第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要

2.6.6 毒性試験の概要文

ネクセラファーマジャパン株式会社

目次

1. まとめ 8
2. 単回投与毒性試験 11
3. 反復投与毒性試験 11
3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験 12
3.1.1 マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 12
3.1.2 マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験 13
3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験 14
3.2.1 ラットを用いた 3 日間忍容性試験 14
3.2.2 ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験 14
3.2.3 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 15
3.2.4 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 16
3.2.5 ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 17
3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験 18
3.3.1 ビーグル犬を用いた経口投与による MTD 検討試験 18
3.3.2 ビーグル犬を用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 19
3.3.3 ビーグル犬を用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 19
3.3.4 ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 21
4. 遺伝毒性試験 22
4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 23
4.2 ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 24
4.3 ラットを用いた骨髄小核試験 24
5. がん原性試験 25
5.1 ラットを用いた 104 週間がん原性試験 25
5.2 rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験 27
6. 生殖発生毒性試験 27
6.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験 29
6.1.1 雄ラットを用いた授胎能試験 29
6.1.2 雌ラットを用いた受胎能試験 29
6.2 胚・胎児発生に関する試験 30
6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 30
6.2.1.1 妊娠ラットを用いた用量設定試験 30
6.2.1.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 31
6.2.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 31
6.2.2.1 雌ニュージーランドホワイトウサギを用いた経口投与による MTD 検討試験 31
6.2.2.2 妊娠ウサギを用いた用量設定試験 32
6.2.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 32
6.3 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 33

6.4 幼若動物を用いた毒性試験 34
6.4.1 幼若ラットを用いた用量設定試験 34
6.4.2 幼若ラットを用いた毒性試験 35
7. 局所刺激性試験 37
8. その他の毒性試験 37
8.1 *In vitro* 細胞毒性試験 40
8.2 *In vitro* 光毒性試験 41
8.3 雌ラットの死亡原因検討試験 41
8.3.1 TRPV1 受容体に対する作用に関する *in vitro* 試験 41
8.3.2 ラットを用いた単回投与によるテレメトリー試験 42
8.3.3 雌ラットを用いた反復投与によるテレメトリー試験 42
8.3.4 雌ラットの胃腸管輸送に関する試験 43
8.4 ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験における肝細胞の形態計測 44
8.5 CD-1 系及び B6C3F1 系マウスを用いた探索的忍容性試験 44
8.5.1 CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 44
8.5.2 CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 45
8.5.3 B6C3F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 45
8.6 依存性試験 46
8.6.1 薬物弁別試験によるゾルピデムの作用に対する刺激般化の評価 46
8.6.2 コカイン自己投与法を用いた強化特性の評価 47
8.6.3 退薬症候の評価 48
8.7 不純物 49
8.7.1 不純物の *in vitro* 遺伝毒性試験 49
8.7.2 不純物 ACT-699581A の安全性の確認 49
8.7.2.1 ヒト末梢血リンパ球を用いた *In vitro* 染色体異常試験 50
8.7.2.2 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験 50
8.7.3 不純物9* 、 不純物10* 及び 不純物11* の安全性の評価 50
9. トキシコキネティクスの概要 51
9.1 生体試料中薬物濃度測定法及び試料の血漿中安定性 51
9.2 ダリドレキサントの主要代謝物 52
9.3 チトクローム P450 酵素誘導 55
9.4 ラットにおけるトキシコキネティクス 55
9.5 イヌにおけるトキシコキネティクス 63
9.6 マウスにおけるトキシコキネティクス 68
9.7 ウサギにおけるトキシコキネティクス 72
10. 考察及び結論 73
10.1 忍容性 74
10.2 CNS 関連の一般状態の変化 75

*新薬承認情報提供時に置き換え

10.3 肝臓、甲状腺及び下垂体の変化 76
10.3.1 CD-1 系及び CByB6F1 系マウスにおける肝毒性 78
10.4 コレステロールの変化 78
10.5 血液学的検査値の変化 79
10.6 イヌにおける胆嚢の変化 80
10.7 安全域の算出 80
11. 参考文献 82

表目次

表 1. ダリドレキサントの毒性試験一覧 10
表 2. ダリドレキサントの反復投与毒性試験一覧 11
表 3. 陽性の情動下（運動場での運動中）における突然の筋力低下の発現頻度 20
表 4. 陽性の情動下（運動場での運動中）における突然の筋力低下の発現頻度 22
表 5. ダリドレキサントの遺伝毒性試験一覧 23
表 6. ダリドレキサントのがん原性試験一覧 25
表 7. ラットを用いた 104 週間がん原性試験の死亡発現状況 26
表 8. ダリドレキサントの生殖発生毒性試験一覧 28
表 9. 幼若ラットの毒性試験における群構成及び評価項目 36
表 10.ダリドレキサントのその他の毒性試験一覧 38
表 11. 各不純物の *in vitro* 遺伝毒性試験における適用量、動物試験での NOAEL における投与量とヒト予測最高投与量との比較 51
表 12. マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、並びにラット胚・胎児発生に関する試験における無毒性量又は無作用量、並びにがん原性試験の最高用量におけるヒト主要代謝物の曝露量（AUC）とヒト曝露量との比較 53
表 13. マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、並びにラット胚・胎児発生に関する試験における無毒性量又は無作用量、並びにがん原性試験の最高用量におけるヒト主要代謝物の曝露量（C_{max}）とヒト曝露量の比較 54
表 14. ラットを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約 56
表 15. ラットを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約 57
表 16. ラットを用いたがん原性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量の要約 59
表 17. ラットを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約 60
表 18. ラットを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約 61
表 19. ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験、並びに幼若動物を用いた毒性試験

におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約.....62
表 20. ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験、並びに幼若動物を用いた毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約.....63
表 21. イヌを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約.....65
表 22. イヌを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約.....67
表 23. マウスを用いたがん原性試験（MTD 検討及び DRF 試験を含む）におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約.....69
表 24. マウスを用いたがん原性試験（MTD 検討及び DRF 試験を含む）におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約.....71
表 25. ウサギを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約.....72
表 26. ウサギを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約.....73
表 27. イヌにおける CNS 関連一般状態の変化.....76
表 28. マウス及びラットの血漿中コレステロールの変化.....79
表 29. ラット及びイヌにおける赤血球系パラメータの変化.....80
表 30. ラット及びイヌの無毒性量、無作用量、最小毒性量及び最大耐量における曝露量（AUC）と 50 mg/day におけるヒト曝露量から算出した安全域及び治療係数.....81
表 31. ラット及びイヌの無毒性量、無作用量、最小毒性量及び最大耐量における曝露量（C_{max}）と 50 mg/day におけるヒト曝露量から算出した安全域及び治療係数.....82

略語

略語	略さない用語	日本語訳
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
ANOVA	Analysis of variance	分散分析
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC_{0-X}	Area under the plasma concentration vs time curve from 0 to X h post administration	0 時間から X 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	Area under the plasma concentration vs time curve from 0 to the last available measurement after dosing	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
BAT	Brown adipose tissue	褐色脂肪組織

略語	略さない用語	日本語訳
b.i.d.	Twice daily	1 日 2 回
CAR	Constitutive androstane receptor	構成的アンドロスタン受容体
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
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CPN	Chronic progressive nephropathy	慢性進行性腎症
CSF	Cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	Cytochrome P450 (enzyme)	チトクローム P450（酵素）
DDI	Drug-drug interaction	薬物相互作用
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
DORA	Dual orexin receptor antagonist	デュアルオレキシン受容体拮抗薬
DRF	Dose range finding	用量設定
EBSS	Earle’s Balanced Salt Solution	アール平衡塩類溶液
eCAC	FDA Executive Carcinogenicity Assessment Committee	－
FDA	Food and Drug Administration (US)	米国食品医薬品局
FOB	Functional Observational Battery	機能観察総合評価法
FR10	Fixed-ratio 10	飼料が供与される有効レバーを最低 10 回押した時に報酬が与えられる定率強化
f.u.	unbound fraction	非結合型分率
GD ××	Gestation day ××	妊娠××日
GGT	Gamma-glutamyl transferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
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の基準
his	histidine	ヒスチジン
HRAS	Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog	－
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
LC-MS/MS	Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LD ××	Lactation day ××	授乳××日

略語	略さない用語	日本語訳
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
MAP	Mean arterial pressure	平均血圧
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
NMU	N-nitroso-N-methylurea	N-ニトロソ-N-メチル尿素
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
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
PCE	Polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PCV	Packed cell volume	ヘマトクリット
PIF	Photo Irritation Factor	光毒性係数
PXR	Pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
QD	Once daily	1 日 1 回
RBC	Red blood cell	赤血球
S9mix	－	代謝活性化系
T4	Thyroxine	サイロキシン
TBG	Thyroxine-binding globulin	サイロキシン結合グロブリン
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TRPV1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1	－
TSH	Thyroid-stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UGT	Uridine 5’-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素

1. まとめ

ダリドレキサント（ACT-541468）は、オレキシン 1（OX1R）及びオレキシン 2 受容体（OX2R）の両方に作用しオレキシン神経ペプチドを阻害する強力なデュアルオレキシン受容体拮抗薬（DORA）である。オレキシン系は睡眠及び覚醒の調節に関与しており、ダリドレキサントは成人の不眠症患者の睡眠及び日中の機能を改善する新規治療薬として開発中である。

ダリドレキサントの一般毒性プロファイルは、マウスを用いた 4 週間までの反復経口投与毒性試験、ラットを用いた 26 週間までの反復経口投与毒性試験及びイヌを用いた 39 週間までの反復経口投与毒性試験で評価した。遺伝毒性は *in vitro* 及び *in vivo* 試験により評価した。ラット（104 週間投与）及び rasH2 トランスジェニックマウス（26 週間投与）を用いたがん原性試験を実施した。生殖発生毒性プロファイルは、雌雄ラットの受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験で検討した。幼若動物の発達への影響について、21 日齢の幼若ラットを用いた毒性試験（9 週間投与）により検討した。細胞毒性及び光毒性は *in vitro* 試験により評価した。薬物依存性については、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。さらに、マウスを用いた忍容性に関する探索的試験、ラットを用いた毒性機序検討試験を実施した。毒性試験一覧を表 1 に示した。

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、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験（GLP 適用）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。オレキシン系は哺乳類で高度に保存されているため [Mahler 2014] 、いずれの動物種においてもダリドレキサントの薬理活性が認められる。毒性試験の投与経路には、予定臨床投与経路である経口投与を選択した。ラット、イヌ及びヒトの肝細胞及び肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験の結果から、重要な毒性試験の供試動物としてラット及びイヌを選択したことは妥当と考えられる。

ダリドレキサントのヒト主要代謝物である M1（ACT-776537）、M3（ACT-776063）及び M10（ACT-1016-3307）については、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、ラットを用いた小核試験、rasH2 マウス及びラットを用いたがん原性試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量を上回る曝露量が得られる用量で評価されている。原薬及び製剤に含まれる不純物については、毒性試験により安全性を確認した。

ヒトと比較して、ラット及びイヌの血漿中タンパクに対するダリドレキサントの非結合型分率が高いことから、本概要に示す安全域は、ヒトリスクの適切な評価が可能と考えられる非結合体の血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）及び最高血漿中濃度（C_{max}）を使用して算出した。

ダリドレキサントに関連した主な変化を以下に要約し、各項に詳細を記載した。

マウス、ラット及びイヌにおいてダリドレキサントの良好な忍容性が確認された。長期反復投与による最大耐量（MTD）は、ラットで 450 mg/kg/day、イヌで 100 mg/kg/day であり、MTD 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とを比較すると、ラットで約 70 倍、イヌで 630 倍の差が認められた。ラットでは高用量（1000 mg/kg/day）投与により、死

亡が認められた。ラットの死亡原因について毒性機序検討試験により検討した結果、ダリドレキサントの高用量投与により、オレキシン受容体（OX1R 及び OX2R）に対する拮抗作用の二次的変化として発現するげっ歯類特異的な低体温症との関連性が考えられた。

マウス、ラット及びイヌにおけるダリドレキサントに関連した一般状態の変化として、マウス及びラットでは横臥、緩徐呼吸及び自発運動低下、イヌでは活動性低下（鎮静／不活発及び動作緩慢）が認められ、標的作用の結果と考えられた。これらはダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化と考えられることから、毒性変化ではないと判断した。陽性情動下のイヌにおけるカタプレキシー様の突然の筋力低下は、ダリドレキサントの過度の薬理作用によるものであり毒性変化と考えられた。この変化は 7 週間以上の反復投与後に発現し、休薬による回復性が認められた。イヌにおけるカタプレキシー様の中枢神経系（CNS）症状に対する無作用量は 20 mg/kg/日と考えられ、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量［0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）］と比較すると 45 倍以上の曝露量比が認められた。神経学的評価及び脳の病理組織学的検査において、本薬投与に関連した異常は認められなかった。

マウス、ラット及びイヌの肝臓、ラット及びイヌの甲状腺、ラットの下垂体前葉で、ダリドレキサント投与に関連した病理組織学的変化が認められた。発現した変化として、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺の濾胞細胞肥大及び下垂体前葉の肥大が認められ、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られた。いずれの変化も 4 週間又は 8 週間の休薬による回復性が確認された。

臨床検査では、ラット及びイヌでヘモグロビンの低値、マウス及びラットの雌でコレステロールの高値が認められた。これらの変化は可逆的であり、毒性変化ではないと考えられた。

ダリドレキサントに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において、ダリドレキサントのがん原性は認められなかった。

雌雄ラットの受胎能に対するダリドレキサントの影響は見られず、ラット及びウサギにおいて催奇形性及び胚・胎児毒性は認められなかった。ラットの出生前及び出生後の発生、並びに幼若動物の発達へのダリドレキサントの影響は認められなかった。

ラットにおいてダリドレキサントの薬物乱用を示唆する反応は見られず、退薬症候を示唆する生理学的、神経行動学的又は自発運動パラメータの変化は認められなかった。コカイン自己投与歴のあるラットではダリドレキサントの自己投与は見られず、いずれの用量においてもゾルピデムに類似したダリドレキサントの弁別効果は認められなかった。

以上のとおり、げっ歯類及び非げっ歯類を用いた毒性試験によりダリドレキサントの一般毒性及び生殖発生毒性プロファイルを検討した結果、ヒトに関連するすべての変化に対して無毒性量／無作用量が確立された。非臨床毒性試験では、ラットで 70 倍以上、イヌで 40 倍以上の安全域（非結合体 $AUC_{0\text{-}24}$ 比）が認められ、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるダリドレキサントの安全な長期臨床使用を支持するものと考えられる。

表 1. ダリドレキサントの毒性試験一覧

試験の種類・投与期間	投与経路	動物種
反復投与毒性		
3 日間	経口	ラット、イヌ
2 週間	経口	マウス、ラット、イヌ
4 週間	経口	マウス、ラット、イヌ
13 週間	経口	ラット、イヌ
26 週間	経口	ラット
39 週間	経口	イヌ
遺伝毒性		
復帰突然変異	*In vitro*	N/A
染色体異常	*In vitro*	N/A
小核試験 (2 日間)	経口	ラット
がん原性		
長期投与 (104 週間)	経口	ラット
中期投与 (26 週間)	経口	トランスジェニックマウス
生殖発生毒性		
雌受胎能	経口	ラット
雄授胎能	経口	ラット
用量設定 (3 及び 7 日間)	経口	ウサギ
胚・胎児発生 (用量設定)	経口	ラット、ウサギ
胚・胎児発生	経口	ラット、ウサギ
出生前及び出生後の発生	経口	ラット
幼若動物を用いた毒性		
用量設定 (2 週間)	経口	ラット
9 週間	経口	ラット
その他の毒性試験：毒性機序検討		
非標的活性 (TRPV1)	*In vitro*	N/A
胃腸管への影響 (単回)	経口	ラット
テレメトリー (単回)	経口	ラット
テレメトリー (4 週間)	経口	ラット
その他の毒性試験：依存性		
薬物嗜好強化試験	静脈内	ラット
薬物弁別試験	経口	ラット
自発的離脱試験 (4 週間)	経口	ラット
その他の毒性試験：不純物安全性評価		
復帰突然変異	*In vitro*	N/A
染色体異常	*In vitro*	N/A
反復投与毒性 (4 週間)	経口	ラット

表 1. ダリドレキサントの毒性試験一覧（続き）

試験の種類・投与期間	投与経路	動物種
その他の毒性試験：その他		
光毒性	*In vitro*	N/A
細胞毒性 (LDH 漏出)	*In vitro*	N/A

被験物質の batch 番号はモジュール 2.6.7 第 4 項に記載した。
試験は特記しない限り塩酸塩であるダリドレキサント (ACT-541468A) を使用した。すべての用量は遊離塩基で示し、塩酸塩への換算係数は約 1.09 (GLP 適用試験における塩及び関連物質の換算係数の範囲は 1.080-1.094) を使用した。
経口投与試験の投与液は媒体 (0.5% w/v methylcellulose)で調製した懸濁液を使用した。
GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、LDH = 乳酸脱水素酵素、N/A = 該当なし、TRPV1 = transient receptor potential cation channel subfamily V member 1

2. 単回投与毒性試験

ダリドレキサントの単回投与毒性試験は実施しなかった。マウス及びラットを用いた反復経口投与毒性試験の初回投与、並びにイヌを用いた経口投与による MTD 検討試験の結果から、マウス、ラット及びイヌにおける概略の致死量は 1000 mg/kg を超える量と推察された。

3. 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験の一覧を表 2 に示した。

表 2. ダリドレキサントの反復投与毒性試験一覧

試験の種類 [参照] *Batch 番号* [1)]	GLP	投与経路	動物種	投与期間	用量 (mg/kg/day) [2)]	動物数/性/群
用量設定 [モジュール 4.2.3.2.1] *RH01L117A1*	非適用	経口	CByB6F1 マウス (雌雄)	2 週間	0, 1000, 2000 (1000 mg/kg b.i.d.)	7 (投薬群) + 5 (対照群)
用量設定 [モジュール 4.2.3.2.2] *RH03L117A1*	適用	経口	CByB6F1 マウス (雌雄)	4 週間	0, 100, 300, 1500	10 (主試験) + 20 (TK、対照群は 5 例)
最大耐量 [モジュール 4.2.3.2.3] *ELN023-1806.3*	非適用	経口	Wistar ラット (雌雄)	3 日間	1000	3 (主試験) + 2 (TK)
用量設定 [モジュール 4.2.3.2.4] *ELN023-1806.3*	非適用	経口	Wistar ラット (雌雄)	2 週間	0, 100, 300, 600 [3)], 1000	5 (主試験) + 3 (TK、対照群は 1 例)

表 2. ダリドレキサントの反復投与毒性試験一覧（続き）

試験の種類 [参照] *Batch 番号* [1)]	GLP	投与経路	動物種	投与期間	用量 (mg/kg/day) [2)]	動物数/性/群
反復投与 [モジュール 4.2.3.2.5] *RH01L117A0*	適用	経口	Wistar ラット (雌雄)	4 週間 + 4 週間回復性	0, 100, 300, 1000	10 (主試験) + 5 (回復性) + 6 (TK)
反復投与 [モジュール 4.2.3.2.6] *RH01L117A1*	適用	経口	Wistar ラット (雌雄)	13 週間 + 4 週間回復性	0, 50, 150, 450	10 (主試験) + 5 (回復性) + 6 (TK)
反復投与 [モジュール 4.2.3.2.7] *RH02L117A1*	適用	経口	Wistar ラット (雌雄)	26 週間 + 8 週間回復性	0, 50, 150, 450	20 (主試験) + 5 (回復性) + 6 (TK)
最大耐量 [モジュール 4.2.3.2.8] *ELN096-1661.1*	非適用	経口	ビーグル犬 (雌雄)	3 日間用量漸増 + 14 日間	30, 100, 300, 1000 (用量漸増) + 0, 600 (反復投与)	1 (用量漸増) + 2 (反復投与、対照群は 1 例)
反復投与 [モジュール 4.2.3.2.9] *RH01L117A0*	適用	経口	ビーグル犬 (雌雄)	4 週間 + 4 週間回復性	0, 30, 100, 300/200 (主試験) + 0, 300/200 (回復性)	3 (主試験) + 2 (回復性)
反復投与 [モジュール 4.2.3.2.10] *RH01L117A1*	適用	経口	ビーグル犬 (雌雄)	13 週間 + 4 週間回復性	0, 20, 50, 150 (主試験) + 0, 150 (回復性)	4 (主試験) + 2 (回復性)
反復投与 [モジュール 4.2.3.2.11] *RH02L117A1*	適用	経口	ビーグル犬 (雌雄)	39 週間 + 8 週間回復性	0, 10, 30, 100 (主試験) + 0, 100 (回復性)	4 (主試験) + 3 (回復性)

1) 反復投与毒性試験を含むすべての試験に使用した被験物質の batch 番号はモジュール 2.6.7 第 4 項に記載した。
2) ダリドレキサントは塩酸塩 (ACT-541468A) として投与し、用量は遊離塩基で表記した。
3) 600 mg/kg/day は雌のみに投与した。

b.i.d. = 1 日 2 回、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、TK = トキシコキネティクス

3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験

3.1.1 マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験

CByB6F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.1］を、ダリドレキサントの忍容性の評価及び rasH2 マウス（CByB6F1）を用いた試験（5.2 項）の高用量選択のための情報を得ることを目的として GLP 非適用で実施した。本試験で

は、ダリドレキサントを 0（媒体、雌雄各 5 例）、1000（雌雄各 7 例）及び 2000 mg/kg/day［雌雄各 7 例、試験 1～4 日は 1000 mg/kg を 1 日 1 回、試験 5～14 日は 1000 mg/kg を 1 日 2 回（b.i.d.）］の用量で、マウスに強制経口投与した。さらに、TK 試験群（1 群雌雄各 3 例）を 2 群設定し、試験 1 日（1000 mg/kg/day 群のみ）及び試験 13/14 日に TK 評価を実施した。

本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重測定、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態の変化として、1000 mg/kg/day 群で自発運動低下及び円背位、2000 mg/kg/day 群で流涎が散見された。1000 mg/kg/day 群の雌で体温低下が認められた。自発運動低下及び体温低下はダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化と考えられた。体重増加量の高値が 1000 mg/kg/day 以上の群の雌で認められた。

血液生化学的検査では、1000 mg/kg/day 以上の群の雌雄でコレステロールの高値が認められた。

器官重量の変化として 1000 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の用量依存的な高値がみられ、関連する病理組織学的変化として肝細胞肥大が認められた。これらの変化は適応性変化であり、毒性ではないと考えられた（10.3 項）。

以上のことから、本試験の無毒性量は 2000 mg/kg/day と考えられ、無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}7}$）は雄で 4.79 µg·h/mL、雌で 1.73 µg·h/mL であり、$AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 9.0 µg·h/mL、雌で 3.5 µg·h/mL と推定された。C_{max} は雄で 2.41 µg/mL、雌で 0.7 µg/mL であった。

3.1.2 マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験

野生型 CByB6F1 系マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.2］を、rasH2 マウス（CByB6F1）を用いた 26 週間がん原性試験（5.2 項）の用量選択のための情報を得ることを目的として GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 10 例のマウスにダリドレキサントを 0（媒体）、100、300 及び 1500 mg/kg/day（試験 1～2 日は 500 mg/kg/day、試験 3～4 日は 1000 mg/kg/day、試験 5～28 日は 1500 mg/kg/day）の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、TK 試験群（対照群：雌雄各 5 例、投薬群：1 群雌雄各 20 例）を設定した。

本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態、体重、摂餌量及び臨床検査に投薬の影響は認められなかった。

剖検では、300 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値が見られ、関連する病理組織学的変化として肝細胞肥大が認められた。1500 mg/kg/day 群の雌雄で肝臓の腫大が見られ、病理組織学的検査では軽微から軽度の巣状壊死又は単細胞壊死が認められた。1500 mg/kg/day 群の雌雄で鼻腔の滲出性炎症が見られたが、マウスの強制経口投与試験で一般的であり、投与液の逆流又は胃ゾンデの抜き方に起因した変化と考えられた[Damsch 2011a] [Damsch 2011b]。肝臓の単細胞壊死は、rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験の高用量（1000 mg/kg/day）群（5.2 項）、並びにラット及びイヌを用いた試験の本試験と同様以上の曝露量を示す用量においても認められなかった。したがって、この変化には、ラット、イヌ及びヒトとは異なるマウス特異的代謝（主にフェノー

ル M4 への脱メチル化、その後のグルクロン酸抱合又は酸化反応による）が関与している可能性が考えられた。また、試験 1 及び 27 日の曝露量における時間依存的低下が、ラット（2 倍）及びイヌ（0.5 倍）に比較して、マウスでは顕著（雄で 10 倍、雌で 50 倍）に見られ、マウスでは時間経過に伴うダリドレキサントの代謝が高いことが示唆された。したがって、高用量群のマウスにおける肝細胞壊死は種特異的であり、ヒトへの外挿性はないと考えられる。なお、第 2 相及び第 3 相臨床試験（AC-078A201、AC-078A301、AC-078A302）では、50 mg/day までの用量で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）。

以上のとおり、300 mg/kg/day 群の肝臓で適応性の毒性ではない変化が見られ、本試験の無毒性量は 300 mg/kg/day と考えられた。同群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 5.53 µg·h/mL、雌で 2.21 µg·h/mL、C_{max} は雄で 3.28 µg/mL、雌で 0.89 µg/mL であった。

3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

3.2.1 ラットを用いた 3 日間忍容性試験

ラットを用いた 3 日間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.3］を GLP 非適用で実施し、ダリドレキサントのラットにおける忍容性を検討した。本試験では、雌雄各 3 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 1000 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、雌雄各 2 例を TK 試験群として設定し、試験 1 日及び 3 日に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験で死亡は認められなかった。一般状態の変化として、流涎及び自発運動低下が認められた。流涎は、ほとんどのダリドレキサントの反復投与毒性試験で見られており、被験物質の低嗜好性に関連した変化と考えられた。自発運動低下はほとんどのラットを用いた反復投与毒性試験で認められ、ダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化と考えられた。体重減少又は体重増加の抑制を伴う摂餌量の低下が、投与期間を通して雌で認められた。

血液生化学的検査では、コレステロール、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）（雌）及びアルカリホスファターゼ（ALP）（雄）の高値が認められた。

病理組織学的検査では、主に雌の肝臓で軽微から軽度のグリコーゲン枯渇を伴う軽微から軽度の肝細胞細胞質空胞化が認められた。これらは栄養不良による変化と考えられ、ダリドレキサントにおける他の毒性試験では認められなかった。

以上のことから、Wistar 系ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験の高用量に 1000 mg/kg/day を設定することは妥当と考えられた。

3.2.2 ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験

ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.4］を GLP 非適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 5 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、100、300、600（雌のみ）及び 1000 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、対照群：雌雄各 1 例、投薬群：1 群雌雄各 3 例を TK 試験群として設定し、試験 13 日に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、器官重

量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験ではダリドレキサントに関連した死亡は認められなかった。一般状態の変化として、すべての投薬群で自発運動低下が見られ、600 mg/kg/day 以上の群で体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。

血液生化学的検査では、1000 mg/kg/day 群の雄及び 600 mg/kg/day 以上の群の雌で GGT の高値、600 mg/kg/day 以上の群の雌でコレステロールの高値が見られた。

器官重量の変化として、300 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値、1000 mg/kg/day 群の雄及び 300 mg/kg/day 以上の群の雌で甲状腺重量の高値が認められた。いずれの変化も関連する病理組織学的変化は認められなかった。

以上のことから、Wistar 系ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の高用量に 1000 mg/kg/day を設定することは妥当と考えられた。1000 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 57.7 µg·h/mL、雌で 60.8 µg·h/mL、C_{max} は雄で 7.69 µg/mL、雌で 6.83 µg/mL であった。

3.2.3 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.5］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 10 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。また、1 群雌雄各 5 例を回復性試験群とし、投与期間終了後 4 週間の休薬期間により回復性を検討した。さらに、1 群雌雄各 6 例を TK 試験群として設定し、試験 1 週及び 4 週に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では、1000 mg/kg/day 群の雌 6 例が試験 12～26 日に死亡した。死亡前に認められた一般状態の変化は腹部膨満のみであった。死亡原因の検討を目的として毒性発現機序検討試験を実施し、胃内容物排出、体温及び心血管系パラメータに対するダリドレキサントの影響を評価した。試験の結果、1000 mg/kg/day 群では腹部膨満に関連した胃内容物排出の軽度の低下、明らかな体温低下が認められた（8.3.3 項、8.3.4 項）。これらのことから、1000 mg/kg/day 群の雌の死亡は低体温が原因と考えられ、その二次的変化として胃内容物排出低下が生じたものと推察された。雄では死亡は見られなかったが、雌の曝露量は雄の約 1.6 倍であることが関連していると考えられた（9.4 項）。

一般状態の変化として、1000 mg/kg/day 群で自発運動低下、腹部膨満及び立毛が認められた。腹部膨満は 300 mg/kg/day 以上の群で見られたが、毒性変化ではないと考えられた。すべての投薬群で流涎過多が見られ、関連する変化として異常採餌行動又はペダル漕ぎ動作が認められたが、いずれもダリドレキサントの低嗜好性に関連した変化であり、毒性学的意義は低いと考えられた。回復性試験中の一般状態に異常は認められなかった。試験 1 日に 1000 mg/kg/day 群で摂餌量の低下を伴う体重減少が認められたが、その後は、対照群と同等又は上回る体重増加量及び同等の摂餌量を示した。

投与期間終了時の血液学的検査では、1000 mg/kg/day 群でヘモグロビン及びヘマトクリット（PCV）の低値、1000 mg/kg/day 群の雌で網状赤血球数の高値が認められた。これらはいずれも背景値の範囲内の小さな変化であり、休薬による回復性が認められた。血液生化学的検査では、

すべての投薬群でトリグリセリド、コレステロール（雌）及び総タンパク（グロブリン）の高値が見られ、1000 mg/kg/day 群で GGT 及び ALT の高値が認められた。

剖検では 300 mg/kg/day 以上の群の雄及び 1000 mg/kg/day 群の雌で肝臓の腫大が見られ、器官重量の変化として、すべての投薬群で肝臓重量の高値、1000 mg/kg/day 群の雄及びすべての投薬群の雌で甲状腺重量の高値が認められた。病理組織学的検査では、300 mg/kg/day 以上の群で甲状腺の濾胞細胞肥大及び脾臓の髄外造血亢進、1000 mg/kg/day 群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、雄で下垂体前葉細胞肥大が認められた。膵臓外分泌（チモーゲン顆粒減少）及び胸骨骨髄（脂肪細胞増加）については、以下の理由によりダリドレキサント投与との関連性はないものと考えられた。すべての投薬群で見られた膵臓外分泌の機能的変化については、用量依存性及び構造的変化は見られず、ダリドレキサントの他の毒性試験において同様の変化は認められなかった。したがって、ダリドレキサントとの関連性のない偶発的変化と考えられた。1000 mg/kg/day 群で認められた胸骨骨髄の脂肪細胞増加については個体間変動が大きく、重度の変化は雌の死亡動物 4 例で認められた。骨髄の細胞充実性の変化は、これらの個体が瀕死状態にあることを示すものと考えられる[Everds 2013] [Reagan 2011]。同様の変化は 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験では認められなかった。

以上のとおり、300 mg/kg/day 群で見られた可逆的な適応性変化は毒性変化ではないと判断したことから、本試験の無毒性量は 300 mg/kg/day と考えられた。300 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 32.1 µg·h/mL、雌で 54.6 µg·h/mL、C_{max} は雄で 4.56 µg/mL、雌で 7.86 µg/mL であった。

3.2.4 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.6］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 10 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、50、150 及び 450 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。また、1 群雌雄各 5 例を回復性試験群とし、投与期間終了後 4 週間の休薬期間により回復性を検討した。さらに、1 群雌雄各 6 例を TK 試験群として設定し、試験 1、4 及び 13 週に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、甲状腺ホルモン測定、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態の変化として、すべての投薬群で自発運動低下及び鎮静／不活発が認められた。これらは休薬により消失したことから、ダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化と考え、毒性変化ではないと判断した。その他の変化（流涎、口を擦る、ペダル漕ぎ運動）はダリドレキサントの低嗜好性に対する二次的変化と考えられた。

投与期間終了時の血液学的検査では、450 mg/kg/day 群でヘモグロビン及び PCV の低値、網状赤血球数の高値が認められた。いずれの変化も可逆的で背景値の範囲内であったことから、毒性変化ではないと考えられた。血液生化学的検査では、150 mg/kg/day 以上の群でコレステロール（雌）及びグロブリンの高値が用量依存的に認められた。いずれの変化も可逆的な小さな変化であることから、毒性変化ではないと考えられた。

器官重量の変化として、150 mg/kg/day 以上の群で肝臓及び甲状腺重量の高値が見られ、剖検では 450 mg/kg/day 群で肝臓及び甲状腺の腫大が認められた。150 mg/kg/day 以上の群の雄及び 450 mg/kg/day 群の雌で甲状腺刺激ホルモン（TSH）の高値が用量依存的に認められた。病理組織

学的検査では、150 mg/kg/day 以上の群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、150 mg/kg/day 以上の群の雄及び 450 mg/kg/day 群の雌で甲状腺の濾胞細胞肥大が認められた。いずれも可逆的な適応性変化であることから、毒性変化ではないと考えられた（10.3 項）。

以上のとおり、450 mg/kg/day 群では適応性変化のみが認められたことから、本試験の無毒性量は 450 mg/kg/day と考えられた。450 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 34.5 µg·h/mL、雌で 52.1 µg·h/mL、C_{max} は雄で 5.06 µg/mL、雌で 8.06 µg/mL であった。本試験の無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量と比較すると、雄で 60 倍、雌で 91 倍の曝露量比が認められた。

3.2.5 ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 7. A 項、モジュール 4.2.3.2.7］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 20 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、50、150 及び 450 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。また、1 群雌雄各 5 例を回復性試験群とし、投与期間終了後 8 週間の休薬期間により回復性を検討した。さらに、1 群雌雄各 6 例を TK 試験群として設定し、試験 1、13 及び 27 週に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、甲状腺ホルモン測定、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では 6 例（対照群：1 例、450 mg/kg/day 群：5 例）の死亡が見られたが、いずれも採血手技又は投与手技の過誤が原因と考えられた。

一般状態の変化として、すべての投薬群で横臥、半眼及び緩徐呼吸が主に試験 95 日から投与期間終了時まで認められた。これらは、ダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化と考えられた。150 mg/kg/day 以上の群で、立毛、自発運動低下及び呼吸促迫が散見された。すべての投薬群で投与直後に流涎過多が見られ、関連する変化として異常採餌行動、ペダル漕ぎ動作又は挙尾が認められた。これらは、低嗜好性の投与液の経口投与により、投与直後に高頻度に認められる一般状態の変化である。回復性試験中、同様の変化は認められなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。450 mg/kg/day 群では体重増加量の高値が認められたが、休薬による回復性が確認された。

血液学的検査では、450 mg/kg/day 群でヘモグロビン及び PCV の低値が見られたが、いずれも背景値の範囲内の変動であることから、毒性変化ではないと考えられた。血液生化学的検査では、150 mg/kg/day 以上の群の雌でコレステロール及びグロブリンの高値、450 mg/kg/day 群で GGT、トリグリセリド及びグロブリン（雄）の高値が見られたが、いずれも可逆的であることから毒性変化ではないと考えられた。尿検査では、450 mg/kg/day 群の雌で尿中白血球数及びタンパク濃度の高値が認められた。

器官重量の変化として、50 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値、150 mg/kg/day 以上の群の雄及び 450 mg/kg/day 群の雌で甲状腺重量の高値が見られ、関連する変化として 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）の低値が認められた。
450 mg/kg/day 群の雌で腎臓重量の高値が認められた。病理組織学的検査では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大及び甲状腺の濾胞細胞肥大が認められ、いずれも休薬による回復性が確認された。これらは適応性変化であり、毒性変化ではないと考えられた。450 mg/kg/day 群の雌で腎臓の尿

細管で硝子円柱の発現頻度の高値が見られ、回復性試験終了時には好塩基性尿細管の発現頻度の高値も認められた。尿検査値の変化を伴うこれらの変化は、初期の慢性進行性腎症（CPN）に典型的な変化であり、ラットにおける加齢に伴う主な変化の一つである。ラットを用いた長期反復投与毒性試験における化学物質による CPN の増悪は、ヒトへの外挿性はないものと考えられている[Hard 2013]。ラットを用いた 104 週間がん原性試験においても CPN への進行が認められた（5.1 項）。したがって、450 mg/kg/day 群における腎臓の変化は、ヒトへの外挿性はないものと考えられた。

以上のとおり、ラットにおける CPN はヒトとの関連性はなく毒性変化ではないと判断したことから、本試験の無毒性量は 450 mg/kg/day と考えられた。450 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 41.2 μg·h/mL、雌で 54.5 μg·h/mL、C_{max} は雄で 7.27 μg/mL、雌で 10.9 μg/mL であった。本試験の無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量と比較すると、雄で 72 倍、雌で 121 倍の曝露量比が認められた。

3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験

3.3.1 ビーグル犬を用いた経口投与による MTD 検討試験

ビーグル犬を用いた MTD 検討試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.8］を GLP 非適用で実施し、ダリドレキサントのイヌにおける忍容性を検討した。用量漸増試験では、雌雄各 1 例のビーグル犬に、ダリドレキサントを 30、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量を、1 日 1 回、強制経口投与した。各用量の投与期間は 3 日間とし、用量間には 4 日間のウォッシュアウト期間を設定した。固定用量試験では、ダリドレキサントを 0（媒体、雌雄各 1 例）及び 600 mg/kg/day（雌雄各 2 例）の用量で 1 日 1 回、14 日間反復強制経口投与した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、神経学的検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査（固定用量試験のみ）及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。用量漸増試験では、300 mg/kg/day 以上の用量で用量依存的な嘔吐、食欲低下、体重減少及び流涎過多（雄）が認められた。臨床検査、器官重量及び剖検で、投薬に関連した異常は認められなかった。

固定用量試験では、嘔吐、体重及び摂餌量の減少が見られ、600 mg/kg/day に忍容性がないことが示唆された。軽度から高度の流涎過多、眼粘膜及び頬粘膜の赤色化が雄 2 例及び雌 1 例に認められた。血液学的検査、器官重量及び剖検で、異常は認められなかった。血液生化学的検査では、雄 1 例に肝酵素［ALT、グルタミン酸脱水素酵素（GLDH）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及び ALP］の高値が認められた。病理組織学的検査では、雌雄各 2 例の胆嚢に炎症細胞浸潤、雄 2 例雌 1 例の胆嚢に分泌物蓄積、雌雄各 2 例の肝臓に胆管過形成の発現頻度の高値が認められた。分泌物蓄積及び血漿中胆管傷害マーカーの変動が見られないことを考慮すると、胆管圧上昇により胆管過形成が誘発されたものと考えられた[Slott 1990]。

以上のとおり、体重及び摂餌量の減少が認められたことから、600 mg/kg/day は MTD を上回る用量と考えられた。600 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 329 μg·h/mL、雌で 237 μg·h/mL であった。当該用量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量と比較すると、630 倍の曝露量比が認められた。

3.3.2 ビーグル犬を用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

ビーグル犬を用いた 4 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 6 項、モジュール 4.2.3.2.9］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 3 例のビーグル犬に、ダリドレキサントを 0（媒体）、30、100 及び 300/200 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。また、対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 2 例を回復性試験群として設定し、投与期間終了後 4 週間の休薬期間により回復性を検討した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心血管系検査、神経学的検査、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。300 mg/kg/day 群の全例に顕著な嘔吐、活動性低下又は動作緩慢、体重及び摂餌量減少が見られ、5 例中 3 例に振戦が認められたため、試験 6 日に投与を中止し、試験 12 日から 200 mg/kg/day に減量し投与を再開した。この用量では、一般状態の変化として嘔吐、流涎過多、間欠性振戦、頭部反転動作が見られ、雄では体重増加量及び摂餌量の改善が見られたが、雌では依然として体重及び摂餌量の減少が認められた。回復性試験では、一般状態の変化は見られず、体重増加量及び摂餌量は正常に推移した。嘔吐はダリドレキサントの低嗜好性に関連した変化であり毒性学的意義はないと考えられた。活動性低下及び動作緩慢はダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化であり、毒性変化ではないと考えられた。

血液学的検査では、300/200 mg/kg/day 群で赤血球数、ヘモグロビン及び PCV の低値が見られたが、いずれも背景値の範囲内の変動であった。血液生化学的検査では、100 mg/kg/day 以上の群で ALP の高値が見られた。いずれの臨床検査値の変化も可逆的な小さな変動であることから、毒性変化ではないと考えられた。

器官重量の変化として、すべての投薬群の雄及び 100 mg/kg/day 以上の群の雌で肝臓重量の用量依存的な高値が認められた。病理組織学的検査では、100 mg/kg/day 以上の群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺の濾胞細胞肥大が認められた。300/200 mg/kg/day 群で胸骨骨髄の脂肪細胞増加、雌で胆嚢内腔の分泌物増加が認められた。骨髄の細胞充実性の変化は、MTD を上回る用量を投与された動物で発現するストレス性の一般的な変化と考えられている[Reagan 2011]。いずれの変化も休薬による回復性が認められたことから、毒性変化ではないと考えられた。

以上のとおり、200 mg/kg/day 以上の群で重篤な一般状態の変化が見られたことから、本試験の無毒性量は 100 mg/kg/day と考えられた。100 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 184 µg·h/mL、雌で 83.5 µg·h/mL、C_{max} は雄で 22.6 µg/mL、雌で 13.7 µg/mL であった。

3.3.3 ビーグル犬を用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

ビーグル犬を用いた 13 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 7. B 項、モジュール 4.2.3.2.10］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 4 例のビーグル犬に、ダリドレキサントを 0（媒体）、20、50 及び 150 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。また、対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 2 例を回復性試験群として設定し、投与期間終了後 4 週間の休薬期間により回復性を検討した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心血管系検査、神経学的検査、臨床検査、甲状腺ホルモン測定、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態の変化として、150 mg/kg/day 群の雄及び 50 mg/kg/day 以上の群の雌で筋力低下（横臥、平衡感覚喪失、不安定歩行：最終報告書ではまとめて「失神」と記載）が認められた（表 3）。いずれも運動場（陽性の情動下）において発現していることから、カタプレキシー様症状と考えられた。これらは、ダリドレキサントの過度の薬理作用に関連した毒性変化と考えられた。その他の変化として、150 mg/kg/day 群で鎮静又は不活発及び削痩（雌）が認められた。鎮静／不活発は、ダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化であり、毒性変化ではないと考えられた。いずれの一般状態の変化においても、休薬による回復性が確認された。

表 3. 陽性の情動下（運動場での運動中）における突然の筋力低下の発現頻度

用量 (mg/kg/day)	動物数	動物番号、発現日 [1)]
20	雄 0/4	N/A
	雌 0/4	N/A
50	雄 0/4	N/A
	雌 2/4	#111：試験 73 日、#112：試験 73 日
150	雄 3/6	#16：試験 73 日、#17：試験 73 日、#20：試験 66、68、73、75、87 日
	雌 1/6 [2)]	#116：試験 66 日

1) 次の変化のうち一つ以上の変化が発現した日：横臥、平衡感覚喪失、不安定歩行（報告書ではまとめて「失神」と記載）
2) サテライト群を含む

N/A = 該当なし

50 mg/kg/day 以上の群で流涎過多が見られたが、ダリドレキサントの低嗜好性に関連した変化であり、毒性学的意義はないと考えられた。150 mg/kg/day 群で嘔吐が認められた。
150 mg/kg/day 群では体重増加量及び摂餌量の低値が見られたが、休薬による回復性が確認された。

血液学的検査では、150 mg/kg/day 群の雄で赤血球系パラメータ（赤血球数、網状赤血球数、PCV）の低値が見られたが、いずれも可逆性の小さな変化であることから、毒性学的意義はないと考えられた。血液生化学的検査では、150 mg/kg/day 群で ALP 及びグロブリンの高値が見られたが、可逆性の小さな変化であり、関連する肝臓の病理組織学的変化が認められないことから、毒性変化ではないと考えられた。

器官重量の変化として、50 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値が見られたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。剖検では、150 mg/kg/day 群の一部の個体で胆嚢に異常内容物（暗調、濃い、砂状）が見られ、病理組織学的検査では胆嚢の分泌物増加が認められた。これらの変化は、分泌作用亢進に伴う適応性変化であり、毒性変化ではないと考えられた。回復性試験終了時の検査では、肝臓及び甲状腺の異常は認められなかった。

以上のとおり、50 mg/kg/day 以上の群で毒性変化と考えられるカタプレキシー様症状が認められたことから、本試験の無作用量は 20 mg/kg/day と考えられた。20 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 34.1 µg·h/mL、雌で 19.7 µg·h/mL、C_{max} は雄で 4.49 µg/mL、雌で 3.51 µg/mL であった。本試験の無作用量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量を

比較すると、雄で 78 倍、雌で 45 倍の曝露量比が認められた。

3.3.4 ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 7. C 項、モジュール 4.2.3.2.11］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 4 例のビーグル犬に、ダリドレキサントを 0（媒体）、10、30 及び 100 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。また、対照群及び高用量群には 1 群雌雄各 3 例を回復性試験群として設定し、投与期間終了後 8 週間の休薬期間により回復性を検討した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心血管系検査、神経学的検査、臨床検査、甲状腺ホルモン測定、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では投薬に関連した死亡は認められなかった。100 mg/kg/day 群の雄 1 例に投与過誤を示唆する一般状態の変化が見られたため、試験 39 日に安楽死処分した。なお、肺の病理組織学的変化により投与過誤であることを確認した。生存動物の一般状態の変化として、100 mg/kg/day 群でカタプレキシー様症状である突然の筋力低下（最終報告書では、横臥、腹臥、平衡感覚喪失、不安定歩行、ぎこちない動作、起立不能及び不動と記載）が認められた（表 4）。これらの変化は、試験 7 週以降の投与 1～2 時間後に陽性の情動下（運動場での運動中）で認められた。同様に、30 mg/kg/day 群の 8 例中 3 例に陽性の情動下で不安定歩行及び横臥が散見された。これらの一般状態の変化は、ダリドレキサントの過度の薬理作用に関連した毒性変化と考えられた。100 mg/kg/day 群では、ダリドレキサントの低嗜好性に関連した変化と考えらえる流涎過多及び嘔吐又は逆流の発現頻度の高値が認められた。これらの毒性変化ではない事象は回復性試験では認められず、毒性学的意義はないものと考えられた。100 mg/kg/day 群の雄で摂餌量の低値が見られたが、体重への影響は認められなかったことから毒性変化ではないと判断した。

血液生化学的検査では、30 mg/kg/day 以上の群で ALP の高値が見られたが、回復性試験終了時には認められなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。100 mg/kg/day 群の雌 1 例で、ALT、AST、GLDH 及び GGT の高値が見られたが、関連する肝臓の病理組織学的変化は認められなかった。イヌでは、肝障害を示唆する変化が他に認められていないことから、偶発的変化と考えられた。

表 4. 陽性の情動下（運動場での運動中）における突然の筋力低下の発現頻度

用量 (mg/kg/day)	動物数	動物番号、発現日 [1)]
10	雄 0/4	N/A
	雌 0/4	N/A
30	雄 1/4	#384：試験 119、126 日
	雌 2/4	#386：試験 205 日
		#387：試験 233 日
100	雄 6/7	#390：試験 49、84、91、98、112、119、128、156、182、198、219、233、247、266、273 日
		#391：試験 91、100、105、107、112、135、170、175、198、233 日
		#392：試験 105、126、133、140、156、198、233 日
		#393： 試験 233 日
		#394： 試験 233 日
		#396：試験 182, 233 日
	雌 5/7 [2)]	#397： 試験 233 日
		#398：試験 233 日
		#399： 試験 233 日
		#400：試験 79、98、154、268 日
		#402：試験 233 日

1) 次の変化のうち一つ以上の変化が発現した日：横臥又は腹臥、平衡感覚喪失、不安定歩行、ぎこちない動作、起立不能及び不動
2) サテライト群を含む

N/A = 該当なし

器官重量の変化として、30 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値が見られたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。病理組織学的検査では、100 mg/kg/day 群の雄及び 30 mg/kg/day 以上の群の雌で胆嚢内腔の分泌物増加、100 mg/kg/day 群で胸骨骨髄の脂肪細胞増加が認められた。いずれの変化においても休薬による回復性が認められ、毒性変化ではないと考えられた。

以上のとおり、30 mg/kg/day 以上の群で突然の筋力低下が認められたことから、本試験の無作用量は 10 mg/kg/day と考えられた。10 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 9.1 µg·h/mL、雌で 17.5 µg·h/mL、C_{max} は雄で 1.83 µg/mL、雌で 3.53 µg/mL であった。本試験の無作用量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、雄で 14 倍、雌で 40 倍の曝露量比が認められた。

4. 遺伝毒性試験

ダリドレキサントの遺伝毒性試験一覧を表 5 に示した。

表 5. ダリドレキサントの遺伝毒性試験一覧

試験の種類 [参照] *Batch 番号*[1)]	GLP	投与経路	試験系	投与期間	用量 (mg/kg/day) / 濃度	動物数/群
復帰突然変異 (Ames test) [モジュール 4.2.3.3.1.1] *RH01L117A0*	適用	*In vitro*	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537)	N/A	≤5000 µg/plate (±S9)	N/A
染色体異常 [モジュール 4.2.3.3.1.2] *RH01L117A0*	適用	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	N/A	≤490 µg/mL (±S9)	N/A
小核 [モジュール 4.2.3.3.2.1] *RH01L117A0*	適用	経口	Wistar 系ラット	2 日間	0, 125, 500, 2000[2)]	雄 6、雌 6

1) 被験物質の batch 番号はモジュール 2.6.7 第 4 項に記載した。
2) ダリドレキサントは塩酸塩 (ACT-541468A) として投与し、用量は遊離塩基で表記した。

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、N/A = 該当なし、S9 = phenobarbital 及び β–naphthoflavone により誘導したラットの肝臓から調製したポストミトコンドリア（ミクロソーム及びサイトゾル）画分

4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

ダリドレキサントの遺伝子突然変異誘発性を評価する目的で、ネズミチフス菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100 及び TA102）を用いたプレート法による復帰突然変異試験［モジュール 2.6.7 第 8. A 項、モジュール 4.2.3.3.1.1］を GLP 適用で実施した。

復帰突然変異試験は、薬剤による菌株の前進突然変異の復帰又は抑制の発現頻度を指標として検出する。細菌における特定のアミノ酸要求性からアミノ酸非要求性への復帰が最も広く使用されているマーカーである。ネズミチフス菌のヒスチジン（*his*）要求性の系では *his*$^-$から *his*$^+$への復帰変異を測定する。したがって、薬剤に提示される遺伝的標的は、小さく特異的で選択的であることから、変異原物質の特異性に対応するためには数種類の菌株の使用が必要である。本試験では、塩基置換型（TA1535、TA100、TA102）及びフレームシフト型（TA1537、TA98）の変異が検出可能なネズミチフス菌株を選択した。

本試験では、代謝活性化系（S9mix）を用いて代謝活性化存在下及び非存在下で実施した。対照群を含めて、被験物質の各濃度（3、10、33、100、333、1000、2500 及び 5000 µg/plate）を 3 培養系列で試験した。

試験の結果、S9mix 存在下及び非存在下ともに、いずれの菌株においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験においてダリドレキサントの変異原性は認められなかった。

4.2 ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

ダリドレキサントの染色体構造異常誘発性を評価する目的で、ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験［モジュール 2.6.7 第 8. B 項、モジュール 4.2.3.3.1.2］を GLP 適用で実施した。

染色体異常及び結果として生じる可能性のある突然変異は、多くのヒトにおける遺伝病に関連している。体細胞のがん遺伝子及び腫瘍抑制遺伝子の変化を誘発する染色体変異は、ヒト及び実験動物における発がんに関与している。構造異常は染色体型及び染色分体型に分類される。倍数性増加からは、化学物質の数的異常誘発性が示唆される。

本試験は、代謝活性化系（S9mix）存在下及び非存在下で実施した。ダリドレキサントは、沈殿又は細胞毒性が見られない限り 490 µg/mL までの適用濃度を使用した。対照群（媒体）及び陽性対照群を含む独立した実験を 2 回実施した。適用時間は、実験 1 では 4 時間適用+18 時間回復（代謝活性化系存在下及び非存在下）及び 22 時間適用（代謝活性化系非存在下）、実験 2 では 22 時間適用（代謝活性化系非存在下）とした。独立した 2 培養系列について、それぞれの適用時間について分析し、1 培養当たり 100 個の分裂中期細胞の染色体構造異常を計数した。

試験の結果、倍数性の分裂中期細胞又は染色体構造異常を有する細胞の発現頻度の増加は認められなかった。代謝活性化系存在下及び非存在下にかかわらず、倍数体細胞又は核内倍化染色体を有する細胞数に対するダリドレキサントの影響は確認されなかった。

以上のとおり、細胞毒性又は沈殿の見られる濃度までの染色体異常試験において、ダリドレキサントの染色体構造異常誘発性は認められなかった。

4.3 ラットを用いた骨髄小核試験

ダリドレキサントの多染性赤血球（PCE）中の小核形成誘発能を評価する目的で、ラット骨髄を用いた小核試験［モジュール 2.6.7 第 9. A 項、モジュール 4.2.3.3.2.1］を GLP 適用で実施した。

間期の細胞における小核の発現頻度は、間接的であるが簡便で迅速な染色体損傷情報を提供する。紡錘体装置に影響を及ぼす染色体異常誘発物質又は薬剤によって誘発される無動原体染色体断片又は染色体全体から小核は形成される。PCE は新規産生した赤血球であり、その染色特性により容易に識別可能である。最後の細胞分裂後に赤芽球から脱核するため、これらの細胞では小核の検出が容易である。変異原性物質による検討試験の結果、投与 24 及び 48 時間後の試料採取により小核の出現頻度が最大となる時間をカバーすることが示された。

本試験では、1 群雌雄各 6 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、125、500 及び 2000 mg/kg/day の用量で、2 日間強制経口投与した。小核計測のための骨髄試料は、最終投与 24 時間後（初回投与の 48 時間後）に採取した。ダリドレキサント及び主要代謝物測定用の血漿試料を採取した。1 個体当たり 2000 個以上の PCE の小核を計測した。同一試料における PCE と正染性赤血球の比を算出し、赤血球 2000 個当たりの PCE 数を報告した。

試験の結果、いずれの用量においても小核出現頻度の増加は認められなかった。

血漿試料分析の結果、2000 mg/kg/day 群のダリドレキサント及び主要代謝物（M1、M3 及び M10）の血漿中濃度範囲は 1.1～18.2 µg/mL であった。

以上のとおり、本試験においてダリドレキサント及び主要代謝物に遺伝毒性はないものと考えられた。

5. がん原性試験

ダリドレキサントのがん原性について、ICH S1 ガイドラインに準拠してラットを用いた 104 週間がん原性試験及び rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験により評価した（表 6）。rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験は、通常のマウスを用いた 2 年間がん原性試験の代替法であり、遺伝毒性物質及び非遺伝毒性物質起因の腫瘍形成に対して高い感受性を有する[Morton 2014]。ラットを用いた 2 年間がん原性試験とトランスジェニックマウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験の組み合わせにおける既知又は疑わしいヒト発がん性物質の予測精度は 85%であり、ヒトにおける発がん性に対して低い擬陽性率を示した[Storer 2010]。

いずれのがん原性試験の試験デザインも、米国食品医薬品局（FDA）Executive Carcinogenicity Assessment Committee (eCAC) for special protocol assessment（eCAC meetings of April 18th, 2017 and Nov 27th, 2018）に提示しており、推奨事項はすべて試験に反映した。ラットを用いた試験の最高用量には、26 週間反復投与毒性試験（3.2.5 項）の死亡発現状況から、雌雄ともに 150 mg/kg/day を設定した。マウスを用いた試験の最高用量には、野生型 CByB6F1 マウスを用いた 2 及び 4 週間用量設定試験の結果から 1000 mg/kg/day を設定した（3.1 項）。

表 6. ダリドレキサントのがん原性試験一覧

試験の種類 [参照] *Batch 番号* [1)]	GLP	投与経路	試験系	投与期間	用量 (mg/kg/day) [2)]	動物数/性/群
長期がん原性 [モジュール 4.2.3.4.1.1] *RH03L117A1*	適用	経口	Wistar 系ラット	104 週間	0, 15, 50, 150, 0 (水対照)	50 (主試験) + 6 (TK)
26 週間がん原性 [モジュール 4.2.3.4.2.1] *RH03L117A1*	適用	経口	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (hemizygous)マウス	26 週間	ダリドレキサント: 0, 100, 200 (雌), 300 (雄), 1000; 陽性対照: 75 mg/kg NMU	25 (主試験, ダリドレキサント) 又は 10 (主試験, 陽性対照) + 38 (TK, 8/対照)

1) 被験物質の batch 番号はモジュール 2.6.7 第 4 項に記載した。
2) ダリドレキサントは塩酸塩 (ACT-541468A) として投与し、用量は遊離塩基で表記した。

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、NMU = N-ニトロソ-N-メチル尿素、TK = トキシコキネティクス 、HRAS = Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog

5.1 ラットを用いた 104 週間がん原性試験

ダリドレキサントのがん原性を評価する目的で、ラットを用いた 104 週間がん原性試験［モジュール 2.6.7 第 10. A 項、モジュール 4.2.3.4.1.1］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 50 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、15、50 及び 150 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、対照群 2 として雌雄各 50 例のラットを設定し、滅

菌水を同様に 104 週間投与した。また、対照群 2 以外の群には 1 群雌雄各 6 例を TK 試験群として設定し、試験 1 及び 176 日に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察（触知腫瘤観察を含む）、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では、ダリドレキサントに関連した死亡は認められなかった（雄：p = 0.44、雌：p = 0.22；log-rank test、表 7）。

表 7. ラットを用いた 104 週間がん原性試験の死亡発現状況

	雄 (n = 50/群)					雌 (n = 50/群)				
用量 (mg/kg/day)	0 [1)]	15	50	150	0 [2)]	0 [1)]	15	50	150	0 [2)]
総死亡動物数	10	17	17	17	17	28	17	19	22	21
死後発見	3	5	3	3	4	4	1	1	2	0
瀕死による安楽死処分	7	12	14	14	13	24	16	18	20	21
投与期間終了時剖検 [3)]	40	33	33	33	33	22	33	31	28	29
生存率 (%)	80	66	66	66	66	44	66	62	56	58

1) 媒体 (0.5% methylcellulose 水溶液)
2) 滅菌水
3) 試験 734 日

本試験では、一般状態、触知腫瘤、摂餌量及び眼科学的検査でダリドレキサント投与の影響は認められなかった。150 mg/kg/day 群の雄で体重増加量の高値が認められた。

前がん病変及び腫瘍性病変の発現頻度に投薬の影響は認められなかった。

器官重量の変化として、150 mg/kg/day 群で肝臓重量及び甲状腺重量の高値が認められた。

ダリドレキサント投与に関連した非腫瘍性病変として、150 mg/kg/day 群の雌で肝臓の胆管過形成、巨大核／多核肝細胞及び小葉中心性肝細胞肥大、腎臓の CPN 発現頻度の高値が認められた。本試験は長期投与試験であることから、肝臓の変化は老齢ラットにおける一般的な変化又は適応性変化と考えられ、ヒトのリスク評価には意義のない変化と判断した。CPN は老齢ラットで一般的な病変である。最新の科学的根拠により、ラットにおける CPN の薬物による進行又は増悪と、ヒトの腎毒性又は腎障害との関連性はないことが示唆されている。したがって、ラットを用いた長期反復投与毒性試験における化合物による CPN の悪化は、ヒトリスク評価に関連性のない変化と考えられている[Hard 2013]。

以上のとおり、本試験条件下においてダリドレキサントのがん原性は認められなかった。高用量群においても、ダリドレキサント投与に関連した腫瘍性及び非腫瘍性病変が認められなかったことから、本試験の無毒性量は 150 mg/kg/day と考えられた。150 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 16.8 µg·h/mL、雌で 35.0 µg·h/mL、C_{max} は雄で 3.91 µg/mL、雌で 8.46 µg/mL であった。本試験の無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量を比較すると、61 倍の曝露量比が認められた。

5.2 rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験

rasH2 トランスジェニックマウスモデル（CByB6F1-Tg [HRAS] 2Jic）は、内在マウス Ha-ras に加えて、独自のプロモーター領域を有する Harvey ラット肉腫ウイルスがん遺伝子ヒト相同体［c-Ha-ras、現在は Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog（HRAS）として識別］を有している。野生型マウスに比較して rasH2 マウスでは、遺伝毒性発がん物質投与により腫瘍性病変の短期間で高頻度の発現が認められている[Yamamoto 1998]。

ダリドレキサントのがん原性を評価する目的で、rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験［モジュール 2.6.7 第 10. B 項、モジュール 4.2.3.4.2.1］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 25 例の CByB6F1-Tg [HRAS] 2Jic 系マウスに、ダリドレキサントを 0（媒体）、100、200（雌）、300（雄）及び 1000 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、26 週間強制経口投与した。陽性対照群として雌雄各 10 例のマウスを設定し、N-ニトロソ-N-メチル尿素（NMU）を 75 mg/kg の用量で試験 1 日に単回腹腔内投与した。陽性対照群では、予想される腫瘍の高頻度の発現が認められ、本試験の妥当性が確認された。また、対照群では雌雄各 8 例、ダリドレキサント投与群では 1 群雌雄各 38 例の野生型 CByB6F1 系マウスを TK 試験群として設定した。本試験では、死亡状況、一般状態観察（触知腫瘤観察を含む）、体重及び摂餌量測定、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では、ダリドレキサントに関連した死亡は認められなかった。一般状態、触知腫瘤、摂餌量及び剖検でダリドレキサント投与の影響は認められなかった。300 mg/kg/day 以上の群の雄で体重及び体重増加量の低値が認められた。

前がん病変及び腫瘍性病変の発現頻度に投薬の影響は認められなかった。

器官重量の変化として、300 mg/kg/day 以上の群の雄及び 1000 mg/kg/day 群の雌で肝臓重量の高値が認められた。病理組織学的検査では、100 mg/kg/day 以上の群の雄及び 1000 mg/kg/day 群の雌で肝細胞肥大が見られたが、適応性変化であり、毒性変化ではないと考えられた。

以上のとおり、本試験条件下においてダリドレキサントのがん原性は認められなかった。高用量群においても、ダリドレキサント投与に関連した腫瘍性及び非腫瘍性病変が認められなかったことから、本試験の無毒性量は 1000 mg/kg/day と考えられた。1000 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 4.73 µg·h/mL、雌で 1.97 µg·h/mL、C_{max} は雄で 0.83 µg/mL、雌で 0.56 µg/mL であった。本試験の無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量を比較すると、6.5 倍の曝露量比が認められた。

6. 生殖発生毒性試験

ダリドレキサントの生殖発生毒性試験一覧を表 8 に示した。

表 8. ダリドレキサントの生殖発生毒性試験一覧

試験の種類, [参照] *Batch 番号*[1)]	GLP	投与経路	試験系	投与期間	用量 (mg/kg/day) [2)]	動物数/群
雄授胎能 [モジュール 4.2.3.5.1.1] *RH02L117A1*	適用	経口	Wistar 系ラット [3)]	交配前 14 日間～投与後 7 週間	0, 50, 150, 450	雄 22 [3)]
雌受胎能 [モジュール 4.2.3.5.1.2] *RH02L117A1*	適用	経口	Wistar 系ラット [4)]	交配前 14 日間-GD 7	0, 30, 100, 300	雌 22 (主試験) + 雌 6 (TK, 対照群: 雌 3) [4)]
用量設定 [モジュール 4.2.3.5.2.1] *RH01L117A1*	非適用	経口	Wistar 系ラット	GD 6 – GD 17	0, 100, 300, 1000	雌 6 (主試験) + 雌 6 (TK, 対照群: 雌 3)
胚・胎児発生 [モジュール 4.2.3.5.2.2、モジュール 4.2.3.5.2.3] *RH01L117A1*	適用	経口	Wistar 系ラット	GD 6 – GD 17	0, 30, 100, 300	雌 22 (主試験) + 雌 6 (TK, 対照群: 雌 3)
MTD [モジュール 4.2.3.5.2.4] *RH01L117A1*	非適用	経口	New Zealand White ウサギ	3 日間 (用量漸増) + 7 日間 (反復投与)	30, 100, 200, 300 (用量漸増) + 200 (反復投与)	雌 3
用量設定 [モジュール 4.2.3.5.2.5] *RH01L117A1*	非適用	経口	New Zealand White ウサギ	GD 6 – GD 19	0, 30, 60, 120	雌 6
胚・胎児発生 [モジュール 4.2.3.5.2.6, モジュール 4.2.3.5.2.7] *RH01L117A1*	適用	経口	New Zealand White ウサギ	GD 6 – GD 19	0, 30, 60, 120	雌 22
PPND [モジュール 4.2.3.5.3.1] *RH03L117A1*	適用	経口	Wistar 系ラット	GD 6 - LD 20	0, 50, 100, 300	F0 雌 20 + F1 雄 20, 雌 20
幼若動物を用いた毒性試験						
用量設定 [モジュール 4.2.3.5.4.1] *RH03L117A1*	非適用	経口	Wistar 系ラット	14 日間 (離乳から)	0, 50, 150, 450	雄 5, 雌 5 (主試験) +雄 4, 雌 4 (TK)
幼若動物を用いた毒性試験 [モジュール 4.2.3.5.4.2] *RH03L117A1*	適用	経口	Wistar 系ラット	9 週間 (生後 21 日から生後 84 日の同居まで)	0, 50, 150, 450	雄 10, 雌 10 (主試験) + 雄 9, 雌 9 (TK) +雄 6, 雌 6 (回復性) + 雄 20, 雌 20 (生殖機能)

1) 被験物質の batch 番号はモジュール 2.6.7 第 4 項に記載した。
2) ダリドレキサントは塩酸塩 (ACT-541468A) として投与し、用量は遊離塩基で表記した。
3) 雄のみに投与。雌には投与せず、交配のみに使用した。
4) 雌のみに投与。雄には投与せず、交配のみに使用した。

GD ×× = 妊娠××日、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、LD ×× = 授乳××日、MTD = 最大耐量、PPND = 出生前及び出生後の発生に関する試験、TK = トキシコキネティクス

6.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験

6.1.1 雄ラットを用いた授胎能試験

雄ラットを用いた授胎能試験［モジュール 2.6.7 第 12. A 項、モジュール 4.2.3.5.1.1］を、雄の生殖機能、交尾行動及び生殖行動に対するダリドレキサントの影響の評価を目的として GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雄 22 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、50、150 及び 450 mg/kg/day の用量で、交配前 14 日間、交配期間及び交配後 3 週間まで、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、各群の雄 22 例中 6 例を TK 試験用動物として、試験 1 日及び試験 6 週（試験 39 日）に採血した。また、各群雌 22 例には投与は行わず、交配のみに使用した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定、TK 試験を行った。母動物を妊娠 13 日に帝王切開し、子宮内検査を実施した。7 週間の投与期間終了後、雄動物の剖検を行い、精巣及び精巣上体の重量測定、並びに精子検査を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。一般状態の変化として、すべての投薬群で横臥、半眼及び緩徐呼吸の発現頻度の増加が用量依存的に認められた。すべての投薬群で、ダリドレキサントの低嗜好性に関連した流涎過多が見られ、関連する変化としてペダル漕ぎ動作又は異常採餌行動が認められた。すべての投薬群で体重の用量依存的な高値が見られ、450 mg/kg/day 群で摂餌量の高値が認められた。

いずれの用量においても、雄の生殖機能、交尾行動及び授胎能への影響は認められなかった。非投与雌の妊娠初期への影響は見られず、雄の剖検、並びに精巣及び精巣上体重量に投薬の影響は認められなかった。

以上のとおり、いずれの用量においても雄の生殖機能、交尾行動及び生殖行動への影響が見られなかったことから、本試験の雄授胎能に対する無作用量は 450 mg/kg/day と考えられた。450 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は 46.7 μg·h/mL、C_{max} は 7.6 μg/mL であった。無作用量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、82 倍の曝露量比が認められた。

6.1.2 雌ラットを用いた受胎能試験

雌ラットを用いた受胎能試験［モジュール 2.6.7 第 12. B 項、モジュール 4.2.3.5.1.2］を、雌の生殖機能、交尾行動及び生殖行動に対するダリドレキサントの影響の評価を目的として GLP 適用で実施した。1 群雌 22 例の Wistar 系ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で、交配前 2 週間、交配期間及び妊娠 7 日まで、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、対照群：雌 3 例、投薬群：雌 6 例を TK 試験群として設定し、試験 1 日及び妊娠 7 日に評価した。なお、主試験群の雄（各群 22 例）及び TK 試験群の雄（対照群：3 例、投薬群：6 例）には投与は行わず、交配のみに使用した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定、TK 試験を行った。投与開始 1 週間前から交尾確認まで性周期を毎日観察した。母動物を妊娠 13 日に帝王切開し、子宮及び卵巣重量を測定し、子宮内検査を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。100 mg/kg/day 以上の群で交配期間前に一過性の半眼、緩徐呼吸及び横臥が認められた。交配期間前又は妊娠期間中の投与後に、すべての投薬群で流涎過多が用量依存的に見られ、関連する変化として 100 mg/kg/day 以上の群でペダル漕ぎ動作及び

異常採餌行動が観察され、交配期間前に摂餌量の低値が認められた。これらの変化は、ダリドレキサントの低嗜好性に関連したものと考えられた。

いずれの用量においても、性周期、交尾行動及び受胎能にダリドレキサントの影響は認められなかった。すべての雌動物で交尾が確認され、各群 1～2 例を除き妊娠が認められた。

着床数が 10 以下の母動物数は他の群では 4 例であったのに対し、300 mg/kg/day 群では 8 例であった。同群では、妊娠子宮重量及び同腹児数の低値が認められた。いずれの変化も統計学的有意差は見られず、小さな変化であることから、毒性学的意義はないと考えられた。着床後胚死亡率、卵巣重量及び剖検に投薬の影響は認められなかった。

以上のとおり、高用量群においても毒性変化が見られなかったことから、雌受胎能に対する無毒性量は 300 mg/kg/day と考えられた。300 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は 57.9 µg·h/mL、C_{max} は 7.66 µg/mL であった。無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、101 倍の曝露量比が認められた。

6.2 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

6.2.1.1 妊娠ラットを用いた用量設定試験

妊娠ラットを用いた用量設定試験［モジュール 2.6.7 第 11 項、モジュール 4.2.3.5.2.1］を GLP 非適用で実施した。本試験では、1 群雌 6 例の Wistar 系妊娠ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で、妊娠 6～17 日まで、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、対照群：3 例、投薬群：6 例を TK 試験群として設定し、妊娠 6、15、16 及び 17 日に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定、TK 試験を行った。母動物を妊娠 20 日に帝王切開し、子宮重量を測定し、子宮内検査、並びに胎児検査（体重、性別、外表検査）を実施した。

本試験では、1000 mg/kg/day 群のすべての雌動物で死亡又は一般状態悪化（自発運動低下、動作緩慢、緩徐／不整呼吸、立毛、異常発声、体重及び摂餌量の減少）が見られ、安楽死処分した。剖検では、死亡又は瀕死の原因を確定できなかった。雌ラットを用いた毒性機序検討試験（8.3 項）の結果、1000 mg/kg/day 群の死亡及び瀕死は、自発運動及び摂餌量の低下を伴う低体温症が原因と考えられた。

300 mg/kg/day 群の一般状態の変化として、不整呼吸、立毛及び自発運動低下が認められた。100 及び 300 mg/kg/day 群では摂餌量の用量依存的な低値が認められた。

100 及び 300 mg/kg/day 群の剖検では投薬に関連した異常は認められなかった。帝王切開では、1000 mg/kg/day 群を除くすべての群で生存胎児が認められた。胚・胎児の生存率及び同腹児数に投薬の影響は認められなかった。300 mg/kg/day 群では、胎児体重の低値が認められた。いずれの用量においても、子宮重量及び胎児の外表に異常は認められなかった。

以上のことから、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の高用量には 300 mg/kg/day を設定することが適切と考えられた。300 mg/kg/day 群の妊娠 17 日の $AUC_{0\text{-}24}$ は 46.6 µg·h/mL、C_{max} は 8.51 µg/mL であった。

6.2.1.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験［モジュール 2.6.7 第 13. A 項、モジュール 4.2.3.5.2.2、モジュール 4.2.3.5.2.3］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群 22 例の Wistar 系妊娠ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で、妊娠 6～17 日まで、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、対照群：3 例、投薬群：6 例を TK 試験群として設定し、妊娠 6 及び 17 日に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定、TK 試験を行った。母動物を妊娠 20 日に帝王切開し、子宮重量測定及び子宮内検査、並びに胎児検査（体重、性別、外表検査）を実施した。胎児の約半数については内臓（胸部及び腹部新鮮臓器）を検査し、骨格標本を作製後に骨格検査を実施した。残りの約半数については固定した後に頭部検査を行った。

本試験では死亡は認められなかった。100 mg/kg/day 以上の群で、ダリドレキサントの低嗜好性に関連する変化と考えられる流涎過多が主に妊娠 13～16 日に散見された。300 mg/kg/day 群で摂餌量の低値が認められた。

母動物の剖検では投薬に関連した異常は見られず、子宮重量に投薬の影響は認められなかった。帝王切開時には、対照群の 1 例を除いて、すべての群の母動物で生存胎児が認められた。着床数に差は見られず、胚・胎児生存率、生存胎児数、胎児体重及び性比に投薬の影響は認められなかった。胎児の外表、内臓及び骨格検査で、ダリドレキサントに関連した異常は認められなかった。

以上のとおり、本試験ではいずれの用量においても胚・胎児毒性及び催奇形性は認められなかったことから、ラットの胚・胎児発生に対する無作用量は 300 mg/kg/day と考えられた。300 mg/kg/day 群の妊娠 17 日の $AUC_{0\text{-}24}$ は 51.6 μg·h/mL、C_{max} は 7.94 μg/mL であった。無作用量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、90 倍の曝露量比が認められた。

6.2.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

6.2.2.1 雌ニュージーランドホワイトウサギを用いた経口投与による MTD 検討試験

非妊娠雌ニュージーランドホワイト（NZW）ウサギを用いた MTD 検討試験［モジュール 2.6.7 第 11 項、モジュール 4.2.3.5.2.4］を、妊娠ウサギを用いた予備試験の用量設定に関する情報を得ることを目的として GLP 非適用で実施した。最初に用量漸増試験を実施した。1 群 3 例の非妊娠雌 NZW ウサギに、ダリドレキサントを 30、100、200 及び 300 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。各群の用量は、1 群は 30 及び 300 mg/kg/day、2 群は 100 及び 200 mg/kg/day とし、各用量の投与期間は 3 日間、用量間には 4 日間のウォッシュアウト期間を設定した。次に実施した固定用量試験では、3 例の非妊娠雌 NZW ウサギにダリドレキサントを 200 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、7 日間反復強制経口投与した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。

用量漸増試験では、300 mg/kg/day で呼吸促迫及び横臥が認められた。200 及び 300 mg/kg/day で体重及び摂餌量の減少が認められた。

固定用量試験では、200 mg/kg/day の反復投与により自発運動低下、体重及び摂餌量の減少が見られ、投与期間終了時まで明らかな回復性は認められなかった。

剖検では異常は認められなかった。

以上のとおり、100 mg/kg/day 以下の用量では忍容性が見られたが、200 mg/kg/day 以上の用量は MTD を上回る用量と考えられた。したがって、妊娠ウサギを用いた用量設定試験の高用量には 100～200 mg/kg/day を設定することが適切と考えられた。

6.2.2.2 妊娠ウサギを用いた用量設定試験

妊娠ウサギを用いた用量設定試験［モジュール 2.6.7 第 11 項、モジュール 4.2.3.5.2.5］を GLP 非適用で実施した。本試験では、1 群雌 6 例の NZW 妊娠ウサギに、ダリドレキサントを 0（媒体）、30、60 及び 120 mg/kg/day の用量で、妊娠 6～19 日まで、1 日 1 回、強制経口投与した。すべての動物から妊娠 6 及び 19 日に TK 用試料を採取した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定、TK 試験を行った。母動物を妊娠 29 日に帝王切開し、剖検、子宮重量測定及び子宮内検査、並びに胎児検査（体重、性別、外表及び内臓検査）を実施した。

本試験では投薬に関連した死亡及び一般状態の異常は認められなかった。120 mg/kg/day 群では投与期間中（妊娠 6～20 日）に摂餌量の低値が認められた。

剖検及び子宮重量に投薬の影響は認められなかった。

胚・胎児の生存及び胎児体重に投薬の影響は見られなかった。性比に群間差が見られたが、群内動物数が少ないことに関連した偶発的変化と考えられた。胎児の外表検査及び内臓検査でダリドレキサントに関連した異常は認められなかった。

以上のことから、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の高用量には 120 mg/kg/day を設定することが適切と考えられた。120 mg/kg/day 群の妊娠 19 日の $AUC_{0\text{-}24}$ は 51.8 μg·h/mL、C_{max} は 4.71 μg/mL であった。

6.2.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験［モジュール 2.6.7 第 13. B 項、モジュール 4.2.3.5.2.6、モジュール 4.2.3.5.2.7］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群雌 22 例の NZW 妊娠ウサギに、ダリドレキサントを 0（媒体）、30、60 及び 120 mg/kg/day の用量で、妊娠 6～19 日まで、1 日 1 回、強制経口投与した。1 群 6 例から妊娠 6 及び 19 日に TK 用試料を採取した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定、TK 試験を行った。母動物を妊娠 29 日に帝王切開し、剖検、子宮重量測定及び子宮内検査、並びに胎児検査（体重、性別、外表及び内臓検査）を実施した。約半数の胎児は頭部を分離し、連続切片を作製し頭部の内臓異常を評価した。内臓を摘出したすべての胎児について骨格標本を作製し、骨格検査を実施した。

本試験では投薬に関連した死亡は認められなかった。

母動物の剖検では投薬に関連した異常は見られず、子宮重量に投薬の影響は認められなかった。

すべての投与群の妊娠動物数に差は見られず、60 mg/kg/day 群の 1 例を除き、すべての妊娠動物で生存胎児が認められた。胚・胎児の生存、生存胎児数及び性比に投薬の影響は認められなかった。120 mg/kg/day 群では胎児重量の低値が見られたが、胎児の形態学的発達に関連する影

響が見られなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。胎児の外表、内臓及び骨格検査では、投薬に関連した異常は認められなかった。

以上のとおり、本試験ではいずれの用量においても胚・胎児毒性及び催奇形性が認められなかったことから、ウサギの胚・胎児発生に対する無毒性量は 120 mg/kg/day と考えられた。120 mg/kg/day 群の妊娠 19 日の $AUC_{0\text{-}24}$ は 62.0 μg·h/mL、C_{max} は 5.06 μg/mL であった。無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、89 倍の曝露量比が認められた。

6.3 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験［モジュール 2.6.7 第 14 項、モジュール 4.2.3.5.3.1］を GLP 適用で実施した。本試験では、1 群 20 例の Wistar 系妊娠ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、50、100 及び 300 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から出生児の離乳まで、1 日 1 回、強制経口投与し、出生前及び出生後の発生に対するダリドレキサントの影響を評価した。本試験では、試験期間を通して母動物の一般状態観察、体重及び摂餌量測定を行い、生後 21 日まで出生児数、生存率及び出生児体重を評価した。生後 21 日に同腹児から雌雄各 1 例を選択し F1 世代とし、残りの出生児及び母動物の剖検を実施した。また、1 群 6 例の母動物及び選択した出生児から、授乳 4 及び 20 日に TK 用血漿試料を採取した。選択した 1 群雌雄各 20 例の F1 世代に被験物質投与は行わず、一般状態、体重、摂餌量、離乳後の発達、行動試験、交尾行動について評価した。F1 母動物を妊娠 13 日に帝王切開し、その後 F1 雄動物の剖検を行った。すべての F1 動物は剖検し、F1 母動物については妊娠状況、黄体数及び着床数を検査した。

本試験では、投薬に関連した F0 母動物の死亡は認められなかった。

一般状態の変化として、すべての投薬群で流涎過多が用量依存的に見られ、関連する変化として異常採餌行動又はペダル漕ぎ動作が認められた。この変化は、ダリドレキサントの低嗜好性に関連した変化と考えられ、毒性変化ではないと判断した。300 mg/kg/day 群で立毛が散見されたが、一部の個体で見られた事象であり、他に関連する変化が認められないことから、毒性変化ではないと考えられた。

すべての投薬群で妊娠期間中の体重増加量の高値が見られ、妊娠 20 日には体重の高値（最大で+7%）が認められた。授乳期間中の体重の差はわずかであり、投薬群の体重増加量は低値を示した。いずれもわずかな変化であることから、毒性変化ではないと考えられた。

分娩状態、妊娠期間、出生前死亡数及び出生児数に投薬の影響は認められなかった。

いずれの投薬群においても、生存出生児数、生存率及び離乳率に投薬の影響は見られなかった。すべての F0 母動物において、すべての生存出生児の離乳が確認された。

F0 母動物及び非選択 F1 出生児の剖検では異常は認められなかった。

選択した F1 世代では、母動物への投薬に関連した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。性比に差は認められなかった。

300 mg/kg/day 群の F1 児では、出生時体重の低値（雄：–4.6%、雌：–5.3%）が見られ、雄では生後 98 日まで、雌では交配開始（生後 56 日）まで低値が見られたが、生後 77 日には差は認められなかった。いずれも背景値の範囲内のわずかな変化であることから、毒性変化ではないと考

えられた。

いずれの投薬群においても、出生児の反射、身体的発達及び性成熟に、母動物への投薬の影響は見られなかった。

離乳後の F1 出生児の体重、摂餌量、水迷路、自発運動量、聴覚性驚愕反射、交尾行動、受胎能、並びに着床前及び着床後データに投薬の影響は認められなかった。F1 出生児の剖検では、ダリドレキサント投与に関連した異常は認められなかった。

以上のことから、本試験における母動物、胚・胎児、出生前及び出生後の発生、並びに次世代の生殖機能に対する無毒性量はいずれも 300 mg/kg/day と考えられた。300 mg/kg/day 群の F0 母動物の授乳 20 日における $AUC_{0\text{-}24}$ は 55.6 µg·h/mL、C_{max} は 11.2 µg/mL であった。無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、97 倍の曝露量比が認められた。

6.4 幼若動物を用いた毒性試験

幼若動物を用いた 9 週間反復投与毒性試験をダリドレキサントの潜在的毒性を評価するために GLP 適用で実施した。

6.4.1 幼若ラットを用いた用量設定試験

幼若ラットを用いた用量設定試験［モジュール 2.6.7 第 15. A 項、モジュール 4.2.3.5.4.1］を GLP 非適用で実施した。本試験では、1 群雌雄各 5 例の Wistar 系幼若ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、50、150 及び 450 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、生後 21 日から 2 週間強制経口投与した。さらに、1 群雌雄各 4 例を TK 試験群として設定し、試験 1 及び 14 日に評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では死亡は認められなかった。

一般状態の変化として、すべての投薬群で試験 1～2 日に自発運動低下、450 mg/kg/day 群の雌で試験 1 日に立毛が認められた。自発運動低下はダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化であり、毒性変化ではないと判断した。体重、体重増加量及び摂餌量に投薬の影響は見られなかった。

血液生化学的検査では、すべての投薬群の雄で、尿素窒素及び無機リンの用量依存的な高値、カリウムの用量依存的な低値が認められた。いずれの変化も背景値の範囲内であり、関連する腎臓の病理組織学的変化が見られないことから、毒性変化ではないと考えられた。450 mg/kg/day 群では GGT 及び肝臓重量の高値が見られたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。450 mg/kg/day 群の雄 1 例で、びまん性の甲状腺濾胞細胞肥大が認められた。いずれの変化も適応性変化であり、毒性変化ではないと考えられた。

以上のことから、本試験の無毒性量は 450 mg/kg/day と考えられた。幼若動物を用いた長期反復投与毒性試験の高用量に 450 mg/kg/day を設定することは適切と考えられた。450 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 39.7 µg·h/mL、雌で 46.6 µg·h/mL、C_{max} は雄で 6.93 µg/mL、雌で 7.18 µg/mL であった。

6.4.2 幼若ラットを用いた毒性試験

幼若ラットを用いた毒性試験［モジュール 2.6.7 第 15. B 項、モジュール 4.2.3.5.4.2］を、幼若動物におけるダリドレキサントの潜在的毒性を評価することを目的として GLP 適用で実施した。本試験は、1 群雌雄各 10 例の Wistar 系幼若ラットに、ダリドレキサントを 0（媒体）、50、150 及び 450 mg/kg/day の用量で、生後 21～84 日まで、1 日 1 回、強制経口投与した。また、1 群雌雄各 6 例を回復性試験群とし、投与期間終了後 4 週間の休薬期間により回復性を検討した。1 群雌雄各 9 例を TK 試験群として設定し、試験 1 日、並びに試験 4 及び 9 週に評価した。さらに、1 群雌雄各 20 例を生殖機能検査群とし、行動機能、学習機能及び生殖機能への影響を評価した。群構成及び評価項目を表 9 に示した。

本試験では、死亡状況、一般状態観察、並びに体重及び摂餌量測定を実施した。行動機能、学習機能及び記憶機能検査として、機能観察総合評価法（FOB）、自発運動量測定、聴覚性驚愕反射試験及び多重 Y 字迷路検査を実施した。主試験動物及び回復性試験動物では、眼科学的検査、臨床検査、行動機能、学習機能及び記憶機能検査、骨測定（長さ、幅）、骨密度測定（末梢骨 CT 法）、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査を実施した。生殖機能検査群では、行動機能、学習機能及び記憶機能検査、性成熟、器官重量測定（子宮、精巣、精巣上体）、剖検、生殖機能検査［膣開口、包皮分離、性周期、交尾、帝王切開（妊娠 13～15 日）、卵巣及び子宮内検査、精子検査］を実施した。

表 9. 幼若ラットの毒性試験における群構成及び評価項目

		試験群			
		主試験	回復性試験	TK 試験	生殖機能検査
投与期間	生後日数	生後 21–84 日	生後 21–84 日	生後 21–77 日	生後 21–84 日
(開始日–終了日)	試験日数	試験 1–64 日	試験 1–64 日	試験 1–57 日	試験 1–64 日
	投与期間	9 週間	9 週間	8 週間	9 週間
交尾 (開始日)	生後日数	-	-	-	生後 112 日
	試験日	-	-	-	試験 92 日
	試験週	-	-	-	試験 14 週
剖検日	生後日数	生後 85 日	生後 112 日	生後 78 日	雌: 約生後 130 日 (妊娠 13–15 日) 雄: 約生後 138 日
	試験日	試験 65 日	試験 92 日	試験 58 日	雌: 約試験 110 日 雄: 約試験 118 日
	試験週	試験 10 週	試験 14 週	試験 9 週	約試験 16-18 週
検査項目					
死亡状況、一般状態観察、体重、摂餌量		×	×	×	×
機能観察総合評価法、自発運動量、聴覚性驚愕反射試験、神経行動学検査 (学習·記憶)		試験 8–10 週	試験 12–14 週	-	動物番号順に雌雄各 10 例: 試験 8–10 週 次の雌雄各 10 例: 試験 12–14 週
眼科学的検査		×	×	-	-
臨床検査		×	×	-	-
剖検		×	×	-	×
病理組織学的検査 • 全組織 (対照群·高用量群) • 選択組織 (低中用量群)		×	×	-	-
器官重量		×	×	-	妊娠子宮, 精巣, 精巣上体
骨密度·形態測定		×	×	-	-
性成熟, 性周期, 交尾行動		-	-	-	性成熟: 雌: 生後 28 日, 雄: 生後 35 日
妊娠検査, 精子検査		-	-	-	×
TK 試験		-	-	試験 1 日, 試験 4 及び 9 週	-

- = 非実施、× = 実施、TK = トキシコキネティクス

本試験では、投薬に関連した死亡は認められなかった。一般状態、体重、摂餌量、学習及び記憶機能に投薬の影響は見られず、450 mg/kg/day までの用量でダリドレキサントの良好な忍容性が認められた。

FOB 及び機能試験では、150 mg/kg/day 以上の群で自発運動量の増加、450 mg/kg/day 群で立ち上がり行動の低下が認められた。他のパラメータに変動が見られず、回復性試験終了時検査では異常が認められなかったことから、これらの変化は毒性変化ではないと考えられた。

血液学的検査、凝固系検査及び尿検査では投薬の影響は認められなかった。血液生化学的検査では、150 mg/kg/day 以上の群でコレステロール（雌）、尿素、トリグリセリド（雌）、総タンパク及びグロブリンの高値、450 mg/kg/day 群で GGT 及びトリグリセリド（雄）の高値、アルブミン／グロブリン比及びグルコース（雄）の低値が認められた。いずれの変化においても休薬による回復性が認められたことから、毒性変化ではないと考えられた。

生殖機能検査では、交尾行動、精子検査パラメータ、妊娠率、着床前及び着床後胚死亡率、黄体数及び子宮重量に投薬の影響は認められなかった。

器官重量の変化として、150 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値（+6～+101%）、450 mg/kg/day 群で甲状腺重量の高値（+36%）が認められた。剖検では、450 mg/kg/day 群の雌 1 例の肝臓に明瞭な小葉構造が認められた。病理組織学的検査では、150 mg/kg/day 以上の群で甲状腺の濾胞細胞肥大、450 mg/kg/day 群で肝臓の肝細胞肥大が認められた。回復性試験終了時の検査では、450 mg/kg/day 群で肝臓の肝細胞肥大及び甲状腺のびまん性濾胞細胞肥大が認められたが、発現頻度及び程度の低下が見られたことから、回復性が示唆された。

骨形態計測（大腿骨の長さ、脛骨の長さ及び幅）及び骨密度測定（大腿骨遠位骨幹端及び大腿中位骨幹）では、いずれの用量においても投薬の影響は認められなかった。回復性試験終了後の検査においても異常は認められなかった。

以上のことから、本試験の無毒性量は 450 mg/kg/day と考えられた。450 mg/kg/day 群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 49.0 µg·h/mL、雌で 57.3 µg·h/mL、C_{max} は雄で 7.83 µg/mL、雌で 9.12 µg/mL であった。本試験の無毒性量における曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、86 倍の曝露量比が認められた。

7. 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施しなかった。

8. その他の毒性試験

その他の毒性試験一覧を表 10 に示した。

表 10.ダリドレキサントのその他の毒性試験一覧

試験の種類 [参照] *Batch 番号* [1)]	GLP	投与経路	試験系	投与期間	用量 (mg/kg/day) / 濃度 [2)]	動物数/性/群
細胞毒性 (LDH 遊離) [モジュール 4.2.3.7.7.4] *RH01L117A1*	非適用	*In vitro*	マウス及びヒト初代培養肝細胞	N/A	≤ 300 µM	N/A
光毒性 [モジュール 4.2.3.7.7.5] *RH01L117A0*	適用	*In vitro*	BALB/c 3T3 線維芽細胞	N/A	0.49–62.5 µg/mL	N/A
毒性機序検討試験						
In vitro TRPV1 受容体活性 [モジュール 4.2.3.7.3.1] *RH01L117A0*	非適用	*In vitro*	遺伝子組換え CHO 細胞	N/A	3.0–60 µM	N/A
用量反応性検討 [モジュール 4.2.3.7.3.2] *RH01L117A0*	非適用	経口	Wistar 系ラット (雌)	1 日	0 100, 300, 1000	5 (対照群) 10 (投薬群)
テレメトリー試験 [モジュール 4.2.3.7.3.3] *RH01L117A0*	非適用	経口	Wistar 系ラット (雌)	4 週間	0 1000	5 (対照群) 10 (投薬群)
胃腸管輸送能試験 [モジュール 4.2.3.7.3.4] *RH01L117A0*	非適用	経口	Wistar 系ラット (雌)	1 日	0, 1000	8
肝細胞形態計測 [モジュール 4.2.3.7.3.5] *N/A*	非適用	N/A	ビーグル犬	N/A	イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験[モジュール 4.2.3.2.11] の肝細胞を使用	
CD-1 系及び B6C3F1 系マウスを用いた探索的試験						
反復投与毒性 [モジュール 4.2.3.7.7.1] *RH01L117A1*	非適用	経口	CD-1 系マウス	2 週間	0, 100, 300, 1000	9
反復投与毒性 [モジュール 4.2.3.7.7.2] *RH01L117A1*	非適用	経口	CD-1 系マウス	2 週間	0 1000 1000/2000	5 (0) 7 (1000) 3 (1000/2000)
反復投与毒性 [モジュール 4.2.3.7.7.3] *RH01L117A1*	非適用	経口	B6C3F1 系マウス	2 週間	0,100, 300, 1000/600	9

表 10.ダリドレキサントのその他の毒性試験一覧（続き）

試験の種類 [参照] *Batch 番号* [1)]	GLP	投与経路	試験系	投与期間	用量 (mg/kg/day) / 濃度 [2)]	動物数/性/群
薬物依存性試験						
薬物弁別試験 [モジュール 4.2.3.7.4.3] *RH03L117A1*	適用	経口	Sprague Dawley 系ラット (雌)	般化試験 (ダリドレキサント投与): クロスオーバーデザイン, 1 用量/日, 1 又は 2 施行/週, 4 試行/ラット	ダリドレキサント: 0, 15, 30, 60; ゾルピデム: 0, 0.3, 0.56, 1, 1.8, 3	11
自己投与試験 [モジュール 4.2.3.7.4.4, モジュール 4.2.3.7.4.5] *RH03L117A1*	適用	静脈内 [3)]	Sprague Dawley 系ラット (雌)	最大 2 時間 (最大 25 回投与/ラット), 6 試行/ラット (1 試行/日)	ダリドレキサント: 0, 0.1, 0.3, 1; コカイン: 0.8	68 (試験開始時: スクリーニング及び訓練段階) 38 (置換段階)
退薬症候検討 [モジュール 4.2.3.7.4.6] *RH03L117A1*	適用	経口	Sprague Dawley 系ラット (雌)	4 週間	ダリドレキサント: 0, 20, 200; chlordiaz-epoxide: 10-200 (b.i.d.)	10

表 10.ダリドレキサントのその他の毒性試験一覧（続き）

試験の種類 [参照] *Batch 番号* [1)]	GLP	投与経路	試験系	投与期間	用量 (mg/kg/day) / 濃度 [2)]	動物数/性/ 群
不純物の安全性確認 復帰突然変異試験 (Ames test) [4)] [モジュール 4.2.3.7.6.1, モジュール 4.2.3.7.6.2, モジュール 4.2.3.7.6.3, モジュール 4.2.3.7.6.4, モジュール 4.2.3.7.6.5, モジュール 4.2.3.7.6.6, モジュール 4.2.3.7.6.7, モジュール 4.2.3.7.6.8, モジュール 4.2.3.7.6.9]	適用	*In vitro*	*Salmonella typhimurium* 5 菌株 (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537)	N/A	≤ 5000 µg/plate ±S9	N/A
ACT-699581A の染色体異常試験 [モジュール 4.2.3.7.6.10] *ELN023-3002.1*	適用	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	N/A	≤ 530 µg/mL ±S9	N/A
ACT-699581A 反復投与毒性 [モジュール 4.2.3.7.6.11] *ELN023-3002.1*	適用	経口	Wistar 系ラット	4 週間	0, 0.01, 0.05, 0.15	雄 10, 雌 10

1) 被験物質の batch 番号はモジュール 2.6.7 第 4 項に記載した。
2) ダリドレキサントは塩酸塩 (ACT-541468A) として投与し、用量は遊離塩基で表記した。
3) カテーテル留置。
4) Batch 番号: ELN023-1813.1, ELN096-1628.2, ELN023-1772.2, ELN023-1822.1, ELN096-1630.1, B34044(1), ELN 090-1092.1, ELN023-3002.1, ELN023-3160-1.
b.i.d. = 1 日 2 回、CHO = チャイニーズハムスター卵巣、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、LDH = 乳酸脱水素酵素、N/A = 該当なし、S9 = phenobarbital 及び β–naphthoflavone により誘導したラットの肝臓から調製したポストミトコンドリア（ミクロソーム及びサイトゾル）画分、TRPV1 = transient receptor potential cation channel subfamily V member 1

8.1 *In vitro* 細胞毒性試験

本試験は、ダリドレキサントの細胞毒性を評価する目的で、マウス初代培養肝細胞（n = 4、CD-1 系雄マウス由来）及びヒト初代培養肝細胞（n = 2）を用いて GLP 非適用で実施した［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.7.4］。培養肝細胞に無血清培地で希釈したダリドレキサントを 3～300 µM の濃度で適用し（n = 2～4／培養プレート）、24 時間後、細胞から漏出した培地中の乳酸脱水素酵素（LDH）を測定することにより細胞毒性を評価した。

マウス培養肝細胞では、50 µM までの濃度のダリドレキサントによる LDH 濃度への影響は見られなかったが、100 及び 300 µM では対照に比較して、それぞれ 3.1 倍及び 5.0 倍の LDH の漏出が認められた。

ヒト培養肝細胞では、50 µM までの濃度のダリドレキサントによる LDH 濃度への影響は見ら

れなかったが、2 培養系統の平均値で 100 µM では 1.7 倍、300 µM では 7.5 倍の LDH の漏出が認められた。

以上のとおり、マウス及びヒト初代培養肝細胞を用いた細胞毒性試験では、ダリドレキサントの 50 µM までの濃度で細胞毒性は認められなかった。この濃度は、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト血漿中濃度の約 22～7500 倍に相当する。

8.2 *In vitro* 光毒性試験

本試験は、ダリドレキサントの光毒性を評価する目的で、BALB/c 3T3 線維芽細胞（クローン 31）を用いて GLP 適用で実施した［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.7.5］。人工太陽光による紫外線照射又は非照射条件下で、ダリドレキサント（遊離塩基）を 0.49、0.98、1.95、3.91、7.81、15.63、31.25 及び 62.50 µg/mL 濃度で適用した。適用濃度は、予備試験の結果から設定した。本試験では、1% (v/v)ジメチルスルホキシド（DMSO）添加アール平衡塩類溶液（EBSS）を媒体対照、chlorpromazine（紫外線非照射下：200 µg/mL まで、照射下：4 µg/mL まで）を陽性対照として使用した。

暗所での 1 時間プレインキュベーション後、ダリドレキサント処理細胞の一部に 1.65 mW/cm^2 UVA の人工太陽光を 50 分間照射（照射量：約 5 J/cm^2 UVA）した。残りのダリドレキサント処理細胞は、非照射群として暗所に保管した。

用量設定及び主試験において、紫外線照射下及び非照射下ともにダリドレキサントの最高濃度（62.5 µg/mL）で細胞毒性が認められた。主試験のこの濃度における細胞生存率は、媒体対照の約 25%であった。

細胞毒性の 50%阻害濃度（IC_{50}）は紫外線照射下では 40.4～42.6 µg/mL、非照射下で 43.3～48.7 µg/mL であり、光毒性係数（PIF）は 1.02～1.21、平均光作用（MPE）は–0.006～0.086 と算出された。光毒性判定基準では、PIF<2 又は MPE<0.1 は「光毒性なし」と判定されることから、本試験条件下においてダリドレキサントは光毒性なしと判定した。

以上のとおり、BALB/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験においてダリドレキサントの光毒性は認められなかった。

8.3 雌ラットの死亡原因検討試験

2 試験のラットを用いた反復投与毒性試験において、1000 mg/kg/day 群の雌で死亡が認められた（3.2.3 項、6.2.1.1 項）。いずれの動物においても、剖検又は病理組織学的検査で死亡原因の確定はできなかった。

雌ラットを用いた 2 試験のテレメトリー試験（単回投与試験及び反復投与試験）及び胃腸管への影響に関する試験、並びにダリドレキサントの transient receptor potential cation channel subfamily V member 1（TRPV1）受容体に対する作用に関する *in vitro* 試験を実施し、ダリドレキサントの高用量群で認められた死亡原因を検討した。

8.3.1 TRPV1 受容体に対する作用に関する *in vitro* 試験

TRPV1 受容体は侵害受容及び体温の検出と調節において主要な役割を果たしている［Gavva 2008］。TRPV1 受容体作動薬は体温低下を誘発することから、TRPV1 受容体を安定発現す

るチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた全細胞パッチクランプ法により 60 μM までの濃度でダリドレキサントの作用を GLP 非適用で検討した［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.3.1］。

本試験条件下では、TRPV1 受容体に対するダリドレキサントの非常に弱い作動薬作用（参照物質としたカプサイシン 300 nM の作用の 2%未満）が認められたのみであり、ダリドレキサントのラットを用いた毒性試験の高用量群で見られた体温低下の根拠となる作用は認められなかった。

8.3.2 ラットを用いた単回投与によるテレメトリー試験

ダリドレキサントの高用量群の雌で見られた死亡と体温又は心血管系パラメータとの潜在的関連性を検討する目的で、単回投与によるテレメトリー試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.3.2］を GLP 非適用で実施した。第 1 段階では、ダリドレキサントを 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で、Wistar 系雌ラット（対照群：5 例、投薬群：10 例）に単回経口投与し、自発運動量及びバイタルサインに対する用量反応性を検討した。第 2 段階では、1 群 5 例の雌ラットにダリドレキサントを 1000 mg/kg の用量で経口投与し、投与 90 分後に atropine を皮下投与し、第 1 段階の試験で見られた体温及び心拍数の変化の回復性について検討した。Atropine は抗コリン作動薬であり、迷走神経機能の遮断により平滑筋を弛緩させ、心拍数を上昇させる。

本試験では、死亡状況、一般状態観察、テレメトリー［平均血圧（MAP）、心拍数、自発運動量、呼吸数、体温、心電図］測定を 48 時間行い、毒性を評価した。

1000 mg/kg + atropine 群の 2 例を一般状態悪化のため、投与 24 時間後に安楽死処分した。一般状態の変化として、横臥、高度の自発運動低下、易刺激性、円背位、全身性筋攣縮、四肢硬直、紅涙、不安定歩行及び冷触感が認められた。生存動物では、300 mg/kg 以上の群で粗毛、1000 mg/kg 群で自発運動低下及び探索行動が認められた。

ダリドレキサント単剤投与では、体温、心拍数及び呼吸数の用量依存的な低下が見られたが、100 及び 300 mg/kg 群は正常な生理的変動の範囲内であった。1000 mg/kg 群では、体温が 2.1°C、心拍数が 82 bpm 及び呼吸数が 16 rcpm 低下し、MAP が 9 mmHg 上昇した。

1000 mg/kg + atropine 群では、心拍数の増加は見られたが、体温及び MAP に対する影響に改善は認められなかった。したがって、ダリドレキサントによる体温及び MAP の低下は、迷走神経機能及びコリン作動性刺激の調節による二次的変化ではないことが示唆された。

以上のとおり、ダリドレキサントを 1000 mg/kg の用量で投与した結果、死亡原因と考えられる顕著な体温低下が認められた。発現した変化の程度を考慮して、本試験の無毒性量は 300 mg/kg と考えられた。

8.3.3 雌ラットを用いた反復投与によるテレメトリー試験

ダリドレキサントの高用量群で見られた雌ラットの死亡原因の検討として、4 週間反復投与によるテレメトリー試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.3.3］を GLP 非適用で実施した。本試験では、ダリドレキサントを 0（媒体）及び 1000 mg/kg/day の用量で、Wistar 系雌ラット（対照群：5 例、投薬群：10 例）に、1 日 1 回、4 週間反復経口投与し、自発運動量及び

バイタルサインを測定した。TK 試験用血液試料を試験 27 日に採取し、試験 28 日には血漿、脳脊髄液（CSF）及び脳組織を採取し、ダリドレキサントの曝露量を評価した。

本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、テレメトリー（MAP、心拍数、自発運動量、呼吸数、体温及び心電図間隔）、器官重量、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施し、毒性を評価した。

ダリドレキサントの試験 2 日の投与後に 2 例の死亡が認められた。死亡前には重度の低体温（32°C 未満）が投与 1 時間後に認められ、その後、重度の自発運動低下及び徐脈が見られ、投与 24 時間後まで回復は認められなかった。他の 8 例の生存動物では、自発運動低下、流涎及び探索行動の増加、粗毛、並びに腹部膨満が認められた。体温低下、心拍数及び呼吸数の減少、心電図間隔の変化が毎日繰り返して見られたが、投与 24 時間以内に消失した。

器官重量の変化として肝臓重量の高値が見られ、病理組織学的検査では、肝臓で肝細胞肥大及び門脈周辺の着色変化、甲状腺で濾胞細胞肥大が認められた。これらの変化は適応性変化であり、毒性ではないと考えられた。

以上のことから、1000 mg/kg/day 群の雌ラットで認められた死亡は低体温症が原因と考えられた。1000 mg/kg/day 群における試験 27 日の $AUC_{0\text{-}24}$ は 210 µg·h/mL、C_{max} は 36.2 µg/mL であった。臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）と比較すると、約 450 倍の曝露量比が認められた。

8.3.4 雌ラットの胃腸管輸送に関する試験

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の 300 mg/kg/day 以上の群で認められた腹部膨満と胃腸管輸送時間との関連性を検討する目的で、胃腸管輸送検討試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.3.2］を GLP 非適用で実施した。胃内容物及び小腸輸送に対するダリドレキサントの急性作用を、非吸収マーカーとして炭末を経口投与した 1 群 8 例の Wistar 系雌ラットを用いて検討した。一晩絶食したラットにダリドレキサントを 0（媒体）及び 1000 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。対照群を 2 群設定し、1 群には atropine を 3 mg/kg の用量で単回腹腔内投与し、別の 1 群には neostigmine を 30 mg/kg の用量で単回経口投与した。対照物質又は被験物質投与 1 時間後に、10%炭末懸濁液を 2 mL/animal で経口投与した。炭末投与 30 分後に安楽死させ、胃及び小腸の肉眼的検査を実施した。

試験の結果、1000 mg/kg 群では、媒体対照群に比較して、胃内容量の高値（+111%）及び小腸内移動距離の低値（–6%）が認められた。対照群における炭末小腸内移動距離は atropine 投与群で–17%、neostigmine 投与群で+31%であり、期待された結果が得られた。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験では腹部膨満が見られたが、長期間反復投与試験ではより高用量群においても認められていないことから、長期投与により適応したものと推察された。Orexin-A はラットの胃腸管運動、すなわち胃内容物排泄、胃運動及び結腸運動の調節に関与している[Baccari 2010] [Nozu 2011]。したがって、デュアルオレキシン受容体拮抗薬の高用量投与との関連性は否定できない。これらの変化は、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量（C_{max}）と比較すると 175 倍の曝露量比が認められることから、臨床的意義はないと考えられた。本試験では、無作用量は確定できなかった。

8.4 ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験における肝細胞の形態計測

ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験［モジュール 4.2.3.2.11］の 30 及び 100 mg/kg/day 群では肝臓重量（絶対及び相対重量）の高値が見られたが、肝細胞肥大は認められなかった。本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.3.5］では、形態計測により病理組織学的検査を補完し、細胞充実性増加及び細胞肥大について検討することを目的として GLP 非適用で実施した。

イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験の全生存例（雄 21 例、雌 22 例）の肝臓標本スライドを使用して、光学顕微鏡像から形態計測を行い、肝細胞肥大と過形成の違いを評価した。肝細胞（一個体当たり 200 個）の直径を測定し、肝細胞体積を算出した。

試験の結果、対照群の肝細胞体積は 4500～5500 μm^3、密度は 0.2×10^9/mL であり、公表文献値と同等であった[Hess 1973]。ダリドレキサント投与による細胞密度の増加は見られなかったが、肝細胞体積の用量依存的な増加が認められた。したがって、ダリドレキサント群のイヌで見られた肝臓重量の高値は、薬物代謝酵素誘導による二次的変化であり、中等度で均一な肝細胞の腫大によるものと結論付けられた。

8.5 CD-1 系及び B6C3F1 系マウスを用いた探索的忍容性試験

ダリドレキサントの 2 年間がん原性試験に供試するマウスの適切な系統を検討する目的で、CD1 系及び B6C3F1 系マウスを用いた 2 週間探索的反復投与毒性試験を GLP 非適用で実施した。ダリドレキサント開発における非臨床段階で、短期間試験（26 週間）が可能な rasH2 マウスを用いたがん原性試験で評価することが決定された。当該試験の試験計画書は、FDA Executive Carcinogenicity Assessment Committee（eCAC meeting of Nov 27th, 2018）にて承認された。

rasH2 マウスには CD1 系及び B6C3F1 系の遺伝的背景がないため、両系統についての追加検討は実施しなかった。試験の概要及び主な所見を以下に示した。

8.5.1 CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験

本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.7.1］では、1 群雌雄各 9 例の CD-1 系マウスに、ダリドレキサントを 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、2 週間反復経口投与した。さらに、1 群雌雄各 18 例を TK 試験群として設定した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では投薬に関連した死亡は認められなかった。

いずれの用量においても一般状態の変化は見られなかった。1000 mg/kg/day 群の雌雄で、投与期間中に体重増加量の高値が見られ、1000 mg/kg/day 群の雄では摂餌量の高値が認められた。

血液生化学的検査では、300 mg/kg/day 以上の群でトリグリセリド、AST 及び ALT の高値、ビリルビンの低値が見られ、1000 mg/kg/day 群ではコレステロール、総タンパク及びグロブリンの高値が認められた。

器官重量の変化として、300 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値が見られ、剖検では、1000 mg/kg/day 群の肝臓で斑状表面が認められた。病理組織学的検査では、すべての投薬群で顆粒球性炎症細胞浸潤を伴う肝細胞壊死の用量依存的な発現頻度の増加が見られ、毒性変化と考え

られた。100 mg/kg/day 以上の群の雄及び 300 mg/kg/day 以上の群の雌で肝細胞肥大が認められた。

TK 試験では、曝露量の低下が時間依存的に見られ、試験 1 日の曝露量は試験 14 日の 11 倍であった。このことから高い代謝変換又は薬物代謝酵素誘導が示唆され、本試験における肝臓の変化の説明となると考えられた。

以上のとおり、すべての投薬群で肝細胞壊死が認められたことから、本試験の無毒性量は確定できなかった。本試験の低用量である 100 mg/kg/day 群における試験 1 日の AUC_{0-24} は雄で 0.99 μg·h/mL、雌で 2.17 μg·h/mL、試験 14 日の AUC_{0-24} は雄で 0.45 μg·h/mL、雌で 0.39 μg·h/mL であった。

8.5.2 CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験

本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.7.2］は、2 週間反復投与毒性試験（8.5.1 項）で見られた肝毒性の検討、並びに 1 日 2 回（b.i.d.）投与による曝露量及び忍容性の検討を目的として、ダリドレキサントを 0（媒体、雌雄各 5 例）、1000 mg/kg、1 日 1 回（QD、雌雄各 7 例）及び 1000/2000 mg/kg/day（雌雄各 3 例、試験 1～4 日は 1000 mg/kg QD、試験 5～14 日は 1000 mg/kg b.i.d.）の用量で、CD-1 系マウスに 2 週間反復経口投与した。さらに、1000/2000 mg/kg/day 群を用いて試験 14 日に TK を評価した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重測定、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では投薬に関連した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。1000 及び 1000/2000 mg/kg/day 群で体重増加量の高値が認められた。

血液生化学的検査では、1000 mg/kg/day 以上の群でコレステロールの高値、1000/2000 mg/kg/day 群で ALT、AST 及び GLDH の高値が認められた。

病理組織学的検査では、1000 及び 1000/2000 mg/kg/day 群で肝細胞肥大が見られ、1000/2000 mg/kg/day 群では巣状壊死が認められた。肝細胞肥大は適応性変化であり、毒性ではないと考えられ、巣状壊死は毒性変化と判断した。

以上のことから、本試験の無毒性量は 1000 mg/kg/day と考えられた。TK 試験の結果、1000/2000 mg/kg/day 群の試験 14 日の AUC_{0-6} は雄で 3.86 μg·h/mL、雌で 7.96 μg·h/mL であった。

8.5.3 B6C3F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験

本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.7.3］では、1 群雌雄各 9 例の B6C3F1 系マウスに、ダリドレキサントを 0（媒体）、100、300 及び 1000/600 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、2 週間反復経口投与した。さらに、1 群雌雄各 12 例を TK 試験群として設定した。本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では、1000 mg/kg/day 群（投与液の分析の結果、実際は 1200 mg/kg/day）の初回投与後に、TK 試験用動物で自発運動低下、半眼及び体温低下が見られ、雌 1 例に痙攣及び低体温（29.4℃）が認められたため安楽死処分した。このため、TK 試験群では試験 3 日から高用量群の用量を 600 mg/kg/day に減量し、主試験群では試験 1 日から 600 mg/kg/day の用量を投与した。

血液生化学的検査では、300 mg/kg/day 以上の群でビリルビンの低値、グロブリン、コレステ

ロール及びトリグリセリドの高値が主に雌で認められた。

器官重量の変化として、すべての投薬群で肝臓重量の高値が見られ、関連する病理組織学的変化として、小葉中心性又はびまん性の肝細胞肥大が認められた。この変化は適応性変化であり、毒性変化ではないと判断した。

以上のことから、本試験の無毒性量は 600 mg/kg/day と考えられた。600 mg/kg/day 群の 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（AUC_{last}）は雄で 9.49 µg·h/mL、雌で 2.92 µg·h/mL、C_{max} は雄で 5.2 µg/mL、雌で 0.64 µg/mL であった。

8.6 依存性試験

依存性試験は、雌の全身曝露量が雄よりも高く（同用量で約 2 倍）、毒性変化に雌雄差が認められないことから、雌ラットを用いて実施した。試験の結果、ダリドレキサントの睡眠促進作用に刺激般化は見られず、中毒性薬物であるゾルピデムの作用に対する般化は見られず、コカイン自己投与歴のあるラットにおいてダリドレキサントの自己投与は認められず、4 週間反復投与後に投薬中止による退薬症候は認められなかった。各試験の要約を以下に示した。

8.6.1 薬物弁別試験によるゾルピデムの作用に対する刺激般化の評価

本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.4.1、モジュール 4.2.3.7.4.2、モジュール 4.2.3.7.4.3］は、ダリドレキサントの自覚効果のゾルピデムとの類似性についての検討を目的として、SD 系雌ラットを用いて GLP 適用で実施した。

本試験で使用する薬物弁別法では、飼料により訓練した特定のオペラント反応（例えば、レバー押し）を開始するための手掛かりとして、訓練薬物（例えば、ゾルピデム）の自覚効果を確立することが必要である。訓練中は、セッション開始前にゾルピデムを投与した場合は一方のレバーを押すと飼料が供与され、セッション開始前に媒体を投与した場合は他方のレバーを押すと飼料が供与されるように設定した。訓練終了時に弁別刺激が十分に確立している場合は、ダリドレキサントが訓練薬物と同様又は類似の反応を誘発するか否かを検討する般化試験の実施が可能である[Solinas 2006]。

スボレキサントを訓練薬物として SD 系雌ラット（12 例）を訓練した検討試験［モジュール 4.2.3.7.4.1］では、ラットに薬理作用を発揮する血漿中濃度とするために、スボレキサントを 30 mg/kg から 100 mg/kg に増量しても訓練薬物にはならなかった。したがって、スボレキサントは、訓練薬物となるのに十分な強さの自覚効果を形成せず、この試験条件下における薬物弁別試験には適切ではないと結論付けられた。

ゾルピデムの訓練試験［モジュール 4.2.3.7.4.2］では、ゾルピデムを 3 mg/kg の用量で SD 系雌ラット（11 例）に強制経口投与し、媒体との弁別を訓練した。各レバーと媒体及びゾルピデムとの関連性は無作為化し、飼料が供与される有効レバーを最低 10 回押した時に報酬が与えられる定率強化（FR10）達成までラットを訓練した。無効レバーを押した場合には飼料を供与しなかった。

本試験［モジュール 4.2.3.7.4.3］では、訓練試験の動物がゾルピデムの 3 mg/kg と媒体との弁別能を有することを投与開始前に確認した。般化試験では、偏りを防ぐために、オペラント実験装置内の両方のレバーで飼料が供与されるように（報酬として飼料が供与されるように設定）し

た。実験装置内への移動の 15 分前に投与し、すべてのセッションは 30 分間継続した。

最初の般化試験はクロスオーバーデザインとし、ゾルピデムを 0.3、0.56、1.0、1.8 及び 3.0 mg/kg の用量で強制経口投与した。予想されたように、ゾルピデム投与によりシグモイド型用量反応曲線を示し、ゾルピデムと媒体による自覚効果の違いを弁別するラットの訓練結果が確認された。次に実施した般化試験はクロスオーバーデザインとし、同じラットにダリドレキサントを 15、30 及び 60 mg/kg の用量で強制経口投与した。陰性対照には媒体を使用した。般化試験終了後、TK 試験を実施した。

いずれの用量においても、レバー選択率にダリドレキサントの影響は認められなかった。オペラント反応セッションでは、ダリドレキサント又は媒体を投与したラットは、訓練段階では媒体投与に関連付けられていたレバーを主に選択した。最初の飼料報酬は、すべて「媒体関連」レバーを押すことにより得られた。最初の強化効果を取得するための総反応数は、ほとんどのラットで 10（9 例）又は 11（2 例）であった。以上のとおり、本試験条件下においてダリドレキサントにゾルピデムへの刺激般化は認められなかった。

ダリドレキサントの 15、30 及び 60 mg/kg の用量における投与 1 時間後の血漿中濃度は、それぞれ 343～1170 ng/mL、864～2390 ng/mL 及び 1730～4230 ng/mL の範囲であった。t_{max} は 15~30 mg/kg では 15 分、60 mg/kg では 45 分であり、弁別試験はダリドレキサントの C_{max} 近辺で実施したことが確認された。ダリドレキサントの 15、30 及び 60 mg/kg における C_{max}（それぞれ 653、1750 及び 1990 ng/mL）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量（C_{max}）とを比較すると、それぞれ 6.1、16 及び 18 倍の曝露量比が認められた。*In vitro* におけるラット血漿中の非結合型分率は 2.8%であった。

以上のとおり、ゾルピデムの弁別効果とダリドレキサントによる作用との間に類似性は認められなかった。

8.6.2 コカイン自己投与法を用いた強化特性の評価

本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.4.4、モジュール 4.2.3.7.4.5］は、ダリドレキサントの強化特性について、コカインからダリドレキサントに置換後の SD 系雌ラットにおける自己投与行動の評価により検討した。

訓練段階では、オペラント実験装置にて 2 つのうち 1 つのレバーを押すことによるコカイン自己投与法（コカインの 2.5 mg/mL 溶液、約 0.80 mg/kg/80 µL 静脈内投与）を訓練した。レバーは、ラットごとに「有効」（自己投与の開始）又は「無効」を事前に無作為に設定した。訓練中は、1 回の薬物注入を得るために必要な「有効」レバー押しの回数を、1 から 10 まで段階的に増加した（FR10 スケジュール）。「無効」レバーを押した場合、ラットに報酬を供与しなかった。ラットが安定した一貫性のある自己投与反応を獲得した後、コカインを生理食塩液に置換したところ、強化物質非存在下で自己投与行動の消失が見られた。その後、安定した反応を示すまで、FR10 スケジュールでラットにコカインを再投与した。

置換段階では、同様に訓練したラット（38 例）を使用し、コカインに替えてダリドレキサントを 0（媒体）、0.1、0.3 及び 1 mg/kg/80 µL の用量で静脈内投与した。用量は投与容量とダリドレキサント濃度から算出した。陽性対照群（9 例）は、訓練中と同用量のコカインを継続して投与した。各ラットについて、1 日 1 回の置換セッションを 6 回実施した。陽性対照群の 9 例中 7

例は、6 回の置換セッションの第 2 施行に組み入れ、ダリドレキサントの 1 用量（媒体を含む）を投与し、すべての群を 1 群 9 例とした。

試験の結果、6 回の置換セッションにおいて、ダリドレキサント投与群と媒体対照群の「有効」レバー押し回数及び薬物報酬回数に差は見られず［$p>0.05$、反復測定分散分析（ANOVA）後に Dunnett's test で対比較］、コカイン投与群とは統計学的に有意な差が認められた（$p<0.01$）。すべての投与群で、「無効」レバー押し回数に差は認められなかった。

媒体及びダリドレキサント投与群のすべてのラットで、コカインの再投与により自己投与が惹起されたことから、消失手順自体及びダリドレキサント投与によりコカイン探索行動機序は妨害されなかったことが示唆された。

1 mg/kg/infusion 群の血漿中ダリドレキサント濃度は、6 回置換セッションの初回投与時と最終投与時で 2660 ng/mL から 1010 ng/mL に低下し、自己投与回数の低下と一致していた。

以上のとおり、コカイン自己投与行動の訓練動物において、ダリドレキサント投与による強化効果は認められなかった。

8.6.3 退薬症候の評価

本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.4.6］は、ダリドレキサントの 28 日間反復投与後の断薬による退薬症候発現の可能性を評価するために GLP 適用で実施した。本試験では、ダリドレキサントを 0（媒体）、20 及び 200 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、又はベンゾジアゼピン系のクロルジアゼポキシド（CDP、陽性対照、[Froger-Colléaux 2011]）を 1 日 2 回、1 群 10 例の SD 系雌ラットに強制経口投与した。CDP の用量は 10 mg/kg/day から 200 mg/kg/day まで、毎日 10 mg/kg/day ずつ増量し、試験 20 日に最高用量に達した後、試験 28 日まで同用量を投与した。退薬症候は、14 日間の投与中止期間中の規定した時点で評価した。1 群雌 6 例を TK 試験群として設定し、試験 1 及び 28 日、並びに投与中止期間中の試験 30、31、32、35、38 及び 42 日に評価した。

依存及び離脱については、生理学的パラメータ（体重、摂餌量及び体温；毎日測定）、一般状態観察（毎日）、自発運動量（総移動距離、垂直運動、立ち上がり運動、常同行動、周辺及び中心滞在時間；試験 1、14、25 及び 28 日、並びに試験 29～32、35、38 及び 42 日の投与約 1 時間後に 1 日 15 分間測定）、並びに神経行動学的観察（試験 1、14、25 及び 28 日、並びに試験 29～32、35、38 及び 42 日の自発運動量測定中及び測定後に約 20 分間実施）により評価した。

陽性対照群（CDP 投与）では、おおむね良好な忍容性が認められた。生理学的パラメータの変化として、特に投与期間後半に体重の高値が認められた。自発運動量では、試験 14 日に総移動距離の高値が認められた。神経行動学的及び一般状態の変化として、CDP 投与期間後半に体を上げる姿勢、挙尾及び立毛が認められ、脱出を試みる回数の高値が見られた。CDP 投与中止により、試験 30～32 日に顕著な体重減少が見られ、摂餌量の低下、立毛、体を上げる姿勢又は円背位、挙尾等の神経行動学的徴候の発現頻度の増加が認められた。これらの結果は、すべてベンゾジアゼピン系で予想される退薬症候と一致していた。

ダリドレキサント投与群では良好な忍容性が認められた。投与期間中、特に投与期間初期にすべての用量で体温、立ち上がり回数、総移動距離及び垂直運動の統計学的有意な低値が見られ、自発運動量測定フィールドの周辺領域滞在時間の統計学的有意な高値も認められた。いずれもダ

リドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化であり、毒性変化ではないと考えられた。生理学的、神経行動学的及び自発運動量パラメータに、ダリドレキサントの投薬中止に関連した変化は認められず、200 mg/kg/day 群で体重の低値が見られたのみであった。他に神経行動学的変化が見られないことから、体重の変化が退薬症候である可能性は非常に低いと考えられた。

投与期間終了時の血漿中ダリドレキサント濃度は、予想曝露量に一致していた。試験 28 日のダリドレキサントの 20 及び 200 mg/kg/day 群における C_{max} は、それぞれ 499 及び 2920 ng/mL であり、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量のそれぞれ 4.6 倍及び 27 倍であった（ラット血漿中非結合型分率は 2.8%）。投与 24 時間後の 20 mg/kg/day 群の全例、200 mg/kg/day 群の 2/3 例のラットの血漿中にダリドレキサントは検出されず、退薬症候観察期間中に完全に体内から排泄されたことが示唆された。

以上のことから、ヒトにおける有効曝露量又はそれを上回る曝露量に相当する用量のダリドレキサントの投与中止により、退薬症候を示唆する生理学的、神経行動学的及び自発運動パラメータの変化は惹起されなかった。したがって、臨床においてダリドレキサントによる身体依存又は退薬症候を惹起する可能性は低いと考えられた。

8.7 不純物

8.7.1 不純物の *in vitro* 遺伝毒性試験

Salmonella typhimurium のヒスチジン要求性 5 菌株（TA98、TA100、TA102、TA1535 及び TA1537）を用いた復帰突然変異試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.6.1、モジュール 4.2.3.7.6.2、モジュール 4.2.3.7.6.3、モジュール 4.2.3.7.6.4、モジュール 4.2.3.7.6.5、モジュール 4.2.3.7.6.6、モジュール 4.2.3.7.6.7、モジュール 4.2.3.7.6.8、モジュール 4.2.3.7.6.9］を GLP 適用で実施し、9 種類の不純物の変異原性を評価した。

試験は、代謝活性化系（S9mix）存在下及び非存在下でプレインキュベーション法により、5000 µg/plate までの濃度で実施した。陰性対照群（媒体）及び陽性対照群（既知の変異原物質）を設定した。

試験の結果、 不純物1* 及び 不純物2* の適用により、1 菌株以上で復帰突然変異コロニー数の用量依存的な増加が認められた。 不純物3* の適用により TA100 株で復帰突然変異コロニー数の軽度の増加（約 2 倍）が認められた。したがって、これらの不純物は復帰突然変異試験における変異原不純物（ 不純物1* 及び 不純物2* ）又は潜在的変異原不純物（ 不純物3* ）と判断した。

他の不純物（ 不純物4*、 不純物5* 、 不純物6* 、ACT-699581A、 不純物7* 及び 不純物8* ）では、いずれの菌株においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、これらの不純物は非変異原物質と考えられた。

8.7.2 不純物 ACT-699581A の安全性の確認

ACT-699581A は、ダリドレキサントの非活性な対掌体不純物であり、ダリドレキサントの一般毒性試験では確認されていない。原薬の製造工程において、ACT-699581A の含有量が約 1%になる可能性があるため、*in vitro* 変異原性試験及び染色体異常試験、並びにラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験を実施し安全性を確認した。

*新薬承認情報提供時に置き換え

8.7.2.1 ヒト末梢血リンパ球を用いた *In vitro* 染色体異常試験

本試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.6.10］は、ACT-699581A の染色体構造異常誘発性の評価を目的として GLP 適用で実施した。

本試験は、代謝活性化系（S9mix）存在下及び非存在下で実施した。ACT-699581A の適用濃度は 530 µg/mL までとした。対照群（媒体）及び陽性対照群を設定し、独立した 2 回の実験を実施した。適用時間は、実験 1 では 4 時間適用+18 時間回復（代謝活性化系存在下及び非存在下）及び 22 時間適用（代謝活性化系非存在下）、実験 2 では 22 時間適用（代謝活性化系非存在下）とした。各適用時間後に 2 培養系列について分析し、1 培養当たり 150 個の分裂中期細胞の染色体構造異常を計数した。

試験の結果、統計学的有意又は生物学的意義のある染色体構造異常を有する細胞の発現頻度の増加は認められず、分裂中期倍数体細胞数の増加も確認されなかった。

以上のとおり、細胞毒性又は沈殿の見られる濃度までの染色体異常試験において、ACT-699581A の染色体構造異常誘発性は認められなかった。

8.7.2.2 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験

ACT-699581A のラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験［モジュール 2.6.7 第 17 項、モジュール 4.2.3.7.6.11］を GLP 適用で実施した。1 群雌雄各 10 例の Wistar 系ラットに、ACT-699581A を 0（媒体）、0.01、0.05 及び 0.15 mg/kg/day の用量で、1 日 1 回、強制経口投与した。さらに、1 群雌雄各 3～6 例を TK 試験群として設定し、試験 1 及び 28 日に評価した。

本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、器官重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 試験を実施した。

本試験では投薬に関連した死亡は見られず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査で、ACT-699581A に関連した異常は認められなかった。

以上のことから、本試験の無作用量は 0.15 mg/kg/day と考えられた。0.15 mg/kg/day 群の試験 28 日の AUC_{last} は雄で 169 ng·h/mL、雌で 720 ng·h/mL であった。

8.7.3 不純物9* 、 不純物10* 及び 不純物11* の安全性の評価

安全性確認が必要とされる閾値である 0.15%を超えて原薬の規格値が設定されている不純物（ 不純物9* 、 不純物10* 及び 不純物11* ）について、遺伝毒性試験（突然変異及び染色体異常）、一般毒性試験及びがん原性試験において、各試験に使用した Batch 中の不純物含有量から算出した *in vitro* 試験での適用量及び *in vivo* 試験での NOAEL における投与量を、ヒトに 1 日最高用量である 50mg を投与した時の各不純物で予測される最高投与量と比較した（表 11）。

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 11. 各不純物の *in vitro* 遺伝毒性試験における適用量、動物試験での NOAEL における投与量とヒト予測最高投与量との比較

不純物	ヒト			*In vitro*				イヌ				ラット					
				Ames 試験		染色体異常試験		反復投与試験				反復投与試験				がん原性試験	
				NA		NA		13 週		39 週		13 週		26 週		104 週	
適用量/無毒性量	50 mg/day			5000 µg/plate		490 µg/mL		20 mg/kg		10 mg/kg		450 mg/kg		450 mg/kg		150 mg/kg	
	規格	1 日摂取量*	摂取量**	含有量	適用量 (µg/plate)	含有量	適用量 (µg/mL)	含有量	投与量	含有量	投与量	含有量	投与量	含有量	投与量	含有量	投与量
不純物9***	[redacted]																
不純物10***	[redacted]																
不純物11***	[redacted]																

ND = not detected、NA = not applicable
*: ヒト最高 1 日投与量 50 mg 当たり（mg）、**: 体重 60 kg 当たり（mg/kg）
適用量/無毒性量 = ダリドレキサントとして、規格あるいは含有量 = %、投与量 = mg/kg

以上の結果、不純物9*** 及び不純物10*** について *in vitro* 遺伝毒性試験の適用量は高く、ラット及びイヌの NOAEL における投与量も、1 日最大投与量である 50 mg をヒトに投与した時に予測される体重当たりの摂取量と比較して十分高かった。また、不純物11*** の安全性について、不純物11*** を含有するダリドレキサント Batch を用い、ラット 104 週間がん原性試験にて一般毒性を含め評価した。本試験において投与に起因した影響は認められず、NOAEL における不純物11*** の投与量は、1 日最大投与量である 50 mg をヒトに投与した時に予測される体重当たりの摂取量と比較して十分高かった。加えて、不純物9*** 、不純物10*** 及び 不純物11*** について、文献検索及び定量的構造活性相関（QSAR）に基づく *in silico* 毒性予測システムを用いて変異原性の有無を検討した結果（モジュール 3.2.S.3.2.）、Derek 及び Leadscope ソフトウェアで陰性であり変異原性を有する可能性が低く、実際、ラット 104 週間がん原性試験においてがん原性は認められなかった（5.1 項）。

以上のことから、原薬中の不純物である 不純物9*** 、不純物10*** 及び 不純物11*** でそれぞれ設定した規格値での安全性は確保できると考えられた。

9. トキシコキネティクスの概要

9.1 生体試料中薬物濃度測定法及び試料の血漿中安定性

ダリドレキサント単独又は主要代謝物である M1（ACT-776537）、M3（ACT-776063）及び M10（ACT-1016-3307）と組み合わせて測定する生体試料中薬物濃度測定法を開発し、試験実施時に発効されていた規制要件に従ってバリデーションを実施した。ラット、マウス、ウサギ及びイヌの血漿中の薬物濃度及び代謝物濃度を、液体クロマトグラフィーータンデム質量分析（LC-MS/MS）を使用して定量した。安定同位体標識した内部標準を含む有機溶媒によりタンパクを沈殿させ、試料の精製を行った。

***新薬承認情報提供時に置き換え

ラット［モジュール 4.2.2.1.1］及びイヌ［モジュール 4.2.2.1.5］の血漿中ダリドレキサント濃度測定のための測定法バリデーションは、1～1000 ng/mL 及び 10～10000 ng/mL の濃度範囲で実施した。ウサギの血漿中濃度測定法は、10～10000 ng/mL の濃度範囲で実施した［モジュール 4.2.2.1.4］。ラット［モジュール 4.2.2.1.2］、イヌ［モジュール 4.2.2.1.6］、ウサギ［モジュール 4.2.2.1.7］及びマウス［モジュール 4.2.2.1.3］の血漿中のダリドレキサント及びその主要代謝物を同時定量するための測定法を開発し、濃度範囲 10～10000 ng/mL でバリデーションを実施した。

血漿中のダリドレキサント及びその代謝物の–20°C 又は–80°C における安定性を評価した結果から、血漿試料は–80°C に保存した。

イヌ血漿中の代謝物 M1 及び M3 の–80°C における安定性は、363 日までは 85%の閾値を上回ることが確認されたが、598 日後は約 80%に低下した。39 週間反復投与毒性試験（3.3.4 項）では、血漿試料を試験 1 日、13 週及び 39 週に採取した。代謝物 M1、M3 及び M10 の試料採取後の保存期間は、上記 3 回の試料採取時点でそれぞれ 447 日、357 日、174 日であった。M1 及び M3 の安定性試験結果から、試験 13 週及び 39 週では安定性が認められているが、試験 1 日の血漿試料では確認されていない。試験 1 日の分析結果は曝露量比の算出には使用していないため、598 日間保存後の安定性結果が得られていないことに意義はないと考える。イヌ血漿中 M10 の安定性は保存期間全体で確認された。

9.2 ダリドレキサントの主要代謝物

ヒト薬物動態試験では、ダリドレキサントの 3 種類の主要代謝物（M1、M3 及び M10）が同定された。M3（アルコール体）のみが一次代謝物であり、M1 及び M10 は二次代謝物である。M1（アルデヒド体）は、チトクローム P450（CYP）を介して M3（アルコール体）から生成される。M10 は、CYP を介した一次代謝物 M5 のヒドロキシル化により脂肪族化合物から生成される。ダリドレキサントの非臨床安全性試験に使用した動物種、並びにヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた実験において、これら 3 種類の代謝物が認められた。

ダリドレキサントのラット及びイヌを用いた長期反復投与毒性試験、並びにラット胚・胎児発生に関する試験において、ヒト曝露量以上の曝露量ですべての主要代謝物が認められた。M1、M3 及び M10 の曝露量比を、ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験、イヌを用いた 39 週間反復投与毒性試験、トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験、ラットを用いた 104 週間がん原性試験及びラット胚・胎児発生に関する試験の試料分析結果から算出した（表 12 及び表 13）。この分析結果から、供試動物の血漿中に M1、M3 及び M10 が存在し、マウスを除く動物種ですべての用量においてヒト曝露量を上回ることが確認された。

表 12. マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、並びにラット胚・胎児発生に関する試験における無毒性量又は無作用量、並びにがん原性試験の最高用量におけるヒト主要代謝物の曝露量（AUC）とヒト曝露量との比較

試験 [参照]	用量 (mg/kg/day)	性	AUC_{0-24} (μg·h/mL) [1]						曝露量比					
			M1		M3		M10		M1		M3		M10	
			Total	f.u. (%)	Total	f.u. (%)	Total	f.u. (%)	Total	Free	Total	Free	Total	Free
5 日間, ヒト [2]	50 mg/day	男女	3.71	0.1	5.92	0.4	1.09	4.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26 週間, マウス [3] [モジュール 4.2.3.4.2.1]	(がん原性) 1000	雄	2.00	1.3	2.63	6.9	1.09	21	0.5	7.0	0.4	7.7	1.0	5.3
		雌	0.55	1.3	0.64	6.9	0.27	21	0.1	1.9	0.1	1.9	0.2	1.3
26 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.7]	無毒性量 450	雄	92.0	0.4	47.0	8.2	13.5	31	25	99	7.9	163	12	96
		雌	90.8	0.4	60.3	8.2	10.3	31	24	98	10	209	9.4	73
104 週間, ラット [4] [モジュール 4.2.3.4.1.1]	(がん原性) 150	雄	28.4	0.4	14.6	8.2	3.57	31	7.7	31	2.5	51	3.3	25
		雌	43.2	0.4	35.6	8.2	3.88	31	12	47	6.0	123	3.6	28
39 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.11]	無作用量 10	雄	5.82	1.2	3.44	5.8	9.91	21	1.6	19	0.6	8.4	9.1	48
		雌	8.30	1.2	6.54	5.8	25.9	21	2.2	27	1.1	16	24	125
ラット胚胎児発生試験 [モジュール 4.2.3.5.2.2, モヂュール 4.2.3.5.2.3]	無作用量 300	雌	77.1	0.4	34.5	8.2	7.88	31	20.8	83.1	5.8	119.5	7.2	56.0

1) 投与期間終了時の幾何平均（ラットのがん原性試験では 26 週）
2) 健康成人を対象とした第 1 相臨床試験 [AC-078-105 試験、モジュール 5.3.3.3.1] の 50 mg/day における投与 5 日のヒト主要代謝物濃度
3) CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/- hemizygous c-Ha-ras) 系マウスを用いた 26 週間がん原性試験の最高用量における代謝物濃度
4) Wistar 系ラットを用いた 104 週間がん原性試験の最高用量における代謝物濃度
5) 妊娠 17 日における代謝物濃度

AUC_{0-24} = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、f.u. = 非結合型分率、N/A = 該当なし、HRAS = Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog

表 13. マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、並びにラット胚・胎児発生に関する試験における無毒性量又は無作用量、並びにがん原性試験の最高用量におけるヒト主要代謝物の曝露量（C_{max}）とヒト曝露量の比較

試験 [参照]	用量 (mg/kg/day)	性	C_{max} (µg/mL) [1]						曝露量比					
			M1		M3		M10		M1		M3		M10	
			Total	f.u. (%)	Total	f.u. (%)	Total	f.u. (%)	Total	Free	Total	Free	Total	Free
5 日間, ヒト [2]	50 mg/day	男女	0.251	0.1	0.553	0.4	0.099	4.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
26 週間, マウス [3] [モジュール 4.2.3.4.2.1]	(がん原性) 1000	雄	0.42	1.3	0.53	6.9	0.22	21	1.7	22	1.0	17	2.2	12
		雌	0.19	1.3	0.19	6.9	0.11	21	0.8	10	0.3	5.9	1.1	5.8
26 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.7]	無毒性量 450	雄	6.96	0.4	5.80	8.2	1.49	31	28	111	10	215	15	117
		雌	7.73	0.4	7.28	8.2	1.64	31	31	123	13	270	17	128
104 週間, ラット [4] [モジュール 4.2.3.4.1.1]	(がん原性) 150	雄	2.26	0.4	2.69	8.2	0.70	31	9.0	36	4.9	100	7.1	55
		雌	4.18	0.4	5.10	8.2	0.55	31	17	67	9.2	189	5.6	43
小核試験, ラット [5] [モジュール 4.2.3.3.2.1]	(遺伝毒性) 2000	雄	13.2	0.6	5.89	8.2	1.93	31	53	316	11	218	19	151
		雌	15.5	0.6	6.56	8.2	2.25	31	62	371	12	243	23	176
39 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.11]	無作用量 10	雄	0.46	1.2	0.56	5.8	0.84	21	1.8	22	1.0	15	8.5	45
		雌	0.69	1.2	1.06	5.8	1.61	21	2.7	33	1.9	28	16	85
ラット胚胎児発生試験 [モジュール 4.2.3.5.2.2, モヂュール 4.2.3.5.2.3]	無作用量 300	雌	6.25	0.4	3.58	8.2	0.797	31	25.0	100.0	6.47	132.7	8.05	62.4

1) 投与期間終了時の幾何平均（ラットのがん原性試験では 26 週）
2) 健康成人を対象とした第 1 相臨床試験 [AC-078-105 試験、モジュール 5.3.3.3.1] の 50 mg/day における投与 5 日のヒト主要代謝物濃度
3) CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/- hemizygous c-Ha-ras) 系マウスを用いた 26 週間がん原性試験の最高用量における代謝物濃度
4) Wistar 系ラットを用いた 104 週間がん原性試験の最高用量における代謝物濃度
5) 試験 2 日の最高用量における投与 2 及び 5 時間後の平均代謝物濃度（雌雄各 6 例）
6) 妊娠 17 日における代謝物濃度

C_{max} = 最高血漿中濃度、f.u. = 非結合型分率、N/A = 該当なし、HRAS = Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog

9.3 チトクローム P450 酵素誘導

ヒト肝細胞で、ダリドレキサントの CYP 酵素誘導作用が認められた（モジュール 2.6.4 第 7.2.2 項）。この酵素誘導はヒトプレグナン X 受容体（PXR）の活性化により生じるが、構成的アンドロスタン受容体（CAR）では誘導されなかった［モジュール 4.2.1.2.2］。ダリドレキサントの 3 種類の主要代謝物もヒト PXR を活性化する。

この誘導能については、ミダゾラムを 2 mg の用量で投与した臨床薬物間相互作用（DDI）試験［AC-078-104 試験、モジュール 5.3.3.4.2］で臨床的意義がないことが示されたが、毒性試験に供試したすべての動物種では高用量における誘導が確認された。ラット及びイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の肝臓標本では、誘導に伴う CYP の メッセンジャーリボ核酸（mRNA）の用量依存的なアップレギュレートが認められた（モジュール 2.6.4 第 5.6 項）。

9.4 ラットにおけるトキシコキネティクス

ラットでは、26 週間までの反復投与毒性試験、雄ラットを用いた授胎能試験、雌ラットを用いた受胎能試験、胚・胎児発生に関する試験、妊娠ラットを用いた用量設定試験、出生前及び出生後の発生に関する試験、幼若動物を用いた毒性試験及び 104 週間がん原性試験で TK 試験を実施した。

ほとんどの試験において低用量と高用量で約 10 倍の差があり、用量範囲は 15～1000 mg/kg であった。ダリドレキサントの代謝物の TK データは、26 週間反復投与毒性試験、胚・胎児発生に関する試験、幼若動物を用いた試験及びがん原性試験にて評価した。未変化体及び代謝物の曝露量を表 14～表 20 に示した。

血漿中のダリドレキサントの曝露量は、150～300 mg/kg の用量範囲では用量比を上回る増加を示し、300～600 mg/kg の範囲では用量比例的な増加を示した。600～1000 mg/kg では、ダリドレキサントの曝露量は用量比を下回る増加を示した。この用量依存的な変化は、ダリドレキサントを用いた薬物動態試験（モジュール 2.6.4 第 3.3 項、第 3.4 項）にも記載されているように、低用量における初回通過代謝の初期飽和で説明される。用量増加に伴い初回通過代謝の飽和の可能性が高くなり、難溶解性薬物の吸収低下により、ダリドレキサントの曝露量は用量比を下回る増加を示すと考えられる。

ラットにおけるダリドレキサントの曝露量は、雄に比較して雌で高値を示したが、性差が 2 倍を超えることはほとんど見られなかった。ダリドレキサントの一次代謝は CYP 依存的であることから、この性差はラットの CYP 酵素の特性及び発現量により確立される性差と一致している［Cheng 1982］［Funae 1987］［Imaoka 1988］［Kamataki 1983］。

反復投与後のダリドレキサントの曝露量は、100 mg/kg までの用量では軽度の累積又は同様であった。高用量では、試験 1 日の曝露量の約 50%まで低下した。4 週間反復投与毒性試験［モジュール 4.2.3.2.5］の肝臓標本において、cyp2b1/2 及び cyp3a1 のアップレギュレートが確認されたことから、曝露量の低下は CYP 誘導の結果である可能性が推察された。

代謝物の曝露量は、26 週間反復投与毒性試験［モジュール 4.2.3.2.7］、胚・胎児発生に関する試験［モジュール 4.2.3.5.2.2］、幼若動物を用いた毒性試験［モジュール 4.2.3.5.4.2］及びがん原性試験［モジュール 4.2.3.4.1.1］にて測定した。ラットでは 3 種類のすべての主要代謝物が血漿

中に認められた。M1 及び M3 の曝露量は、未変化体であるダリドレキサントの曝露量と同様であったが、M10 の曝露量は明らかに低値であった。ダリドレキサントの曝露量と代謝物の総曝露量の比は、用量増加に伴い未変化体の割合が増加した。すなわち、26 週間反復投与毒性試験［モジュール 4.2.3.2.7］の 50 mg/kg では 25:75、450 mg/kg では 43:57 と変化した。がん原性試験［モジュール 4.2.3.4.1.1］の同用量では、17:83 及び 26:76 であった。曝露量比における未変化体の割合の増加は、ダリドレキサントの用量増加に伴う代謝の飽和に関する上述の仮説を裏付けるものと考える。

表 14. ラットを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (μg·h/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Wistar 系ラットを用いた 3 日間忍容性試験 (GLP 非適用) [モジュール 4.2.3.2.3]									
1000	試験 1 日	134	217	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 3 日	68.3	99.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Wistar 系ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験 (GLP 非適用) [モジュール 4.2.3.2.4]									
100	試験 13 日	10.7	12.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 13 日	27.2	31.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
600	試験 13 日	N/A	40.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 13 日	57.7	60.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Wistar 系ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.5]									
100	試験 1 日	10.9	18.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	61.1	90.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 日	171	222	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 4 週	12.2	17.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 4 週	32.1	54.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 4 週	78.1	128	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Wistar 系ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.6]									
50	試験 1 日	1.50 [1)]	2.81 [1)]	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	12.9	20.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	61.4	117	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 4 週	1.95	5.78	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 4 週	19.2	28.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 4 週	35.0	55.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 13 週	4.59	7.41	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 13 週	18.2	26.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 13 週	34.5	52.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

表 14.ラットを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約（続き）

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (µg·h/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Wistar 系ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.7] [2)]									
50	試験 1 日	3.27	5.43	6.35	6.83	2.74	4.22	0.779	0.365
150	試験 1 日	25.4	54.4	12.8	11.5	12.3	32.8	3.50	1.55
450	試験 1 日	84.1	97.7	53.1	65.2	43.2	62.6	13.2	6.67
50	試験 13 週	4.06	6.23	9.86	13.3	2.75	5.35	1.27	1.18
150	試験 13 週	17.4	21.1	34.0	43.7	11.6	23.4	4.62	4.84
450	試験 13 週	54.3	80.5	91.8	99.4	45.4	60.3	11.7	17.3
50	試験 27 週	4.76	7.69	11.2	16.9	4.26	9.78	1.39	1.42
150	試験 27 週	16.8	26.5	32.7	44.2	15.4	28.9	4.01	4.98
450	試験 27 週	41.2	54.5	92.0	90.8	47.0	60.3	13.5	10.3

1) AUC_{0-8}
2) AUC_{last}

AUC_{0-8} = 0 時間から 8 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、AUC_{0-24} = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、AUC_{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、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、N/A = 該当なし

表 15. ラットを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	C_{max} (µg/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Wistar 系ラットを用いた 3 日間忍容性試験 (GLP 非適用) [モジュール 4.2.3.2.3]									
1000	試験 1 日	13.1	14.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 3 日	10.9	7.55	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Wistar 系ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験 (GLP 非適用) [モジュール 4.2.3.2.4]									
100	試験 13 日	2.68	2.80	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 13 日	4.44	4.44	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
600	試験 13 日	N/A	5.73	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 13 日	7.69	6.83	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Wistar 系ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.5]									
100	試験 1 日	2.46	3.62	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	8.03	12.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 日	12.6	16.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 4 週	2.33	2.93	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 4 週	4.56	7.86	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 4 週	9.82	13.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

表 15. ラットを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約（続き）

用量 (mg/kg/day)	検査日	C_{max} (µg/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Wistar 系ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.6]									
50	試験 1 日	0.52	1.13	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	3.62	3.99	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	6.72	10.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 4 週	0.80	1.71	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 4 週	4.33	5.12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 4 週	7.01	8.07	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 13 週	1.56	2.12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 13 週	3.23	5.69	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 13 週	5.06	8.06	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Wistar 系ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.7]									
50	試験 1 日	1.02	2.04	0.849	0.557	0.668	1.22	0.201	0.073
150	試験 1 日	5.57	9.76	2.07	3.19	2.34	6.49	0.533	0.444
450	試験 1 日	9.01	11.3	4.94	3.86	4.52	5.99	1.80	0.688
50	試験 13 週	1.51	1.73	1.07	1.09	0.898	1.20	0.367	0.179
150	試験 13 週	5.19	5.56	2.76	4.57	2.94	5.34	0.937	0.746
450	試験 13 週	9.53	13.5	7.51	8.61	6.10	7.63	1.81	1.65
50	試験 27 週	2.05	1.74	1.19	1.11	1.54	1.63	0.389	0.244
150	試験 27 週	5.75	6.60	2.94	4.02	3.29	5.79	0.940	0.713
450	試験 27 週	7.27	10.9	6.96	7.73	5.80	7.28	1.49	1.64

C_{max} = 最高血漿中濃度、GLP =医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、N/A = 該当なし

表 16. ラットを用いたがん原性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		AUC_{last} (µg·h/mL)							
15	試験 1 日	0.366	0.693	1.42	1.71	0.300	0.667	0.0828	0.0771
50	試験 1 日	3.26	5.28	8.37	9.62	2.31	3.81	0.467	0.410
150	試験 1 日	19.1	31.3	40.5	40.4	12.0	19.1	2.65	1.81
15	試験 176 日	0.743	1.45	3.40	3.04	0.743	1.67	0.328	0.304
50	試験 176 日	4.20	7.82	10.6	12.2	3.22	6.74	1.20	1.06
150	試験 176 日	16.8	35.0	28.4	43.2	14.6	35.6	3.57	3.88
		C_{max} (µg/mL)							
15	試験 1 日	0.15	0.29	0.356	0.322	0.115	0.236	0.0406	0.0239
50	試験 1 日	1.39	2.15	1.33	1.08	0.939	1.11	0.160	0.0803
150	試験 1 日	3.77	5.78	5.10	6.02	1.95	2.88	0.544	0.536
15	試験 176 日	0.34	0.75	0.434	0.302	0.326	0.595	0.115	0.0644
50	試験 176 日	1.55	3.26	0.997	0.930	1.01	1.70	0.303	0.179
150	試験 176 日	3.91	8.46	2.26	4.18	2.69	5.10	0.702	0.546

AUC_{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、C_{max} = 最高血漿中濃度
[モジュール 4.2.3.4.1.1]

表 17. ラットを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (µg·h/mL) ダリドレキサント	M1	M3	M10
雄ラットを用いた授胎能試験 [モジュール 4.2.3.5.1.1]					
50	試験 1 日	4.03	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	28.6	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	66.8	N/A	N/A	N/A
50	試験 6 週	4.58	N/A	N/A	N/A
150	試験 6 週	18.2	N/A	N/A	N/A
450	試験 6 週	46.7	N/A	N/A	N/A
雌ラットを用いた受胎能試験 [モジュール 4.2.3.5.1.2]					
30	試験 1 日	3.21	N/A	N/A	N/A
100	試験 1 日	27.9	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	75.3	N/A	N/A	N/A
30	妊娠 7 日	3.44 [1)]	N/A	N/A	N/A
100	妊娠 7 日	17.8	N/A	N/A	N/A
300	妊娠 7 日	57.9	N/A	N/A	N/A
妊娠ラットを用いた用量設定試験 [モジュール 4.2.3.5.2.1]					
100	妊娠 6 日	31.1	N/A	N/A	N/A
300	妊娠 6 日	85.6	N/A	N/A	N/A
1000	妊娠 6 日	173	N/A	N/A	N/A
100	妊娠 17 日	23.6	N/A	N/A	N/A
300	妊娠 17 日	46.6	N/A	N/A	N/A
1000	妊娠 15/16 日 [2)]	130	N/A	N/A	N/A
ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 [モジュール 4.2.3.5.2.2, モジュール 4.2.3.5.2.3]					
30	妊娠 6 日	3.93	4.48	2.90 [1)]	0.226 [1)]
100	妊娠 6 日	32.2	17.5	19.9	1.32
300	妊娠 6 日	98.4	56.1	54.9	4.68
30	妊娠 17 日	5.46	6.05	2.53 [1)]	0.314 [1)]
100	妊娠 17 日	19.6	26.6	14.0	1.54 [1)]
300	妊娠 17 日	51.6	77.1	34.5	7.88

1) AUC_{0-8}
2) 雌番号 23 及び 24 は妊娠 15 日、雌番号 40、42 及び 43 は妊娠 16 日に試料採取

AUC_{0-8} = 0 時間から 8 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、AUC_{0-24} = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、N/A = 該当なし

表 18. ラットを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	C_{max} (µg/mL) ダリドレキサント	M1	M3	M10
雄ラットを用いた授胎能試験 [モジュール 4.2.3.5.1.1]					
50	試験 1 日	1.15	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	3.94	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	7.21	N/A	N/A	N/A
50	試験 6 週	1.43	N/A	N/A	N/A
150	試験 6 週	4.42	N/A	N/A	N/A
450	試験 6 週	7.60	N/A	N/A	N/A
雌ラットを用いた受胎能試験 [モジュール 4.2.3.5.1.2]					
30	試験 1 日	1.18	N/A	N/A	N/A
100	試験 1 日	4.85	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	8.01	N/A	N/A	N/A
30	妊娠 7 日	1.23	N/A	N/A	N/A
100	妊娠 7 日	4.10	N/A	N/A	N/A
300	妊娠 7 日	7.66	N/A	N/A	N/A
妊娠ラットを用いた用量設定試験 [モジュール 4.2.3.5.2.1]					
100	妊娠 6 日	5.45	N/A	N/A	N/A
300	妊娠 6 日	8.15	N/A	N/A	N/A
1000	妊娠 6 日	12.4	N/A	N/A	N/A
100	妊娠 17 日	4.79	N/A	N/A	N/A
300	妊娠 17 日	8.51	N/A	N/A	N/A
1000	妊娠 15/16 日 [1)]	16.5	N/A	N/A	N/A
ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 [モジュール 4.2.3.5.2.2, モジュール 4.2.3.5.2.3]					
30	妊娠 6 日	1.46	0.345	0.710	0.0408
100	妊娠 6 日	6.33	1.39	2.45	0.132
300	妊娠 6 日	9.54	4.70	4.17	0.324
30	妊娠 17 日	1.65	0.419	0.600	0.0470
100	妊娠 17 日	3.70	2.29	1.99	0.224
300	妊娠 17 日	7.94	6.25	3.58	0.797

1) 雌番号 23 及び 24 は妊娠 15 日、雌番号 40、42 及び 43 は妊娠 16 日に試料採取

C_{max} = 最高血漿中濃度、N/A = 該当なし

表 19. ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験、並びに幼若動物を用いた毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (μg·h/mL) ダリドレキサント		M1		M3		M10	
ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験 [モジュール 4.2.3.5.3.1]									
		母動物	母動物/出生児比 [1)]	母動物	母動物/出生児比 [1)]	母動物	母動物/出生児比 [1)]	母動物	母動物/出生児比 [1)]
50	授乳 4 日	6.68	104	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	授乳 4 日	20.4	70.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	授乳 4 日	60.9	128	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	授乳 20 日	8.49	256	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	授乳 20 日	21.1	260	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	授乳 20 日	55.6	253	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
幼若ラットを用いた用量設定試験 [モジュール 4.2.3.5.4.1] [2)]									
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
50	試験 1 日	9.92	9.39	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	47.2	48.3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	122	122	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 14 日	1.99	3.72	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 14 日	10.1	17.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 14 日	39.7	46.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
幼若ラットを用いた毒性試験 [モジュール 4.2.3.5.4.2]									
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
50	試験 1 日	10.0 [3)]	10.7 [3)]	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	65.5	47.9 [3)]	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	132	142	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 22 日	1.87 [3)]	3.69 [3)]	3.94 [3)]	7.42	1.37 [3)]	3.50 [3)]	0.613 [3)]	0.444 [3)]
150	試験 22 日	10.8 [3)]	14.7 [3)]	20.8	29.5	7.13 [3)]	12.0 [3)]	2.61 [3)]	2.20 [3)]
450	試験 22 日	40.2	49.0	69.9	71.9	30.1	32.6	9.43	7.45
50	試験 57 日	2.95 [3)]	4.64 [3)]	9.59	15.9	2.02 [3)]	4.89 [3)]	1.03 [3)]	1.07 [3)]
150	試験 57 日	16.7	15.3 [3)]	29.3	48.5	10.7 [3)]	17.6	4.30 [3)]	3.49 [3)]
450	試験 57 日	49.0	57.3	99.5	111	42.9	44.4	12.4	10.9

1) ダリドレキサント投与 2 時間後の母動物及び出生児の血漿中濃度の幾何平均より算出
2) AUC_{last}
3) AUC_{0-8}

AUC_{0-8} = 0 時間から 8 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、AUC_{0-24} = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、AUC_{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、N/A = 該当なし

表 20. ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験、並びに幼若動物を用いた毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	C_{max} (μg/mL) ダリドレキサント		M1		M3		M10	
ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験 [モジュール 4.2.3.5.3.1]									
		母動物	母動物/出生児比 [1)]	母動物	母動物/出生児比 [1)]	母動物	母動物/出生児比 [1)]	母動物	母動物/出生児比 [1)]
50	授乳 4 日	2.30	104	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	授乳 4 日	5.25	70.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	授乳 4 日	8.36	128	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	授乳 20 日	3.01	256	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	授乳 20 日	5.79	260	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	授乳 20 日	11.2	253	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
幼若ラットを用いた用量設定試験 [モジュール 4.2.3.5.4.1]									
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
50	試験 1 日	2.46	2.41	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	6.39	6.85	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	12.2	11.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 14 日	0.81	1.17	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 14 日	2.17	3.53	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 14 日	6.93	7.18	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
幼若ラットを用いた毒性試験 [モジュール 4.2.3.5.4.2]									
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
50	試験 1 日	2.23	2.58	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	7.74	7.97	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
450	試験 1 日	14.1	16.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 22 日	1.07	1.69	1.11	0.860	0.87	1.50	0.256	0.0936
150	試験 22 日	2.90	3.42	2.74	2.68	2.00	2.65	0.655	0.369
450	試験 22 日	5.76	8.76	6.44	6.34	4.25	4.63	1.26	0.942
50	試験 57 日	1.17	1.20	1.14	1.47	0.865	1.28	0.313	0.225
150	試験 57 日	3.41	3.82	3.03	4.19	2.61	3.18	0.813	0.566
450	試験 57 日	7.83	9.12	7.87	8.54	5.49	7.09	1.53	1.17

1) ダリドレキサント投与 2 時間後の母動物及び出生児の血漿中濃度の幾何平均より算出

C_{max} = 最高血漿中濃度、N/A = 該当なし

9.5 イヌにおけるトキシコキネティクス

ダリドレキサントのイヌにおける曝露量は、MTD 試験における用量漸増試験及び固定用量試験、並びに 4、13 及び 39 週間反復投与毒性試験で評価した。用量範囲は 10～1000 mg/kg/day であった。代謝物の曝露量は 39 週間反復投与毒性試験で測定した。未変化体及び代謝物の曝露量の要約を表 21 及び表 22 に示した。

試験 1 日の曝露量は、10～1000 mg/kg/day の用量範囲でおおむね用量比例的な増加を示した。39 週間反復投与毒性試験では 10～30 mg/kg/day 間では用量比を上回る増加を示し、4 週間反復投与毒性試験の雄では 100～300 mg/kg/day 間で用量比を下回る増加を示した。用量比例性からのこれらの逸脱は、低用量における初回通過代謝の飽和及び高用量における難溶解性薬物の吸収低下により説明可能と考えられる。ただし、薬物クリアランスにおける明らかな個体間変動についても考慮する必要がある（モジュール 2.6.4 第 3.1 項、第 3.2 項）。

ダリドレキサントの曝露量に大きな性差は認められなかった。

反復投与により、イヌ血漿中ダリドレキサント曝露量の軽度の累積が認められた。4 週間反復投与毒性試験における累積率は、低用量の 30 mg/kg/day では約 2 倍、200 mg/kg/day では約 1.3 倍であった。13 週間反復投与毒性試験ではこのような用量依存的な累積率の増加は認められなかった。39 週間反復投与毒性試験では、10 mg/kg/day では約 2.3 倍、100 mg/kg/day では約 2.5 倍へと累積率の増加が認められた。4 週間及び 39 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/day における累積率は実質的に同様であった。4 週間反復投与毒性試験の肝臓標本において、CYP3A12 の mRNA 発現のアップレギュレートが認められた（モジュール 2.6.4 第 5.6 項）。したがって、予想された曝露量の低下がクリアランスの飽和により過剰に補填され、全体として経時的な累積となった可能性が考えられる。

代謝物の曝露量は、39 週間反復投与毒性試験の 10、30 及び 100 mg/kg/day の用量で評価した。10～100 mg/kg/day 間の M1 の曝露量は、試験 1 日の雌では用量比例的増加を示したが、試験 13 及び 39 週では用量比を下回る増加を示した。10～100 mg/kg/day 間の M3 の曝露量はおおむね用量比例的な増加を示したが、試験 13 及び 39 週の雄では用量比を上回る増加を示した。10～100 mg/kg/day 間の M10 の曝露量は、試験 1 日には用量比を下回る増加を示し、試験 13 及び 39 週には雄では用量比を上回る増加、雌では用量比を下回る増加を示した。これらのことから、高用量における代謝過程の飽和が示唆され、ダリドレキサントの曝露量と代謝物の総曝露量の比により裏付けられる。試験 1 日の 10 mg/kg/day の曝露量比は 30:70 と代謝物の割合が高いが、100 mg/kg/day では 50:50 に変化した。試験 4 週の曝露量比はそれぞれ 35:65 及び 52:48 であり、仮説のとおり代謝の飽和が確認された。

表 21. イヌを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (μg·h/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ビーグル犬を用いた MTD 検討試験 (GLP 非適用), 用量漸増試験 [モジュール 4.2.3.2.8]									
30	試験 1 週	15.1	57.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 1 週	66.5	145	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 週	197	335	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 週	387	542	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ビーグル犬を用いた MTD 検討試験 (GLP 非適用), 固定用量試験 [モジュール 4.2.3.2.8]									
600	試験 1 週	272	155	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
600	試験 2 週	329	237	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ビーグル犬を用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.9]									
30	試験 1 週	20.6	18.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 1 週	95.1	57.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 週	170	241	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
200	試験 2 週	221	268	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	試験 4 週	41.5	36.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 4 週	184	83.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
200	試験 4 週	301	331	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ビーグル犬を用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.10]									
20	試験 1 日	17.6	10.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 1 日	34.5	22.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	144	122	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
20	試験 4 週	26.5	17.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 4 週	62.1	39.3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 4 週	234	220	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
20	試験 13 週	34.1	19.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 13 週	126	65.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 13 週	304	245	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

表 21. イヌを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約（続き）

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (µg·h/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.11]									
10	試験 1 日	5.18 [1)]	6.41 [1)]	4.27	4.02 [2)]	2.17 [1)]	2.56 [1)]	5.66	10.1
30	試験 1 日	28.5	24.8	12.9	13.1	10.2	9.80	17.5	21.9
100	試験 1 日	85.2	120	29.2	41.1	25.4	35.5	29.9	42.6
10	試験 13 週	9.14	13.2	5.30	5.57	3.40	4.41 [1)]	8.18	15.7
30	試験 13 週	61.0	50.9	16.0	15.4	18.1	16.4	41.2	50.3
100	試験 13 週	250	185	36.7	34.0	60.3	51.8	169	175
10	試験 39 週	9.10	17.5	5.82	8.30	3.44	6.54	9.91	25.9
30	試験 39 週	70.6 [1)]	58.7	18.2	17.6	22.9	19.7	60.8	63.9
100	試験 39 週	269	238	40.3	40.6	67.1	62.9	205	221

1) AUC_{last}
2) 動物番号 380 は AUC_{0-10}

AUC_{0-10}/AUC_{0-24}/AUC_{last} = 0 時間から 10 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積/0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積/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、GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、MTD = 最大耐量、N/A = 該当なし

表 22. イヌを用いた反復投与毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	C_{max} (µg/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ビーグル犬を用いた MTD 検討試験 (GLP 非適用), 用量漸増試験 [モジュール 4.2.3.2.8]									
30	試験 1 週	2.80	5.96	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 1 週	7.18	11.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 週	12.8	19.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 週	17.9	26.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ビーグル犬を用いた MTD 検討試験 (GLP 非適用), 固定用量試験 [モジュール 4.2.3.2.8]									
600	試験 1 週	13.9	11.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
600	試験 2 週	24.6	20.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ビーグル犬を用いた 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.9]									
30	試験 1 週	3.56	2.93	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 1 週	8.92	8.12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 週	11.4	15.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
200	試験 2 週	16.8	21.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
30	試験 4 週	7.27	6.11	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 4 週	22.6	13.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
200	試験 4 週	25.7	36.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ビーグル犬を用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.10]									
20	試験 1 日	3.03	2.02	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 1 日	4.66	3.90	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 1 日	14.5	14.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
20	試験 4 週	4.35	3.41	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 4 週	9.06	6.98	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 4 週	22.8	29.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
20	試験 13 週	4.49	3.51	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
50	試験 13 週	14.6	8.31	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
150	試験 13 週	27.5	29.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ビーグル犬を用いた 39 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 [モジュール 4.2.3.2.11]									
10	試験 1 日	1.43	1.98	0.421	0.607	0.484	0.721	0.462	0.994
30	試験 1 日	4.87	5.63	0.863	1.15	1.14	1.47	0.985	1.30
100	試験 1 日	8.27	11.2	1.61	2.39	1.95	2.75	1.75	2.58
10	試験 13 週	1.71	3.31	0.403	0.572	0.521	0.956	0.587	1.31
30	試験 13 週	8.18	8.66	1.03	1.21	1.79	2.06	2.27	2.91
100	試験 13 週	25.5	26.0	1.80	2.18	4.01	4.81	8.32	9.18
10	試験 39 週	1.83	3.53	0.464	0.692	0.556	1.06	0.842	1.61
30	試験 39 週	10.6	9.31	1.28	1.30	2.31	2.32	3.62	3.73
100	試験 39 週	23.7	26.6	2.27	2.43	4.62	5.40	9.96	11.7

C_{max} = 最高血漿中濃度、GLP =医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、MTD = 最大耐量、N/A = 該当なし

9.6 マウスにおけるトキシコキネティクス

マウスにおける曝露量は、CD-1 系マウス［モジュール 4.2.3.7.7.1、モジュール 4.2.3.7.7.2］、B6C3F1 系マウス［モジュール 4.2.3.7.7.3］及び CByB6F1 系マウス［モジュール 4.2.3.2.1］を用いた 2 週間反復投与毒性試験、CByB6F1 系マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験［モジュール 4.2.3.2.2］、並びに CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 系マウスを用いた 26 週間がん原性試験［モジュール 4.2.3.4.2.1］により評価した。代謝物の曝露量は、4 及び 26 週間反復投与毒性試験で評価した。B6C3F1 及び CByB6F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験では、曝露量増大のために、2000 mg/kg の用量を 1 日 1 回及び 1000 mg/kg の用量を 1 日 2 回の投与群を設定した。B6C3F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験では、1000 mg/kg/day から 600 mg/kg/day に減量した。CByB6F1 系マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験の高用量は 1500 mg/kg/day であった。CByB6F1Tg(HRAS)2Jic 系マウスを用いた 26 週間がん原性試験では、100、200（雌）、300（雄）及び 1000 mg/kg/day の 4 用量を設定した。マウスを用いた毒性試験における未変化体及び代謝物の曝露量を表 23 及び表 24 に要約した。試験間の TK データ分析は、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で実施した。

マウスを用いた毒性試験における曝露量は、系統及び投与期間に関係なく、他のいずれの供試動物種よりも低く、マウスにおける高い代謝能が示唆された［モジュール 4.2.2.4.2、モジュール 4.2.2.4.4］。ダリドレキサントの曝露量は用量比を上回る増加を示し、100～1000 mg/kg 間の 10 倍の用量範囲における曝露量は約 30～40 倍増加し、腸管吸収及び全身クリアランスにおける初回通過代謝の飽和が示唆された（9.4 項）。

いずれの試験においても曝露量に大きな性差は認められなかった。

反復投与による曝露量の用量依存的な低下が認められ、低用量の 100 mg/kg では約 40～50%に低下した。CD-1 系マウス及び B6C3F1 系マウスにおける試験 2 週の 600 mg/kg の曝露量は、試験 1 日の 30～35%であった。野生型 CByB6F1 系雄マウス及び CByB6F1Tg(HRAS)2Jic 系マウスの高用量では、試験 1 日の曝露量の 14～15%であった。

代謝物の曝露量は、野生型 CByB6F1 系マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 系マウスを用いた 26 週間がん原性試験で評価した。未変化体と同様に、3 種類の主要代謝物の曝露量は、用量比を上回る増加を示した。投与開始時の未変化体の曝露量と代謝物の総曝露量の比は、野生型マウスで 0.40～0.43、トランスジェニックマウスで 0.51～0.58 であった。反復投与後の曝露量比は、野生型マウスで 0.30～0.52、トランスジェニックマウスで 0.37～0.55 であり、明らかな用量依存性は認められなかった。ダリドレキサントの血漿中曝露量の用量比を上回る増加に関する前述の代謝過程の飽和という仮説では、曝露量比における未変化体の割合が増加することになる。そのような変化が認められないことについては、マウス特異的な代謝特性により説明可能と考えられる。マウスの主代謝経路は、M4 への酸化的脱メチル化及び M9 へのグルクロン酸抱合であり、マウスではヒト主要代謝物（M1、M3 及び M10）の代謝経路は重要ではない。CD-1 系及び B6C3F1 系マウスにおける代謝特性試験（モジュール 2.6.4 第 5.4 項）では、血漿中に 3 種類の主要代謝物が認められたが、両系統の血漿中総濃度にはほとんど寄与しなかった。したがって、これらの代謝物は、ダリドレキサントの反復投与後のマウスの代謝能の変化における適切な指標ではない可能性がある。

表 23. マウスを用いたがん原性試験（MTD 検討及び DRF 試験を含む）におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (μg·h/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
CByB6F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 [モジュール 4.2.3.2.1]									
1000	試験 1 日	66.7 [1)]	135 [1)]	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 13 日	9.67 [1)]	2.75 [1)]	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000 b.i.d.	試験 14 日	4.79 [1)]	1.73 [1)]	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
CByB6F1 系マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験 [モジュール 4.2.3.2.2]									
100	試験 1 日	2.29	1.36 [2)]	1.00	0.336 [2)]	0.678	0.213 [3)]	0.352	0.162 [4)]
300	試験 1 日	3.99	7.14	1.51	2.99	1.17	1.80	0.346 [2)]	0.930 [2)]
1500	試験 1 日	N/A (開始用量 500 mg/kg から試験 5 日に 1500 mg/kg に増量した)							
100	試験 27 日	0.993	0.404 [2)]	0.269 [3)]	0.0409 [4)]	0.163 [4)]	0.0414 [4)]	n.c.	n.c.
300	試験 27 日	5.53	2.21	2.95	0.212 [2)]	1.86	0.235 [2)]	0.598 [3)]	0.0693 [4)]
1500	試験 27 日	16.1	4.40	10.0	2.50	4.33	0.962	3.05	0.688
CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 [モジュール 4.2.3.7.7.1]									
100	試験 1 日	0.985	2.17	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	5.75	13.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 日	32.3	72.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 14 日	0.449	0.385	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 14 日	1.99	1.23	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 14 日	11.3	11.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験の追加試験 [モジュール 4.2.3.7.7.2] [5)]									
2000	試験 14 日	3.86	7.96	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
B6C3F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与探索的試験 [モジュール 4.2.3.7.7.3]									
100	試験 1 日	3.26	4.84	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	15.5	26.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 日	94.2	211	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 14 日	0.606	0.444	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 14 日	5.25	0.972	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
600	試験 14 日	9.49	2.92	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

表 23. マウスを用いたがん原性試験（MTD 検討及び DRF 試験を含む）におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約（続き）

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (μg·h/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 系マウスを用いた 26 週間がん原性試験 [モジュール 4.2.3.4.2.1]									
100	試験 1 日	0.765	1.47	0.584	0.663	0.311	0.323	0.149	0.186
200	試験 1 日	N/A	3.27	N/A	2.18	N/A	1.53	N/A	0.668
300	試験 1 日	5.84	N/A	2.79	N/A	2.44	N/A	0.870	N/A
1000	試験 1 日	31.8	38.5	17.7	17.3	13.8	13.3	4.86	4.55
100	試験 182 日	0.403	0.245	0.124	0.0281	0.227	0.0694	0.0502	0.00686
200	試験 182 日	N/A	0.668	N/A	0.141	N/A	0.159	N/A	0.101
300	試験 182 日	2.17	N/A	0.474	N/A	0.592	N/A	0.209	N/A
1000	試験 182 日	4.73	1.97	2.00	0.547	2.63	0.644	1.09	0.268

1) AUC_{0-7}
2) AUC_{0-8}
3) AUC_{0-4}
4) AUC_{0-3}
5) AUC_{0-6}

$AUC_{0-3/4/6/7/8/24}$ = 0 時間から 3/4/6/7/8/24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、b.i.d. = 1 日 2 回、DRF = 用量設定、MTD = 最大耐量、N/A = 該当なし、n.c. = 試料数不足のため算出せず、HRAS = Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog

表 24. マウスを用いたがん原性試験（MTD 検討及び DRF 試験を含む）におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	C_{max} (μg/mL)							
		ダリドレキサント		M1		M3		M10	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
CByB6F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 [モジュール 4.2.3.2.1]									
1000	試験 1 日	20.6	37.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 13 日	3.53	1.35	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000 b.i.d.	試験 14 日	2.41	0.70	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
CByB6F1 系マウスを用いた 4 週間反復投与毒性試験 [モジュール 4.2.3.2.2]									
100	試験 1 日	0.791	0.848	0.415	0.135	0.140	0.131	0.102	0.112
300	試験 1 日	1.47	4.06	0.324	0.901	0.356	0.907	0.132	0.464
1500	試験 1 日	N/A (開始用量 500 mg/kg から試験 5 日に 1500 mg/kg に増量した)							
100	試験 27 日	0.300	0.220	0.148	0.0216	0.103	0.0234	0.0515	0.0142
300	試験 27 日	3.28	0.893	1.21	0.0682	1.29	0.0914	0.523	0.0517
1500	試験 27 日	4.72	1.44	2.02	0.803	1.23	0.410	0.682	0.291
CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験 [モジュール 4.2.3.7.7.1]									
100	試験 1 日	0.505	1.06	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	3.63	5.47	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 日	6.95	20.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 14 日	0.284	0.178	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 14 日	0.943	0.410	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 14 日	4.64	3.56	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験の追加試験 [モジュール 4.2.3.7.7.2]									
2000	試験 14 日	1.83	2.75	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
B6C3F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与探索的試験 [モジュール 4.2.3.7.7.3]									
100	試験 1 日	1.93	4.12	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 1 日	6.82	12.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
1000	試験 1 日	17.9	51.3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
100	試験 14 日	0.406	0.313	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
300	試験 14 日	3.51	0.451	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
600	試験 14 日	5.23	0.636	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 系マウスを用いた 26 週間がん原性試験 [モジュール 4.2.3.4.2.1]									
100	試験 1 日	0.517	0.516	0.263	0.240	0.219	0.206	0.109	0.134
200	試験 1 日	N/A	1.60	N/A	0.646	N/A	0.636	N/A	0.283
300	試験 1 日	3.89	N/A	0.755	N/A	1.65	N/A	0.528	N/A
1000	試験 1 日	9.61	13.9	3.10	2.79	3.68	4.00	1.10	1.17
100	試験 182 日	0.184	0.152	0.0675	0.0198	0.0803	0.0295	0.0345	0.0137
200	試験 182 日	N/A	0.244	N/A	0.0390	N/A	0.0433	N/A	0.0320
300	試験 182 日	1.01	N/A	0.204	N/A	0.142	N/A	0.0868	N/A
1000	試験 182 日	0.832	0.559	0.419	0.190	0.532	0.185	0.219	0.106

C_{max} = 最高血漿中濃度、b.i.d. = 1 日 2 回、DRF = 用量設定、MTD = 最大耐量、N/A = 該当なし、HRAS = Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog

9.7 ウサギにおけるトキシコキネティクス

ウサギにおけるダリドレキサントの曝露量を、妊娠ウサギを用いた用量設定試験［モジュール 4.2.3.5.2.5］及び胚・胎児発生に関する試験［モジュール 4.2.3.5.2.6、モジュール 4.2.3.5.2.7］で評価した。いずれの試験でも、ダリドレキサントを 30、60 及び 120 mg/kg/day の用量で投与した。TK 試験用試料は妊娠 6 及び 19 日に採取し、ダリドレキサントを測定し、胚・胎児発生に関する試験では代謝物の分析も実施した。ウサギにおける未変化体及び代謝物の曝露量を表 25 及び表 26 に示した。ダリドレキサントの曝露量は用量設定試験では用量比例的増加を示し、胚・胎児発生に関する試験の妊娠 6 日の AUC は、4 倍の用量増加に対し約 10 倍の曝露量増加が見られた。ダリドレキサントの曝露量は、両試験で同様であった。いずれの試験でも、反復投与によるダリドレキサントの曝露量の累積が見られたが、累積の程度は用量増加に伴い低下し、用量設定試験では 5.4 倍から 2.9 倍に、胚・胎児発生に関する試験では 7.1 倍から 2.1 倍に低下した。

30～120 mg/kg 間の妊娠 6 日の代謝物の曝露量は、M3 で用量比を上回る増加が見られたことを除き、いずれも用量比を下回る増加を示した。ダリドレキサントの曝露量と代謝物の総曝露量との比は、用量増加に伴い未変化体の割合が増加し、30 mg/kg の曝露量比は 46:54 であり、120 mg/kg では 77:23 であった。

薬物累積パターンは累積の程度と用量との間で逆相関を示し、未変化体と代謝物の曝露量比は高用量では未変化体の割合が増加することから、薬物代謝酵素誘導と代謝過程の飽和とが複雑に影響していることが示唆された。

表 25. ウサギを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（AUC）の要約

用量 (mg/kg/day)	検査日	AUC_{0-24} (μg·h/mL) ダリドレキサント	M1	M3	M10
妊娠ウサギを用いた用量設定試験 [モジュール 4.2.3.5.2.5]					
30	妊娠 6 日	3.10	N/A	N/A	N/A
60	妊娠 6 日	7.93	N/A	N/A	N/A
120	妊娠 6 日	17.7	N/A	N/A	N/A
30	妊娠 19 日	16.8	N/A	N/A	N/A
60	妊娠 19 日	32.0	N/A	N/A	N/A
120	妊娠 19 日	51.8	N/A	N/A	N/A
ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 [モジュール 4.2.3.5.2.6, モジュール 4.2.3.5.2.7]					
30	妊娠 6 日	2.93	2.68	0.650 [1)]	0.114 [2)]
60	妊娠 6 日	8.99	4.78	1.68 [1)]	0.134 [2)]
120	妊娠 6 日	30.0	8.67	6.83	0.25 [1)]
30	妊娠 19 日	20.9	3.34	3.73	0.812
60	妊娠 19 日	24.5	3.28	3.73	0.517
120	妊娠 19 日	62.0	5.17	8.00	0.591

1) AUC_{0-8}
2) AUC_{0-5}

$AUC_{0-5/8/24}$ = 0 時間から 5/8/24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、N/A = 該当なし

表 26. ウサギを用いた生殖発生毒性試験におけるダリドレキサント、M1、M3 及び M10 の曝露量（C_{max}）の要約

用量	検査日	C_{max} (μg/mL)			
(mg/kg/day)		ダリドレキサント	M1	M3	M10
妊娠ウサギを用いた用量設定試験 [モジュール 4.2.3.5.2.5]					
30	妊娠 6 日	0.629	N/A	N/A	N/A
60	妊娠 6 日	1.62	N/A	N/A	N/A
120	妊娠 6 日	1.92	N/A	N/A	N/A
30	妊娠 19 日	2.01	N/A	N/A	N/A
60	妊娠 19 日	3.38	N/A	N/A	N/A
120	妊娠 19 日	4.71	N/A	N/A	N/A
ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 [モジュール 4.2.3.5.2.6, モジュール 4.2.3.5.2.7]					
30	妊娠 6 日	0.568	0.338	0.182	0.0389
60	妊娠 6 日	1.42	0.499	0.414	0.0466
120	妊娠 6 日	2.93	0.749	0.863	0.0615
30	妊娠 19 日	2.06	0.244	0.445	0.0681
60	妊娠 19 日	2.53	0.280	0.417	0.0345
120	妊娠 19 日	5.06	0.306	0.656	0.0454

C_{max} = 最高血漿中濃度、N/A = 該当なし

10. 考察及び結論

ダリドレキサントの一般毒性プロファイルは、マウスを用いた 4 週間までの反復経口投与毒性試験、ラットを用いた 26 週間までの反復経口投与毒性試験及びイヌを用いた 39 週間までの反復経口投与毒性試験で評価した。オレキシン系は哺乳類全体で高度に保存されているため [Mahler 2014]、いずれの動物種においてもダリドレキサントの薬理学的活性が認められる。遺伝毒性は *in vitro* 及び *in vivo* 試験により評価した。ラット（104 週間投与）及び rasH2 トランスジェニックマウス（26 週間投与）を用いたがん原性試験を実施した。生殖発生毒性プロファイルは、雌雄ラットの受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験、並びに幼若ラットを用いた毒性試験により検討した。細胞毒性及び光毒性については *in vitro* 試験により評価した。薬物依存性については、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。すべての重要な毒性試験は、関連する ICH ガイドラインに準拠して実施した。一般毒性試験の用量範囲は、マウスでは 100～2000 mg/kg/day、ラットでは 50～1000 mg/kg/day、イヌでは 10～600 mg/kg/day であり、長期反復投与における MTD としてマウスでは 1500 mg/kg/day、ラットでは 450 mg/kg/day、イヌでは 100 mg/kg/day が確認された。ダリドレキサントに関連した主な毒性変化として CNS 関連症状が見られ、陽性情動下のイヌでカタプレキシー様症状である突然の筋力低下が認められた。

毒性変化ではないと判断した変化として、1）ラット及びイヌにおける睡眠促進作用に関連した CNS 関連症状、2）薬物代謝酵素誘導に関連した適応性変化（マウス、ラット及びイヌにおける肝細胞肥大、ラット及びイヌにおける甲状腺濾胞細胞肥大、並びにラットにおける下垂体前葉肥大）、3）イヌにおける胆嚢の適応性変化、が認められた。

ヒトのリスク評価に関連しない種特異的変化が、マウスの鼻腔及び肝臓、ラットの腎臓で認められた。すべての臨床的意義のある変化については、いずれも休薬による回復性が確認された。

In vitro 試験でダリドレキサントの弱い細胞毒性が見られたが、光毒性、遺伝毒性及びがん原性は認められなかった。雌雄ラットの受胎能、ラット及びウサギの胚・胎児の発生、ラットの出生前及び出生後の発生、並びに幼若動物の発達に対するダリドレキサントの影響は認められなかった。また、ダリドレキサントに薬物依存性は認められなかった。

ダリドレキサントの 3 種類の主要代謝物である M1、M3 及び M10 が、重要な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を上回る曝露量で確認された（10.7 項）。

ヒトのリスク評価に関連する毒性変化について以下に要約し、無毒性量又は無作用量における曝露量とヒト曝露量から算出した安全域を示した。

10.1 忍容性

ダリドレキサントは、マウスでは 1500 mg/kg/day までの用量で 4 週間、ラットでは 450 mg/kg/day までの用量で 26 週間、イヌでは 100 mg/kg/day までの用量で 39 週間の反復投与において良好な忍容性が確認された。これらの用量は、長期反復投与の MTD と考えられた。ラット及びイヌにおける曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）は、50 mg/day におけるヒト曝露量に比較してそれぞれ 70 倍及び 630 倍であった。B6C3F1 系マウスを用いた 2 週間探索的毒性試験では、1000 mg/kg の単回投与後に低体温症が見られ雌 1 例を安楽死処分した。この用量の生存マウスでは、低体温、活動性低下及び半眼が認められた。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験では、MTD（450 mg/kg/day）を超える用量である 1000 mg/kg/day 群で死亡が認められた。死亡は雌のみで見られ、体重増加量、摂餌量及び病理組織学的検査で関連する明らかな変化は認められなかった。ラットの死亡については、雌ラットを用いた毒性機序検討試験において 1000 mg/kg/day の用量で検討した結果、低体温が死亡原因である可能性が考えられた（8.3.3 項）。

マウス及びラットでダリドレキサントに関連した体温低下が認められた。温度調節に関与する脳幹領域へのオレキシン投与により交感神経系が活性化し、褐色脂肪組織（BAT）介在性の熱産生を増加させる[Berthoud 2005]が、オレキシン受容体拮抗薬によりこれらの作用は抑制される[Ciriello 2003a] [Ciriello 2003b] [Baccari 2010] [Madden 2012]。体温に対するダリドレキサントの作用は、げっ歯類における BAT 介在性熱産生の調節に関与している可能性がある。げっ歯類では BAT が熱産生の主な部位であり、寒冷環境における熱産生の最大 2/3 に寄与するが、ヒトを含む大型哺乳類に BAT はほとんど存在せず、体温維持には関与していない[van Marken Lichtenbelt 2011]。げっ歯類の曝露量と同様の曝露量を示す用量におけるイヌを用いた毒性試験、並びに 50 mg/day までの用量で最大 4 週間投与した第 2 相臨床試験では体温への影響は認められなかった［AC-078A201 試験、モジュール 5.3.5.1.5、AC-078A202 試験、モジュール 5.3.5.1.6］。したがって、マウス及びラットで見られた体温低下に臨床的意義はないと考えられた。

MTD（100 mg/kg/day）を超える用量を投与したイヌでは、CNS 抑制に関連した一般状態の変化として、嘔吐、摂餌量低下及び体重減少が認められた（10.2 項）。MTD 試験の固定用量段階では、600 mg/kg/day 群で、肝酵素（ALT、GLDH、AST 及び ALP）の高値が雄 1 例で見られ、関連

する病理組織学的変化として、肝臓の胆管過形成及び炎症性細胞浸潤が認められた。他の試験ではいずれの用量においても、同様の変化は認められなかった。これらの変化は、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量の約 630 倍で認められたものであり、ヒトへの外挿性はないと考えられた。

10.2 CNS 関連の一般状態の変化

ダリドレキサント投与により発現した CNS 関連の一般状態の変化として、ダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した変化、MTD を超える用量で見られた変化及び過度の薬理作用による変化が認められた。

ダリドレキサントの睡眠促進作用に関連した CNS 関連の一般状態の変化として、ラットを用いた反復投与毒性試験の 50 mg/kg/day 以上の群で自発運動低下、横臥及び緩徐呼吸、イヌを用いた反復投与毒性試験の 150 mg/kg/day 以上の群で活動性低下、鎮静／不活発及び動作緩慢が認められた。いずれの変化も休薬により消失し、毒性変化ではないと考えられた。

イヌでは、臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量の 600 倍以上となる MTD を超える用量（MTD 試験の 600 mg/kg/day 群及び 4 週間反復投与毒性試験の 300/200 mg/kg/day 群）で、投与直後に頭部の間欠性振戦及び頭部反転動作が散見され（表 27）、300 mg/kg/day 群の 1 例で間欠性後肢振戦が 1 回認められた。これらの変化の無作用量は 150 mg/kg/day と考えられた（13 週間反復投与毒性試験）。これらの一過性の CNS 関連の毒性変化には 220 倍以上の安全域が認められることから、臨床での最高用量（50 mg/day）では発現しないと考えられる。

30 mg/kg/day 以上の群のイヌでは、運動場での運動による陽性刺激下でカタプレキシー様の突然の筋力低下（横臥、腹臥、平衡感覚喪失、不安定歩行、ぎこちない動作、起立不能、不動又は失神）が認められた。これらの変化は投与 7 週以降に発現し、投与中止により消失した。カタプレキシーは、完全な覚醒状態で強い感情により惹起される突然の一過性の筋力低下として定義される臨床状態である。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他の DORA（レンボレキサント）を投与した場合[Mahoney 2020]の発現が報告されている。したがって、これらの一般状態の変化は、ダリドレキサントの過度の薬理作用によるものであり、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。カタプレキシー様症状は、20 mg/kg/day 以下の用量では見られず、投与中止により消失した。したがって、無作用量は 20 mg/kg/day と考えられた。

カタプレキシー様の突然の筋力低下が見られた最小用量における C_{max}（39 週間反復投与毒性試験の 30 mg/kg/day 群の C_{max}：400 ng/mL）と最小有効量の C_{max}［30 mg を投与したイヌの C_{max}：7.4 ng/mL（モジュール 2.6.2 第 2.2.2 項）］から算出した治療係数は 54 であった。

突然の筋力低下はダリドレキサントの過度の薬理作用に関連した変化と考えられることから、ヒトリスク評価には AUC 及び C_{max} から算出した曝露量比を使用することが適切と考えられた。無作用量（20 mg/kg/day）における曝露量（AUC）と臨床での最高用量（50 mg/day）におけるヒト曝露量とを比較すると、雄で 78 倍、雌で 45 倍の安全域が認められた（表 27、10.7 項）。広い安全域が認められたことから、イヌで見られたカタプレキシー様の突然の筋力低下は、不眠症治療のために臨床での最高用量を投与する患者で発現する可能性は低いと考えられた。このこと

は、第 3 相臨床試験においてカタプレキシー様症状が認められていないことにより裏付けられた。

表 27. イヌにおける CNS 関連一般状態の変化

試験の種類 [参照]	一般状態の変化 / 時期	無作用量 [mg/kg/day] (非結合体 [2]) AUC_{0-24} [µg·h/mL], 雄 / 雌)	安全域 [1] [倍], 雄 / 雌	最小毒性量 [mg/kg/day] (非結合体 [2]) AUC_{0-24} [µg·h/mL], 雄 / 雌)	治療係数 [1] [倍], 雄 / 雌
最大耐量探索試験 [モジュール 4.2.3.2.8]	間欠性振戦, 頭部反転動作; カタプレキシー様症状なし	N/A	N/A	600 (16.5 / 11.9)	870 / 627
4 週間反復投与 [モジュール 4.2.3.2.9]	間欠性振戦, 頭部反転動作; カタプレキシー様症状なし	100 (9.20 / 4.18)	487 / 221	300/200 (15.1 / 16.6)	796 / 876
13 週間反復投与 [モジュール 4.2.3.2.10]	陽性情動下: 試験 66 日から失神	20 (1.47 / 0.85)	78 / 45	50 (6.30 / 2.81)	333 / 149
39 週間反復投与 [モジュール 4.2.3.2.11]	陽性情動下: 試験 49 日から横臥、腹臥、平衡感覚喪失	10 (0.27 / 0.75)	14 / 40	30 (3.04 / 2.52)	161 / 134

1) 臨床での最高用量 (50 mg/day) における非結合体のヒト曝露量 (AUC_{0-24} = 0.0189 µg·h/mL) から算出 (10.7 項)
2) 非結合体曝露量は C_{max} 近似値におけるイヌの *in vitro* 非結合型分率 (3–5%) から算出 (モジュール 2.6.4 第 4.2.1 項)

AUC_{0-24} = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、C_{max} = 最高血漿中濃度、N/A = 該当なし、CNS = 中枢神経系

10.3 肝臓、甲状腺及び下垂体の変化

ダリドレキサント投与により、マウス、ラット及びイヌの肝臓で薬物代謝酵素誘導に関連した適応性変化が認められた。関連する変化として、ラット及びイヌの甲状腺、ラットの下垂体で二次的変化が認められた。

肝臓の変化として、マウスでは 26 週間までの試験の 300 mg/kg/day 以上の群、ラットでは 26 週間までの試験の 50 mg/kg/day 以上の群で小葉中心性肝細胞肥大を伴う用量及び時間依存的な肝臓重量の高値が見られ、イヌでは 39 週間までの試験の 20 mg/kg/day 以上の群で肝臓重量の高値が認められた。いずれの変化も休薬による回復性が確認され、薬物代謝酵素誘導の二次的変化であることから[Botts 2010] [Ennulat 2010] [Maronpot 2010]、毒性変化ではないと考えられた。

肝臓における薬物代謝酵素誘導は、ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の肝臓試料における CYP3A1、CYP2B1 及び CYP2B2 mRNA、並びにイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験の肝臓試料における CYP3A12 mRNA の用量依存的なアップレギュレートにより確認した。第 1 相代謝

酵素に加えて、ラットではウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）UGT1A1、UGT1A6 及び UGT2B1 mRNA のアップレギュレートが認められた（モジュール 2.6.4 第 5.6 項）。これらの CYP 酵素及び UGT の誘導は、ダリドレキサントが PXR 活性化因子であることと一致している（モジュール 2.6.4 第 7.2.2.1 項）。ダリドレキサント投与後の薬物代謝酵素の誘導は、血漿中の GGT（ラット）、ALP（イヌ）の高値、並びにマウス及びラットで見られたダリドレキサントの曝露量の時間依存性の低下により裏付けられた。

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において、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 T4 の低値、ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の 1000 mg/kg/day 群の雄で下垂体前葉肥大が認められた。いずれの変化もマウスでは認められなかった。

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 TSH 産生増加による過剰刺激の結果として発現し、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] [Vansell 2002]。ダリドレキサント投与により発現したように、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]。

甲状腺ホルモンの輸送、代謝及び排泄には種差があることから、これらの二次的変化に臨床的意義はないと考えられる。ラットの循環中甲状腺ホルモンは、血漿タンパク（アルブミン及びトランスフェリン）に部分的に結合するのみであり、速く代謝され排泄される。このため、ヒトに比較してラットでは、T4 の血漿中半減期が短く（ラット：12～24 時間、ヒト：5～9 日）、血漿中 T4 濃度の変動が大きく、下垂体における TSH 産生が高いことが報告されている[Capen 1997] [Daminet 2003] [Kaptein 1994] [RSA 2018]。さらに、ラットでは UGT 抱合後の胆汁中 T4 の排泄が多く、UGT 誘導によりクリアランスは速くなる。イヌでは、サイロキシン結合グロブリン（TBG）濃度はヒトの 7 倍であり、血漿中遊離 T4 濃度（0.1%）が比較的高く、T4 半減期（8～16 時間）が短い。したがって、ラット及びイヌはヒトに比較して、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]。

反復投与用量漸増臨床試験［AC-078-102 試験、モジュール 5.3.3.1.2］では、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、CYP 酵素誘導への関与がないことが示唆された。ヒトの P450 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なかった。

10.3.1 CD-1 系及び CByB6F1 系マウスにおける肝毒性

CD-1 系及び CByB6F1 系マウスではダリドレキサント投与により肝毒性を示唆する変化が見られたが、B6C3F1 系マウス、ラット及びイヌでは同様の変化は認められなかった。

ダリドレキサントを 2000 mg/kg/day までの用量で投与した CD-1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験（2 試験）では、軽微から軽度の肝細胞壊死又は肝酵素（AST、ALT）の 3 倍までの上昇等の肝毒性を示唆する変化が認められた。一方、CD-1 系マウス培養肝細胞を用いた *in vitro* 細胞毒性試験では、50 µM（23 µg/mL）までの濃度で細胞毒性は認められなかった。この適用濃度は、1000 mg/kg/day 群の雌における試験 1 日の C_{max} の約 38 倍の高値である［モジュール 4.2.3.7.7.1］。

B6C3F1 系マウス（U.S. Government-sponsored hazard identification programs for toxicity and cancer で選択した系統[Maronpot 2009]）を用いた 2 週間反復投与毒性試験では、1000/600 mg/kg/day までの用量で肝毒性は認められなかった。なお、この用量における曝露量は CD-1 系マウスと同様であった。

CByB6F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験では、2000 mg/kg/day までの用量で肝毒性は認められなかった。4 週間投与毒性試験では、高用量の 1500 mg/kg/day 群で肝酵素の変動を伴わない肝細胞の単細胞壊死及び巣状壊死が認められた。CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 系トランスジェニックマウスでは、1000 mg/kg/day までの用量で 26 週間投与した結果、肝毒性は認められなかった。

ラット及びイヌでは、マウスと同等の用量（ラット：1000 mg/kg/day、イヌ：300/200 mg/kg/day）で、より長期間かつ高曝露量の投与であったが、肝毒性を示唆する病理組織学的変化は認められなかった。

以上のとおり、マウスの一部の系統のみで、試験の種類及び投与期間に依存した様々な程度の肝毒性が認められたが、毒性学的意義は不明であった。種特異的な肝毒性の発現には、マウスの主代謝経路（M4 への酸化的脱メチル化及び M9 へのグルクロン酸抱合）が関与している可能性がある。マウスとは異なり、ヒトを含む他の動物種では主代謝経路により M1、M3 及び M10 が生成される。

肝細胞壊死は、マウスの特定の系統のみで発現しており、ラット及びイヌでは見られず、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認められていないことから臨床的意義はない変化と考えられた。

10.4 コレステロールの変化

CByB6F1 系マウスを用いた 2 週間反復投与毒性試験の 1000 mg/kg/day 以上の群（主に雌）及びラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験の 150 mg/kg/day 以上の群の雌で、血漿中コレステロールの高値が認められた（表 28）。いずれも可逆的で小さな変化であることから、毒性変化ではないと考えられた。ラットを用いた長期反復投与毒性試験の無毒性量は、高用量の 450 mg/kg/day と考えられた。コレステロールの変化は、雄ラット及びイヌでは同様又は上回る曝露量においても認められなかった。

雌ラット特異的なコレステロールの増加はダリドレキサントに関連した薬物代謝酵素誘導を

伴っており、*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（10.3 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の発現を低下させ、げっ歯類の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おり[Zhou 2009]、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の機序的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（10.3 項）、不眠症治療を目的としたダリドレキサント投与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（ID-078A301 試験、ID-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（モジュール 2.7.4 第 3.2 項）ことから支持される。

表 28. マウス及びラットの血漿中コレステロールの変化

試験の種類 [参照]	用量 (mg/kg/day)	コレステロール変化率 (%, 対照群比) 雄	雌
2 週間, マウス [モジュール 4.2.3.2.1]	1000	+46	+47
	2000	+111	+98
3 日間, ラット [モジュール 4.2.3.2.3]	1000	+44	+44
2 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.4]	100	-	-
	300	-	-
	600	-	+35
	1000	-	+42
4 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.5]	100	-	+42
	300	-	+63
	1000	-	+105
13 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.6]	50	-	-
	150	-	+23
	450	-	+77
26 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.7]	50	-	-
	150	−23	+34
	450	−37	+86

いずれも可逆的な小さな変化であり、毒性変化ではないと判断した。
- = 変化なし

10.5 血液学的検査値の変化

血液学的検査では、ラットでは 450 mg/kg/day 以上の群で、イヌでは 150 mg/kg/day 以上の群でヘモグロビン及び PCV の低値が認められた（表 29）。ラットでは、関連する変化として網状赤血球数の低値及び脾臓の造血亢進（4 週間反復投与毒性試験のみ）が認められた。ラットにおけるこれらの変化は、赤血球系パラメータの低下に伴う代償性変化として知られている。イヌでは、4 及び 13 週間反復投与毒性試験の 150 mg/kg/day 以上の群で赤血球系パラメータの低値が認められた。いずれも、適応性の小さな変化であり（背景値の範囲内又は近似値）、休薬による回復性が見られていることから、毒性変化ではないと考えられた。ダリドレキサントの第 2 相及び第 3 相臨床試験では血液学的検査値の変動は認められなかった（モジュール 2.7.4 第 3.1 項）。

表 29. ラット及びイヌにおける赤血球系パラメータの変化

試験の種類 [参照]	用量 (mg/kg/day)	AUC_{0-24} (μg·h/mL) 雄/雌	変化率 (%, 対照群比), 雄/雌				脾臓における造血像
			RBC	Hb	PCV	Retic.	
4 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.5]	100	12.2/17.5	全用量で変化なし	-	-	-	-
	300	32.1/54.6		-	-	-	↑雌雄
	1000	78.1/128		−8/−9	−6/−6	+6/+30	↑雌雄
13 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.6]	50	4.59/7.41	全用量で変化なし	-	-	-	全用量で変化なし
	150	18.2/26.5		-	-	-	
	450	34.5/52.1		−6/−7.5	−5/−4	+20/+13	
26 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.7]	50	4.76/7.69	全用量で変化なし	-	-	-	全用量で変化なし
	150	16.8/26.5		-	-	-	
	450	41.2/54.5		−7/−14	−4/−10	+13/+14	
4 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.9]	30	41.5/36.7	-	-	-	-	全用量で変化なし
	100	184/83.5	-	-	-	-	
	200 / 300	301/331	−14/−11	−15/−12	−16/−14	-	
13 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.10]	20	34.1/19.7	-	-	-	-	全用量で変化なし
	50	126/65.4	-	-	-	-	
	150	304/245	–17/-	−8/−9	−6/−6	+6/+30*	
39 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.11]	10	9.1/17.5	全用量で変化なし				
	30	70.6/58.7					
	100	269/238					

AUC_{0-24} = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、Hb = ヘモグロビン、PCV = ヘマトクリット、Retic = 網状赤血球、RBC = 赤血球、- = 変化なし、↑=増加

10.6 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の 100 mg/kg/day 以上の群の雄及び 30 mg/kg/day 以上の群の雌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_{0-24}）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。いずれの変化においても休薬による回復性が見られ、胆嚢は正常構造を示し、炎症を伴う変化ではないことから、この適応性変化は毒性変化ではないと判断した。

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。したがって、臨床での最高用量のダリドレキサント投与によりヒトの胆嚢機能への影響はないものと考えられた。

10.7 安全域の算出

安全域（曝露量比）は 2 通りの方法で算出した。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体濃度と臨床での最高用量（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体濃度を比較した。最小毒性量における血漿中総濃度及び非結合体濃度から治療係数を算出した（表 30、表 31）。

ヒトリスク評価のための安全域算出に関連した変化は、7 週間以上の反復投与により 30 mg/kg/day 以上の群のイヌで発現した突然の筋力低下である。この変化は可逆的であり、イヌにおける無作用量は 20 mg/kg/day と考えられた。ダリドレキサントの非結合型分率は、ラット（約 3%）及びイヌ（約 3～5%）とヒト（約 0.3～0.5%）と異なるため（モジュール 2.6.4 第 4.2.1 項）、イヌにおける突然の筋力低下に対する安全域算出には血漿中非結合体曝露量を使用することが適切と考えられる。

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。

表 30. ラット及びイヌの無毒性量、無作用量、最小毒性量及び最大耐量における曝露量（AUC）と 50 mg/day におけるヒト曝露量から算出した安全域及び治療係数

試験の種類 [参照]	用量 (mg/kg/day)	性	$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL) [1]	f.u. (%) [2]	非結合体 $AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)	安全域/治療係数 [3]	
						総濃度	非結合体濃度
26 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.7]	450 無毒性量/最大耐量	雄	41.2 [4]	3.3	1.36	6.5	72
		雌	54.5 [4]	4.2	2.29	8.6	121
13 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.10]	20 無作用量	雄	34.1	4.3	1.47	5.4	78
		雌	19.7	4.3	0.85	3.1	45
	50 最小毒性量	雄	126	5.0	6.30	20	333
		雌	65.4	4.3	2.81	10	149
39 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.11]	10 無作用量	雄	9.10	3.0	0.27	1.4	14
		雌	17.5	4.3	0.75	2.8	40
	30 最小毒性量	雄	70.6 [4]	4.3	3.04	11.2	161
		雌	58.7	4.3	2.52	9.3	134
	100 最大耐量	雄	269	5.0	13.5	43	712
		雌	238	5.0	11.9	38	630

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) *In vitro* 非結合型分率 (モジュール 2.6.4 第 4.2.1 項)
3) 50 mg/day の用量で 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］における幾何平均 $AUC_{0\text{-}24}$ 値 ［総濃度: 6.306 μg·h/mL; 非結合体濃度: 0.0189 μg·h/mL (*in vitro* 非結合型分率: 0.3%) ］から算出
4) AUC_{last}

$AUC_{0\text{-}24}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積、AUC_{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、f.u. = 非結合型分率

表 31. ラット及びイヌの無毒性量、無作用量、最小毒性量及び最大耐量における曝露量（C_{max}）と 50 mg/day におけるヒト曝露量から算出した安全域及び治療係数

試験の種類 [参照]	用量 (mg/kg/day)	性	C_{max} (μg/mL) [1]	f.u. (%) [2]	非結合体 C_{max} (μg/mL)	安全域/治療係数 [3]	
						総濃度	非結合体濃度
26 週間, ラット [モジュール 4.2.3.2.7]	450 無毒性量 / 最大耐量	雄	7.27	3.3	0.24	7.2	79
		雌	10.9	4.2	0.46	10.8	152
13 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.10]	20 無作用量	雄	4.49	4.3	0.19	4.5	64
		雌	3.51	4.3	0.15	3.5	50
	50 最小毒性量	雄	14.6	5.0	0.73	15	242
		雌	8.31	4.3	0.36	8.3	118
39 週間, イヌ [モジュール 4.2.3.2.11]	10 無作用量	雄	1.83	3.0	0.05	1.8	18
		雌	3.53	4.3	0.15	3.5	50
	30 最小毒性量	雄	10.6	4.3	0.46	11	151
		雌	9.31	4.3	0.40	9.3	133
	100 最大耐量	雄	23.7	5.0	1.19	24	393
		雌	26.6	5.0	1.33	26	441

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) *In vitro* 非結合型分率 (モジュール 2.6.4 第 4.2.1 項)
3) 50 mg/day の用量で 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］における幾何平均 C_{max} 値［総濃度: 1006 ng/mL; 非結合体濃度: 3.018 ng/mL (*in vitro* 非結合型分率: 0.3%)］から算出

C_{max} = 最高血漿中濃度、f.u. = 非結合型分率

11. 参考文献

[Baccari 2010] Baccari MC. Orexins and gastrointestinal functions. Curr Protein Pept Sci. 2010;11(2):148-55.（モジュール 4.3.2）

[Berthoud 2005] Berthoud HR, Patterson LM, Sutton GM, Morrison C, Zheng H. Orexin inputs to caudal raphé neurons involved in thermal, cardiovascular, and gastrointestinal regulation. Histochem Cell Biol. 2005;123(2):147-56. （モジュール 4.3.3）

[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）

[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）

[Cheng 1982] Cheng KC, Schenkman JB. Purification and characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal cytochrome P-450. J Biol Chem. 1982;257(5):2378-85. （モジュール 4.3.15）

[Ciriello 2003a] Ciriello J, de Oliveira CVR. Cardiac effects of hypocretin-1 in nucleus ambiguus. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003a;284:R1611-20. （モジュール 4.3.16）

[Ciriello 2003b] Ciriello J, Li Z, de Oliveira CVR. Cardioacceleratory responses to hypocretin-1 injections into rostral ventromedial medulla. Brain Res. 2003b;991:84-95. （モジュール 4.3.17）

[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）

[Damsch 2011a] Damsch S, Eichenbaum G, Looszova A, Lammens L, Feyen B, Van Den Bulck K, et al. Unexpected nasal changes in rats related to reflux after gavage dosing. Toxicol Pathol. 2011a;39:337-47. （モジュール 4.3.19）

[Damsch 2011b] Damsch S, Eichenbaum G, Tonelli A, Lammens L, Van Den Bulck K, Feyen B, et al. Gavage-related reflux in rats: identification, pathogenesis, and toxicological implications (review). Toxicol Pathol. 2011b;39:348-60. （モジュール 4.3.20）

[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）

[Everds 2013] Everds NE, Snyder PW, Bailey KL, Bolon B, Creasy DM, Foley GL, et al. Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment. Toxicol Pathol. 2013;41(4):560-614. （モジュール 4.3.26）

[Froger-Colléaux 2011] Froger-Colléaux C, Rompion S, Guillaume P, Porsolt RD, Castagné V, Moser P. Continuous evaluation of drug withdrawal in the rat using telemetry: effects of morphine and chlordiazepoxide. J Pharmacol Toxicol Methods. 2011;64:81-8. （モジュール 4.3.30）

[Funae 1987] Funae Y, Imaoka S. Purification and characterization of liver microsomal cytochrome *P*-450 from untreated male rats. Biochim Biophys Acta. 1987;926:349-58. （モジュール 4.3.31）

[Gavva 2008] Gavva NR. Body-temperature maintenance as the predominant function of the vanilloid receptor TRPV1. Trends Pharmacol Sci. 2008;29(11):550-7. （モジュール 4.3.32）

[Hard 2013] Hard GC, Banton MI, Bretzlaff RS, Dekant W, Fowles JR, Mallett AK, et al. Consideration of rat chronic progressive nephropathy in regulatory evaluations for carcinogenicity. Toxicol Sci. 2013;132(2):268-75. （モジュール 4.3.36）

[Hess 1973] Hess FA, Weibel ER, Preisig R. Morphometry of dog liver: normal base-line data. Virchows Arch B Cell Pathol. 1973;12(4):303-17. （モジュール 4.3.37）

[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）

[Imaoka 1988] Imaoka S, Terano Y, Funae Y. Constitutive testosterone 6 beta-hydroxylase in rat liver. J Biochem. 1988;104(3):481-7. （モジュール 4.3.40）

[Kamataki 1983] Kamataki T, Maeda K, Yamazoe Y, Nagai T, Kato R. Sex difference of cytochrome *P*-450 in the rat: purification, characterization, and quantitation of constitutive forms of cytochrome *P*-450 from liver microsomes of male and female rats. Arch Biochem Biophys. 1983;225(2):758-70. （モジュール 4.3.43）

[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）

[Madden 2012] Madden CJ, Tupone D, Morrison SF. Orexin modulates brown adipose tissue thermogenesis. Biomol Concepts. 2012;3(4):381-6. （モジュール 4.3.52）

[Mahler 2014] Mahler SV, Moorman DE, Smith RJ, James MH, Aston-Jones G. Motivational activation: a unifying hypothesis of orexin/hypocretin function. Nat Neurosci. 2014;17(10):1298-303. （モジュール 4.3.53）

[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 2009] Maronpot RR. Biological basis of differential susceptibility to hepatocarcinogenesis among mouse strains. J Toxicol Pathol. 2009;22:11-33. （モジュール 4.3.56）

[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）

[Morton 2014] Morton D, Sistare FD, Nambiar PR, Turner OC, Radi Z, Bower N. Regulatory forum commentary: alternative mouse models for future cancer risk assessment. Toxicol Pathol. 2014;42(5):799-806. （モジュール 4.3.62）

[Nozu 2011] Nozu T, Kumei S, Takakusaki K, Ataka K, Fujimiya M, Okumura T. Central orexin-A increases colonic motility in conscious rats. Neurosci Lett. 2011;498:143-6. （モジュール 4.3.66）

[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）

[Reagan 2011] Reagan WJ, Irizarry-Rovira A, Poitout-Belissent F, Bolliger AP, Ramaiah SK, Travlos G, et al. Best practices for evaluation of bone marrow in nonclinical toxicity studies. Toxicol Pathol. 2011;39(2):435-48. （モジュール 4.3.68）

[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. 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）

[Slott 1990] Slott PA, Liu MH, Tavoloni N. Origin, pattern, and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. Gastroenterology. 1990;99(2):466-77. （モジュール 4.3.74）

[Solinas 2006] Solinas M, Panlilio LV, Justinova Z, Yasar S, Goldberg SR. Using drug-discrimination techniques to study the abuse-related effects of psychoactive drugs in rats. Nat Protoc. 2006;1(3):1194-206. （モジュール 4.3.75）

[Storer 2010] Storer RD, Sistare FD, Reddy MV, Degeorge JJ. An industry perspective on the utility of short-term carcinogenicity testing in transgenic mice in pharmaceutical development. Toxicol Pathol. 2010;38(1):51-61. （モジュール 4.3.79）

[van Marken Lichtenbelt 2011] Van Marken Lichtenbelt WD, Schrauwen P. Implications of nonshivering thermogenesis for energy balance regulation in humans. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2011;301:R285-96. （モジュール 4.3.87）

[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）

[Yamamoto 1998] Yamamoto S, Urano K, Koizumi H, Wakana S, Hioki K, Mitsumori K, et al. Validation of transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene as a bioassay model for rapid carcinogenicity testing. Environ Health Perspect. 1998;106(Suppl 1):57-69. （モジュール 4.3.91）

[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）

[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）