第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要

2.4 非臨床試験の概括評価

ネクセラファーマジャパン株式会社

目次

1. 非臨床試験計画概略 5
2. 薬理試験 7
2.1 不眠症におけるデュアルオレキシン受容体拮抗薬使用の根拠 7
2.2 効力を裏付ける試験 9
2.2.1 OX1R 及び OX2R に対する持続的拮抗作用の比較 9
2.2.2 ラット及びイヌにおける自然睡眠促進作用 9
2.3 副次的薬理試験 10
2.4 安全性薬理試験 10
3. 薬物動態試験 11
3.1 試験計画及び方法 11
3.2 吸収及びバイオアベイラビリティ 13
3.3 血漿タンパク結合及び血球移行 13
3.4 組織分布 13
3.5 代謝 14
3.6 排泄 16
3.7 薬物相互作用 16
3.7.1 ダリドレキサントの被相互作用薬としての可能性 16
3.7.2 ダリドレキサントの相互作用薬としての可能性 16
3.7.2.1 チトクローム P450 16
3.7.2.2 薬物トランスポーター 17
4. 毒性試験 18
4.1 忍容性 18
4.2 ダリドレキサントの薬理作用に関連した一般状態の変化 18
4.3 肝臓、甲状腺及び下垂体の変化 19
4.4 コレステロールの変化 20
4.5 イヌにおける胆嚢の変化 20
4.6 遺伝毒性及びがん原性 21
4.7 生殖発生毒性 21
4.8 依存性 21
4.9 主要代謝物及び不純物 21
4.10 安全域の算出 21
5. 総括及び結論 22
6. 参考文献 26

表目次

表 1. ラット及びイヌの無毒性量又は無作用量における曝露量（AUC）と 50 mg/day におけるヒ

ト曝露量から算出した安全域 22
表 2. ラット及びイヌの無毒性量又は無作用量における曝露量（C_{max}）と 50 mg/day におけるヒト曝露量から算出した安全域 22

図目次

図 1. ダリドレキサントの化学構造 5
図 2. ダリドレキサントの推定代謝経路 15

略語

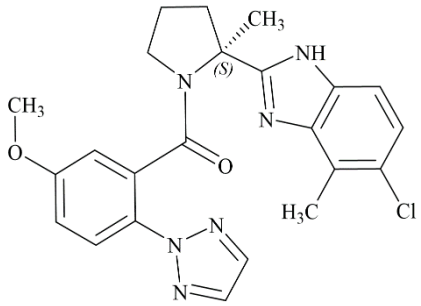
略語	略さない用語	日本語訳
α1-AGP	Alpha 1-acid glycoprotein	α1-酸性糖タンパク
ADME	Absorption, distribution, metabolism, elimination	吸収、分布、代謝及び排泄
AUC	Area under the plasma concentration vs time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん耐性タンパク
CAR	Constitutive androstane receptor	構成的アンドロスタン受容体
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CYP	Cytochrome P450 isomer	チトクローム P450（分子種）
DDI	Drug-drug interaction	薬物相互作用
DORA	Dual orexin receptor antagonist	デュアルオレキシン受容体拮抗薬
EC_{50}	Concentration that gives half-maximal response	50%効果濃度
ECG	Electrocardiogram	心電図
EEG	Electroencephalogram	脳波図
EMG	Electromyogram	筋電図
FDA	Food and Drug Administration (US)	米国食品医薬品局
GABA	Gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
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
hERG	Human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	Concentration that causes 50% inhibition	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
K_i	Inhibition constant	阻害定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィーータンデム質量分析
MDR	Multidrug resistance protein	多剤耐性タンパク
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸

略語	略さない用語	日本語訳
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
NREM	Non-rapid eye movement	早い眼球の動きのない、ノンレム
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
OX1R	Orexin receptor type 1	オレキシン 1 受容体
OX2R	Orexin receptor type 2	オレキシン 2 受容体
P450	Cytochrome P450 (enzyme)	チトクローム P450（酵素）
PAM	Positive allosteric modulator	陽性アロステリックモジュレーター
PBPK	Physiology-based pharmacokinetic	生理学的薬物速度論
P-gp	Permeability glycoprotein	P-糖タンパク
PXR	Pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
REM	Rapid eye movement	早い眼球の動き、レム
SAD	Single-ascending dose	単回用量漸増投与
SHR	Spontaneously hypertensive rat	自然発症高血圧ラット
T4	Thyroxine	サイロキシン
t_{max}	Time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
TSH	Thyroid-stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UGT	Uridine 5’-diphospho-glucuronyltransferase	ウリジン 5’-二リン酸-グルクロン酸転移酵素

1. 非臨床試験計画概略

ダリドレキサント（ACT-541468）は効力の高いデュアルオレキシン受容体拮抗薬（DORA）であり、オレキシン神経ペプチドが誘発するオレキシン 1 受容体（OX1R）及びオレキシン 2 受容体（OX2R）の活性化を阻害する。ダリドレキサントの構造式を図 1 に示した。

図 1. ダリドレキサントの化学構造



分子式：$C_{23}H_{23}ClN_6O_2$
分子量：450.93

ダリドレキサントは新規の不眠症治療薬であり、オレキシン神経ペプチドによる覚醒の促進及び安定化作用を特異的に阻害する。ダリドレキサントは薬理及び薬物動態の性質を独特に組み合わせることにより、不眠症患者において翌朝に最低限の薬効しか残らないように工夫している。このような特異的な作用機序はγ-アミノ酪酸（GABA）-A 受容体陽性アロステリックモジュレーター（PAM）とは対照的である。PAM は主要な抑制性神経伝達系を広範囲に刺激することで鎮静化を誘発することから、オレキシン受容体拮抗薬よりも睡眠－覚醒誘発性に特異性を有さない。GABA-A 受容体 PAM と比較して、ダリドレキサントはより好ましい効力及び安全性プロファイルを有する。すなわち、自然な睡眠構造が保たれ［ノンレム（NREM）睡眠及びレム（REM）睡眠時間の割合の維持］、睡眠中に無理に覚醒させても運動及び行動的機能は損なわれず、投与中断により不眠症のリバウンドが生じず、薬物依存性もほとんど認められないことである（2.1 項、4.8 項及び 5 項参照）。

本非臨床試験プログラムの目的は、以下のような望ましい薬理学的プロファイルを有する化合物を見出すことであった。

- 効力の高い、選択的、持続的な DORA であること
- 不眠症患者に翌朝まで薬効が残らないことが予測されるヒト薬物動態プロファイルであること

OX1R 及び OX2R に対して同等の効力を持つ拮抗薬であるため、脳内オレキシン受容体サブタイプのいずれか又は両者が発現する覚醒促進領域全体がダリドレキサントの作用部位となる（2.1 項）。両受容体上での存在時間をターゲットにして、持続的拮抗作用が得られ、脳内からダリドレキサントが消失した後まで薬理作用が続くことがないよう最適化した（2.2.1 項）。経口投与時の吸収、脳への分布及び体内からの消失に関する特性に基づき、生理学的薬物速度論（PBPK）モデルを用い、ヒトにおけるダリドレキサントの作用時間を予測した[Treiber 2017]。

ダリドレキサントの *in vitro* 薬理的プロファイルについて、OX1R 及び OX2R に対する拮抗作用の効力、並びに中枢及び末梢の薬理学的ターゲットについて、広範囲なパネルにおけるオフターゲット作用を酵素アッセイ又は放射性リガンド結合アッセイを用いて検討した（モジュール 2.6.3 第 1 項）。

ダリドレキサントの *in vivo* での効力（睡眠促進作用）を正常ラット及びイヌの脳波図（EEG）及び筋電図（EMG）検査により検討し、種々の睡眠－覚醒パラメータ（持続的睡眠に至る時間、睡眠及び覚醒の各ステージの時間並びに睡眠構造）を評価した。また、同じ 2 種の動物を用いて、無理に覚醒させたときの微細運動能及び全体的な運動能、並びに行動的機能に及ぼすダリドレキサントの影響を評価した。

非臨床薬物動態試験は、動物におけるダリドレキサントの吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）を明らかにし、毒性試験に用いる動物種の選択をサポートするために実施した。

ダリドレキサントの組織分布は、ラットを用いた全身オートラジオグラフィー法で評価した。また、*in vivo* 試験を補完するために、*in vitro* での細胞膜透過性を検討し、一連のヒト取込み及び排出トランスポーターに対する基質性についても評価した。

ダリドレキサントの代謝は、ヒト及び毒性試験で用いる動物種の肝臓試料を用いて *in vitro* で、また、マウス及びラットを用いて *in vivo* で検討した。ダリドレキサントの代謝に関与するチトクローム P450（CYP）分子種は、ヒトの肝ミクロソーム及び遺伝子組換えチトクローム P450（P450）酵素を用いて特定した。

ダリドレキサント及びその主要代謝物が、CYP 及び薬物トランスポーターを介して併用薬に影響を及ぼす可能性について、ヒトの肝ミクロソーム、遺伝子組換え P450 酵素及び薬物トランスポーターを発現した細胞系又は膜小胞を用いて検討した。また、CYP 誘導は、プレグナン X 受容体（PXR）活性化及びヒト肝細胞における CYP 分子種のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）発現増加により評価した。なお、すべての *in vitro* 薬物相互作用（DDI）試験は、現在の規制ガイドラインに従い実施した。

検討したすべての動物種における血漿中ダリドレキサント濃度を単独又は 3 種類の主要代謝物と同時に測定するために、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠した分析法を開発し、試験実施時に発効されていた規制ガイドラインに従いバリデーションを実施した（モジュール 2.6.5 第 2 項）。

PBPK モデルは、開発中に得られた臨床試験結果を用いて改良し、50 mg のダリドレキサントが CYP3A4（CYP 分子種の 1 つ）及び乳がん耐性タンパク（BCRP）基質（それぞれミダゾラム及びロスバスタチン）の薬物動態に及ぼす影響を、また、弱い、中程度及び強い CYP3A4 阻害剤並びに中程度及び強い CYP3A4 誘導剤がダリドレキサントの薬物動態に及ぼす影響を予測するために用いた。

主な毒性試験は医薬品規制調和国際会議（ICH）M3(R2)ガイドライン及び安全性に関するその他のガイドラインに準拠して実施した。安全性薬理試験として、*in vitro* ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）活性、並びに薬理用量及びそれを超える用量を経口投与したラット、イヌ及びモルモットを用いた中枢神経系（CNS）、心血管系及び呼吸器系の機能を検討するコアバッテリー試験を実施して、ダリドレキサントの影響を検討した（モジュール 2.6.3 第 4 項）。

ダリドレキサントの毒性試験として、一般毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、幼若動物を用いた毒性試験、依存性試験及び光毒性試験を実施した。重要な毒性試験は、すべて GLP 基準を遵守して実施した。ラット及びイヌを用いたすべての GLP 適用の反復投与毒性試験では、回復性試験及びトキシコキネティクス（TK）試験を実施した。いずれの動物種においても、ダリドレキサントの投与経路には予定臨床投与経路である強制経口投与を選択した。高用量は最大耐量（MTD）を考慮して設定し、低用量には臨床用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量をやや上回る曝露量が得られる用量を設定した。各試験の無毒性量／無作用量から、すべての変化に対する安全域を算出した。ダリドレキサントの血漿タンパクに対する非結合型分率は動物とヒトで大きく異なるため（ラットで約 3%、イヌで約 3～5%、ヒトで約 0.3～0.5%）、非結合型ダリドレキサントの曝露量から算出した安全域（曝露量比）はヒトリスク評価に適切であると考えられ、本概要中に記載した。毒性機序検討試験は、発現した毒性変化の特性を明らかにするために実施した。

ダリドレキサントのがん原性については、ICH S1 ガイドラインに従いラット及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験により評価した。依存性については、米国食品医薬品局（FDA）ガイダンス[FDA 2017]に従い、ラットを用いた薬物弁別試験、自己投与試験及び退薬症候評価により検討した。幼若動物を用いた毒性試験は、2 歳からの乳児及び小児患者を対象とした臨床試験を支持するために実施した。依存性試験、がん原性試験及び幼若動物を用いた毒性試験の試験計画書は、欧州医薬品庁小児委員会の調査及び承認を得たものである。

ヒトにおける主要代謝物濃度を長期反復投与毒性試験、胚・胎児発生に関する試験、遺伝毒性試験及びがん原性試験で評価した結果、主要代謝物の曝露量は、臨床用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量以上であることが示された。原薬及び製剤中の不純物の安全性については、毒性試験で確認した。

2. 薬理試験

2.1 不眠症におけるデュアルオレキシン受容体拮抗薬使用の根拠

不眠症は入眠又は睡眠の持続あるいはそのどちらもが困難で、日中の機能障害を伴う疾患として特徴づけられ[APA 2013]、「過覚醒疾患」としても説明される[Carskadon 2011] [Levenson 2015]。

不眠症患者の機能的な神経画像処理研究から、患者の睡眠促進領域は睡眠中に十分に不活化しておらず、そのため入眠又は睡眠の維持が困難になる可能性が示唆された[Buysse 2011] [Nofzinger 2006]。このような状況を引き起こす正確な機序は十分に解明されていないが、オレキシン神経系の機能亢進が寄与している可能性がある。

オレキシン神経系は、ヒポクレチン神経系としても知られるが、覚醒状態の安定性に極めて重要であり、食物摂取のような種々の生理的過程、並びに報酬及びストレスの処理など、警戒状態の調節にも非常に重要であることが報告されている[de Lecea 2012] [Sakurai 2007] [Scammell 2017]。オレキシンニューロンは、オレキシン A 及び B を産生する外側視床下部に局在するニューロンの小集団として存在する[de Lecea 1998] [Sakurai 1998]。オレキシンニューロンは主に覚醒中に活性化しており[Lee 2005]、覚醒を促進し安定化させるニューロン集団（隆起乳頭体核

のヒスタミンニューロン、青斑核のノルアドレナリンニューロン、背側縫線核のセロトニンニューロン、腹側被蓋領域のドパミンニューロン、並びに前脳基底部、大脳脚橋核及び背外側被蓋核のコリン作動性ニューロンなど）へ興奮性の投射を送っている。この興奮性シグナルは、G タンパク質共役受容体である OX1R 及び OX2R を活性化するオレキシンの分泌を介してこれらの標的ニューロンに伝えられる。脳の異なる覚醒促進領域は主に OX1R 又は OX2R、あるいはその両者を発現している[Eggermann 2001] [Hagan 1999] [Liu 2002] [Yamanaka 2002]。したがって、これらの領域を横断的に、OX1R 及び OX2R の両者を同時に阻害することが覚醒促進領域の活性を弱めるために必要である。

脳の細胞外液及び脳脊髄液中のオレキシン A レベルはサーカディアンリズムに従い、覚醒中は上昇し、睡眠中に速やかに低下する。長時間の覚醒状態の間に積み上がってくる睡眠欲求に拮抗するためにオレキシンレベルの上昇が必要である。したがって、オレキシンは個体が眠りに落ちるのを抑制する[Gotter 2013] [Modirrousta 2005] [Zeitzer 2003]。要するに、オレキシン神経系は覚醒促進領域全体の活性を統合し制御する。OX1R 及び OX2R に対して同等の効力を有する DORA であるダリドレキサントは、この領域の両受容体を同時に阻害することにより、覚醒促進シグナルが特異的に阻害され、その結果として不眠症患者は脳の過活性状態が緩和されて眠ることが可能となる。

ダリドレキサントは、覚醒促進領域における特異的阻害作用を介して睡眠を促進するため、その作用は、以下に示すように GABA 作動性神経伝達物質系を活性化する GABA-A 受容体 PAM とは、多くの点で異なっている。

マウス、ラット、イヌ及びサルにおいて、DORA は NREM 及び REM 睡眠時間をいずれも生理的な睡眠構造を保持したまま延長することによりこれらの動物の睡眠を促進するため、自然の睡眠構造は維持される。一方、ゾルピデムなどの GABA-A 受容体 PAM は、動物において REM 睡眠時間を短縮し、睡眠/覚醒ステージの範囲で脳波スペクトル周波数に干渉することで、生理的睡眠構造を攪乱する[Bettica 2012] [Beuckmann 2019] [Brisbare-Roch 2007] [Fox 2013] [Gotter 2013] [Winrow 2011] [Winrow 2012]。

反復投与においてもダリドレキサントの作用は持続すると考えられる。げっ歯類に DORA を最長 6 週間まで反復投与した試験において、作用は持続したが耐性は生じなかった。投与中断によるリバウンドである不眠状態又は退薬症候は発現しなかった。一方、ラットにゾルピデムを反復投与した場合耐性を示し、投与中断によりリバウンドが発現した[Beuckmann 2019] [Brisbare-Roch 2007] [Brisbare-Roch 2008] [Brisbare-Roch 2010]。

ダリドレキサントによって促進される容易に覚醒可能な睡眠は、自然な睡眠と類似しており、運動及び認知機能が保持され適切な刺激によって目覚めることが可能である。マウス、ラット、イヌ又はサルへの DORA 投与により、運動機能は障害されず知覚性の刺激によって目覚める能力は保持されている[Beuckmann 2019] [Boss 2014] [Iwakawa 2019] [Steiner 2011] [Tannenbaum 2014] [Tannenbaum 2016]。また、ラット又はサルの試験において、DORA は記憶及び認知機能に影響しないことが明らかになっている[Boss 2014] [Dietrich 2010] [Morairty 2014] [Uslaner 2013]。これらのデータから、DORA は、運動機能及び投与後の知覚刺激によって目覚める能力に障害を及ぼす GABA-A 受容体 PAM とは明確に差別化可能である。

DORA 投与による非臨床的特長（睡眠促進、睡眠中の効果維持及び投与中断によるリバウンドである不眠状態又は退薬症候が起こらないこと）は、ダリドレキサント治療中の不眠症患者で観察される臨床的ベネフィットと合致する（モジュール 2.7.4 第 5.7 項）。健康な若年成人被験者において、複雑な課題を実行するのに必要な運動及び認知機能は DORA である almorexant の投与後にも保持されていたが、ゾルピデムの投与では保持されなかった。これに関しては、DORA が覚醒促進系を選択的に阻害したとしても、被験者がこの複雑な課題を実施するように求められた際、同じ覚醒促進系が別の脳内機序によってもなお活性化されうるということで説明が可能である[Neylan 2020]。

結論として、ダリドレキサントは脳内で覚醒を促進させ、覚醒状態を維持する主要な系の一つを特異的に阻害することにより、生理的かつ容易に覚醒可能な睡眠を促進する。この性質により、ダリドレキサントは、睡眠構造、安全性及び翌日の活動への影響の観点から、GABA-A 受容体 PAM と差別化することが可能である。

2.2 効力を裏付ける試験

2.2.1 OX1R 及び OX2R に対する持続的拮抗作用の比較

オレキシン受容体の活性化により細胞内カルシウム濃度が上昇し、ニューロンの信号伝達が促進される。OX1R 及び OX2R 発現株化細胞内のカルシウム分泌アッセイを実施し、両受容体におけるダリドレキサントの効力、持続性の有無及び受容体滞留時間を評価した。受容体上での持続性、すなわち、受容体結合拮抗薬が作動薬の濃度上昇に抵抗して結合していられることが、オレキシン受容体拮抗薬などの高い効力を持つ拮抗薬の特性である[Swinney 2015]。5～10 分程度の適度な受容体滞留時間（化合物の *in vivo* 半減期よりかなり短時間）であることで、受容体上での持続性及び脳からの化合物消失後に薬力学的効果が残存しないことの両者が可能になる。

結論として、ダリドレキサントは高い効力を持つ持続性 DORA であり、脳内消失後には受容体を阻害しない程度の受容体滞留時間を示す（モジュール 2.6.2 第 2.1.1 項）。

ダリドレキサントの主要代謝物（M1、M3 及び M10）のヒト OX1R に対する阻害作用の効力はダリドレキサントの 1/40～約 1/1500 であり、OX2R に対しては 1/8～約 1/550 であった（モジュール 2.6.2 第 2.1.2 項）。これらの主要代謝物はヒトにおいて、ダリドレキサントの睡眠促進作用に寄与していない（3.4 項も参照）。

2.2.2 ラット及びイヌにおける自然睡眠促進作用

皮下に埋め込んだテレメトリー発信器を装着した非拘束の雄ラット及び雄イヌを用いて、睡眠及び覚醒パラメータを睡眠ポリグラフィー検査により測定し、ダリドレキサントの作用を検討した（モジュール 2.6.2 第 2.2 項）。また、目覚めさせられた直後にラットの運動能を検討してダリドレキサントが促進する睡眠が容易に覚醒可能なものであるかどうかについて、ゾルピデムを陽性対照として評価した。イヌの試験では、顕著な外部刺激（食餌）を提示したうえでの行動的反応を評価してダリドレキサントによる睡眠を評価した。イヌではゾルピデムで矛盾した結果が報告されており[Giorgi 2012]、陽性対照として使用しなかった。

不眠症で特徴的な（過）覚醒状態を再現するために、内因性オレキシンレベルの高い活動期[Gotter 2013]の間にダリドレキサントを動物に投与した。このような（過）覚醒状態下で、ダリ

ドレキサントは、ラットにおいて 30 mg/kg 以上で、イヌにおいては 10 mg/イヌ（0.6～0.8 mg/kg）以上で用量依存的に覚醒時間を短縮し睡眠を促進した（モジュール 2.6.2 第 2.2.1.2 項、第 2.2.2.1 項）。

ダリドレキサントはラット及びイヌにおいて、持続的 NREM 及び持続的 REM 睡眠に至る時間を媒体群と比較して有意に短縮した。NREM 睡眠に至る時間は REM 睡眠に至る時間よりも短かった。

ラット及びイヌにおいて、ダリドレキサントは NREM 睡眠及び REM 睡眠時間をともに媒体群よりも延長し、それにより総睡眠時間も有意に延長した。両種とも、ダリドレキサント投与により総睡眠時間中の NREM 及び REM 睡眠時間の割合は影響を受けず、睡眠構造は保持された。

動物の活動期中にダリドレキサント投与で得られた全体的な NREM 及び REM 睡眠時間は、動物が通常寝ている期間に非投与動物で観察される睡眠時間を超えなかった。この知見はダリドレキサントによって自然な性質を持つ睡眠が促進されることを明確に示している。

ダリドレキサント投与下での睡眠中に刺激環境に置くと、ラット及びイヌは完全な覚醒状態を回復し、正常な行動をとることが可能であった。ラットをダリドレキサント投与後の種々の時間で起こした場合、直ちに覚醒し、ロータロッド試験及び前肢握力測定で媒体群と同様の成績を上げることが可能であった。対照的に、ゾルピデムを投与したラットで両試験の成績は媒体群と比べて用量依存的に低下した。イヌでも同様であり、ダリドレキサント投与後の睡眠中に食餌を提示すると直ちに覚醒し、媒体群と同様の行動をとった。これらのデータから、ダリドレキサントは、刺激環境下で運動機能又は行動を障害することなく、容易に覚醒可能な睡眠を促進することが示唆される（モジュール 2.6.2 第 2.2.1.3 項、第 2.2.2.2 項）。

ラット及びイヌで観察されたダリドレキサントの睡眠促進作用は、不眠症患者における持続睡眠に至る時間の短縮、睡眠開始後の覚醒の軽減及び総睡眠時間の延長という結果につながっている。また、動物で認められたのと同様に、ダリドレキサント投与により不眠症患者の睡眠構造は維持されていた（モジュール 2.7.3 第 3.2 項）。

2.3 副次的薬理試験

ダリドレキサントの薬理作用は、OX1R 及び OX2R 受容体を選択的に阻害した結果発現する。広範囲に選択した中枢及び末梢の薬理学的ターゲットについて、120 種類を超える酵素アッセイ及び放射性リガンド結合アッセイパネルで評価した結果、ダリドレキサント及び主要代謝物（M1、M3 及び M10）のヒトのリスク評価に関係するオフターゲット作用は確認されなかった（モジュール 2.6.2 第 3.1 項）。重要なことは、ダリドレキサントが GABA-A 受容体に結合しなかったことであり、これは GABA-A 受容体 PAM を投与した動物に発現する典型的な副作用が、ダリドレキサントを投与した動物においては見られなかったことに反映している。

2.4 安全性薬理試験

安全性薬理所見は、薬効薬理作用又は過剰な薬力学的反応によって引き起こされたものであった。ダリドレキサントの睡眠促進作用と関連する有害所見（活動量及び覚醒状態の低下、並びに心拍数、体温及び血圧の軽度低下など）は見られなかった（モジュール 2.6.3 第 4 項）。より高用量では、ダリドレキサントのげっ歯類特有の過剰な薬力学的反応による体温の更なる低下が見

られた。この作用はラットの毒性試験における忍容性にも影響を及ぼした（4.1 項）。

心電図（ECG）パラメータ又は呼吸器機能に関しては、検討した最高用量まで有害所見は見られず、安全域は 50 mg/day の用量をヒトに曝露したときの少なくとも 52 倍であった（モジュール 2.6.2 第 4.2.2 項、第 4.3.1 項）。

雄ラットにおいて、最小の薬理活性を示す用量を大きく超える用量で活動量及び覚醒状態の低下が観察された（Irwin 試験及びテレメトリー試験、モジュール 2.6.3 第 4 項）。類似の所見はラット及びイヌの反復投与毒性試験でも観察された（4.2 項）。これらの所見はダリドレキサントの睡眠促進作用と直接関連するものと考えられ、有害事象と判断しなかった。

ラット及びイヌで心拍数の軽度低下が見られた。また、平均動脈圧は自然発症高血圧ラット（SHR）において低下した。一方、正常血圧ラットでは低下しなかった（モジュール 2.6.3 第 4 項）。これらの所見は、心血管系パラメータにおいて睡眠に伴う変化として予想されるものであった[Li 2014]。さらに、SHR において、CNS の OX2R を阻害すると、交感神経活性の抑制を介して動脈圧及び心拍数が低下した[Lee 2013] [Li 2013]。これらの変化の程度は小さく、睡眠による一連の生理的反応と関連するものであり、有害なものではなかった。

正常ラット及び SHR において、薬理用量を超える用量でげっ歯類特有の体温低下が見られた（モジュール 2.6.3 第 4 項）。非常に高い用量では、これらの体温低下は正常のサーカディアンリズムでの変動範囲を超えており、マウス及びラットの毒性試験において瀕死状態をもたらす所見であった（4.2 項）。この体温低下作用はオレキシン受容体の阻害によるものであり、げっ歯類の褐色脂肪組織を介する熱発生調節の阻害作用に起因するものである（モジュール 2.6.6 第 10.1 項）。この見解はラットの全身オートラジオグラフィー試験において、ダリドレキサントが褐色脂肪組織に分布していたことから裏付けられる（3.4 項）。ラット及びマウスと同程度の曝露でイヌの体温は影響を受けず、第 2 相臨床試験においても同様に体温は影響を認められなかった（AC-078A201 試験、モジュール 5.3.5.1.5 及び AC-078A202 試験、モジュール 5.3.5.1.6）。したがって、ダリドレキサントの体温への影響はげっ歯類特有のものであり、ヒトに関連しないものと考えられた。

ダリドレキサントは、検討した最高用量までラットの呼吸器系に影響を及ぼさなかった（モジュール 2.6.3 第 4 項、モジュール 2.6.2 第 4.3 項）。

結論として、安全性薬理試験結果からヒトに関連する安全性上の懸念は認められなかった。

3. 薬物動態試験

3.1 試験計画及び方法

ダリドレキサントの非臨床薬物動態試験は、ラット及びイヌを用いて検討し、静脈内及び経口投与後の薬物動態パラメータ及び用量依存性を評価した（モジュール 2.6.5 第 3 項）。また、ダリドレキサントの薬物動態に及ぼす性差の影響は、ラットを用いて検討した。さらに、動物を用いた *in vivo* 試験を補完することを目的とし、血漿タンパク結合の影響及び薬物トランスポーターの役割を検討するために *in vitro* 試験を行った。反復経口投与時の薬物動態に関するデータは、ラット及びイヌを用いた TK 試験から得た（モジュール 2.6.5 第 4 項）。

血漿中ダリドレキサント濃度を単独又は 3 種類の主要代謝物と同時に測定するために、安定同

位体で標識した内標準物質を用いた液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）法を開発し、GLP に準拠してバリデーションを実施した（モジュール 2.6.5 第 2 項）。^{14}C で標識したダリドレキサント（^{14}C-ダリドレキサント）を用いた試験では、液体シンチレーション計測法で総放射能を測定した。代謝試験では、紫外、質量分析及び／又は ^{14}C 放射能の検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法で検討した。

^{14}C-ダリドレキサントの組織分布は、白色及び有色ラットを用いて検討し、全身オートラジオグラフィー法で評価した（モジュール 2.6.5 第 5 項）。また、ダリドレキサントの薬物動態における薬物トランスポーターの役割に関する試験は、経口吸収及び組織分布に関与することが知られているトランスポーターである多剤耐性タンパク 1/ P-糖タンパク（MDR1/P-gp）、BCRP 及び有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）に限定して行った（モジュール 2.6.5 第 15 項）。なお、ダリドレキサントは、十分に代謝された後に排泄されるため（3.5 項）、肝臓及び腎臓の排出トランスポーターについては検討しなかった。さらに、血漿タンパク結合は、^{14}C-ダリドレキサントを用いて平衡透析法で検討した（モジュール 2.6.5 第 6 項）。また、血漿タンパク結合に非線形性が認められたため、その原因となる結合タンパクを特定するために、ヒトの血清アルブミン及び α1-酸性糖タンパク（α1-AGP）を用いた実験を行い、臨床上の重要性は、単回用量漸増投与（SAD）試験（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.3.1.1）から得られた検体を用いて、*ex vivo* で評価した。

代謝試験は ^{14}C-ダリドレキサントを用いて行い、肝ミクロソーム、肝細胞及び遺伝子組換えヒト P450 酵素を用いて *in vitro* で、並びに胆管カニューレ処置ラット及び 2 つの系統のマウスを用いて *in vivo* で実施した（モジュール 2.6.5 第 9 項、第 10 項）。代謝プロファイルは、放射能検出器又は質量分析器等を備えた HPLC 法で検討した。また、ダリドレキサントの代謝に関与する CYP 分子種及び代謝クリアランスに対する寄与率は、ヒト肝ミクロソーム及び CYP 阻害剤、若しくは遺伝子組換えヒト P450 酵素を用いて評価した。

SAD 試験（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.3.1.1）の一環として、^{14}C-ダリドレキサントを用いたヒト ADME 試験を行ったため、ダリドレキサントの排泄に関する特別な試験は実施しなかった。ラットにおける排泄の速度と程度に関するデータは、代謝試験から得た（モジュール 2.6.5 第 13 項）。

ダリドレキサントが P450 酵素及び薬物トランスポーターを介して DDI を引き起こす可能性は、ヒトの肝ミクロソーム、遺伝子組換え P450 酵素及び薬物トランスポーターを発現した細胞系又は膜小胞を用いて *in vitro* で検討した（モジュール 2.6.5 第 12 項、第 15 項）。CYP 誘導は、PXR 活性化及びヒト肝細胞における CYP 分子種の mRNA 発現増加により評価した。なお、すべての *in vitro* DDI 試験は現在の規制ガイドラインに従って実施し、OATP 阻害はプレインキュベーション時間を設けて評価した。また、これらのデータは、ダリドレキサントの PBPK モデルに組み入れ、25 及び 50 mg/day の用量での DDI の可能性を予測した（3.7 項）。

ダリドレキサントの主要代謝物については、上述した未変化体と同じ方法を用い、血漿タンパク結合、細胞膜透過性、MDR1/P-gp 及び BCRP の基質性、並びに DDI の可能性について検討した。なお、それらの放射性標識体は得られていないため、すべての *in vitro* 試験における薬物濃度は、LC-MS/MS 法で測定した。また、臨床 DDI 試験（AC-078-104 試験、モジュール

5.3.3.4.2）において、ダリドレキサントの併用により CYP3A4 基質であるミダゾラムの薬物動態は影響されなかったため、主要代謝物による CYP 誘導は、PXR 活性化、並びにヒト肝細胞における CYP1A2 及び CYP2B6 の mRNA 発現増加のみにより評価した。

3.2 吸収及びバイオアベイラビリティ

ダリドレキサントの経口吸収の速度と程度は、ラット及びイヌを用いた薬物動態試験の一環として、1～30 mg/kg の用量範囲で検討した（モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1）。両動物種における経口吸収は速やかであり、最高血漿中濃度（C_{max}）はおおむね投与後 1 時間以内に達した。また、被験物質を微粉化してイヌに投与したとき、経口バイオアベイラビリティはほとんど変わらなかったものの、C_{max} はより高く、最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）はより短くなったため、粒子サイズが経口吸収速度の重要なパラメータであると特定された。同様の効果は、脂質ベースの製剤を用いることによっても得られた。速やかな経口吸収は薬理効果発現の重要な要因であるため、これらの結果はダリドレキサントのフィルムコート錠の開発に取り入れた。なお、水溶性が低いことと一致して、ヒトにおける t_{max} は、50 mg/day の予定臨床用量を上回る用量では遅延した。

胆管カニューレ処置ラットを用いた代謝試験においてダリドレキサントはほぼ完全に消化管から吸収され（モジュール 2.6.5 第 13 項、モジュール 4.2.2.4.3）、これは、ヒトを対象とした ADME 試験（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.3.1.1）結果と一致した。したがって、経口バイオアベイラビリティは、溶解性ではなく、消化管及び肝臓における初回通過効果によって制限されると考えられる。また、両動物種において、経口バイオアベイラビリティは用量の増加とともに増加したが、これは初回通過効果の飽和に起因すると考えられる。

3.3 血漿タンパク結合及び血球移行

ダリドレキサントの血漿タンパク結合率はすべての種で高かったが、非結合型分率に顕著な種差が認められた（モジュール 2.6.5 第 6 項、モジュール 4.2.2.3.1）。また、ダリドレキサントは、ヒトの血清アルブミン及び α1-AGP に結合したが、*in vitro* におけるヒト血漿タンパク結合の非線形性は、α1-AGP に対する結合の飽和に起因すると考えられる。

ダリドレキサントと同様に、主要代謝物である M1、M3 及び M10 の血漿タンパク結合率にも顕著な種差が認められた（モジュール 2.6.5 第 6 項、モジュール 4.2.2.3.2）。ヒトにおける血漿タンパク結合率は、いずれの動物種よりおおむね高かった。また、一部では、高濃度で結合の飽和が認められた。

3.4 組織分布

ダリドレキサントの *in vitro* における細胞膜透過性は高かった。また、ダリドレキサントは、排出ポンプである MDR1/P-gp 及び BCRP の基質ではなく、肝取込みトランスポーターである OATP の基質でもなかった（モジュール 2.6.5 第 15 項、モジュール 4.2.2.3.5）。したがって、ダリドレキサントの組織分布は受動拡散によるものと考えられる。

ダリドレキサントの主要代謝物である M3 及び M10 は、*in vitro* において MDR1/P-gp の明らかな基質であり、ヒトにおける脳への移行は限定的であると考えられるが、MDR1/P-gp に対する

M1 の基質性は弱かった（モジュール 2.6.5 第 15 項、モジュール 4.2.2.3.6）。しかし、ヒトにおける血漿中濃度（AC-078-105 試験、モジュール 5.3.3.3.1）、高い血漿タンパク結合率（3.3 項）、並びに OX1R 及び OX2R に対する未変化体より弱い効力（2.2.1 項）を考慮すると、脳における主要代謝物の非結合型濃度は極めて低く、全体的な薬理作用には寄与していないと考えられる。

全身オートラジオグラフィー法で評価したラットにおける組織分布は、薬物動態試験結果と一致して、速やかな吸収及び広範な分布を示した（モジュール 2.6.5 第 5 項、モジュール 4.2.2.3.3）。最も高い放射能濃度は、ダリドレキサントの排泄器官である肝臓及び腎臓、並びに副腎、褐色脂肪及び心筋において認められた。一方、白色脂肪、鼻粘膜、骨表面、ブドウ膜/網膜及び脈絡叢における放射能濃度は低かった。また、脳における放射能は投与 0.5 時間後に認められ、血液中濃度の 34%であった。なお、ダリドレキサント及びその代謝物は、メラニン含有組織に結合しなかった。さらに、全身クリアランスが高いことと一致して（モジュール 2.6.5 第 3 項、モジュール 4.2.2.2.1）、放射能濃度は速やかに減少し、投与 24 時間後では大部分の組織で定量下限未満であった。また、投与 7 日後では、すべての組織で定量できなかった。

ダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物の乳汁移行について、ダリドレキサントを単回経口投与した授乳ラットで評価した（モジュール 2.6.5 第 7 項、モジュール 4.2.2.3.4）。それらの物理的化学的性質と一致して、ダリドレキサント及び 3 種類の主要代謝物はすべて、ラットの乳汁中に認められた。

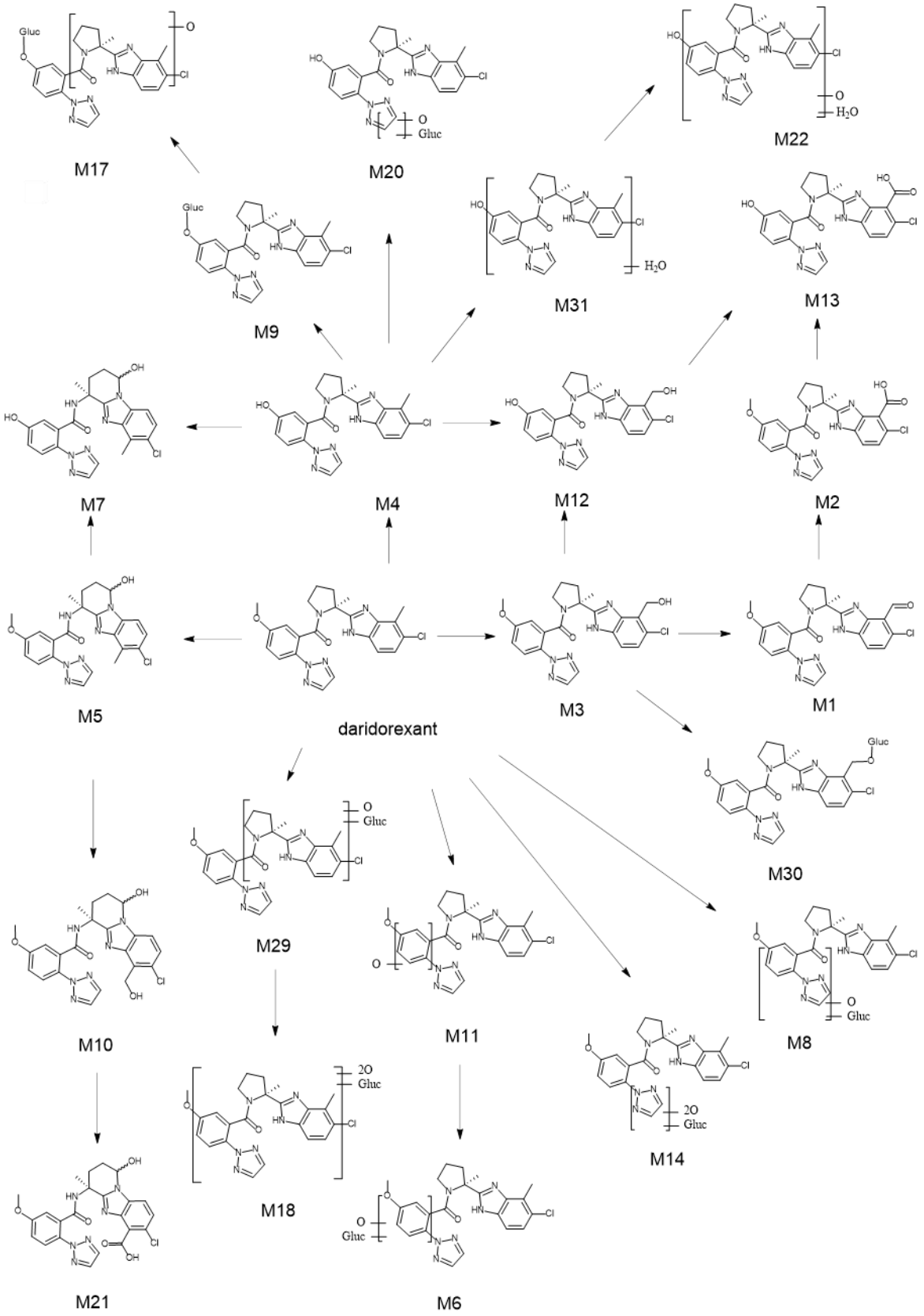
3.5 代謝

ダリドレキサントは、7 つの経路を介して代謝された（モジュール 2.6.5 第 11 項、モジュール 4.2.2.4.1）（図 2）。

M3、M4 及び M5 は、すべての動物種及びヒトの肝ミクロソームで認められた。また、ヒトにおける主要代謝物である M1、M3 及び M10 も、マウス、ラット及びイヌを用いた重要な毒性試験で血漿中に認められた（モジュール 2.6.6 第 9.2 項）。

CYP3A4 は、ダリドレキサントの代謝に関与する主要な CYP 分子種として特定され、*in vitro* における代謝クリアランスの 89%を占めた。CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 も一部関与したが、いずれの寄与率も 3%未満であった。これらの結果と一致して、ジルチアゼムを用いた臨床 DDI 試験（AC-078-103 試験、モジュール 5.3.3.4.1）において、ダリドレキサントの薬物動態は CYP3A4 阻害剤によって影響されることが示された。

図 2. ダリドレキサントの推定代謝経路



In vivo におけるダリドレキサントの代謝について、胆管カニューレ処置ラット及び 2 つの系統のマウスを用いて検討した（モジュール 2.6.5 第 9 項、モジュール 4.2.2.4.3、4.2.2.4.4）。両動物種で認められた代謝経路は *in vitro* 試験結果から得られたものと一致したが、*in vivo* では多数の下流代謝物が大部分を占めた。

3.6 排泄

ラットにおいて、ダリドレキサントは著しく代謝された後、排泄された（モジュール 2.6.5 第 9 項、モジュール 4.2.2.4.3）。また、胆汁中排泄が主排泄経路であり、尿中排泄はわずかであった（モジュール 2.6.5 第 13 項、モジュール 4.2.2.4.3）。さらに、投与量の約 90%は投与後 24 時間以内に排泄され、投与後 72 時間以内にほぼ完全に排泄された。

3.7 薬物相互作用

3.7.1 ダリドレキサントの被相互作用薬としての可能性

ヒト ADME 試験（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.3.1.1）において、ダリドレキサントは著しく代謝された後、尿及び糞中に排泄された。一方、*in vitro* において、CYP3A4 はダリドレキサントの代謝に関与する主要な酵素であり、代謝クリアランスの 89%を占めた。また、ダリドレキサントは、排出ポンプである MDR1/P-gp 及び BCRP、並びに肝取込みトランスポーターである OATP1B1 及び OATP1B3 を含む、吸収又は消失に関与するトランスポーターの基質ではなかった。

CYP3A4 阻害剤及び誘導剤として、それぞれジルチアゼム（AC-078-103 試験、モジュール 5.3.3.4.1）及びエファビレンツ（ID-078-120 試験、モジュール 5.3.3.4.4）を用いた臨床 DDI 試験において、CYP3A4 阻害剤及び誘導剤はダリドレキサントの薬物動態に影響することが示された。また、臨床試験を補完するために PBPK モデルを用いて解析した結果、ダリドレキサントの薬物動態は種々の CYP3A4 阻害剤及び誘導剤により影響されると予測された（モジュール 2.6.4 第 7.3.2 項）。

3.7.2 ダリドレキサントの相互作用薬としての可能性

3.7.2.1 チトクローム P450

ダリドレキサントは、*in vitro* において複数の CYP 分子種を阻害した。最も強い作用は CYP3A4 で認められ、競合阻害試験における阻害定数（K_i）は約 5 µmol/L であり、弱い時間依存的阻害も示した（モジュール 2.6.5 第 12 項、モジュール 4.2.2.6.1）。また、ダリドレキサントは、PXR を活性化させ［50%効果濃度（EC_{50}）：3 µmol/L］、ヒト肝細胞において CYP3A4 の mRNA 発現を増加させた（モジュール 2.6.5 第 12 項、モジュール 4.2.2.6.4）。

CYP3A4 基質であるミダゾラムを用いた臨床 DDI 試験（AC-078-104 試験、モジュール 5.3.3.4.2）において、ダリドレキサントを 25 mg の用量で単回及び反復経口投与したとき、ミダゾラムの曝露量に意味のある変化は認められなかった。また、PBPK モデルを用いて 50 mg のダリドレキサントがミダゾラムの薬物動態に及ぼす影響を予測したところ、ダリドレキサントを 50 mg の用量で反復経口投与したとき、弱い CYP3A4 誘導作用を示すことが示唆されたものの、血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）及び C_{max} の幾何平均比は生物学的同等性の基準内であっ

た（モジュール 2.6.4 第 7.3.3 項）。これらの結果は、50 mg までの用量のダリドレキサントは CYP3A4 の阻害剤でも誘導剤でもないという結論をサポートする。また、この結論と一致して、75 mg の用量で、ダリドレキサントは自己誘導を示さなかった（AC-078-102 試験、モジュール 5.3.3.1.2）。

ダリドレキサントは他の CYP 分子種も阻害したが、その 50%阻害濃度（IC_{50}）は CYP3A4 より高かった（モジュール 2.6.5 第 12 項、モジュール 4.2.2.6.1）。したがって、ミダゾラムとの臨床 DDI が認められなかったことから、ダリドレキサントは他の CYP 分子種の阻害剤でもないことが示唆され、他の CYP 分子種を介して代謝される併用薬の曝露量も増加させないと予想される。

ダリドレキサントは、PXR を活性化したが（モジュール 2.6.5 第 12 項、モジュール 4.2.2.6.4）、構成的アンドロスタン受容体（CAR）は活性化しなかった（モジュール 4.2.1.2.2）。したがって、ミダゾラムとの臨床 DDI が認められなかったことから、ダリドレキサントは CYP2B6 及び CYP2C9 の誘導剤でもないことが示唆された。また、ウリジン 5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素（UGT）誘導も PXR の活性化を介して調節されるため、ダリドレキサントは、ヒトにおいて UGT も誘導しないと予想される。

P450 酵素に対する 3 種類の主要代謝物の阻害作用は、未変化体と同様の傾向を示したが、おおむね弱かった（モジュール 2.6.5 第 12 項、モジュール 4.2.2.6.2）。これは、代謝物が未変化体より極性が高いことによると考えられる。また、すべての代謝物の定常状態における非結合型 C_{max} は 1 桁のナノモル濃度程度であり（AC-078-105 試験、モジュール 5.3.3.3.1）、CYP 阻害及び誘導に関する最も低い IC_{50} 又は EC_{50} と比較して数桁低かった。したがって、これらの代謝物が併用する CYP 基質に対して DDI を引き起こす可能性もないと考えられる。

3.7.2.2 薬物トランスポーター

In vitro において、ダリドレキサントは有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び有機カチオントランスポーター（OCT）2 を除くすべてのトランスポーターを阻害した。最も強い阻害は BCRP で認められ、IC_{50} は 3 µmol/L であった（モジュール 2.6.5 第 15 項、モジュール 4.2.2.6.6）。臨床上の重要性は、BCRP 基質としてロスバスタチンを用い、25 mg のダリドレキサントを併用投与した臨床 DDI 試験（ID-078-106 試験、モジュール 5.3.3.4.3）において検討した。ダリドレキサント併用の有無にかかわらず、ロスバスタチンの曝露量は生物学的同等性の基準内であったことから、25 mg のダリドレキサントは BCRP の阻害剤ではないことが示された。また、PBPK モデルを用いた解析から、50 mg の用量でも、ダリドレキサントはロスバスタチンの薬物動態に影響を及ぼさないと予測された（モジュール 2.6.4 第 7.3.3 項）。

排出ポンプである MDR1/P-gp は、腸及び肝細胞の BCRP と同じ部位に発現しているが、MDR1/P-gp に対するダリドレキサントの IC_{50} は BCRP より高く、ロスバスタチンとの臨床 DDI が認められなかったことから、ダリドレキサントは MDR1/P-gp の阻害剤でもないことが示唆された。また、他のすべてのトランスポーターに対する IC_{50} も BCRP より高かったことから、ダリドレキサントが薬物トランスポーターを介して消失する併用薬の曝露量を増加させる可能性はないと考えられる。

主要代謝物では、M1 は OATP1B1 を、並びに M1 及び M3 は OCT1 を、それぞれ顕著に阻害し

た（モジュール 2.6.5 第 15 項、モジュール 4.2.2.6.7）。取込みトランスポーターである OATP1B1 及び OCT1 は肝細胞及び／又は近位尿細管の基底膜に発現するため、血漿中の非結合型薬物に曝露されるものの、膜透過性が高いため、両代謝物は主に受動拡散により肝臓及び腎臓に移行すると予想される。したがって、血漿中非結合型濃度は細胞内濃度の適切なサロゲートであると考えられるが、M1 及び M3 の定常状態における非結合型の C_{max} は最高 5 nmol/L であり（AC-078-105 試験、モジュール 5.3.3.3.1）、最も低い IC_{50} である OCT1 に対する M1 の IC_{50} と比較して約 2 桁低かった。これらのことから、ダリドレキサントの主要代謝物も、薬物トランスポーターを介して消失する併用薬の曝露量を増加させる可能性はないと考えられる。

4. 毒性試験

ダリドレキサントに関連した主な変化は、1）主にイヌで認められた過度の薬理作用による CNS に関連した変化、2）薬物代謝酵素誘導に関連した適応性変化であり、毒性変化ではないと考える肝臓（マウス、ラット及びイヌ）、甲状腺（ラット及びイヌ）又は下垂体前葉（ラット）の変化、あるいは薬物の排泄過程に関連した胆嚢の変化（イヌ）の 2 点に要約される。

一般毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験における主要な変化についての総合評価及び考察を以下に要約する。

4.1 忍容性

ラット及びイヌを用いた長期反復投与毒性試験において、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量と比較して、ラットでは 70 倍、イヌでは 630 倍の曝露量となる用量までダリドレキサントの良好な忍容性が認められた（モジュール 2.6.6 第 10.1 項）。

ダリドレキサントに関連した死亡が、マウス及びラットを用いた反復投与毒性試験の 1000 mg/kg/day 群で認められた。毒性機序検討試験の結果、低体温症が死亡の原因と考えられた。体温低下は、ラットを用いた安全性薬理試験の高用量群でも認められ、げっ歯類特異的な機序と考えられた（2.4 項）。

4.2 ダリドレキサントの薬理作用に関連した一般状態の変化

ダリドレキサント投与により CNS 関連の一般状態の変化が発現した。すなわち、1）ダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化、2）高用量における過度の薬理作用に関連した変化、3）MTD を上回る用量における変化であった。

睡眠促進作用による CNS 関連の一般状態の変化として、50 mg/kg/day 以上の群のラットで自発運動低下、横臥及び呼吸緩徐が認められた。150 mg/kg/day 以上の群のイヌで活動性低下、鎮静／不活発及び緩慢動作が認められた。ラットでは最小有効用量と同等の用量で発現したのに対し、イヌでは最小有効用量の 285 倍の用量で認められた（2.2.2 項）。これらの一般状態の変化は休薬により回復し、毒性変化ではないと考えられた。

イヌでは、MTD を超える用量で、投与直後に頭部の間欠的振戦及び頭部反転動作が散見された。これらの CNS 関連の一般状態の変化には 220 倍以上の安全域が認められるため、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒトへの外挿性はないものと考えられる。

ナルコレプシー又はカタプレキシーは、オレキシン系機能不全のイヌにおいて陽性刺激下で惹

起されることが報告されている[Lin 1999]。ダリドレキサントを投与したイヌでは、陽性刺激下、すなわち一般毒性試験における運動中に認められた。カタプレキシー様の突然の筋力低下は、30 mg/kg/day 以上の群で試験 7 週以降に見られ、休薬により消失した。同様の症状は、オレキシン系機能不全のナルコレプシー動物モデル[Mieda 2017]、チョコレート誘発性カタプレキシーマウスモデルに対する他の DORA（lemborexant）投与での発現が報告されている[Mahoney 2020]。したがって、イヌで認められた一般状態の変化は、ダリドレキサントの過度の薬理作用による毒性変化と考えられた。神経学的検査及び脳の病理組織学的検査では、投与に関連した異常は認められなかった。反復投与毒性試験の結果から、本事象の無作用量は 20 mg/kg/day と考えられ、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量との比較により安全域は 45 倍以上と考えられた（4.10 項）。実際に、第 3 相臨床試験では同様の変化は認められなかった（モジュール 2.7.4 第 2.4.1 項）。

4.3 肝臓、甲状腺及び下垂体の変化

薬物代謝酵素誘導に関連した変化は、非臨床毒性試験では一般に見られ、通常、肝重量増加及び肝細胞肥大が認められる[Botts 2010] [Ennulat 2010] [Maronpot 2010] [Mohutsky 2010]。これらの適応性変化は毒性変化ではないと考えられ、ダリドレキサントを投与したマウス、ラット及びイヌの肝臓で見られ、関連する二次的変化が甲状腺（ラット及びイヌ）及び下垂体（ラット）で認められた。

肝臓の変化として、用量及び時間依存的な肝臓重量増加及び小葉中心性肝細胞肥大がマウス、ラット及びイヌで認められた。いずれの変化においても休薬による回復性が見られ、薬物代謝酵素誘導の結果と考えられた。

肝臓における薬物代謝酵素誘導は、ラットの肝臓における CYP 及び UGT mRNA の用量依存的なアップレギュレート、並びにイヌの肝臓における *cyp3a12* mRNA の用量依存的なアップレギュレートにより確認された（モジュール 2.6.4 第 5.6 項）。この P450 酵素及び UGT の誘導は、ダリドレキサントによる PXR 活性化と一致している（モジュール 2.6.4 第 7.2.2.1 項）。

薬物代謝酵素誘導の二次的変化である甲状腺及び下垂体の変化は、非臨床開発段階の動物実験では一般的であり、特にラットで高い発現頻度で認められる。ラットにおける甲状腺の濾胞細胞肥大は下垂体における甲状腺刺激ホルモン（TSH）産生増加による過剰刺激の結果として発現し、ダリドレキサント投与により認められたように（モジュール 2.6.4 第 5.6 項）、これは UGT2B 酵素誘導による甲状腺ホルモンの代謝クリアランスの増加に対する代償性反応である[Capen 1997] [RSA 2018] [Vansell 2002]。ラットでは、TSH 産生増加に関連した病理組織学的変化として下垂体前葉肥大が認められる[Zabka 2011]。同様のフィードバック反応による甲状腺の濾胞細胞肥大は、lersivirine のイヌを用いた試験でも報告されている[Houle 2014]。

この機序に一致して、ラットを用いた 26 週間までの反復投与毒性試験及びイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験では、甲状腺の濾胞細胞肥大が認められた。関連する変化として、ラットでは 150 mg/kg/day 以上の群で TSH の高値、450 mg/kg/day 群の雄でサイロキシン（T4）の低値が見られ、ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験で下垂体前葉肥大が認められた。

これらの二次的変化は、甲状腺ホルモンの輸送、代謝及び排泄における種差により、臨床的意義はないと考えられる。ラット及びイヌでは、循環中甲状腺ホルモンは血漿タンパクに一部が結

合するのみであり、ヒトと比較して早い代謝及び排泄を示す[Capen 1997] [Daminet 2003] [Kaptein 1994] [RSA 2018]。したがって、ラット及びイヌはヒトと比較して、甲状腺及び視床下部－下垂体－甲状腺軸の変化に対する感受性が高いとされている[Capen 1997] [O'Connor 1999] 。ダリドレキサントの曝露量の時間依存的低下は見られなかった。DDI 試験（AC-078-104 試験、モジュール 5.3.3.4.2）では、CYP3A4 基質であるミダゾラムの薬物動態プロファイルに対するダリドレキサントの影響は見られず、P450 酵素誘導への関与がないことが示唆された（3.7.2.1 項）。ヒトの CYP 及び UGT 誘導は PXR の活性化により調節されているが、ダリドレキサントはヒトの UGT 誘導には関与していない。したがって、ラット及びイヌで見られたダリドレキサント投与後の肝臓、甲状腺及び下垂体の変化は、臨床での最高用量において臨床的意義はないと考えられる。なお、ダリドレキサントの臨床試験では甲状腺ホルモンの変動は認められていない（モジュール 2.7.4 第 2.1 項）。

マウスの一部の系統（3 系統中 2 系統）で、肝毒性を示唆する変化が見られたが、ラット及びイヌでは認められなかった。肝毒性の発現には、ラット、イヌ及びヒトと異なるマウスのダリドレキサントの主代謝経路が関与している可能性がある（モジュール 2.6.6 第 10.3.1 項）。したがって、これらはマウス特異的変化であり、臨床的意義はないものと考えられた。実際、ダリドレキサントの臨床試験では肝毒性を示唆する変化は報告されていない（モジュール 2.7.4 第 2.1 項）。

4.4 コレステロールの変化

毒性試験では、マウス及び雌ラットで血漿中コレステロールの高値が認められた。ダリドレキサントに関連した薬物代謝酵素誘導を伴い、発現機序として、*in vitro* 試験におけるヒト PXR の活性化との関連性が認められた（モジュール 2.6.4 第 7.2.2 項）。PXR の活性化はコレステロール異化及びリポタンパク輸送に関与する遺伝子をダウンレギュレートし、げっ歯類におけるコレステロールの恒常性に影響を及ぼすことが報告されている[Zhou 2009]。したがって、げっ歯類におけるダリドレキサント投与による薬物代謝酵素誘導とコレステロール増加との関連性が示唆された。

臨床での最高用量（50 mg/day）ではヒト PXR は活性化されないことから（3.7.2.1 項）、不眠症治療のためにダリドレキサントを投与する患者においてコレステロールの変化は生じないと考えられる。このことは、50 mg/day までの用量で実施した第 2 相臨床試験（AC-078A201 試験）及び第 3 相臨床試験（AC-078A301 試験、AC-078A302 試験）の患者においてコレステロールの変動が認められなかったことから支持される（モジュール 2.7.4 第 3.2 項）。

4.5 イヌにおける胆嚢の変化

イヌを用いた 39 週間までの反復投与毒性試験で胆嚢の分泌物増加が認められた。変化の見られた用量における曝露量と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）とを比較すると、雄で 712 倍、雌で 134 倍の曝露量比が認められた。すべての検査時点でいずれの用量においても、結晶等の胆石形成の徴候は認められなかった。いずれも可逆的変化であり、胆嚢は正常構造であることから、ダリドレキサントの排泄に関連した機能的変化であり、毒性ではないと判断した。

4.6 遺伝毒性及びがん原性

ダリドレキサントに遺伝毒性は見られず、ラット及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験でがん原性は認められなかった。

4.7 生殖発生毒性

雌雄受胎能、胚・胎児発生、出生前及び出生後の発生、並びに幼若動物の発生に対するダリドレキサントの影響は認められなかった。臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量と比較すると約 90 倍の安全域が認められた（モジュール 2.6.6 第 6 項）。

4.8 依存性

ダリドレキサントの標的であるオレキシン系は外部報酬又は報酬関連手がかりに対する認知及び情動反応の調節に関与していることから、ドーパミン系の刺激作用又は乱用の原因となることはないと考えられている[James 2017] [Muschamp 2014]。

ラット及びイヌを用いた一般毒性試験、並びにラットを用いた身体依存試験では、ダリドレキサント投与中止後に、退薬症候を示唆する生理学的及び神経行動学的変化、自発運動パラメータの変化は認められなかった。ダリドレキサントの臨床試験において薬物乱用を示唆する有害事象が認められなかったことと一致している（モジュール 2.7.4 第 5.6 項）。

薬物弁別試験では、ゾルピデムの作用に対するダリドレキサントの般化は見られず、ダリドレキサントは GABA 受容体への結合及び受容体を介した作用を有さない（2.3 項）ことが確認された。

以上、非臨床試験ではダリドレキサントの乱用又は依存性の可能性がないことが示唆された。

4.9 主要代謝物及び不純物

ダリドレキサントの 3 種類の主要代謝物（M1、M3 及び M10）及びすべての不純物の安全性については、*in vitro* 及び *in vivo* 毒性試験で確認した。3 種類の主要代謝物の供試動物における曝露量は、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量と同等又は上回っていた（モジュール 2.6.6 第 9.2 項）。

4.10 安全域の算出

安全域（曝露量比）は、ラット及びイヌの無毒性量又は無作用量における血漿中総濃度及び非結合型濃度を、臨床での最高用量（50 mg/day）を 5 日間投与した第 1 相臨床試験（AC-078-105 試験、モジュール 5.3.3.3.1）のヒト血漿中総濃度及び非結合型濃度と比較し算出した。

血漿タンパク結合には、明らかな動物種差が認められる。毒性評価に使用した濃度範囲では、ラット及びイヌの血漿タンパクとの非結合型分率はヒトの 6～10 倍であった（モジュール 2.6.4 第 4.2.1 項）。したがって、安全域算出には血漿中非結合型曝露量を使用し、安全域を用いてイヌにおける突然の筋力低下等の毒性変化の評価を行った（表 1、表 2）。

表 1. ラット及びイヌの無毒性量又は無作用量における曝露量（AUC）と 50 mg/day におけるヒト曝露量から算出した安全域

試験の種類 [参照]	用量 (mg/kg/day)		性	非結合型 $AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL) [1)]	安全域
26 週間, ラット	無毒性量	450	雄	1.36 [2)]	72
[モジュール 4.2.3.2.7]			雌	2.29 [2)]	121
13 週間, イヌ	無作用量	20 [3)]	雄	1.47	78
[モジュール 4.2.3.2.10]			雌	0.85	45
39 週間, イヌ	無作用量	10	雄	0.27	14
[モジュール 4.2.3.2.11]			雌	0.75	40

1) 投与期間終了時のラット及びイヌにおける幾何平均値
2) 非結合型 $AUC_{0\text{-}last}$
3) カタプレキシー様症状の突然の筋力低下に対する無作用量

$AUC_{0\text{-}24}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積; $AUC_{0\text{-}last}$ = 0 時間から最終測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積

表 2. ラット及びイヌの無毒性量又は無作用量における曝露量（C_{max}）と 50 mg/day におけるヒト曝露量から算出した安全域

試験の種類 [参照]	用量 (mg/kg/day)		性	非結合型 C_{max} (μg/mL) [1)]	安全域
26 週間, ラット	無毒性量	450	雄	0.24	79
[モジュール 4.2.3.2.7]			雌	0.46	152
13 週間, イヌ	無作用量	20 [2)]	雄	0.19	64
[モジュール 4.2.3.2.10]			雌	0.15	50
39 週間, イヌ	無作用量	10	雄	0.05	18
[モジュール 4.2.3.2.11]			雌	0.15	50

1) 投与期間終了時のラット及びイヌにおける幾何平均値
2) カタプレキシー様症状の突然の筋力低下に対する無作用量

C_{max} = 最高血漿中濃度

ダリドレキサントの良好な安全性プロファイル及び高い安全域が認められたことから、本概要に示す非臨床安全性試験の成績は、臨床での最高用量（50 mg/day）による不眠症治療におけるダリドレキサントの安全な使用を支持するものと考える。

5. 総括及び結論

ダリドレキサントは選択的で高い効力を持つ DORA であり、不眠症患者の睡眠促進及び日中の機能改善を目的として開発された。ダリドレキサントは、脳内の 2 種類のオレキシン受容体をともに選択的に阻害することにより、不眠症患者の全覚醒促進領域の（過）活性を低下させ患者が自然な睡眠に落ちるのを助ける。

ダリドレキサントは、特異性及び標的に対する効力に加えて、服薬後の速やかな入眠、一晩を通した睡眠維持及び翌朝まで薬効が残らないことを可能にすると予測される薬物動態プロファイルに基づき選択した。この過程において PBPK モデルは重要な役割を果たし、予測されたヒト薬

物動態パラメータ及び有効用量は、SAD 及び第 3 相試験で得られた結果と一致した[Treiber 2017]。

ダリドレキサントは、以下の臨床効果の発現に重要な非臨床的特長を有する。

- 両受容体に作用する、同等の活性で効果的な（持続的）OX1R 及び OX2R 拮抗作用を示す
- 速やかな入眠と最適な（すなわち、一晩を通した睡眠であるが、それを超えない）睡眠時間をもたらすために、適切に脳に移行する物理的化学的及び薬物動態学的特性を有する
- 用量依存的な睡眠促進作用（持続的睡眠に至る入眠時間が短く睡眠時間を延長する作用）を有する
- 生理的睡眠構造が保持される
- 主要代謝物が睡眠作用に寄与しない

ダリドレキサントは、以下の臨床的安全性に重要な非臨床的特長を有する。

- 容易に覚醒可能な睡眠（薬理用量投与後の覚醒時に運動及び行動機能に影響を及ぼさない）を促進する
- 薬物乱用及び依存性は認められない
- ダリドレキサント及びその代謝物が相互作用を有する可能性は低い
- ラット及びイヌを用いた長期反復投与毒性試験における高い安全域（それぞれ 72 倍及び 14 倍）

ダリドレキサントの睡眠促進作用はラット及びイヌにおいて示された。両種ともに、ダリドレキサントは持続的睡眠に至る入眠時間を短縮し、NREM 及び REM 睡眠時間をいずれも用量依存的に延長した。総睡眠時間に対する NREM 及び REM 睡眠時間の相対的割合は変化しなかったことから、ダリドレキサント投与下での睡眠構造は生理的な睡眠パターンに相当し、それが保持されることが示された。ラット及びイヌの活動期にダリドレキサント投与下で確保された NREM 及び REM 睡眠の総時間は、自然な睡眠期中の総睡眠時間を超えることはなかった。ダリドレキサント投与による類似の睡眠促進作用は、睡眠障害を有する患者において認められた（モジュール 2.7.3 第 3.2.項）。第 3 相臨床試験において、睡眠促進作用は最長 12 ヵ月までの投与期間中持続し、休薬後にリバウンドである不眠症及び退薬症候の所見は観察されなかった（モジュール 2.7.4 第 5.7 項）。

容易に覚醒可能な睡眠を促進することは、睡眠促進薬に望ましい特長である。ラット及びイヌに睡眠促進作用を示す用量のダリドレキサントを投与したときに、両種とも直ちに覚醒可能であり、運動機能試験（ラット）又は食餌のような顕著な外部刺激提示（イヌ）において正常な行動を示した。対照的に、睡眠促進作用を示す GABA-A 受容体 PAM であるゾルピデムは、REM 睡眠時間を短縮することで睡眠構造を変化させ、ラットの運動機能を障害する[Beuckmann 2019] [Boss 2014] [Steiner 2011]。これらの知見から、ダリドレキサントは動物において容易に覚醒可能な睡眠を促進することが示された。

ダリドレキサントの予測された薬物動態プロファイルは、睡眠薬のターゲットプロファイル（すなわち、服薬後の速やかな入眠、一晩を通した睡眠維持及び翌朝の残留効果のなさ）を支持している。また、PBPK モデルは、ヒトにおける薬物動態パラメータ及び有効用量を予測するの

に重要な役割を果たした[Treiber 2017]。

ヒトにおいて予測された薬物動態と一致して、ダリドレキサントは動物において速やかに吸収され、C_{max} はおおむね投与後 1 時間以内に達した。また、粒子サイズ及び可溶化が、経口吸収を促進する重要なパラメータであると特定された。なお、ダリドレキサントはほぼ完全に吸収されたが、初回通過代謝のため、動物における経口バイオアベイラビリティは限定的であった。

ダリドレキサントの脳を含む組織分布は速やかであり、受動拡散によると考えられる。また、ダリドレキサントの血漿タンパク結合は非線形性を示し、これが組織分布の濃度依存的な変化をもたらしたと考えられる。血漿タンパク結合の非線形性は、臨床的に意味はないことが示されたが（AC-078-101 試験、モジュール 5.3.3.1.1）、動物における薬理学的及び毒性学的所見を解釈する上で考慮に入れた。

ダリドレキサントは、動物及びヒトにおいて著しく代謝された後、排泄された。CYP3A4 は、ダリドレキサントの代謝に関与する主要な CYP 分子種であり、*in vitro* における代謝クリアランスの約 90%を占めた。また、CYP3A4 阻害剤であるジルチアゼム（AC-078-103 試験、モジュール 5.3.3.4.1）及び CYP3A4 誘導剤であるエファビレンツ（ID-078-120 試験、モジュール 5.3.3.4.4）を用いた臨床 DDI 試験において、ダリドレキサントの薬物動態は CYP3A4 活性の変化に対して影響を受けることが示された。なお、動物における主要消失経路は代謝物の胆汁中排泄であり、尿中排泄はマイナーであった。

In vitro において、CYP3A4 及び BCRP が最も重要な DDI のターゲットとして特定されたため、それらの臨床上の重要性を、25 mg のダリドレキサントの用量で、CYP3A4 基質であるミダゾラム（AC-078-104 試験、モジュール 5.3.3.4.2）及び BCRP 基質であるロスバスタチン（ID-078-106 試験、モジュール 5.3.3.4.3）を用いた臨床 DDI 試験において検討した。ミダゾラム及びロスバスタチンの曝露量は、ダリドレキサント併用の有無にかかわらず同様であったことから、臨床において、ダリドレキサントは CYP3A4 及び BCRP の活性に影響しないことが示された。また、PBPK モデルを用いた解析から、50 mg の用量でも、ダリドレキサントは両ターゲットに対して臨床上意味のある影響を及ぼさないと予測された。さらに、他のすべての CYP 分子種及び薬物トランスポーターに対するダリドレキサントの阻害作用はより弱かったことから、ダリドレキサントは、他の CYP 分子種及び薬物トランスポーターも阻害しないことが示唆された。したがって、ダリドレキサントが、P450 酵素又は薬物トランスポーターを介して消失する併用薬の曝露量を増加させる可能性は低いと考えられる。

ダリドレキサントの 3 種類の主要代謝物は、*in vitro* 試験結果に基づくと、これらはダリドレキサントの投与による薬理学的作用に寄与せず、CYP 阻害及び誘導、並びに薬物トランスポーター阻害を介した DDI も引き起こさないと考えられる。また、これらの代謝物は、一般毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性及びがん原性試験において、毒性学的に適切に評価された。

広範囲に選択した中枢及び末梢の薬理学的ターゲットを評価するための酵素アッセイ及び放射性リガンド結合アッセイの大規模パネルにおいて、ダリドレキサント及び主要代謝物にはヒトのリスク評価に関係するオフターゲット作用は確認されなかった。

安全性薬理試験から、呼吸系、CNS 又は心血管系機能においてヒトのリスク評価に関係する有害作用は確認されず、心室再分極に影響を及ぼす可能性のある所見も見られなかった。試験結

果から、ヒトの臨床での最高用量である 50 mg/day のダリドレキサント曝露に対する安全域は少なくとも 52 倍であった。

毒性試験では主な標的関連毒性として、陽性情動下のイヌにおいてカタプレキシー様症状の突然の筋力低下が認められた。カタプレキシーはオレキシン系の機能不全及び DORA の高用量を午前中に投与したイヌで既知の事象である[Mahoney 2020] [Mieda 2017]。したがって、この毒性変化はダリドレキサントの過度の薬理作用によるものと考えられた。神経学的検査及び脳の病理組織学的検査では、投薬に関連した異常は認められなかった。臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量と比較して 45 倍以上の安全域が認められていることから、カタプレキシー様症状が患者で発現する可能性は低いと考えられた。実際、第 3 相臨床試験では、カタプレキシーを示唆する変化は認められなかった（モジュール 2.7.4 第 2.1.4 項）。

薬物代謝酵素誘導に関連した適応性の病理組織学的変化として、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大（マウス、ラット及びイヌ）、二次的変化として甲状腺濾胞細胞肥大（ラット及びイヌ）及び下垂体前葉肥大（ラット）が認められた。ダリドレキサントの臨床薬理試験では、ヒトでの CYP 誘導を示唆する変化は認められなかった（3.7.2.1 項）。したがって、非臨床試験で認められた肝臓、並びに甲状腺及び下垂体の変化は、臨床での最高用量において臨床的意義はないものと考えられた。

げっ歯類を用いた毒性試験における臨床検査で、血漿中コレステロールの高値が認められた。いずれも可逆性の小さな変化であり、毒性変化ではないと考えられた。第 2 相及び第 3 相臨床試験では、ダリドレキサントの 50 mg/day までの用量でコレステロールの異常は認められなかった（モジュール 2.7.4 第 3.2 項）。

ダリドレキサントの遺伝毒性及び光毒性は認められなかった。マウス及びラットを用いたがん原性試験でダリドレキサントのがん原性は認められなかった。

ダリドレキサントにラットの受胎能への影響、胚・胎児毒性及び催奇形性は認められなかった。出生前、出生後及び幼若動物の発生に対するダリドレキサント投与の影響は認められなかった。授乳ラットの乳汁中にダリドレキサント及びその 3 種類の主要代謝物が認められた。

オレキシン系阻害による薬物乱用傾向は予想されない。非臨床試験では、ダリドレキサント投与による乱用又は依存性を示唆する変化は認められなかった。実際、ダリドレキサントの臨床試験では、乱用を示唆する薬剤関連性の有害事象は見られず、退薬症候も認められなかった（モジュール 2.7.4 第 5.6 項、第 5.7 項）。

長期反復投与毒性試験の無毒性量／無作用量における曝露量と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量から、ラットでは 72 倍以上、イヌでは 14 倍以上の安全域が算出された。非臨床試験におけるダリドレキサントの良好な安全性プロファイル及び高い安全域から、本概要に示す非臨床試験成績は、ダリドレキサントを 50 mg/day の用量で使用することを支持するものと考えられる。

非臨床試験成績から、ダリドレキサントは立ち上がりが早く適度な時間持続する薬理作用を示し、睡眠－覚醒サイクルの重要な制御因子に非常に特異的に作用することにより、不眠症に対して効果的で安全な治療を提供できる大きな可能性を有する。したがって、ダリドレキサントは安全性とともに不眠症治療薬として理想的な薬物動態及び薬力学的プロファイルを有することか

ら、臨床での最高用量（50 mg/day）における不眠症を適用としたダリドレキサントの承認申請及び安全な長期使用が支持されるものと考える。

6. 参考文献

[APA 2013] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 5th ed. (DSM-5™). editor. Arlington, VA: American Psychiatric Publishing; 2013.（モジュール 4.3.1）

[Bettica 2012] Bettica P, Squassante L, Groeger JA, Gennery B, Winsky-Sommerer R, Dijk DJ. Differential effects of a dual orexin receptor antagonist (SB-649868) and zolpidem on sleep initiation and consolidation, SWS, REM sleep, and EEG power spectra in a model of situational insomnia. Neuropsychopharmacology. 2012;37(5):1224-33.（モジュール 4.3.4）

[Beuckmann 2019] Beuckmann CT, Ueno T, Nakagawa M, Suzuki M, Akasofu S. Preclinical in vivo characterization of lemborexant (E2006), a novel dual orexin receptor antagonist for sleep/wake regulation. Sleep. 2019;42(6): doi.org/10.1093/sleep/zsz076.（モジュール 4.3.5）

[Boss 2014] Boss C, Roch-Brisbare C, Steiner MA, Treiber A, Dietrich H, Jenck F, et al. Structure-activity relationship, biological, and pharmacological characterization of the proline sulfonamide ACT-462206: a potent, brain-penetrant dual orexin 1/orexin 2 receptor antagonist. ChemMedChem. 2014;9:2486-96.（モジュール 4.3.7）

[Botts 2010] Botts S, Ennulat D, Francke-Carroll S, Graham M, Maronpot RR, Mohutsky M. Introduction to hepatic drug metabolizing enzyme induction in drug safety evaluation studies. Toxicol Pathol. 2010;38(5):796-8.（モジュール 4.3.8）

[Brisbare-Roch 2007] Brisbare-Roch C, Dingemanse J, Koberstein R, Hoever P, Aissaoui H, Flores S, et al. Promotion of sleep by targeting the orexin system in rats, dogs and humans. Nat Med. 2007;13(2):150-5.（モジュール 4.3.9）

[Brisbare-Roch 2008] Brisbare-Roch C, Clozel M, Jenck F. Effects of repeated oral administration of the orexin receptor antagonist almorexant in male rats and dogs. Sleep. 2008;31(Abstract Suppl 0118):A38.（モジュール 4.3.10）

[Brisbare-Roch 2010] Brisbare-Roch C, Fischer C, Jenck F. P.1.c.033 Effect of once-daily almorexant treatment for 6 weeks on the sleep-wake cycle of normal Wistar rats. European Neuropsychopharmacology. 2010;20 (Suppl 3):S253-S254.（モジュール 4.3.11）

[Buysse 2011] Buysse DJ, Germain A, Hall M, Monk TH, Nofzinger EA. A Neurobiological model of insomnia. Drug Discov Today Dis Models. 2011;8(4):129-37.（モジュール 4.3.12）

[Capen 1997] Capen CC. Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end points of the thyroid gland. Toxicol Pathol. 1997;25(1):39-48.（モジュール 4.3.13）

[Carskadon 2011] Carskadon M, Dement W. Normal Human Sleep: An Overview. in Principles and Practice of Sleep Medicine., editors. Kryger MH, Roth T, Dement W: Elsevier; 2011. 16-26.（モジュール 4.3.14）

[Daminet 2003] Daminet S, Ferguson DC. Influence of drugs on thyroid function in dogs. J Vet Intern Med. 2003;17:463-72.（モジュール 4.3.18）

[de Lecea 1998] de Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao XB, Foye PE, Danielson PE, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. Proc Natl Acad Sci USA.

1998;95:322-7.（モジュール 4.3.21）

[de Lecea 2012] de Lecea L. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. Prog Brain Res. 2012;198:15-24.（モジュール 4.3.22）

[Dietrich 2010] Dietrich H, Jenck F. Intact learning and memory in rats following treatment with the dual orexin receptor antagonist almorexant. Psychopharmacology. 2010;212:145-54.（モジュール 4.3.23）

[Eggermann 2001] Eggermann E, Serafin M, Bayer L, Machard D, Saint-Mleux B, Jones BE, et al. Orexins/hypocretins excite basal forebrain cholinergic neurones. Neuroscience. 2001;108(2):177-81.（モジュール 4.3.24）

[Ennulat 2010] Ennulat D, Walker D, Clemo F, Magid-Slav M, Ledieu D, Graham M, et al. Effects of hepatic drug-metabolizing enzyme induction on clinical pathology parameters in animals and man. Toxicol Pathol. 2010;38(5):810-28.（モジュール 4.3.25）

[FDA 2017] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Assessment of Abuse Potential of Drugs. Guidance for Industry. January 2017 [accessed on 21 November 2022]. available from: https://www.fda.gov/media/116739/download.（モジュール 4.3.27）

[Fox 2013] Fox SV, Gotter AL, Tye SJ, Garson SL, Savitz AT, Uslaner JM, et al. Quantitative electroencephalography within sleep/wake states differentiates $GABA_A$ modulators eszopiclone and zolpidem from dual orexin receptor antagonists in rats. Neuropsychopharmacology. 2013;38:2401-8.（モジュール 4.3.29）

[Giorgi 2012] Giorgi M, Portela DA, Breghi G, Briganti A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of zolpidem after oral administration of a single dose in dogs. Am J Vet Res. 2012;73(10):1650-6.（モジュール 4.3.33）

[Gotter 2013] Gotter AL, Winrow CJ, Brunner J, Garson SL, Fox SV, Binns J, et al. The duration of sleep promoting efficacy by dual orexin receptor antagonists is dependent upon receptor occupancy threshold. BMC Neurosci. 2013;14:90.（モジュール 4.3.34）

[Hagan 1999] Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, Evans ML, Wattam TA, Holmes S, et al. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96:10911-6.（モジュール 4.3.35）

[Houle 2014] Houle CD, Finch GL, Mauthe RJ, Potter DM, Walisser JA, Gardner IB, et al. Effects of lersivirine on canine and rodent thyroid function. Toxicol Pathol. 2014;42:897-912.（モジュール 4.3.39）

[Iwakawa 2019] Iwakawa S, Kanmura Y, Kuwaki T. Orexin receptor blockade-induced sleep preserves the ability to wake in the presence of threat in mice. Front Behav Neurosci. 2019;12:327.（モジュール 4.3.41）

[James 2017] James MH, Campbell EJ, Dayas CV. Role of the orexin/hypocretin system in stress-related psychiatric disorders. in Behavioral Neuroscience of Orexin/Hypocretin, editors Lawrence AJ, de Lecea L.: Springer International Publishing AG; 2017. 197-219.（モジュール 4.3.42）

[Kaptein 1994] Kaptein EM, Hays MT, Ferguson DC. Thyroid hormone metabolism. A comparative evaluation. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1994;24(3):431-66.（モジュール 4.3.44）

[Lee 2005] Lee MG, Hassani OK, Jones BE. Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the

sleep-waking cycle. J Neurosci. 2005;25(28):6716-20.（モジュール 4.3.45）

[Lee 2013] Lee YH, Dai YW, Huang SC, Li TL, Hwang LL. Blockade of central orexin 2 receptors reduces arterial pressure in spontaneously hypertensive rats. Exp Physiol. 2013;98(7):1145-55.（モジュール 4.3.46）

[Levenson 2015] Levenson JC, Kay DB, Buysse DJ. The pathophysiology of insomnia. Chest. 2015;147(4):1179-92.（モジュール 4.3.47）

[Li 2013] Li A, Hindmarch CC, Nattie EE, Paton JF. Antagonism of orexin receptors significantly lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. J Physiol. 2013;591(17):4237-48.（モジュール 4.3.48）

[Li 2014] Li A, Nattie E. Orexin, cardio-respiratory function, and hypertension. Front Neurosci. 2014;8:22.（モジュール 4.3.49）

[Lin 1999] Lin L, Faraco J, Li R, Kadotani H, Rogers W, Lin X, et al. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the *hypocretin (orexin) receptor 2* gene. Cell. 1999;98:365-76.（モジュール 4.3.50）

[Liu 2002] Liu RJ, van den Pol AN, Aghajanian GK. Hypocretins (orexins) regulate serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus by excitatory direct and inhibitory indirect actions. J Neurosci. 2002;22(21):9453-64.（モジュール 4.3.51）

[Mahoney 2020] Mahoney CE, Mochizuki T, Scammell TE. Dual orexin receptor antagonists increase sleep and cataplexy in wild type mice. Sleep. 2020;43(6): zsz302.（モジュール 4.3.54）

[Maronpot 2010] Maronpot RR, Yoshizawa K, Nyska A, Harada T, Flake G, Mueller G, et al. Hepatic enzyme induction: histopathology. Toxicol Pathol. 2010;38(5):776-95.（モジュール 4.3.57）

[Mieda 2017] Mieda M. The roles of orexins in sleep/wake regulation. Neurosci Res. 2017;118:56-65.（モジュール 4.3.58）

[Modirrousta 2005] Modirrousta M, Mainville L, Jones BE. Orexin and MCH neurons express c-Fos differently after sleep deprivation vs. recovery and bear different adrenergic receptors. Eur J Neurosci. 2005;21:2807-16.（モジュール 4.3.59）

[Mohutsky 2010] Mohutsky MA, Romeike A, Meador V, Lee WM, Fowler J, Francke-Carroll S. Hepatic drug-metabolizing enzyme induction and implications for preclinical and clinical risk assessment. Toxicol Pathol. 2010;38:799-809.（モジュール 4.3.60）

[Morairty 2014] Morairty SR, Wilk AJ, Lincoln WU, Neylan TC, Kilduff TS. The hypocretin/orexin antagonist almorexant promotes sleep without impairment of performance in rats. Front Neurosci. 2014;8:3.（モジュール 4.3.61）

[Muschamp 2014] Muschamp JW, Hollander JA, Thompson JL, Voren G, Hassinger LC, Onvani S, et al. Hypocretin (orexin) facilitates reward by attenuating the antireward effects of its cotransmitter dynorphin in ventral tegmental area. Proc Natl Acad Sci USA. 2014;111(16):E1648-55.（モジュール 4.3.63）

[Neylan 2020] Neylan TC, Richards A, Metzler TJ, Ruoff LM, Varbel J, O'Donovan A, et al. Acute cognitive effects of the hypocretin receptor antagonist almorexant relative to zolpidem and placebo: a randomized clinical trial. Sleep. 2020;43(10):zsaa080.（モジュール 4.3.64）

[Nofzinger 2006] Nofzinger EA, Nissen C, Germain A, Moul D, Hall M, Price JC, et al. Regional cerebral metabolic correlates of WASO during NREM sleep in insomnia. J Clin Sleep Med. 2006;2(3):316-

22.（モジュール 4.3.65）

[O'Connor 1999] O'Connor JC, Frame SR, Davis LG, Cook JC. Detection of thyroid toxicants in a tier I screening battery and alterations in thyroid endpoints over 28 days of exposure. Toxicol Sci. 1999;51:54-70.（モジュール 4.3.67）

[RSA 2018] Regulatory Science Associates. A literature review of the current state of the science regarding species differences in the control of, and response to, thyroid hormone perturbations. Part 1: A human health perspective. April 2018 [accessed on 21 November 2022]. Available from: http://cefic-lri.org/wp-content/uploads/2018/06/RSA-Draft-Thyroid-State-of-Science-Review-v4.pdf.（モジュール 4.3.70）

[Sakurai 1998] Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. Cell. 1998;92:573-85.（モジュール 4.3.71）

[Sakurai 2007] Sakurai T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. Nat Rev Neurosci. 2007;8(3):171-81.（モジュール 4.3.72）

[Scammell 2017] Scammell TE, Arrigoni E, Lipton JO. Neural circuitry of wakefulness and sleep. Neuron. 2017;93(4):747-65.（モジュール 4.3.73）

[Steiner 2011] Steiner MA, Lecourt H, Strasser DS, Brisbare-Roch C, Jenck F. Differential effects of the dual orexin receptor antagonist almorexant and the $GABA_A$-α1 receptor modulator zolpidem, alone or combined with ethanol, on motor performance in the rat. Neuropsychopharmacology. 2011;36:848-56.（モジュール 4.3.77）

[Swinney 2015] Swinney DC, Haubrich BA, van Liefde I, Vauquelin G. The role of binding kinetics in GPCR drug discovery. Curr Top Med Chem. 2015;15(24):2504-22.（モジュール 4.3.80）

[Tannenbaum 2014] Tannenbaum PL, Stevens J, Binns J, Savitz AT, Garson SL, Fox SV, et al. Orexin receptor antagonist-induced sleep does not impair the ability to wake in response to emotionally salient acoustic stimuli in dogs. Front Behav Neurosci. 2014;8:182.（モジュール 4.3.83）

[Tannenbaum 2016] Tannenbaum PL, Tye SJ, Stevens J, Gotter AL, Fox SV, Savitz AT, et al. Inhibition of orexin signaling promotes sleep yet preserves salient arousability in monkeys. Sleep. 2016;39(3):603-12.（モジュール 4.3.84）

[Treiber 2017] Treiber A, de Kanter R, Roch C, Gatfield J, Boss C, von Raumer M, et al. The use of physiology-based pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling in the discovery of the dual orexin receptor antagonist ACT-541468. J Pharmacol Exp Ther. 2017;362:489-503.（モジュール 4.3.85）

[Uslaner 2013] Uslaner JM, Tye SJ, Eddins DM, Wang X, Fox SV, Savitz AT, et al. Orexin receptor antagonists differ from standard sleep drugs by promoting sleep at doses that do not disrupt cognition. Sci Transl Med. 2013;5(179):179ra44.（モジュール 4.3.86）

[Vansell 2002] Vansell NR, Klaassen CD. Increase in rat liver UDP-glucuronosyltransferase mRNA by microsomal enzyme inducers that enhance thyroid hormone glucuronidation. Drug Metab Dispos. 2002;30(3):240-6.（モジュール 4.3.88）

[Winrow 2011] Winrow CJ, Gotter AL, Cox CD, Doran SM, Tannenbaum PL, Breslin MJ, et al. Promotion of sleep by suvorexant-a novel dual orexin receptor antagonist. J Neurogenetics. 2011;25(1-2):52-61.（モジュール 4.3.89）

[Winrow 2012] Winrow CJ, Gotter AL, Cox CD, Tannenbaum PL, Garson SL, Doran SM, et al. Pharmacological characterization of MK-6096 - a dual orexin receptor antagonist for insomnia. Neuropharmacology. 2012;62:978-87.（モジュール 4.3.90）

[Yamanaka 2002] Yamanaka A, Tsujino N, Funahashi H, Honda K, Guan JL, Wang QP, et al. Orexins activate histaminergic neurons via the orexin 2 receptor. Biochem Biophys Res Commun. 2002;290(4):1237-45.（モジュール 4.3.92）

[Zabka 2011] Zabka TS, Fielden MR, Garrido R, Tao J, Fretland AJ, Fretland JL, et al. Characterization of xenobiotic-induced hepatocellular enzyme induction in rats: anticipated thyroid effects and unique pituitary gland findings. Toxicol Pathol. 2011;39(4):664-77.（モジュール 4.3.93）

[Zeitzer 2003] Zeitzer JM, Buckmaster CL, Parker KJ, Hauck CM, Lyons DM, Mignot E. Circadian and homeostatic regulation of hypocretin in a primate model: implications for the consolidation of wakefulness. J Neurosci. 2003;23(8):3555-60.（モジュール 4.3.94）

[Zhou 2009] Zhou C, King N, Chen KY, Breslow JL. Activation of PXR induces hypercholesterolemia in wild-type and accelerates atherosclerosis in apoE deficient mice. J Lipid Res. 2009;50:2004-13.（モジュール 4.3.95）