目次

1. 非臨床試験計画概略 6
1.1 ブリーバラセタムの非臨床開発プログラム 6
1.2 動物種及び試験モデル 7
1.3 試験物質 7
1.4 投与経路及び頻度 8
2. 薬理試験 8
2.1 効力を裏付ける試験 8
2.1.1 薬物スクリーニングのための急性発作試験 9
2.1.2 化学物質誘発けいれん発作 9
2.1.3 部分発作 9
2.1.4 全般発作 10
2.1.5 てんかん重積状態 10
2.1.6 抗てんかん原性作用 10
2.1.7 代謝物の発作抑制作用 10
2.1.8 作用機序 11
2.1.8.1 シナプス小胞たん白質 2A 11
2.1.8.2 電位依存性イオンチャネル 11
2.1.8.3 興奮性及び抑制性受容体 12
2.1.8.4 代謝物 ucb-107092-1 の *in vitro* プロファイル 12
2.2 副次的薬理 12
2.3 安全性薬理 12
2.3.1 CNS 安全性薬理試験 13
2.3.2 循環器系安全性薬理試験 14
2.3.2.1 *In vitro* 試験 14
2.3.2.2 *In vivo* 試験 14
2.3.3 呼吸器系安全性薬理試験 15
2.3.4 消化器系安全性薬理試験 15
2.3.5 ヒト代謝物の影響 15
2.3.5.1 CNS 安全性薬理プロファイル 15
2.3.5.2 循環器系安全性薬理プロファイル 15
2.3.5.3 呼吸器系安全性薬理プロファイル 16
2.3.5.4 消化器系安全性薬理プロファイル 16
2.3.6 不純物の影響 16
2.4 薬理学的薬物相互作用 16
3. 薬物動態 16
3.1 緒言 16
3.2 吸収及び血漿中薬物動態 17
3.3 分布 18
3.4 代謝 18
3.5 排泄 21
3.6 薬物動態学的薬物相互作用 21
4. 毒性試験 23

4.1 単回投与毒性試験 24
4.2 反復投与毒性試験 25
4.2.1 ラット 25
4.2.2 イヌ 26
4.2.3 サル 27
4.2.4 イヌの肝臓所見についての考察 28
4.3 遺伝毒性 29
4.4 がん原性 29
4.4.1 マウス 30
4.4.2 ラット 30
4.5 生殖毒性 31
4.5.1 幼若動物試験 32
4.5.1.1 幼若ラット 32
4.5.1.2 幼若イヌ 33
4.6 局所刺激性 33
4.7 その他の毒性試験 34
4.7.1 機序解明試験 34
4.7.2 依存性試験 34
4.7.3 光毒性 35
4.7.4 代謝物の評価 35
4.7.5 不純物及び分解生成物の評価 36
4.7.6 不活性成分 37
4.7.7 全身曝露量 37
5. 総括及び結論 38
6. 参考文献 41

表

表 2-1 実施されたブリーバラセタムの非臨床安全性薬理試験の概要 13
表 3-1 ブリーバラセタムの主要な薬物動態学的パラメータ 17
表 3-2 薬理作用のある用量を単回経口投与した後に尿中から最も多く回収されたブリーバラセタム代謝物（雄/雌における回収量の割合［%］） 20
表 4-1 ブリーバラセタムの主要な試験の概要 24
表 4-2 ヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の毒性試験 35
表 4-3 主要な試験におけるブリーバラセタムの安全域 37
表 4-4 主要な試験における ucb-107092-1 の安全域 37

図

図 1-1 ブリーバラセタムの化学構造 6
図 3-1 代謝経路 19

略語及び名称一覧表

略語（略称）	内容	
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AED	anti-epileptic drug	抗てんかん薬
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AMPA	α-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate hydrobromide	α-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチルイソオキサゾール-4-プロピオン酸臭化水素酸塩
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the curve from 0 to 24h	投与 0～24 時間後の曲線下面積
$AUC_{0\text{-}inf}$	area under the curve from 0 to infinity	投与 0～無限大時間後の曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the plasma concentration-time curve, from 0 to time t	投与 0 時間～時間 t までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティ
BBB	Blood-brain-barrier	血液脳関門
BCRP	breast cancer resistance protein	乳がん耐性たん白質
bid	twice daily	1 日 2 回
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
CDP	chlordiazepoxide	クロルジアゼポキシド
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CL	total body clearance	全身クリアランス
CL/F	total body clearance/fraction of dose available	全身クリアランス/血中移行した投与量
CL_{ss}	total body clearance at steady state	定常状態での全身クリアランス
C_{max}	maximum concentration	最高血漿中濃度
C_{min}	minimum concentration	最低血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DMCM	methyl-6,7-dimethoxy-4-ethyl-β-carboline-3-carboxylate	6,7 -ジメトキシ-4-エチル-β-カルボリン-3-カルボン酸メチル
ECG	electrocardiography	心電図
ED	effective dose	有効量
ED_{50}	dose inducing seizure protection against clonic convulsions in 50% of the animals	動物の 50%で間代性けいれんに対する発作予防効果を誘導する用量
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
F	oral bioavailibity	経口バイオアベイラビリティ
F	female	雌
F_0	parental generation	親世代
F_1	first generation	第一世代
GABA	gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
GABAA	gamma-aminobutyric acid type A	γ-アミノ酪酸 A 型
GAERS	genetic absence epilepsy rats from Strasbourg	ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット
GEF	global evaluation factor	総合的評価ファクター
GGT	gamma glutamyl transferase	ガンマグルタミルトランスフェラーゼ

略語（略称）	内容	
GLDH	glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
GLP	good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
hCav1.2	human voltage-gated calcium channel Ca(v) 1.2	ヒト電位依存性カルシウムチャネル Ca(v) 1.2
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
hNav1.5	human voltage-gated sodium channel type V	ヒト電位依存性ナトリウムチャネル V 型
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
Hz	Hertz	ヘルツ
IC_{50}	concentration of inhibitor causing 50% of maximal inhibition	最大阻害作用の 50%を引き起こす阻害薬濃度
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
ip	intraperitoneal	腹腔内
iPSP	initial Pediatric Study Plan	－
iv	intravenous	静脈内
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
M	male	雄
MRHD	maximum recommended human dose	最高臨床推奨用量
MRP	multi drug-resistant protein	多剤耐性たん白質
MS	mass spectrometry	質量分析
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
N-AlkylPP	*N*-alkyl protoporphyrin IX	*N*-アルキルプロトポルフィリン IX
NC	not calculated	算出せず
ND	no determined	測定せず
NMDA	N-methyl-D-aspartate	N-メチル-D-アスパラギン酸
NMT	no more than	以下
NOAEL	no-observed-adverse-effect-level	無毒性量
NOEL	no-observed-effect-level	無影響量
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporter protein	有機アニオントランスポーターたん白質
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein	P 糖たん白
pIC_{50}	log of the concentration causing 50% inhibition	50%阻害濃度の対数
PK	pharmacokinetic	薬物動態
PND	post-natal day	生後日数
po	oral	経口
POS	partial-onset seizures	部分発作
QT	QT interval	QT 間隔
QTc	QT interval corrected for heart rate	心拍数で補正した QT 間隔
SD	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley
SDH	sorbitol dehydrogenase	ソルビトールデヒドロゲナーゼ
SER	smooth endoplasmic reticulum	滑面小胞体
SV2A	Synaptic Vesicle Protein 2A	シナプス小胞たん白質 2A

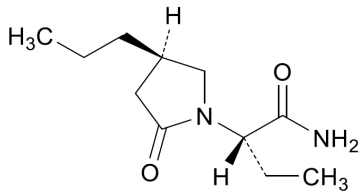
略語（略称）	内容	
$t_{1/2}$	terminal elimination half life	終末相消失半減期
tid	three time daily	1 日 3 回
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
t_{max}	time to reach maximal concentration	最高濃度到達時間
UGT	uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン 5'-ジホスホ-グルクロノシルトランスフェラーゼ
V_z	volume of distribution during terminal phase	終末相分布容積

非臨床試験の概要

1.　非臨床試験計画概略

ブリーバラセタム（別名 ucb 34714）は、分子量 212.29 の 2-ピロリドン誘導体(2*S*)-2-[(4*R*)-2-オキソ-4-プロピルピロリジン-1-イル]ブタンアミドである。ブリーバラセタムは中枢神経系（CNS）に作用する物質で、UCB Pharma S.A.により部分発作の併用療法として開発された。経口投与をヒトの主要投与経路とする予定である。静脈内投与は、一時的に経口投与ができない患者のための代替投与経路である。ブリーバラセタムは後にシナプス小胞たん白質 2A（SV2A）として同定されたレベチラセタム結合部位に対する選択的かつ高親和性のリガンドを見出す目的で、UCB Pharma S.A.の創薬プログラムにおいて合成された。

図 1-1　ブリーバラセタムの化学構造



1.1　ブリーバラセタムの非臨床開発プログラム

ブリーバラセタムの経口及び静脈内投与による長期使用を目的とした非臨床開発プログラムは、ICH ガイドライン ICH M3(R2)(2010)に従い実施された。

ブリーバラセタムの血漿中濃度の測定を含む、すべての主要な安全性薬理試験及び毒性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）に準拠して実施された。少数の初期に実施された非主要毒性試験は、非 GLP 試験であった。各試験の GLP 適合状況は M2.6.6 表 1-1（毒性試験プログラム）及び M2.6.2 表 4-1（安全性薬理試験の一覧）に記載した。

ブリーバラセタムの主薬理作用は、多くのげっ歯類の発作モデル及びてんかんモデルで評価されている。これらには、急性電気ショックによる発作や化学的けいれん発作の動物モデル、部分発作のキンドリングモデル、及び全般発作の遺伝モデルが含まれる。ミオクローヌス及びてんかん重積状態に対するブリーバラセタムの効果も評価したほか、キンドリングの形成を抑制することによる抗てんかん原性の可能性についても評価した。

いくつかの作用機序試験で、SV2A に対するブリーバラセタムの *in vitro* での親和性及び *in vivo* での結合特性を評価した。この標的に対する結合選択性は、様々な受容体、取り込み系、及びイオンチャネルに特異的な放射性リガンドを用いて試験した。これを補完するため、様々な電位依存性イオンチャネル電流及びリガンド依存性受容体電流に対するブリーバラセタムの影響を評価する電気生理学的試験も実施した。

副次的薬理試験では、てんかん以外の薬理モデルも評価した。これらのモデルは、疼痛、本態性振戦、躁病及び片頭痛の動物モデルを含む。

安全性薬理については、中枢神経系、循環器系及び呼吸器系への影響、並びに消化器系への影響を評価した。

ブリーバラセタムの吸収、分布、代謝及び排泄並びに薬物相互作用の可能性を評価するため、*in vitro* 及び *in vivo* 薬物動態試験を実施した。トキシコキネティクスデータは、毒性試験中に取得した。トキシコキネティクスデータの概要は、M2.6.7.3 に記載した。

単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、機序解明毒性試験、局所刺激性試験、薬物乱用及び依存性試験等の主要な毒性試験が実施された。また、幼若動物を用いた毒性試験も実施された。今回の申請の範囲に小児は含まれないが、これらの試験で得られたデータは含まれている。

算出されたブリーバラセタムの安全域を、表 4-3 に示す。これらは、主要な非臨床安全性試験における血漿中曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）、及び最高臨床推奨用量（MRHD）でのヒトにおける曝露量を考慮して算出された。非臨床試験の結果を比較するために使用したブリーバラセタムの MRHD である 100 mg の 1 日 2 回（200 mg/日）投与時の参考血漿中濃度に関する詳細は、M2.7.2.2.2.2 及び M2.7.2.2.2.3 に記載した。非臨床開発全体を通して、200 mg を単回投与したときの $AUC_{0\text{-}inf}$（63 µg･h/mL、試験番号 N01109）を参考にしたが、本申請に使用する全データの再検討結果に基づき、ヒトには 1 日 2 回の投与計画を選択していることから、安全域は 100 mg を 1 日 2 回、2 週間投与したときの曝露量データ（200 mg/日、C_{max} 3.5 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t}$ 28 µg･h/mL 又は $AUC_{0\text{-}24h}$ 56 µg･h/mL、試験番号 N01067）を用いて算出している。

1.2　動物種及び試験モデル

効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験は、マウス、ラット及び *in vitro* で実施した。安全性薬理試験は、マウス、ラット、イヌ、又は確立された *in vitro* モデルで実施した。依存性は、ラットを用いて *in vivo* で評価した。ラット、イヌ及びサルを主要動物種として、毒性試験プログラムを実施した。マウス及びラットを用いて、がん原性試験を実施した。ラット及びウサギを用いて、生殖発生毒性を評価した。

ラット及びイヌを毒性試験プログラムの主要動物種として選択した理由は、第一に、*in vitro* 及び *in vivo* の代謝及び薬物動態試験で、これらの動物種がヒトの主要な代謝物（ヒドロキシ代謝物 ucb-100406-1、酸代謝物 ucb 42145、ヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1）に曝露し、なおかつヒト特有の代謝物がないことが示されたためである。第二に、薬理試験では、マウス及びラットでブリーバラセタムの主薬理作用が示されたことによる。イヌにおいて肝臓所見が認められた後、他の非げっ歯類における同様な肝臓所見の発現をさらに評価するため、サルを用いた毒性試験も実施した。局所刺激性試験は、この試験に適した動物種であると考えられるウサギを用いて実施した。

1.3　試験物質

非臨床試験は、ブリーバラセタム原薬を用いて実施した。また、重度の腎機能障害を有する被験者（試験番号 N01109）で観察された濃度のヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の非臨床安全性データが十分に得られていなかったため、本代謝物の毒性についても、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験及び生殖毒性試験で評価した（表 4-4）。

非臨床試験で使用されたブリーバラセタムの原薬ロットは、M3.2.S.2.2 及び M3.2.S.2.6 に記載された合成経路で製造された。これらのほとんどのロットで、ucb 34713（ブリーバラセタムのジアステレオマー）濃度は 2%未満であった。実生産スケールのブリーバラセタムの製造では、ucb 34713 濃度が最大で 2.5%になることが判明した。そのため、ucb 34713 の一般毒性及び遺伝毒性を

追加評価した。M3.2.S.4.1 に記載したブリーバラセタムの申請規格では、ucb 34713 含量の規格値は 2.5%以下である。主要な非臨床試験（M2.6.7.4）で使用されたブリーバラセタムロットの他の不純物のレベルは、ブリーバラセタムの臨床試験用及び実生産ロットと同等であった。

ADME 試験では、代謝的に安定な位置に標識された[^{14}C]-ブリーバラセタムを使用した。放射性標識された被験物質の放射化学的及び化学的純度は 97%以上であった。

1.4 投与経路及び頻度

ほとんどの試験では、ヒトでの主な投与経路として予定されている経口投与を選択した。ブリーバラセタムをマウス、ラット、イヌ及びサルに強制経口投与した。被験物質の曝露を 24 時間にわたり確実に維持するため、ほとんどの毒性試験ではブリーバラセタムを 1 日 2 回又は 3 回投与し、26 週間の主要なラット毒性試験及びマウスとラットを用いたがん原性試験は、1 日 2 回の経口投与と混餌投与の併用で行った。非臨床試験におけるこれらの投与計画により、ヒトでの 1 日 2 回投与の根拠が得られた。

また、初期治療又は経口投与が一時的に不可能な患者への代替治療として静脈内投与液を開発するため、ラット及びイヌにブリーバラセタムを最長 4 週間静脈内投与した。

In vivo 薬理試験では、ブリーバラセタムを腹腔内投与したのに対し、*in vivo* 安全性薬理試験では、ブリーバラセタムを腹腔内、静脈内又は経口投与した。

ヒドロキシ酸代謝物である ucb-107092-1 を用いた安全性薬理試験及び毒性試験では、ucb-107092-1 の経口バイオアベイラビリティが比較的低く（ラットでは 20%未満）、腎障害患者における PK プロファイルは C_{max} と C_{min} が同程度な比較的平坦で一定の曝露量を特徴とするため、持続点滴静注を投与経路として選択した。

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

ブリーバラセタムの主薬理作用は、発作及びてんかんの幅広い *in vitro* 及び *in vivo* モデルで評価された。これには、電気的及び化学的にけいれんを誘発したげっ歯類の急性発作モデルにおける発作抑制効果が含まれる。部分発作に対する発作抑制効果は、6 Hz モデル、並びに角膜及び扁桃核キンドリングにより誘発された焦点性発作を呈する後天性てんかんのキンドリングモデルで評価した。さらに、薬剤抵抗性てんかんの 6 Hz キンドリングマウスモデル及び薬フェニトイン耐性扁桃核キンドリングマウスモデルでも、発作抑制効果を評価した。自発性棘徐波発射を特徴とする遺伝性てんかんラット及び音感受性を示すマウスを用いて、全般発作抑制効果を評価した。最後に、低酸素後ミオクローヌスのラットモデルでミオクローヌス抑制効果を、自己持続性てんかん重積状態のラットモデルでてんかん重積状態抑制効果を評価した。

観察されたブリーバラセタムによる発作抑制効果がどの程度ブリーバラセタムの未変化体又は主要代謝物のうちの 1 つによるものであるかを確認するため、音感受性マウス及び扁桃核キンドリング完成ラットで誘発された発作、並びにマウスで最大電気ショック及びペンチレンテトラゾールのボーラス投与により誘発された発作に対する抑制効果についてそれらの物質を比較評価した。

急性症候性発作を軽減する効果ばかりでなく、新規抗てんかん薬が疾患のどの過程に作用するかを探求することも有益である。そのため、角膜キンドリングマウスモデルでのキンドリング完成過程に対するブリーバラセタムの抗てんかん原性作用の可能性を評価した。

ブリーバラセタムの作用機序の解明を目的として、いくつかの試験を実施した。様々な既知の及び推定される薬剤標的部位、並びにラット及びヒトのシナプス小胞たん白質 2A（SV2A）に対するブリーバラセタムの *in vitro* での親和性を評価した。さらに、いくつかの電気生理学的 *in vitro* 試験では、電位依存性 Na^+、Ca^{2+}及び K^+チャネル電流、興奮性の NMDA、カイニン酸及び AMPA 電流、並びに抑制性の GABA 及びグリシン電流を修飾するブリーバラセタムの能力を評価した。

ヒトでの用量に相当する用量のブリーバラセタムで処理すると、部分発作及び全般発作の両方の抑制及びキンドリングの形成が阻害されたことによるてんかん原性抑制作用の可能性が示された。このことは、ブリーバラセタムがヒトのてんかん発作を幅広く抑制することを裏付けている。代謝物の試験では強い抗けいれん作用は認められないため、ブリーバラセタムの薬理作用は未変化体によるものと考えられる。主要作用機序は SV2A との高い結合親和性によるものである。

2.1.1　薬物スクリーニングのための急性発作試験

げっ歯類における最大電気ショック又はペンチレンテトラゾールのボーラス投与により誘発される急性発作は、数十年来、新規抗てんかん薬の探索に使用されている 2 種類のスクリーニング試験である。マウスに高用量のブリーバラセタムを投与した場合のみ、抑制効果の ED_{50} 値（両モデルでそれぞれ 113 及び 30 mg/kg、腹腔内）が得られた（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）。

2.1.2　化学物質誘発けいれん発作

神経伝達物質受容体及び電位依存性イオンチャネルの活性を修飾する様々なけいれん誘発物質を用いて、マウスの化学物質誘発けいれん発作に対するブリーバラセタムの抑制作用を評価した。6,7-ジメトキシ-4-エチル-β-カルボリン-3-カルボン酸メチル（DMCM）（30 mg/kg、腹腔内）、3-メルカプトプロピオン酸（254 mg/kg、腹腔内）、NMDA（76 mg/kg、腹腔内）、カイニン酸（89 mg/kg、腹腔内）、AMPA（42 mg/kg、腹腔内）で誘発された発作に対する抑制効果の ED_{50} 値（カッコ内数値）が高用量投与により得られた（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）。

2.1.3　部分発作

ブリーバラセタムは、電気刺激やけいれん誘発物質によって誘発されるマウスの急性発作を高用量の投与でのみ抑制するが、げっ歯類の焦点性発作に対して有意かつ強力な抑制効果を示す。6 Hz キンドリング完成マウス（M2.6.3.2.2、CNS13001）及び角膜キンドリングマウス（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）の二次性全般化発作に対し、ブリーバラセタムの腹腔内投与による抑制効果の ED_{50} 値はそれぞれ 3.5 及び 1.2 mg/kg であった。扁桃核キンドリング完成ラットでは、ブリーバラセタムの投与により、用量 0.68 mg/kg ip 以上で後発射閾値電流及び全般発作閾値電流が有意に上昇し（M2.6.3.2.2、RRLE01E3002）、閾値を超える刺激により誘発される二次性全般化発作の発現に対する抑制効果の ED_{50} 値、44 mg/kg（腹腔内）が得られた（M2.6.3.2.2、RRLE01E0702）。さらに、6 Hz で誘発されたマウスの急性部分発作（M2.6.3.2.2、RRLE08H1901）、及び扁桃核キンドリング完成マウスのフェニトイン抵抗性二次性全般化発作

（M2.6.3.2.2、CNS09004）に対しても抑制効果の ED_{50} 値、それぞれ 4.4 mg/kg（腹腔内）及び 68 mg/kg（腹腔内）が得られた。

2.1.4　全般発作

いくつかの抗てんかん薬の抗けいれん作用は、特定の発作型に限定され、他の発作型を悪化させる場合さえある。そのため、部分発作以外を抑制するブリーバラセタムの効果を、2 種類の遺伝性全般発作のモデルを用いて評価した。ブリーバラセタムは幅広い作用を示し、ストラスブール遺伝性欠神てんかんラット（GAERS）において、用量 6.8 mg/kg 以上（腹腔内）で自発性棘徐波発射を有意に抑制し（M2.6.3.2.2、RRLE01F0602）、音感受性マウスにおいて、間代性けいれん抑制効果の ED_{50} 値、2.4 mg/kg（腹腔内）を示した（M2.6.3.2.2、RRLE01E0701）。これらの所見に加え、ブリーバラセタムは低酸素後ミオクローヌスのラットモデルにおいて、用量 0.3 mg/kg（腹腔内）以上でミオクローヌス及び発作スコアを有意に減少させた（M2.6.3.2.2、RRLE05J1201）。

2.1.5　てんかん重積状態

自己持続性てんかん重積状態のラットモデルを用いたブリーバラセタムの試験では、ブリーバラセタムの単剤投与試験（10～300 mg/kg）及びジアゼパム（1 mg/kg）との併用投与試験（0.3～10 mg/kg）により、自己持続性てんかん重積状態の持続時間が短縮され、ブリーバラセタムはジアゼパムの効果を顕著に増強した（M2.6.3.2.2、RRLE01L0601 及び M2.6.3.2.2、RRLE08B1107）。

2.1.6　抗てんかん原性作用

ブリーバラセタムの発作抑制作用を評価することに加え、ブリーバラセタムによりてんかんの発現を予防する又は遅延させることが可能かどうかを確認することも有益である。その際、最初はけいれんを誘発しない程度の刺激を長期間与えることで、次第に全般発作を発現する慢性的状態に移行させるキンドリングは、てんかん原性の実験モデルの 1 つとなる。角膜キンドリング形成中のマウスにブリーバラセタムを長期間毎日投与したところ、有意かつ用量依存的な（0.21～6.8 mg/kg、腹腔内）キンドリング形成遅延効果が示された（M2.6.3.2.2、RRLE01E3003）。この効果は投与終了後も持続し、抗てんかん原性作用を示唆した。

2.1.7　代謝物の発作抑制作用

ブリーバラセタムの主要な代謝物について、音感受性マウスで誘発された発作に対する抑制作用を評価した（M2.6.3.2.2、RRLE01F2201）。また、音感受性マウスで誘発された発作（M2.6.3.2.2、RRLE05E2306）並びに最大電気ショックとペンチレンテトラゾールのボーラス投与により誘発した発作及び扁桃核キンドリング完成ラットでの発作（M2.6.3.2.2、RRLE07C3019）に対するヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の発作抑制作用も評価した。微量の代謝物であるケトン代謝物 ucb 47074 のみが弱い抗けいれん作用を示し、その効果はブリーバラセタムの約 20 分の 1 であったことから、ブリーバラセタムにみられる主薬理作用は未変化体によるものであると結論付けられた。

2.1.8　作用機序

2.1.8.1　シナプス小胞たん白質 2A

ブリーバラセタムの主要な作用機序は、シナプス小胞たん白質 2A（SV2A）に対するブリーバラセタムの高い親和性（ラット型及びヒト型に対する pIC_{50} 値＝7.1 及び 7.0）に関係していると考えられる（M2.6.3.2.1、RRLE07L0605）。

レベチラセタムの(*S*)-立体異性体の同族体について、SV2A への親和性と発作抑制効果との相関を示した試験により、てんかんに対する本標的の妥当性が以前に確認されている（Lynch et al, 2004）。さらに、SV2A 欠損マウスでは、レベチラセタムの発作抑制効果が著しく低下することも確認されている（Kaminski et al, 2010）。

抗けいれん効果を得られる用量のブリーバラセタムをマウスに全身投与すると、中枢 SV2A をブリーバラセタムが十分量占有することが示され（M2.6.3.2.1、CNS11024）、ブリーバラセタムの発作抑制作用への SV2A の関与が裏付けられた。一方、ブリーバラセタム（10 µmol/L）は様々な受容体、取り込み系及びイオンチャネルに特異的な 50 種類の異なる放射性リガンドの結合をいずれも 50%超阻害しなかったことから、SV2A に対するブリーバラセタムの結合は選択的であると考えられる（M2.6.3.2.1、RRLE01E1509）。

2.1.8.2　電位依存性イオンチャネル

いくつかの抗てんかん薬の作用機序には、急速な電位依存性 Na^+電流の阻害が関与している。膜電流を記録する最初のパッチクランプ試験では、ブリーバラセタムが培養ラット皮質神経細胞で記録された電位依存性 Na^+電流を濃度依存的に阻害することが示された（IC_{50} 値＝7 µmol/L、最大阻害率は 30 µmol/L で 65%）（M2.6.3.2.1、RRLE03F2702）。その後の培養神経芽腫細胞を用いたパッチクランプ試験では、不活性化状態から活性化状態に移行する際の Na^+電流に対する弱い抑制作用と、急速な Na^+電流に対する弱い頻度依存性の遮断作用のみが認められた（M2.6.3.2.1、CNS10032）。胚性ラット初代培養皮質神経細胞においても、ブリーバラセタムは Na^+電流を抑制したが、抑制率は最大で 22%であり、持続的連続発火には影響を与えなかった（M2.6.3.2.1、CNS13005）。また、別のパッチクランプ試験でブリーバラセタムは、ピロカルピンを投与されたてんかんマウスの嗅内皮質のスライスから得られた神経細胞の急速な Na^+電流に影響を及ぼさないことが示された（M2.6.3.2.1、CNS13004）。後者の試験でも、試験した神経細胞の持続的連続発火にブリーバラセタムが影響を与えないことが示された。また、成体マウスの CA1 錐体神経細胞においても、ブリーバラセタムが Na^+電流及び持続的連続発火に影響を与えないことが示された（M2.6.3.2.1、CNS13006）。最後に、ラット海馬スライスを用いたパッチクランプ試験では、ブリーバラセタムが持続性 Na^+電流に影響を与えないことが示された（M2.6.3.2.1、RRLE04D0703）。これらの知見を総合すると、急速な及び持続的 Na^+電流に対するブリーバラセタムの影響の一貫性及び大きさは、臨床的に意義があると判断するには不十分であることが示唆された。

ラットの海馬及び後根神経節から急速摘出した神経細胞の膜電流を記録するパッチクランプ試験では、ブリーバラセタムがそれぞれ高閾値及び低閾値 Ca^{2+}電流に影響を与えないことが示され（M2.6.3.2.1、RRLE03G0701）、培養マウス海馬神経細胞を用いたパッチクランプ試験でも、ブリーバラセタムが電位依存性 K^+電流に影響を与えないことが示された（M2.6.3.2.1、RRLE02G0304）。

2.1.8.3　興奮性及び抑制性受容体

いくつかの抗てんかん薬の作用機序には、GABA 受容体を介した抑制の促進が関与しており、また、イオンチャネル型グルタミン酸受容体の拮抗も関与している場合がある。培養海馬ニューロンの膜電流を記録するパッチクランプ試験で、ブリーバラセタム（最高濃度 300 µmol/L まで）は、抑制性アミノ酸である GABA 及びグリシンにより誘発される電流を修飾しなかったが、亜鉛及び DMCM により誘発されるこれらの電流の抑制を回復させた（M2.6.3.2.1、RRLE04B1601）。後者の所見の臨床的意義は、いまだに不明である。ブリーバラセタムは、興奮性アミノ酸であるカイニン酸又は AMPA により誘発される電流も修飾しなかったが、NMDA により誘発される電流を濃度 100 µmol/L 以上で有意に抑制し、300 µmol/L では最大の抑制率 34%を示した（M2.6.3.2.1、RLE04B1602）。しかし、その影響は小さく、100 µmol/L 及び 300 µmol/L は臨床用量に相当する濃度をはるかに超えている。

2.1.8.4　代謝物 ucb-107092-1 の *in vitro* プロファイル

ucb-107092-1 を濃度 10 µmol/L まで試験したところ、SV2A には結合せず、受容体、取り込み系、イオンチャネル、酵素等 68 種類の標的のいずれとも有意な相互作用を示さなかった（M2.6.3.2.1、RRLE07F1207）。

2.2　副次的薬理

ブリーバラセタムの発作及びてんかんの動物モデルを用いた広範な試験に加え、ブリーバラセタムの鎮痛作用及び振戦、躁病、片頭痛に対する作用の可能性を解明するため、様々な *in vivo* モデルで評価した。

68 及び 212 mg/kg の高用量腹腔内投与では、ラットのテールフリックモデルで鎮痛作用が示されたが（M2.6.3.3.1、RRLE01C2305）、ラットのホットプレート試験（最高 212 mg/kg まで、腹腔内）（M2.6.3.3.1、RRLE01C2305）及びホルマリン試験（最高 118 mg/kg まで、腹腔内）（M2.6.3.3.1、RRLE01C2101）では作用が認められなかった。また、神経障害性疼痛のラット糖尿病モデル、単神経障害モデル、及び脊髄神経結紮モデルでは、機械的痛覚過敏及び異痛症に対して有意な鎮痛効果（21 及び 68 mg/kg、腹腔内）が認められたが、熱的痛覚過敏に対する鎮痛効果は認められなかった（M2.6.3.3.1、RRLE01D1801、M2.6.3.3.1、RRLE01E0401、M2.6.3.3.1、CNS09025）。

また、ラットのハルマリン誘発性振戦モデル（M2.6.3.3.1、RRLE04B1605）及びデキサンフェタミンとクロルジアゼポキシドとの併用により誘発された過活動（M2.6.3.3.1、RRLE01C2603）に対し、ブリーバラセタムは用量 38 mg/kg 以上及び 21 mg/kg の腹腔内投与でそれぞれ有意な抗振戦作用及び抗躁作用を示した。最後に、*in vitro* ラット皮質拡延性抑制モデルにおいて、ブリーバラセタム（10 及び 32 µmol/L）は拡延性エピソードをわずかに抑制した（M2.6.3.3.1、RRLE05D1101）。

2.3　安全性薬理

シナプス小胞たん白質 2A（SV2A）は、すべてのシナプス小胞及び分泌小胞に存在し、広範に分布する豊富な小胞たん白質である。SV2A 陽性細胞は、消化管細胞や膵臓細胞等の末梢臓器、甲状腺及び副腎髄質にもみられる。末梢組織における SV2A の機能は不明である。

表 2-1 に実施されたブリーバラセタムの安全性薬理試験を記載した。標準的な一連の安全性薬理試験で、中枢神経系、循環器系、呼吸器系、及び消化器系への影響を評価した。主な影響は中枢神経系（CNS）に関連しており、一過性の CNS の抑制や自発運動量の減少等であった。ブリーバラセタムが認知機能を変化させるとは考えられない。ブリーバラセタムが心臓の伝導、脱分極及び再分極に悪影響を与える可能性は低い。イヌに用量 50 mg/kg 以上を投与したときに、MRHD の C_{max} よりもはるかに高い血漿中濃度でみられた循環器系への影響は、用量依存的でなく、雌雄間で一致しておらず、反復投与毒性試験ではみられなかった。呼吸器及び消化器機能への影響は、100 mg/kg よりも高用量でのわずかな呼吸刺激作用、300 mg/kg での胃排出の遅延及び消化管通過速度の低下のみであった。

表 2-1　実施されたブリーバラセタムの非臨床安全性薬理試験の概要

試験又は報告書番号	動物種	試験の種類	投与経路	用量又は濃度
RRLE01F0603	マウス、ラット	ロータロッド試験成績への影響	ip	6.8～382.1 mg/kg、21.2～382.1 mg/kg
RRLE01C2304	ラット	自発運動への影響	ip	2.1、6.8、21、68、118、212 mg/kg
TA0680	ラット	行動への影響（Irwin 試験）	po	100、300、600、1000、1500 mg/kg
TA0716	ラット	行動への影響（Irwin 試験）	po	600 mg/kg
CNS09002	ラット	ラット海馬スライスにおける長期増強	*in vitro*	3～30 µmol/L
CNS09003	ラット	学習及び記憶への影響	ip	2.1、6.8、21 mg/kg
TA0679	イヌ	*In vitro* でのイヌプルキンエ線維の心臓活動電位に対する影響	*in vitro*	2、20、200 µg/mL
NCD2011	ヒト	*In vitro* でのクローン hERG カリウムチャネルに対する影響	*in vitro*	10、100 µmol/L
NCD2171	ヒト	*In vitro* でのヒト心筋ナトリウムチャネル（hNav1.5）に対する影響	*in vitro*	10、100 µmol/L
NCD2172	ヒト	*In vitro* でのヒト心筋カルシウムチャネル（hCav1.2）に対する影響	*in vitro*	10、100 µmol/L
TA0685	イヌ	麻酔下のイヌの全身血行動態及び呼吸機能への影響	iv	5、50、150 mg/kg
PSM0885	イヌ	麻酔下のイヌの血行動態への影響	iv	5、15、45 mg/kg
TA0671	イヌ	テレメター装着覚醒下のイヌにおける循環器への影響	po	5、50、150 mg/kg
PSM0874	ラット	呼吸への影響（プレチスモグラフィー）	po	30、100、300、600 mg/kg
TA0678	ラット	消化管通過に対する影響	po	100、300、600 mg/kg

2.3.1　CNS 安全性薬理試験

ロータロッド試験では、ヒトの部分発作及び全般発作を模したモデルにおいて、発作を抑制する用量と急性運動障害を誘発する用量との間のブリーバラセタムの安全域は比較的広かった（M2.6.3.4、RRLE01F0603）。

ラットを用いた自発運動量試験（腹腔内）（M2.6.3.4、RRLE01C2304）及び行動試験（Irwin 試験、経口）（M2.6.3.4、TA0680 及び M2.6.3.4、TA0716）では、主な影響は用量 100 mg/kg 以上での一過性の用量依存的 CNS の抑制（無気力、消極性、注意力の低下、グルーミングの減少）及び自発運動量の減少であった。300 mg/kg 以上では、用量依存的な神経筋機能の変化（体緊張度及び握力の低下）、感覚運動機能の変化（驚愕反応、接触反応及び痛覚反応の低下）、自律神経機能の変

化（眼瞼下垂、流涎、瞳孔径の増大）もみられた。これらの影響は、100 及び 300 mg/kg では概ね軽度かつ低頻度であったが、用量が高いほど顕著であり、1000 及び 1500 mg/kg では動物の死亡又は早期屠殺に至った。所見の程度は、非空腹時投与ラットで低く、食後投与時の薬物吸収速度及び薬物吸収量の低さと整合している。ラット、イヌ及びサルを用いた毒性試験では、高用量で活動性の低下、不安定な歩行、平衡感覚の喪失、協調運動障害、流涎等、同様な CNS に関連する変化もみられた。これらの変化は、最大耐量を超える用量を投与されたラットを除き、概して一過性であった。

ブリーバラセタムは、ラット海馬スライスにおける長期増強を変化させず（M2.6.3.4、CNS09002）、最高 21 mg/kg までの腹腔内投与を受けた正常ラット及び扁桃核キンドリングラットにおいて、Morris 水迷路試験に影響を与えなかった（M2.6.3.4、CNS09003）。よって、ブリーバラセタムが認知機能を変化させるとは考えられない。

2.3.2 循環器系安全性薬理試験

2.3.2.1 *In vitro* 試験

イヌ摘出プルキンエ線維において、ブリーバラセタムは最高 200 µg/mL まで、測定されたいずれの活動電位パラメータにも有意な影響を及ぼさなかった（M2.6.3.4、TA0679）。ブリーバラセタムは最高 100 µmol/L（21.2 µg/mL）まで、ヒト心臓のナトリウムチャネル（hNav1.5）、カルシウムチャネル（hCav1.2）及びカリウムチャネル（hERG）に有意な影響を与えなかったことから、治療における最高推定曝露量（総 C_{max} 3.5 µg/mL、遊離 C_{max} 2.8 µg/mL）では、心伝導、脱分極及び再分極に影響を及ぼさないと考えられた（M2.6.3.4、NCD2071、M2.6.3.4、NCD2072、M2.6.3.4、NCD2011）。

本知見は、健常被験者を対象に、ブリーバラセタム 150 及び 800 mg/日を 7 日間投与しても、心臓の再分極に影響しなかった Thorough QT 試験（試験番号 N01233）で確認された。

2.3.2.2 *In vivo* 試験

麻酔下のビーグル犬を用いた 2 試験で 10 分間の点滴静注後、及びテレメター装着覚醒下のイヌを用いた 1 試験で経口投与後、ブリーバラセタムの循環器系への影響を評価した。

覚醒下の雌イヌへの 50 mg/kg 以上の経口投与により、ブリーバラセタムは血圧を低下させ、心拍数を上昇させた（用量 50 mg/kg に対応する C_{max} は 61 µg/mL）（M2.6.3.4、TA0671）。この影響は用量に依存せず、雄では認められなかった。麻酔下の雄イヌに 150 mg/kg を静脈内点滴投与したところ、血圧、心拍数及び心収縮力の一過性の低下がみられたが（M2.6.3.4、TA0685）、45 mg/kg（10 分間の点滴終了時の血漿中濃度は 131 µg/mL）では影響がみられなかった（M2.6.3.4、PSM0885）。150 mg/kg を単回経口投与された雌イヌでは、心拍数で補正した QT 間隔（QTc）が延長したが、QT への影響はなく（M2.6.3.4、TA0671）、150 mg/kg を 10 分間の点滴で投与された雄では、わずかな QT 延長がみられた（M2.6.3.4、TA0685）。イヌを用いた 2 週間、4 週間、13 週間及び 26 週間の反復投与毒性試験では、試験したいずれの用量でも QT 及び QTc 間隔の延長は認められなかった（C_{max} は 23.5～211.8 µg/mL）。また、サルを用いた 4 週間及び 39 週間の毒性試験でも、最高 900 mg/kg/日（C_{max} は 223 µg/mL）までの用量では QT 及び QTc への影響はなかった。

全体的にみて、イヌに用量 50 mg/kg 以上を投与したときに（予定されている最高臨床用量である 100 mg の 1 日 2 回投与による C_{max} 3.5 µg/mL よりもはるかに高い血漿中濃度で）みられた循環器

系への影響は、用量依存的でなく、雌雄間で一致しておらず、反復投与毒性試験ではみられなかった。

2.3.3 呼吸器系安全性薬理試験

ラットを用いた全身プレチスモグラフィー試験では、ブリーバラセタム 100、300 及び 600 mg/kg の経口投与により、わずかな呼吸刺激作用が認められた（M2.6.3.4、PSM0874）。ブリーバラセタムは、呼気時間及び弛緩時間をわずかに減少させたが、用量反応関係はなく、他の呼吸器系パラメータにも大きな変化はみられなかった。

ブリーバラセタム 50 及び 150 mg/kg を 10 分間の点滴静注により麻酔下のイヌに投与したところ、呼吸機能への影響はほとんど認められず、呼吸数及び分時換気量の一過性の増加、又は吸気及び呼気時間の減少等が認められた（M2.6.3.4、TA0685）。ラットを用いた Irwin 試験（M2.6.3.4、TA0680）及び 4 週間毒性試験（M2.6.7.7、TA0661）では、最大耐量を超える用量、すなわち 1000 mg/kg 以上でのみ、異常呼吸の徴候（あえぎ、徐呼吸）がみられた。

全体的にみると、ブリーバラセタムは治療域を上回る濃度でわずかに呼吸刺激作用を誘発すると考えられる。

2.3.4 消化器系安全性薬理試験

ブリーバラセタムをラットに経口投与し、チャコールミールの消化管通過に対するブリーバラセタムの影響を評価した。ブリーバラセタムは用量 300 mg/kg 以上で用量依存的にラットの胃排出の遅延及び消化管通過の減少を誘発した（M2.6.3.4、TA0678）。100 mg/kg では影響がみられなかった。

2.3.5 ヒト代謝物の影響

ブリーバラセタムのヒドロキシ酸代謝物である ucb-107092-1 は、重度の腎障害患者で報告された濃度についての非臨床安全性データが不十分であったため（M2.6.6、表 10-3）、一連の *in vitro* 及び *in vivo* 安全性薬理試験により評価された。ブリーバラセタムとは対照的に、ucb-107092-1 は、2.1.7 項で詳述した通り、薬理活性を持たなかった。ucb-107092-1 は、安全性薬理評価でいかなる影響も示さなかった。

2.3.5.1 CNS 安全性薬理プロファイル

Irwin 試験では、最高 100 mg/kg までの ucb-107092-1 を静脈内投与したラットに、有意な神経行動学的及び生理学的変化は認められなかった（M2.6.3.4、NCD1774）。

2.3.5.2 循環器系安全性薬理プロファイル

濃度 200 µg/mL の ucb-107092-1 は、イヌ摘出プルキンエ線維（M2.6.3.4、NCD1768）及びヒト心筋カリウムチャネル（M2.6.3.4、NCD1765）で測定した活動電位パラメータのいずれにも有意に影響しなかった。*In vivo* では、最高 150 mg/kg までの ucb-107092-1 をテレメター装着覚醒下のイヌに静脈内投与しても、循環器系に影響を与えなかった（M2.6.3.4、NCD1817）。

2.3.5.3 呼吸器系安全性薬理プロファイル

覚醒下のラットに最高 100 mg/kg までの ucb-107092-1 を静脈内投与したところ、有意な呼吸器系への影響は認められなかった（M2.6.3.4、NCD1773）。

2.3.5.4 消化器系安全性薬理プロファイル

最高 100 mg/kg までの ucb-107092-1 をラットに静脈内投与したところ、消化管通過及び胃排出に影響を与えなかった（M2.6.3.4、NCD1775）。

2.3.6 不純物の影響

ブリーバラセタムロットにジアステレオマー不純物として含まれている ucb 34713 を用いて循環器系安全性薬理試験が *in vitro* で実施され、最高 20 µg/mL までの ucb 34713 が、イヌ摘出プルキンエ線維（M2.6.3.4、NCD1767）及びヒト心臓のカリウムチャネル（M2.6.3.4、NCD1766）で測定される活動電位パラメータのいずれにも有意な影響を及ぼさないことが示された。

2.4 薬理学的薬物相互作用

前述の自己持続性てんかん重積状態ラットモデルにおけるジアゼパムとの併用療法を除き、薬理学的薬物相互作用の可能性を評価するための動物試験は行われていない。明確化のため、自己持続性てんかん重積状態ラットモデルにおけるブリーバラセタムとジアゼパムとの併用療法を、4.2.1.4 項には含めず、4.2.1.1 項で自己持続性てんかん重積状態ラットモデルにおけるブリーバラセタム単独療法の効果を評価した試験と共に記載した。薬物動態学的薬物相互作用の可能性については、薬物動態の項（3.6 項）及び臨床薬理試験の概要（M2.7.2.2.5.1）で考察した。

3. 薬物動態

3.1 緒言

ブリーバラセタムの吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）については、マウス、ラット、イヌ及びサルを用いて経口及び静脈内投与で広範に試験されている。マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルを用いて、代謝物（ucb-100406-1、ucb 42145、ucb-107092-1 及び ucb-102993-1）の測定を含む包括的なトキシコキネティクス（TK）評価を実施した。また、ヒトの重度の腎障害患者における代謝物 ucb-107092-1 の非臨床安全性データが不十分であったため、ucb-107092-1 の薬物動態及びトキシコキネティクスは、ラットを用いた独立した試験で検討した。ブリーバラセタムの腸管吸収、血漿たん白結合、代謝及び薬物相互作用の可能性を評価するため、*in vitro* 試験を実施した。

ほとんどの試験で、血漿中及び排泄物中のブリーバラセタム及びその代謝物は、有効なアキラル HPLC-質量分析（MS）法により測定され、放射能は液体シンチレーションカウンティング法により測定された。代謝物の構造決定は、MS 及び利用可能な場合は真正標準品との同時クロマトグラフィーにより行った。放射性標識された[^{14}C]-ブリーバラセタムの放射化学的純度は≥97%であった。

3.2　吸収及び血漿中薬物動態

ブリーバラセタムは、透過性が高く、いずれの動物種でも迅速かつ完全に吸収される薬剤であることが分かった。毒性試験用の動物種では、ヒトの何倍もの曝露量が認められた。様々な毒性試験で、1 日を通して曝露を維持するため投与計画を調整した。げっ歯類、ウサギ及びイヌでは（カニクイザルとは異なり）、反復投与すると代謝の自己誘導の結果、経時的に曝露量が減少した。

ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞を用いた *in vitro* 試験では、ブリーバラセタムは能動輸送されることなく高い透過性を示した（M2.6.5.3、NCD1663）。非臨床試験用動物種に、薬理学的意義のある用量を単回経口投与すると、ブリーバラセタムは速やかに完全に吸収された（M2.6.5.3、TA0748、M2.6.5.3、TA0747、M2.6.5.3、PSM1019）。通常、投与後 1 時間以内に最高血漿中濃度に達した。ラット及びイヌにおけるブリーバラセタムのバイオアベイラビリティ（BA）は約 100%であり、ヒトの場合と同様に、完全な吸収及び低い初回通過効果が確認された。カニクイザルでは、BA は 10%未満であったが、これは吸収の問題ではなく、当該動物種の初回通過代謝率の高さに関連する知見である（3.4 項参照）。

静脈内投与後の消失半減期（$t_{1/2}$）は、カニクイザルの 0.3 時間からラットの 2 時間まで、動物種により異なった。総血漿クリアランス（CL）は $t_{1/2}$ 値と逆相関し、カニクイザルで他の動物種よりも大幅に高かった。いずれの薬物動態パラメータにおいても、性別による影響はほとんど認められなかった。例外として、ラットでは雄に比べて雌で曝露量が高く、消失が遅かった。注目すべきことに、イヌ（M2.6.5.3、TA0747 及び M2.6.5.9、TB0544）では、静脈内投与後に非線形のミカエリス・メンテン型の薬物動態が認められた（すなわち、$t_{1/2}$ が濃度により異なった）が、これは他の動物種では認められなかった。そのメカニズムについては、4.2.4 項で考察した。

薬物動態パラメータを表 3-1 に示す。

表 3-1　ブリーバラセタムの主要な薬物動態学的パラメータ

動物種		マウス	ラット		イヌ		カニクイザル	
パラメータ	mg/kg	0.82	10		5		5	
	性別	雄	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max}[2]	µg/mL	0.70	11.4	14.4	6.64	7.23	0.08	0.22
AUC[2]	µg·h/mL	0.79	32.7	52.6	31.4	25.5	<0.41	<0.28
t_{max}[2]	h	0.08	0.5	0.5	1.0	0.76	0.5	1.0
$t_{1/2}$[1]	h	0.6[2]	1.6	1.9	NC	NC	0.3	0.3
CL[1]	L/h/kg	0.89[2]	0.28	0.21	0.17	0.22	1.26	1.74
V_z[1]	L/kg	0.87[2]	0.63	0.55	0.66	0.67	0.61	0.77
F	%	ND	92	108	104	110	<10	<10
試験番号		TB0582	TA0748		TA0747		PSM1019	

[1] 静脈内投与後。[2] 経口投与後の値（見かけ上の $t_{1/2}$、CL/F、V_z/F 等）。NC=非線形動態のため算出せず。ND=測定せず。

TK の評価では、血漿中曝露量は用量と共に増加し、条件により用量比を下回る場合も、上回る場合もあった。動物でのブリーバラセタムの半減期は短いことから、1 日を通して曝露を維持するため、毒性試験では 1 日複数回の投与を実施した（1 日 2 回又は 3 回の強制経口投与に加えて試験により混餌投与を併用）。マウス、ラット、ウサギ及びイヌでは、反復投与時にブリーバラセタムの濃度が低下したが、これは代謝の自己誘導に関連する用量依存的な所見である（代謝物生成の増加、肝代謝酵素の増加及び病理組織学的所見により確認された）。カニクイザルでは、反復投与後にそのような曝露量の減少は示されず、その他の代謝の自己誘導の徴候もみられなかった。これは、100 mg 及び 200 mg の 1 日 2 回投与で、Day 7 及び 14 の CL_{ss}/F に Day 1 の CL/F との差が認めら

れなかったヒト被験者での知見（試験番号 N01067）と同様であった。400 mg の 1 日 2 回投与では、Day 1 よりも Day 7 及び 14 の CL_{ss}/F がわずかに高かった（12～14%）。

幼若動物（ラット及びイヌ）の血漿中総曝露量は、成体動物の曝露量と概ね同程度であったが、例外として、生後 4 日目（PND 4）には幼若動物が成体動物よりも高い曝露量を達成した（2～4 倍）。

ラットへの単回投与では、代謝物である ucb-107092-1 は、23%と低い経口バイオアベイラビリティ、及び急速な消失を示した（静脈内投与後最初の 1 時間で血漿中濃度が 96%超低下）。ucb-107092-1 の主な消失経路は腎排泄であった（M2.6.5.16、NCD1327）。よって、ucb-107092-1 の毒性評価は、静脈内点滴投与により実施した。

3.3 分布

ブリーバラセタムは、その物理化学的特性と整合し、脳及び胎盤等の組織に速やかに分布した。臨床的に問題となる組織中への滞留又は蓄積は認められなかった。

動物種を問わず、ブリーバラセタムの分布容積（V_z）は体内総水分量に近い値を示したため、組織内への捕捉は考えにくい。

ラットを用いた分布試験では、[^{14}C]-ブリーバラセタムは、経口投与後、速やかに全身に分布した。最高濃度は、薬物の吸収（消化管）、生体内変換（肝臓）及び排泄（腎臓）に関与する器官で認められたが、包皮腺及び陰核腺でも確認された。組織からの放射能の消失は、概ね血漿からの消失と並行し、濃度は遅くとも 24 時間でバックグラウンド値に戻った（M2.6.5.5、TA0694、M2.6.5.7、PSM0839 及び M2.6.5.5、PSM0983）。包皮腺及び陰核腺の放射能はより緩やかに減少し、約 72 時間後にバックグラウンド値に戻った（M2.6.5.5、PSM0803）。包皮腺及び陰核腺に対する親和性は、ラットに特異的で（マウスでは認められないため）、完全に可逆的であり、未変化体に認められるもので（すなわち、代謝物には認められず）、共有結合が関与しておらず（M2.6.5.5、PSM0979 及び M2.6.5.5、PSM0803）、臨床的意義がない（これらの腺に対応する器官がヒトにはないため）と考えられた。

聴原性発作マウスを用いた薬物動態/薬力学試験では、ブリーバラセタムが標的脳組織に速やかに分布することが示された。脳中濃度は、経口投与後 15 分でピークに達し、薬理作用と並行し、時間的遅れ又はヒステリシスはなかった（M2.6.5.3、TB0582）。マウス及びラットでは、脳対血漿中濃度比が非常に早く平衡に達し、投与経路、性別、試料採取時点を問わず、ほぼ 1 であった。

ラットでは、ブリーバラセタムが容易に胎盤を通過することが示された。投与 1 時間後以降、胎児、羊水及び胎盤の放射能濃度は、母動物の血中放射能濃度と同等であった（M2.6.5.7、PSM0839）。

In vitro 分布試験では、動物種を問わず、ブリーバラセタム（0.5～1 から 100 µg/mL）は血球と血漿との間で均一に分布し、血漿たん白結合率は 12～27%（ヒトでは 21%）と低かった（M2.6.5.6、PSM0937）。

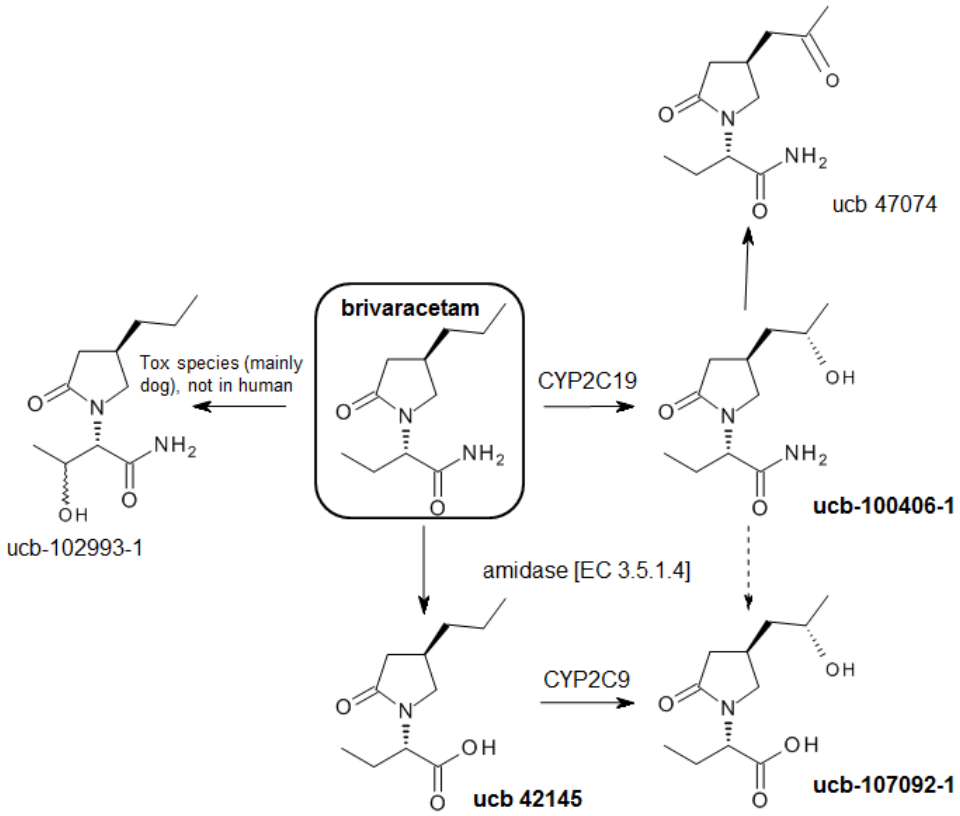
3.4 代謝

ブリーバラセタムは、主に代謝クリアランスにより消失することが分かった。動物種を問わず、主な経路は、プロピル側鎖の水酸化（ucb-100406-1 の生成）、アセトアミド部分の加水分解

（ucb 42145 の生成）、及びその両方の組み合わせ（ucb-107092-1 の生成）を含んだ。血中のブリーバラセタムに関連する物質の総量の 10%を超える代謝物（すなわち、ucb-100406-1 及び ucb-107092-1）については、毒性データを十分に収集した。上記の代謝経路の酵素の種類はすべて決定されている（それぞれ CYP2C19、アミダーゼ E.C.3.5.1.4 及び CYP2C9）。ヒトに特異的な代謝物は特定されなかった。

提唱されているブリーバラセタムの代謝経路を図 3-1 に示す。

図 3-1　代謝経路



非臨床 *in vivo* 試験では、用量、投与経路、性別、動物種又は投与期間を問わず、概して血中のブリーバラセタム関連物質のうち未変化体が他よりもはるかに多かった（M2.6.5.9、TB0543、M2.6.5.5、TA0694、M2.6.5.9、TA0693、M2.6.5.5、PSM0979、M2.6.5.9、TB0544 及び M2.6.5.9、TA0762）。例外はカニクイザルであり（M2.6.5.3、PSM1019）、このことは当該動物種の代謝クリアランスの高さと整合している。

主な代謝経路は、プロピル鎖の末端から 2 番目の炭素が立体選択的に水酸化され、ucb-100406-1 を生成するというものである。げっ歯類及びサルでは、ucb-100406-1 が血中の全てのブリーバラセタムに関連する物質の 10%を超える唯一の代謝物であった。イヌでは、主な血中代謝物は ucb-100406-1、及びブチルアミド側鎖が水酸化されて生成した誘導体 ucb-102993-1 であった。

その他の特定された代謝経路としては、アセトアミド部分が加水分解されて酸性誘導体 ucb 42145 が生成し、これがさらに水酸化されると ucb-107092-1 を生成した。場合により、水酸化

誘導体 ucb-100406-1 が酸化され、対応するケトン体 ucb 47074 を生成することも分かった。他の代謝物又は他の代謝物異性体の量は、これらよりもはるかに少なかった。

すべての代謝物は主に尿中に排泄された（薬理作用のある用量を経口投与した時の主要代謝物の値を表 3-2 に示す）。

ブリーバラセタムの ucb 34713 へのキラル反転を示す証拠はなかった（M2.6.5.9、TB0543 及び M2.6.5.9、TB0544）。

表 3-2　薬理作用のある用量を単回経口投与した後に尿中から最も多く回収されたブリーバラセタム代謝物（雄/雌における回収量の割合［%］）

分析対象物	マウス		ラット		イヌ		カニクイザル		ヒト
尿試料	0～48 時間		0～48 時間		0～24 時間		0～48 時間		0～48 時間
用量	5mg/kg		5mg/kg		5mg/kg		5mg/kg		2.5mg/kg[a]
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	—
ブリーバラセタム	6.6	2.8	5.0	5.4	4.3	3.7	ND	ND	8.7
ucb-100406-1	30.7	30.1	39.3	41.6	32.3	34.7	34.2	36.8	15.9
ucb 42145	3.2	4.6	4.5	7.9	17.6	14.8	ND	ND	34.2
ucb-107092-1	ND	ND	ND	ND	2.3	2.4	2.5	2.3	15.2
試験番号	PSM0979		PSM0979		TA0762		PSM1019		N01068

[a] 体重 60 kg のヒト被験者では用量 150 mg。ND=検出されず。

ヒトに特異的な *in vivo* 代謝物はなかった。ブリーバラセタムの毒性試験では、ヒトで 10%の閾値を超える代謝物 ucb-100406-1 について、十分な毒性データを収集した。ucb-107092-1 については、ヒトの重度腎機能障害患者では動物におけるよりも多く生成される傾向があったため、当該代謝物の毒性データを適切に収集するため、別途独立した ucb-107092-1 の毒性試験を実施した。

構造既知の代謝物はいずれも、警告構造を含まなかった。しかし、ブチルアミド側鎖の生体内活性化と他の誘因とが組み合わさり、ポルフィリンを生ずる誘導体が生成する可能性が考えられる（Nicolas et al, 2014）。この所見が認められたのは、イヌのみである。最終的原因代謝物は特定できなかったが、議論の余地はあるものの、ucb-102993-1 はブチルアミド側鎖の生体内活性化のサロゲートマーカーではないかと考えられる。ucb-102993-1 は、いくつかの動物種（特にイヌ）にみられたが、ヒトではみられなかった。詳細は、4.2.4 項に記載した。

In vitro 代謝試験により、*in vivo* データが確認された。肝ミクロソーム及び肝細胞では、他の動物種に比べてカニクイザルが最も高い変換率を示し、ヒトは最も低い変換率を示した（例：カニクイザル及びヒトから得られた肝ミクロソームと共に 2 時間インキュベートした後の未変化体変換率は、それぞれ 14%及び 2%）（M2.6.5.10、TA0686 及び M2.6.5.10、NCD2195）。試験系及び動物種を問わず、ucb-100406-1 が主要代謝物であると考えられ、ヒトに特異的な代謝物は認められなかった。肝ミクロソームのデータから、ucb-102993-1 が一部の動物種（特にイヌ）で生成されるが、ヒトでは生成されないことが確認された。

In vitro 試験では、ブリーバラセタムの水酸化による ucb-100406-1 の生成は、他の組み換えヒトチトクローム P450（CYP）アイソフォームと比較して、CYP2C19 を用いたとき最も多かった（M2.6.5.10、NCD1998）。その後の臨床データから、CYP2C19 の重要な役割が確認された。

ブリーバラセタムの加水分解による ucb 42145 は組織内で広く生成され、コリンエステラーゼ、カルボキシルエステラーゼ又は芳香族エステラーゼではなく、アミダーゼ［E.C. 3.5.1.4］により触媒されることが分かった（M2.6.5.10、NCD1674 及び M2.6.5.10、NCD2232）。同一の酵素がブリー

バラセタムと構造的に近い類似物質であるレベチラセタムの加水分解にも関与していることが分かった（Strolin-Benedetti et al, 2003）。ucb-100406-1 から ucb-107092-1 への加水分解率は、ブリーバラセタムから ucb 42145 への加水分解率に比べて、ごくわずかであった。ucb 42145 の水酸化による ucb-107092-1 の生成は、CYP2C9 により媒介されることが分かった（M2.6.5.10、NCD1674）。

3.5　排泄

前述のとおり、ブリーバラセタムは主に代謝により消失し、未変化体として排泄されるのは投与量のごく一部であった。ブリーバラセタムの代謝物は、ほぼ尿中からのみ回収された。排泄率は、90%を上回った。

排泄物中から回収されたブリーバラセタム未変化体の量は、マウスで 5%（M2.6.5.5、PSM0979）、ラットで 6%（M2.6.5.5、PSM0979 及び M2.6.5.9、TB0543）、イヌで 4%（M2.6.5.9、TA0762 及び M2.6.5.9、TB0544）、カニクイザルで 0%（M2.6.5.3、PSM1019）と少なかった。

経口投与後 48 又は 168 時間で、放射能の排泄率は、マウス、ラット、イヌ及びサルで投与量の約 90%超であり、ラット及びマウス（M2.6.5.5、PSM0979）、イヌ（M2.6.5.3、TA0747 及び M2.6.5.9、TA0762）、サル（M2.6.5.3、PSM1019）で示されているように、性別、投与経路、投与量又は妊娠の有無に依存しないことが示された。放射能の大部分は腎排泄され、胆汁排泄はごくわずかであった（げっ歯類のデータ）（M2.6.5.9、TB0543 及び M2.6.5.5、PSM0979）。

授乳中の雌ラットに ^{14}C-ブリーバラセタム 5 mg/kg を単回経口投与したところ、放射能は乳汁中に分泌され、急速に血漿中と同等の濃度に達した（M2.6.5.7、PSM0894）。

3.6　薬物動態学的薬物相互作用

広範な *in vitro* 試験の結果、ブリーバラセタムはヒト CYP アイソフォームに対して意義のある阻害又は誘導作用を持たないことが分かった。ブリーバラセタムは、中等度のエポキシドヒドロラーゼ阻害作用を示し、認められた臨床所見と整合した。ブリーバラセタムは薬物トランスポーターの基質又は阻害剤として作用しなかった。最後に、*in vitro* でのブリーバラセタムの水酸化は、従来の AED の影響を受けなかった。

200 µmol/L（ヒトにおける 100 mg の 1 日 2 回の反復投与時の総血漿中 C_{max}、すなわち 3.5 µg/mL 又は 16 µmol/L の約 12.5 倍）で試験したところ、ブリーバラセタムはヒト CYP2C19 を中等度阻害し（阻害率 46%）、CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9、CYP2D6 又は CYP3A4 には、意義のある影響を与えなかった（M2.6.5.15、TA0776）。代謝物である ucb 42145 及び ucb-100406-1 にも、意義のある阻害作用がないことが示された（M2.6.5.15、NCD1678）。より高濃度の 650 µmol/L（ヒトにおける 100 mg の 1 日 2 回投与後の遊離型 C_{max} の 50 倍に相当）で試験したところ、ブリーバラセタムは CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A4 を直接阻害しなかったが、CYP2C19 を Ki＝314 µmol/L で阻害した（競合阻害）（M2.6.5.15、NCD2622）。上記のいずれの試験においても、被験物質、被験物質の最終濃度又は CYP アイソフォームに関わりなく、機序に基づく意義のある阻害は認められなかった。生理学的薬物速度論（PBPK）モデリング（Simcyp™）を用いて、ブリーバラセタム 100 mg の 1 日 2 回投与と CYP2C19 基質であるオメプラゾールとを併用した場合に *in vivo* で起こる相互作用の可能性を評価したところ、ブリーバラセタムとの併用がオメプラゾールの AUC に及ぼす有意な影響は認められなかった（最大で+4～19%）（M2.6.5.15、quantitative-prediction-2015）。その後の Simcyp™ PBPK モデルでは、ブリーバラセタ

ム 200 mg の 1 日 2 回投与（最高推奨用量の 2 倍）の併用により、フェニトインの曝露量がやや増加した（約+20%）N01172 試験の臨床データを使用し、ブリーバラセタムの最高推奨用量である 100 mg の 1 日 2 回投与時の相互作用を予測した。これらの条件下では、フェニトイン曝露量の増加量の平均値は有意ではないと予測された（11～14%の変化、M2.6.5.15、quantitative-prediction-2017）。

培養ヒト肝細胞では、500 µmol/L のブリーバラセタムの存在下で、最大 3 倍の CYP3A4 活性の誘導がみられたが、200 µmol/L では影響がみられなかった。ブリーバラセタム濃度に関わりなく、CYP1A1 への影響は認められなかった（M2.6.5.15、PSM0815）。CYP1A1/2、CYP2B6 及び CYP3A4 を評価したその後の試験では、最高 100 µmol/L までの濃度を用いたところ、臨床的に意義のあるブリーバラセタムの影響は認められなかった（M2.6.5.15、NCD1710）。

ブリーバラセタムは *in vitro* でヒトミクロソームのエポキシドヒドロラーゼを阻害し、その IC_{50} は使用した試験系（濃度 8 µmol/L［肝細胞中］（M2.6.5.15、NCD2328）～約 100 µmol/L［ミクロソーム中］）（M2.6.5.15、PSM1033 及び M2.6.5.15、NCD2328）により異なることが示された。

ブリーバラセタム（200 µmol/L）とその代謝物である ucb 42145（10 µmol/L）、ucb-100406-1（10 µmol/L）及び ucb-107092-1（2 µmol/L）は、有機アニオントランスポーター1、3、P1B1 及び P1B3（OAT1、OAT3、OATP1B1 及び OATP1B3）、有機カチオントランスポーター1 及び 2（OCT1、OCT2）、乳がん耐性たん白質（BCRP）、P 糖たん白質（P-gp）、胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）に対し、ごくわずかな阻害作用しか示さなかった（M2.6.5.15、NCD2207）。より高濃度（650～1000 µmol/L）で試験すると、ブリーバラセタムは、BCRP、MDR1、BSEP、MRP2、MATE2-K、OATP1B1、OATP1B3 及び OAT1 トランスポーターに対して有意な阻害作用を示さなかった。一方、ブリーバラセタムは 650 µmol/L で MATE-1（28%）及び OCT1（30%）を中程度に阻害し、OAT3 及び OCT2 を用量依存的に阻害した（IC_{50} 値はそれぞれ 541 及び 740 µmol/L）（M2.6.5.15、NCD2616）。Simcyp™ を用いた PBPK モデリングにより、ブリーバラセタム 100 mg の 1 日 2 回投与は、OCT2 により一部排出される化合物メトホルミンの曝露量に無視できる程度の影響（+1～11%）を与えると予測された（M2.6.5.15、quantitative-prediction-2015）。

In vitro トランスポーターアッセイでは、ブリーバラセタム（1～100 µmol/L）が P-gp、BCRP 又は多剤耐性たん白質 1 又は 2（MRP1 又は MRP2）の基質でないことが示された（M2.6.5.3、NCD1663 及び M2.6.5.15、NCD2061）。分布試験及び排泄データから総合的に、ブリーバラセタムは BCRP、OATP1B1/3、OAT1/3 又は OCT2 の基質として作用しないことが示された。

ヒト肝ミクロソームにおいて、フェルバメート、フェニトイン、カルバマゼピン、バルプロ酸、ラモトリギン、ゾニサミド及びフェノバルビタールは、ブリーバラセタムの水酸化を有意に阻害しなかった（M2.6.5.15、PSM1175）。

4. 毒性試験

主要な毒性試験はラット、イヌ及びサルを用いて実施し、がん原性試験はラット及びマウスを用いて実施し、生殖毒性試験はラット及びウサギを用いて実施した（表 4-1）。一部の用量設定試験を除くすべての毒性試験は、GLP に準拠し、現行の ICH ガイドラインに従って実施された。すべての試験で、適切な対照群を設定した。遺伝毒性試験では、適切な陽性対照物質も並行して試験し、一連の遺伝毒性試験が成立していることを示した。

試験期間は現行のガイドラインに沿っており、個々の試験に十分な数の動物を組み入れた。臨床での暴露量との関連付けのため、ほとんどの *in vivo* 試験では、ヒトでの主要投与経路として予定されている経口投与を選択した。静脈内投与製剤を用いたてんかん開発プログラムの臨床試験実施に向けて、点滴静注試験も実施した。同時に実施されたトキシコキネティクス試験により、すべての毒性試験用動物種においてブリーバラセタムへの全身曝露が実証された（M2.6.4.3.3）。トキシコキネティクスデータの概要は、M2.6.7.3 に記載した。

いずれの動物種でも、所見に毒性学的に有意な性差は認められなかった。個々の試験で算出された安全域を表 4-1 に示す。ブリーバラセタムの急性毒性は低かった。ブリーバラセタムを長期投与した場合、イヌでは 37.5 mg/kg/日以上の用量で肝臓の有害な変化が認められたが、ラットでは最高 450 mg/kg/日まで（26 週間試験）、サルでは最高 900 mg/kg/日まで（39 週間試験）の用量で、肝臓には適応反応のみが認めらた。ラット及びイヌへの持続点滴静注では、経口投与と同等の所見が得られた。ブリーバラセタムには、変異原性も染色体異常誘発性もない。がん原性試験でブリーバラセタムは、ラットにおいていかなる腫瘍性変化も誘発しなかった。マウスでの所見（雄マウスのみでの肝細胞腫瘍発現率のわずかな増加）は、げっ歯類に特異的な非遺伝毒性のフェノバルビタール様の作用機序（肝酵素誘導及び肝肥大）に起因すると考えられるため、ヒトへの安全性を懸念する理由にはならないと考えられる。生殖毒性試験でブリーバラセタムは、ラット及びウサギのいずれにおいても、雌雄の受胎能に影響を与えず、母体毒性及び胚毒性を示さず、催奇形性も示さなかった。ブリーバラセタムは、依存又は乱用の可能性を示さなかった。

表 4-1　ブリーバラセタムの主要な試験の概要

試験番号	試験の種類	投与経路	用量 (mg/kg/日)	各用量あたりの動物数
TA0661	ラット 4 週間試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 100, 300,1000, 1500	雄 10、雌 10
PSM0813	ラット 13 週間試験＋4 週間の回復期間	強制経口（1 日 2 回）	0, 50, 100, 200, 400	雄 10、雌 10
PSM1029	ラット 26 週間試験	強制経口（1 日 2 回）＋混餌	0, 150, 230, 450	雄 20、雌 20
NCD1540	ラット 4 週間試験＋2 週間の回復期間	点滴静注	0, 200, 600, 1000	雄 10、雌 10
TA0660	イヌ 4 週間試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 6, 15, 37.5, 94	雄 3、雌 3
PSM0812	イヌ 13 週間試験＋4 週間の回復期間	強制経口（1 日 2 回）	0, 6, 15, 37.5	雄 4、雌 4
PSM1013	イヌ 26 週間試験	強制経口（1 日 3 回）	0, 15, 37.5, 75	雄 4、雌 4
NCD1543	イヌ 4 週間試験＋2 週間の回復期間	点滴静注	0, 30, 100, 150/300/200	雄 3、雌 3
PSM1101	サル 4 週間試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 300, 600, 900	雄 3、雌 3
PSM1140	サル 39 週間試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 300, 600, 900	雄 4、雌 4
TA0749	ラット小核試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 500, 1000, 2000	雄 5、雌 5
NCD1965	Muta™マウス lacZ 変異誘導試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 675, 1350	雄 7
PSM1256	マウス 13 週間試験	強制経口（1 日 2 回）＋混餌	0, 450, 675, 1000, 1500	雄 12、雌 12
NCD1304	マウスがん原性試験	強制経口（1 日 2 回）＋混餌	0, 400, 550, 700	雄 60、雌 60
NCD1305	ラットがん原性試験	強制経口（1 日 2 回）＋混餌	0, 150, 230, 450, 700	雄 50、雌 50
PSM0978	ラット受胎能及び初期胚発生試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 100, 200, 400	雄 25、雌 25
PSM0853	ラット胚胎児発生試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 150, 300, 600	雌 24
PSM0860	ウサギ胚胎児発生試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 30, 60, 120, 240	雌 20
NCD1330	ラット出生前及び出生後の発生試験	強制経口（1 日 2 回）	0, 150, 300, 600	雌 25
NCD1671	幼若ラット 9 週間毒性試験＋4 週間の回復期間	強制経口（1 日 2 回）	0, 150, 300, 600	雄 120、雌 120
NCD1863	幼若イヌ 9 ヵ月間毒性試験＋2 ヵ月間の回復期間	強制経口（1 日 2 回）	0, 15, 30, 100	雄 16、雌 16
NCD1786	乱用（自己投与）試験	静脈内注射（ボーラス）	0, 0.32, 1, 3.2, 10	雄 6
NCD1785	薬物依存性/離脱試験	強制経口（1 日 2 回）＋混餌	0, 230, 450	雄 16
NCD1784	薬物弁別試験／般化性試験	腹腔内	0, 1, 10, 32, 100, 180, 320	雄 8

4.1　単回投与毒性試験

ラットを用いた単回投与試験では、ブリーバラセタムの最大非致死量は雄で 2000 mg/kg、雌で 1000 mg/kg であった（M2.6.7.5、TB0549）。単回経口投与での無影響量（NOEL）は 500 mg/kg であった。

1000 mg/kg 及び 2000 mg/kg で認められた一般状態の変化は、主に CNS に関連する変化（活動性及び筋緊張の低下、不安定な歩行、及び反射の喪失）であった。2000 mg/kg 群の雌は、変化の重症度とそれによる健康状態不良のため、屠殺された。雌ラットの高い重症度は、毒性試験において雄ラットに比べて雌ラットの方が曝露速度及び曝露量が高かったことに関係していると考えられる。

ラットの Irwin 試験でも同様な CNS への影響がみられ、その重症度は絶食ラットを用いた場合に、より高かった。

4.2 反復投与毒性試験

4.2.1 ラット

主要な反復投与毒性試験は、ラットを用いて経口投与で 4 週間、13 週間（とその後 4 週間の回復期間）及び 26 週間、並びに静脈内点滴投与で 4 週間（とその後 2 週間の回復期間）実施された。4 週間及び 13 週間の経口投与毒性試験では、ブリーバラセタムを 1 日 2 回（6 時間間隔で）強制経口投与した。26 週間の経口投与試験では、24 時間を通して適切な曝露量を確保するため、1 日 2 回の強制経口投与を、混餌投与で補った。4 週間、13 週間及び 26 週間の毒性試験で試験した用量は、それぞれ 100～1500 mg/kg/日、50～400 mg/kg/日及び 150～450 mg/kg/日であった。

4 週間の毒性試験では、用量 1000 及び 1500 mg/kg/日が忍容性不良であり、重度の一般状態の変化（異常呼吸、円背、立毛、不安定な歩行）を誘発したため、ラットを早期屠殺した（M2.6.7.7、TA0661）。その後の試験では、用量を 400 mg/kg/日又は 450 mg/kg/日に減量した。これらの最高用量で、有害な影響はみられなかった。

ラットでは、全試験での主な所見は、肝臓（雌雄）、甲状腺（主に雄）及び腎臓（雄のみ）の変化であった。肝臓の適応変化は、主に小葉中心性肝細胞肥大、肝臓重量の増加及び小葉中心肝細胞へのリポフスチン色素沈着であった。これらの変化は、概ねすべての用量で認められた。小葉中心肝細胞の色素のリポフスチンの性質は、特異的染色及び多層膜構造を明らかにした電子顕微鏡観察により確認した。4 週間及び 13 週間の試験（M2.6.7.7、TA0661 及び M2.6.7.7、PSM0813）で評価したとおり、ブリーバラセタムは CYP2B の活性を主とする肝薬物代謝酵素の活性を誘導した。総 CYP450 及び CYP1A の活性、並びにミクロソームの T4-ウリジン 5'-ジホスホ-グルクロノシルトランスフェラーゼ（UGT）活性の中程度の増加もみられた。CYP2E1、CYP3A 及び CYP4A の中程度の誘導が 4 週間試験のみで認められた。これらの肝機能への影響はすべて、4 週間の回復期間後、部分的に又は完全に回復したが、例外としてリポフスチン色素は回復期間終了後も認められた。おそらく肝酵素誘導に関連して、すべての試験で ALT の軽微な増加（1000 mg/kg/日を 4 週間投与された雌雄、及び 400 mg/kg/日を 13 週間投与された雌）、並びにコレステロール（400 mg/kg/日以上）及びトリグリセリド（200 m/kg/日以上）の軽度の増加がみられた。肝臓への影響は、肝酵素誘導に起因する生理的適応の機序であると考えられ、リポフスチン色素は二次リソソームで滑面小胞体（SER）が分解された結果であり、有害とは考えられなかった（Greaves, 2007）。また、4 週間毒性試験の雄では、胆管内腔への色素沈着及び AST の軽度な増加を伴う胆管過形成及び胆管周囲の炎症等、他の肝臓の変化もみられた。これらの変化は、最大耐量を超える用量（≥1000 mg/kg/日）でのみ発生し、肝細胞の有害な変化を伴わなかった。

肝細胞の肥大及び甲状腺ホルモンのクリアランス増加の継続に続発して、甲状腺の変化がみられた。それらの変化には、4 週間試験における主に雄の甲状腺濾胞細胞肥大を伴う甲状腺重量の増加、26 週間試験における雄の甲状腺代謝活性の軽微ないし軽度の増加が含まれた（M2.6.7.7、PSM1029）。これらの変化は、有害と考えられなかった。このような甲状腺の所見は、甲状腺ホルモンのクリアランスの増加に対して、また長期間の肝酵素誘導に続いて、二次的変化としてラットでみられることが多い。これらの状況から、ラットはヒトに比べてこれらの甲状腺の二次的変化の影響を受けやすく、雌よりも雄の方が影響を受けやすい場合が多いと一般的に考えられる（Greaves, 2007）。

腎臓では、用量 100 mg/kg/日以上の雄でヒアリン滴腎症が用量依存性に発現した。機序解明試験では、このヒアリン滴が α2μ-グロブリンから成ること、及びブリーバラセタムが雄ラットの腎近位尿細管の上皮細胞に本たん白質の顕著な蓄積を誘発するが、雌ラットでは誘発しないことが示された（M2.6.7.17、PSM1017 及び M2.6.7.17、PSM1088）。ヒアリン滴腎症は、雄ラットに特有の変化であることが知られているため、ヒトに対する毒性学的意義はないと考えられる（Greaves, 2007）。本所見は、13 週間毒性試験では認められなかったが、その試験と同等かそれ以下の総血漿中曝露量で 4 週間の投与後には既に発現していた。

脾臓では、赤脾髄の褐色色素のわずかな増加（150 mg/kg/日以上の用量群で 26 週間経口投与後）、髄外造血のわずかな増加（400 mg/kg/日群の雌のみで 13 週間の経口投与後）、脾臓胚中心の過形成（1000 mg/kg/日群で 4 週間の経口投与後）等、いくつかの軽微な所見が認められた。これらの変化は、重症度が低く、試験間で一貫性がないため、毒性学的に意義があるとは考えられなかった。

ラットを用いた用量 200、600 及び 1000 mg/kg/日での 4 週間静脈内投与毒性試験（24 時間持続点滴）では、経口投与時と同様の所見が得られ、600 mg/kg/日以上の用量群で肝臓の変化（小葉中心性肝細胞肥大）と甲状腺の変化（濾胞細胞肥大）、全用量群の雄で腎臓の変化（ヒアリン滴腎症）等が認められた（M2.6.7.7、NCD1540）。高用量群の雌で軽度の摂餌量減少がみられ、腎臓重量が増加したことから、NOAEL は 600 mg/kg/日とされた。

4.2.2 イヌ

イヌを用いて、経口投与による 4 週間、13 週間（その後 4 週間の回復期間）及び 26 週間の、並びに静脈内投与による 4 週間（その後 2 週間の回復期間）の、主要な反復投与毒性試験を実施した。経口投与は、24 時間を通して適切な曝露量を確保するため、4 週間及び 13 週間毒性試験では 1 日 2 回（6 時間間隔）の強制経口投与を実施し、26 週間毒性試験では 1 日 3 回（8 時間間隔）の強制経口投与を実施した。試験した用量は、4、13 及び 26 週間の毒性試験でそれぞれ 6～94 mg/kg/日、6～37.5 mg/kg/日、15～75 mg/kg/日であった。予備的な 7 日間及び 2 週間の毒性試験では、より高用量の 100～400 mg/kg/日を検討した。全試験で、投与に関連する心電図パラメータの変化はみられなかった。

予備的な 2 週間毒性試験では、用量 300 mg/kg/日の忍容性が不良であり、1 例が肝臓の有害な変化（次段落に詳述）に関連すると考えられる一般状態不良のため屠殺された（M2.6.7.6、TA0616）。また、用量 94 mg/kg/日以上を 2 週間又は 4 週間投与すると（M2.6.7.6、TA0616 及び M2.6.7.7、TA0660）、ラットでの所見と類似した一過性の CNS 関連の一般状態の変化（すなわち、活動性低下、協調運動障害、不安定歩行、流涎）が誘発され、100 又は 200 mg/kg/日以上の用量では摂餌量及び体重の減少、並びに嘔吐が認められた。

いずれの試験でも肝臓が標的臓器であった。37.5 mg/kg/日以上の用量群で肝臓及び胆管に用量依存性の有害な影響が認められた。これらは、すべての試験（13 週間試験を除く、M2.6.7.7、PSM0812）でみられた ALP、ALT、AST、ソルビトールデヒドロゲナーゼ（SDH）、5'-ヌクレオチダーゼ又はガンマグルタミルトランスフェラーゼ（GGT）の増加を伴う肝細胞、クッパー細胞又は毛細胆管への褐色色素（ポルフィリン）の沈着、及び 26 週間試験（M2.6.7.7、PSM1013）でみられた小葉中心の線維化及びオーバル細胞/胆管の過形成であった。75 mg/kg/日以上の用量では、肝単細胞壊死、炎症性細胞浸潤、及び胆嚢内腔の結石（鉱質沈着によると考えられる）もみられた。また、複数試験にわたり肝臓重量の増加（4 週間試験の 37.5 mg/kg/日以上の用量群及び 26 週間試

験の 75 mg/kg/日群）、並びに全用量群での肝薬物代謝酵素活性の誘導（主に CYP2B 及び CYP3A）等の変化も認められた。4 週間及び 26 週間毒性試験における NOAEL は、雌雄とも 15 mg/kg/日とされた。用量範囲 6～37.5 mg/kg/日（1 日 2 回投与）で実施した 13 週間毒性試験では、投与に関連する有害な変化はみられず、NOAEL は 37.5 mg/kg/日であった。変化は、肝臓重量の増加及び CYP 活性の増加のみであったが、高用量の 37.5 mg/kg/日では、同様な 1 日 2 回投与計画を用いた 4 週間毒性試験の結果と比較して、わずかに高い曝露量が得られた（13 週間試験の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}12h}$ 値は 21.9 及び 104 µg･h/mL であったのに対し、4 週間試験の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}12h}$ 値は 14.9 µg/mL 及び 75.1 µg･h/mL）。なお、4 週間試験の 37.5 mg/kg/日（1 日 2 回投与）でみられた影響の発現率は非常に低く、13 週間試験において同じ用量で影響がみられなかったことを、このことから説明できると考えられる。

成体イヌにブリーバラセタムを 13 週間経口投与した場合の肝臓に有害所見が認められなかったため、可逆性は評価できなかった。しかし、これらの所見の可逆性は、成体イヌの静脈内投与（下記参照）及び幼若イヌの経口投与（4.5.1.2 項）で評価された。

イヌを用いた 4 週間の静脈内投与毒性試験（24 時間持続点滴）において用量 30、100 及び 150/300/200 mg/kg/日を投与したところ［忍容性を保証するため、高用量は 150 mg/kg/日（2 日間）から 300 mg/kg/day まで漸増した後、摂餌量及び体重が減少したため、Day 15 又は 16 以降に 200 mg/kg/日まで減量した］、100 mg/kg/日以上の用量で、肝細胞、毛細胆管、クッパー細胞、肝リンパ節の組織球様細胞へのポルフィリン色素沈着、並びにそれに伴う AST、ALT、ALP、乳酸脱水素酵素（LDH）又は総ビリルビンの用量依存的増加、肝細胞アポトーシスの増加、炎症細胞の浸潤及び胆嚢内の濃色結石の蓄積等、経口投与時と同様の肝臓所見が認められた（M2.6.7.7、NCD1543）。また、100 mg/kg/日以上の用量では、肝臓重量の増加を伴う小葉中心性肝細胞肥大、胸腺重量の減少を伴う胸腺萎縮及び副腎皮質細胞肥大がみられた。2 週間の休薬期間後、肝臓の組織学的所見の一部が部分的回復を示し、肝細胞アポトーシス及び小葉中心性肝細胞肥大の発現率及び重症度は低下したが、胆嚢での色素沈着、炎症細胞浸潤及び濃色結石の発現率及び重症度は変化しなかった。肝酵素の増加も部分的に回復し、回復期間終了時に ALT 活性、ALP 活性及び総ビリルビンの増加が依然として認められたものの、その程度は低下していた。胸腺及び副腎の組織学的変化も部分的回復を示し、所見は持続していたが重症度の低下が認められた。静脈内投与後の NOAEL は、雌雄ともに 30 mg/kg/日とされた。

4.2.3　サル

カニクイザルを用いた 4 週間及び 39 週間の 1 日 2 回（10 時間間隔）の強制経口投与による主要な反復投与毒性試験を実施した。試験した用量は両試験ともに 300～900 mg/kg/日であった。予備的毒性試験（急性及び 7 日間）では、より広い用量範囲で最高 3200 mg/kg/日までを検討した（M2.6.7.6、PSM1016）ところ、1200 mg/kg/日以上で摂餌量及び体重の減少、並びに一般状態の変化（嘔吐、活動性低下、平衡感覚の喪失）がみられ、1600 mg/kg/日以上で胃底部の出血を伴うびらんがみられ、3200 mg/kg/日では重度な毒性の徴候によりサルを屠殺した。いずれの試験でも、投与に関連する心電図パラメータの変化はみられなかった。

用量 0、300、600 及び 900 mg/kg/日（1 日 2 回投与）での 39 週間毒性試験では、900 mg/kg/日で雌雄両方の肝臓重量の増加を伴うびまん性肝細胞肥大、及び雄の肝細胞へのリポフスチン色素沈着がみられ、600 mg/kg/日以上で ALT、トリグリセリド及びグルタミン酸脱水素酵素（GLDH）のわずかな増加等、適応反応による肝臓所見が認められた（M2.6.7.7、PSM1140）。予備的な 2 週間（M2.6.7.6、PSM1038）及び 4 週間（M2.6.7.7、PSM1101）の毒性試験において、主に 900 mg/kg/日

で肝臓重量及び臨床化学検査パラメータの変化が既に認められていた。これらの変化は、600 mg/kg/日以上（4 週間試験）で観察された CYP3A 及び CYP2B に関連する CYP 活性の軽微な増加と相関していた。これらの変化はすべて、肝臓の適応反応を示すもので、有害なものではないと考えられた。また、600 mg/kg/日以上では、散発的な嘔吐、流涎過多、活動性低下、不器用な運動、虚脱、行動抑制、平衡感覚の喪失等、一過性の一般状態の変化が認められた。NOAEL は、いずれの試験でも 900 mg/kg/日とされた。

4.2.4 イヌの肝臓所見についての考察

ブリーバラセタムをイヌに長期投与したところ、37.5 mg/kg/日以上で肝臓に有害な変化がみられたが、ラットは 450 mg/kg/日まで（26 週間試験）、サルは 900 mg/kg/日まで（39 週間試験）の用量では、代謝に関連する肝臓の適応反応のみを示し、肝毒性の証拠を示さなかった。イヌでは、長期投与により、ポルフィリンの蓄積を特徴とする肝臓の変化（すなわちポルフィリン症）が誘発され、それに伴い肝臓の傷害及び用量依存性の肝酵素増加がみられた。MRHD（成人で 200 mg/日）での血漿中曝露量に基づくと、イヌ、ラット及びサルの長期毒性試験で得られた安全域は、ラットで 5〜8 倍、サルで 42 倍であったのに対し、イヌでは 0.6 倍であった（表 4-3）。

イヌの肝臓所見に関する意見書（Brivaracetam-Opinion Paper-2014 Executive Summary）に、これらのブリーバラセタムにより誘発されたイヌの肝臓所見がヒトには無関係であると考えられるとの見解を裏付ける科学的データの概要を示した。この裏付け証拠は、ブリーバラセタムのデータ及び ucb-101747-1 に関するより詳細な機序解明研究に基づく。ucb-101747-1 は、構造的にブリーバラセタムと関連のある SV2a リガンドであり、ブリーバラセタムと同じイヌ特異的な肝ポルフィリン症を示す。臨床的意義がないことは、ヒトの患者を対象とした試験で、肝機能検査に基づく肝臓シグナルがみられないことからも直接的に裏付けられる。またブリーバラセタムは、遺伝性欠損を持つ患者に急性ポルフィリン症発作を誘発する傾向を示さないと考えられる。

ブリーバラセタム及び構造的に関連のある化合物 ucb-101747-1 について蓄積された毒性及び機序のデータから、いくつかの複合的な要因によりイヌがポルフィリン症を発症したことが示唆された。これらの要因は、i）ブチルアミド側鎖の酸化による生物学的活性化により、既知のポルフィリン生成物質と構造的に類似した反応性代謝物が生成すること、ii）この反応性代謝物によるチトクローム（CYP）のアルキル化に起因する N-アルキルプロトポルフィリン（N-アルキル PP）生成、CYP 不活化及び（おそらく）非線形薬物動態、及び iii）ヘム合成の誘導である。ヘム生合成経路の最後の酵素であるフェロケラターゼの N-アルキル PP による阻害及び CYP 不活化により、ポルフィリン前駆体であるプロトポルフィリンが蓄積する。このプロトポルフィリンの蓄積は、CYP 誘導によるヘム生合成経路のアップレギュレーションによっても促進される。

イヌとは全く異なり、ヒトから得られたブリーバラセタムのデータは、生物学的活性化の証拠（すなわち、ブチルアミド側鎖の酸化）、CYP 不活化の証拠、（自己阻害による）非線形薬物動態の証拠、及び臨床的に意義のある CYP 誘導の証拠を示さなかった。これらのデータに加え、臨床試験では 4230 例超のてんかん患者に最高用量 200 mg/日までのブリーバラセタムを、最長で 13 年以上の投与、同様に市販後曝露 465,773 患者・年を投与しても、肝臓への影響がみられなかったことから、イヌに認められたブリーバラセタム誘導性のポルフィリン症に臨床的意義はないと考えられる。

臨床現場では、いくつかの薬剤が、ヘム生合成経路酵素の遺伝的欠損の無症候性キャリアにおいて急性ポルフィリン症発作を誘発する可能性がある。このような誘発剤は、一般的に CYP やヘ

ム合成を誘導することで作用し、それによりポルフィリン前駆体の蓄積を増幅させる（Smith and De Matteis, 1980、Puy et al, 2010、Thunell, 2000、Thunell et al, 2007、Solinas and Vajda, 2004）。ブリーバラセタムはヒト CYP を誘導・不活化する作用を持たないため、ブリーバラセタムには遺伝性ポルフィリン症を促進する傾向がないと考えられる。

結論として、これらのイヌ肝臓所見は、ヒトの安全性には無関係であると考えられる。ブリーバラセタムには、ヒトにおいて肝ポルフィリン症や遺伝性ポルフィリン症を誘発するリスクがないと考えられる。

4.3 遺伝毒性

ブリーバラセタムの遺伝毒性を、一連の試験で評価した。*In vitro* 評価では、細菌及び哺乳類細胞系を用いた遺伝子変異試験、並びに哺乳類細胞を用いた染色体異常誘発試験を実施した。*In vivo* 試験では、ラットを用いた骨髄小核試験、並びに Muta™マウスの肝臓及び骨髄における変異誘発の評価を実施した。後者の Muta™マウス試験は、104 週間のがん原性試験において、雄マウスの肝細胞腫瘍の発現率の増加が認められたことを受けて実施した。すべての試験は、表示純度 99.5%超のブリーバラセタムロットを用いて実施した。同時に試験した陰性対照及び陽性対照は期待された反応を示し、試験系が適切に機能したことが確認された。

全体で、変異原性、異数性誘発又は染色体異常誘発作用を示す証拠はない。この結論は、ICH S2(R1)により現在推奨されている基準を考慮に入れた証拠の重み付け解析に基づく。ブリーバラセタムは *in vitro* のエームス試験で陰性であった（M2.6.7.8、TA0663）。少数の一貫性のない、弱陽性所見及び不明瞭所見が、*In vitro* 哺乳類細胞の 2 試験［それぞれ代謝活性化系非存在下でのマウスリンパ腫突然変異試験（M2.6.7.8、TA0662）及び代謝活性化系存在下でのチャイニーズハムスター卵巣（CHO）染色体異常試験（M2.7.1.8、TA0786）］で得られたが、試験実施時に使用した実験条件及び評価基準が現行基準とは異なっていたため、これらの所見に生物学的意義はないと考えられる（Moore et al, 2006、Moore et al, 2007）。実際に、これらの弱陽性所見又は不明瞭所見は、現行推奨値の 10 倍以上の濃度の 2000 µg/mL 超で得られ、マウスリンパ腫試験では突然変異頻度増加の生物学的意義を評価する際に総合的評価ファクター（GEF）を考慮しておらず、また、マウスリンパ腫試験で GEF を超えた唯一の結果及び染色体異常試験での不明瞭な結果は、現行推奨値を大幅に上回る細胞毒性濃度で得られている。ブリーバラセタムは 1000 µg/mL を超える濃度で細胞毒性を示すことがマウス線維芽細胞 3T3 で確認された。

さらに、*in vivo* 試験から得られた裏付けデータは、*in vivo* ラット骨髄小核試験［最大耐量 2000 mg/kg までの用量を 2 日間投与した試験］で遺伝毒性が認められないこと（M2.6.7.9、TA0749）、及び Muta™マウスの肝臓及び骨髄（最大耐量 1350 mg/kg までの用量を 28 日間投与した試験）で変異原性が認められないことを示した（M2.6.7.9、NCD1965）。

4.4 がん原性

ブリーバラセタムのがん原性を評価するため、マウス及びラットを用いて、混餌投与と強制経口投与とを併用して最大耐量まで投与する 104 週間のバイオアッセイ 2 試験を実施した。

4.4.1 マウス

混餌投与（0 又は 300 mg/kg/日）と 0、100、250 及び 400 mg/kg/日の強制経口投与（1 日 2 回、6 時間間隔）との併用により、CD-1 マウスに用量 0、400、550 及び 700 mg/kg/日を 104 週間投与した。ラットを用いた長期毒性試験と同様に、CD-1 マウスにおける被験物質の半減期が短いため（2 時間以下）、1 日 2 回、6 時間間隔の強制経口投与を選択し、それに加えてより持続的な薬物曝露のための混餌投与も行った。用量は、2 週間及び 13 週間の用量設定試験における最大耐量、及び当時の（発作治療以外の効能・効果での）MRHD である 400 mg の 1 日 2 回投与による予測ヒト曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$：110 μg･h/mL）に基づき設定された。13 週間試験では 1000 mg/kg/日以上の用量は忍容性が不良であり、死亡及び一般状態の変化を誘発した（M2.6.7.10、PSM1256）。予備的な 2 週間試験では、900 mg/kg/日でも死亡が認められた（M2.6.7.10、PSM1171）。1000 mg/kg/日の 13 週間投与では、これに加えて、雌雄両方で肝臓重量とコレステロール値の増加を伴う小葉中心性肝細胞肥大、及び雄での ALT、AST、ALP 及び GLDH の増加を伴う肝単細胞壊死がみられた。675 mg/kg/日でも同様の影響がみられたが、発現率及び重症度は低く、雄でのわずかな GLDH の増加及び雄 1 例での肝単細胞壊死がみられたのみであった。NOAEL は 450 mg/kg/日であった。

104 週間のがん原性試験では、投与に関連した生存率への影響は認められなかった（M2.6.7.10、NCD1304）。雄では、550 mg/kg/日の中用量及び 700 mg/kg/日の高用量で肝細胞腫瘍の発現率が増加した。雌では、いずれの用量でも同様な影響を示す証拠はなかった。雌雄いずれでも、他の腫瘍の発現率、外観、発生又は性質に対する投与の影響を示す証拠はなかった。雄に特有の肝腫瘍発現率の増加は、遺伝毒性によらない誘発機序と整合しており、肝臓の肥大性変化及び肝薬物代謝酵素の誘導に起因する可能性が高いと考えられた。実際、ブリーバラセタムを投与されたマウスの肝臓では肝細胞肥大がみられ、その影響は雌よりも雄ではるかに顕著であった。これは、マウスを用いた 13 週間の用量設定試験での肝酵素誘導（CYP2B 及び 3A）に対するブリーバラセタムのフェノバルビタール様の影響が、雌よりも雄で顕著であったことと整合する 。マウスでの肝細胞腫瘍の発現率の増加は、有意なレベルの薬物代謝酵素の誘導を一般的に伴い、フェノバルビタール等で報告されている。非臨床試験用動物種におけるフェノバルビタールの肝がん原性反応がヒトと無関係であることは、広く受け入れられている（Holsapple et al, 2006; Ross et al, 2010）。この非遺伝毒性機序は、MutaTM マウス試験（MutaTM マウス：CD2-lacZ80/HazfBR 系統）のデータからも裏付けられており、肝臓及び骨髄において、ブリーバラセタムの毒性の限界用量（1350 mg/kg/日）までの用量を 28 日間連続投与した場合に変異原性を示さないことが確認されている。

肝臓（主に肝細胞及びクッパー細胞のリポフスチン色素、肝単細胞壊死）並びに鼻腔/頭部（嗅粘膜のリポフスチン色素沈着、粘膜腺の過形成の発現率の軽微な増加）にみられた他の非腫瘍性の、投与に関連する所見は、適応反応であり、毒性学的重要性は低いと考えられた。

104 週間の投与後、NOAEL は雄で 400 mg/kg/日、雌で 700 mg/kg/日とされた。

4.4.2 ラット

混餌投与（0 又は 100 mg/kg/日、自由摂取）と 0、50、130、350 及び 600 mg/kg/日の強制経口投与（1 日 2 回、6 時間間隔）とを併用し、ラットに 1 日総用量 0、150、230、450 及び 700 mg/kg/日を 104 週間投与した。用量は、ラットを用いた 2 週間の嗜好性試験、並びに 4 週間及び 26 週間の経口投与毒性試験のデータに基づき選択された。混餌投与したとき（100～1500 mg/kg/日）、用量 100 mg/kg/日よりも高用量では摂餌量及び体重が減少したが、100 mg/kg/日に近い用量を 1 日 2 回に分けて強制経口投与した場合、これらの所見は認められなかったため、用量 100 mg/kg/日が実際に

投与可能な最高用量と考えられた（M2.6.7.6、PSM0939）。4 週間の毒性試験において、1000 mg/kg/日以上の用量で重度の一般状態の変化が誘発されたため、1000 mg/kg/日群のラット数例を屠殺し、1500 mg/kg/日群を早期終了した（M2.6.7.7、TA0661）。13 週間（M2.6.7.7、PSM0813）及び 26 週間（M2.6.7.7、PSM1029）の毒性試験では、それぞれ高用量の 400 mg/kg/日（1 日 2 回投与）及び 450 mg/kg/日（1 日 2 回投与と混餌投与）が NOAEL とされ、肝臓の適応変化のみをもたらした。したがって、当時は 400 mg/日であった（発作治療以外の効能・効果での）MRHD の推定曝露量（110 µg･h/mL）と比較して十分な比率の曝露量を得るため、ラットを用いた 104 週間がん原性試験のために設定された用量は、0、150、230、450、700 mg/kg/日であり、高用量の 700 mg/kg/日は 26 週間毒性試験の高用量を超えていた。

投与に関連した生存率への影響は認められなかった（M2.6.7.10、NCD1305）。いずれの組織においても、腫瘍の種類、発現率、形態又は発現時期に、投与に関連する影響は認められなかった。投与に関連した非腫瘍性の組織学的所見が、肝臓（特に小葉中心肝細胞の肥大、リポフスチン色素及び空胞化）、腎臓（雄にみられた軽度のヒアリン滴腎症）、及び甲状腺（230 mg/kg/日以上の雄にみられた濾胞細胞のリポフスチン色素）で認められ、これらは過去のラット反復経口投与試験での所見と一致した。これらの変化は、有害ではない適応変化の結果（肝臓、甲状腺）であり、ヒトに対する毒性学的意義はないと考えられた（腎臓）。

したがって NOAEL は、700 mg/kg/日とされた。

4.5 生殖毒性

ラット及びウサギに経口投与することにより、ブリーバラセタムが生殖の全段階、すなわち受胎能、初期及び胚胎児発生、並びに母体機能を含む出生前/後の発生に及ぼす影響を試験した。ラットでは、（最大耐量を上回る用量 1000 mg/kg/日以上を投与した）4 週間毒性試験及び（NOAEL が 400 mg/kg/日であった）13 週間毒性試験並びに（選択された用量の適切性が確認された）胚胎児用量設定試験のデータに基づき用量を選択した。ウサギでは、（最大耐量が 300 mg/kg/日であった）非妊娠ウサギを用いた最大耐量試験及び（200 mg/kg/日以上で母体毒性、300 mg/kg/日で着床後の胚損失数増加がみられた）胚胎児用量設定試験のデータに基づき用量を選択した。

ラットでは、試験した最高用量 400 mg/kg/日までブリーバラセタムは、受胎能、交配、初期胚発生に影響を及ぼさなかった（M2.6.7.12、PSM0978）。

ラットでは、母体毒性の（軽微な）証拠（流涎、半眼、及び一過性の摂餌量減少）が認められたものの、試験した最高用量である 600 mg/kg/日まで、妊娠への影響、胚胎児への影響、及び催奇形性の証拠は認められなかった（M2.6.7.13、PSM0853）。

ウサギでは、試験したすべての用量（30～240 mg/kg/日）でブリーバラセタムは顕著な、しかし概ね一過性の母体毒性（体重減少及び摂餌量の減少）を示した（M2.6.7.13、PSM0860）。すべての用量で、体重減少及び摂餌量減少の持続により一部の動物が早期屠殺された。これらの母体への影響は、240 mg/kg/日での胚毒性（着床後胚損失の増加、生存胎児数と胎児体重の減少）、60～240 mg/kg/日での前仙椎の増加した（主に第 13 肋骨の追加による）胎児数の増加、及び 240 mg/kg/日での骨形成の程度に関連する軽微な変化を伴った。これらの影響は、胎児発生に対するブリーバラセタムの直接的影響ではなく、母体毒性によるものと考えられた。実際に、母体毒性が起こった場合、ウサギでは余分な肋骨及び骨形成の遅延がよく発生する（Khera, 1981）。また、他に胎児への影響が認められない場合、これらの骨格変異のバックグラウンド発現率の高いウサギにおいては特

に、27 個の前仙椎や第 13 肋骨の発生が増加しても、発生毒性の十分な証拠とならない（Holson et al, 2006）。したがって胎児/発生への影響についての NOAEL は、120 mg/kg/日とされた。

ラットの出生前及び出生後発生試験では、生殖機能や機能発達、神経行動発達への影響はみられなかった（M2.6.7.14、NCD1330）。母体毒性は認められなかったが、高用量群（600 mg/kg/日）の第一世代ラットで体重増加率の軽度な減少が記録され、それに伴い膣開口達成齢が軽度に増加したが、これらは他の雌生殖パラメータに影響しなかった。膣開口達成の遅延は、体重の減少と関連しており、平均思春期開始齢にも影響する（Carney et al, 2004）。よって、この影響は、離乳後早期の児の体重が低かったためであると考えられるが、雌の他の生殖パラメータや雄の思春期開始（包皮分離）に影響を与えなかった。F_0 の母体への影響、F_0 及び F_1 の生殖毒性、及び F_1 の機能発達、神経行動発達についての NOAEL は 600 mg/kg/日とされた。F_1 新生児/出生後の発生についての NOAEL は 300 mg/kg/日であった。これは、600 mg/kg/日での F_1 児の平均体重増加率が低かったためである。

4.5.1 幼若動物試験

4.5.1.1 幼若ラット

幼若動物毒性試験では、ラットに 0、150、300 及び 600 mg/kg/日のブリーバラセタムを生後 4 日目から 9 週間投与した。用量は、（最大耐量を上回る 1000 mg/kg/日以上の用量を試験した）成体を用いた 4 週間毒性試験、（600 mg/kg/日で軽微な母体毒性が認められたが、胚胎児への影響や催奇形性の証拠はなかった）胚胎児発生毒性試験、及び（600 mg/kg/日で被験物質に関連した死亡、一般状態の変化、体重増加率の低下を示した）幼若ラットを用いた用量設定試験に基づき設定した。

600 mg/kg/日の高用量では、生後 10 日目（PND10）以降に著しい毒性、すなわち死亡、一般状態の変化、体重減少が誘発された（M2.6.7.15、NCD1671）。瀕死例での一般状態の変化としては、蒼白の又は冷たい身体、あえぎ、努力性呼吸、ラ音、活動性低下、やや垂れた又は完全に閉じた眼瞼、歩行中の揺れ、傾き及びふらつきが認められた。減少した体重は離乳までに部分的に回復した。600 mg/kg/日で活動性（雄、PND22）及び驚愕反応（PND78）に単発の影響がみられたことを除き、感覚及び運動機能（機能観察総合評価、自発運動又は驚愕反応）あるいは学習及び記憶評価（Biel 迷路）に対する影響はなかった。600 mg/kg/日群では、PND22、PND71 及び PND100 において、雌雄両方で対照群との比較による絶対脳重量の減少（最大-11.4%）が記録された。平均脳重量を体重に対する相対値として表すと、雌でのみ PND71 に統計的有意性が認められた。

これらの相対平均脳重量は、回復期間終了時（PND100）には対照と同等であった。神経病理学的検査及び組織学的検査で記録された所見はなく、行動機能への悪影響も認められなかった。脳重量への影響の原因は不明であるが、おそらく非常に幼若な児ラットにみられた重度の毒性状態に関係していると考えられる。なお、若齢（PND4）では、おそらく新生児ラットの肝機能及び腎機能が未成熟であるため、ブリーバラセタムの血漿中曝露量がその後の発生段階に比べて非常に高くなることに留意する必要がある（M2.6.4、表 3-23 及び M2.6.4、表 3-24）。

300 mg/kg/日及び 150 mg/kg/日では、絶対平均脳重量の減少は、投与期間終了時（PND71）の雄でのみ統計的有意性を示した。投与の影響と関連している可能性はあるものの、本所見は振幅が小さく（-0.1～-6.5%）、対照群の同齢の集団における本パラメータの変動として認められた振幅（-12～-26%）を大きく下回っていたため、有害とは判断されなかった（M2.6.7.15、NCD1883）。さらに、脳重量を体重に対する相対値で表した場合、統計的な有意性は認められなかった。低用量群

及び中用量群で実施したいずれの行動試験においても、投与に関連する顕著な悪影響はみられなかった。

いずれの用量群でも、神経病理学的検査及び脳組織学的検査で記録された所見はなかった。いずれの用量においても、生殖ホルモン濃度、骨量、大腿骨長、性成熟の開始、生殖能への有意な影響はなかった。

成体ラットにブリーバラセタムを投与した反復投与毒性試験で以前に認められ、予想されていた肝臓所見（肝細胞肥大）及び雄の腎臓所見（ヒアリン滴腎症）が 300 mg/kg/日以上で認められたことを除き、病理組織学的変化はなかった。これらの変化は、PND100 までに完全に回復した。

児の成長及び発生（CNS の発生を含む）についての NOAEL は 300 mg/kg/日とされた。F_1動物の生殖毒性についての NOAEL は 600 mg/kg/日とされた。FDA は、initial Pediatric Study Plan（iPSP）を審査し、300 mg/kg/日群の雌と対照群の雌との間で、特定された死因について補正した場合の死亡の発現率にわずかな差があったことから、NOAEL を雄で 300 mg/kg/日、雌で 150 mg/kg/日と結論付けた。FDA の要請により、これらの NOAEL を iPSP に反映したことから、米国の添付文書案もそれに沿って作成した。これらの NOAEL の投与に伴う PND70 での血漿中曝露量は同程度であった（雄で 253 µg･h/mL、雌で 239 µg･h/mL）。

4.5.1.2 幼若イヌ

幼若動物毒性試験では、幼若ビーグル犬に 0、15、30 及び 100 mg/kg/日のブリーバラセタムを PND4 から 9 ヵ月間投与した。観察された所見の回復を 56 日間の回復期間後に評価した。用量は、幼若イヌを用いた予備的な 4 週間用量設定毒性試験で、100 mg/kg/日までの用量で忍容性が良好であったこと、また、50 mg/kg/日以上の用量で体重と骨指標が減少し、肝細胞肥大がみられたことに基づき設定した。

幼若イヌにブリーバラセタムを投与したところ、成体と同様の影響がみられた。治療に関連した死亡又は一般状態の変化はなく、幼若イヌの成長への悪影響はなかった（M2.6.7.15、NCD1863）。骨密度又は強度、脳測定値、神経行動評価並びに中枢及び抹消神経系の神経病理評価への有害な影響はなかった。成体と同様に、標的臓器は肝臓であり、100 mg/kg/日群では雌雄ともに組織学的所見が認められた（主に肝細胞傷害及び胆汁うっ滞を伴う肝臓のポルフィリン沈着、並びに血清 ALP、ALT、AST 及び GGT の増加、並びに胆嚢内の結石）。56 日間の回復期間終了時には、胆嚢における褐色色素の蓄積及び結石を除き、所見の部分的又は完全な回復が認められた。その他の所見としては、100 mg/kg/日群の雌で、体重に影響を与えることなく甲状腺ホルモン T4 の濃度が低下し、また、胸腺重量の低下に伴い胸腺萎縮の重症度がわずかに増加したが、胸腺萎縮の発現率は増加しなかった。これらの所見は、部分的又は完全に回復した。胸腺萎縮は、ストレスによるリンパ系の萎縮である可能性が否定できないものの、投与に関連する影響の可能性ありとされた。

NOAEL は、30 mg/kg/日とされた。

4.6 局所刺激性

静脈内投与による臨床試験の実施に向けて、ブリーバラセタムの溶血性を評価する試験及びブリーバラセタムの静注液を誤って投与した場合の影響を評価する試験を実施した。

濃度 10～20 mg/mL のブリーバラセタムは溶血性を示さなかった（M2.6.7.16、NCD1491）。臨床試験用の静注製剤の予定濃度（すなわち 10 mg/mL）を上回るブリーバラセタムの濃度 30～50 mg/mL で軽度から重度の溶血が認められた。

臨床使用が予定されている濃度（10 mg/mL）のブリーバラセタムをウサギに静脈内、動脈内、又は静脈周囲投与したところ、局所忍容性は良好であった（M2.6.7.16、NCD1646）。

4.7 その他の毒性試験

4.7.1 機序解明試験

ブリーバラセタムの機序解明試験として、*in vitro* 遺伝毒性試験で認められたブリーバラセタムの細胞毒性をさらに評価するための細胞毒性試験、ラットの包皮腺及び陰核腺にブリーバラセタムが高濃度で分布した場合のこれらの腺に対する影響を検討するための試験、及び雄ラットでのヒアリン滴腎症の性質を検討する機序解明試験が実施された。

細胞毒性は、Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いて、濃度 50～5000 µg/mL における乳酸脱水素酵素（LDH）放出量（M2.6.7.17、PSM0789）、細胞内アデノシン三リン酸（ATP）濃度（M2.6.7.17、PSM0790）又はたん白質合成量（M2.6.7.17、PSM0791）を試験することにより検討した。その結果、前者 2 試験では低レベルの細胞毒性が認められたが、陽性反応がみられたのは高濃度の 4000 及び 5000 µg/mL のみであった。しかし、たん白質合成は、1000 µg/mL 以上で阻害された。

ブリーバラセタム 300 mg/kg/日を 2 週間及び 4 週間投与しても、ラットの包皮腺、陰核腺及びジンバル腺に病理組織学的変化は認められなかった（M2.6.7.17、PSM0811）。

1000 mg/kg/日のブリーバラセタムを 2 週間投与した後、ELISA により評価したところ、ブリーバラセタム投与を受けた雄では、α2µ-グロブリン濃度の群平均値が高くなり、また、個々のα2µ-グロブリン濃度は、光学顕微鏡で観察された腎尿細管の変化（ヒアリン滴）に基づく重症度スコアと相関していた（M2.6.7.17、PSM1017 及び M2.6.7.17、PSM1088）。これらのデータから、ヒアリン滴が α2µ-グロブリンから成ることが強く示唆される。いずれの雌からもα2µ-グロブリンは検出されなかった。

4.7.2 依存性試験

雄の Sprague-Dawley（SD）ラットを用いて、薬物乱用及び依存性の可能性について 3 試験を実施した。

コカインを自己投与するように条件付けしたラットにおいて、ブリーバラセタム及びクロルジアゼポキシド（CDP）の相対的強化効果を、ボーラス静注後に評価した（M2.6.7.17、NCD1786）。コカインを静脈内に自己投与するよう条件付けられたラットにおいて、用量 0.32～10 mg/kg/回のブリーバラセタム投与による正の強化効果は認められなかった。これは、ブリーバラセタムの自己投与が開始又は維持されなかったことにより示された。

ブリーバラセタム（230 又は 450 mg/kg/日：130 又は 350 mg/kg を 1 日 2 回に分けて強制経口投与 + 100 mg/kg を混餌投与）及び CDP（450 mg/kg/日、1 日 2 回に分けて強制経口投与）が、30 日間の長期投与後の突然の投与中止により典型的な離脱症候群を誘発する可能性を評価した。ブリーバラセタムは、依存又は離脱症候群の徴候を示さなかった（M2.6.7.17、NCD1785）。CDP は、科学文献で過去に報告されている「ベンゾジアゼピン」型の典型的な離脱症候群を引き起こした。

ブリーバラセタムによる内受容効果又は自覚効果と CDP によるそれらの効果との類似の可能性について、SD ラットを用いて、レバーを押すと飼料が与えられるオペラント箱で検討した。用量 1～320 mg/kg のブリーバラセタムを腹腔内投与したところ、5.6 mg/kg の CDP による訓練刺激への部分般化が認められた（M2.6.7.17、NCD1784）。本試験では、ブリーバラセタムによる CDP 刺激への完全な般化は示されなかった。ブリーバラセタムの最も高い 2 用量（180 及び 320 mg/kg）は、反応率を低下させ、行動毒性（すなわち、運動失調）を示したため、本試験デザインではブリーバラセタムをさらに試験しなかった。結論としてブリーバラセタムは、乱用性が知られている抗けいれん薬及び抗不安薬である CDP 5.6 mg/kg を完全には置換せず、これらの薬物の自覚効果が異なることが示された。

4.7.3　光毒性

ブリーバラセタムは、290～700 nm の UV-B、UV-A 及び可視光線を吸収しないため（M3.2.S.3.1.1.1）、また、単回経口投与後のラットの目及び皮膚への[^{14}C]-ブリーバラセタム蓄積の証拠がないことから（M2.6.4.4.2）、光毒性試験は実施しなかった。

4.7.4　代謝物の評価

ヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1（薬理活性を持たない）が重度の腎機能障害を有する被験者において比較的高濃度で観察されたため（試験番号 N01109）、十分な安全性データを確保するために以下の主要な試験を実施した（表 4-2）。

表 4-2　ヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の毒性試験

試験番号	試験の種類及び期間	試験系	投与経路	用量 (mg/kg/日)
NCD1982	反復投与毒性試験（13 週間）	ラット	持続点滴静注	0、500、1000、2000
NCD1760	細菌を用いた復帰突然変異試験	ネズミチフス菌、大腸菌	*in vitro*	-
NCD1759	哺乳類細胞を用いた突然変異試験	マウスリンパ腫	*in vitro*	-
NCD1800	*In vivo* 小核試験	ラット	60 分間点滴静注	0、500、1000、2000
NCD1975	胚/胎児発生	ラット	持続点滴静注	0、200、500、1000

本代謝物の安全性プロファイルをラットで評価した。データから、別の動物種でさらに試験する必要性が示されなかったため、イヌ最大耐量試験（M2.6.7.17、NCD1643）を除き、イヌを用いた試験は行わなかった。本代謝物について実施した安全性薬理試験は、M2.6.2.4.6.1 に記載した。ucb-107092-1 の経口バイオアベイラビリティが比較的低く（ラットでは 20%未満）、腎機能障害患者における PK プロファイルは C_{max} と C_{min} が同程度な比較的平坦で一定の曝露量を特徴とするため、すべての *in vivo* 試験で、持続点滴静注を投与経路として選択した。CNS、消化管、呼吸器系、循環器系への有害な影響は認められず、また、ucb-107092-1 が変異原性も染色体異常誘発作用も持たないことが示された。13 週間の反復投与後、試験した最高用量まで有害な影響はみられず、大きな安全域が得られた。本化合物は、胚毒性も催奇形性も持たなかった。算出された安全域を表 4-4 に示す。

13 週間毒性試験では、ラットに用量 0、500、1000 又は 2000 mg/kg/日の ucb-107092-1 を持続点滴静注した。これらの用量は、予め実施された 14 日間持続点滴試験に基づき設定された。この 14 日間試験では、2000 mg/kg/日群及び 10,000 mg/kg/日群での主な所見は同様であり、相関する組織学的所見を伴わない腎臓重量のわずかな増加、並びに軽微な肝臓門脈周囲の高色素血症又は好塩基球増加症を含んだ。13 週間毒性試験で代謝物 ucb-107092-1 の有害な影響の可能性を検出するには、2000 mg/kg/日の高用量で十分であり、その曝露量は重度の腎機能障害患者にブリーバラセタム 200 mg/日を投与した場合の 30 倍に相当すると考えられた。ucb-107092-1 に関連する死亡も一般状態の変化もなかった（M2.6.7.17、NCD1982）。また、ucb-107092-1 の投与に直接関連があると考えられる肉眼的所見も顕微鏡的所見もなかった。NOAEL は、2000 mg/kg/日であった。

遺伝毒性の検討で ucb-107092-1 は、最高 5000 µg/プレートまでの濃度で細菌を用いて実施した復帰突然変異試験（M2.6.7.17、NCD1760）及び最高 2293 µg/mL（10 mmol/L）までの濃度で実施したマウスリンパ腫試験（M2.6.7.17、NCD1759）において、代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれでも遺伝毒性を示さなかった。*In vivo* では、最高 2000 mg/kg/日までの用量の ucb-107092-1 を 60 分間の点滴により投与しても、雄ラットの骨髄多染性赤血球に小核を誘発しなかった（M2.6.7.17、NCD1800）。

胚胎児試験において、ucb-107092-1 は、ラットに最高 1000 mg/kg/日までの用量で持続点滴静注したとき、母体毒性、胚胎児毒性及び催奇形性を示さなかった（M2.6.7.17、NCD1975）。

4.7.5 不純物及び分解生成物の評価

ブリーバラセタムロットに不純物として存在するブリーバラセタムのジアステレオマーである ucb 34713 を除き、原薬中のその他すべての不純物は 0.10%又は 0.15%以下と規格を設定され、ICH Q3A (R)の規定に沿って安全性を確認されている。毒性試験に使用したロットの一覧及びそれらの不純物含量は、M2.6.7.4 に記載した。

非臨床安全性試験で使用したロットのほとんどには ucb 34713 が 2%未満しか含まれていなかったが、ブリーバラセタムの開発過程で製造工程のスケールアップに伴い、最大で 2.5%含まれることが示された。したがって、ucb 34713 の毒性を一般毒性試験及び遺伝毒性試験で評価した。

13 週間毒性試験では、ラットに用量 0、10、40 又は 200 mg/kg/日の ucb 34713 を強制経口投与した（1 日 2 回、10 時間間隔）。ucb 34713 は、ブリーバラセタムと同様のトキシコキネティクスプロファイルを有していることから、上記用量による曝露量は、ブリーバラセタムの臨床用量である 200 mg/日を投与されたヒトでの推定曝露量の約 12 倍、50 倍及び 250 倍と予想された。ucb 34713 は、ブリーバラセタムと同様の毒性プロファイルを示した。所見は 200 mg/kg/日群のみで認められ、一般状態の変化、雌の体重増加、コレステロール及びトリグリセリドの増加、肝臓重量とリポフスチン色素の増加を伴う小葉中心性肝細胞肥大、及び雄のヒアリン滴腎症の発生を含んだ（M2.6.7.17、NCD1754）。NOAEL は、40 mg/kg/日であった。

ucb 34713 は、最高 5000 µg/プレートまでの濃度で細菌を用いて実施した復帰突然変異試験（M2.6.7.17、NCD1761）及び最高 2293 µg/mL までの濃度で実施したマウスリンパ腫試験（M2.6.7.17、NCD1762）で、代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれでも変異原性を示さなかった。

これらのデータにより、ucb 34713 の規格値 2.5%以下が裏付けられる。

4.7.6　不活性成分

錠剤、注射液のすべての添加剤又は添加剤成分は、公定書収載の物質であるか、医薬品又は食品の添加物として承認されているため、臨床使用するに当たり、毒性学的観点から懸念する必要はない。

4.7.7　全身曝露量

非臨床安全性試験で得られた詳細なトキシコキネティクスデータは、M2.6.4.3.3 に記載した。表 4-3 は、主要な非臨床安全性試験における血漿中曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）、並びに MRHD である 200 mg/日でのヒトにおける曝露量を考慮して算出されたブリーバラセタムの安全域を示す。表 4-4 は、主要な非臨床安全性試験における血漿中曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）、並びに重度腎機能障害患者における MRHD での曝露量を考慮して算出された ucb-107092-1 の安全域を示す。

表 4-3　主要な試験におけるブリーバラセタムの安全域

			安全域 [a] (平均値又は雄/雌)	
動物種	**試験の種類**	**NOAEL (mg/kg/日)**	**C_{max}**	**$AUC_{0\text{-}24}$**
反復投与毒性				
ラット	26 週間経口投与	450	10/19	4.6/8.3
	4 週間静注	600	6.9/12	10/18
イヌ	26 週間経口投与	15	1.4	0.6
	4 週間静注	30	0.7	1.0
サル	39 週間経口投与	900	64	42
がん原性				
マウス	104 週間経口投与	400/700	2.6/11	1.5/2.9
ラット	104 週間経口投与	700	23	9.1/11
生殖毒性				
ラット	受胎能経口投与	400	15/23	ND
ラット	胚胎児発生経口投与	600[b]	53	32
ウサギ	胚胎児発生経口投与	120	10	3.5
ラット	出生前及び出生後の発生経口投与	300[c]	16	6.7
幼若動物毒性				
ラット	9 週間経口投与	300	13/18 (PND70)	4.5-8.8 (PND70)
イヌ	9 ヵ月間経口投与	30	3.5 (PND276)	1.4 (PND276)

[a]: 算出には MRHD（100mg、1 日 2 回）での C_{max} 及び 2×$AUC_{0\text{-}12}$、すなわち 3.5 µg/mL 及び 56 µg・h/mL を用いた（試験番号 N01067）。[b]: 胚胎児発生に対する NOAEL。[c]: 出生前及び出生後の発生に対する NOAEL。

表 4-4　主要な試験における ucb-107092-1 の安全域

			安全域 [a]（雄/雌又は雌のみ）	
動物種	**試験の種類**	**NOAEL (mg/kg/日)**	**C_{max}**	**$AUC_{0\text{-}24}$**
反復投与毒性				
ラット	13 週間静注	2000	>59/87[b]	34/51
生殖毒性				
ラット	胚胎児発生静注	1000	>39[b]	23

[a]: 算出には MRHD である 200 mg/日のブリーバラセタムを重度の腎機能障害患者に投与したときの ucb-107092-1 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$、すなわち 0.868 µg/mL 及び 35.8 µg・h/mL を用いた（試験番号 N01109）。[b]: 200 mg を単回投与したときの C_{max} との比較に基づく。100 mg を 1 日 2 回投与したときのデータは得られていない。

5.　総括及び結論

ブリーバラセタムは、2-ピロリドン誘導体であり、部分発作（POS）に対する併用療法を目的としている。ブリーバラセタムは、シナプス小胞たん白質 2A（SV2A）に高い選択的親和性を持ち、SV2A を薬理作用のための主要な標的としている。ブリーバラセタムは、てんかんの治療において幅広い薬効範囲を持つと予測される。このことは、部分てんかん、薬剤耐性てんかん及び全般てんかんの動物モデルにおける強力かつ有意な発作抑制により裏付けられる。一種類の代謝物のみが、非常に弱い抗けいれん作用を示すため、ブリーバラセタムの発作抑制効果は、未変化体によると考えられる。

レベチラセタムと比較して、ブリーバラセタムの SV2A に対する選択性及び親和性は著しく高い（Kenda et al, 2004、Gillard et al, 2011）。レベチラセタムとは異なり（Pisani et al, 2004、Margineanu and Klitgaard, 2002）、ブリーバラセタムの作用機序は、高電位依存性カルシウム電流や AMPA 作動性電流の阻害を伴わない。ブリーバラセタムは、SV2A への選択的かつ非常に高い親和性が、最大電気ショック発作モデル及びペンチレンテトラゾール発作モデル［レベチラセタムが無効であることが分かっている 2 種類の典型的な AED 用スクリーニングモデル（Klitgaard et al, 1998）］の発作抑制をもたらす（Matagne et al, 2008）点でもレベチラセタムと異なる。てんかんの様々な動物モデルを用いた試験では、てんかん重積状態モデル（Mazarati et al, 2004）、部分てんかんモデル、薬剤耐性てんかんモデル及び全般てんかんモデル（Matagne et al, 2008）において、レベチラセタムよりもブリーバラセタムの方がより強力かつ完全な発作抑制をもたらすことが示されている。キンドリング進展に対するブリーバラセタムの抗てんかん原性作用も、特に投与中止後に強力かつ持続的にキンドリング形成を抑制する点で、レベチラセタムに優ると考えられる（Matagne et al, 2008）。

ブリーバラセタムは透過性の高い薬剤であり、いずれの動物種でも迅速かつ完全に経口吸収され、食事の影響をほとんど受けない。ラット及びイヌでは、ヒトと同様に、ブリーバラセタムは低い全身クリアランス及び 100%に近い経口バイオアベイラビリティを示す。カニクイザルはこれらと異なり、代謝クリアランスが高く、肝臓の初回通過効果が大きいため、バイオアベイラビリティが低い（10%未満）。ブリーバラセタムの曝露量は、性別の影響をほとんど受けない（ラットを除く）。すべての動物種で、血漿中半減期が 2 時間未満であるため、毒性試験では 1 日複数回の投与が必要となった。ブリーバラセタムは、ほとんどの組織に迅速かつ均一に分布する。げっ歯類では、脳/血漿中濃度比は迅速に平衡に達し（すなわち BBB 通過が容易であり）、1 に近い（すなわち有意な能動輸送を受けない）。ラットを用いた組織分布試験では、包皮腺及び陰核腺において薬物関連物質の濃度が高かった。この滞留は可逆的で、ラットに特有であり、影響を受けたこれらの腺に対応する器官がヒトにはないため、臨床的意義はないとされた。血漿たん白結合率は、動物種全体で 12～27%であり、血球と血漿との間で分布は均等である。ブリーバラセタムは、主に酸化代謝により消失し、未変化体として排泄物中に排泄されるのは投与量の約 5～10%である。主な生体内変換経路としては、水酸化による ucb-100406-1 の生成、アミド基の加水分解による ucb 42145 の生成、及びこれら 2 つの経路の組み合わせによるヒドロキシ酸代謝物 ucb-107092-1 の生成が挙げられる。関与する酵素は、それぞれ CYP2C19、アミダーゼ E.C.3.5.1.4 及び CYP2C9 である。代謝試験では、ヒトに特有の代謝物は認められなかった。排泄率は、いずれの動物種でも 90%を上回った。また、*in vitro* で薬物相互作用の大きなリスク（被害薬又は加害薬としての CYP 阻害、CYP 誘導、トランスポーターの基質又は阻害剤活性）は確認されなかった。唯一の明確な所見は、エポキシドヒドロラーゼの中程度の阻害であり、阻害濃度は試験系により異なった。ブリーバラセタムは、てんかんの薬物抵抗性に関与すると想定されるトランスポーター（すなわち P-gp、BCRP、及び MRP2）を含む 12 種類の被験トランスポーター（P-gp、MATE、MRP2、OAT、OATP1B、OCT、BCRP 及び BSEP）のいずれに対しても、*in vitro* で臨床的に意義のある阻害作用を示さなか

った。また、ブリーバラセタムは、P-gp、MRP1、MRP2 及び BCRP の基質としての活性を示さなかった。ブリーバラセタムの能動的腎分泌及び能動的肝輸送の可能性は低いため、ブリーバラセタムはそれぞれ OAT/OCT2 及び OATP1B1/OATP1B3 の基質試験の対象とならない。

トキシコキネティクス試験では、曝露量が用量とともに増加することが示された。すべての動物種で、CYP 誘導の結果、単回投与に比べて反復投与では曝露量が減少した。唯一の例外としてカニクイザルでは、CYP 誘導がみられなかった。

げっ歯類を用いたロータロッド試験では、ヒトの部分発作及び全般発作のモデルにおいて、ブリーバラセタムには発作予防効果のある用量と運動への急性の有害作用を誘発する用量との間に、比較的広い安全域があることが示唆された。標準的な一連の安全性薬理試験では、主な影響は中枢神経系（CNS）に関連しており、用量 100 mg/kg 以上を投与されたラットでの一過性の CNS の抑制及び自発運動量の減少等がみられた。ブリーバラセタムが循環器系に影響を及ぼす可能性を *in vitro* 及び *in vivo* で検証した。用量 100 µmol/L まで、ヒト心臓のナトリウム、カルシウム及びカリウムチャネルに有意な影響がなかったことから、ブリーバラセタムが心臓の伝導、脱分極及び再分極に悪影響を与える可能性は低いと考えられる。用量 50 mg/kg 以上を投与されたイヌ（血漿中濃度 61 µg/mL 以上、これは MRHD での C_{max} である 3.5 µg/mL を大幅に上回る）で認められた循環器系への影響（血圧、心拍数、心臓収縮力、QTc に対する一過性の影響）は、用量依存性でなく、雌雄間で一致しておらず、反復投与毒性試験では認められなかった。心臓の再分極リスクがないことは、ブリーバラセタム 150 及び 800 mg/日を 7 日間投与しても心臓の再分極に悪影響がなかった Thorough QT 試験（試験番号 N01233）で確認されている。この試験では、QT/QTc に影響がなかったことに加え、いずれの治療でも臨床的に意義のある心電図の形態の変化は認められなかった。ラットでは、100 mg/kg よりも高用量のブリーバラセタムでわずかな呼吸刺激作用、300 mg/kg で胃排出の遅れ及び消化管通過の低下が認められた。

ブリーバラセタムの急性毒性は低かった。ラットにおける最大非致死経口用量は 1000 mg/kg 以上であることが分かり、無影響量は 500 mg/kg であった。ラット、イヌ及びサルを用いて、経口投与による反復投与時（ラット及びイヌでは最長 6 ヵ月間、サルでは最長 9 ヵ月間）のブリーバラセタムの毒性を評価した。ブリーバラセタムをイヌに長期投与したところ、肝臓に有害な変化が見られたが、用量 450 mg/kg/日までのラット（26 週間試験）及び用量 900 mg/kg/日までのサル（39 週間試験）では肝臓の適応反応がみられたのみであった。26 週間の投与を受けたイヌでは、肝細胞、クッパー細胞及び毛細胆管への褐色色素（ポルフィリン）沈着、小葉中心の線維化、オーバル細胞/胆管の過形成から成る肝毒性の徴候がみられ、それに伴い肝酵素の一部が増加し、高用量では肝臓重量の増加、肝単細胞壊死、炎症細胞の浸潤及び胆嚢内腔の結石がみられた。成体イヌでは静脈内投与後、幼若イヌでは経口投与後に同様の変化がみられ、胆嚢での褐色色素の蓄積及び結石を除き、概ね部分的又は完全に回復することが示された。

曝露量データに基づき、イヌの肝臓所見について、成人の MRHD（200 mg/日）に対する安全域はなかった。しかし、イヌの肝臓所見に関する意見書に詳述されている通り、ブリーバラセタム及び構造的に類似した化合物 ucb-101747-1 について蓄積された毒性及び機序のデータにより、病理学的過程についての理解が深まったことで、これらのイヌの肝臓所見がヒトと無関係であると判断されるに至った。これらのデータは、いくつかの複合的な要因によりイヌでポルフィリン症が発症したことを示唆している。これらの要因には、i）ブチルアミド側鎖の酸化による生物学的活性化に起因する、既知のポルフィリン生成物質と構造的に類似した反応性代謝物の生成、ii）この反応性代謝物による CYP のアルキル化に起因する N-アルキル PP 生成、CYP 不活化及び（おそらく）非線形薬物動態、並びに iii）ヘム合成の誘導が含まれる。ヘム生合成経路の最後の酵素であるフェ

ロケラターゼの N-アルキル PP による阻害及び CYP 不活化により、ポルフィリン前駆体であるプロトポルフィリンが蓄積する。このプロトポルフィリンの蓄積は、CYP 誘導によるヘム生合成経路のアップレギュレーションによっても促進される。イヌとは大きく異なり、ヒトから得られたブリーバラセタムのデータは、生物学的活性化の証拠（すなわち、ブチルアミド側鎖の酸化）、CYP 不活化の証拠、（自己阻害による）非線形薬物動態の証拠、及び臨床的に意義のある CYP 誘導の証拠を示さなかった。さらに、臨床試験では、臨床的意義のある肝機能検査値の異常とブリーバラセタムの使用との間に明らかな関連性はみられず、イヌで化学的に誘発されたポルフィリン症に臨床的意義がないことがさらに確認された。ヒトでは、化合物自体がポルフィリン生成能を持つことはほとんどなく、むしろ遺伝的欠損を誘発することによりポルフィリン症発作を引き起こす。このような誘発剤は、CYP やヘム合成を誘導することで作用し、ポルフィリン前駆体の蓄積を増幅させる。ブリーバラセタムはヒト CYP を誘導/不活化する作用を持たないため、ブリーバラセタムには遺伝性ポルフィリン症を誘発する傾向がないと考えられる。結論として、これらのイヌ肝臓所見は、ヒトの安全性には無関係であると考えられる。ブリーバラセタムには、ヒトにおいて肝ポルフィリン症や遺伝性ポルフィリン症を誘発するリスクがないと考えられる。

適切な試験及びエビデンスの重み付けにより、ブリーバラセタムが変異原性も染色体異常誘発性も持たないことが示された。がん原性試験におけるラットでの所見は、ブリーバラセタムの発がん性に関する懸念を示さなかった。マウスでの所見（雄マウスにおける肝細胞腫瘍の発現率のわずかな増加）は、肝臓の肥大性変化及びブリーバラセタムによる肝酵素誘導作用と相関していた。これらの知見は、げっ歯類に特異的な非遺伝毒性のフェノバルビタール様の影響と一致しており、懸念されるものではない。

ブリーバラセタムは、ラットの雌雄いずれの受胎能にも悪影響を与えず、ラット及びウサギのいずれにも催奇形性を示さなかった。母体への投与（最高 600 mg/kg/日まで）による F_1 児の感覚機能及び神経行動発達への影響はなかった。幼若動物では、成体動物と同様に、イヌでは薬物性ポルフィリン症から成る肝臓の変化が、ラットでは肝臓の適応変化のみが観察された。NOAEL でのブリーバラセタムの曝露量は成体動物と幼若動物とで同等であったが、例外として PND4 では幼若動物の曝露量が成体動物よりも高かった。

ラットを用いて、薬物弁別、乱用傾向及び薬物依存を評価した。ブリーバラセタムは、有意な乱用及び依存傾向を示さなかった。最高 320 mg/kg/日までの用量で試験されたブリーバラセタムは、乱用性が知られる抗けいれん薬及び抗不安薬であるクロルジアゼポキシドを完全には置換せず、これらの薬物の自覚効果が異なることを示した。最高 450 mg/kg/日までの 30 日間の投与後、離脱症状はみられなかった。最高 10 mg/kg/回までのブリーバラセタムを投与しても、コカインを自己投与するように条件付けられたラットで強化効果は認められなかった。さらに、CNS 内の 50 の結合部位、特に一般的な乱用や依存に関連する分子標的に対する放射性リガンド結合実験では、ブリーバラセタムの特異的結合は検出されなかった。

ヒトでの閾値 10%を超えるブリーバラセタムの代謝物 ucb-100406-1 については、毒性データを十分に収集した。重度の腎機能障害患者で高濃度に存在するブリーバラセタムのヒドロキシ酸代謝物である ucb-107092-1 の安全性評価を実施した。これらの非臨床試験では、CNS、消化管、呼吸器系又は循環器系への有害な影響は認められず、また、ucb-107092-1 が変異原性も染色体異常誘発性も持たないことが示された。13 週間の反復投与後、試験した最高用量まで有害な影響はみられず、大きな安全域が得られた。本化合物は、胚毒性も催奇形性も持たなかった。このように、代謝物 ucb-107092-1 の安全性評価結果は、重度の腎機能障害患者に対するブリーバラセタムの使用を支持した。

要約すると、動物モデルのデータは、関連する疾患モデルにおいて、非毒性量で有意な発作抑制効果を示した。薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特性を評価した非臨床試験の結果に基づき、16 歳以上のてんかん患者の部分発作に対する併用療法として、MRHD である 200 mg の 1 日 2 回投与までブリーバラセタムは安全であると考えられた。同様に、静脈内投与後の非臨床安全性データは、初期治療として又はブリーバラセタム経口投与の短期的な代替治療として申請されるブリーバラセタム静脈内投与を支持するものである。

6. 参考文献

Carney EW, Zablotny CL, Marty MS, Crissman JW, Anderson P, Woolhiser M, et al. The effects of feed restriction during in utero and postnatal development in rats. Toxicol Sci. 2004;82:237-49.

Gillard M, Fuks B, Leclercq K, Matagne A. Binding characteristics of brivaracetam, a selective, high affinity SV2A ligand in rat, mouse and human brain: Relationship to anti-convulsant properties. Eur J Pharmacol. 2011;64:36–44.

Greaves P. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation, 3rd ed. Elsevier/Academic Press: Ch. 9 (Liver and Pancreas, pp. 470-472, 488-489, 490-492), Ch 10 (Urinary Tract, pp. 600-605) and Ch. 13 (Endocrine Glands, pp. 830-832); 2007.

Holsapple MP, Pitot C, Cohen S, Boobis A, Klaunig J, Pastoor T, et al. Mode of Action in Relevance of Rodent Liver Tumors to Human Cancer Risk. Toxicol Sci. 2006;89(1):51-6.

Holson JF, Nemec MD, Stump DG, Kaufamn LE, Lindstrom P and Varsho BJ. Significance, Reliability and Interpretation of Developmental and Reproductive Toxicity Study Findings. In: Developmental and Reproductive Toxicology, A Practical Approach. 2nd ed. Hood RD. CRC Taylor & Francis; Ch. 9; 2006 p. 378-82.

Kaminski RM, Gillard M, Klitgaard H. Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV, editors. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies. 4th edition. 2010.

Kenda M, Matagne A, Talaga P, Pasau P, Differding E, Lallemand B, et al. Discovery of 4- Substituted Pyrrolidone Butanamides as New Agents with Significant Antiepileptic Activity. J Med Chem 2004;47(3):530-549.

Khera KS. Common fetal aberrations and their teratologic significance: A review. Fund Appl Tox. 1981;1:13-18.

Klitgaard H, Matagne A, Gobert J, and Wülfert E. Evidence for a unique profile of levetiracetam in models of seizures and epilepsy. Eur J Pharmacol. 1998;353:191-206.

Lynch BA, Lambeng N, Nocka K, Kensel-Hammes P, Bajjalieh SM, Matagne A, et al. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. Proc Natl Acad Sci 2004;101(26):9861-6.

Margineanu DG and Klitgaard H. Levetiracetam: mechanisms of action. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, Perucca E, editors. Antiepileptic drugs, 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 419-27.

Matagne A, Margineanu D-G, Kenda B, Michel P, and Klitgaard H. Anti-convulsive and antiepileptic properties of brivaracetam (ucb 34714), a high-affinity ligand for the synaptic vesicle protein, SV2A. British Journal of Pharmacology 2008;154:1662-1671.

Mazarati A, Baldwin R, Klitgaard H, Matagne A, and Wasterlain C. Anticonvulsant effects of levetiracetam and levetiracetam–diazepam combinations in experimental status epilepticus. Epilepsy Research 2004;58(2-3):167-174.

Moore MM, Honma M, Clements J, Bolcsfoldi G, Burlinson B, Cifone M, et al. Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: Follow-up meeting of the international workshop on Genotoxicity testing - Aberdeen, Scotland, 2003 - Assay acceptance criteria, positive controls, and data evaluation. Environ Mol Mutagen. 2006;47,1-5.

Moore MM, Honma M, Clements J, Bolcsfoldi G, Burlinson B, Cifone M, et al. Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: Meeting of the International Workshop on Genotoxicity Testing, San Francisco, 2005, recommendations for 24-h treatment. Mutation Res. 2007;627(1):36-40.

Nicolas J-M, Chanteux H, Mancel V, Dubin G-M, Gerin B, Staelens L, et al. N-Alkylprotoporphyrin formation and hepatic porphyria in dogs after administration of a new antiepileptic drug candidate: mechanism and species specificity. Toxicol Sci. 2014.

Pisani A, Bonsi P, Martella G, De Persis C, Cosat C, Pisani F, et al. Intracellular Calcium Increase in Epileptiform Activity: Modulation by Levetiracetam and Lamotrigine. Epilepsia 2004;45:719–728.

Puy H, Gouya L, and Deybach JC. Porphyrias. Lancet 2010;375:924–37.

Ross J, Plummer S, Rode A, Scheer N, Bower C, Vogel O, et al. Human Constitutive Androstane Receptor (CAR) and Pregnane X Receptor (PXR) Support the Hypertrophic but not the Hyperplastic Response to the Murine Nongenotoxic Hepatocarcinogens Phenobarbital and Chlordane In Vivo. Toxicol Sci. 2010;116(2):452–66.

Smith, AG, and De Matteis MF. Drugs and the hepatic porphyrias. Clin Haematol. 1980;9(2):399-425.

Solinas C, and Vajda FJ. Epilepsy and porphyria: new perspectives. J Clin Neurosci. 2004;11(4):356-61.

Strolin Benedetti M, Whomsley R, Nicolas JM, Young C, Baltes E. Pharmacokinetics and metabolism of ^{14}C-levetiracetam, a new antiepileptic agent, in healthy volunteers. Eur J Clin Pharmacol. 2003;59(8-9):621–30.

Thunell, S. Porphyrins, porphyrin metabolism and porphyrias. I. Update. Scand J Clin Lab Invest. 2000;60:509–540.

Thunell S, Pomp E, and Brun, A. Guide to drug porphyrogenicity prediction and drug prescription in the acute porphyrias. Br J Clin Pharmacol. 2007;64(5):668-79.