

# インチュニブ錠 1mg, 同 3mg

## 第2部 (モジュール2): CTD の概要 (サマリー)

### 2.4 非臨床試験の概括評価

塩野義製薬株式会社

## 目次

略号及び用語定義一覧表.....	4
2.4 非臨床試験の概括評価.....	6
2.4.1 非臨床試験計画概略.....	6
2.4.2 薬理試験.....	10
2.4.2.1 効力を裏付ける試験.....	11
2.4.2.1.1 <i>In vitro</i> 薬効薬理試験.....	11
2.4.2.1.2 <i>In vivo</i> 薬効薬理試験.....	11
2.4.2.2 副次的薬理試験.....	11
2.4.2.2.1 <i>In vitro</i> における副次的薬理.....	11
2.4.2.2.2 <i>In vivo</i> における副次的薬理.....	12
2.4.2.2.2.1 中枢神経系への影響.....	12
2.4.2.2.2.2 心血管系への影響.....	14
2.4.2.2.2.3 代謝に及ぼす影響.....	15
2.4.2.2.2.4 免疫系に及ぼす影響.....	15
2.4.2.2.2.5 その他の薬理作用.....	16
2.4.2.3 安全性薬理試験.....	16
2.4.2.3.1 中枢神経系に及ぼす影響.....	16
2.4.2.3.2 心血管系への影響.....	18
2.4.2.3.3 呼吸系に対する作用.....	18
2.4.2.3.4 腎臓系に及ぼす影響.....	18
2.4.2.3.5 胃腸管系に及ぼす影響.....	19
2.4.2.3.6 薬力学的薬物相互作用試験.....	20
2.4.3 薬物動態試験.....	20
2.4.3.1 分析方法.....	20
2.4.3.2 吸収.....	21
2.4.3.3 分布.....	21
2.4.3.4 代謝 (種間比較).....	22
2.4.3.4.1 <i>In vitro</i> 代謝.....	22
2.4.3.4.2 <i>In vivo</i> 代謝.....	22
2.4.3.4.2.1 ラット.....	22
2.4.3.4.2.2 イヌ.....	23
2.4.3.4.2.3 サル.....	23
2.4.3.4.3 推定代謝経路.....	23
2.4.3.5 排泄.....	25
2.4.3.5.1 ラット.....	25
2.4.3.5.2 イヌ.....	25
2.4.3.5.3 サル.....	25

2.4.3.6	薬物動態学的薬物相互作用	25
2.4.3.7	その他の薬物動態試験	27
2.4.4	毒性試験	28
2.4.4.1	単回投与毒性	28
2.4.4.2	反復投与毒性	28
2.4.4.3	遺伝毒性	30
2.4.4.3.1	<i>In vitro</i>	30
2.4.4.3.2	<i>In vivo</i>	30
2.4.4.4	がん原性	30
2.4.4.5	生殖発生毒性	30
2.4.4.5.1	生殖発生毒性試験	30
2.4.4.5.2	幼若動物を用いた毒性試験	31
2.4.4.6	局所刺激性	32
2.4.4.7	その他の試験	32
2.4.4.7.1	メカニズム試験	32
2.4.4.7.2	代謝物	32
2.4.4.7.3	不純物	32
2.4.4.7.4	その他	33
2.4.4.7.4.1	光毒性	33
2.4.5	総括及び結論	33
2.4.5.1	薬理学的評価	33
2.4.5.2	薬物動態学的評価	34
2.4.5.3	毒性学的評価	40
2.4.6	参考文献一覧	44

## 2.4 略号及び用語定義一覧表

略号	略号内容
ADHD	注意欠陥／多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder)
AUC	血漿中濃度-時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve)
AUC <sub>0-24 hr</sub>	時間 0 から投与後 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours)
BCRP	breast cancer resistance protein
BSEP	bile salt export pump
BOLD	blood oxygenation level dependent
C <sub>max</sub>	最高濃度 (maximum concentration)
CYP	チトクローム P450 (cytochrome P450)
不純物A*	不純物A*
EU	欧州共同体 (European union)
fu	血漿中非結合率 (unbound fraction in plasma)
GLP	Good Laboratory Practice
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (human ether-a-go-go-related gene)
5-HT	セロトニン (serotonin)
IC <sub>50</sub>	50%阻害濃度 (50% inhibitory concentration)
Ki	阻害定数 (inhibition constant)
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法 (liquid chromatography/tandem mass spectrometry)
MATE	multidrug and toxin extrusion protein
MRP	multidrug resistance-associated protein
MPH	メチルフェニデート (methylphenidate)
MRI	磁気共鳴画像 (magnetic resonance imaging)
MTD	最大耐量 (maximum tolerated dose)
NADPH	還元型 β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)
NOAEL	無毒性量 (no observed adverse effect level)
OAT	有機アニオントランスポーター (organic anion transporter)
OATP	有機アニオン輸送ポリペプチド (organic anion transporting polypeptide)
OCT	有機カチオントランスポーター (organic cation transporter)
P <sub>app</sub>	みかけの膜透過係数 (apparent permeability)
P-gp	P 糖たん白質 (permeability-glycoprotein)
SH	自然発症高血圧 (Spontaneously hypertensive)

TK	トキシコキネティクス (toxicokinetics)
UGT	ウリジン 2 リン酸-グルクロン酸転移酵素 (uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase)

## 2.4 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1 非臨床試験計画概略

塩野義製薬は、Shire AG (以下、「Shire 社」とする) からグアンファシン塩酸塩 (Shire 社の開発コード：SPD503, 公表論文では BS 100-141) の徐放錠 (以下、「本剤」とする) を導入し、小児 (6~17 歳) の注意欠陥/多動性障害 (ADHD) の 1 日 1 回服用の治療薬として 20 年 から本邦において開発を進めている。本剤は、有効成分としてグアンファシン塩酸塩を含んでおり、1 mg 錠及び 3 mg 錠には、それぞれ 1 及び 3 mg のグアンファシン (グアンファシン塩酸塩としては、それぞれ 1.14 及び 3.42 mg) が含まれている。なお、日本国内での開発を開始するにあたり、20 年に医薬品医療機器総合機構との医薬品 相談で非臨床試験の充足性について相談し、合意を得ている。

選択的  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体作動薬であるグアンファシン塩酸塩の即放性製剤は、青少年及び成人の高血圧を治療するために 1979 年から 1980 年代半ばにかけ欧州共同体 (EU) で医薬品販売承認申請され、いくつかの加盟国で市販名 ESTULIC<sup>®</sup>として上市されたが、現在はハンガリーで販売されているのみである。米国では、市販名 TENEX<sup>®</sup>として市販されている。日本においても、市販名エスタリック<sup>®</sup>として 1984 年に承認され [1], 2005 年まで販売されていたが、現在は商業上の理由で販売が中止されている。

本剤は、2009 年 9 月に小児 (6~17 歳) の ADHD の患者を治療するための単独療法として、2011 年 2 月に中枢刺激薬の補助療法として、市販名 INTUNIV<sup>®</sup>で米国食品医薬品局によって承認されている。また、2013 年 7 月に児童及び青少年の ADHD 治療薬として市販名 INTUNIV XR<sup>®</sup>でカナダ保健省によって承認されている。また、EU においても 2015 年 9 月に承認を取得している。

ADHD の基本的な定義は、同じ年頃の児童及び青少年で典型的に観察される注意欠如及び/又は多動衝動性よりも頻繁かつ重症である症状が持続することである。また、次の臨床症状を呈する必要もある：多くの患者は症状を数年間継続した後に診断されるが、障害の原因となるいくつかの多動性衝動又は注意欠如の症状は 7 歳以前から存在しなければならない、障害は少なくとも 2 つの環境 (学校や家庭など) で存在しなければならない、発達上適切な社会的、学業的又は職業的機能の妨害となるという明らかな証拠がなければならない。

ADHD の正確な病因は不明である。しかしながら、検出不可能な脳の損傷を引き起こす軽症頭部外傷、精製糖又は食品添加物の摂取及び不安定又は機能不全な家庭環境が原因で ADHD と診断される可能性があることは知られている。一方、広範な非臨床試験及び臨床試験から、神経伝達物質の異常 [2], 遺伝 [2, 3], 環境因子 [4] 及び周産期合併症 [5] のすべてが ADHD を特徴づける神経伝達物質の欠乏に役割を果たしていることが示唆されている。

ADHD 患者にみられる注意、作業記憶及び学習の障害は、前頭前皮質におけるノルアドレナリン作動性神経伝達の調節不全に起因するという仮説が立てられている。したがって、ADHD 治療に効果的な薬剤の作用機序は、シナプスにおいて神経伝達物質の放出を促進することにより、それら (特にノルアドレナリン及び/又はドパミン、又はそれらの前駆体) の濃度を増加させることであると示唆されている [6]。アンフェタミンやメチルフェニデート (MPH) を含む中枢刺激薬は、長年にわたり児童における ADHD の治療に用いられてきた。しかし、中枢刺激薬

の有効性が一般に高いにもかかわらず、一部の患者に対しては次善の治療法であった。これらの要因を考慮すると、非中枢刺激薬は一部の ADHD 患者、特に中枢刺激薬治療が適当でない患者に対して、食欲抑制をより低頻度にするとともに、乱用リスクを最小限にすることを潜在的に提供する効果的な代替薬であると考えられる [7]。また、グアンファシンは、脳の密接に関連する2つの領域である青斑核 (中脳) 及び前頭葉に存在する後シナプス  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体を刺激して、注意力を向上させるとともに、衝動性を低減させるノルアドレナリン作動性シグナル伝達を増大させることにより、ADHD に対する有効性を発揮すると考えられる。

いくつかの公表論文によると、グアンファシン塩酸塩及び他の  $\alpha_2$  アドレナリン作動薬は ADHD 症状を治療するための有益な効果を示している [8, 9, 10, 11]。これらはいずれも小規模試験であったが、それらの結果、グアンファシン塩酸塩即放性製剤が 4 mg/日までの投与量で成人と子ども両方において多動行動を減少させるとともに、注意力を増加させることが示唆された。しかしながら、ADHD 患者に対するグアンファシン塩酸塩の安全性と有効性を検討する適切かつよく管理された試験は、当初存在しなかった。グアンファシン塩酸塩徐放錠を用いた第 3 相検証試験は Shire 社によって完了されており、また、本申請に向けて、塩野義が日本人 ADHD 患者を対象にした臨床試験を実施した。

本剤は、1日1回投与の徐放性製剤であり 1 mg 錠、2 mg 錠及び 3 mg 錠を申請予定である。申請予定用量は、小児 ADHD 患者 (6~17 歳) に対して、体重 50kg 未満の場合は 1日 0.12 mg/kg 又は 5 mg のいずれか少ない量が上限であり、体重 50kg 以上の場合は 6 mg が上限である。

グアンファシン塩酸塩の開発歴に基づき、Shire 社が実施した追加非臨床試験のストラテジー及びデザインは、以下の点が考慮されている。

- 本剤は徐放性製剤であり、一般的に使用されかつ安全性が確立されている賦形剤を含んでいる。
- 本剤の有効成分であるグアンファシン塩酸塩は、高血圧治療薬の即放性製剤 (エスタリック<sup>®</sup>) として上市されたことがある。近年は、米国で児童及び青少年における ADHD の治療薬 (INTUNIV<sup>®</sup>) として市販されている。したがって、ヒトにおけるグアンファシン塩酸塩の有効性と安全性を示す多くの臨床試験データ及び米国の市販後のデータが既に存在する。
- グアンファシン塩酸塩を用いて開発初期に実施された包括的な薬理学、薬物動態的及び毒性的評価データは、「エスタリック<sup>®</sup> [ ]」 [1] に要約されている。これらの試験で次の毒性が特定されている。
  - － ラット及びイヌにおいて、3 mg/kg/日を超える投与量で体重増加量及び摂餌量の減少。
  - － イヌにおける赤血球系パラメータの低値。13週間投与後のイヌにおいて、3 mg/kg/日の投与量で血漿グルコース濃度の増加。雄性ラットにおける血漿中グルコース濃度の軽度の減少。
  - － 脾臓：イヌにおける13週間毒性試験でのリンパ濾胞の萎縮並びに52週間毒性試験での萎縮。
  - － 肝臓：イヌにおける13週間毒性試験でみられた5及び10 mg/kg/日の投与量での肝細胞の硝子滴様物質並びに52週間毒性試験でみられ、5週間の休薬で回復した3 mg/kg/日の投与

- 量での肝臓の色調変化及び小葉中心性肝細胞肥大。
- 眼：ラット及びマウスにおけるがん原性試験でみられた頻度が投与量に伴って増加した角膜混濁。
  - 心臓：イヌにおける 52 週間毒性試験でみられた 1 及び 3 mg/kg/日の投与量での心電図検査における notch を伴う T 波及び (心拍数による補正されていない) QT 間隔の延長。
  - 無毒性量 (NOAEL) は、ラットでは 1 mg/kg/日、イヌでは 0.3~1 mg/kg/日の間と判断された。高用量では、体重増加量及び摂餌量の抑制がみられた。
- オリジナルの非臨床試験は、1986 年より前に完了したため、現代の非臨床試験プログラムと比較していくつかの要素 [重要な試験の Good Laboratory Practice (GLP) 適合性など] が不足している。
  - オリジナルの非臨床試験プログラムでは、高血圧治療薬としてグアンファシン塩酸塩の承認を得るために計画された。
  - グアンファシン塩酸塩の薬理学に関する広範な情報は、文献から入手可能である。

Shire 社は、既存のデータを補うために以下の目的で追加試験を実施した：

- ADHD 患者にグアンファシン塩酸塩を投与するために効力を裏付ける薬効薬理試験を実施する。
- グアンファシンのセロトニン (5-HT)<sub>2B</sub> 受容体アゴニスト活性に基づく心臓弁膜症誘発のリスクに関する副次的薬理評価を実施する。
- グアンファシンの既知の心血管系に対する薬理的性質を考慮し、GLP 適合の心血管系安全性薬理試験を実施する。
- 薬物相互作用のリスク評価に関する薬物動態試験 (薬物代謝酵素の誘導及び阻害、トランスポーターの阻害など) を実施する。
- 重要な毒性試験で使用された用量での血漿中グアンファシン曝露データを得る。
- 小児患者集団への使用に際してのリスク評価として、幼若ラットを用いたグアンファシン塩酸塩の毒性試験を実施する。
- 不純物の安全性を評価する。

Shire 社は、非臨床試験パッケージについて 20 年 に当局、及び ) と Science advice meeting で協議し、 に代わり、 するよう勧告されている。なお、本邦でも、20 年の医薬品医療機器総合機構との医薬品 相談で同様の見解を示されている。また、EU での申請に際し、 ) 及び 毒性を評価するために、 における 試験を申請資料に含めるよう勧告され、実施している [2.6.6.6.3 項参照]。

本製造販売承認申請で提出する非臨床試験は、公表文献で報告された試験並びに上記勧告により Shire 社が実施した薬効薬理、薬物動態及び毒性試験 (表 2.4.1-1) で構成されており、グアンファシン塩酸塩の小児の ADHD 患者への処方に際してのベネフィット・リスク評価に関する



情報を提供する。

なお、特に示さない限り 2.4 項では、グアンファシン塩酸塩の投与量及び濃度は、グアンファシン換算で表記した。

表 2.4.1-1 Shire 社が実施した非臨床試験一覧

試験の種類	試験系	投与経路	Shire 社試験番号	概要表
<b>効力を裏付ける薬理及び副次的薬理</b>				
受容体, イオンチャネル, トランスポーター及び酵素に対する作用	各種受容体, イオンチャネル, トランスポーター及び酵素	<i>In vitro</i>	V00662-SPD482-IIIF	2.6.3.2.1
ヒト $\alpha_2$ アドレナリン受容体親和性及び選択性	ヒト遺伝子組換え型 $\alpha_{2A}$ , $\alpha_{2B}$ 及び $\alpha_{2C}$ アドレナリン受容体	<i>In vitro</i>	V00965-SPD503	2.6.3.2.2
多動性, 衝動性及び持続的注意の低下に対する作用	雄性自然発症高血圧 (SH) ラット	腹腔内投与	R00837-SPD503	2.6.3.2.3
ヒト 5-HT <sub>2B</sub> 受容体に対する作用	ヒト遺伝子組換え型 $\alpha_{2A}$ アドレナリン受容体及び 5-HT <sub>2B</sub> 受容体	<i>In vitro</i>	V2167-SSP-1024A	2.6.3.3.1
	ヒト遺伝子組換え型 $\alpha_{2A}$ , $\alpha_{2B}$ 及び $\alpha_{2C}$ アドレナリン受容体並びに 5-HT <sub>2B</sub> 受容体	<i>In vitro</i>	V2987M-EP015	2.6.3.3.2
その他の作用	雄性ラット	腹腔内投与	R00998-SPD503	2.6.3.3.3
<b>安全性薬理</b>				
ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (hERG) チャネルに及ぼす影響*	安定発現 HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	V00168-SLI503-IIIF	2.6.3.4.1
心拍数, 血圧及び心電図に及ぼす影響*	雄性ビーグルイヌ	経口投与	D00023 SLI503-IIIF A00381-SPD503-IIIF	2.6.3.4.1
<b>薬力学的薬物相互作用</b>				
グアンファシン塩酸塩又は <i>d</i> -アンフェタミン硫酸塩の各単独投与及び両薬物の併用投与のラット ADHD モデルにおける多動性, 注意欠如及び衝動性への影響	雄性 SH ラット	腹腔内投与	R01744M-SPD503	2.6.3.5.1
<b>薬物動態</b>				
単回経口投与後の血液及び血漿中放射能濃度, 血漿, 尿及び糞中代謝物並びに尿糞中放射能排泄	Sprague Dawley ラット	経口投与	R3323M-SPD547	2.6.5.3.1 2.6.5.9 2.6.5.13.1
	ビーグルイヌ	経口投与	D3324M-SPD547	2.6.5.3.1 2.6.5.9 2.6.5.13.1
	カニクイザル	経口投与	P3414M-SPD554	2.6.5.3.1 2.6.5.9 2.6.5.13.1
責任代謝酵素*	発現チトクローム P450 (CYP) 酵素及びヒト肝ミクロソーム	<i>In vitro</i>	V00652-SPD503-IIIG	2.6.5.10.1
グアンファシン塩酸塩の CYP 阻害作用*	ヒト肝ミクロソーム	<i>In vitro</i>	V00651-SPD503-IIIG	2.6.5.12.1
		<i>In vitro</i>	V00976-SPD503	2.6.5.12.1
グアンファシン塩酸塩及び 3-ヒドロキシグアンファシン塩酸塩のウリジン 2 リン酸-グルクロン酸転移酵素 (UGT) 阻害作用*	ヒト肝ミクロソーム	<i>In vitro</i>	V01017-SPD503	2.6.5.12.2

\* GLP 適用

(続く)

表 2.4.1-1 Shire 社が実施した非臨床試験一覧 (続き)

試験の種類	試験系	投与経路	Shire 社試験番号	概要表
<b>薬物動態 (続き)</b>				
グアンファシン塩酸塩の CYP 誘導作用*	ヒト肝細胞	<i>In vitro</i>	V00975-SPD503	2.6.5.12.3
P 糖たん白質 (P-gp) による薬物輸送に関する試験	Caco-2 細胞	<i>In vitro</i>	V00977-SPD503	2.6.5.15.1
Breast cancer resistance protein (BCRP) 基質及び阻害評価	C2BBel 細胞, BCRP 発現 MDCK 細胞	<i>In vitro</i>	V7089M-SPD503	2.6.5.15.2 2.6.5.15.8
有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1B1, OATP1B3, 有機アニオントランスporter (OAT) 1, OAT3, 有機カチオントランスporter (OCT) 1, OCT2, Multidrug and toxin extrusion protein (MATE) 1 及び MATE2-K 基質及び阻害評価	OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞	<i>In vitro</i>	V7089M-SPD503	2.6.5.15.3 ~ 2.6.5.15.7 2.6.5.15.9 ~ 2.6.5.15.12
Bile salt export pump (BSEP) 及び Multidrug resistance-associated protein (MRP) 2 阻害評価	BSEP 及び MRP2 発現ベシクル	<i>In vitro</i>	V7089M-SPD503	2.6.5.15.13 2.6.5.15.14
トキシコキネティクス (TK) 評価*	OF-1 マウス	混餌投与	M00832-SPD503	2.6.5.16.1
	OFA ラット	混餌投与	R00831-SPD503	2.6.5.16.2
	ビーグルイヌ	経口投与	D00833-SPD503	2.6.5.16.3
<b>毒性</b>				
最大耐量 (MTD)	HsdHan <sup>TM</sup> :WIST ラット	強制経口	R3666M-SPD503	2.6.7.6
S 及び P の心臓弁膜症誘発リスク評価 #	Hsd:SD ラット	皮下/腹腔内	R2315M-SPD503	2.6.7.6
	Hsd:SD ラット	皮下/腹腔内	R2890M-SPD503	2.6.7.6
F/Ph 併用 MTD 及び毒性 #	Hsd:SD ラット	混餌	R3255M-SPD503	2.6.7.6
F/Ph 併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価*	Hsd:SD ラット	強制経口/混餌	R3343M-SPD503	2.6.7.7.1
心臓弁膜の病理組織学的検査レビュー	NA	NA	C3702M-SPD503	
復帰突然変異 [不純物の評価を含む]*	ネズミチフス菌	<i>In vitro</i>	V01018-SPD503	2.6.7.8.1
染色体異常 [不純物の評価を含む]*	ヒトリンパ球	<i>In vitro</i>	V01019-SPD503	2.6.7.8.2
幼若動物予備毒性*	CrI:CD (SD) IGS BR ラット	強制経口	R00697-SPD503-III A	2.6.7.15.1
幼若動物毒性*	CrI:CD (SD) IGS BR ラット	強制経口	R00242-SPD503-III C	2.6.7.15.2
	CrI:CD (SD) ラット	強制経口	R3799M-SPD503	2.6.7.15.3
幼若動物予備毒性 (MPH 併用)	CrI:CD (SD) IGS BR ラット	強制経口	R01525M-SPD503	2.6.7.15.1
幼若動物毒性 (MPH 併用)*	CrI:CD (SD) IGS BR ラット	強制経口	R01587M-SPD503	2.6.7.15.4
不純物の評価: 4 週間毒性*	CrI:OFA (SD) ラット	混餌	R01020-SPD503	2.6.7.17.1

S : セロトニン, P : ペルゴリド, F : フェンフルラミン, Ph : フェンテルミン, NA : 該当なし.

\* GLP 適用

# グアンファシンを投与しなかった試験

### 2.4.2 薬理試験

多くの非臨床薬効薬理及び安全性薬理試験は、グアンファシン塩酸塩が高血圧治療薬として開発されたときに実施済みである。また、安全性薬理試験の幾つかは現行の GLP 運用開始以前

に実施済みである。ADHD 治療薬開発のために Shire 社によって実施された追加の効力を裏付ける薬理試験の目的は、受容体結合に関する追加データを提供し、最新の *in vitro* 及び *in vivo* モデルを用いた行動、鎮静効果及び認知機能について調べることであった。追加の安全性薬理試験では、心血管系に及ぼす影響の可能性を検討した。

グアンファシン塩酸塩の薬理的性質を以下にまとめ、詳細は薬理試験の概要文 [モジュール 2.6.2 参照] に記載する。

#### 2.4.2.1 効力を裏付ける試験

ADHD 患者にみられる、注意、作業記憶及び学習の欠如は前頭前皮質におけるノルアドレナリン作動性神経伝達の調節異常が原因で起こる。これらの認知機能障害はグアンファシン塩酸塩の作用に反応すると予想される。グアンファシン塩酸塩の作用機序は、前頭前野における後シナプスの  $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介したノルアドレナリン作動性シグナル伝達を増加させることである。

##### 2.4.2.1.1 *In vitro* 薬効薬理試験

グアンファシン塩酸塩はヒト  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体に対する選択的リガンドであり [阻害定数 (Ki) : 13 nmol/L],  $\alpha_{2B}$  及び  $\alpha_{2C}$  サブタイプに対して 15~20 倍選択的である [2.6.2.2.1 項参照], 異なった種や組織を用いて検討されたグアンファシンの親和性及び選択性の文献値とよく一致している [12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21].

##### 2.4.2.1.2 *In vivo* 薬効薬理試験

前頭前皮質はグアンファシンの ADHD 治療における作用部位として提唱されており,  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体はヒト, サル及びラット脳のこの領域に存在する主たるサブタイプである。

SH ラットは ADHD のモデル動物として確立されており, 多動性, 衝動性及び注意持続時間の低下を含むこの疾患に特徴的な認知及び行動異常のいくつかを示すことが知られている [22]. このモデルにおいて, グアンファシン塩酸塩 (0.075, 0.15, 0.3 又は 0.6 mg/kg) の腹腔内投与により, 用量依存的に衝動性及び多動性を減少させ, また注意持続時間の低下を改善させたことから, 本薬が ADHD の中核症状の行動及び認知異常に関する 3 つの症状に対して効果があることを示唆している [2.6.2.2.2 項参照]. グアンファシンの薬理作用メカニズムとして, 背外側前頭前皮質における後シナプス  $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介したノルアドレナリン作動性シグナル伝達の増強が提唱されている。グアンファシンは  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体に選択的な作動薬であるため, グアンファシンの治療効果に  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体サブタイプが関与している可能性が高いと考えられる。

#### 2.4.2.2 副次的薬理試験

##### 2.4.2.2.1 *In vitro* における副次的薬理

広範な受容体, イオンチャネル, トランスポーター及び酵素に対するグアンファシン塩酸塩の結合親和性を, 放射性リガンド結合法を用いて決定した [2.6.2.3.1 項参照]. 親和性が約 13 nmol/L (阻害定数) のヒト  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体に比較し, 評価した他の受容体ではいずれも親和性が低いことから, グアンファシン塩酸塩とこれらの受容体などの相互作用によって副

作用や有害事象が臨床用量で起こる可能性は低いと考えられる。

Huang らの報告によると、ヒト 5-HT<sub>2B</sub> 受容体発現細胞株を用いた異なる 5 種のアゴニスト活性評価を実施した結果、グアンファシンが有意なアゴニスト活性を有することが示唆されており、その固有活性も最大活性 ( $E_{max}$ ) の 59%~119% と一様ではなく、50% 効果濃度も 91~6920 nmol/L と一様ではなかった [23]。グアンファシン塩酸塩は、ヒト遺伝子組み換え 5-HT<sub>2B</sub> 受容体に対する結合親和性 [50% 阻害濃度 ( $IC_{50}$ )] は 350~2797 nmol/L と一様ではなかったが、これは  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体との親和性 ( $IC_{50}$  : < 3.0 nmol/L) よりも少なくとも 2 桁低かった [2.6.2.3.2 項参照]。ヒトにおける心臓弁膜症と 5-HT<sub>2B</sub> 受容体作動薬の関係を示す報告があることから [24, 25, 26, 27]、ラット毒性試験において心臓の病理組織を精査した結果、グアンファシン塩酸塩投与による心臓弁の変化の徴候は認められなかった [2.6.6.3.5.4 項参照]。

#### 2.4.2.2.2 *In vivo* における副次的薬理

グアンファシンの最も重要な副次作用は、末梢及び中枢の接合部前後の  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体、特に鎮静、鎮痛並びに血圧及び心拍数をコントロールする脳の領域に存在する受容体の活性化に起因している。

##### 2.4.2.2.2.1 中枢神経系への影響

公表論文では、比較的低用量のグアンファシンは、鎮痛 [28, 29, 30]、抗痙攣 [31, 32, 33, 34]、抗侵害作用 [35, 36, 37]、抗不安作用 [38, 39, 40] 及び鎮静作用 [41, 42] を示している。

##### 2.4.2.2.2.1.1 鎮痛作用

Shire 社が委託した試験では、グアンファシン塩酸塩の反復投与 (0.3~3 mg/kg) は幼若ラットの運動能評価において鎮静は示さず、Morris の水迷路における認知機能にも影響は認められなかった [2.6.6.6.2 項参照]。さらに、Arnsten らはグアンファシン塩酸塩 (0.001~0.5 mg/kg、筋肉内投与) は中年~老年期のアカゲザルにおいて軽度の鎮静作用を示すのみであったが、0.0001 mg/kg の投与量で遅延応答課題を改善することを報告した [43]。これらのデータは Witte 及び Marrocco による研究とも概ね一致している [44]。Franowicz らは、雌性成熟サルにグアンファシン (投与量 : 0.0001, 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 及び 0.7 mg/kg) を筋肉内投与し、その 120 分後に遅延反応課題の評価を行なう際に 9 ポイントスケール評価による鎮静及び興奮症状の評価も行った結果、0.1 mg/kg 以上の用量で空間作業記憶を向上させたのに対し、最高用量 (0.7 mg/kg) でのみ軽度な鎮静が観察されるだけであった [45]。

また、ヒトにおいて、同程度の降圧作用を示す投与量 (グアンファシン 1 mg 投与さらに 2 時間後に 2 mg 投与対クロニジン 0.15 mg 投与さらに 2 時間後に 0.3 mg 投与) で投与した際に、グアンファシンはクロニジンより脳波測定での鎮静作用が弱いことが報告されている [46]。これらげっ歯類及び高等動物の試験結果から、a) グアンファシンは、他の  $\alpha_2$  アドレナリン受容体作動薬と同様に鎮静作用を有していること、b) この作用は  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体の活性化が関与していること、及び c) グアンファシンの選択的な  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体アゴニスト作用はヒトで副作用を生じさせる可能性があることを示唆している。

##### 2.4.2.2.2.1.2 痙攣に及ぼす影響

Papanicolaou らは、ラットを用いてペンチレンテトラゾール誘発痙攣に対するグアンファシンの影響を検討した [33]。雌雄 Sprague Dawley 系ラットにグアンファシン塩酸塩 (投与量 : 0,

0.00001, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1 及び 10 mg/kg) 又はクロニジン (投与量: 0.00001, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 及び 1 mg/kg), を腹腔内投与し, ペンチレンテトラゾール (50 mg/kg) 誘発痙攣の持続時間を計測した結果, グアンファシンは 0.0001 mg/kg 以上の用量で痙攣の持続時間を有意に抑制し, 抗痙攣作用を示した. 一方, クロニジンも, 痙攣発現潜時には影響を及ぼさなかったが, 0.0001 mg/kg の用量から痙攣持続時間を有意に抑制し, 0.001 mg/kg の用量で最大の抗痙攣作用を示した. また, 著者らは, クロニジンの抗痙攣作用は, 腹腔投与時よりも脳室内投与時の方が 100 倍強い抗痙攣作用を示し,  $\alpha_2$  アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビンの前処置によって阻害されることから, 中枢神経系  $\alpha_2$  アドレナリン受容体刺激が抗痙攣作用に寄与していることを考察している.

その他, マウスを用いた痙攣に関する報告として次のものがある. (1) グアンファシン (0.1 ~ 0.5 mg/kg, 腹腔内投与) は, 低酸素状態における痙攣潜時を延長させ, 0.5 mg/kg の用量で有意な痙攣発現の延長が認められた [32], (2) 痙攣誘発薬 Ro 5-4864 (60 mg/kg, 腹腔内投与) の投与前にグアンファシン (0.5 ~ 1 mg/kg, 腹腔内投与) を投与すると抗痙攣作用を示した [31], (3) グアンファシン (0.1 mg/kg, 腹腔内投与) は, フルロチル誘発痙攣に対しても抗痙攣作用を有しており, 野生型マウスに比べ痙攣がより重度に現れる  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは, グアンファシンの抗痙攣作用が消失した. また, グアンファシン (0.1 mg/kg, 腹腔内投与) の前処置により, ペンチレンテトラゾール (40 mg/kg, 腹腔内投与) 誘発痙攣が抑制された [34].

これらの結果から, グアンファシンは抗痙攣作用を有し, また作用機序として中枢神経系における  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体を介することが示唆される.

#### 2.4.2.2.2.1.3 痛覚に及ぼす影響

Post らは, ラットのテイルフリック試験において, グアンファシン及びクロニジンを髄腔内投与し, テイルフリック法にて両薬物の抗侵害受容作用について検討した [36]. 雄 Sprague Dawley 系ラット (6 例/群) に, 生理食塩液を媒体として, グアンファシン (投与量: 0, 3, 6, 12.5, 25 及び 50  $\mu$ g/kg) 又はクロニジン (投与量: 0, 6, 12.5, 25 及び 50  $\mu$ g/kg) を髄腔内投与し, 投与 10, 60, 120, 180 及び 240 分後並びに 18 時間後にラットの尾の先端部に熱刺激を与え, その際の尾の逃避反射の潜時を測定することにより, 抗侵害受容作用を評価した. その結果, グアンファシンでは, 投与 10 分後では 6  $\mu$ g/kg 以上の用量で, さらに投与 60 分後においては 3  $\mu$ g/kg 以上の用量で抗侵害受容作用が認められ, 25 及び 50  $\mu$ g/kg の作用は投与 18 時間後まで持続的に観察された. 一方, クロニジンでは, 投与 10 分後で 6  $\mu$ g/kg 以上の用量において抗侵害受容作用が認められたが, 投与 60 分後においては 6  $\mu$ g/kg 投与群での作用は観察されなくなった. また, 12.5  $\mu$ g/kg 及び 50  $\mu$ g/kg の用量群で 180 分後までは作用が認められていたが, 投与 240 分後においては, いずれの投与群においても抗侵害受容作用は認められなくなっており, 抗侵害受容作用の持続時間は明らかにグアンファシンの方が長かった. 著者らは, この要因として, 脊髄中の両薬物濃度測定の結果から, グアンファシンの消失速度がクロニジンよりも遅いことによると考察している.

また, 「エステルリック® 0.5 mg ■■■■■」において, 一般薬理試験の一つとして, マウスの酢酸ライジング法及びテイルピンチ法を用いた鎮痛作用の評価が行われている. その結果, グアン

ファシンは、1 及び 4 mg/kg の経口投与で酢酸ライジング反応を完全に抑制し、4 mg/kg の経口投与でテイルピンチ法における鎮痛作用を示したことが報告されている [1].

#### 2.4.2.2.2 心血管系への影響

心血管系の組織において、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体は交感神経系における前シナプスの抑制性自己受容体として主に分布していることが知られている [47]. グアンファシンの作用について多数の非臨床試験があるが、高用量での多くの作用はグアンファシンが高曝露になった際の副次的薬理作用に結び付いている。したがって、以下の記載はグアンファシンの  $\alpha_2$  アドレナリン受容体アゴニスト作用に関連した非臨床所見であるが、臨床所見との関連性を有する可能性がある。

Doxey らは、麻酔ラットに、グアンファシン及びアドレナリン受容体作動薬であるグアナベンズを静脈内投与した結果、投与直後に血圧をわずかに上昇させた後、降圧作用が持続的に発現したことを報告している。また、ラット輸精管及び肛門尾骨筋を用いて  $\alpha_2/\alpha_1$  アゴニスト活性の選択性比を検証した結果、グアンファシン及びグアナベンズはそれぞれ 68 及び 97 と  $\alpha_2$  に対して高い選択性を示した [2.6.2.2.1 項参照]. 両薬物よりも  $\alpha_2/\alpha_1$  アゴニスト活性の選択性比が低いクロニジン及びチアメニジン (選択性比: 14 及び 8) では、静脈内投与直後の血圧上昇はより顕著に現れ、その後降圧作用が観察された。また、 $\alpha_2/\alpha_1$  アゴニスト活性の選択性比が更に低いオキシメタゾリン及び St 91 (選択性比: 4 及び 0.6) では、投与直後に血圧上昇が現れた後、降圧作用は認められなかった。なお、いずれの薬物投与においても心拍数の減少が観察された。麻酔ラットに、これらのアドレナリン受容体作動薬を脳室内投与した結果、グアンファシン、グアナベンズ及びクロニジンは投与直後から血圧下降を示したのに対して、 $\alpha_2/\alpha_1$  アゴニスト活性の選択性比が低いチアメニジン、オキシメタゾリン及び St 91 では血圧に影響は認められなかった。以上の結果から、グアンファシンを含むアドレナリン受容体作動薬の降圧作用は、主に中枢の  $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介していることが示唆された [48].

グアンファシンによる降圧作用について Salzman は Grollman 腎性高血圧ラットモデルを用いて検討した結果、反復経口投与 (1 日 2 回) 3 時間後の各血圧測定において収縮期血圧の低下が認められた [49]. グアンファシンによる降圧作用は SH ラットにおいても認められている [50, 51]. また、これらの降圧作用は反復投与においても維持された [52, 53]. 同様に、麻酔下 [54] 及び覚醒下 [49] の正常血圧ラットにおいて、収縮期血圧及び拡張期血圧の低下並びに心拍数の減少が報告されており、これらはグアンファシンの反復投与期間中も覚醒下正常血圧ラットにおいて維持されていた [49]. 非選択的  $\alpha_2$  アドレナリン受容体作動薬である UK 14,304 又はデクスメドミジンの投与により、野生型マウスでは顕著な平均血圧の低下及び心拍数の減少が生じた。一方、 $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体点変異マウスでは、これら薬物による降圧作用又は変時作用が認められなかったが、投与初期の昇圧作用は影響を受けなかった [55]. また、デクスメドミジン投与による徐脈又は降圧作用は、 $\alpha_{2C}$  アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは影響を受けなかった。一方、 $\alpha_{2B}$  アドレナリン受容体ノックアウトマウスでは、この非選択的  $\alpha_2$  アドレナリン受容体作動薬による徐脈作用は維持したが、投与初期の昇圧作用は消失した [56]. これらの結果は、げっ歯類におけるグアンファシンの心血管作用の薬理的メディエーターが  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体であることを示している [55].

また、グアンファシンの心血管作用は麻酔下ウサギ [57, 58, 59], 覚醒イヌ [2.6.2.4.1 項参照], 及びサル [60] も使って明らかにされている。ウサギでは、低用量のグアンファシンは心拍出量に変化を与えることなく平均血圧を低下及び心拍数を減少させ、広範な末梢血管拡張を誘発した [58]。中枢作用性の高血圧治療薬である 5-HT<sub>1A</sub> 作動薬とは対照的に、グアンファシンは動静脈シャント血流量を減少させることも認められた [57]。

麻酔サルにおいて、グアンファシンは用量依存的に血圧を低下させたが、これらの効果は、空間作業記憶を改善させるために必要な用量の 10 倍以上の投与量でみられた [60]。また、 $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体拮抗薬 MK912 によりこれらの影響が消失したことから、共に  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体サブタイプを介していることが示された [60]。

これらの実験成績は、グアンファシンが、心拍数減少を伴うかは明白ではないが、末梢血管抵抗を減弱させて収縮期及び拡張期血圧を下げることにより、明らかな降圧作用を有していることを示している。これらグアンファシンの作用は、主に中枢性  $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介しており、また前シナプス  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体による交感神経ニューロンからのノルアドレナリン遊離抑制も一部寄与している。ヒトの橋/延髄において、主な  $\alpha_2$  アドレナリン受容体サブタイプは  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体であり、 $\alpha_{2C}$  アドレナリン受容体も少し存在しているが、 $\alpha_{2B}$  アドレナリン受容体は存在していない [61, 62, 63, 64]。  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体は前シナプス受容体として、ヒトの伏在静脈 [65] 及び大動脈 [61] にも存在しているが、心臓 [61, 63] には存在していない。これらの所見は、グアンファシンのヒトにおける降圧作用を裏付けるものであり、臨床所見でも特性が明らかになっている。したがって、グアンファシンを ADHD 治療薬に用いた場合、低血圧や徐脈の副作用を生じる可能性がある。

#### 2.4.2.2.2.3 代謝に及ぼす影響

動物実験において、グアンファシンと摂餌量、体重増加及び餌料転換効率の減少との関連性が示されている [66, 67, 68]。また、グアンファシンはげっ歯類において体温降下作用を示したが [67]、種によって体温調節機構が大きく異なることからヒトでは関連する可能性は低い。

#### 2.4.2.2.2.4 免疫系に及ぼす影響

グアンファシン (0.001~0.05 mmol/L, 48 時間適用) は *in vitro* でマウスマクロファージのインターロイキン 12 の mRNA 発現量を濃度依存的に増加させた。このグアンファシンの作用は  $\alpha_2$  アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビン又は RX821002 にて阻害されたことから、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介することが示唆された [69]。グアンファシン塩酸塩 (0.5 及び 1 mg/kg, 腹腔内投与) がカラゲニン、ホルマリン、5-HT 及びヒスタミン誘発性ラット肢浮腫に対して抗炎症活性を示すことを報告した。このグアンファシンの抗炎症活性はヨヒンビンによって阻害されることから  $\alpha_2$  アドレナリン受容体が関与していることを示唆している。また、グアンファシン塩酸塩 (0.01 mg/kg) を脳室内に投与しても、肢におけるカラゲニンによる炎症を減少させた [35]。ウサギに 0.0005 mg/kg のリポポリサッカロイドを静脈内投与した前部ブドウ膜炎に対して、リポポリサッカロイド投与 30 及び 5 分前、並びに 30 分後に右目にグアンファシン塩酸塩 (0.5 mg) を適用した結果、リポポリサッカロイドによる房水フレアの上昇が 94%抑制された。また、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビン (1 mg/kg, 静脈内投与) の前処理により、グアンファシン塩酸塩のフレアの上昇抑制作用が阻害されることから、眼の抗炎症作用には一

部  $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介していることが示唆されている [70].

#### 2.4.2.2.2.5 その他の薬理作用

##### 2.4.2.2.2.5.1 正常ラットに対するグアンファシンの脳局所作用

小動物用の機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) の開発により, ADHD 治療薬の脳内局所作用を評価することが可能となっている. 麻酔下のラットに生理食塩水又はグアンファシン塩酸塩 (0.3 mg/kg) を腹腔内投与した場合, 観測された信号強度の主な変化は, 前頭葉部位には正の blood oxygenation level dependent (BOLD) 効果及び大脳基底核を構成する尾状核被殻における負の BOLD 効果が認められた [2.6.2.3.7 項参照]. グアンファシン塩酸塩は, 前頭葉の活動を活性化するのに対して, 尾状核の活動を減弱させた. ADHD で障害が生じていることが知られている前頭葉部位及び大脳基底核において [71], ラットでも神経活動の変化が認められることから, ヒトに対するグアンファシンの治療効果を説明し得る可能性がある.

##### 2.4.2.2.2.5.2 その他の作用

ラット臍臓切片において, *in vitro* でグアンファシン塩酸塩 (0.1~50  $\mu\text{mol/L}$ ) を適用させても, 基礎及び電氣的刺激によるアミラーゼ分泌に影響は認められなかった [72]. Yanagihara らはウシ培養副腎髄質細胞において, グアンファシン塩酸塩 (0.05 mmol/L) は, カルバコール刺激による [ $^{14}\text{C}$ ]-チロシンから [ $^{14}\text{C}$ ]-カテコールアミンの生成を阻害することを示した. しかし,  $\alpha_1$  アドレナリン受容体作動薬のフェニレフリン (0.1 mmol/L) 又はノルフェネフリン (0.1 mmol/L) では生成に影響を及ぼさなかったことから, この反応は  $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介していることが示唆された. また, カルバコール刺激によるチロシンヒドロキシラーゼ活性の上昇がグアンファシン塩酸塩によって抑制されることから, グアンファシン塩酸塩はチロシンヒドロキシラーゼ活性を抑制することにより, カルバコール刺激による [ $^{14}\text{C}$ ]-カテコールアミン生成を阻害することが示唆されている [73].

麻酔下の SH ラットにおいてグアンファシン塩酸塩 (0.03~1 mg/kg, 静脈内投与) の副腎髄質機能に及ぼす影響を検討した結果, 副腎の神経活動の低下 (50%有効用量は 0.3 mg/kg) 及びカテコールアミン分泌速度が低下 (前処理の 20%以下) した. また, グアンファシン塩酸塩 (0.3 mg/kg, 静脈内投与) は, 副腎血漿流量も前処理レベルの 60%以下に減少させた [74]. 同様に, クロニジン塩酸塩 (0.003, 0.01, 0.03 及び 0.1 mg/kg) を静脈内投与した場合においても, 投与直後から用量依存的に神経活性を低下させ, 50%有効用量は 0.03 mg/kg であった. また, クロニジン塩酸塩も 0.03 mg/kg の用量でカテコールアミン分泌速度を低下させたが, その程度はグアンファシン塩酸塩 (0.3 mg/kg) の投与時とほぼ同程度であった. したがって, クロニジン塩酸塩の方が, グアンファシン塩酸塩よりも副腎機能に及ぼす影響が強いことが示唆された. ヒト副腎には,  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体が分布しているが, 同じく  $\alpha_{2B}$  [61] 及び  $\alpha_{2C}$  [61, 63] アドレナリン受容体も分布しており, これらの結果はグアンファシンが臨床において低血圧を誘発する可能性を示唆している.

#### 2.4.2.3 安全性薬理試験

##### 2.4.2.3.1 中枢神経系に及ぼす影響

グアンファシンの中枢神経系に及ぼす影響については, 安全性薬理コアバッテリーとして独



立した試験では実施されていないが、幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 GLP 試験 [評価資料 4.2.3.5-01] において、一般症状及び神経行動学的機能 (縮瞳反応, 視覚性置き直し反応, 驚愕反応, 自発運動量, Morris 水迷路による学習記憶及びロータロッドによる神経筋機能) の評価を行った [2.6.6.6.5.2 項参照]. 本試験では, CrI:CD (SD) IGS BR ラット (雌雄各 18 例/群) を用いて, グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群: 水), 0.3, 1, 2 (雄) 及び 3 (雌) mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した. その結果, 一般症状観察においては, 1 及び 2 mg/kg/日投与群の雄及び 1 及び 3 mg/kg/日投与群の雌で, 投与 4 又は 5 週目以降の投与後に流涎がみられた例が散発したのみで, その他特記すべき一般症状変化は認められなかった. 縮瞳反応, 視覚性置き直し反応, 驚愕反応及び Morris 水迷路による学習記憶の評価においては, いずれの投与群も影響を及ぼさなかった. 自発運動量については, 雄では影響は認められなかったが, 3 mg/kg/日投与群の雌において, 対照群に比べて有意な増加が観察された. 以上の成績から, 7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験では, 2 (雄) 及び 3 (雌) mg/kg/日の用量まで, 中枢神経系への影響を示唆する明らかな所見は観察されないと判断した. 一方, 投与期間を延長し, CrI:CD (SD) ラット (雌雄各 12 例/群) に 0 (対照群: 水投与), 0.3, 1 及び 3 mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 97 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した幼若ラット GLP 試験 [評価資料 4.2.3.5-02] では, 80 日齢以降, 3 mg/kg/日投与群に, 投与後の不動立位状態, 活動性低下及びふらつき/異常歩行など, 中枢神経系へ影響を示唆する所見が認められた [2.6.6.6.5.3 項参照].

また, グアンファシン塩酸塩の成獣ラットにおける 5 週間反復経口投与毒性試験 [1, 75] では, グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群: 蒸留水投与), 0.3, 1, 3, 10 及び 30 mg/kg/日の投与量で Jcl:SD ラット (雌雄各 12 例/群) に 1 日 1 回 (週 6 日) 5 週間反復強制経口投与したところ, 10 mg/kg/日以上投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上投与群の雌に呼吸抑制, 自発運動減少, 立毛, 散瞳, 眼球突出, 流涎, 反射運動亢進及び腹部弛緩等がみられた [2.6.6.3.3.1 項参照]. さらに, 成獣ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験 [1, 76] では, グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群: 蒸留水投与), 0.1, 0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg/日の投与量で Jcl:SD ラット (雌雄各 20 例/群) に 1 日 1 回 (週 6 日) 13 又は 26 週間反復強制経口投与したところ, 3 mg/kg/日以上投与群の雌雄に, 投与後間もなく強制呼吸, 軽度の立毛, 眼球突出及び散瞳がみられ, その後, 自発運動減少, 軽度の鎮静などがみられた. その他, 反射運動亢進が投与期間を通して散見された. 3 mg/kg/日以上投与群の雄及び 10 mg/kg/日投与群の雌に体重増加抑制がみられた [2.6.6.3.3.2 項参照]. グアンファシン塩酸塩のラットへの反復経口投与により, 各試験におおむね共通して自発運動減少等, 呼吸抑制, 立毛, 散瞳, 眼球突出及び反射運動亢進等の一般状態変化, 体重増加量及び摂餌量の減少が認められた. この他, 「エストリック® 0.5 mg [ ]」 [1] において, グアンファシンの一般薬理試験の一つとして, マウス, ラット及びイヌの中枢神経系に及ぼす影響について, クロニジンと比較して検討されている. 本試験の結果において, 両薬物ともラット及びイヌにおける一般症状, ヘキソバルビタール睡眠延長作用, 自発運動量, 鎮静作用及び脳波に対する作用のいずれにおいても, 中枢抑制作用が認められている. また, 一般症状においては立毛及び眼球突出などの交感神経興奮症状も観察されていた. さらに, 鎮静作用, 抗痙攣作用, 正常体温下降作用及び発熱体温下降作用も認められた. これらの影響は, いずれもグアン

ファシンの方がクロニジンより弱いことが報告されている。

#### 2.4.2.3.2 心血管系への影響

グアンファシン塩酸塩は当初、中枢作用性の高血圧治療薬として臨床開発されたため、血圧および心拍数に及ぼす  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体作動薬の作用を検証した非臨床及び臨床安全性データが数多くある。イヌの 52 週反復投与試験において QTc 間隔の延長が観察されていることから [1], QTc 延長の評価を *in vitro* 及び *in vivo* 試験で実施している。

hERG 安定発現 HEK293 細胞において、グアンファシン塩酸塩は 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で hERG チャネルの有意な抑制を示さなかった ( $\text{IC}_{50} : \geq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) [2.6.2.4.1 項参照]。覚醒イヌにおいて、グアンファシン塩酸塩 0.5 及び 1.5  $\text{mg}/\text{kg}$  を経口投与した結果、心拍数は投与後 1.5~6 時間の間、プラセボに比べて減少したが (最大で投与 2 時間後に 36 及び 62 bpm の減少)、QRS 時間、QT 間隔、QTc には生物学的に意義のある影響を及ぼさなかった [2.6.2.4.1 項参照]。2 例のイヌにおいてグアンファシン塩酸塩は既存の徐脈性不整脈を悪化させたが、心電図パターンにその他の重要な変化は観察されなかった。これらの結果はグアンファシン塩酸塩の心血管への作用は QTc 間隔の変化に関連しないことを示している。なお、血清中最高濃度 ( $C_{\text{max}}$ ) が得られると考えられる投与後 2 時間における平均血清中グアンファシン濃度は、0.5 及び 1.5  $\text{mg}/\text{kg}$  でそれぞれ 9.1 及び 36.1  $\text{ng}/\text{mL}$  であり、1.5  $\text{mg}/\text{kg}$  投与時の血清中濃度は、国内小児 ADHD 患者 (6~17 歳) における最大投与量 (0.12  $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ ) での推定最大血漿中  $C_{\text{max}}$  値である 12.9  $\text{ng}/\text{mL}$  (0.05  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) [2.7.2.3.3.1 項参照] に対して、2.8 倍の濃度であった。

#### 2.4.2.3.3 呼吸系に対する作用

マウス及びヤギにおける非臨床試験は呼吸量を増減させる相反した影響を示している [77, 78]。O'Halloran らは覚醒下のヤギを用いてグアンファシンの呼吸系に及ぼす影響を検討した [79]。雌成熟ヤギ (6 例) にグアンファシン (0.02  $\text{mg}/\text{kg}/\text{回}$ , 累積投与量で 0.14~0.18  $\text{mg}/\text{kg}$ ) を静脈内投与し、呼吸系パラメータを計測した結果、酸素分圧及び二酸化炭素分圧には影響を及ぼさなかったが、用量依存的に呼吸数の増加、1 回換気量の減少及び分時換気量の増加が認められた。この呼吸頻度の上昇は、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体拮抗薬である RX821002 (0.002~0.006  $\text{mg}/\text{kg}$ ) の静脈内投与により阻害された。したがって、グアンファシンは  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体選択性を有しており、また  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体変異マウスにおいて、呼吸への影響が消失することから、このサブタイプが呼吸系への影響に関与していることが示唆されている。

#### 2.4.2.3.4 腎臓系に及ぼす影響

放射性リガンドによる受容体結合試験及び分子生物学的研究より、腎臓に存在する  $\alpha_2$  アドレナリン受容体のサブタイプは、哺乳類の種によって幾つかの違いがあることが示唆されているが、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体の総存在量に対するサブタイプの比率は明確になっていない。ラット腎臓では  $\alpha_{2A}$  ( $\alpha_2\text{-C10}$ ) 及び  $\alpha_{2C}$  ( $\alpha_2\text{-C2}$ ) 受容体の mRNA 転写物は存在するが、 $\alpha_{2B}$  ( $\alpha_2\text{-C4}$ ) は存在しないと報告されている [80]、一方、ヒト成人腎臓に  $\alpha_{2A}$  ( $\alpha_2\text{-C10}$ ) 及び  $\alpha_{2B}$  ( $\alpha_2\text{-C4}$ ) の両方が存在することを発見した [ $\alpha_{2C}$  ( $\alpha_2\text{-C2}$ ) の存在は決定されなかった] [63]。ヒト腎臓では、これら 3 種の  $\alpha_2$  アドレナリン受容体サブタイプの mRNA が存在しており、 $\alpha_{2C}$  アドレナリン受容体が主要なサブタイプであることが報告されている [61]。mRNA 転写物の発現のみでは、その組織にたん白質も発現しているとは言えないため、遺伝子のたん白質が存在するかどうかを判別す

ることも重要である。ラット腎臓の膜及び [ $^3\text{H}$ ]-RX821002 を用いた放射性リガンド結合試験の結果では、 $\alpha_2$  受容体の割合は、 $\alpha_{2A}$  が 14%、 $\alpha_{2B}$  が 86%であった [17]。モルモット腎臓において、3 種の  $\alpha_2$  アドレナリン受容体サブタイプに同等の親和性を有する放射性リガンド [ $^3\text{H}$ ]-MK912 を用いた検討により、 $\alpha_{2B}$  アドレナリン受容体サブタイプのみ結合が認められたことから、 $\alpha_{2B}$  が主要なサブタイプであることが示された [20]。なお、放射性リガンド結合試験は、ヒト腎臓組織では行われていない。これまでの結合試験で使用されたりガンドは  $\alpha_2$  アドレナリン受容体サブタイプに対する選択性は厳密ではないため、異なる種における受容体サブタイプの相対比率を正確に求めることは困難である。また、同一の受容体が種間でアミノ酸/塩基配列 (受容体相同性) がわずかに異なるのは稀なことではなく、この違いが薬物リガンドによる受容体親和性に影響を及ぼす可能性がある。

ラットにグアンファシン 0.06~1.92 mg/kg の投与量で皮下投与すると、投与 2 時間後をピークとした投与量依存的な利尿作用が認められ、これは  $\alpha_2$  アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビン (1~8 mg/kg) の腹腔内投与により投与量依存的に阻害されることが報告されており、ラットにおいて  $\alpha_2$  アドレナリン受容体刺激は、利尿作用を引き起こすことが示唆されている [81]。腎除神経ラットを用いた試験により、グアンファシンのナトリウム利尿作用は腎臓への直接作用ではなく、交感神経の活動低下を介していることが示唆されている。同様の所見が腎臓部分摘出ラットにおいても報告されている [82]。また、部分的腎摘出ラットにグアンファシン (3 nmol/kg/min) を腎臓内持続注入すると、尿量と浸透圧クリアランスを増加し、 $\alpha_2$  アドレナリン受容体拮抗薬である RX 821002 (3 mg/kg) の静脈内投与によって阻害された。しかし、浸透圧クリアランスは  $\alpha_1/\alpha_{2B}$  アドレナリン受容体拮抗薬プラゾシン (0.15 mg/kg) の静脈内投与による前処置で変化がみられなかった [83]。これらの所見を合わせると、グアンファシンによる体液や電解質レベルの調節作用は末梢よりも中枢の  $\alpha_2$  アドレナリン受容体の寄与が大きいことが示されている。

これらの研究から導き出された結論として、グアンファシン処置においては、中枢性機序により尿量及び尿中ナトリウム排泄が増加することが考えられる。

#### 2.4.2.3.5 胃腸管系に及ぼす影響

$\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体は消化管に存在しており、胃排出、胃腸管における輸送や体液/電解質平衡を調節している [84]。ラット摘出回腸の電気刺激による収縮に対してグアンファシン塩酸塩 (0.003~3  $\mu\text{mol/L}$ ) は抑制作用を示し、その  $\text{IC}_{50}$  は 0.089  $\mu\text{mol/L}$  であった [85]。麻酔ラットにおいて、グアンファシン塩酸塩 (1 mg/kg) の静脈内投与は胃酸分泌に影響を及ぼさなかった [86]。しかし、この所見は、ラットにおいてグアンファシン (0.1 mg/kg) の静脈内投与後の最初の 50 分間は基礎的胃液分泌の増加とその後 3 時間までの抑制が持続する二相性の作用を示したとする報告とは異なっている [87]。基礎的胃液分泌に対するグアンファシンの作用は、ラットの両側迷走神経切除により持続時間が延長し、少なくとも一部で中枢性の迷走神経系が関与しており、胃酸分泌の活性化は、 $\text{H}_2$  受容体拮抗薬シメチジンにより阻害されたことから、内因性のヒスタミン分泌など、間接的にヒスタミン機序も関与している。また、グアンファシン (1 mg/kg, 腹腔内投与) は幽門部結紮及びインドメタシン (30 mg/kg, 皮下投与) による胃酸分泌を減少させた。さらに、ヨヒンビン (10 mg/kg, 腹腔内投与) の前処理によって、幽門部結紮に

よる胃酸分泌へのグアンファシンの抑制作用が阻害されたことから、この反応には  $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介する機序が示唆されている [87]。このことから、グアンファシンは患者の胃酸分泌において有害な増加を引き起こす可能性は低い。しかし、本剤の添付文書には、治療用量において胃排出や腸管運動性への直接阻害作用が関連する又は恐らく関連する消化器副作用（腹部不快感、下痢、便秘など）が記載されている。

#### 2.4.2.3.6 薬力学的薬物相互作用試験

グアンファシン塩酸塩及び *d*-アンフェタミン硫酸塩（以下、「*d*-アンフェタミン」とする）は共に ADHD の治療に処方される。そのため、両薬物の併用投与が単独投与と比較して薬効が改善されるか検討されている。ADHD モデルである SH ラットを用いた試験では、グアンファシン塩酸塩（投与量：0.25 及び 0.5 mg/kg、腹腔内投与）と *d*-アンフェタミン（投与量：0.65 及び 1.3 mg/kg、腹腔内投与）を単独及び併用投与（投与量：0.125 mg/kg グアンファシン塩酸塩+0.325 mg/kg *d*-アンフェタミン又は 0.25 mg/kg グアンファシン塩酸塩+0.65 mg/kg *d*-アンフェタミン、腹腔内投与）を実施し、多動性、注意欠如及び衝動性について評価した [2.6.2.5 項参照]。その結果、*d*-アンフェタミン高用量単独投与及び高用量の併用投与では、レバー押し反応の測定による多動性を同等に減少させ、この行動においてはグアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの相加作用が認められた。グアンファシン塩酸塩単独投与は、全運動量と運動速度を減少させたが、*d*-アンフェタミン単独投与又はグアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの併用投与は増加させた。また、両用量のグアンファシン塩酸塩単独投与では、SH ラットの衝動性及び関連する「突発的活動」が減少した。*d*-アンフェタミン（1.3 mg/kg）も測定の序盤に衝動性及び「突発的活動」を減少させた。両薬物の併用投与では、測定の終盤に衝動性が減少し、「突発的活動」が減少した。本試験において、グアンファシン塩酸塩単独投与では、SH ラットの注意欠如を改善させたが、*d*-アンフェタミン単独投与又はグアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの併用投与では、作用が認められなかった。グアンファシン塩酸塩は、SH ラットにおける ADHD に関連する全行動を総じて改善させたが、*d*-アンフェタミンは、一部の行動のみを改善させた。これらの試験成績からは、グアンファシン塩酸塩と *d*-アンフェタミンの有効量以下の併用投与により、SH ラットの ADHD 関連行動が改善されるという仮説は支持されなかった。

#### 2.4.3 薬物動態試験

非臨床薬物動態試験は、グアンファシンが高血圧治療薬として販売されていた当時に実施されており、現行の規制要件が運用される前であった。Shire 社が実施した追加試験の目的は、さらなる薬物動態及び代謝データを提供し、毒性評価で使用した動物種における全身的曝露を調べ、ADHD 患者における薬物相互作用の可能性を検討するためであった。

グアンファシンの薬物動態学的特性については以下に概括し、詳細は薬物動態試験の概要文 [モジュール 2.6.4 参照] に記載する。

##### 2.4.3.1 分析方法

グアンファシンの濃度測定は、液-液抽出後に液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) を用いて、バリデートされた分析法によって実施された [2.6.4.2.2.1 項参照]。

### 2.4.3.2 吸収

雄性ラットに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与した。吸収は速やかで、血液及び血漿中放射能濃度は、投与後 0.5 時間で  $C_{\text{max}}$  [それぞれ 187 及び 331 ng eq. of guanfacine/g (以下、「ng eq./g」とする)] に達した。また、血液及び血漿中放射能濃度の消失に差は認められず (終末相消失半減期は、それぞれ 25.1 及び 19.0 時間)、放射能の残留性も低いことが示された [2.6.4.3.1 項参照]。雄性ラットに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 2 mg/kg/日の投与量で 2 週間反復経口投与し、単回投与後、1 週間投与後及び 2 週間投与後の血漿中放射能濃度を測定した結果、反復投与では単回投与後に比べ最大で 2 倍程度高かったが、顕著な差ではなかった [2.6.4.3.2 項参照] [88]。

雄性イヌに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与した。吸収は比較的速やかで、血液及び血漿中放射能濃度は、投与後 1~2 時間で  $C_{\text{max}}$  (それぞれ 389 及び 704 ng eq./g) に達した。また、血液及び血漿中放射能濃度の消失に差は認められず (終末相消失半減期は、それぞれ 35.9 及び 39.7 時間)、放射能の残留性も低いことが示された [2.6.4.3.3 項参照]。

雄性サルに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与した。吸収は比較的速やかで、血液及び血漿中放射能濃度は、投与後 2 時間で  $C_{\text{max}}$  (それぞれ 807 及び 1400 ng eq./g) に達した。また、血液及び血漿中放射能濃度の消失に差は認められず、放射能の残留性も低いことが示された [2.6.4.3.4 項参照]。

### 2.4.3.3 分布

雄性ラットに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 2 mg/kg/日の投与量で 2 週間反復経口投与し、単回投与後、1 週間投与後及び 2 週間投与後の放射能の組織移行性を検討した。放射能はさまざまな組織に広く分布し、ほとんどの組織中放射能は、投与後 2 時間で  $C_{\text{max}}$  に達した。単回投与後 2 時間で、高い放射能濃度を示したのは、腎臓及び肝臓 (それぞれ 2.165 及び 2.048  $\mu\text{g/g}$ ) であり、脳、白色脂肪、睾丸及び筋肉は特に低濃度であった。反復投与による放射能濃度の上昇が認められたが、多くの組織において 1 週間投与と 2 週間投与の間に顕著な差は認められなかった。いずれの組織においても放射能の長期的な残留はなく、組織特異的な蓄積もみられなかった [2.6.4.4.1 項参照] [88]。

妊娠ラット (妊娠 17 日) に  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 2 mg/kg の投与量で単回経口投与し、胎盤通過性について検討した。投与後 0.5~1 時間で胎盤、胎児を含むほとんどの組織中放射能は  $C_{\text{max}}$  に達したことから、放射能は速やかに胎盤を通過することが示された。胎児中の放射能濃度比は、母動物の血液中放射能濃度に対して、いずれの測定時点でも 0.09~0.18 の範囲であった。母動物の肝臓の放射能濃度が最も高く、羊水の放射能濃度が最も低かった。採取したすべての組織における放射能の消失は、母動物の血液の消失と同様であった [2.6.4.4.2 項参照] [89]。

分娩後の授乳ラットに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 5 mg/kg の投与量で単回経口投与した結果、放射能は投与後速やかに乳汁へ移行するものの、放射能濃度としては血漿よりも低く、蓄積性も認められなかった [2.6.4.4.3 項参照] [1]。

健康成人におけるグアンファシンの血漿たん白結合率は経口投与及び静脈内投与ともに約72%であり、濃度依存性や投与経路による差は認められなかった [2.6.4.4.5 項参照] [90, 91]。また、ラット、イヌ及びヒトの *in vitro* 血漿たん白結合率を検討した結果、それぞれ71%、77%及び64%であった [2.6.4.4.4 項参照] [1]。

#### 2.4.3.4 代謝 (種間比較)

##### 2.4.3.4.1 *In vitro* 代謝

発現 CYP 酵素及びヒト肝ミクロソーム (典型的な CYP 阻害剤による阻害評価) を用いて、グアンファシンの酸化的代謝に関する責任代謝酵素を検討した。発現 CYP 酵素を用いた結果、CYP3A4 発現酵素のみでグアンファシンが代謝された。また、ヒト肝ミクロソームにおいて、典型的な CYP 阻害剤を用いた阻害評価の結果、diethyldithiocarbamate (CYP2E1 阻害剤) 及びケトコナゾール (CYP3A4/5 阻害剤) で阻害が認められた。以上の結果及び diethyldithiocarbamate は高濃度で CYP3A4 も阻害することが知られている [92] ことから、グアンファシンは主に CYP3A4/5 によって代謝されると考えられる [2.6.4.5.6 項参照]。

ウサギ、ブタ及びヒト肝ミクロソームを用いてグアンファシンの *in vitro* での *N*-水酸化について検討した。ウサギ肝ミクロソームでは *N*-水酸化グアンファシンが生成されたが、ブタ又はヒト肝ミクロソームでは認められなかった。還元型  $\beta$ -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH) 非存在下では、ウサギにおいても *N*-水酸化体は認められなかった。この反応には NADPH が必要であり、代謝酵素による酸化反応であると考えられる [2.6.4.5.7 項参照] [93]。

##### 2.4.3.4.2 *In vivo* 代謝

[<sup>14</sup>C]-グアンファシンの *in vivo* 代謝はラット、イヌ及びサルで検討した。

###### 2.4.3.4.2.1 ラット

雄性ラットに [<sup>14</sup>C]-グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与し、血漿、尿及び糞中代謝物を検索した [2.6.4.5.1 項参照]。投与後 0.5 及び 4 時間における血漿中放射能の 4% ~12% が未変化体であり、代謝物としてヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体及びジヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体が検出され、これらの代謝物は投与後 0.5 時間において血漿中放射能のそれぞれ 34% 及び 13% であった。

尿中に排泄された未変化体は、投与後 24 時間までで投与量の 2% であった。主な代謝物として、ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体 (投与量の 5%) が検出され、加えて、ヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体、グアンファシンの *N*-アセチルシステイン、3-ヒドロキシグアンファシンが検出されたが、投与量の 2% ~4% であった。

糞中に排泄された未変化体は、投与後 48 時間までで投与量の 6% であった。代謝物として、グアンファシンのジヒドロジオール、3-ヒドロキシグアンファシンが検出され、それぞれ投与量の 3% 及び 2% であった。

妊娠ラット (妊娠 17 日) に [<sup>14</sup>C]-グアンファシン塩酸塩を 2 mg/kg の投与量で単回経口投与し、胎児中の代謝物を検索した [2.6.4.5.2 項参照] [89]。投与後 1 時間において、胎児中放射能の約 64% が未変化体であり、代謝物として、3-ヒドロキシグアンファシン、4-ヒドロキシグアンファシン、4-ヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体が検出された (それぞれ 5% ~

6%).

#### 2.4.3.4.2.2 イヌ

雄性イヌに [<sup>14</sup>C]-グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与し、血漿、尿及び糞中代謝物を検索した [2.6.4.5.3 項参照]. 投与後 1 及び 4 時間において血漿中放射能の 7%~8% が未変化体であり、主な代謝物として、グアンファシンのジヒドロジオール及びヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体が検出され、これらの代謝物は血漿中放射能のそれぞれ 22%~36% 及び 24%~33% であった。

尿中に排泄された未変化体は、投与後 24 時間までで投与量の 32% であった。主な代謝物として、グアンファシンのジヒドロジオール (投与量の 17%) が検出された。

糞中に排泄された未変化体は、投与後 24 時間までで投与量の 0.1% であった。代謝物として、ジヒドロキシグアンファシン及びグアンファシンのジヒドロジオールが検出されたが、いずれも投与量の 0.5% 以下であった。

#### 2.4.3.4.2.3 サル

雄性サルに [<sup>14</sup>C]-グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与し、血漿、尿及び糞中代謝物を検索した [2.6.4.5.4 項参照]. 血漿中には 18 種の放射性成分が検出され、投与後 0.5 ~8 時間において未変化体は血漿中放射能の 4%~10% であった。主な代謝物として、ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体が検出され、血漿中放射能の 64%~70% であった。加えて、グアンファシン-2H 体及びヒドロキシグアンファシンはそれぞれ血漿中放射能の 4%~9% 及び 4%~7% であった。

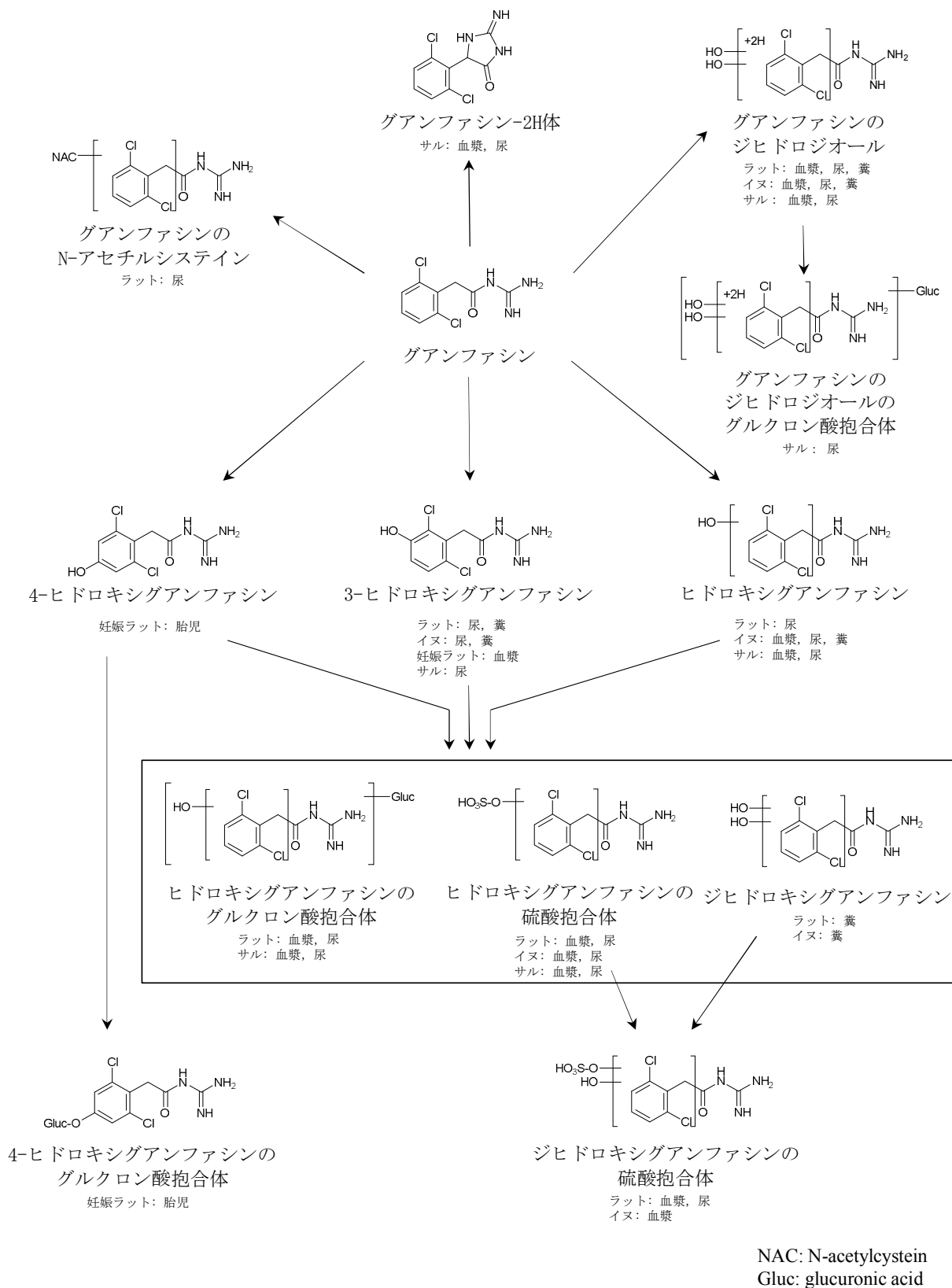
尿中には 37 種の放射性成分が検出され、未変化体は、投与後 48 時間までで投与量の 3% であった。主な代謝物としてヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体 (投与量の 13%), 3-ヒドロキシグアンファシン (投与量の 9%) ヒドロキシグアンファシン (投与量の 8%) 及びグアンファシンのジヒドロジオール (投与量の 7%) が検出された。

糞中には 26 種の放射性成分が検出されたが、糞中排泄はマイナーな消失経路 (投与後 72 時間までで投与量の約 8%) であったことから、これらの構造情報は LC/MS/MS によって分析されなかった。4 種の代謝物が糞中放射能の 10% 以上であり、3 種の代謝物が 5%~10% であった。

#### 2.4.3.4.3 推定代謝経路

上述した結果に基づき推定したグアンファシンの代謝経路を図 2.4.3-1 に示す [2.6.4.5.5 項参照].

図 2.4.3-1 グアンファシンの推定代謝経路





### 2.4.3.5 排泄

#### 2.4.3.5.1 ラット

雄性ラットに [ $^{14}\text{C}$ ]-グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与した。投与後 72 時間までの放射能の総回収率は 95.5%であり、尿中が 36.6%、糞中が 56.1%であった。なお、投与後 24 時間までに尿中及び糞中に投与量の 88.6%が回収された [2.6.4.6.1 項参照]。胆管カニュレーションを施したラットに [ $^{14}\text{C}$ ]-グアンファシン塩酸塩を 1.5 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与後 72 時間までの尿及び胆汁中に、それぞれ投与放射能の 20.3%及び 65.5%が排泄された。また、尿及び胆汁中放射能排泄率の和から求めたグアンファシンの経口吸収率は 86%であった。これらの結果から、ラットでは吸収されたグアンファシンの主排泄経路は尿及び、胆汁を介した糞であることが明らかとなった。さらに、腸肝循環率は投与量の 25%~30%と算出された [2.6.4.6.2 項参照] [1]。

#### 2.4.3.5.2 イヌ

雄性イヌに [ $^{14}\text{C}$ ]-グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与した。投与後 72 時間までの放射能の総回収率は 93.3%であり、尿中が 77.1%、糞中が 3.30%であった。なお、投与後 24 時間までに投与量の 78.3%が尿中及び糞中に回収された [2.6.4.6.3 項参照]。

#### 2.4.3.5.3 サル

雄性サルに [ $^{14}\text{C}$ ]-グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で単回経口投与した。投与後 72 時間までの放射能の総回収率は 80.3%であり、尿中が 61.1%、糞中が 6.4%であった。なお、投与後 24 時間までに投与量の 56.3%が尿中及び糞中に回収された [2.6.4.6.4 項参照]。

### 2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

グアンファシン塩酸塩 (濃度 0.035~3.5  $\mu\text{mol/L}$ ) 及びヒト肝ミクロソームを用いて、グアンファシンの CYP [CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4/5 (testosterone 6 $\beta$ -hydroxylase 及び midazolam 1'-hydroxylase)] 阻害作用について検討した結果、いずれの分子種においても最大濃度 (3.5  $\mu\text{mol/L}$ ) において残存活性は 94%以上であり、可逆的阻害作用は認められなかった。また、グアンファシン (濃度 : 3.5  $\mu\text{mol/L}$ ) の存在下 15 分プレインキュベーションの有無による影響 (時間依存的阻害) を、各 CYP 分子種に対する特異的基質を用いて、ヒト肝ミクロソームにより評価した結果、いずれの分子種においても残存活性は 84%以上であり、時間依存的阻害作用は認められなかった。さらに、グアンファシン塩酸塩及びヒト肝ミクロソームを用いて、グアンファシンの CYP2C8 に対する阻害作用について、可逆的阻害 (濃度 : 0.04~10  $\mu\text{mol/L}$ ) 及び時間依存的阻害 (濃度 : 3.5  $\mu\text{mol/L}$ , 15 及び 30 分プレインキュベーションの有無による影響) を評価した結果、グアンファシンは CYP2C8 に対して、最大濃度でもプレインキュベーション後に残存活性は 69%以上であり、可逆的阻害及び時間依存的阻害作用は認められなかった。したがって、グアンファシンはすべての分子種 (CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4/5) に対して、可逆的及び不可逆的な阻害作用を示さないと考えられる [2.6.4.7.1 項参照]。

グアンファシン塩酸塩 (濃度 : 0.04, 0.4 及び 4  $\mu\text{mol/L}$ ) 及びヒト肝細胞を用いて、CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 及び CYP3A4/5 のマーカー活性に対するグアンファシンの誘導作

用を検討した結果、CYP1A2, CYP2B6 あるいは CYP3A4/5 のマーカー活性の誘導作用を示さず、CYP2C9 及び CYP2C19 については 1 ドナーでわずかに活性が上昇するのみであった。なお、国内小児 ADHD 患者 (6~17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg/日) での推定血漿中  $C_{max}$  値である 12.9 ng/mL (0.05  $\mu$ mol/L) [2.7.2.3.3.1 項参照] は、誘導作用がみられた 4  $\mu$ mol/L とは約 80 倍の乖離があり、推定血漿  $C_{max}$  付近ではいずれの CYP 分子種に対しても誘導作用は認められなかった [2.6.4.7.2 項参照]。

グアンファシン塩酸塩及び 3-ヒドロキシグアンファシン塩酸塩 (濃度 : 0.04~10  $\mu$ mol/L) 並びにヒト肝ミクロソームを用いて、ヒトの UGT 分子種 (UGT1A1, UGT1A4, UGT1A6, UGT1A9 及び UGT2B7) に対するグアンファシン及び 3-ヒドロキシグアンファシンの可逆的阻害作用を検討した結果、両化合物ともにいずれの分子種においても最大濃度 (10  $\mu$ mol/L) までで残存活性は 87%以上であり、可逆的阻害作用は認められなかった [2.6.4.7.1 項参照]。

以上の結果から、臨床においてグアンファシンがこれらの CYP 酵素の阻害剤又は誘導剤や UGT 酵素の阻害剤となる可能性は低いと考えられる。

排出トランスポーター (P-gp 及び BCRP) については、P-gp 及び BCRP を発現している Caco-2 細胞並びにその株化細胞である C2BBel 細胞、BCRP 発現 MDCK 細胞及び親細胞を用いた経細胞輸送実験により、グアンファシンの基質評価を検討した。また、肝取り込みトランスポーター (OATP1B1, OATP1B3 及び OCT1)、腎取り込みトランスポーター (OAT1, OAT3 及び OCT2) 又は腎排出トランスポーター (MATE1 及び MATE2-K) については、ヒトトランスポーター発現 HEK293 細胞及び親細胞を用いた細胞内取り込み実験により、グアンファシンの基質評価を検討した。グアンファシン塩酸塩 (濃度 : 4, 40 及び 400  $\mu$ mol/L) の Caco-2 細胞の基底側から表層側へのグアンファシンのみかけの膜透過係数 ( $P_{app}$ ) は、表層側から基底側への  $P_{app}$  と同程度 ( $P_{app}$  比 : 0.92~1.5) であったため、グアンファシンは P-gp の基質ではないことが示された。また、グアンファシン塩酸塩 (濃度 : 0.65, 6.5 及び 65  $\mu$ mol/L) の C2BBel 細胞、BCRP 発現細胞及び親細胞の基底側から表層側へのグアンファシンの  $P_{app}$  は、表層側から基底側への  $P_{app}$  と同程度 (efflux ratio : 0.859~1.50) であったため、グアンファシンは BCRP の基質ではないことが示された。グアンファシン塩酸塩 (濃度 : 0.2, 2 及び 20  $\mu$ mol/L) の OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3 及び MATE2-K 発現細胞でのグアンファシンの細胞内取り込み量は親細胞とほぼ同程度であったことから、グアンファシンは OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3 及び MATE2-K の基質ではないことが示された。また、MATE1 発現細胞でのグアンファシンの細胞内取り込み量は親細胞に比べて高い傾向が認められたが、グアンファシンは MATE1 の基質ではないことが示された。一方、OCT1 及び OCT2 発現細胞でのグアンファシン塩酸塩 (濃度 : 0.2, 2 及び 20  $\mu$ mol/L) の細胞内取り込み量は親細胞に比べて高く、レパグリニド (OCT1 阻害剤) 及びイミプラミン (OCT2 阻害剤) によるグアンファシンの細胞内取り込み量の阻害が認められたことから OCT1 及び OCT2 の基質であることが示された。以上の結果から、グアンファシンは、P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, MATE1 及び MATE2-K の基質ではなく、臨床使用においてこれらのトランスポーターの阻害薬を併用しても、グアンファシンの体内動態に影響しないと考えられる。一方、グアンファシンは OCT1 及び OCT2 の基質となることが示された。しかしながら、OCT1 及び OCT2 に関しては、現時点で臨床使用において特異的な阻害薬として知

られるものではなく、グアンファシンの体内動態に影響する可能性は低いと考えられる [2.6.4.7.3 項参照].

P-gp及びBCRPについては、Caco-2細胞、C2BBel細胞及びBCRP発現MDCK細胞で、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1及びMATE2-Kについては、ヒトトランスポーター発現HEK293細胞で、BSEP及びMRP2については、BSEP及びMRP2発現細胞膜ベシクルを用いて、グアンファシンの阻害作用を検討した。グアンファシン塩酸塩の存在下において、各種トランスポーター (P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, MATE2-K, BSEP 及び MRP2) をそれぞれの典型的基質とインキュベートした結果、MATE1に対しては、濃度依存的な阻害作用を示し、そのIC<sub>50</sub>値は0.168 µmol/L (41.3 ng/mL)であった。本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) [94] を基に、本薬の臨床投与量6 mg (0.12 mg/kg/日で体重50 kg以上の小児における最大投与量) 及び推定血漿中C<sub>max</sub> 12.9 ng/mL (0.0524 µmol/L) から計算した各種トランスポーターに対する阻害剤判断基準値とIC<sub>50</sub>値を比較した結果、グアンファシンの臨床使用において、P-gp, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, MATE2-K, BSEP 及び MRP2の阻害剤とはならず、各トランスポーターに対する基質薬の体内動態に影響する可能性は低いと考えられる [2.4.5.2 項参照]。BCRPに対する阻害評価については、臨床投与量4 mgでの0.1×[最大消化管内濃度]である6.5 µmol/Lで顕著なBCRP阻害作用は認められていないため、グアンファシンの臨床使用においてBCRPの阻害剤とはならず、基質薬の体内動態に影響する可能性は低いと考えられる [2.6.4.7.4 項参照]。

#### 2.4.3.7 その他の薬物動態試験

エステルリックの開発当時、グアンファシンのTK評価は実施されなかった [1]。したがって、Shire社は、がん原性試験及びイヌ52週間反復投与毒性試験と同様の投与経路及び投与量で14日間反復投与によるTK評価を実施した。なお、2.4.3.7項では、グアンファシン塩酸塩の投与量は、グアンファシン塩酸塩として表記した。

マウスに1又は3 mg/kg/日の投与量で14日間混餌投与し、Day 1及びDay 14 (3 mg/kg/日の雄のみDay 10)のTK評価及び10 mg/kgの投与量で24時間混餌投与後 (Day 1)のTK評価を実施した。雄のDay 1の1及び3 mg/kg/日において、血漿中曝露 [C<sub>max</sub>及び時間0から24時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC<sub>0-24hr</sub>)] は投与量に依存して増大したが、10 mg/kgにおけるC<sub>max</sub>及びAUC<sub>0-24hr</sub>は3 mg/kg/日の値とほぼ同様であった。Day 10/14における血漿中曝露は、Day 1に比べて2倍程度増大した。また、血漿中曝露に顕著な性差は認められなかった [2.6.4.8.1 項参照]。

ラットに0.5, 1.5又は5 mg/kg/日の投与量で14日間混餌投与し、Day 1及びDay 14のTK評価を実施した。0.5及び1.5 mg/kg/日における血漿中グアンファシン濃度は、ほとんどすべての測定時点で定量下限未満であり、用量相関性を考察できなかった。一方、5 mg/kg/日においては定量可能であり、血漿中曝露はDay 1に比べDay 14で約2~3倍高く、雌においてより顕著 (約3倍) であった [2.6.4.8.2 項参照]。

イヌに0.3, 1又は3 mg/kg/日の投与量で14日間反復経口投与し、Day 1及びDay 14のTK評価を実施した。グアンファシンは単回及び反復経口投与後、速やかに吸収され、その後、速や

かに消失した (消失半減期: 1~4 時間). グアンファシンの血漿中曝露は, AUC は 3 mg/kg/日 で用量比以上の増加傾向が認められた. また, 雄の 3 mg/kg/日において Day 1 に比べ Day 14 で  $C_{max}$  及び AUC が投与量比を上回って顕著に増加した [2.6.4.8.3 項参照].

#### 2.4.4 毒性試験

グアンファシン塩酸塩の毒性学的データは本項で要約し, より詳細には毒性試験概要文及び毒性試験概要表 [モジュール 2.6.6 及び 2.6.7] で記載する.

グアンファシン塩酸塩の即放性製剤は青少年及び成人の高血圧治療薬として本邦で過去に承認されており, 非臨床安全性はその際に適切に評価されている. しかし, 血漿中曝露評価が標準化される以前に実施された試験であることから TK 評価を実施していなかった. したがって, がん原性試験 [2.6.6.5 項参照] 及びイヌ 52 週間毒性試験 [2.6.6.3.4.2 項参照] で使用された投与量でのグアンファシンの血漿中曝露データを得るために, Shire 社はマウス, ラット及びイヌにおける 14 日間 TK 試験 [2.6.4.8.1, 2.6.4.8.2 及び 2.6.4.8.3 項参照] を実施した. また, Shire 社は, 追加のラット毒性試験として, MTD 試験, 5-HT<sub>2B</sub> 受容体作動性の副次的薬理作用と関連する可能性のある心臓弁膜症誘発リスクを評価する試験, 並びに小児患者集団への使用に際してのリスク評価としての幼若ラット毒性試験を実施した. さらに, グアンファシン塩酸塩に含まれる不純物 I [ (不純物 A\*) ], II (不純物 B\*) 及び III (不純物 C\*) の毒性を評価するために, *in vitro* 遺伝毒性試験及びラット 4 週間混餌投与毒性試験を実施した. 一方, 公表論文もレビューし, ラット反復投与毒性試験並びにマウス及びウサギ生殖発生毒性試験に関する本邦の研究グループによって発表された一連の論文も評価した [75, 76, 95, 96, 97, 98, 99, 100].

##### 2.4.4.1 単回投与毒性

本剤の申請に際して, 追加の単回投与毒性試験は実施していない. マウス及びラットにおける単回投与毒性に関する情報は, 中島らにより報告されており, 「エストリック® 0.5 mg [ ]」に引用記載されている [1, 75]. この非 GLP 試験において, 経口, 静脈内及び皮下投与による 50%致死量は, 雄ラットでそれぞれ 610, 5.8 及び 230 mg/kg, 雌ラットでそれぞれ 210, 6.1 及び 114 mg/kg, 雄マウスでそれぞれ 16, 25 及び 46 mg/kg, 雌マウスでそれぞれ 50, 52 及び 55 mg/kg であった. 致死量近傍で最もよくみられる症状は, 呼吸抑制, 自発運動減少, 立毛, 運動失調, 眼球突出, 散瞳及び角膜混濁であった [2.6.6.2 項参照].

##### 2.4.4.2 反復投与毒性

本剤の申請に際して, MTD 試験, 心臓弁膜症誘発リスクを評価するための試験及び製剤中に含まれる 3 種の不純物 (不純物 A\*, 不純物 B\* 及び不純物 C\*) の毒性を評価するためのラット 4 週間混餌投与毒性試験を実施した.

雄性ラットにグアンファシン塩酸塩を 7.5 mg/kg/日又は 15 mg/kg/日 [(7.5 mg/kg 1 日 2 回投与 (BID))] の投与量でそれぞれ 5 日間まで連続, 又は 15 mg/kg/日 (7.5 mg/kg BID) を 4 日間投与後 20 mg/kg/日 (10 mg/kg BID) を 6 日間投与して MTD を検討した結果, すべての投与量で刺激性

を示唆する消化管障害が認められた [2.6.6.3.1 項参照].

ラットに不純物を含まないグアンファシン塩酸塩又は不純物を含むグアンファシン塩酸塩 (10 mg/kg/日) を 4 週間混餌投与したときの毒性を比較したところ、いずれのグアンファシン塩酸塩処置群も同様の結果が得られた。投与期間終了時に摂餌量及び体重増加量の減少、血液学的検査、血液化学的検査及び尿検査のいくつかのパラメータの変動、器官重量の変化が認められ、心臓、脾臓、腸間膜リンパ節、顎下腺及び耳下腺に病理組織学的所見がみられたが、これらの変化は 2 週間の休薬により回復又は回復傾向を示した [2.6.6.8.3.1 項参照].

ラットにグアンファシン塩酸塩を 0.3, 1, 3, 10 及び 30 mg/kg/日の投与量で 5 週間又は 0.1, 0.3, 1, 3 及び 10 mg/kg/日の投与量で 26 週間経口投与した中島らによる文献報告がある [75, 76]. 5 週間経口投与の 30 mg/kg/日群の雄 1 例で肝臓の巣状壊死が、雌 1 例で腎皮質に限局性壊死が観察された [2.6.6.3.3.1 項参照] [75]. また、26 週間経口投与の 10 mg/kg/日投与群で腎臓に影響がみられた [2.6.6.3.3.2 項参照] [76]; 雄 2 例及び雌 3 例の腎皮質で広範な凝固壊死巣が認められ、その周辺部には肉芽による分画巣と尿細管上皮再生がみられた。また、同群の雌雄に尿細管拡張及び間質への小円形細胞の小集簇巣が他の群よりも多く認められた。腎皮質の壊死を除き、これらの変化は休薬により回復傾向が認められた。

イヌにグアンファシン塩酸塩を 1, 3 及び 5/10 mg/kg/日の投与量で 13 週間混餌投与した試験 [2.6.6.3.4.1 項参照] 並びに 0.3, 1 及び 3 mg/kg/日の投与量で 52 週間経口投与した試験 [2.6.6.3.4.2 項参照] が実施された [1]. これらの試験において、鎮静、嗜眠、流涎、立毛又は運動失調等の一般状態所見、体重増加抑制又は体重減少、摂餌量の減少、及び血糖値の変動等がみられ、52 週間経口投与試験では、1 mg/kg/日以上投与群で血液学的検査において赤血球系パラメータの減少、血液化学的検査において ALT の高値、ナトリウム及びカリウムの減少がみられたが、病理組織学的検査では関連する異常所見は認められず、いずれの所見も休薬期間中に回復又は回復傾向を示した。心電図検査において鋸歯状 T 波の頻度及び程度の増加と QT 間隔の延長が認められた。

毒性試験で認められた主な所見は、グアンファシンの薬理作用である  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体アゴニスト作用に起因すると考えられる。

グアンファシンは弱い 5-HT<sub>2B</sub> 受容体アゴニスト活性を有しているが、この受容体に対する結合親和性 (IC<sub>50</sub>: 350 nmol/L) は、薬効標的の  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体に対する結合親和性 (IC<sub>50</sub>: < 3.0 nmol/L) より 100 倍以上低いことから、臨床用量において問題にはならないと考えられる。しかし、5-HT<sub>2B</sub> 受容体アゴニスト活性は心臓弁膜症誘発に関連するリスクがあることから、ヒトでの心臓弁膜症原因物質 (セロトニン [24], ペルゴリド [25], フェンフルラミン/フェンテルミン [26, 27]) を用いた心臓弁膜症誘発リスク評価の動物モデルを開発するとともに [2.6.6.3.5.1, 2.6.6.3.5.2 及び 2.6.6.3.5.3 項参照], グアンファシン塩酸塩 (3 及び 10 mg/kg/日) の影響を評価した [2.6.6.3.5.4 項参照]. 心臓弁膜の病理組織学的検査のため、弁膜を含む一定断面の標本を確実に作製し、最適な組織染色を施した。また、公表論文と Shire 社が実施した試験の所見について毒性病理学専門家がレビューした。その結果、セロトニン、ペルゴリド、フェンフルラミン/フェンテルミン併用又はグアンファシン塩酸塩投与群の僧帽弁と大動脈弁の組織像は対照群と差がないことが示された。このため、このような試験は、セロトニン、フェンフ

ルラミン/フェンテルミン又は類薬で治療された患者で報告された弁の変化を生じさせる薬物の可能性を確実に評価することはできなかった [2.6.6.3.5.5 項参照]. 一方, 徐放製剤として, 2009年の上市以来海外において臨床使用されており, 約 100 万人年の市販後臨床データ解析から, グアンファシン塩酸塩を処方された患者において, 心臓弁膜症及び合併線維症の発現や徴候は認められていない.

#### 2.4.4.3 遺伝毒性

##### 2.4.4.3.1 *In vitro*

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と不純物 (不純物A\*, 不純物B\*及び不純物C\*) をそれぞれ 0.5%含有したグアンファシン塩酸塩の突然変異誘発性を評価した, 細菌を用いる復帰突然変異試験 (1.6~5000 µg/プレート) 及びヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験 (10~275 µg/mL) において, グアンファシン塩酸塩は遺伝毒性を示さなかった [2.6.6.4.1 及び 2.6.6.4.2 項参照].

##### 2.4.4.3.2 *In vivo*

DEREK 解析の陰性 [モジュール 3.2.S.3.2 参照], 上述の *in vitro* 遺伝毒性の結果が陰性, 長期がん原性試験の結果が陰性であること, 並びにエステルリック®として既に医薬品として製造販売されていたことを踏まえ, 追加の *in vivo* 遺伝毒性試験を実施しなかった.

#### 2.4.4.4 がん原性

本剤の申請に際して追加のがん原性試験は実施していない.

グアンファシン塩酸塩徐放製剤の海外における 2009 年上市以来の約 100 万人年の利用可能な市販後臨床データの解析では, 発がんリスクは認められていない. 加えて, 長期使用する高血圧治療薬として開発された際に, マウス及びラットの混餌投与によるがん原性試験 (投与量: それぞれ 10 及び 5 mg/kg/日まで) では, がん原性は認められなかった [2.6.6.5 項参照]. また, グアンファシン塩酸塩は遺伝毒性試験において, 変異原性リスクは認められていない [2.6.6.4 項参照]. これらの確立された安全性プロファイルより, げっ歯類を用いた生涯投与試験を再度実施することは倫理上の観点からも適切でないと考え, 新たになんがん原性を評価する試験は実施しなかった.

#### 2.4.4.5 生殖発生毒性

##### 2.4.4.5.1 生殖発生毒性試験

高血圧治療薬としてのグアンファシン塩酸塩の承認時には, マウス, ウサギ及びラットを用いた生殖発生毒性試験により包括的な生殖発生毒性評価が実施されており [1], 本剤の申請に際して, 追加の生殖発生毒性試験は実施していない.

グアンファシン塩酸塩の生殖発生毒性は, 本邦の研究グループによって発表されたマウス及びウサギを用いた一連の非 GLP 試験 6 報 [95, 96, 97, 98, 99, 100] 及び海外で実施されたラット及びウサギを用いた非 GLP 試験で評価されている [1].

マウスの受胎能及び初期胚発生試験では, 0.5 mg/kg/日以上 of 投与群で胎児の軽度な発育抑制

が認められたが、親動物の受胎能、胚・胎児の生存性及び胎児の催奇形性は認められなかった [2.6.6.6.1 項参照]. マウスの胚・胎児発生試験では、母体毒性が認められた 1.0 mg/kg/日以上の投与群で胎児に外脳、二分脊椎等の異常及び 0.5 mg/kg/日以上の投与群で胎児の軽度な発育抑制が認められた [2.6.6.6.2 項参照]. ウサギの胚・胎児発生試験では、胚・胎児にグアンファシン塩酸塩投与による影響は認められなかった [2.6.6.6.3 項参照]. マウスの出生前及び出生後の発生に関する試験では、0.5 mg/kg/日以上の投与群で出生児の生存性の低下及び発育抑制が認められた [2.6.6.6.4 項参照]. 以上の結果をまとめると、マウスにおける次世代の発生、発育及び催奇形性に関する NOAEL は 0.25~0.5 mg/kg/日近傍、ウサギにおける胚・胎児の発生、発育及び催奇形性に関する NOAEL は 2.0 mg/kg/日と考えられる.

海外で実施された生殖発生毒性試験 [2.6.6.6.5 項参照] では、ラットの受胎能、胚・胎児発生及び出生前及び出生後の発生、ウサギの胚・胎児発生について評価されており、催奇形性並びに懸念となるような異常は認められなかった [1].

#### 2.4.4.5.2 幼若動物を用いた毒性試験

グアンファシン塩酸塩の小児 (6~17 歳) ADHD 患者への使用に際してのリスク評価として、幼若ラット毒性試験を実施した [2.6.6.6.6 項参照]. また、このプログラムには中枢刺激薬 (MPH を典型的な中枢刺激薬として選択) とグアンファシン塩酸塩の同時投与の可能性を評価するための試験が含まれていた.

主要な幼若ラット毒性試験 (0.3~3 mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復経口投与) では、体重増加の減少 (若干の発育の遅れを伴う) 及び血液学的検査のパラメータのわずかな変化がおおむね成熟ラットの反復投与毒性試験の所見と一致して認められた. 眼科学的検査においては、有害作用は認められず、グアンファシン塩酸塩投与に関連した器官重量及び肉眼所見は認められなかった. 病理組織学的検査においては、0 (対照群), 0.3, 1 及び 3 mg/kg/日投与群の雌で肺炎が認められた. 肺炎がみられた個体のうち、0.3 及び 1 mg/kg/日投与群の全例並びに 3 mg/kg/日投与群の 6/8 例が投与期間中に流涎 (唾液分泌の亢進) を示していることから、グアンファシン塩酸塩投与群における肺炎は、自然発生性の変化又は唾液分泌の亢進とその唾液の誤嚥による変化のいずれか、もしくは両方と考えられる. ロータロッド試験の最高保持時間の有意な延長が認められたが、Morris 水迷路試験による学習及び記憶活動の評価では、グアンファシン塩酸塩投与による影響は認められなかった. NOAEL は 1 mg/kg/日と判断した [2.6.6.6.6.2 項参照]. 追加の幼若ラット毒性試験 (7 日齢から 97 又は 100 日齢まで 1 日 1 回反復経口投与) を実施し、3 mg/kg/日投与群において、体重増加量の減少、異常行動、排尿増加及びわずかな摂餌量の減少がみられた. 同様の所見は 1 mg/kg/日投与群でもみられたが、影響は比較的軽度であり、概して投与量依存的であった. 3 mg/kg/日投与群の 99 日齢において、投与前及び投与直後に活動性亢進並びに闘争行動及び攻撃性の増加がみられたが、これらの所見は投与後 30 分までにはみられなくなっていた. これら所見の発現は血漿中濃度に依存したものではなかった. また、その他の投与時の一般症状として、奇声、投与困難 (抵抗)、興奮及び緊張が認められており、休薬開始時にはこれらを含む異常行動はすべて消失していたことから、活動性亢進並びに闘争行動及び攻撃性の増加は、グアンファシン塩酸塩投与による毒性所見ではなく、投与に対する忌避反応であると考えられる、他の投薬に関連した所見もこの休薬期間中

にみられなかった。眼や心臓の弁に影響は認められず、器官重量、肉眼又は病理組織学的検査所見についてグアンファシン塩酸塩の影響はなかった。NOAEL は 0.3 mg/kg/日と判断した [2.6.6.6.3 項参照]。

グアンファシン塩酸塩 (0.3 又は 1 mg/kg/日) と MPH (16 又は 50 mg/kg/日) を単独又は併用投与した幼若動物毒性試験において、高用量の併用投与群の体重及び摂餌量に及ぼす影響は、グアンファシン塩酸塩の直接的な毒性作用よりむしろ、MPH 投与により誘導される薬理効果が強調された結果として起こったと考えられる。グアンファシンの全身曝露は、グアンファシンのみを 1 mg/kg/日の用量で投与した場合より、1 mg/kg/日のグアンファシンと 50 mg/kg/日の MPH を併用投与した場合の方が高かった。これは、観察された薬理的及び毒性学的作用の強さにも反映していた。それにもかかわらず、グアンファシンと MPH 高用量の併用は (1/50 mg/kg/日)、長期的な有害作用はないものと考えられ、受胎能又は胎児生存に重要な影響を及ぼさなかった [2.6.6.6.5 項参照]。

#### 2.4.4.6 局所刺激性

本剤の申請に際して、消化管への局所刺激性を評価するための特別な試験は実施していない。ラットにおける 10 日間までの高用量のグアンファシン塩酸塩の経口 (強制) 投与後、消化管に炎症がみられた。しかし、より低用量、より長期間の反復投与毒性試験ではグアンファシン塩酸塩の経口投与による耐容性は良好であった。

#### 2.4.4.7 その他の試験

##### 2.4.4.7.1 メカニズム試験

5-HT<sub>2B</sub> 受容体に対するアゴニスト活性に関連した心臓弁膜症誘発リスクに基づき、一連のラット反復投与試験においてグアンファシン塩酸塩及び既知心臓弁膜症原因物質の評価を行った [2.6.6.3.5 項参照]。

##### 2.4.4.7.2 代謝物

Shire 社によるヒトの代謝物検索は実施されていなかったが、健康成人における国内反復投与試験 (1209A3111) の代謝物検索を実施した [2.7.2.2.1 項参照]。グアンファシンの代謝経路は、代謝が水酸化とそれに続く硫酸及びグルクロン酸抱合を介して起こることが示された [図 2.4.3-1 及び 2.4.3.4.2 項参照] [91]。これらの代謝物はヒトの毒性学的リスクはないと考えられる。

##### 2.4.4.7.3 不純物

製剤中に存在する可能性のある不純物の安全性を確認するため、*in vitro* 遺伝毒性試験及びラット 4 週間混餌投与毒性試験において、不純物 I (不純物A\*)、II (不純物B\*) 及び III (不純物C\*) をそれぞれ 0.5%含有したグアンファシン塩酸塩の影響を直接比較した。不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を添加したグアンファシンで遺伝毒性は認められず [2.6.6.4.1 及び 2.6.6.4.2 項参照]、ラット反復投与毒性試験においても本薬及び不純物を添加した本薬の影響は本質的に類似していた [2.6.6.8.3.1 項参照]。



#### 2.4.4.7.4 その他

##### 2.4.4.7.4.1 光毒性

グアンファシン塩酸塩は 290～700 nm の範囲で吸収波長を持たず [モジュール 3.2.S.3.1 参照], メラニンを含有する組織への選択的な分布もみられなかった [1]. したがって, 光毒性の誘発の可能性はないと考えられ, 光毒性試験を実施しなかった.

#### 2.4.5 総括及び結論

グアンファシン塩酸塩は, 最初に即放性製剤が高血圧治療薬として 20 年以上にわたり上市されてきた既知の有効成分であり, 近年は, 米国で児童及び青少年における ADHD の治療薬として徐放性錠剤も上市されている. 包括的な薬理, 薬物動態及び毒性評価は元の非臨床開発計画の一環として実施されており, 本申請において, これらの試験の [ ] として, 「エスタリック® [ ]」 [1] を利用している. GLP の導入以前の試験のプログラムは, 現在の試験基準と一致していないが, 信頼のできる施設で実施されており, ラット及びイヌにおける一般毒性並びにげっ歯類におけるがん原性試験は, 毒性用量で評価されていることは明らかである. したがって, これらの試験は評価可能なものであると考えられており, Shire 社が実施した追加試験と併せて, グアンファシン塩酸塩の非臨床安全性を総合的に評価した. また, 重要な臨床試験及び市販後のデータにより, ヒトにおけるグアンファシンの有効性と安全性は評価されている.

主に初期に実施された非臨床薬理試験は, 高血圧治療薬としてのグアンファシンの作用機序を検討している. Shire 社は, これらの試験成績に, ADHD の治療におけるグアンファシンの作用機序を追加した. 5-HT<sub>2B</sub> 作動薬と心臓弁膜症誘発との関連性から, グアンファシン塩酸塩の副次薬理試験も追加検討した. また, グアンファシンの既知の心血管系薬理学を考慮して, 補足的な心血管系安全性薬理試験も現時点で求められる基準で実施した. 追加の薬物動態試験は, 毒性評価に使用した動物種における全身曝露をさらに特徴づけるため及び ADHD 患者集団における薬物相互作用の可能性を調べるために実施した. 小児患者への使用に際してのリスク評価として, 非臨床パッケージに幼若ラットを用いた毒性試験を含めた. グアンファシン塩酸塩と MPH を併用した幼若ラットを用いた毒性試験も, グアンファシン塩酸塩が中枢刺激薬と併用される臨床試験をサポートするために実施した. 最後に, 本剤中に含まれる不純物を評価するために, 2 種の遺伝毒性試験 (細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験) 及びラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験を実施した.

##### 2.4.5.1 薬理的評価

グアンファシンは,  $\alpha_{2B}$  及び  $\alpha_{2C}$  アドレナリン受容体と比較して  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体サブタイプに 15～20 倍の高い選択性を有するとともに [12, 13], 他の多くの G たん白共役型受容体, イオンチャネル, 酵素及びトランスポーターに対してはほとんど親和性を示さない, 選択的な  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体作動薬である.

SH ラットは ADHD モデル動物として確立, 検証されており, 多動性, 衝動性及び注意持続時間の低下など, この疾患に特徴的な認知及び行動の異常のいくつかを示すことが知られている [22]. グアンファシン塩酸塩は, 用量依存的に SH ラットの衝動性及び多動性を抑制し, 持

続的注意を増強した。これらの結果は、グアンファシン塩酸塩が ADHD の中核症状である行動及び認知に関する 3 つの症状に対して治療効果があることを示唆している。

ラットにおいて、fMRI を用いて、グアンファシン塩酸塩投与による脳内局所作用を評価した結果、グアンファシン塩酸塩は、前頭葉の活動を活性化するのに対して、大脳基底核を構成する尾状核の活動を減弱させた。これらの結果から、前頭皮質がグアンファシンの ADHD 治療における主な作用部位であることが示唆される。

以上、非臨床薬理試験の結果をまとめると、グアンファシンは主要な ADHD 症状、すなわち持続的な注意欠如、衝動性及び多動性に対して改善作用を有し、その薬理作用メカニズムとして、前頭皮質の  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体に作用し、認知及び行動機能を向上すると考えられる。

グアンファシンが  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体に選択性を有していることから、薬効用量においては、 $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体活性化による鎮静、鎮痛、低血圧又は徐脈の副作用及び/又は有害事象のみが予見される。また、本薬が過量摂取された場合には、呼吸機能が抑制される可能性がある。注意することとして、グアンファシンは *in vitro* でヒトの 5-HT<sub>2B</sub> 受容体のアゴニスト作用を有していることが認められている。しかし、結合親和性は、ヒト組換え 5-HT<sub>2B</sub> 受容体への IC<sub>50</sub> 値が 350 nmol/L であり、標的の  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体 (IC<sub>50</sub> < 3.0 nmol/L) に対して約 100 倍低いこと及び国内小児 ADHD 患者 (6~17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg/日) での推定血漿中 C<sub>max</sub> 値である 12.9 ng/mL (0.05  $\mu$ mol/L) [2.7.2.3.3.1 項参照] の 7 倍の濃度であることから、臨床用量では 5-HT<sub>2B</sub> 受容体活性を有しないと考えられる。5-HT<sub>2B</sub> 受容体へのアゴニスト作用として、ヒト心臓弁膜症への理論上のリスクが挙げられるが、徐放製剤として、2009 年の上市以来海外において臨床使用されており、約 100 万人年の市販後臨床データ解析から、グアンファシン塩酸塩を処方された患者において、心臓弁膜症及び合併線維症の発現や徴候は認められていない。また、QTc 延長に関して注意すべきこととして、hERG チャネルへの IC<sub>50</sub> 値が 1  $\mu$ g/mL (4.06  $\mu$ mol/L) を上回っているが、これは上述した臨床最大投与量における推定血漿中 C<sub>max</sub> [最大でも 12.9 ng/mL (0.05  $\mu$ mol/L)] と少なくとも 77 倍の濃度差がある。また、覚醒下のイヌにおいて、グアンファシンは 1.5 mg/kg の用量まで、QT 間隔又は QTc に有意な影響を及ぼさなかった。なお、1.5 mg/kg 投与 2 時間後の平均血清中濃度は 36.1 ng/mL であり、上述した臨床最大投与量における推定血漿中 C<sub>max</sub> の 2.8 倍の濃度であった。

結論として、グアンファシンの非臨床薬理学的特徴は、ADHD 症状である認知機能や行動障害の改善作用を有している選択的な  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体作動薬であることを示している。また、その薬理作用メカニズムとして、前頭前皮質における  $\alpha_{2A}$  アドレナリン受容体を介してノルアドレナリン受容体シグナルが増強され、認知及び行動機能を向上すると考えられる。一方、ヒトにおいて発現し得るグアンファシンの副作用は、本質的に本薬の薬理学的機序に基づいて予測可能である。

#### 2.4.5.2 薬物動態学的評価

ラット、イヌ及びサルにおいて、[<sup>14</sup>C]-グアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg の投与量で経口投与後 0.5~2 時間で血液及び血漿中放射能は C<sub>max</sub> に達し、速やかに吸収された。[<sup>14</sup>C]-グアンファシンを用いた排泄試験の結果から、グアンファシンの経口吸収率 [投与後 72 時間までの尿

(20%) 及び胆汁 (66%) における放射能の排泄率の和] は、ラットにおいて約 86%であり、イヌ及びサルでは、投与後 72 時間までの尿中放射能排泄率から少なくとも 77%以上及び 61%以上と推定される。一方、ヒトでは、 $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシンを用いたマスバランス試験において、尿に 80%程度排泄され [91]、グアンファシンを用いた経口及び静脈内投与の評価からバイオアベイラビリティは約 80%と算出されている [90]。したがって、各種動物及びヒトにおけるグアンファシンの経口吸収性は良好であると考えられる。

血漿中グアンファシン濃度推移に対する食餌の影響について、非臨床では評価していない。一方、健康成人を対象に本剤 (4 mg 錠を 1 錠) の食事の影響を検討した結果、朝食 (高脂肪食) 摂取後に投与した時の血漿中  $C_{\max}$  及び血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は、空腹時投与に比べ、それぞれ約 1.7 倍及び約 1.4 倍に増大し、ヒトで食事の影響が認められた [2.7.1.2.2 項参照]。

TK 評価において、血漿中グアンファシンの用量相関性について検討されており、マウス (混餌投与) では、3 mg/kg/日まで、血漿中曝露 ( $C_{\max}$  及び AUC) は投与量に依存して増大した。ラット (混餌投与) では、0.5 及び 1.5 mg/kg/日の血漿中濃度がほとんどすべての測定時点で定量下限未満であり、用量相関性を考察できなかった。また、5 mg/kg/日では、Day 14 の曝露は雄に比べ雌の方が約 2~3 倍高かった。この血漿中曝露の性差の要因として、いくつかの CYP 酵素の発現量が、雄ラットよりも雌ラットで低いことが知られている [101] ことから、ラットにおける代謝酵素の発現量の差によると考えられる。イヌでは、雄の 3 mg/kg/日において Day 1 に比べ Day 14 で  $C_{\max}$  及び AUC が投与量比を上回って顕著に増加しており、雌の 3 mg/kg/日においても雄に比べて程度は低いものの同様の傾向が認められた。その要因のひとつとして、高用量群においては、消化管及び/又は肝臓が高濃度の薬物に長期間曝露され続けることによって代謝の飽和が起こったためと考えられる。また、臨床においては、日本人健康成人の反復投与試験 (A3111) で、4 mg までの投与量で線形性が確認されている [2.7.2.2.1 項参照]。

雄性ラットに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を 2 mg/kg/日の投与量で単回及び反復経口投与し、放射能の組織移行性を検討した結果、ほとんどの組織は投与後 2 時間で  $C_{\max}$  に達し、最も高い放射能濃度を示したのは腎臓及び肝臓であった。単回投与後 48 時間では、すべての組織中放射能濃度が 0.001~0.064  $\mu\text{g eq./g}$  まで低下した。反復投与による放射能濃度の上昇が認められたが、多くの組織において 1 週間投与と 2 週間投与の間に顕著な差は認められず、2 週間反復投与後 48 時間ですべての組織中放射能濃度は 0.002~0.180  $\mu\text{g eq./g}$  まで低下していたことから、組織における放射能の長期的な残留はなく、組織特異的な蓄積もないと考えられる。

妊娠ラットにおいて、母動物及び胎児への放射能の組織移行性を検討した結果、胎盤・胎児移行性が認められるものの、胎児中の放射能濃度比は母動物の血液中放射能濃度に対して 0.09~0.18 と低く、組織における放射能の消失は、母動物の血液の消失と同様であった。また、授乳ラットにおいて、放射能は投与後速やかに乳汁へ移行するものの、乳汁中放射能濃度は血漿中放射能濃度の 75%であり、投与後 8 時間では  $C_{\max}$  の 1/3 にまで低下した。

*In vivo* の血球移行性として、ラット、イヌ及びサルに  $[^{14}\text{C}]$ -グアンファシン塩酸塩を単回経口投与したときの放射能の血液/血漿濃度比は、早い採血時点において概ね 0.5~0.8 であったことから、ヘマトクリット値が 40%程度と想定した場合、グアンファシン及びその代謝物の血球移行性は低いと考えられる。

ラット、イヌ、サル及びヒトにおける代謝物検索の結果を表 2.4.5-1 に示す。

表 2.4.5-1 各種動物及びヒトにおける代謝物検索結果

代謝物	ラット <sup>a</sup>	イヌ <sup>a</sup>	サル	ヒト <sup>c</sup>
グアンファシンのジヒドロジオール	血漿, 尿, 糞	血漿, 尿, 糞	血漿, 尿	血漿, 尿
ヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体	血漿, 尿	尿 <sup>b</sup>	血漿, 尿	血漿, 尿
ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体	血漿, 尿	血漿, 尿	血漿, 尿	血漿, 尿
3-ヒドロキシグアンファシン	尿, 糞	尿, 糞	尿	血漿, 尿
ヒドロキシグアンファシン	尿	血漿, 尿, 糞	血漿, 尿	尿
ジヒドロキシグアンファシン	糞	糞	—	—
ジヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体	血漿, 尿	血漿	—	—

a: 毒性評価動物.

b: 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法でのみ検出.

c: 日本人健康成人における薬物動態試験 (A3111) の代謝物検索[2.7.2.2.1.5.1 項参照]

—: 検出されず

各種動物に [<sup>14</sup>C]-グアンファシンを単回経口投与したとき、血漿中放射能に対する未変化体の割合は低く、投与後初期において 10%程度であった。血漿中の主な代謝物として、ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体 (ラット: 34%, イヌ: 24%~33%, サル: 64%~70%) が検出され、イヌでは、グアンファシンのジヒドロジオール (22%~36%) も検出された。

尿中における未変化体の割合は、ラット及びサルでは投与量の 3%以下と低かったが、イヌでは投与量の 32%であった。尿中の主な代謝物として、ラットでは、ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体 (投与量の 5%), イヌでは、グアンファシンのジヒドロジオール (投与量の 17%), サルでは、ヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体 (投与量の 13%) が検出された。検出された代謝物の割合に差はあるものの、その種類に大きな種差は認められなかった。

糞中における未変化体の割合はいずれの動物種でも低かった (投与量の 6%以下)。糞中の主な代謝物として、ラットでは、グアンファシンのジヒドロジオール及び 3-ヒドロキシグアンファシンが検出され (それぞれ投与量の 3%及び 2%), イヌでは、ジヒドロキシグアンファシン及びグアンファシンのジヒドロジオールが検出された (いずれも投与量の 0.5%未満)。

これらの結果から、グアンファシンは主に芳香族部分で代謝され、グアニジン側鎖では代謝されにくいと考えられる。各種動物におけるグアンファシンの主要な代謝経路は、芳香環における水酸化、それに続くグルクロン酸抱合又は硫酸抱合であることが明らかとなった。

日本人健康成人における薬物動態試験 (A3111) の代謝物検索の結果 [2.7.2.2.1.5.1 項参照], 血漿中の約 94% [質量分析における未変化体及び検出された代謝物のピーク面積の総和 (総ピーク面積) に対する比率] が未変化体として検出され、主な代謝物として、ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体及びヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体が検出された (いずれも 5%以下)。また、尿中の 91%が未変化体として検出され、主な代謝物として、ヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体及び 3-ヒドロキシグアンファシンが検出された (総

ピーク面積の 0.42%~5.23%)。また、グアンファシンの放射能標識体を用いた薬物動態試験における代謝物検索の結果 [1, 91], 投与後 48 時間までの尿中に未変化体 (投与量の 19%), 3-ヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体 (26%), 3-アセチルシステイン抱合体 (8%), 3-ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体 (5%), その他の代謝物 (各 5%未満) が検出された。

グアンファシンのプロドラッグのヒトマスバランス試験の代謝物検索の結果 (EMA の Assessment Report p.27), 3-ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体が血漿中の総曝露の 61%存在することが報告されており, 日本人健康成人における薬物動態試験 (A3111) の結果とかい離が認められた。測定法の相違 (質量分析計と放射能測定器) が存在割合に与えた影響について, グアンファシンのプロドラッグのヒトマスバランス試験の代謝物検索で得られた質量分析クロマトグラム及びラジオクロマトグラムを比較することで検証した結果, 質量分析計において, 代謝物の測定効率 (イオン化効率) が本薬に比べて 1/50~1/40 倍であると考えられた。測定効率を考慮すると, 日本人健康成人における薬物動態試験 (A3111) において, ヒドロキシグアンファシンの硫酸抱合体及びヒドロキシグアンファシンのグルクロン酸抱合体は総曝露の 10%を超える可能性があるが, 本薬の最高投与量が 6 mg と「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験実施についてのガイダンス」[102] 及び「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に関する質疑応答集 [103] で示されている 1 日の投与量が 10 mg 未満の薬物であり, また, 一般的に抱合体は毒性学的懸念が低いと考えられることから代謝物に関する安全性の懸念は低いものと判断し, 非臨床において代謝物の安全性試験は実施していない。ヒトにおける本剤の主要な代謝経路は, 国内反復投与試験の代謝物検索の結果及び責任代謝酵素の検討結果から, 各種動物と同様に, 芳香環における水酸化, それに続くグルクロン酸抱合又は硫酸抱合であることが明らかとなった。なお, ヒドロキシグアンファシン生成等の酸化的代謝に関する責任代謝酵素は CYP3A4/5 であると同定された。

ラットに [ $^{14}\text{C}$ ]-グアンファシン塩酸塩を単回経口投与したときの投与後 72 時間までの放射能の尿中排泄率は 37%, 糞中排泄率は 56%であり, 尿と糞でほぼ同程度であった。胆管カニュレーションを施したラットに [ $^{14}\text{C}$ ]-グアンファシン塩酸塩を単回経口投与したときの胆汁中排泄率は 66%であることから, ラットにおける主排泄経路は尿及び, 胆汁を介した糞であると考えられる。また, ラット胆汁中の代謝物検索を実施していないことからグルクロン酸抱合体の寄与は不明であるが, ラットの腸肝循環率は投与量の 25%~30%であった。イヌ及びサルにおいては, 尿中に主に排泄され (イヌ: 77%, サル: 61%), 糞中への排泄は 6%以下とわずかであった。ヒトにおいては, ヒトマスバランス試験で [ $^{14}\text{C}$ ]-グアンファシンを 3 mg で経口投与した際, 尿に約 80%排泄された [91]。

*In vitro* 試験で, グアンファシンは臨床治療域の血漿中濃度 [国内小児 ADHD 患者 (6~17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg/日) での推定血漿中  $C_{\max}$  値である 12.9 ng/mL (0.05  $\mu\text{mol/L}$ ) [2.7.2.3.3.1 項参照]] より顕著に高い濃度 (3.5 又は 10  $\mu\text{mol/L}$ ) でも, 主要なヒト CYP (CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 及び CYP3A4/5) 活性をいずれも阻害しなかった。また, CYP1A2, CYP2B6 及び CYP3A4/5 に対して誘導作用を示さず, CYP2C9 及び CYP2C19 に対しては, 最大濃度 (4  $\mu\text{mol/L}$ ) の 1 ドナーでわずかに活性が上昇 (1.7~1.8 倍) するのみであ

り、臨床治療域の血漿中濃度 (0.05  $\mu\text{mol/L}$ ) 付近で誘導作用は認められなかった。また、核内受容体である pregnane X receptor の活性化により、CYP3A 及び CYP2C が共誘導されることが知られており [104]、グアンファシンは CYP3A に対して誘導作用を示さなかったことから、CYP2C に対して誘導作用を示す可能性も低いと考えられる。したがって、臨床において、これらの酵素により代謝される基質薬剤との相互作用が起こる可能性は低いと考えられる。

グアンファシンは主として CYP3A4/5 により代謝されるため、CYP3A4/5 の阻害薬及び誘導薬の併用はグアンファシンの薬物動態に影響を与える可能性がある。実際、健康成人を対象に、CYP3A4/5 阻害薬であるケトコナゾール 400 mg を 1 日 1 回 2 日間投与後に、グアンファシン 4 mg を併用投与した結果、グアンファシン単独投与時に比べケトコナゾール併用投与時の、血漿中グアンファシンの  $C_{\text{max}}$  及び AUC はそれぞれ約 2 倍及び約 3 倍に上昇した [2.7.2.2.5.1 項参照]。また、健康成人を対象に、CYP3A4/5 誘導薬であるリファンピシン 600 mg を 1 日 1 回 7 日間投与後に、グアンファシン 4 mg を併用投与した結果、グアンファシン単独投与時に比べリファンピシン併用投与時における血漿中グアンファシンの  $C_{\text{max}}$  及び AUC はそれぞれ約 54% 及び 63~69% 減少した [2.7.2.2.5.2 項参照]。したがって、グアンファシンを CYP3A4/5 の阻害薬及び誘導薬と併用する場合は注意が必要である [2.5.3.3.2 項参照]。

グアンファシンは P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, MATE1 及び MATE2-K の基質ではなく、臨床使用においてこれらのトランスポーターの阻害薬を併用しても、グアンファシンの体内動態に影響しないと考えられる。一方、グアンファシンは OCT1 及び OCT2 の基質となることが示された。しかしながら、OCT1 及び OCT2 に関しては現時点で臨床使用において特異的な阻害薬として知られるものはなく、グアンファシンの体内動態に影響する可能性は低いと考えられる。

グアンファシン塩酸塩は、MATE1 に対して濃度依存的な阻害作用を示し、その  $IC_{50}$  値は 0.168  $\mu\text{mol/L}$  (41.3 ng/mL) であった。その他の検討したトランスポーター (P-gp, BCRP, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE2-K, BSEP 及び MRP2) に対しては、評価した最高濃度において 50% 以上の阻害は認められなかった。本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) [94] を基に、本薬の臨床投与量 6 mg (0.12 mg/kg/日 で体重 50 kg 以上の小児における最大投与量) 及び推定血漿中  $C_{\text{max}}$  12.9 ng/mL (0.0524  $\mu\text{mol/L}$ ) から計算した各種トランスポーターに対する阻害剤判断基準値と  $IC_{50}$  値を比較した。その結果、BCRP を除くいずれのトランスポーターにおいても  $IC_{50}$  値が阻害剤判断基準値より大きいことから、グアンファシンの臨床使用において、P-gp, OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1, MATE2-K, BSEP 及び MRP2 の阻害剤とはならず、各種トランスポーターに対する基質薬剤の体内動態に影響する可能性は低いと考えられる。BCRP に対する阻害評価については、臨床投与量 4 mg での  $0.1 \times$  [最大消化管内濃度] である 6.5  $\mu\text{mol/L}$  を基に実施し、C2BBel 細胞及び BCRP 発現細胞において、BCRP 基質であるクラドリピンに対するグアンファシン (6.5  $\mu\text{mol/L}$ ) の阻害率は、それぞれ 0% 及び 15.6% であり、顕著な BCRP 阻害作用は認められなかった。したがって、グアンファシンの臨床使用において BCRP の阻害剤とはならず、基質薬剤の体内動態に影響する可能性は低いと考えられる。

以上の結果から、臨床使用においてグアンファシンが各種トランスポーターの阻害剤として

薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる (表 2.4.5-2, 表 2.4.5-3, 表 2.4.5-4).

表 2.4.5-2 各種トランスポーターの阻害剤判定基準

トランスポーター	阻害剤判定基準値	
P-gp	$[I_1]/IC_{50} \geq 0.1$ :	$IC_{50} \leq 10 \times C_{max}$
BCRP	$[I_2]/IC_{50} \geq 10$ :	$IC_{50} \leq 0.1 \times (\text{投与量}/250\text{mL})$
OATP1B1	$R\text{-value} = 1 + (fu \times I_{inlet, max})/K_i \geq 1.25$ :	$K_i (= IC_{50}) \leq 4 \times fu \times I_{inlet, max}$
OATP1B3		
OAT1	$1 + (\text{Unbound } C_{max}/K_i) \geq 1.25$ :	$K_i (= IC_{50}) \leq 4 \times fu \times C_{max}$
OAT3		
OCT1 <sup>a</sup>	$R\text{-value} = 1 + (fu \times I_{inlet, max})/K_i \geq 1.25$ :	$K_i (= IC_{50}) \leq 4 \times fu \times I_{inlet, max}$
OCT2	$1 + (\text{Unbound } C_{max}/K_i) \geq 1.25$ :	$K_i (= IC_{50}) \leq 4 \times fu \times C_{max}$
MATE1		
MATE2-K		
BSEP <sup>b</sup>		$K_i (= IC_{50}) \leq 50 \times fu \times C_{max}$
MRP2 <sup>b</sup>		

[I<sub>1</sub>] : C<sub>max</sub>, [I<sub>2</sub>] : 投与量/250 mL, C<sub>max</sub> : 定常状態における最高血漿中濃度 (非結合型 + 結合型), F<sub>a</sub> : 消化管吸収率, fu : 血漿中非結合率, F<sub>g</sub> : 消化管壁細胞に吸収後, 門脈血に到達する薬物の割合, IC<sub>50</sub> : 50%阻害濃度, k<sub>a</sub> : 吸収速度定数, K<sub>i</sub> : 阻害定数, Q<sub>h</sub> : 総肝血流量, I<sub>inlet, max</sub> = C<sub>max</sub> + (k<sub>a</sub> × 投与量 × F<sub>a</sub>F<sub>g</sub>/Q<sub>h</sub>)

a : 本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) では定義されていないものの, 肝取り込みトランスポーターであるため, 他の肝取り込みトランスポーターに準じて判断を行った.

b : 本邦の薬物相互作用ガイドライン (最終案) では定義されていないため, EMA による Guideline on the Investigation of Drug Interactions (2013) の肝排泄トランスポーターに対する阻害剤判定基準を基に判断を行った.

表 2.4.5-3 阻害剤判定に用いた本薬のパラメータ

パラメータ	値	備考
分子量	246.09	
投与量 (mg/man)	6	臨床推定最大用量
C <sub>max</sub> (μmol/L)	0.0524	12.9 ng/mL より算出
f <sub>u</sub>	0.36	
k <sub>a</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.1	
F <sub>a</sub> · F <sub>g</sub>	1	
Q <sub>h</sub> (mL/min)	1617	97 L/hr
I <sub>inlet, max</sub> (μmol/L)	1.56	C <sub>max</sub> + (k <sub>a</sub> × 投与量 × F <sub>a</sub> F <sub>g</sub> /Q <sub>h</sub> )より算出
最大消化管内濃度 (μmol/L)	97.5	6 mg/250mL より算出

C<sub>max</sub> : 定常状態における最大血漿中濃度 (非結合型 + 結合型), fu : 血漿中非結合率, F<sub>a</sub> : 消化管吸収率, F<sub>g</sub> : 消化管壁細胞に吸収後, 門脈血に到達する薬物の割合, k<sub>a</sub> : 吸収速度定数, Q<sub>h</sub> : 総肝血流量  
 ヒト *in vitro* 血球移行率は不明であるが, ラット, イヌ及びサル *in vivo* 血球移行性は低いと考えられ, ヒトにおいても血中濃度 < 血漿中濃度と想定されるため, 最大リスク見積もりの観点から, 最大血漿中濃度の値 [12.9 ng/mL (0.0524 μmol/L)] を用いた.

表 2.4.5-4 各種トランスポーターの阻害リスクの見積もり

トランスポーター	IC <sub>50</sub> 値 (μmol/L)	阻害剤判定基準値	阻害剤判定
P-gp	> 400	$C_{max} \times 10 = 0.524 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
		最大消化管内濃度 $\times 0.1 = 9.75 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
BCRP	> 6.5	$C_{max} \times 10 = 0.524 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
		最大消化管内濃度 $\times 0.1 = 9.75 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
OATP1B1	> 8.0	$4 \times fu \times I_{inlet, max} = 2.25 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
OATP1B3	> 8.0	$4 \times fu \times I_{inlet, max} = 2.25 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
OAT1	> 0.82	$4 \times fu \times C_{max} = 0.0755 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
OAT3	> 0.82	$4 \times fu \times C_{max} = 0.0755 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
OCT1	> 8.0	$4 \times fu \times I_{inlet, max} = 2.25 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
OCT2	> 0.82	$4 \times fu \times C_{max} = 0.0755 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
MATE1	0.168	$4 \times fu \times C_{max} = 0.0755 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
MATE2-K	> 0.82	$4 \times fu \times C_{max} = 0.0755 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
BSEP	> 8.2	$50 \times fu \times C_{max} = 0.944 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤
MRP2	> 8.2	$50 \times fu \times C_{max} = 0.944 \mu\text{mol/L}$	非阻害剤

本薬の IC<sub>50</sub> 値が阻害剤判定基準値以下の場合に阻害剤とみなし、各トランスポーターに対する阻害作用による薬物相互作用の可能性ありと判断した。

### 2.4.5.3 毒性学的評価

グアンファシン塩酸塩は、徐放製剤として、2009年上市以来海外において臨床使用されており、約100万人年の市販後臨床データの解析から、その安全性プロファイルは十分に確認されている。また、本邦でも青少年及び成人の高血圧治療薬として過去に承認され販売されていた実績がある。なお、高血圧治療薬としての最初の開発においては、ラットにおける26週までの反復投与毒性試験(10 mg/kg/日までの投与量)及びイヌにおける52週までの反復投与毒性試験(3 mg/kg/日までの投与量)に加え、げっ歯類におけるがん原性試験、マウス、ウサギ及びラットにおける生殖発生毒性試験、並びにモルモット及びラットを用いた抗原性試験が実施された。これらの非臨床試験は1983年4月のGLP運用開始以前に実施されており(「エストリック® 0.5 mg ■■■■■」[1])、いくつかの試験では、現在要求されている試験基準に適合していないが、上述したように、過去には本邦で高血圧治療薬として、最近では米国でADHD治療薬として、広く臨床経験があることを踏まえ、現在の基準での再試験は不要と判断した。一方、ADHD治療薬としての開発に必要な試験として、ラットを用いた5-HT<sub>2B</sub>活性に関するグアンファシン塩酸塩の副次的薬理学的評価及び心臓弁膜症に関連したリスク評価試験、短期反復投与試験及び小児集団への適用に際してのリスク評価としての幼若動物毒性試験を追加した。加えて、製剤に含まれる不純物評価のために *in vitro* 遺伝毒性試験とともに4週間反復投与毒性試験も実施した。

グアンファシン塩酸塩のラットへの反復経口投与により、自発運動減少、呼吸抑制、立毛、散瞳、眼球突出及び反射運動亢進等の一般状態変化、体重増加量及び摂餌量の減少並びに臨床病理パラメータの軽度な変動が、各試験におおむね共通して認められた [1, 75, 76]。一般状態に認められた所見の多くは、類似のαアドレナリン受容体作動薬であるクロニジンでも認められており [105]、グアンファシンのαアドレナリン受容体を介する交感神経系刺激による薬理作用が強く発現した結果と考えられる。血液化学的検査で認められた総たん白質及びアルブミンの



減少は、摂餌量及び体重減少に伴う二次的な影響と考えられる。血液学的検査において赤血球系パラメータの増加が認められたが、ラットにおける5週間反復経口投与毒性試験（投与量：0.3, 1, 3, 10及び30 mg/kg/日）[1, 2]では血液の粘稠もみられていることから、血液濃縮の影響によるものと考えられる。腎臓の病理組織学的変化がラットにおける5週間及び26週間反復経口投与毒性試験（投与量：0.1, 0.3, 1, 3及び10 mg/kg/日）[1, 75, 76]の高用量群の少数例で認められているが、臨床では腎毒性の報告はない。ラット及びマウスにおいて、投与量の増加にしたがって角膜混濁の発生率の増加が認められたが、クロニジンでも同様の変化がみられており[105]、この変化はグアンファシンのαアドレナリン受容体への作用により眼球が突出し、角膜の乾燥や機械的刺激が加わったことに起因する二次的変化と考えられる。なお、角膜の混濁は、ヒトでグアンファシン塩酸塩処方による副作用として報告されていない。ラットにおける5日間（1日投与量：7.5 mg/kg QD及び7.5 mg/kg BID）又は10日間（1日投与量：7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID）反復経口投与毒性試験において、消化管粘膜の病理組織学的変化が認められ、刺激性が示唆されたが、同様の所見は他のより長期の試験では認められなかった。

長期投与時の安全性を評価するげっ歯類における毒性試験として実施された上記のラット26週間反復経口投与毒性試験（投与量：0.1, 0.3, 1, 3及び10 mg/kg/日）[1, 76]ではグアンファシンの血漿中曝露評価を行っていない。最高用量である10 mg/kgを投与した際の雄及び雌の推定AUC<sub>0-24hr</sub> [ラットにおけるトキシコキネティクス試験での5 mg/kg/日投与時の定常状態のAUC [2.6.7.3項参照]を2倍した値]は、それぞれ68及び150 ng·hr/mLであり、国内小児ADHD患者（6～17歳）における最大投与量（0.12 mg/kg/日）での推定最大AUC値（272.6 ng·hr/mL）[2.7.2.3.3.1項参照]を下回っていた。しかしながら、10 mg/kg/日投与群で中毒症状、体重増加抑制（雄36%、雌15%）や腎皮質の壊死等の所見が認められていることから、ラットにおいては臨床最大曝露量を上回る条件下でのさらなる反復投与毒性試験の実施は困難と判断した。一方、マウスを用いた78週間投与がん原性試験（投与量：1, 3及び10 mg/kg/日）[1]における推定曝露量は、表2.4.5-5に示すように、低用量では臨床最大曝露量を下回っていたが、中用量は臨床最大曝露量をやや上回っていたと推察される。また、1 mg/kg/日以上投与群で投与量依存的に体重増加抑制が、3 mg/kg/日以上投与群で中毒症状もみられている。したがって、マウスにおける長期投与の安全性は、臨床最大曝露量を上回る試験条件下で評価されていると考えられる。

表 2.4.5-5 マウスがん原性試験の推定曝露マージン

試験種	投与量 mg/kg/日	C <sub>max</sub> (ng/mL)		AUC (ng·hr/mL)		小児（6～17歳）に0.12 mg/kg投与時の推定曝露マージン <sup>a</sup>			
		雄	雌	雄	雌	C <sub>max</sub>		AUC	
						雄	雌	雄	雌
マウス 78週 <sup>b</sup>	1	8.28	8.90	147.7	135.1	0.6	0.7	0.5	0.5
	3	17.0	21.8	304.8	435.3	1.3	1.7	1.1	1.6
	10	NC	NC	NC	NC	NA	NA	NA	NA

NC：計算せず。 NA：該当データなし。

a：国内小児ADHD患者（6～17歳）における最大投与量（0.12 mg/kg/日）での推定C<sub>max</sub>値（12.9 ng/mL）及び推定最大AUC値（272.6 ng·hr/mL）[2.7.2.3.3.1項参照]を用いて算出した。

b：マウスにおけるトキシコキネティクス試験からの推定曝露量。

グアンファシン塩酸塩のイヌへの13週間混餌投与及び52週間反復経口投与により、グアンファシンの薬理学的作用に関連すると考えられる鎮静、嗜眠、流涎、立毛及び運動失調等の一般状態所見、摂餌量の減少並びに体重増加抑制又は体重減少、血液化学的検査における血糖値の変動等が認められた。52週間反復経口投与毒性試験（投与量：0.3, 1及び3 mg/kg/日）[1]では、1 mg/kg/日以上投与群で血液学的検査において赤血球系パラメータの減少、血液化学的検査においてALTの高値及びナトリウム、カリウムの減少がみられたが、病理組織学的検査では関連する異常所見は認められず、いずれの変動も休薬期間中に回復又は回復傾向を示した。心電図検査において、1 mg/kg/日以上投与群に鋸歯状T波及びQT間隔の延長が認められたが、心血管系に及ぼす影響に関して覚醒イヌを用いて検討した安全性薬理試験 [2.6.2.4.1.2 項参照]では、国内小児ADHD患者の推定血漿中C<sub>max</sub>値である12.9 ng/mLの2.8倍を示した投与条件下（1.5 mg/kg投与）においてQT間隔の延長は認められていない。したがって、上記のイヌ反復投与毒性試験の心電図検査でみられた所見は、ヒトにおける心血管系への影響に関するリスクを示すものではないと考えられる。

グアンファシンの5-HT<sub>2B</sub>受容体へのアゴニスト作用に基づく心臓弁膜への影響についてラットを用いて検討したが、設定した試験条件下ではラットにおける心臓弁膜症誘発リスクを確実に評価することはできなかった。

遺伝毒性試験及びげっ歯類のがん原性試験（「エスタリック® 0.5 mg ████████」 [1]）の結果は、いずれも陰性であったことから、グアンファシン塩酸塩の変異原性及びがん原性はないと判断される。

生殖発生毒性試験は、6報の公表論文 [95, 96, 97, 98, 99, 100] 及び海外で実施された試験（「エスタリック® 0.5 mg ████████」 [1]）があり、公表論文では、マウスにおいて、受胎能及び初期胚発生、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に関する評価、ウサギにおいて、胚・胎児発生に関する評価が実施されている。マウスにおける受胎能及び初期胚発生試験では、0.5 mg/kg/日以上投与群で胎児の軽度な発育抑制が認められたが、親動物の受胎能、胚・胎児の生存性及び胎児の催奇形性は認められなかった。マウスの胚・胎児発生試験では、母体毒性が認められた1.0 mg/kg/日以上投与群で胎児に外脳、二分脊椎等の異常及び0.5 mg/kg/日以上投与群で胎児の軽度な発育抑制が認められたが、ウサギにおける胚・胎児発生試験では、胚・胎児にグアンファシン塩酸塩投与による影響は認められなかった。マウスにおける出生前及び出生後の発生に関する試験では、0.5 mg/kg/日以上投与群で出生児の生存性の低下及び発育抑制が認められた。以上の結果から、マウスにおける次世代の発生、発育及び催奇形性に関するNOAELは0.25～0.5 mg/kg/日近傍、ウサギにおける胚・胎児の発生、発育及び催奇形性に関するNOAELは2 mg/kg/日と考えられる。マウスにおける胚・胎児発生に関する試験で認められた胎児の奇形及び発育抑制は、母体毒性が認められる投与量でみられている。「エスタリック® 0.5 mg ████████」 [1] や種々の報告 [106, 107] にあるように、マウスの母体が低栄養状態であった場合、外脳症や脊椎の奇形を含む種々の奇形の発現が増加することが知られており、マウスは他の種に比べてこれら奇形発現の感受性が特に高いことが知られている [106]., グアンファシン塩酸塩によるマウスにおける奇形の発現には母体の摂餌量低下及び体重増加抑制とそれらに起因する低栄養が主な原因となっていると考えられる。また、上述したように、ウサギにお

ける胚・胎児発生に関する試験では、マウスで認められたような奇形や発育抑制は認められなかったこと [96, 99], ラットでもグアンファシン塩酸塩の催奇形性は認められていないことが報告されており [1], マウスで認められた奇形は種特異的あるいは感受性が高いことにより発現した変化と考えられる。一方、生殖発生毒性試験では、グアンファシンのトキシコキネティクスデータが存在しないため、ヒトとの曝露データの比較は困難である。しかしながら、混餌投与で実施されたグアンファシンのトキシコキネティクスデータより、マウスにおいて母体毒性及び胚・胎児毒性が認められた投与量 (1.0 mg/kg/日) における曝露量 (AUC<sub>0-24hr</sub>) は 135.1 ng·hr/mL [2.6.7.3 項参照] と推定され、上述した臨床最大曝露量を下回っていたと推察される。また、ラットにおいて [<sup>14</sup>C]-グアンファシン塩酸塩由来の放射能は胎盤を通過する [2.6.4.4.2 項参照] ことが判明している。以上のことから、マウスで認められた奇形はヒトへの外挿性が乏しいと考えられるが、臨床最大曝露量を下回っていたと考えられる投与量で認められていることを考慮して、グアンファシン塩酸塩は妊婦及び妊娠している可能性のある女性には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すべきと判断した。また、ラットにおいて、 [<sup>14</sup>C]-グアンファシン塩酸塩由来の放射能は乳汁中に移行する [2.6.4.4.3 項参照] こと、マウスにおける出生前及び出生後の試験では、臨床最大曝露量を下回っていたと考えられる低用量で出生児の生存性の低下及び発育抑制が認められていることを考慮すると、授乳中の婦人に対して、本剤の投与期間中は授乳を避けるか、やむを得ず授乳をする場合は投与を中止すべきであると判断した。

小児 (6~17 歳) の投与年齢をカバーする幼若動物毒性試験として、7 日齢のラットを用いて 59 日齢まで投与する試験 [投与量: 0.3, 1, 2 (雄) 及び 3 mg/kg/日 (雌)] 及び 97 又は 100 日齢まで投与する試験 (投与量: 0.3, 1 及び 3 mg/kg/日) を実施した。59 日齢まで投与する試験では、投与初期の軽度な体重増加抑制や高用量群での血液学及び血液化学的パラメータの変動、性成熟の遅延及び活動性の亢進がみられたが、眼科学的検査及び病理組織学的検査では毒性所見は認められなかった。97 又は 100 日齢まで投与する試験では、主に高用量投与により体重増加抑制、投与後期に活動性低下、歩行異常、攻撃性増加等の行動異常がみられたが、眼科学的検査、心臓弁膜症の評価、病理組織学的検査では異常は認められなかった。休薬時に行動異常及び体重増加抑制はみられず、回復性は良好であった。いずれの試験でも、幼若動物に特有の毒性所見はみられなかった。中枢刺激薬である MPH との相互作用の評価を含めた幼若ラットの毒性試験において、グアンファシン塩酸塩投与に起因する体重増加抑制 (その結果として軽度な発育遅延) 及び軽度な血液学的検査のパラメータの変動が反復投与毒性試験の所見とおおむね共通して認められた。眼科学的検査において毒性はみられず、被験物質投与に起因した器官重量、肉眼又は病理組織学的変化も認められなかった。グアンファシン塩酸塩に関連する学習及び記憶、生殖機能への影響はなかった。また、MPH との毒性学的相互作用はみられなかった。

抗原性試験において、モルモットを用いた全身アナフィラキシー反応及びラットを用いた受身皮膚アナフィラキシー反応は陰性であった。

なお、製剤中に含まれる 3 種の不純物 (不純物A\*, 不純物B\* 及び不純物C\*) をそれぞれ約 0.5%含むグアンファシン塩酸塩の影響と不純物を含まないグアンファシン塩酸塩の影響を比較するため実施した 2 種の *in vitro* 遺伝毒性試験及びラットにおける 4 週間混餌投与毒性試

験では、いずれにおいても不純物に起因すると考えられる毒性は認められなかった。

以上のように、グアンファシン塩酸塩の非臨床安全性試験及び長年にわたる臨床での使用経験より、小児（6～17歳）のADHD治療薬としてのグアンファシン塩酸塩の安全性は十分に評価されているものと考えられる。

#### 2.4.6 参考文献一覧

1. エスタリック®0.5mg [REDACTED], [REDACTED], [REDACTED]. 1984.
2. Arnsten AFT. Modulation of Prefrontal Cortical-striatal Circuits: Relevance to Therapeutic Treatments for Tourette Syndrome and Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. In: Cohen DJ, Goetz CG, Jankovic J. ed. "Tourette Syndrome". Philadelphia. Lippincott, Williams, and Wilkins; 2001 pp333-41.
3. Brown K. Neuroscience New Attention to ADHD genes. Science 2003; 301(5630):160-1.
4. Kahn RS, Khoury J, Nichols WC, Lanphear BP. Role of dopamine transporter genotype and maternal prenatal smoking in childhood hyperactive-impulsive, inattentive, and oppositional behaviours. J Pediatr 2003; 143(1): 104-10.
5. Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, Cradock MM, Anand KJS. Cognitive and behavioural outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. JAMA 2002; 288(6):728-37.
6. Kratochvil CJ, Vaughan BS, Harrington MJ, Burke WJ. Atomoxetine: a selective noradrenaline reuptake inhibitor for the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. Expert Opin Pharmacother 2003; 4(7): 1165-74.
7. Silver LB. Alternative (Nonstimulant) Medications in the Treatment of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder in Children; Pediatric Clin North Am 1999; 46(5): 965-75.
8. Horrigan JP, Barnhill LJ. Guanfacine for Treatment of Attention-deficit Hyperactivity Disorder in Boys. J Child and Adoles Psychopharmacol 1995; 5(3): 215-23.
9. Hunt RD, Arnsten AFT, Asbell MD. An Open Trial of Guanfacine in the Treatment of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. J. Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1995; 34(1): 50-4.
10. Scahill L, Chappell PB, Kim YS, *et al.* A Placebo-controlled Study of Guanfacine in the Treatment of Children with Tic Disorders and Attention Deficit Hyperactivity Disorder. Am J Psychiatry 2001; 158: 1067-74.
11. Taylor FB, Russi J. Comparing Guanfacine and Dextroamphetamine for the Treatment of Adult ADHD. J Clin Psychopharmacol 2001; 21(2): 223-8.
12. Devedjian J-C, Esclapez F, Denis-Pouxviel C, Paris H. Further characterization of human  $\alpha_2$ -adrenoceptor subtypes: [ $^3$ H]RX821002 binding and definition of additional selective drugs. Eur J Pharmacol 1994; 252: 43-9.
13. MacLennan SJ, Luong LA, Jasper JR, To ZP, Eglen RM. Characterization of  $\alpha_2$ -adrenoceptors mediating contraction of dog saphenous vein: identity with the human  $\alpha_{2A}$  subtype. Br J Pharmacol 1997; 121: 1721-9.

14. Newman-Tancredi A, Nicolas JP, Audinot V, *et al.* Actions of  $\alpha_2$ -adrenoceptor ligands at  $\alpha_{2A}$  and 5-HT<sub>1A</sub> receptors: the antagonist, atipamezole, and the agonist, dexmedetomidine, are highly selective for  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1998; 358: 197-206.
15. Renouard A, Widdowson PS, Millan MJ. Multiple  $\alpha_2$ -adrenergic receptor subtypes. 1. Comparison of [<sup>3</sup>H]RX821002-labeled rat R $\alpha_{2A}$ -adrenergic receptors in cerebral cortex to human H $\alpha_{2A}$ -adrenergic receptor and other populations of  $\alpha_2$ -adrenergic subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270:946-57.
16. Uhlén S, Wikberg JES. Delineation of three pharmacological subtypes of  $\alpha_2$ -adrenoceptor in the rat kidney. *Brit J Pharmacol* 1991; 104: 657-64.
17. Uhlén S, Wikberg JES. Delineation of Rat Kidney  $\alpha_{2A}$ - and  $\alpha_{2B}$ -Adrenoceptors with [<sup>3</sup>H]RX821002 Radioligand Binding: Computer Modelling Reveals that Guanfacine is an  $\alpha_{2A}$ -Selective Compound. *Eur J Pharmacol* 1991; 202: 235-45.
18. Uhlén S, Xia Y, Chhajlani V, Felder CC, Wikberg JES. [<sup>3</sup>H]-MK912 Binding Delineates Two  $\alpha_2$ -Adrenoceptor Subtypes in Rat CNS one of which is Identical with the Cloned pA2d  $\alpha_2$ -Adrenoceptor. *Br J Pharmacol* 1992; 106: 968-95.
19. Uhlén S, Porter AC, Neubig RR. The Novel *Alpha-2* Adrenergic Radioligand [<sup>3</sup>H]-MK912 is *Alpha-2C* Selective among Human *Alpha-2A*, *Alpha-2B* and *Alpha-2C* Adrenoceptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 1558-65.
20. Uhlén S, Muceniece R, Rangel N, Tiger G, Wikberg JES. Comparison of the Binding Activities of Some Drugs on  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  and  $\alpha_{2C}$ -Adrenoceptors and Non-Adrenergic Imidazoline Sites in the Guinea Pig. *Pharmacol Toxicol* 1995; 76: 353-64.
21. Xia Y, Uhlén S, Chhajlani V, Lien EJ, Wikberg JES. Further evidence for the existence of two forms of  $\alpha_{2B}$ -adrenoceptors in rat. *Pharmacol Toxicol* 1993; 72: 40-9.
22. Sagvolden T. Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24: 31-9.
23. Huang XP, Setola V, Yadav PN, *et al.* Parallel functional activity profiling reveals valvulopathogens are potent 5-hydroxytryptamine<sub>2B</sub> receptor agonists: implications for drug safety assessment. *Molecular Pharmacology* 2009; 76: 710-22.
24. Elangbam CS, Job LE, Zadrozny LM, *et al.* 5-Hydroxytryptamine (5HT)-induced valvulopathy: Compositional valvular alterations are associated with 5HT<sub>2B</sub> receptor and 5HT transporter transcript changes in Sprague-Dawley rats. *Exp Toxicologic Pathol* 2008; 60: 253-62.
25. Droogmans S, Franken PR, Garbar C, *et al.* In vivo model of drug-induced valvular heart disease in rats: pergolide-induced valvular heart disease demonstrated with echocardiography and correlation with pathology. *Eur Heart J* 2007; 28: 2156-62.
26. Connolly HM, Crary JL, McGoon MD, *et al.* Valvular heart disease associated with fenfluramine-phentermine. *N Engl J Med* 1997; 337: 581-8.
27. Elangbam CS. Drug-induced valvulopathy: an update. *Toxicol Pathol* 2010; 38: 837-48.
28. Sullivan AF, Dashwood MR, Dickenson AH.  $\alpha_2$ -Adrenoceptor modulation of nociception in rat spinal cord: location, effects and interaction with morphine. *Eur J Pharmacol* 1987; 138:169-77.

29. Wilcox GL, Carlsson KH, Jochim A, Jurna I. Mutual potentiation of antinociceptive effects of morphine and clonidine in rat spinal cord. *Brain Res* 1987; 405:84-93.
30. Yaksh TL. Pharmacology of spinal adrenergic systems which modulate spinal nociceptive processing. *Pharmacol Biochem Behav* 1985; 22: 845-58.
31. Kunchandy J, Kulkarni SK. Modulatory effect of  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists on Ro 5-4864-induced convulsions in rats and mice. *Psychopharmacol* 1987; 93: 113-7.
32. Kunchandy J, Kulkarni SK. Hypoxic stress-induced convulsion and death: protective effect of  $\alpha_2$ -adrenoceptor and benzodiazepine receptor agonists and Ro 5-4864. *Arch Int Pharmacodyn* 1988; 292: 35-44.
33. Papanicolaou J, Summers RJ, Vajda FJE, Louis WJ. The relationship between  $\alpha_2$ -adrenoceptor selectivity and anticonvulsant effect in a series of clonidine-like drugs. *Brain Res* 1982; 241:393-97.
34. Szot P, Lester M, Laughlin ML, Palmiter RD, Liles LC, Weinshenker D. The anticonvulsant and proconvulsant effects of  $\alpha_2$ -adrenoreceptor agonists are mediated by distinct populations of  $\alpha_{2A}$ -adrenoreceptors. *Neurosci* 2004; 126: 795-803.
35. Kulkarni SK, Mehta AK, Kunchandy J. Anti-inflammatory actions of clonidine, guanfacine and B-HT 920 against various inflammagen-induced acute paw oedema in rats. *Arch Int Pharmacodyn* 1986; 279: 324-34.
36. Post C, Gordh T, Minor BG, Archer T, Freedman J. Antinociceptive effects and spinal cord tissue concentrations after intrathecal injection of guanfacine or clonidine into rats. *Anesth Analg* 1987; 66: 317-24.
37. Yaksh TL, Pogrel JW, Lee YW, Chaplan SR. Reversal of nerve ligation-induced allodynia by spinal  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272: 207-14.
38. Barnes NM, Cheng CHK, Costall B, Ge J, Kelly ME, Naylor RJ. Profiles of interaction of R(+)/S(-)-zacopride and anxiolytic agents in a mouse model. *Eur J Pharmacol* 1992; 218:91-100.
39. Morrow BA, George TP, Roth RH. Noradrenergic  $\alpha_2$  agonists have anxiolytic-like actions on stress-related behavior and mesoprefrontal dopamine biochemistry. *Brain Res* 2004; 1027: 173-8.
40. La Marca S, Dunn RW. The  $\alpha_2$  antagonists, idazoxan and rauwolscine, but not yohimbine or piperoxan, are anxiolytic in the Vogel lick-shock conflict paradigm following intravenous administration. *Life Sci* 1994; 54: 179-84.
41. Hayes AG, Skingle M, Tyers MB.  $\alpha$ -Adrenoceptor-mediated antinociception and sedation in the rat and dog. *Neuropharmacol* 1986; 25: 391-6.
42. Rotiroti D, Silvestri R, De Sarro GB, Bagetta G, Nisticò G. Evidence that behavioural and electrocortical sleep induced by guanfacine is due to stimulation of  $\alpha_2$ -adrenoceptors. *J Psychiat Res* 1982/83; 17: 231-9.
43. Arnsten AFT, Cai JX, Goldman-Rakic PS. The  $\alpha_2$ -adrenergic agonist guanfacine improves memory in aged monkeys without sedative or hypotensive side-effects: evidence for  $\alpha_2$  receptor subtypes. *J Neurosci* 1988; 8:4287-98.

44. Witte EA, Marrocco RT. Alteration of brain noradrenergic activity in rhesus monkeys affects the alerting component of covert orienting. *Psychopharmacol* 1997; 132: 315-23.
45. Franowicz JS, Arnsten AFT. The  $\alpha_2A$ -noradrenergic agonist, guanfacine, improves delayed response performance in young adult rhesus monkeys. *Psychopharmacol* 1998; 136: 8-14.
46. Kugler J, Seus R, Krauskopf R, Brecht HM, Raschig A. Differences in psychic performance with guanfacine and clonidine in normotensive subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1980; 10: 71S-80S.
47. Docherty JR. Subtypes of functional  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptors. *Eur J of Pharmacol* 1998; 361: 1-15.
48. Doxey JC, Frank LW, Hersom AS. Studies on the pre- and post-junctional activities of  $\alpha$ -adrenoceptor agonists and their cardiovascular effects in the anaesthetized rat. *J Autonom Pharmacol* 1981; 1: 157-69.
49. Salzmann R. The effects of treatment and of withdrawal of treatment with guanfacine and clonidine on blood pressure and heart rate in normotensive and renal hypertensive rats. *J Pharm Pharmacol* 1979; 31: 212-6.
50. Salzmann R, Gerber W, Pally CH, Scholtysik G. Effects of the vasodilator endralazine given with the antihypertensive agent guanfacine on heart rate and blood pressure of spontaneously hypertensive rats and normotensive dogs. *J Pharm Pharmacol* 1983; 35: 293-8.
51. Fischetti F, Fabris B, Calci M *et al.* Effects of central  $\alpha_2$ -adrenergic agonists on systemic haemodynamics and on baroreceptor reflex sensitivity in spontaneously hypertensive rats. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1994; 70: 279-86.
52. Koike Y, Togashi H, Shimamura K, Yomaida I, Saito H. Effects of abrupt cessation of treatment with clonidine and guanfacine on blood pressure and heart rate in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens* 1981; 3: 103-20.
53. Thoolen MJMC, Hendriks JCA, Timmermans PB, van Zwieten PA. Precipitation by yohimbine of the withdrawal syndromes of clonidine, guanfacine, and methyl dopa in the spontaneously hypertensive rat. *J Cardio Pharmacol* 1983; 5: 224-8.
54. Oates HF, Stoker LM, MacCarthy EP, Monaghan JC, Stokes GS. Comparative haemodynamic effects of clonidine and guanfacine. *Arch Int Pharmacodyn* 1978; 231:148-56.
55. MacMillan LB, Hein L, Smith MS, Piascik MT, Limbird LE. Central hypotensive effects of the  $\alpha_{2A}$ -adrenergic receptor subtype. *Science* 1996; 273: 801-3.
56. Link RE, Desai K, Hein L, *et al.* Cardiovascular regulation in mice lacking  $\alpha_2$ -adrenergic receptor subtypes b and c. *Science* 1996; 273:803-5.
57. Hof RP, Fozard JR. 8-OH-DPAT, flesinoxan and guanfacine: systemic and regional haemodynamic effects of centrally acting antihypertensive agents in anaesthetized rabbits. *Br J Pharmacol* 1989; 96: 864-71.
58. Hof RP, Hof A. Differential effects of antihypertensive drugs on nutritive and nonnutritive blood flow in anaesthetized rabbits. *J Cardio Pharmacol* 1989; 13: 565-71.
59. Otorii T, Ohkubo K, Suzuki K. Antagonism of hypotensive and bradycardic effects of centrally administered guanfacine by metiamide in anesthetized rabbits. *Jpn Heart J* 1985; 26: 557-84.

60. Franowicz JS, Arnsten AFT. Actions of  $\alpha_2$  noradrenergic agonists on spatial working memory and blood pressure in rhesus monkeys appear to be mediated by the same receptor subtype. *Psychopharmacol* 2002; 162: 304-12.
61. Berkowitz DE, Price DT, Bello EA, Page SO, Schwinn DA. Localization of messenger RNA for three distinct  $\alpha_2$ -adrenergic receptor subtypes in human tissues. Evidence for species heterogeneity and implications for human pharmacology. *Anesthesiol* 1994; 81:1235-44.
62. De Vos H, Vauquelin G, De Keyser J, De Backer J-P, Van Liefde I. Regional distribution of  $\alpha_{2A}$ - and  $\alpha_{2B}$ -adrenoceptor subtypes in postmortem human brain. *J Neurochem* 1992; 58: 1555-60.
63. Perälä M, Hirvonen H, Kalimo H, *et al.* Differential expression of two  $\alpha_2$ -adrenergic receptor subtype mRNAs in human tissues. *Mol Brain Res* 1992; 16: 57-63.
64. Sastre M, Garcia-Sevilla JA.  $\alpha_2$ -Adrenoceptor subtypes identified by [ $^3$ H]RX821002 binding in the human brain: the agonist guanoxabenz does not discriminate different forms of the predominant  $\alpha_{2A}$  subtype. *J Neurochem* 1994; 63: 1077-85.
65. Molderings GJ, Gothert M. Subtype determination of presynaptic  $\alpha_2$ -autoreceptors in the rabbit pulmonary artery and human saphenous vein. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995; 352: 483-90.
66. Gazzola C.  $\alpha_2$ -Adrenoceptor-mediated effects on resting energy expenditure. *Int J Obes* 1993; 17: 637-41.
67. Gazzola C. The effect of the  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist, guanfacine, on energy expenditure, intake and deposition in rats. *Comp Biochem Physiol* 1995; 112: 29-34.
68. Sillence MN, Tudor GD, Matthews ML, Lindsay DB. Effects of the  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist guanfacine on growth and thermogenesis in mice. *J Anim Sci* 1992; 70: 3429-34.
69. Kang BY, Lee SW, Kim TS. Stimulation of interleukin-12 production in mouse macrophages via activation of p38 mitogen-activated protein kinase by  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists. *Eur J Pharmacol* 2003; 467: 223-31.
70. Watanabe K, Hayasaka S, Hiraki S, Matsumoto M, Kadoi C, Nagaki Y. Effects of  $\alpha_2$ -adrenergic agonists on lipopolysaccharide-induced aqueous flare elevation in pigmented rabbits. *Jpn J Ophthalmol* 2001; 45: 221-6.
71. Solanto MV. Dopamine dysfunction in AD/HD: integrating clinical and basic neuroscience research. *Behav Brain Res* 2002; 130: 65-71.
72. Varga G, Papp M, Vizi ES. Cholinergic and adrenergic control of enzyme secretion in isolated rat pancreas. *Dig Dis Sci* 1990; 35: 501-7.
73. Yanagihara N, Wada A, Izumi F. Effects of  $\alpha_2$ -adrenergic agonists on carbachol-stimulated catecholamine synthesis in cultured bovine adrenal medullary cells. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 3823-8.
74. Togashi H, Minami M, Saito I, Sano M. Guanfacine and clonidine: the effects on adrenal medullary function in spontaneously hypertensive rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1984; 272: 79-87.



75. 中島敏夫, 北川行夫, 石川 浩, 他. BS 100-141 の急性および亜急性毒性試験. 基礎と臨床 1980; 14 (14): 4511-29.
76. 中島敏夫, 北川行夫, 石川 浩, 他. BS 100-141 のラットにおける慢性毒性試験. 基礎と臨床 1980; 14 (14): 4531-50.
77. Bissonnette JM, Knopp SJ, Wright DM, MacMillan LB. Respiratory pattern and hypoxic ventilatory response in mice functionally lacking  $\alpha_{2A}$ -adrenagic receptors. In: Poon & Kazeni ed. "Frontiers in Modeling and Control of Binding." New York. Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2001 pp201-8.
78. Smith BD, Baudendistel LJ, Gibbons JJ, Schweiss JF. A comparison of two epidural  $\alpha_2$ -agonists, guanfacine and clonidine, in regard to duration of antinociception, and ventilatory and hemodynamic effects in goats. *Anesth Analg* 1992; 74: 712-8.
79. O'Halloran KD, Herman JK, Bisgard GE.  $\alpha_{2A}$ -Adrenoceptor mediated tachypnea in awake goats. *Res Physiol* 2001; 125: 169-79.
80. Lorenz W, Lomasney JW, Collins S, Regan JW, Caron MG, Lefkowitz RJ. Expression of three  $\alpha_2$ -adrenergic receptor subtypes in rat tissues: implications for  $\alpha_2$  receptor classification. *Mol Pharm* 1990; 38: 559-603.
81. Shockley DC, Wade LH, Williams-Johnson MM. Effects of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor agonists on induced diuresis in rats. *Life Sci* 1993; 53: 251-9.
82. Penner SB, Mueller HA, Smyth DD.  $\alpha_2$ -Adrenoceptor stimulation in the periventricular nucleus increases urine flow rate with minimal effects on blood pressure. *Proc West Pharmacol Soc* 2002; 45: 13-4.
83. Intengan HD, Smyth DD.  $\alpha_{2A/D}$ -Adrenoceptor subtype stimulation by guanfacine increases osmolar clearance. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281:48-53.
84. Blandizzi C. Enteric alpha-2-adrenoceptors: pathophysiological implications in functional and inflammatory bowel disorders. *Neurochem Int* 2007; 51:282-8.
85. Liu L, Coupar IM. Characterisation of pre- and post-synaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptors in modulation of the rat ileum longitudinal and circular muscle activities. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997; 356: 248-56.
86. Medgett IC, McCulloch MW. Effects of clonidine, guanfacine and three imidazolidine derivatives related to clonidine on blood pressure, heart rate and gastric acid secretion in the anaesthetized rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1979; 240:158-68.
87. Kunchandy J, Khanna S, Kulkarni SK. Effect of  $\alpha_2$  agonists clonidine, guanfacine and B-HT 920 on gastric acid secretion and ulcers in rats. *Arch Int Pharmacodyn* 1985; 275: 123-38.
88. Kamimura S, Okuda M, Kitahara N, *et al.* Metabolic studies on *N*-amidino-2-(2,6-dichlorophenyl)-acetamide hydrochloride (guanfacine), a new antihypertensive agent (1) absorption, distribution and excretion in rats after single and repeated oral administration. *Ôyô Yakuri* 1980; 20 (5): 741-4.
89. Kamimura S, Okuda M, Totori T, *et al.* Metabolic studies on *N*-amidino-2-(2,6-dichlorophenyl)-acetamide hydrochloride (guanfacine), a new antihypertensive agent (3) placental transfer and metabolites in fetus of rats. *Ôyô Yakuri* 1980; 20 (5): 753-5.

90. Carchman SH, Crowe JT, and Wright GJ. The bioavailability and pharmacokinetics of guanfacine after oral and intravenous administration to healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 1987; 27: 762-7.
91. Kiechel JR. Pharmacokinetics and metabolism of guanfacine in man: a review. *Br J Clin. Pharmacol* 1980; 10: 25S-32S.
92. Eagling VA, Tjia JF, Back DJ. Differential selectivity of cytochrome P450 inhibitors against probe substrates in human and rat liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 107-14.
93. Clement B and Demesmaeker M. Microsomal catalysed *N*-hydroxylation of guanfacine and reduction of *N*-hydroxyguanfacine. *Arch Pharm Pharm Med Chem* 1997; 330: 303-6.
94. 厚生労働省医薬食品局審査管理課. 医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン (最終案). 平成 26 年 7 月 8 日.
95. 江崎孝三郎, 平山三船. BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響. I. 妊娠前および妊娠初期投与試験. 実中研・前臨床 1979; 5 (2): 107-15.
96. 江崎孝三郎, 平山三船. BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響. II. 器官形成期投与試験. 実中研・前臨床 1979; 5 (2): 117-23.
97. 江崎孝三郎, 平山三船. BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響. III. 周産期および授乳期投与試験. 実中研・前臨床 1979; 5 (2): 125-8.
98. 江崎孝三郎, 中山太郎. BS 100-141 の経口投与がウサギの胎仔に及ぼす影響. 実中研・前臨床 1979; 5 (2): 129-36.
99. 江崎孝三郎, 大塩恵子, 山口和子. BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響. IV. 胎仔の器官形成期投与試験における胎仔の内臓および次世代の行動観察. 実中研・前臨床研究報 1980; 6 (2): 105-16.
100. 江崎孝三郎, 大塩恵子, 山口和子. BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響. V. 周産期および授乳期投与試験における次世代の行動観察. 実中研・前臨床研究報 1980; 6 (2): 117-22.
101. Imaoka S, Yamada T, Hiroi T et al. Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*: Systematic characterization and comparison with those of the rat. *Biochem Pharmacol.* 1996; 51: 1041-50.
102. 厚生労働省医薬食品局審査管理課. 医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイドランス. 平成 22 年 2 月 19 日.
103. 厚生労働省医薬食品局審査管理課. 「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイドランス」に関する質疑応答集 (Q&A). 平成 24 年 8 月 16 日.
104. Hewitt NJ, Lecluyse EL, Ferguson SS. Induction of hepatic cytochrome P450 enzymes: methods, mechanisms, recommendations, and in vitro-in vivo correlations. *Xenobiotica* 2007; 37 (10-11): 1196-224.
105. 上山真史, 小林一郎, 丸尾浩樹, 他. クロニジンおよび塩酸クロニジンのラットにおける 13 週間反復皮下投与毒性試験ならびに 4 週間回復性試験. *基礎と臨床* 1992; 26 (13): 4843-75.

106. Hurley LS. Nutritional Deficiencies and Excesses. In: Wilson JG, Franser FC, editors. Handbook of Teratology, 1st ed. New York: Plenum Press; 1977. p. 261-308.
107. Smithberg M, Runner MN. Teratogenic effects of hypoglycemic treatments in inbred strains of mice. Am J Anat 1963; 113: 479-89.