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態 200 mg/kg：睡眠様状態、流涙
	筋肉内	0、25、50	雄：10 雌：10	≥25 mg/kg：自発運動低下、よろめき歩行、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、呼吸数低下、流涙
SD ラット	経口	0、131、164、205、256、320、400、500	雄：10 雌：10	≥131 mg/kg：自発運動低下、よろめき歩行、歩行困難、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、睡眠様状態、体重減少／増加抑制、摂餌量減少 LD_{50}（mg/kg）：雄 294、雌 215
	静脈内	0、60、100	雄：10 雌：10	≥60 mg/kg：自発運動低下、よろめき歩行、歩行困難、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、睡眠様状態、流涙、体重減少／増加抑制、摂餌量減少 100 mg/kg：雌 1 例死亡

動物種	投与経路	投与量 (mg/kg)	性別及び 動物数／群	特記所見
	筋肉内	0、25、50	雄：10 雌：10	≥25 mg/kg：自発運動低下、よろめき歩行、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、流涙 50 mg/kg：軽度な体重増加抑制

出典：清水 1985a [2]

マウス及びラットにおける一般状態の観察所見は、投与経路にかかわらず、ミダゾラムの薬理作用に起因すると考えられた。

VERSED シロップの FDA Pharmacology Review に基づくミダゾラムのイヌにおける急性毒性試験[3]の試験条件及び特記所見を表 2.6.6-4 にまとめる。

表 2.6.6-4　イヌにおける急性毒性試験の概要

動物種	投与経路	試験種類	投与量 (mg/kg)	特記所見
ビーグル犬	経口	漸増用量	3、10、 30、 100	≥3 mg/kg：嘔吐、粘液便、グルコース低下、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ上昇 ≥10 mg/kg：運動失調、方向感覚消失、放心状態、流涎、自発運動低下 100 mg/kg：白血球（多形核白血球及びリンパ球）数増加、ALT 及び ALP の軽度上昇
		致死量	100、300	300 mg/kg：投与後 1、5 及び 8 日に 4 例中 3 例死亡 100 及び 300 mg/kg：運動失調、ALP 上昇、血清尿素窒素及び ALT の上昇
	静脈内	単用量	10	筋弛緩、舌舐めずり、流涎、運動失調、起立不能、水泳動作、踏み直り反射消失、放心状態、失見当識動作、嘔吐、鎮静

出典：FDA Pharmacology Review VERSED 1998 [3]

<u>幼若動物における単回投与毒性試験</u>

2 週齢の Crl:CD®BR ラットにおける単回強制経口投与毒性試験を、フレーバーのみが異なる 2 種類のミダゾラム液状（シロップ）製剤を用いて実施した（R8962M-SHP615 [138782]）。詳細な試験条件及び結果を表 2.6.7-2 に示す。

本試験の概要は以下のとおりである。チェリー又はトゥッティフルッティシロップに含有されたミダゾラムを 10、20、40 又は 60 mg/kg（5、10、20 又は 30 mL/kg）の用量で 1 群当たり雌雄各 5 匹のラットに単回経口投与した。チェリー及びトゥッティフルッティシロップの溶媒対照を、各用量で雌雄各 5 匹のラットに投与した。

全ての動物について一般状態観察、体重測定及び肉眼的検査を実施し、60 mg/kg 群の 1 匹について臨床病理学的検査を実施した。

ミダゾラムを 40 mg/kg（20 mL/kg）までの用量で幼若ラットに単回経口投与したときの忍容性は良好であった。中枢神経系（CNS）抑制に一致する一般状態の変化（例：自発運動低下、遅延正向反射、筋弛緩、呼吸抑制、正向反射の消失及び振戦）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、用量の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）の用量では、ミダゾラム群及び溶媒対照群の両方で投与 1 から 2 日にかけて死亡例が観察された。また、60 mg/kg 群の生存例は投与 1 から 2 日までに回復した。ミダゾラム 60 mg/kg 群若しくは溶媒シロップ群のラットの死因は脱水症と考えられた。脱水症は、ラット皮膚の弾力性が失われ、剖検時に胃・腸管が液体で膨張していたこと及び出血を呈したラット 1 例で血液濃縮が観察されたことから裏付けられた。脱水症は、製剤中の大量のソルビトールにより、組織から体液が胃・腸管腔に移動することから引き起こされたと考えられる（溶媒による影響と考えられる）。ミダゾラム投与群での死亡率のわずかな上昇（60 mg/kg 群のチェリーシロップで対照群の 10 例中 8 例に対してミダゾラム群 10 例中 10 例、トゥッティフルッティシロップで対照群の 10 例中 2 例に対してミダゾラム群 10 例中 9 例）は、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。本試験の結論として、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%[3]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 [15]）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[16]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[15]）の約 6～21 倍（体表面積換算では約 1.4～5 倍）である。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

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。公表データには、[redacted]により実施され、米国食品医薬品局（FDA）による VERSED 経口シロップの新薬承認申請の審査過程で審議された試験が含まれる[3]。ミダゾラムの反復投与毒性は数種の動物種において異なる投与経路（経口投与、混餌投与、静脈内投与及び筋肉内投与[1][3][5][6]）で検討されている。ラット及びイヌでの 13 週間経口投与毒性試験ではそれぞれ 200 及び 45 mg/kg/日までの用量、並びにラット及びイヌでの 5 週間静脈内及び筋肉内投与毒性試験では 6 mg/kg/日までの用量で、ミダゾラムは良好な忍容性を示した[1]。

VERSED シロップの FDA Pharmacology Review によると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、ALP 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[3]。

Schläppi らの報告によるとラット 13 週間混餌経口投与毒性試験（0、50、100 及び 200 mg/kg/日）において、50 mg/kg/日群で血液生化学的変化又は病理組織学的変化は認められず、100 mg/kg/日においても肝重量が約 30%増加したのみであった。200 mg/kg/日では体重増加率が対照群と比較して軽度に減少し（雄で 3%、雌で 10%）、肝重量が対照群と比較して約 50%増加した。200 mg/kg/日群の病理組織学的検査において、肝細胞の脂質及び酸性ムコ多糖の含量がわずかに増加したが、その量は病理組織学的に定量困難な程度である。これらの用量は本剤の対象患者（生後 3 ヵ月以上 18 歳未満）の臨床用量と比較すると非常に高いこと及び肝機能不全に関するエビデンスがないことを考慮すると（表 2.6.6-5）、これらの所見のヒトに対する懸念はほとんどないと考えられる[1]。

表 2.6.6-5　ラットにミダゾラムを 13 週間投与したときの血漿グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、血漿アルカリフォスファターゼ、血漿総ビリルビン及び血清総蛋白質

投与量	GPT (U/L)	アルカリフォスファターゼ (U/L)	ビリルビン (mg/100 mL)	総蛋白質 (g/100 mL)
雄				
溶媒	16±8	279±43	0.08±0.02	6.8±0.3
50 mg/kg/日	13±7	260±45	0.06±0.02	7.2±0.2
100 mg/kg/日	12±3	257±39	0.08±0.02	6.8±0.3
200 mg/kg/日	12±7	260±57	0.07±0.00	7.3±0.03 [a]
雌				
溶媒	16±3	230±54	0.07±0.02	6.8±0.3
50 mg/kg/日	13±5	161±27	0.06±0.02	7.1±0.3
100 mg/kg/日	11±2 [a]	176±38	0.08±0.01	7.3±0.2[a]
200 mg/kg/日	15±3	154±29	0.08±0.02	7.6±0.3[b]

GPT：グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
(a) 対照群との間で有意差あり（t 検定、$p<0.05$）
(b) 対照群との間で有意差あり（t 検定、$p<0.01$）
註：表中の値はミダゾラム投与後に測定したときの平均値±標準偏差
出典：Schläppi 1983 [1]

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%[3]を用いると、100 mg/kg の経口投与はヒトにおける 25 mg/kg の静脈内投与に相当する。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、ラットにおける 100 mg/kg の経口投与は、約 34 mg/kg（体表面積換算では約 201 mg/m^2[15]）の頬粘膜投与に相当する。したがって、ラットにおける 100 mg/kg の経口投与は、対象患者集団に予定最高用量約 0.57 mg/kg（体重換算値、体表面積換算値：約 14.3 mg/m^2、小児体重 20 kg を使用[15]）を単回頬粘膜投与するときよりも約 59 倍（体表面積換算では約 14 倍）高い。

堀井らの報告によるミダゾラムのラットにおける 13 週間静脈内投与毒性試験[5]の試験条件及び特記所見を表 2.6.6-6 にまとめる。

表 2.6.6-6　ラットにおける 13 週間静脈内投与毒性試験のまとめ

動物種	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	特記所見
SD ラット（約 5 週齢）	0，2.5、5、10、20	雄：16 雌：16 （5 週間回復性試験の動物雌雄各 6 例を含む）	≥2.5 mg/kg/日：よろめき歩行、自発運動低下、鎮静及び睡眠様状態 ≥5 mg/kg/日：投与部位の炎症性変化 20 mg/kg/日：静脈内投与から変更（局所障害により静脈内投与が困難になったため）した腹腔内投与の際の刺激性におそらく起因する腸管癒着のため雄 2 例及び雌 1 例死亡、体重増加抑制、摂餌量減少、血液学的検査及び血液生化学的検査における変化〔ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均ヘモグロビン濃度（MCHC）及び赤血球数の減少（貧血傾向）、血小板数及び白血球数の増加、ロイシンアミノペプチターゼ、総蛋白及びアルブミンの低下〕、胸腺重量減少及び脾臓重量増加（関連する肉眼及び病理所見なし） 上記変化は 5 週間の休薬後に回復した。

出典：堀井 1985a [5]

ラットにおける一般状態の観察所見はミダゾラムの薬理作用に起因すると考えられた。投与量 20 mg/kg での血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量の変化はミダゾラムの直接的な影響ではなく、投与液を腹腔内に反復投与したときの二次的若しくは手法上の影響と考えられた。

本試験における無毒性量（NOAEL）は 2.5 mg/kg/日とされた。

ラットの曝露量に基づく安全域は以下のように推定される。文献[17]によると、ラットにミダゾラムを 1.0 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの AUC は、360.81±55.09 ng·hr/mL であった。ラット 13 週間静脈内投与毒性試験[5]での NOAEL 2.5 mg/kg における AUC は、線形性と仮定すると 902.025 ng·hr/mL（=360.81×2.5）と推定される。これをヒト頬粘膜投与時における AUC（2.5～10 mg 投与したときの 168～254 ng·hr/mL[18]）と比較して、安全域は約 4～5（=902.025/254～902.025/168）倍と算出される。本計算結果は、ラット 13 週間静脈内反復投与毒性試験での NOAEL におけるミダゾラムの曝露量は推定臨床曝露量を超えることを示しており、ミダゾラムの安全性は評価されたと考えられる。

Schläppi らの報告によるとイヌ 13 週間経口投与毒性試験（1 群当たり雌雄各 3 匹）[1]では、0、5、15 及び 45 mg/kg/日の用量で投与した結果、他のベンゾジアゼピン系薬物と比較して比較的早期に筋弛緩、運動失調及び鎮静状態が観察され、これらの持続時間はより短かった。唯一の特記所見として、45 mg/kg/日群の 6 例中 2 例に形態学的腎臓病変を伴わない顕著な蛋白尿（300 mg/100 mL）及びイヌ特異的な ALP の用量依存的な上昇が認められた。

VERSED シロップの FDA Pharmacology Review によるとイヌ 1 年間経口投与毒性試験[3]では、ミダゾラムを 1、7 及び 45 mg/kg/日の用量で経口投与した結果、体重増加抑制（7 及び 45 mg/kg/日投与群）、持続的な中枢神経系抑制症状（7 及び 45 mg/kg/日群における運動失調、抑うつ、放心状態）、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少（45 mg/kg/日群）、ALP（7 及び 45 mg/kg/日群）及びγ-グルタミルトランスペプチダーゼの上昇（45 mg/kg/日群）、肝肥大（7 及び 45 mg/kg/日群）、肝細胞肥大（7 及び 45 mg/kg/日群）、細胞質の染

色性変化（7 及び 45 mg/kg/日群）、肝細胞内の黄褐色顆粒（7 及び 45 mg/kg/日群）及び細胞質内好酸性封入体（7 及び 45 mg/kg/日群）が観察された。全ての所見は、45 mg/kg/日群の 7 例中 1 例を除き 14 日間休薬後に回復した。1 mg/kg/日群では嘔吐が 26 週間観察された。53 週間投与終了後に退薬症状は観察されなかった。

堀井らの報告によるミダゾラムのイヌにおける 13 週間静脈内反復投与毒性試験[6]の試験条件及び特記所見を表 2.6.6-7 にまとめる。

表 2.6.6-7　イヌにおける 13 週間静脈内反復投与毒性試験のまとめ

動物種	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	特記所見
ビーグル犬（約 15 ヵ月齢）	0、2.5、5、10	雄：4 雌：4 （5 週間の回復性試験動物雌雄各 1 例を含む）	≥2.5 mg/kg/日：後肢脱力、よろめき歩行、自発運動低下、腹臥又は横臥静止状態 ≥5 mg/kg/日：局所刺激性におそらく起因する投与部位（前肢静脈）の炎症性変化、体重増加抑制、ALP 上昇 10 mg/kg/日：血小板数の増加、肝臓重量の増加傾向 上記変化は 5 週間の休薬後に回復した。

出典：堀井 1985b [6]

イヌにおける一般状態の観察所見はミダゾラムの薬理作用に起因すると考えられた。5 及び 10 mg/kg/日の用量で ALP の上昇、10 mg/kg/日の用量で肝臓重量の増加が認められた。これらの変化は休薬により回復し、関連する病理組織学的所見は認められなかったため、重篤とは考えられなかった。ベンゾジアゼピン系薬物をイヌに投与したとき、ALP の上昇及び肝臓重量の増加が報告されている[19]。10 mg/kg/日での血小板数の増加は、薬液の反復投与により引き起こされた投与部位の出血による変化と考えられた。しかし、貧血を示すような所見及び赤血球系への影響は観察されなかった。

本試験における NOAEL は 2.5 mg/kg/日とされた。

イヌの曝露量に基づく安全域は以下のように推定される。文献[20]によると、イヌにミダゾラムを 0.2 mg/kg の用量で静脈内投与したときの AUC は 20.44±3.80 μg·min/mL であった。イヌ 13 週間静脈内反復投与毒性試験[6]での NOAEL 2.5 mg/kg における AUC は、線形性と仮定すると 255.5 μg·min/mL（=20.44×2.5/0.2）と推定される。これを単位変換すると 4258 ng·hr/mL（=255.5×1000/60）となり、ヒト頬粘膜投与時における AUC（2.5～10 mg 投与したとき 168～254 ng·hr/mL[18]）と比較して、安全域は約 17～25（=4258/254～4258/168）倍と算出される。本計算結果は、イヌ 13 週間静脈内反復投与毒性試験での NOAEL におけるミダゾラムの曝露量は推定臨床曝露量を超えることを示しており、ミダゾラムの安全性は評価されたと考えられる。

<u>幼若動物における反復投与毒性試験</u>

[redacted]により 2 週齢の Sprague-Dawley ラット（1 群当たり雌雄各 9 匹）を用いてミダゾラムシロップと媒体シロップとを比較する 2 週間反復強制経口投与毒性試験〔0（溶媒対照）、5 及び 10 mg/kg/日〕が実施された（R8961M-SHP615 [139383]）。詳細な試験条件及び結果を表 2.6.7-3 に示す。

本試験の概要は以下のとおりである。本試験で用いた 5 及び 10 mg/kg/日の用量は、急性毒性試験における 10 mg/kg/日の単回投与で軽微な鎮静作用及び投与後 2、3 時間以内に回復性が認められたことから選択された。若齢ラットの発達期間における 2 週間にわたる長期鎮静の有害作用の可能性のため、より高い用量は設定できなかった。

動物観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検所見、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、本試験では製剤中の不純物に関する ICH ガイドラインに従い、分解物が評価されている。

ミダゾラムシロップを 10 mg/kg/日までの用量で 2 週齢のラットに 2 週間投与したときの忍容性は良好であった。投与に関連した死亡はみられず、体重測定、血液学的検査及び尿検査に変化は認められなかった。病理組織学的に確認された誤投与により、雌ラット 3 例（5 mg/kg/日群で 1 例、10 mg/kg/日群で 2 例）が瀕死状態となったために安楽死させた。CNS 抑制に一致する一般状態の変化が（例：様々な程度の自発運動低下）、全てのミダゾラム投与ラットで観察された（なお、程度の差はあるが自発運動の低下は対照群の数匹でもみられた）。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的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（2.6.6.2）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。

2.6.6.4 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[3]。

2.6.6.5 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。これらの腫瘍の発症機序は不明である。また、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[7]。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

清水らの報告によるミダゾラムのラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験[8]を表2.6.6-8にまとめる。本試験におけるNOAELは、親動物の一般毒性に対して2.5 mg/kg/日未満、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。

表2.6.6-8　ラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験のまとめ

動物種	投与経路	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	投与期間	交配日	帝王切開日
SDラット（雄：6週齢、雌：9週齢）	静脈内	0、2.5、5、10	雄：20 雌：20	雄：交配前9週間及び交配後約5週間 雌：交配前2週間から妊娠7日まで	妊娠0日	妊娠21日
結果の要約： [親動物（一般毒性）] 全群：死亡例なし ≥2.5 mg/kg/日：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）、体重増加抑制、軽度な摂餌量減少 [親動物（交配及び受胎能）] ≥2.5 mg/kg/日：ミダゾラム投与に関連した変化なし [F1] ≥2.5 mg/kg/日：胚致死作用、発育抑制作用及び催奇形性作用なし						

出典：清水 1985b [8]

清水らの報告によるラットにおける胎児の器官形成期投与試験[9]を表2.6.6-9にまとめる。本試験における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。

表2.6.6-9　ラットにおける胎児の器官形成期投与試験のまとめ

動物種	投与経路	投与量（mg/kg/日）	母動物数／群	投与期間	交配日	帝王切開日
SDラット（10週齢）	静脈内	0、2.5、5、10、20	21～24（帝王切開群） 11～13（自然分娩群）	妊娠7～17日	妊娠0日	妊娠21日
結果の要約： [母動物] ≥2.5 mg/kg/日：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 20 mg/kg/日：鎮静、睡眠 [F1（帝王切開群）] 20 mg/kg/日：体重減少及び胸骨の不完全形成／骨化遅延（母動物の体重増加抑制の二次的な影響と考えられた）、胚致死及び催奇形性なし [F1（自然分娩群）] 20 mg/kg/日：体重増加抑制及び歯牙の萌出遅延（発育遅延によると考えられた）						

出典：清水 1985c [9]

塩崎らの報告によるウサギにおける胎児の器官形成期投与試験[11]を表2.6.6-10にまとめる。本試験における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。

表 2.6.6-10　ウサギにおける胎児の器官形成期投与試験のまとめ

動物種	投与経路	投与量（mg/kg/日）	母動物数／群	投与期間	交配日	帝王切開日
日本白色種ウサギ（5.5ヵ月齢）	静脈内	0、1.25、2.5、5	13～16	妊娠6～18日	妊娠0日	妊娠29日
結果の要約： [母動物] 全群：死亡例なし 2.5 mg/kg/日：2例に流産 ≥1.25 mg/kg/日：鎮静、筋弛緩、外的刺激への反応性低下、体重減少、摂餌量減少、帝王切開時の剖検でミダゾラム投与に関連した変化なし [F1] ≥2.5 mg/kg/日：着床数に対する死亡率上昇（特に早期死亡胚数の増加）、発育抑制及び催奇形性作用なし						

出典：塩崎 1985 [11]

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[3][7]。

野田らの報告によるラットにおける周産期及び授乳期投与試験[10]を表 2.6.6-11 にまとめる。本試験における 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。

表 2.6.6-11　ラットにおける周産期及び授乳期投与試験のまとめ

動物種	投与経路	投与量（mg/kg/日）	母動物数／群	投与期間	交配日	同腹児数の調整
SD ラット（10週齢）	静脈内	0、2.5、5、10、20	22～36	妊娠17日～分娩後21日	妊娠0日	4匹/性/腹
結果の要約： [母動物] ≥2.5 mg/kg/日：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、摂餌量減少 5 mg/kg/日：分娩中激しい出血を伴い1例死亡したが、剖検時に肉眼的変化なし（死因は不明であるが、より高用量群では死亡例がみられず、単発的であったことから、ミダゾラム投与との関連は低いと考えられた） ≥5 mg/kg/日：分娩後4日までの哺育期間中、食殺等の哺育行動の異常により、生後4日までのF1生存率が顕著に低下 [F1] 20 mg/kg/日：生後14日以降体重増加抑制、発達及び分化の指標としての眼瞼開裂（生後16日）及び骨化の遅延、感覚機能、情動性、学習能及び生殖能に異常なし						

出典：野田 1985 [10]

2.6.6.7 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 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。

1. SHP615 の物理化学的な刺激性に関連する情報（pH）、他の投与経路で実施された毒性試験における局所刺激性及び当該投与部位と頬粘膜との組織学的類似性を踏まえた SHP615 の頬粘膜に対する影響

SHP615 は有効成分としてミダゾラムを 0.5%濃度で含有し、pH は 3.3 となるように調整される。pH を 3.3 に調整したミダゾラムの 0.5%及び 1.0%溶液、又はミダゾラム製剤（0.5%溶液）をウサギの眼瞼に点眼したときの眼粘膜に及ぼす影響が評価された[12]。本試験条件及び結果を表 2.6.6-12 にまとめる。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。表 2.6.6-12 に示すように、SHP615 の局所刺激性に関して特段の懸念はないと考えられる。

表 2.6.6-12　ウサギにおける眼粘膜刺激性試験のまとめ

動物種	投与経路	性別及び動物数／群	投与群	刺激性評価（所見：発現頻度）
ミダゾラム溶液				
日本白色種ウサギ	点眼	雄：3	0.5%ミダゾラム溶液	実質的に陰性（結膜充血：1/3 例）
			1.0%ミダゾラム溶液	軽微（結膜充血：2/3 例、流涙：2/3 例）
			0.75%酢酸溶液（陽性対照）	軽微（流涙：3/3 例）
			6%酢酸溶液（陽性対照）	重度（角膜混濁：3/3 例、虹彩充血：3/3 例、結膜充血：3/3 例、結膜浮腫：3/3 例、流涙：3/3 例）
			生理食塩液（pH3.3、溶媒対照）	陰性
			生理食塩液（陰性対照）	陰性
ミダゾラム製剤				
日本白色種ウサギ	点眼	雄：3	0.5%ミダゾラム製剤	陰性
			生理食塩液（pH3.3、溶媒対照）	陰性
			生理食塩液（陰性対照）	陰性

出典：磯部 1985 [12]

また、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[1]。ミダゾラムシロップを経口投与した幼若ラットの毒性試験では、40 mg/kg までの用量を単回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 週間投与しても、投与部位である胃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]）。

以上のように、ミダゾラムを SHP615 の予定投与部位（頬粘膜）と組織学的に類似する部位（眼粘膜）又は胃内に投与したときの局所刺激性に関する非臨床データは利用可能であり、以下に示す臨床データと総合して SHP615 の頬粘膜に対する影響は評価可能と考えられる。

2. 臨床試験において認められた頬粘膜刺激に関連する有害事象の発現頻度

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、安全性及び薬物動態を検討した海外第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はMedDRA（SHP615-301試験及びSHP615-302試験：MedDRA/J ver. 20.0、MID001試験：MedDRA/J ver. ■）の基本語、口内炎、口腔内痛及び口腔内潰瘍形成を含めた。

3. ミダゾラムの局所忍容性（頬粘膜刺激性）に関する小児患者の臨床試験データ

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）。

4. ヒトにミダゾラムを頬粘膜、経口、鼻腔内及び直腸内投与した場合の局所毒性

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を比較した前向き無作為化試験（Nakken[21]）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症状の報告はなかった。

Klein[22]は、裂傷治療のために非経口的鎮静を必要とし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た。

表2.6.6-13　治験薬投与の忍容性

項目	投与群		
	経口投与	頬粘膜投与	鼻腔内投与
N	58	59	57
刺激症状 - 全体	9 (16%)	10 (17%)	23 (40%)
咳嗽*	3 (5%)	7 (12%)	14 (24%)
空嘔吐*	7 (12%)	9 (15%)	14 (24%)
咽頭痛*	0 (0%)	1 (2%)	1 (2%)

*：刺激症状は重複することがあり、多くの被験者では2つ以上の刺激症状がみられた。
出典：Klein 2011 [22]

鼻腔内投与に関連する局所刺激性症状として、Haan[23]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[24]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[25]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。

2.6.6.8 その他の毒性試験

薬物乱用

2 ボトル選択試験（表 2.6.6-14）において、4%スクロース又はミダゾラム（0.004 mg/mL）含有 4%スクロースに 6 日間継続して選択摂取可能であったマウスは、ミダゾラム含有ボトルの液体を比較的多く摂取し、ミダゾラムに対する嗜好性があることが示された[13]。脳内自己刺激試験（ICSS）（表 2.6.6-14）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 γ-アミノ酪酸 A（$GABA_A$）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[13]。

表 2.6.6-14　マウスにおけるミダゾラムの薬物乱用を評価する試験条件

動物種／系統	投与方法／経路	投与量	性別及び動物数／群
C57Bl/6J マウス（野生型、α1(H101R)、α2(H101R)及び α3(H126R)）	ミダゾラム含有飲料：ミダゾラムに 6 日間持続的摂取可能 ICSS：腹腔内	ミダゾラム含有飲料：ミダゾラム 0.004 mg/mL 含有 4%スクロース ICSS：1、2 mg/kg	ミダゾラム含有飲料：雄、情報なし ICSS：雄、情報なし

出典：Engin 2014 [13]

薬物弁別法試験（表 2.6.6-15）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[14]。

表 2.6.6-15　サルにおけるミダゾラムの薬物乱用を評価する試験条件

動物種	投与経路	投与量	性別及び動物数／群
アカゲザル	皮下	0.032、0.1、0.32、0.56、1 mg/kg	雄：2 雌：1

出典：Bai 2011 [14]

既承認のドルミカム注射液 10 mg 及びミダフレッサ静注 0.1%との臨床曝露の比較

国内第 3 相試験（SHP615-301 試験）及び海外第 2 相試験（MID001 試験）の小児患者に SHP615 を単回頬粘膜投与したとき、並びにドルミカム注射液 10 mg 及びミダフレッサ静注 0.1%のインタビューフォームに記載されている外国人の小児患者にミダゾラムを静脈内投与（持続静脈内投与を含む）又は筋肉内投与したときのミダゾラムの Cmax 及び AUC を表 2.6.6-16 に示す。

SHP615 2.5～7.5 mg 又は約 0.2 mg/kg を頬粘膜投与したときの AUC は、ミダゾラム 0.15 mg/kg を静脈内投与したときよりも低値を示した。なお、ミダゾラムを頬粘膜投与したときの絶対的バイオアベイラビリティは 74.5%～87%と報告されている（2.7.1.2.2.1）。ミダゾラムを静脈内投与したときのミダゾラムの Cmax に関する情報は、ドルミカム注射液 10 mg 及びミダフレッサ静注 0.1%のインタビューフォームからは得られなかったが、インタビューフォームに記載されているミダゾラムの血中濃度推移から、小児患者にミダゾラム 0.15 mg/kg を静脈内投与したときの Cmax（投与直後の血漿／血清中濃度）は約 200～300 ng/mL と推察される[26][27]。これらの値と比較して、SHP615 2.5～7.5 mg 又は約 0.2 mg/kg を頬粘膜投与したときの Cmax は低値を示した。なお、SHP615 を頬粘膜投与したときの Cmax は同用量のミダゾラムを静脈内投与したときの Cmax の 39%～47%であることが報告されている（2.7.1.2.2.1）。

以上より、ミダゾラムを静脈内又は筋肉内投与したときと比較して、SHP615 を頬粘膜投与したときの Cmax 及び AUC は、低値を示すことが示唆された。したがって、ミダゾラムの全身毒性については、既承認の製剤において一定の評価がなされていると考えられた。

表 2.6.6-16　ミダゾラムを小児患者に頬粘膜又は静脈内投与したときのミダゾラムの Cmax 及び AUC

投与経路	対象患者	投与量	薬物動態パラメータ	
			Cmax (ng/mL)	AUC (ng·hr/mL)
頬粘膜投与	日本人小児（3 ヵ月～<10 歳）	2.5～7.5 mg	78.0 (16.4)	97.45 (43.32)
	外国人小児（3 ヵ月～<18 歳）	約 0.2 mg/kg	67.7 (24.0)	139.82 (70.22)
静脈内投与（持続静脈内投与を含む）	外国人小児（6 ヵ月～<2 歳）	0.15 mg/kg	ND	282 (153)
	外国人小児（2 歳～<12 歳）	0.15 mg/kg	ND	281 (102)
	外国人小児（12 歳～<16 歳）	0.15 mg/kg	ND	294 (122)
	外国人小児（3 歳～10 歳）	0.15 mg/kg	ND	276 (63.4)
筋肉内投与	外国人小児（3 歳～10 歳）	0.15 mg/kg	ND	240 (74.2)

平均値 (SD)、ND：記載なし

出典：表 2.7.2.6-2、ミダフレッサ®静注 0.1%インタビューフォーム[26]、ドルミカム®注射液 10mg インタビューフォーム[27]

2.6.6.9 考察及び結論

ミダゾラムの急性毒性は、小児患者への予定用量よりも高い用量で発現した。ミダゾラムの全身毒性に関して文献／試験の多数のデータが利用可能である。肝毒性は、2 週間から 24 ヵ月間マウス、ラット及びイヌに連日経口投与、若しくはウサギに静脈内投与をしたときに観察された。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。原薬又は申請製剤の頬粘膜送達経路での局所刺激性を評価する非臨床試験は実施していない。しかし、利用可能な非臨床及び臨床情報から口腔粘膜における SHP615 の局所忍容性は裏付けられている。

幼若ラット（2 週齢）における毒性試験において、ミダゾラムシロップを 10 mg/kg/日の用量まで 2 週間反復経口投与したときの忍容性は良好であった。

頬粘膜投与後の全身毒性に関して、ラット及びイヌでの 13 週間静脈内反復投与毒性試験における推定曝露量に基づく安全域は、それぞれ約 4～5 倍及び約 17～25 倍であった。

SHP615 又はミダゾラムを SHP615 の臨床投与部位（頬粘膜）又は組織学的に類似した部位（眼粘膜、経口、経鼻内及び直腸内）に投与した際の非臨床／臨床情報に基づく局所忍容性から、SHP615 の局所刺激性に関して特段の懸念はないと考えられる。

ミダゾラムの薬物乱用試験において、マウスはミダゾラム含有（飲料）溶液に嗜好性を示し、ミダゾラムは脳内自己刺激による報酬効果を増強した。これらの変化は側坐核における $GABA_A$ 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に必要であることが示された。アカゲザルでは、ミダゾラムによる弁別刺激効果が確認された。

幼若動物の所見を検討した試験に加え、ミダゾラムの毒性に関する文献情報等から得られる利用可能なエビデンスを評価した結果、SHP615 の小児患者集団（生後 3 ヵ月以上 18 歳未満）に対する頬粘膜投与に特段の懸念はないと考えられる。

2.6.6.10 図表

本文中に示す。

2.6.6.11 参考文献一覧

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

[2] 清水万律子、堀井郁夫、本間雅裕、高橋実、八木下正行、岡本敏、尾野吉徳、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.

[3] 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.

[4] Centers for Disease Control and Prevention 2003. Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS).

[5] 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.

[6] 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.

[7] AHFS Detailed Monograph: Midazolam Oral. 2010.

[8] 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.

[9] 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.

[10] 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.

[11] 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.

[12] 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.

[13] 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.

[14] 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.

[15] 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.

[16] 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.

[17] Dengle SJ, Pathak SM, Mohan C, Karthik A, Musmade P, Bhat K, Udupa N. Analysis of Midazolam in Small Volumes of Plasma Using High Performance Liquid Chromatography and UV-Detection Method: Pharmacokinetics of Midazolam in Rats. Asian J. Research Chem. 2011;4(3):406-414.

[18] BUCCOLAM 2.5mg oromucosal solution Summary of Product Characteristics Updated 04-Oct-2016. Shire Pharmaceuticals Limited.

[19] 田中寿子、渡辺満利. Benzodiazepine 誘導体の反復投与により起こる形態学的変化の共通性について. 臨床薬理. 1972;3(4):297-299.

[20] 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.

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

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

[23] 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.

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

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

[26] ミダフレッサ®静注 0.1%インタビューフォーム 第 5 版. 2019.

[27] ドルミカム®注射液 10mg インタビューフォーム 第 2 版. 2019.

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：一覧表 3
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表 4
2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧 5
2.6.7.5 単回投与毒性試験 6
2.6.7.6 反復投与毒性試験：用量設定試験 7
2.6.7.7 反復投与毒性試験 8
2.6.7.8 遺伝毒性試験 10
2.6.7.9 がん原性試験 11
2.6.7.10 生殖発生毒性試験 12
2.6.7.11 局所刺激性試験 13
2.6.7.12 その他の毒性試験 14

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Table 2.6.7-1 Overview

被験物質：ミダゾラム

Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance[a]	Testing Facility	Study Number	Report Location
Single Dose Toxicity							
Rat/Crl:CD® BR	Oral (intubation)	Single dose	0, 10, 20, 40, 60	GLP	[redacted]	06827 Report Number: R8962M-SHP615 (138782)	4.2.3.1-4
Repeat-Dose Toxicity							
Rat/Sprague-Dawley	Oral (intubation)	2 weeks	0, 5, 10	GLP	[redacted]	06958 Report Number: R8961M-SHP615 (139383)	4.2.3.2-2

GLP=Good Laboratory Practices

[a] Indicates study includes a GLP compliance statement.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表

該当なし

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表

該当なし

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧

該当なし

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Table 2.6.7-2 Single-Dose Toxicity

被験物質：ミダゾラム

Test System	Method of Administration	Vehicle/Formulation	Dose (mg/kg)/ Dose Volume (mL/kg)	Gender/ Number per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose	Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/Crl:CD® BR (2 weeks old)	Oral (intubation)	Ro 21-3981/000 (de novo), sorbitol solution (70% w/w), glycerin, disodium edetate, sodium benzoate, sodium saccharin, anhydrous citric acid, sodium citrate, D&C Red #33, artificial cough syrup flavor, Tutti-Frutti flavor #134813, artificial bitterness modifier, hydrochloric acid/sodium hydroxide 20% solution qs to pH 3.3, purified water (qs to 100 mL)	0, 10, 20, 40, 60/ 30, 5, 10, 20, 30	5M/5F	40 mg/kg (20 mL/kg)	60 mg/kg (30 mL/kg)	Mortality occurred at the higher dose volume of 30 mL/kg, corresponding to the high dose of 60 mg/kg, in both midazolam-treated and vehicle treated groups. The cause of death was considered to be dehydration. Surviving rats recovered 1 to 2 days postdose. Clinical observations consistent with CNS depression were observed in all midazolam-treated rats and severity increased with increasing dose. Rats in the 10, 20, and 40 mg/kg dose groups recovered 1 day postdose. There was a slight decrease in body weight gain in the 60 mg/kg midazolam and vehicle dose groups.	06827 Report No. R8962M-SHP615 (138782)

CNS=central nervous system; F=female; M=male; w/w=% weight per weight

2.6.7.6 反復投与毒性試験：用量設定試験

該当なし

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7A 反復投与毒性試験

Table 2.6.7-3 Repeat Dose Toxicity

被験物質：ミダゾラム

Study Title: Midazolam Syrup (Ro 21-3981): A Two-Week Oral (Intubation) Toxicity Study in Two-Week Old Rats (Study No. 06958)							**Study Number:** 06958 **Report Number:** R8961M-SHP615 (139383)			
Test System: Rat/Sprague-Dawley	**Doses:** 0, 5, 10 mg/kg/day		**GLP Compliance:** GLP							
Initial Age: 2 weeks	**Duration of Dosing:** 2 weeks		**Testing Facility:** [redacted]							
Date of First Dose: [redacted] 19[redacted]	**Method of Administration:** Oral (intubation)									
Duration of Recovery: None	**Dose Volume:** 2.5 to 5 mL/kg									
Vehicle/Formulation: Ro 21-3981/000 (de novo), sorbitol solution (70% w/w), glycerin, disodium edetate, sodium benzoate, sodium saccharin, anhydrous citric acid, sodium citrate, D&C Red #33, artificial cough syrup flavor, artificial bitterness modifier, hydrochloric acid, purified water (qs to 100 mL)										
Special Features: Comparison of degraded versus nondegraded material.										
Dose (mg/kg/day)	**0**		**5 (Degraded)**		**10 (Degraded)**		**5 (Nondegraded)**		**10 (Nondegraded)**	
Number of Animals/Gender	9M	9F	9M	9F	9M	9F	9M	9F	9M	9F
Died or Sacrificed	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
Body Weights (%)[a]										
Study Day 0	43.3 g	39.4 g	101.2	106.1	95.4	102.5	96.5	104.3	98.8	102.5
Study Day 14	101.1 g	89.7 g	106.6	106.9	99.7	104.7	103.8	108.7*	103.0	98.0
Body Weight Gain (g)										
Study Day 0 to Study Day 14	57.8	50.2	64.0	54.1	59.4	53.4	63.1	55.5*	61.3	47.3
Clinical Observations										
Decreased Motor Activity	None to Slight		Slight, Moderate, and Marked		Slight, Moderate, and Marked		Slight, Moderate, Marked and Severe[b]		Slight, Moderate, Marked and Severe[c]	
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry										
Study Day 15										
Cholesterol (mg/dL)	99	109	112*	118	109	122	111*	119	104	122
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 2.6.7-3 Repeat Dose Toxicity (Continued)

被験物質：ミダゾラム

Study Title: Midazolam Syrup (Ro 21-3981): A Two-Week Oral (Intubation) Toxicity Study in Two-Week Old Rats (Study No. 06958)							**Study Number:** 06958 **Report Number:** R8961M-SHP615 (139383)			
Dose (mg/kg/day)	**0**		**5 (Degraded)**		**10 (Degraded)**		**5 (Nondegraded)**		**10 (Nondegraded)**	
Number of Animals/Gender	9M	9F	9M	9F	9M	9F	9M	9F	9M	9F
Organ Weight										
Brain										
Absolute Weight (g)	1.563	1.430	1.562	1.476	1.449*	1.438	1.566	1.461	1.533	1.413
Brain to Body Weight (%)	1.500	1.543	1.408	1.484	1.382	1.463	1.409	1.451	1.406	1.549
Liver										
Absolute Weight (g)	4.587	4.137	5.057	4.464	5.107	4.738	4.974	4.570*	5.232*	4.314
Liver to Body Weight (%)	4.366	4.460	4.534	4.469	4.840	4.808	4.475	4.519	4.765*	4.724*
Macroscopic Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology[d,e]										
Brain										
Osseous Metaplasia	2	1	1	1	-	1	2	1	1	-
Ectopic Tissue	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Liver										
Inflammation Chronic	2	-	-	-	-	-	-	-	2	-
Necrosis/Unicellular	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vacuolar Change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Erythropoiesis	7	9	8	9	9	8	7	7	9	5
Granulopoiesis	3	5	2	1	-	2	1	4	2	3

* $p<0.05$; F=female; GLP=Good Laboratory Practices; M=male; w/w=% weight per weight

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[b] Animal #81 was hunched, weak, cool to the touch, displayed head tilt, and was eventually sacrificed moribund.

[c] Animal #89 and #90 were weak, cool to the touch, and were eventually sacrificed moribund.

[d] Evaluation of the reproductive tissues demonstrated that males were sexually immature.

[e] Histopathological findings were not considered to be treatment related.

2.6.7.8 遺伝毒性試験

2.6.4 項に示す。

2.6.7.9 がん原性試験

2.6.6.5 項に示す。

2.6.7.10 生殖発生毒性試験

2.6.6.6 項に示す。

2.6.7.11 局所刺激性試験

2.6.6.7 項に示す。

2.6.7.12 その他の毒性試験

2.6.6.8 項に示す。