

セイブル^{*}錠 25mg
セイブル^{*}錠 50mg
セイブル^{*}錠 75mg

第 2 部（モジュール 2）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

- 2.6.2 薬理試験の概要文
- 2.6.3 薬理試験概要表

株式会社 三和化学研究所

* 部会後に販売名をグリセットからセイブルに変更したため，新薬承認情報提供時に置き換えた

略語一覧

略語	省略していない表現
A	
AUC _{0-t}	(0～t時間までの)濃度 - 時間曲線下面積
AUC _{0-t}	(0～t時間までの)濃度 - 時間曲線下面積の増加分
α -GI	α -グルコシダーゼ阻害剤
B	
BG 剤	ビグアナイド系薬剤
C	
CYP	チトクローム P450
C _{max}	最高血漿中濃度
E	
ED ₅₀	50%有効用量
F	
FFA	遊離脂肪酸
G	
GLUT5	促進拡散型グルコース輸送担体 GLUT5
H	
HbA _{1C}	Hemoglobin A _{1C} (糖化ヘモグロビン)
K	
Ki	Inhibitor constant (阻害定数)
O	
OGTT	経口グルコース負荷試験
S	
SGLT1	Na ⁺ /グルコース共輸送担体 SGLT1
SI	スクラーゼ-イソマルターゼ複合体
STZ	ストレプトゾトシン
SU 剤	スルホニルウレア系薬剤
T	
TG	トリグリセリド

目 次

2.6.2 薬理試験の概要文	1
2.6.2.1 まとめ	1
(1) 効力を裏付ける試験	1
(2) 副次的薬理試験	2
(3) 安全性薬理試験	3
(4) 薬力学的薬物相互作用試験	4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験	5
(1) 二糖類水解酵素に対する阻害作用	5
(2) 正常動物に対する作用	7
(3) 作用機序	13
(4) 病態モデル動物に対する作用	15
2.6.2.3 副次的薬理試験	28
(1) 消化管以外に存在する α -グルコシダーゼに対する阻害作用	28
(2) 類似構造物に特徴的な α -グルコシダーゼ阻害作用が及ぼす影響	29
(3) 消化酵素及び糖代謝の主要酵素に対する阻害作用	35
(4) 血糖降下因子に及ぼす影響	36
(5) 脂質の吸収及び代謝に及ぼす影響	39
2.6.2.4 安全性薬理試験	41
(1) 安全性薬理コアバッテリー試験	41
(2) 補足的安全性薬理試験	42
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験	48
(1) インスリン製剤との相互作用	48
(2) SU 剤との相互作用	48
(3) BG 剤との相互作用	49
2.6.2.6 考察及び結論	51
(1) 効力を裏付ける試験	51
(2) 副次的薬理試験	53
(3) 安全性薬理試験	55
(4) 薬力学的薬物相互作用試験	57
(5) 結論	58
2.6.3 薬理試験概要表	59
2.6.3.1 薬理試験：一覧表	59
2.6.3.2 効力を裏付ける試験	63
2.6.3.3 副次的薬理試験	67
2.6.3.4 安全性薬理試験	69
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験	73

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

(1) 効力を裏付ける試験

ミグリトールは、小腸粘膜上皮細胞の刷子縁に存在する二糖類水解酵素を阻害して糖質吸収を遅延させ、食後高血糖を改善する α -グルコシダーゼ阻害剤(α -GI)である。そこで、ラット小腸二糖類水解酵素に対する阻害作用を評価し、類薬と比較した。また、正常ラット及び非肥満2型糖尿病モデルのGKラットを用いて糖質負荷後の血糖上昇抑制作用を検討し、GKラットの糖尿病病態の改善作用を評価した。その他の糖尿病モデル動物及び肥満モデル動物を用いた公表論文も引用し、ミグリトールの有効性を評価した。

1) 二糖類水解酵素に対する阻害作用

ミグリトールは、ラット小腸由来の二糖類水解酵素を競合的に阻害した。スクラーゼ-イソマルターゼ複合体(SI)のスクラーゼ活性及びイソマルターゼ活性に対する阻害作用は、アカルボースより強く、ボグリボースとほぼ同程度の強い作用であった。

2) 正常動物に対する作用

糖質負荷後の血糖上昇抑制作用

正常ラットにミグリトールを糖質と同時に経口投与すると、糖質の種類にかかわらず、用量に依存して負荷後60分までの血糖上昇を抑制した。スクロース負荷後の血糖上昇抑制作用に対する50%有効用量(ED_{50} 値)は3 mg/kgであった。一方、ミグリトールはグルコース負荷後の血糖上昇を抑制しなかった。

消化管の糖質吸収に対する作用

正常ラットにミグリトールをスクロースと同時に経口投与し、血糖値、肝グリコーゲン含量及び消化管のスクロース残存量から糖質吸収に対する作用を評価した。その結果、ミグリトール30 mg/kgでは糖質吸収が強く阻害された。これに対し、10 mg/kg以下では対照に比べて小腸から緩やかに吸収され、糖質の吸収量に影響することなく用量に応じて糖質吸収が遅延した。

3) 病態モデル動物に対する作用

糖質負荷後の血糖上昇抑制作用

a) 非肥満2型糖尿病モデル

GKラットにミグリトール(3, 10 mg/kg)をスクロースと同時に経口投与すると、用量に依存して糖質負荷後の血糖上昇を抑制した。ボグリボースは0.125 mg/kgで対照群に比べてスクロース負荷後の血糖上昇を31%抑制したが、有意ではなかった。

b) その他の糖尿病モデル及び肥満モデル

非肥満実験的2型糖尿病モデルの新生児ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット

(n0-STZ ラット), 肥満 2 型糖尿病を誘発させたスナネズミ (*Psammomys obesus*) 及び 1 型糖尿病モデルの STZ 誘発糖尿病ラットに対し, ミグリトールは糖質負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制することが確認された。

肥満モデルの JCR:LA-cp ラットに対し, 食後血糖上昇及びインスリン分泌を用量に依存して抑制することが確認された。

糖尿病病態の改善作用

a) 非肥満 2 型糖尿病モデル

GK ラットにミグリトール (400 ppm) を高スクロース・高脂肪食とともに 8 週間混餌投与すると, 糖化ヘモグロビン (HbA_{1C}) の増加を抑制した。また, 膵島の変形, 分葉化及び繊維化, 並びに膵臓実質組織内 β 細胞面積比率の減少を抑制する傾向を示した。

b) その他の糖尿病モデル及び肥満モデル

肥満 2 型糖尿病モデルの db/db マウスにミグリトールを 12 週間混餌投与すると, 空腹時血糖値及び尿糖排泄量の低下, 腎メサンギウム領域の拡大及び免疫グロブリン沈着の抑制が確認された。また, SHR/N-cp ラットに 7 週間混餌投与すると, HbA_{1C} 及び肝グルコキナーゼ活性の増加抑制, 経口グルコース負荷試験 (OGTT) における耐糖能の改善及びインスリン追加分泌の抑制が確認された。

肥満モデルの LA/N-cp ラットにミグリトールを 7 週間混餌投与すると, 尿糖排泄量, インスリン分泌及び HbA_{1C} の増加抑制が確認された。また, JCR:LA-cp ラットに 6 週間混餌投与すると, 食事負荷試験における耐糖能の改善及びインスリン追加分泌の抑制が確認された。

(2) 副次的薬理試験

1) 消化管以外の α -グルコシダーゼに対する阻害作用

ミグリトールは, ラット肝臓のリソソーム中 α -グルコシダーゼ活性を競合的に阻害し, その作用はボグリボースと同等でアカルボースより強かった。ラット骨格筋のアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性に対し, アカルボースは阻害作用を示さなかったが, ミグリトールは非競合的にボグリボースよりも強く阻害した。また, Wisselaar らは, ミグリトールがヒト肝癌由来細胞 HepG2 及びヒト線維芽細胞のリソソーム中 α -グルコシダーゼ及び中性 α -グルコシダーゼを可逆的に阻害することを報告した。

2) 類似構造物に特徴的なグルコシダーゼ阻害作用が及ぼす影響

肝グリコーゲン代謝に及ぼす影響

ラット単離肝細胞を用いた *in vitro* 試験で, 高濃度 (300 μ g/mL) のミグリトールはグルカゴンで誘発したグリコーゲン分解を抑制したが, ラット *in vivo* 試験では 100 mg/kg の経口投与でも肝グリコーゲン分解に影響を及ぼさなかった。

糖たん白質の糖鎖生合成に及ぼす影響

Ludolph らは, ラット単離肝細胞を用いた *in vitro* 試験で, ミグリトール (0.5 mmol/L,

約 100 μ g/mL) が糖たん白質の糖鎖プロセッシングに影響を及ぼすことを確認したが、この作用は可逆的であり、糖たん白質の生合成及び分泌には影響しないことを報告した。

虚血性心筋障害に及ぼす影響

Minatoguchi らは、ウサギ虚血再灌流モデルにミグリトール (5, 10 mg/kg) を心筋梗塞誘発前に静脈内投与すると、梗塞サイズが縮小することを報告した。

3) 消化酵素及び糖代謝の主要酵素に対する阻害作用

ミグリトールは、精製酵素を用いた *in vitro* 試験で、たん白質、脂質及び核酸の消化酵素、並びに細胞内の糖代謝に関与する主要酵素の活性に影響を及ぼさなかった。

4) 血糖降下因子に及ぼす影響

ミグリトールは、マウス単離膵島及びラットのインスリン分泌、マウス筋肉のグルコース取込み、並びにラット単離脂肪細胞のグルコース代謝に直接影響を及ぼさなかった。

5) 脂質の吸収及び代謝に及ぼす影響

ミグリトールは、ラット反転腸管のタウロコール酸吸収に影響を及ぼさなかった。正常ラット、糖尿病モデル動物及び肥満モデル動物の血中脂質に影響を及ぼさなかった。

(3) 安全性薬理試験

1) コアバッテリー試験及びその他の補足的安全性薬理試験

ミグリトールは、100 mg/kg の単回経口投与で中枢神経系、心血管系、呼吸系、腎・泌尿器系、自律神経系、胃腸管系及び血液系に対し、特に問題となる作用を示さなかった。また、絶食時の血糖値に影響を及ぼさなかった。

2) 消化管に及ぼす影響

ラットにミグリトール (400, 800 ppm) を 3, 7, 14 及び 28 日間混餌投与すると、順応的に小腸下部に二糖類水解酵素活性が発現したが、この変化は可逆的であった。このとき、SI のたん白質量は増大したが、SI 及び Na^+ /グルコース共輸送担体 (SGLT1) の mRNA 量に明確な変化は認められなかった。また、ラットにミグリトール (400 ppm) を 2 及び 4 週間混餌投与すると、腸内細菌叢組成に軽微な変化が認められたが、盲腸重量、盲腸内 pH 及びアンモニア濃度にはほとんど影響を及ぼさなかった。

3) 肝グリコーゲン蓄積に及ぼす影響

ラットに高用量のミグリトール (400 mg/kg 経口, 4000 ppm 混餌, 200 mg/kg 腹腔内) を 29 日間反復投与すると、肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積が極めて散発的に認められたが、リソソームの形状に異常は見られなかった。また、Lembcke らは、ラットにミグリトール (500 mg/kg) を 28 日間経口投与しても肝リソソーム内への軽微なグリコーゲン蓄積が散発的にしか認められないことを報告した。

4) 肝薬物代謝酵素に及ぼす影響

アカルボース (400, 800 ppm) を 3 週間混餌投与すると CYP2E1 が誘導され、アセトアミノフェンを併用した場合にその代謝物の増加による肝障害の増悪が報告されているため、ミグリトールによる影響を検討した。その結果、ラットにミグリトール (400, 800 ppm) を 28 日間混餌投与しても CYP2E1 は誘導されなかった。

(4) 薬力学的薬物相互作用試験

ミグリトールは、インスリン製剤、スルホニルウレア系薬剤 (SU 剤) のグリベンクラミド及びビグアナイド系薬剤 (BG 剤) の塩酸メトホルミンの作用に影響を及ぼさなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

α -GI は、小腸における糖質吸収を遅延させて食後の血糖上昇を抑制する。ミグリトールの効力を裏付ける試験として、ラット小腸の精製二糖類水解酵素を用いた *in vitro* 試験を行い、二糖類水解酵素阻害作用を類薬と比較した。次いで、*in vivo* 試験として、正常動物を用いた糖質負荷後の血糖上昇抑制作用及び消化管の糖質吸収に対する作用を検討した。さらに、種々の糖尿病モデル動物及び肥満モデル動物を用いてミグリトールの有効性を検討した。試験方法及び成績の概要は、概要表の表 2.6.3.2 に示した。

(1) 二糖類水解酵素に対する阻害作用 [4.2.1.1(1)二糖類水解酵素阻害]

ラット小腸由来の精製二糖類水解酵素に対するミグリトールの阻害作用を評価し、阻害定数 (K_i) 及び阻害様式を求め、アカルボース及びボグリボースと比較した。

ミグリトールは、ラット小腸から精製したスクラーゼ-イソマルターゼ複合体 (SI) のスクラーゼ活性、イソマルターゼ活性及びグルコアミラーゼ-マルターゼ複合体のマルターゼ活性を阻害した。スクラーゼ活性に対する K_i 値は $0.087 \mu\text{mol/L}$ で、アカルボースの約 6 倍、ボグリボースの約 $1/3.6$ 倍の強さであった。一方、イソマルターゼ活性に対する K_i 値は $0.45 \mu\text{mol/L}$ で、ボグリボースとほぼ同程度でアカルボースの約 120 倍の強さであった。また、マルターゼ活性に対する K_i 値は $0.38 \mu\text{mol/L}$ で、アカルボースの約 $1/67$ 倍及びボグリボースの約 $1/18$ 倍の強さであった [表 2.6.2.2-1]。これらの二糖類水解酵素に対するミグリトールの阻害様式は、アカルボース及びボグリボースと同様競合型であった [図 2.6.2.2-1]。

求めた K_i 値は、Samulitis ら¹⁾が報告したミグリトール及びアカルボースの阻害成績とよく一致した [表 2.6.2.2-2]。また、Samulitis らは、ミグリトールがラット膵 α -アミラーゼ活性を阻害せず、ラクターゼ及びトレハラーゼ活性を阻害することを報告している [表 2.6.2.2-2]。

ミグリトールは、小腸の二糖類水解酵素を競合的に阻害し、スクラーゼ活性及びイソマルターゼ活性に対する阻害作用はボグリボースとほぼ同程度の強い作用であると考えられた。

表 2.6.2.2-1 ラット小腸由来の精製二糖類水解酵素に対する阻害定数
[4.2.1.1(1)二糖類水解酵素阻害]

	K_i ($\mu\text{mol/L}$)		
	ミグリトール	アカルボース	ボグリボース
スクラーゼ-イソマルターゼ複合体			
スクラーゼ	0.087	0.54	0.024
イソマルターゼ	0.45	55	0.27
グルコアミラーゼ-マルターゼ複合体			
マルターゼ	0.38	0.0057	0.021

K_i : 酵素-阻害剤複合体の結合解離定数。値は平均で示す ($n=3$)。

1) Samulitis BK, Goda T, Lee SM, Koldovsky O. Inhibitory mechanism of acarbose and 1-deoxynojirimycin derivatives on carbohydrases in rat small intestine. *Drugs Exp Clin Res.* 1987;13:517-24.

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

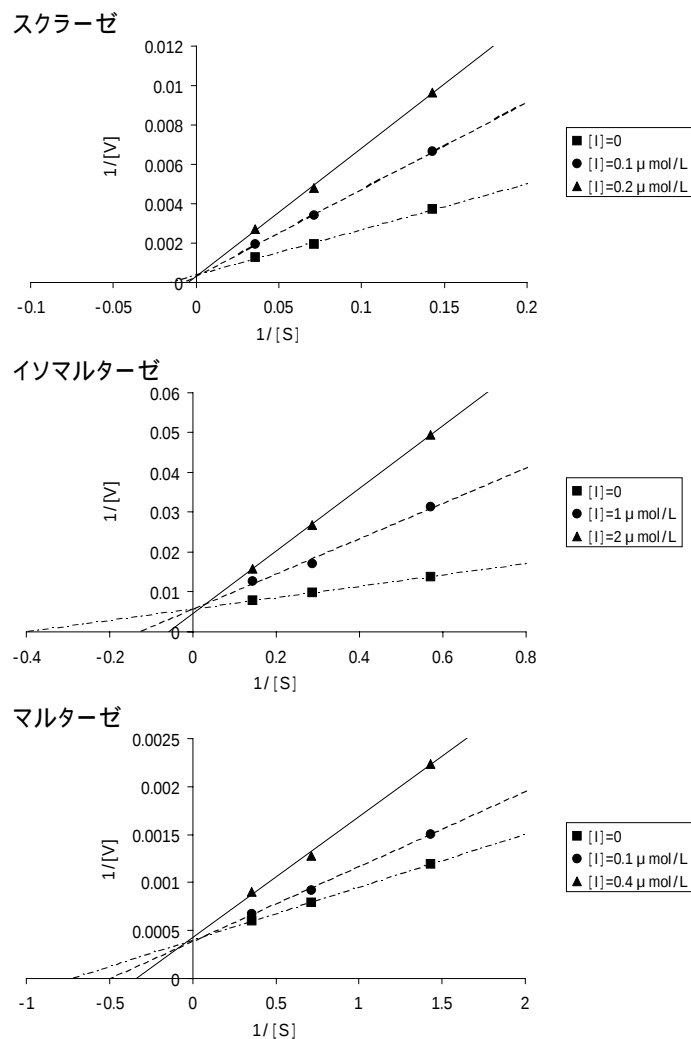


図 2.6.2.2-1 ラット小腸由来の精製二糖類水解酵素に対する阻害様式

[4.2.1.1(1)二糖類水解酵素阻害]

[V] は酵素たん白質 1 mg 当たり , 1 時間に基質 1 μ mol を加水分解した量 (μ mol/h/mg protein) , [S] は基質濃度 (mmol/L) , [I] はミグリトールの濃度を示す .

表 2.6.2.2-2 ラット小腸刷子縁の二糖類水解酵素活性に対する阻害定数

二糖類水解酵素活性	Ki (μ mol/L)				
	ミグリトール		ボグリボース	アカルボース	
スクラーゼ	0.10 $\pm$ 0.02	0.086	0.026 $\pm$ 0.003	0.50 $\pm$ 0.07	0.99
イソマルターゼ	0.82 $\pm$ 0.10	0.36	0.35 $\pm$ 0.05	125 $\pm$ 11	46.3
グルコアミラーゼ	N. D.	0.21	N. D.	N. D.	0.009
トレハラーゼ	81 $\pm$ 5	49	-	-	-
ラクターゼ	5.0 $\pm$ 0.5	4.85	-	-	-
出典	4.2.1.1(1)二糖類 水解酵素阻害	引用文献 1)	4.2.1.1(1)二糖類 水解酵素阻害	4.2.1.1(1)二糖類 水解酵素阻害	引用文献 1)

値は平均 $\pm$ 標準誤差で示す (n=3) . - : 阻害作用なし . N. D. : 実施せず .

(2) 正常動物に対する作用

1) 正常ラットの糖質負荷後の血糖上昇に対する作用 [4.2.1.1(2)正常ラット]

正常ラットを用いて、糖質負荷後の血糖上昇に対するミグリトールの作用を検討した。

約 18 時間絶食させた雄性 SD ラット(6 週齢)に α 化したコーンスターチ(α 化でんぷん, 1 g/kg)を経口にて負荷し, ミグリトール(1, 3, 10 mg/kg)を糖質負荷の 30 分前, 同時及び 30 分後に経口投与した。対照群には薬物の代わりに生理食塩液を経口投与した。糖質負荷 30 分前, 負荷後 15, 30, 60 及び 120 分の血糖値を測定した。

ミグリトールは, 糖質と同時に経口投与した場合に糖質負荷後 60 分までに増加した血糖値-時間曲線下面積(AUC_{0-1h})を用量に依存して抑制し, 強力な血糖上昇抑制作用を示した。一方, 糖質負荷 30 分前に投与した場合には 10 mg/kg で抑制作用を示したが, 同時投与に比べて弱く, 負荷 30 分後に投与した場合は更に減弱した [図 2.6.2.2-2]。

ミグリトールは, 正常ラットの糖質負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制し, この作用はミグリトールを糖質と同時に投与した場合に最も強力であることを確認した。これ以降の糖質負荷試験では, 特に断りのない限り, ミグリトールは糖質と同時に投与した。

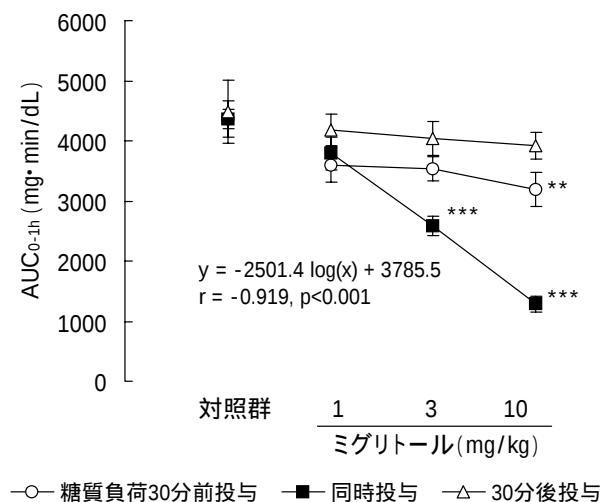


図 2.6.2.2-2 正常ラットの糖質負荷後血糖上昇に対する作用 [4.2.1.1(2)正常ラット]

絶食 SD ラットにミグリトール及び α 化でんぷん(α 化したコーンスターチ, 1 g/kg)を経口投与した。対照には薬物の代わりに生理食塩液を経口投与した。値は平均 $\pm$ 標準誤差で示す (n=6)。式は糖質を同時投与したときのミグリトール投与量の常用対数と AUC_{0-1h} の直線回帰式を示す。

***p<0.01, ***p<0.001: 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

2) 正常ラットに対する各種糖質負荷後の血糖上昇抑制作用 [4.2.1.1(2)正常ラット]

臨床では様々な種類の糖質が摂取されることから, 正常ラットに異なる種類の糖質を負荷し, ミグリトールの血糖上昇抑制作用を検討した。

約 18 時間絶食させた雄性 SD ラット(6 週齢)にミグリトール及び各糖質を同時に経口投与し, 糖質負荷 30 分前, 負荷後 15, 30, 60 及び 120 分の血糖値を測定した。糖質負荷前の血糖値から増加した糖質負荷後 60 分までの血糖値-時間曲線下面積(AUC_{0-1h})を求めた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

対照群の AUC_{0-1h} を 100 としてミグリトールの各投与量による抑制率を求め、直線回帰式により ED_{50} 値を算出した。糖質には α 化でんぷん (α 化したコーンスターチ, 1 g/kg), 生でんぷん (コーンスターチ, 2 g/kg), スクロース (2 g/kg) 及びグルコース (2.5 g/kg) を用いた。ミグリトールの投与量は α 化でんぷん, 生でんぷん及びスクロース負荷では 1, 3 及び 10 mg/kg, グルコース負荷では 100 mg/kg とした。対照群には薬物の代わりに生理食塩液を経口投与した。

ミグリトールは, α 化でんぷん, 生でんぷん及びスクロース負荷後の血糖上昇に対し, 糖質負荷後 60 分までの血糖値を用量に依存して抑制した [図 2.6.2.2-3 の A,B,C]。糖質負荷後の血糖上昇抑制に対する ED_{50} 値は, α 化でんぷん 7.30 mg/kg, 生でんぷん 3.25 mg/kg, スクロース 2.99 mg/kg であった。一方, グルコース負荷後の血糖上昇に対し, ミグリトールは 100 mg/kg でも抑制作用を示さなかった [図 2.6.2.2-3 の D]。

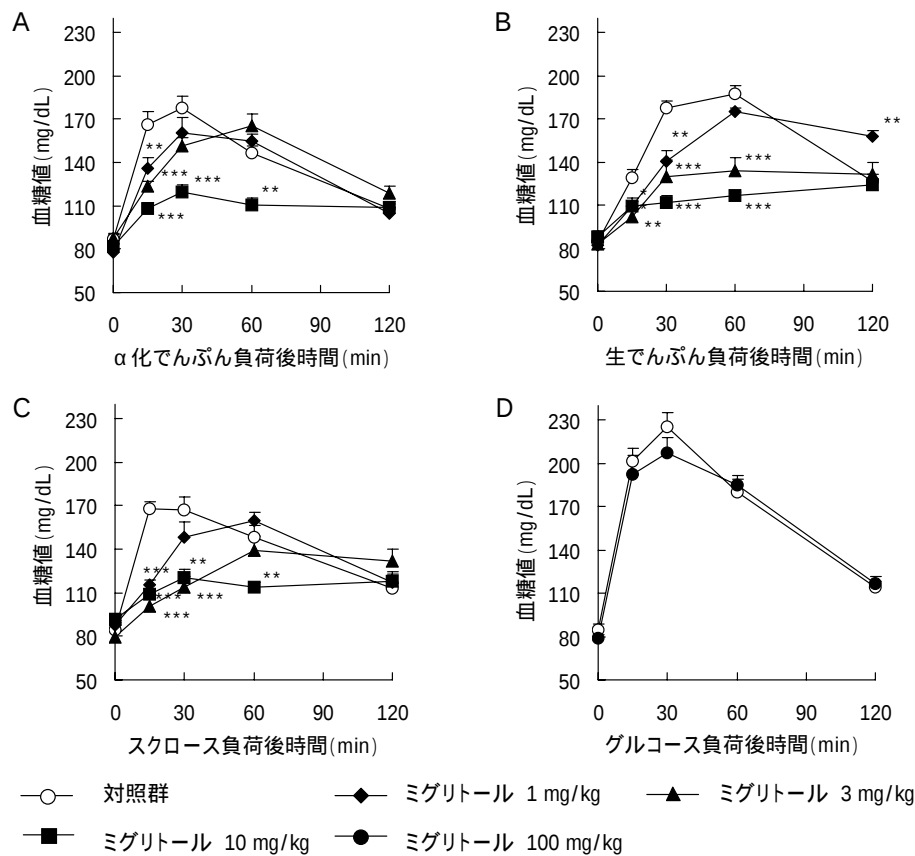


図 2.6.2.2-3 正常ラットの各種糖質負荷後血糖上昇に対する作用

[4.2.1.1(2)正常ラット]

絶食 SD ラットにミグリトール及び糖質を同時に経口投与した。対照には薬物の代わりに生理食塩液を経口投与した。糖質は A: α 化でんぷん (1 g/kg), B: 生でんぷん (2 g/kg), C: スクロース (2 g/kg), D: グルコース (2.5 g/kg)。値は平均 $\pm$ 標準誤差で示す (n=6)。

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001: 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

糖質負荷後の血糖上昇抑制に対するED₅₀値は、ボグリボースでは可溶性でんぷん 0.4 mg/kg、スクロース 0.1 mg/kg と報告されている²⁾。一方、アカルボースではα化でんぷん 1.5 mg/kg、可溶性でんぷん 2.5 mg/kg、スクロース 1～3.5 mg/kg と報告されている^{2,3)}。

ミグリトールは、糖質負荷後の血糖上昇に対し、糖質の種類にかかわらず、ほぼ同程度の抑制作用を示した。また、グルコース負荷後の血糖上昇に影響しなかったことから、小腸粘膜上皮細胞の刷子縁に存在する二糖類水解酵素を特異的に阻害し、糖質負荷後の血糖上昇を抑制すると考えられた。

3) 正常ラット消化管の糖質吸収に対する作用 [4.2.1.1(2) 正常ラット]

摂取された糖質はα-アミラーゼ及び小腸の二糖類水解酵素によって消化され、グルコースなどの単糖として体内に吸収されて血糖の上昇をもたらすが、未消化の糖質は吸収されないために下部消化管まで到達する。類薬ではボグリボースの高用量(0.1 mg/kg)をラットに経口投与したとき、過度の薬理作用により未消化の糖質が下部消化管へ流入し、消化器症状の副作用の原因となることが報告されている⁴⁾。一方、体内に吸収されたグルコースは肝臓に取り込まれ、グリコーゲン合成に利用される。すなわち、糖質負荷後の血糖値、肝グリコーゲン含量及び消化管に残存する未消化の糖質量は、負荷糖質の吸収量を反映している。そこで、これらを指標として、消化管の糖質吸収に対するミグリトールの作用を検討した。

約20時間絶食させた雄性SDラット(6週齢)にミグリトール(1, 3, 10, 30 mg/kg)をスクロース(2.5 g/kg)と同時に経口投与し、血糖値、肝グリコーゲン含量及び消化管各部位のスクロース残存量を測定した。対照群にはスクロースのみを経口投与した。

ミグリトールは、スクロース負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制した。スクロース負荷後6時間までの平均血糖値-時間曲線下面積(AUC_{0-6h})は、30 mg/kgで対照群に比べて25.0%低下したが、10 mg/kgでは13.5%しか低下せず、3 mg/kg以下では対照群と差がなかった[表2.6.2.2-3]。

2) 小高裕之、三木七美、池田衡、松尾隆夫。二糖類水解酵素阻害剤 AO-128 のラットにおける食後高血糖抑制作用。日本栄養・食糧学会誌。1992;45:27-31.

3) Krause HP, Keup U, Puls W. Inhibition of disaccharide digestion in rat intestine by the α-glucosidase inhibitor acarbose (BAY g 5421). Digestion. 1982;23:232-8.

4) 小高裕之、三木七美、池田衡、松尾隆夫。ラットにおける糖質、蛋白質、脂質およびビタミンの腸管吸収に及ぼす二糖類水解酵素 AO-128 の影響。薬理と治療。1991;19:4439-50.

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

表 2.6.2.2-3 正常ラットのスクロース負荷後の血糖上昇に対する作用 [4.2.1.1(2)正常ラット]

群	用量 (経口)	血糖値 (mg/dL)						AUC _{0-6h}	
		スクロース負荷後時間 (h)						抑制率	
		負荷前	0.25	0.5	1	3	6	(mg·h/dL)	(%)
対照群		87.1 ± 5.9	207.7 ± 8.1	228.4 ± 9.5	173.2 ± 5.3	120.5 ± 6.1	119.7 ± 2.0	845.8	-
ミグリトール	1 mg/kg	-	149.1 ± 6.6***	185.3 ± 7.1***	199.4 ± 13.7	112.7 ± 6.5	124.8 ± 9.8	835.7	1.2
	3 mg/kg	-	111.6 ± 7.7***	121.8 ± 3.6***	175.0 ± 13.1	130.0 ± 5.6	123.2 ± 2.5	812.9	3.9
	10 mg/kg	-	95.9 ± 3.5***	109.0 ± 3.4***	94.2 ± 3.4***	138.2 ± 5.3	128.6 ± 6.6	731.8	13.5
	30 mg/kg	-	106.8 ± 7.5***	105.8 ± 4.3***	98.1 ± 3.5***	111.5 ± 6.0	103.6 ± 4.5	634.1	25.0

絶食 SD ラットにミグリトール及びスクロース (50%スクロース溶液, 2.5 g/kg) を同時に経口投与した。対照にはスクロースのみを経口投与した。血糖値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6)。AUC_{0-6h} はスクロース負荷後 6 時間までの平均血糖値-時間曲線下面積を求め、抑制率 (%) は対照群の AUC_{0-6h} を 100 として算出した。

- : 測定せず。

***p<0.001: 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

肝グリコーゲン含量は、対照群ではスクロース負荷後速やかに増加したが、30 mg/kg ではまったく変化しなかった。これに対し、10 mg/kg 以下ではスクロース負荷後 1 時間まで増加しなかったが、3 時間以降は対照群と同程度に増加した [表 2.6.2.2-4]。

表 2.6.2.2-4 正常ラットのスクロース負荷後の肝グリコーゲン含量に対する作用 [4.2.1.1(2)正常ラット]

群	用量 (経口)	肝グリコーゲン含量 (mg/liver)			
		スクロース負荷後時間 (h)			
		負荷前	1	3	6
対照群		11.63 ± 0.50	30.63 ± 3.80	83.58 ± 12.64	56.46 ± 9.88
ミグリトール	1 mg/kg	-	11.99 ± 0.81***	77.51 ± 12.42	74.31 ± 11.28
	3 mg/kg	-	12.03 ± 0.31***	117.37 ± 18.12	93.42 ± 26.22
	10 mg/kg	-	10.15 ± 0.44***	58.36 ± 9.60	51.45 ± 9.04
	30 mg/kg	-	10.84 ± 0.52***	11.32 ± 0.42**	11.61 ± 1.01***

絶食 SD ラットにミグリトール及びスクロース (50%スクロース溶液, 2.5 g/kg) を同時に経口投与した。対照にはスクロースのみを経口投与した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6)。

- : 測定せず。

p<0.01, *p<0.001: 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

消化管のスクロース残存部位は、用量に応じて下部に移行し、残存総量も増加した。30 mg/kg では未消化のスクロースが小腸下部から大腸に達し、スクロース負荷後 6 時間でも盲腸及び大腸に残存した。一方、10 mg/kg でもスクロース負荷後 6 時間に盲腸及び大腸にスクロースは残存したが、30 mg/kg に比べて少なかった。3 mg/kg 以下ではスクロース負荷後 1 時間に胃から小腸中央部にスクロースは残存したが、3 時間以降では消化管の全域でほとんど認められなかった [図 2.6.2.2-4]。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

スクロース負荷後の血糖値 [表 2.6.2.2-3], 肝グリコーゲン含量 [表 2.6.2.2-4] 及び消化管のスクロース残存量 [図 2.6.2.2-4] から, ミグリトールの 30 mg/kg では糖質の吸収が強く阻害されるが, 10 mg/kg 以下では対照群に比べて緩やかに小腸から糖質が吸収され, 糖質の吸収量に影響することなく用量に応じて糖質吸収を遅延することが示された。

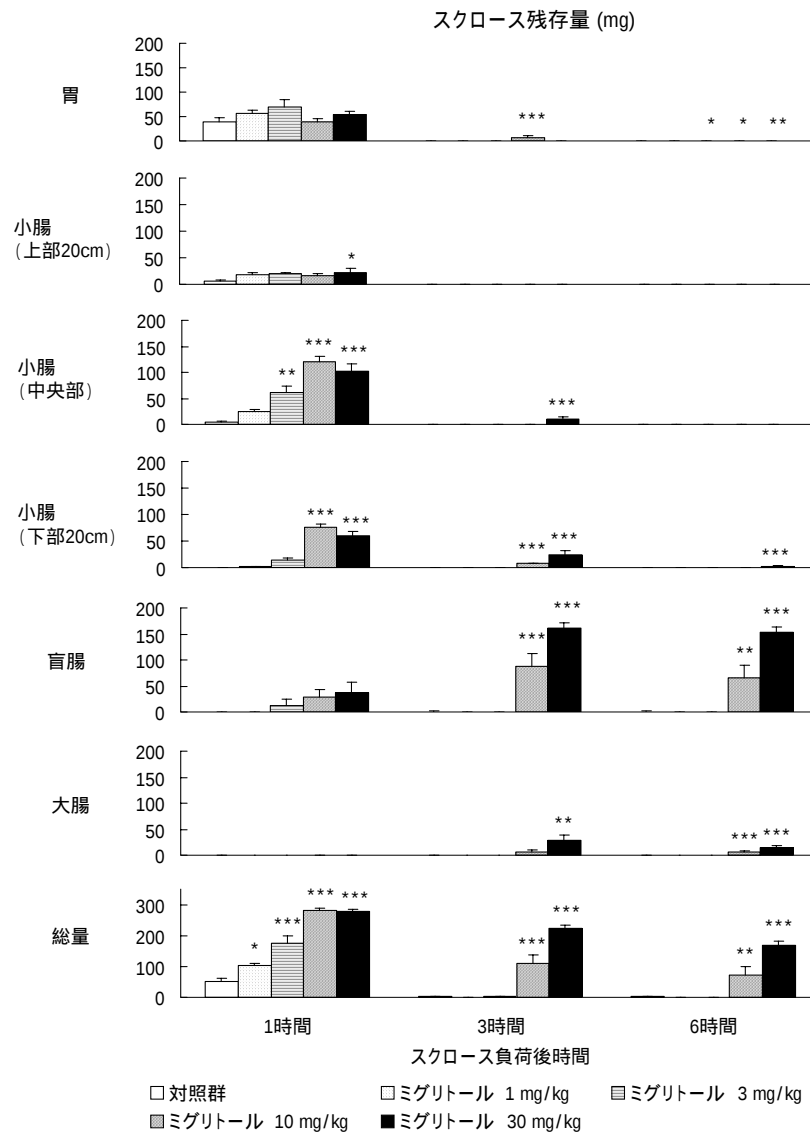


図 2.6.2.2-4 正常ラットのスクロース負荷後の消化管内スクロース残存量に対する作用
[4.2.1.1(2)正常ラット より改変]

絶食 SD ラットにミグリトール及びスクロース(2.5 g/kg)を同時に経口投与した。対照には薬物の代わりに生理食塩液を経口投与した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6)。

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001: 対照群に対する有意差(Dunnett の多重比較検定)。

未消化の糖質の下部消化管への流入は, α -GI の主な副作用である消化器症状の原因となるため, ボグリボース及びアカルボースにおいても, 正常ラットを用いた消化管の糖質吸収に対する作用が検討されている^{3,4)}。ボグリボースの 0.1 mg/kg ではスクロース負荷 3 時間後

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

に小腸下部と盲腸内に、6 時間後でも盲腸及び大腸内に多量のスクロースが残存した。これに対し、ボグリボースの 0.03 mg/kg では 3 時間後に小腸中部及び下部消化管内にスクロースが残存したが、6 時間後には消化管の全域でほとんど認められなかったと報告されている[図 2.6.2.2-5]。ミグリトールでは、スクロース負荷後の血糖上昇抑制作用の ED_{50} 値である 3 mg/kg が、消化器症状を発現することなく薬効を示す用量であると考えられた[表 2.6.2.2-5]。

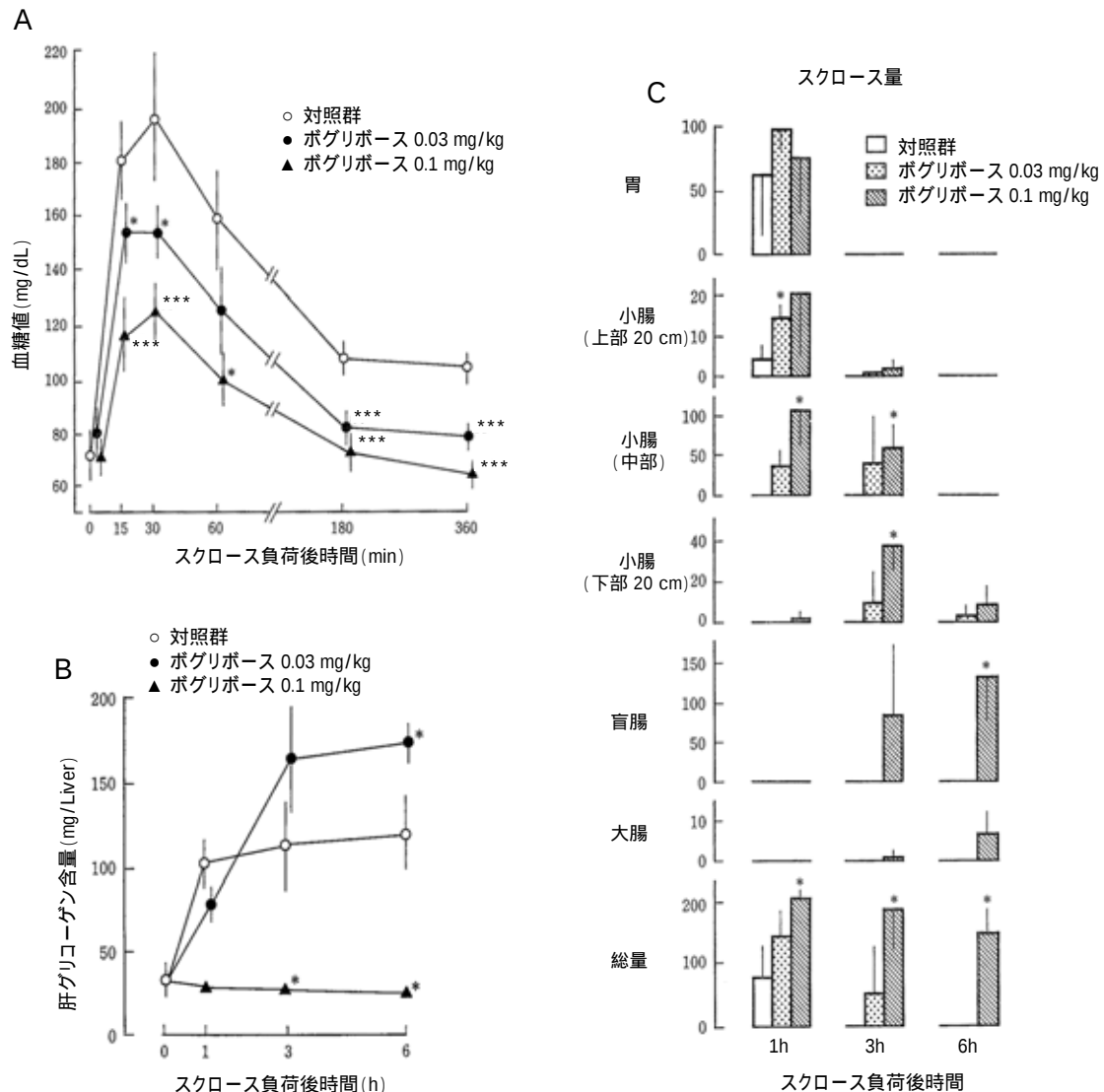


図 2.6.2.2-5 ボグリボースによる正常ラットのスクロース負荷後の血糖上昇、肝グリコーゲン含量及び消化管内スクロース残存量に対する作用

絶食 SD ラット (6 週齢) にボグリボース及びスクロース (50%スクロース溶液、2.5 g/kg) を同時に経口投与した。対照にはスクロースのみを経口投与した。
A: 平均 ± 標準偏差 (n=3 又は 6), B: 平均 ± 標準偏差 (n=3, 6 又は 9), C: 平均 ± 標準偏差 (n=3)。

* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$: 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

出典: 引用文献 4)。

表 2.6.2.2-5 α -GI の投与量とラット消化管の糖質吸収に対する作用の比較

糖質吸収に対する作用 (負荷糖質:スクロース)	投与量 (mg/kg)		
	ミグリトール ^{a)}	ボグリボース ^{a)}	アカルボース ^{b)}
吸収遅延	3	0.03	< 1
吸収阻害	30	0.1	4
血糖上昇抑制作用の ED ₅₀	2.99	0.1	1
出典	4.2.1.1(2)正常ラット	引用文献 2,4)	引用文献 3)

a) : 肝グリコーゲン含量及び消化管のスクロース残量から糖質吸収に対する作用を評価した .

b) : 消化管のスクロース残量から糖質吸収に対する作用を評価した .

(3) 作用機序

哺乳類の二糖類水解酵素は主に小腸粘膜上皮細胞の刷子縁に局在し、管腔内において二糖類から単糖への分解を担う。図 2.6.2.2-6 に糖質の消化とミグリトールの作用機序を示した。

- 1) ミグリトールは、ラット小腸由来スクラーゼ及びイソマルターゼに対して、アカルボースよりそれぞれ約 6 倍及び 120 倍強く、同様にボグリボースより 1/3.6 倍及びほぼ同程度の強さの阻害作用を示した (*in vitro*)。また、ラット小腸由来マルターゼ阻害活性は、アカルボースの約 1/67 倍及びボグリボースの約 1/18 倍の強さであった (*in vitro*)。一方、ラット膵 α -アミラーゼに対する阻害作用は認められず、ラット小腸ラクターゼ及びトレハラーゼ活性を阻害することが報告されている (*in vitro*)。
- 2) ラット小腸由来の二糖類水解酵素 (スクラーゼ-イソマルターゼ複合体、グルコアミラーゼ-マルターゼ複合体) に対するミグリトールの阻害様式は、競合型であった (*in vitro*)。
- 3) ミグリトールは、正常ラットに経口投与すると α 化でんぷん、生でんぷん及びスクロース負荷後の血糖上昇を抑制したが、グルコース負荷後の血糖上昇に対しては作用しなかった (*in vivo*)。
- 4) 正常ラットにスクロースを負荷し、血糖値、肝グリコーゲン含量及び消化管のスクロース残存量を測定した結果、ミグリトールのほぼ ED₅₀ 値程度における糖質負荷後の血糖上昇抑制作用は二糖類の部分的な分解抑制に基づく糖質の吸収抑制と、その結果としての糖質の吸収遅延によることが示唆された (*in vivo*)。
- 5) ミグリトールは副次的薬理試験の項 ^{<2.6.2.3(4)>} で示したように、マウス単離膵島及び正常ラットのインスリン分泌、マウス筋肉におけるグルコース取込み、並びにラット単離脂肪細胞におけるグルコース輸送及び代謝に対する直接作用は認められなかった (*in vitro* 及び *in vivo*)。

したがって、ミグリトールは、消化管内において二糖類から単糖への分解を担う二糖類水解酵素を阻害し、糖質の消化吸収を遅延させることにより食後の血糖上昇を抑制すると考えられた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

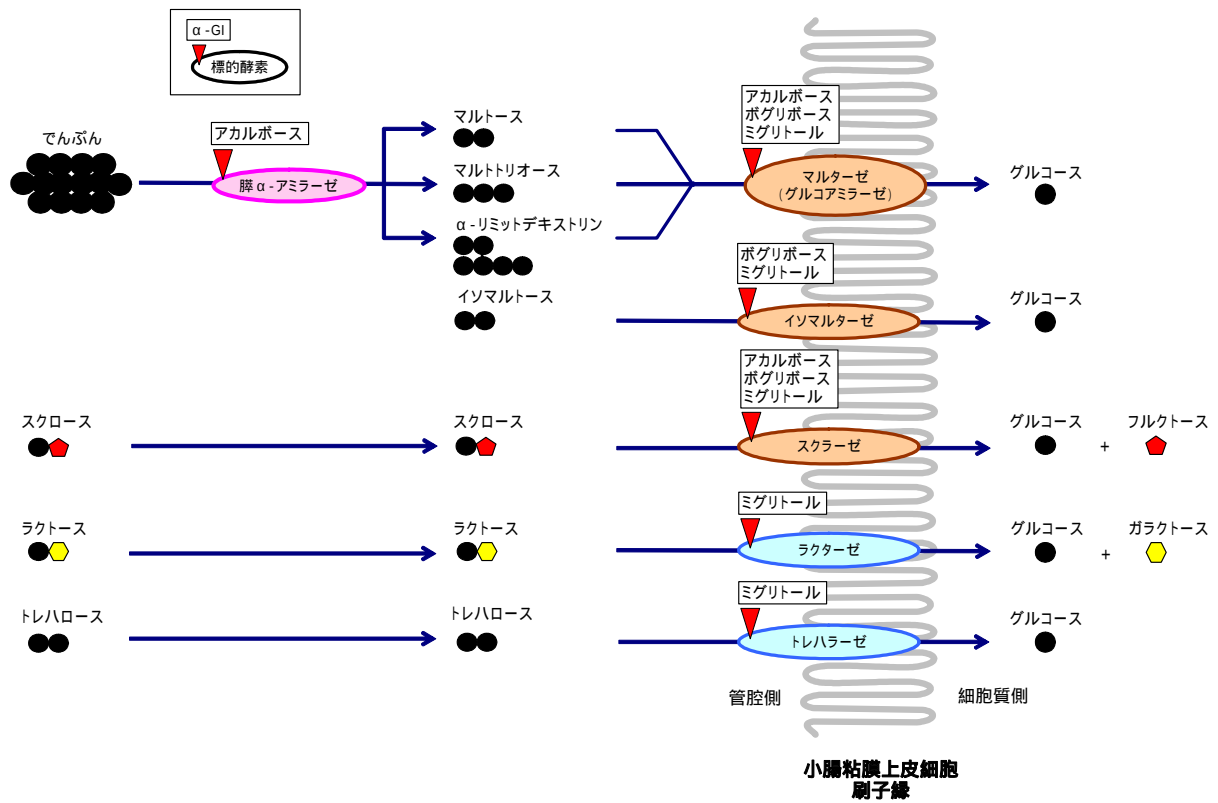


図 2.6.2.2-6 糖質の消化とミグリトールの作用機序

(4) 病態モデル動物に対する作用

非肥満 2 型糖尿病モデルの GK ラットを用いて、ミグリトールの食後血糖上昇抑制作用及び糖尿病病態の改善作用を検討した。また、種々の糖尿病モデル動物及び肥満モデル動物を用いた公表論文を引用し、ミグリトールの有効性を評価した。

1) 種々の病態モデル動物に対する糖質負荷後の血糖上昇抑制作用

非肥満 2 型糖尿病モデル (GK ラット) に対する作用 [4.2.1.1(3)GK ラット/糖負荷]

国内における糖尿病患者の多くは欧米人の糖尿病患者で見られるような過度の肥満がなく、このようなモデルのひとつに GK ラットが知られている。そこで、GK ラットを用いて、ミグリトールの糖質負荷後の血糖上昇抑制作用を検討した。

18~20 時間絶食させた雄性 GK ラット (10 週齢) にミグリトール (1, 3, 10 mg/kg) 又はボグリボース (0.0125, 0.0375, 0.125 mg/kg) をスクロース (2 g/kg) と同時に経口投与し、糖質負荷前、負荷後 15, 30 及び 60 分の血糖値を測定した。対照には薬物の代わりに生理食塩液を経口投与した。

ミグリトールは、スクロース負荷後 1 時間までに増加した AUC_{0-1h} を用量に依存して抑制し、3 mg/kg 以上で有意に抑制した。ボグリボースは、 AUC_{0-1h} を 0.125 mg/kg で対照群に比べて 31%抑制したが、有意ではなかった [図 2.6.2.2-7]。

ミグリトールは、GK ラットの糖質負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制することが明らかとなった。

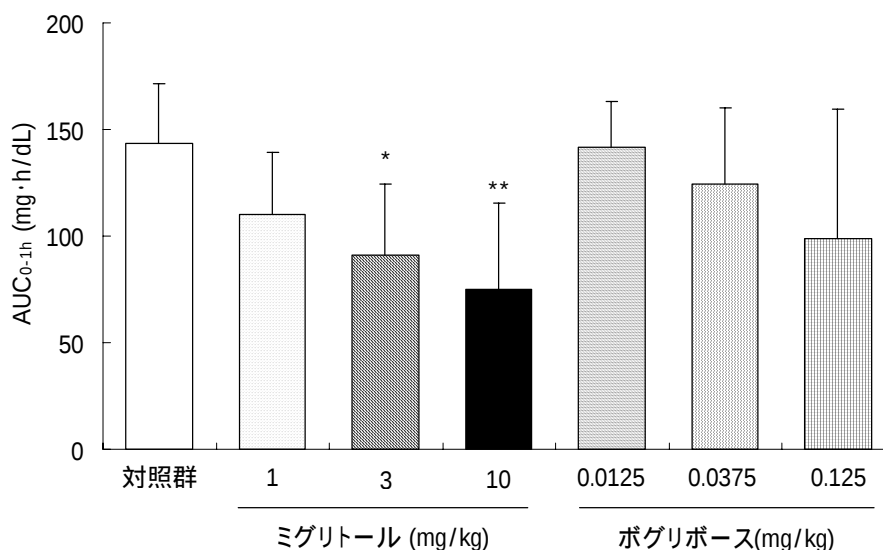


図 2.6.2.2-7 GK ラットのスクロース負荷後の血糖上昇に対する作用

[4.2.1.1(3)GK ラット/糖負荷]

絶食 GK ラットにミグリトール又はボグリボースとスクロース (2 g/kg) を同時に経口投与した。対照には薬物の代わりに生理食塩液を経口投与した。

AUC_{0-1h} は空腹時血糖値から増加したスクロース負荷後 1 時間までの血糖値-時間曲線下面積を算出した。値は平均 ± 標準偏差で示す (n=8)。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

非肥満実験的 2 型糖尿病モデル (n0-STZ ラット) に対する作用 [4.2.1.1(5) (参考資料) n0-STZ ラット]

新生児期のラットに STZ を投与して作製した n0-STZ ラットは、グルコース刺激による膵 β 細胞からのインスリン分泌不全を示す非肥満 2 型糖尿病モデルとして知られている。

Tormo らは、分娩当日の雄性 Wistar ラットに STZ (100 mg/kg) を腹腔内投与して n0-STZ ラットを作製し、マルトース負荷後の血糖上昇に対する作用を検討した。ミグリトール (1.5 , 10 , 20 , 30 mg/kg) を 18 時間絶食させた n0-STZ ラット (2.5 ~ 3.5 カ月齢) に経口投与すると、マルトース負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制し、10 mg/kg 以上で有意な抑制作用が確認された [図 2.6.2.2-8]。

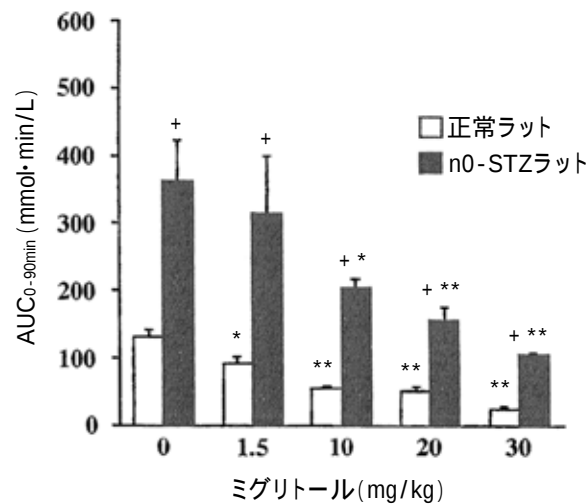


図 2.6.2.2-8 n0-STZ ラットのマルトース負荷後の血糖上昇に対する作用

[4.2.1.1(5) (参考資料) n0-STZ ラット]

絶食 n0-STZ ラット及び正常ラット (Wistar ラット) にミグリトール及びマルトース (2 g/kg) を同時に経口投与し、糖質負荷前、負荷後 15 , 30 , 60 , 90 分の血糖値を測定した。対照にはマルトースのみを経口投与した。AUC_{0-90min} は空腹時血糖値から増加したマルトース負荷後 90 分までの血糖値-時間曲線下面積を算出した。値は平均 $\pm$ 標準誤差で示す (n=6)。

*p<0.05, **p<0.01 : 対照群に対する有意差 (Mann-Whitney の U 検定)。

+p<0.05 : 正常群に対する有意差 (Mann-Whitney の U 検定)。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

肥満 2 型糖尿病モデル（糖尿病スナネズミ）に対する作用 [4.2.1.1(6)（参考資料）スナネズミ]

スナネズミ（*Psammomys obesus*）は飽食により肥満を発症し、高血糖、インスリン抵抗性、高インスリン血症及び耐糖能障害を示す肥満 2 型糖尿病モデルとして知られている。

Madar らは 12 時間絶食させた雄性糖尿病スナネズミにミグリトール（2.5, 5, 10 mg/kg）又はアカルボース（2.5, 5, 10 mg/kg）を経口投与し、でんぷん（ α 化したジャガイモでんぷん）負荷後の血糖上昇に対する作用を検討した。ミグリトール及びアカルボースは、でんぷん負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制し、5 mg/kg 以上で有意な抑制作用が確認された [図 2.6.2.2-9]。

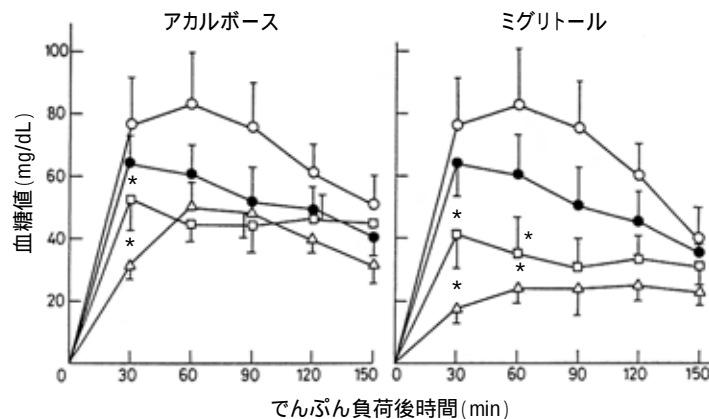


図 2.6.2.2-9 糖尿病スナネズミのでんぷん負荷後の血糖上昇に対する作用

[4.2.1.1(6)（参考資料）スナネズミ]

絶食糖尿病スナネズミ（*Psammomys obesus*）にミグリトール又はアカルボースとでんぷん（ α 化したジャガイモでんぷん，5 g/kg）を同時に経口投与し、糖質負荷前及び負荷後 30～150 分の血糖値を測定した。対照にはでんぷんのみを経口投与した。値は平均±標準誤差で示す（n=6～10）。○：対照群，●：ミグリトール又はアカルボース 2.5 mg/kg，□：5 mg/kg，△：10 mg/kg。

*p<0.05：対照群に対する有意差（分散分析）。

1 型糖尿病モデル（STZ 誘発糖尿病ラット）に対する作用 [4.2.1.1(7)（参考資料）STZ ラット/糖負荷]

[4.2.1.1(8)（参考資料）STZ ラット/混餌]

STZ 誘発糖尿病ラットは、STZ の投与により膵 β 細胞が破壊され、その結果インスリンが欠乏し、高血糖、尿糖及び体重減少などを示す 1 型糖尿病モデルとして知られている。

Madar は、雄性 Zebra ラットに STZ（40 mg/kg）を筋肉内投与して STZ 誘発糖尿病ラット（空腹時血糖値 200～230 mg/dL，11.1～12.8 mmol/L）を作製し、種々のでんぷん（ α 化したトウモロコシ，米，スパゲティー及びジャガイモのでんぷん）負荷後の血糖上昇に対する作用を検討した。ミグリトール（10, 20 mg/kg）及びアカルボース（40, 80 mg/kg）を 12 時間絶食させた STZ 誘発糖尿病ラットに経口投与すると、でんぷん負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制することが確認された [表 2.6.2.2-6]。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

表 2.6.2.2-6 STZ 誘発糖尿病ラットの各種でんぷん負荷後の血糖上昇に対する作用
[4.2.1.1(7) (参考資料) STZ ラット/糖負荷]

群	用量 (経口)	抑制率 (%) ^{a)}			
		トウモロコシ	米	スパゲティー	ジャガイモ
ミグリトール	10 mg/kg	19 ± 3	23 ± 2	17 ± 3	30 ± 5
	20 mg/kg	61 ± 9	72 ± 10	56 ± 8	41 ± 9
アカルボース	40 mg/kg	39 ± 6	43 ± 5	40 ± 5	44 ± 4
	80 mg/kg	76 ± 7	74 ± 9	70 ± 5	84 ± 3

絶食 STZ 誘発糖尿病ラットにミグリトール又はアカルボースと各種でんぷん(α 化したでんぷん, 5 g/kg) を同時に経口投与し, 糖質負荷前及び負荷後 30, 60, 90, 120, 180 分の血糖値を測定した. 対照にはでんぷんのみを経口投与した. 値は平均 ± 標準誤差で示す (n=10).

a): でんぷん負荷後 30 ~ 180 分の血糖値の, 空腹時血糖値から増加した値の総和を求め, 対照群の総和の平均を 100 として算出した.

Madar は, 雄性 SD ラットに STZ (40 mg/kg) を静脈内投与して STZ 誘発糖尿病ラット (空腹時血糖値 10 ~ 11.1 mmol/L) を作製し, スクロース負荷後の血糖上昇に対する作用を検討した. ミグリトール (2 mg/kg) を 18 時間絶食させた STZ 誘発糖尿病ラットに経口投与すると, スクロース負荷後の血糖上昇を抑制することが確認された[図 2.6.2.2-10].

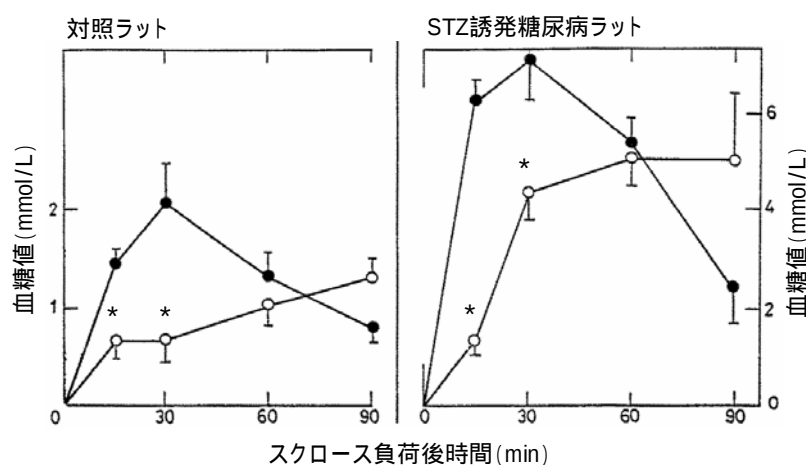


図 2.6.2.2-10 STZ 誘発糖尿病ラットのスクロース負荷後の血糖上昇に対する作用
[4.2.1.1(8) (参考資料) STZ ラット/混餌]

絶食 STZ 誘発糖尿病ラットにミグリトール及びスクロース (4 g/kg) を同時に経口投与し, 糖質負荷前及び負荷後 15 ~ 90 分の血糖値を測定した. 対照にはスクロースのみを経口投与した. 値は平均 ± 標準誤差で示す (n=10).

●: 対照群, ○: ミグリトール 2 mg/kg.

*p<0.05: 対照群に対する有意差 (分散分析及び Wilcoxon の符号付き順位検定).

さらに, ミグリトール (200, 400 ppm) を生でんぷん・スクロース等量添加飼料 (熱量比: 炭水化物 67%, 脂質 17%, たん白 16%) とともに 8 日間混餌投与 (平均薬物投与量は 24, 55 mg/kg/day) し, その後, 24 時間絶食させた STZ 誘発糖尿病ラットにミグリトール

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

ル（200，400 ppm）を飼料とともに混餌投与（薬物投与量は9，19 mg/kg）して，食後の血糖上昇に対する作用を検討した．

ミグリトールは，空腹時血糖値，血漿トリグリセリド（TG）値及びコレステロール値に影響しないが，400 ppm では尿糖排泄量を低下させ，食事負荷後の血糖上昇を抑制することが確認された [表 2.6.2.2-7，表 2.6.2.2-8]．

表 2.6.2.2-7 STZ 誘発糖尿病ラットの摂餌量，体重，尿糖排泄量及び血漿脂質成分に対する作用 [4.2.1.1(8)（参考資料）STZ ラット/混餌]

群	用量 (混餌)	n	摂餌量 (g/8 days)	体重増加量 (g/8 days)	尿糖排泄量 (mmol/day)	TG (mmol/L)	コレステロール (mmol/L)
対照群		10	239 ± 17.0	23.2 ± 5.0	17.8 ± 5.4	1.22 ± 0.28	1.98 ± 0.15
ミグリトール	200 ppm	12	210 ± 12.0	24.4 ± 4.8	12.4 ± 3.3	1.29 ± 0.17	1.98 ± 0.12
	400 ppm	12	235 ± 27.9	24.4 ± 6.3	9.89 ± 1.9*	1.31 ± 0.15	2.18 ± 0.10

STZ 誘発糖尿病ラット（180～200 g）にミグリトールを生でんぶん・スクロース等量添加飼料とともに8日間混餌投与した．対照には飼料のみを与えた．値は平均 ± 標準誤差で示す（n=10～12，ただし，TG 及びコレステロール n=8）．

*p<0.05：対照群に対する有意差（分散分析及び Wilcoxon の符号付き順位検定）．

表 2.6.2.2-8 STZ 誘発糖尿病ラットの空腹時血糖値及び食事負荷後の血糖上昇に対する作用 [4.2.1.1(8)（参考資料）STZ ラット/混餌]

群	用量 (混餌)	n	負荷食摂餌量 (g)	空腹時血糖値 (mmol/L)	TIG ^{a)} /負荷食摂餌量 (mmol/g)
対照群		10	11.5 ± 0.99	5.89 ± 0.57	5.66 ± 0.78
ミグリトール	200 ppm	12	10.0 ± 0.71	5.65 ± 0.50	5.79 ± 0.91
	400 ppm	12	10.1 ± 1.30	6.1 ± 0.29	4.12 ± 0.77*

ミグリトール（200，400 ppm）を8日間混餌投与した絶食 STZ 誘発糖尿病ラットに，ミグリトール（200，400 ppm）を生でんぶん・スクロース等量添加飼料とともに投与し，食事負荷前及び負荷後 225 分までの血糖値を測定した．対照には8日間飼料のみを与え，絶食後に同飼料を負荷した．値は平均 ± 標準誤差で示す．

a)：食事負荷後 30～225 分の血糖値の，空腹時血糖値から増加した値の総和．

*p<0.05：対照群に対する有意差（分散分析及び Wilcoxon の符号付き順位検定）．

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

肥満モデル (JCR:LA-cp ラット) に対する作用 [4.2.1.1(9) (参考資料) JCR:LA-cp ラット]

JCR:LA-cp ラットは遺伝的に肥満を発症し、インスリン抵抗性、高インスリン血症、高TG血症及び高コレステロール血症などに加え、アテローム性動脈硬化症を示す肥満モデルとして知られている。

Russell らは、24 時間絶食させた雄性 JCR:LA-cp ラット (12 週齢, 468 ± 7.4 g) にミグリトール (100, 200, 300, 600, 900 ppm) を含む精製飼料 (5 g/rat) を混餌投与 (薬物投与量は 1, 2, 3, 6, 10 mg/kg) して、食後の血糖上昇及びインスリン分泌に対する作用を検討した。

ミグリトールは、食後の血糖上昇及びインスリン分泌用量に依存して抑制することが確認された [図 2.6.2.2-11]。

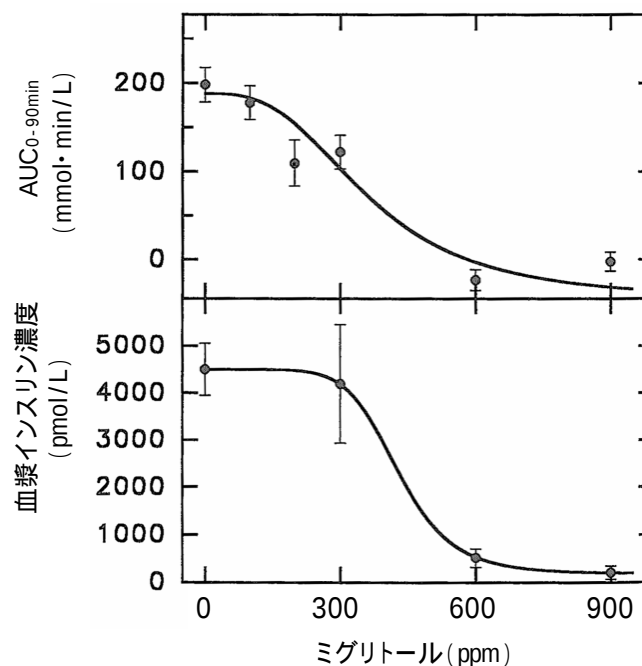


図 2.6.2.2-11 JCR:LA-cp ラットの食後血糖及びインスリン分泌に対する作用
[4.2.1.1(9) (参考資料) JCR:LA-cp ラット]

絶食 JCR:LA-cp ラットにミグリトールを含む精製飼料 (chow-like diet, 5 g/rat) を負荷した。摂餌量が 50% に達したときから 30, 60, 90, 180, 240 分後の血糖値及びインスリン濃度を測定した。AUC_{0-90min} は空腹時血糖値から増加した食後 90 分までの血糖値-時間曲線下面積, 血漿インスリン濃度は 30 分値を示す。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6)。

2) 種々の病態モデル動物に対する糖尿病病態の改善作用

非肥満 2 型糖尿病モデル (GK ラット) に対する作用 [4.2.1.1(4)GK ラット/混餌]

GK ラットを用いて、ミグリトールの血糖コントロールの改善作用を検討した。

雄性 GK ラット (7 週齢) にミグリトール (100, 200, 400 ppm) 又はボグリボース (1, 2 ppm) を高スクロース・高脂肪食 (スクロース含量 43%, 熱量比: 炭水化物 50%, 脂質 30%, たん白 20%) とともに 8 週間混餌投与した。正常群 (Wistar ラット) 及び対照群 (GK ラット) には、高スクロース・高脂肪食のみを与えた。投与 8 週間後の平均体重及び摂餌量から求めた薬物投与量は、ミグリトール 5, 10, 19 mg/kg/day, ボグリボース 0.05, 0.1 mg/kg/day であった。投与開始前及び投与 8 週間後に HbA_{1C} を測定し、膵臓の病理組織学的評価を行った。

ミグリトールは 400 ppm で HbA_{1C} の増加を抑制し、ボグリボースは 2 ppm で抑制した [図 2.6.2.2-12]。ミグリトールは体重に影響しなかったが、ボグリボースは 2 ppm で下痢が発現し、体重の増加が顕著に抑制された [表 2.6.2.2-9]。ボグリボースの 2 ppm における HbA_{1C} の増加抑制は、下痢に伴うエネルギー摂取量の制限が反映されたためと考えられた。

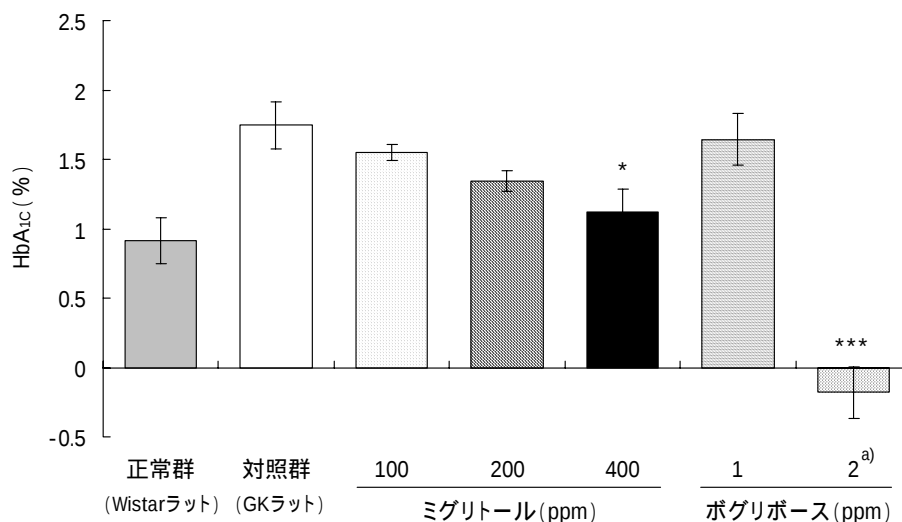


図 2.6.2.2-12 GK ラットの 8 週間混餌投与による HbA_{1C} 変化量に対する作用
[4.2.1.1(4)GK ラット/混餌]

GK ラットにミグリトール又はボグリボースを高スクロース・高脂肪食とともに 8 週間混餌投与した。正常群及び対照群には飼料のみを与えた。HbA_{1C} は投与開始前から投与 8 週間後の HbA_{1C} の変化量を算出した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6~7)。

a): ボグリボースの 2 ppm では下痢が発現した。

*p<0.05, ***p<0.001: 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

表 2.6.2.2-9 GK ラットの 8 週間混餌投与による体重変化に対する作用
[4.2.1.1(4)GK ラット/混餌 より抜粋]

群	用量 (混餌)	体重(g)		摂餌量 (g/day)
		投与開始前	投与 8 週間後	
正常群(Wistar ラット)		150 ± 5	357 ± 12	18.4 ± 1.1
対照群(GK ラット)		144 ± 4	358 ± 9	17.1 ± 0.2
ミグリトール	100 ppm	145 ± 5	347 ± 8	17.6 ± 1.7
	200 ppm	142 ± 5	342 ± 11	17.2 ± 0.6
	400 ppm	140 ± 5	335 ± 6	16.2 ± 0.4
ボグリボース	1 ppm	141 ± 6	332 ± 7	17.2 ± 1.5
	2 ppm ^{a)}	146 ± 3	259 ± 15***	14.3 ± 0.6

飼料の摂餌量は投与 8 週間後の摂餌量から算出した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6 ~ 7)。

a) : ボグリボースの 2 ppm では下痢が発現した。

***p<0.001 : 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

膵臓重量は正常群に比べて対照群で増大したが、ミグリトール投与及びボグリボースの 1 ppm 投与による変動は見られなかった。これに対し、ボグリボースの 2 ppm では体重の増加抑制に伴う膵臓重量の低下が認められた [表 2.6.2.2-10]。

膵島の病理組織学的評価において、正常群に比べていずれの GK ラット群も膵島の変形、分葉化及び繊維化が認められたが、ミグリトールの 400 ppm では対照群に比べて膵島の変形、分葉化及び繊維化といった組織変性の少ない像が観察された [図 2.6.2.2-13]。膵臓実質組織内の β 細胞面積比率は正常群で 1.02% であり、対照群では 0.70% に減少したが、ミグリトールは 400 ppm で 0.97% であり、対照群で認められた減少を抑制する傾向を示した [表 2.6.2.2-10]。

以上の成績から、ミグリトールは GK ラットの血糖コントロールを改善した。また、膵臓へのインスリン分泌刺激を軽減させて膵機能を維持することにより、糖尿病病態の進展を遅延させる可能性が示唆された。

表 2.6.2.2-10 GK ラットの 8 週間混餌投与による膵臓重量及び膵臓実質組織内 β 細胞面積比率に対する作用 [4.2.1.1(4)GK ラット/混餌]

群	用量 (混餌)	膵臓重量	膵 β 細胞面積比率
		(mg)	(%)
正常群(Wistar ラット)		758 ± 37	1.02 ± 0.06
対照群(GK ラット)		1078 ± 23	0.70 ± 0.03
ミグリトール	100 ppm	1026 ± 43	0.63 ± 0.04
	200 ppm	1041 ± 46	0.72 ± 0.11
	400 ppm	1068 ± 37	0.97 ± 0.12
ボグリボース	1 ppm	1080 ± 31	0.82 ± 0.05
	2 ppm ^{a)}	902 ± 34**	0.72 ± 0.11

値は平均 ± 標準誤差で示す (n=5 ~ 7)。

a) : ボグリボースの 2 ppm では下痢が発現した。

**p<0.01 : 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

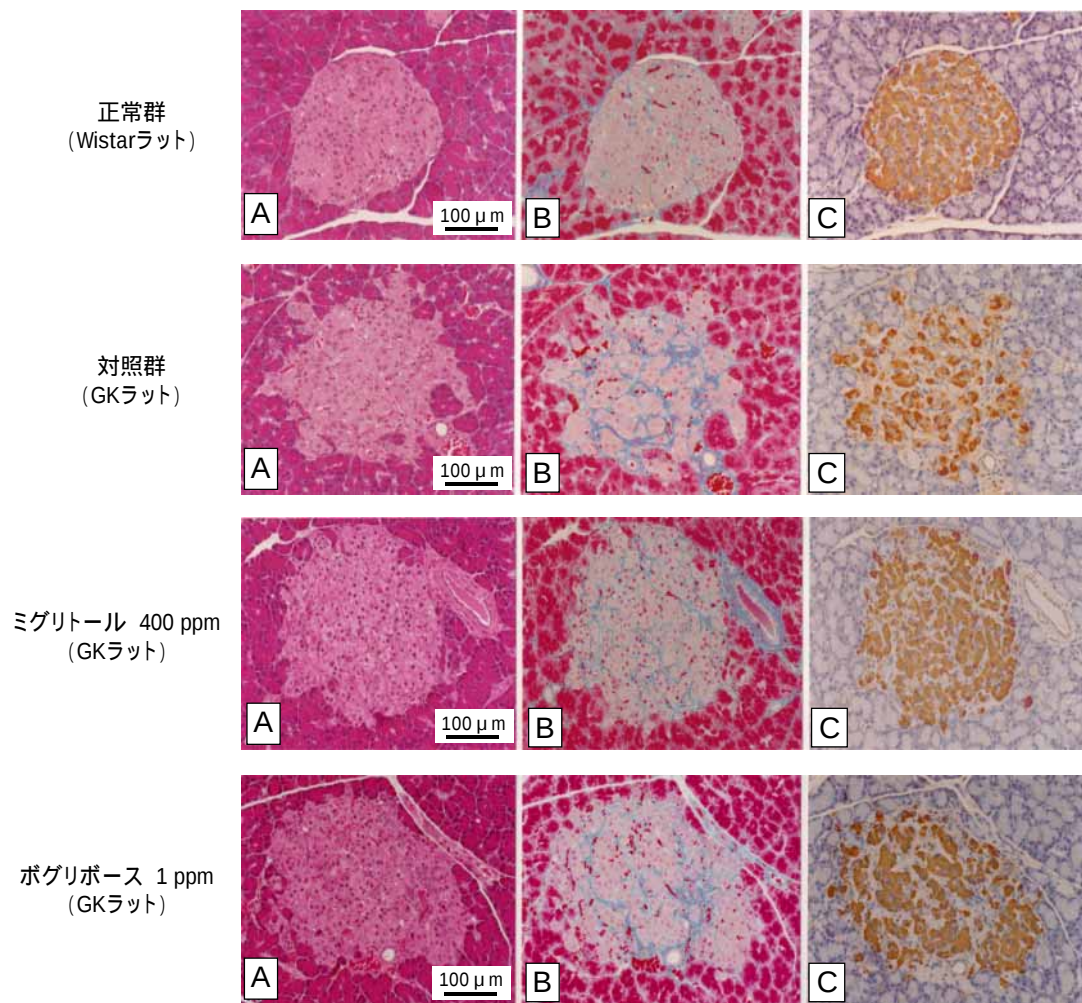


図 2.6.2.2-13 GK ラットの 8 週間混餌投与による膵島組織像に対する作用
[4.2.1.1(4)GK ラット/混餌]

GK ラットにミグリトール又はボグリボースを高スクロース・高脂肪食とともに 8 週間混餌投与し、投与 8 週間後 (15 週齢) の膵島組織像を観察した。正常群：Wistar ラット (15 週齢) 及び対照群：GK ラット (15 週齢) には飼料のみを与えた。

A：ヘマトキシリン・エオシン染色，B：アザン染色，C：抗インスリン抗体による免疫染色。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

肥満 2 型糖尿病モデル (db/db マウス) に対する作用 [4.2.1.1(10) (参考資料) db/db マウス]

db/db マウスは遺伝的に肥満を発症し、高血糖、インスリン抵抗性、高インスリン血症及び耐糖能障害などを示すほか、その腎病変がヒトの糖尿病性腎症を良く反映している肥満 2 型糖尿病モデルとして知られている。そこで、雌雄 db/db マウス (5~6 週齢) にミグリトール (200, 500, 1000 ppm, 平均薬物投与量は 24, 60, 120 mg/kg/day) を 12 週間混餌投与し、糖尿病性腎症に対するミグリトールの作用を検討した。

ミグリトールは、200 及び 500 ppm で db/db マウスの空腹時血糖値及び尿糖排泄量を低下することが確認された [表 2.6.2.2-11]。また、糖尿病性腎病変に対し、メサンギウム領域の拡大、並びに IgG 及び IgM の沈着を抑制することが確認された [表 2.6.2.2-12]。1000 ppm でも作用は認められたが、摂餌量の低下から、エネルギー摂取量の制限によるものと考えられた。ミグリトールは、db/db マウスの高血糖を改善し、糖尿病性腎病変の進行を抑制する可能性が示唆された。

表 2.6.2.2-11 db/db マウスの 12 週間混餌投与による体重、摂餌量、空腹時血糖値及び尿糖排泄量に対する作用
[4.2.1.1(10) (参考資料) db/db マウス より抜粋]

群	用量 (混餌)	体重(g)		摂餌量 (g/week)	空腹時血糖値 (mg/dL)	尿糖排泄量 ^{a)} (mg/24 h)
		投与開始前	投与終了後			
対照群		24	45	37	417 ± 88	1120
ミグリトール	200 ppm	23	51	40	330 ± 88	840
	500 ppm	24	54	42	230 ± 20	922
	1000 ppm	27	49	33	216 ± 17	348

db/db マウスにミグリトールを 12 週間混餌投与した。飼料の摂餌量は投与 12 週間の週平均摂餌量から算出した。値は平均、又は平均 ± 標準誤差で示す (n=6)。

a): 1 ケージに 3 匹ずつ飼育した非絶食マウス尿をケージごとに回収し、平均を算出した。

表 2.6.2.2-12 db/db マウスの 12 週間混餌投与による腎病変に対する作用
[4.2.1.1(10) (参考資料) db/db マウス]

群	用量 (混餌)	病理組織学的検査 ^{a)}	免疫組織学的検査 ^{b)}	
			IgG	IgM
対照群		2.70	2.70	2.20
ミグリトール	200 ppm	2.33*	1.58*	1.67*
	500 ppm	2.40	2.10	1.70*
	1000 ppm	1.54***	1.75	1.75

値は平均で示す (n=6)。

a): メサンギウム領域の拡大の程度を評価した。最も進行した病変を 4 とし、0~4 まで等級付けを行って数値化した。

b): メサンギウム領域の IgG 及び IgM の沈着の程度を評価した。最も進行した病変を 4 とし、0~4 まで等級付けを行って数値化した。

*p<0.05, ***p<0.002: 対照群に対する有意差 (Mann-Whitney の U 検定)。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

肥満 2 型糖尿病モデル (SHR/N-cp ラット) に対する作用 [4.2.1.1(11) (参考資料) SHR/N-cp ラット]

SHR/N-cp ラットは遺伝的に肥満を発症し、高血糖、インスリン抵抗性、高インスリン血症、耐糖能障害、高 TG 血症及び高コレステロール血症などを示す遺伝性肥満 2 型糖尿病モデルとして知られている。

DeBouno らは、雄性 SHR/N-cp ラット (8 週齢) にミグリトール (150 ppm) を高スクロース・高脂肪食 (スクロース含量 54%、熱量比:炭水化物 48.2%、脂質 33.3%、たん白 18.5%) とともに 7 週間混餌投与 (投与 7 週間の平均薬物投与量は 7 mg/kg/day) して、糖尿病病態の改善作用を検討した。

ミグリトールは、SHR/N-cp ラットの体重、摂餌量に影響を及ぼさないが、尿糖排泄量を低下させ、HbA_{1c} 及び肝グルコキナーゼ活性の増加を抑制することが確認された [表 2.6.2.2-13]。また、投与後 2 週間目に行った OGTT では、グルコース負荷後の血糖上昇及び付随するインスリンの追加分泌を抑制することが確認された [表 2.6.2.2-14]。ミグリトールは、SHR/N-cp ラットの耐糖能を改善することが示された。

表 2.6.2.2-13 SHR/N-cp ラットの 7 週間混餌投与による体重、HbA_{1c}、肝グルコキナーゼ活性及び尿糖排泄量に対する作用
[4.2.1.1(11) (参考資料) SHR/N-cp ラット より抜粋]

群	用量 (混餌)	体重 (g)	体重増加量 (g/7 weeks)	摂餌量 (g/day)	HbA _{1c} (%)	グルコキナーゼ (μ /Liver/min)	尿糖排泄量 ^{a)} (mg/24 h)
Lean ラット 対照群		338 ± 10	103 ± 5	18.8 ± 0.9	6.57 ± 4.49	0.89 ± 0.29	6.4 ± 2.0
ミグリトール	150 ppm	333 ± 10	99 ± 4	16.4 ± 0.9+	7.82 ± 2.71	0.85 ± 0.19	5.4 ± 2.3
Obese ラット 対照群		482 ± 9+	219 ± 12+	19.5 ± 0.8	12.5 ± 2.1+	2.45 ± 0.21+	377 ± 24.6+
ミグリトール	150 ppm	455 ± 9*+	192 ± 10+	19.9 ± 0.9	9.42 ± 1.9*	1.46 ± 0.44*	18.5 ± 4.7*

SHR/N-cp ラットにミグリトールを高スクロース・高脂肪食とともに 7 週間混餌投与した。対照には飼料のみを与えた。飼料の摂餌量は投与 7 週間の平均摂餌量から算出した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6~7)。

a): ミグリトール投与後 4 週間目に食後 (制限摂餌: 暗期 12 時間) のラット尿を回収した。

*p<0.05: Obese 対照群に対する有意差 (分散分析及び Student-Newman-Keuls 検定)。

+p<0.05: Lean 対照群に対する有意差 (分散分析及び Student-Newman-Keuls 検定)。

表 2.6.2.2-14 SHR/N-cp ラットの 2 週間混餌投与による耐糖能に対する作用
[4.2.1.1(11) (参考資料) SHR/N-cp ラット]

群	用量 (混餌)	AUC _{0-2h}	
		血糖値 (mg·min/dL)	血漿インスリン (μ U·min/dL)
Obese ラット 対照群		27840 ± 1674	78825 ± 6360
ミグリトール	150 ppm	18011 ± 1054*	41148 ± 3292**

ミグリトールを高スクロース・高脂肪食とともに 2 週間混餌投与した絶食 SHR/N-cp ラット (Obese, 10 週齢) にグルコース (2.5 g/kg) を経口負荷し、糖負荷前、負荷後 30、60 及び 120 分の血糖値及び血漿インスリン濃度を測定して AUC_{0-2h} を算出した。対照には飼料のみを与え、OGTT を行った。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6~7)。

*p<0.05, **p<0.01: 対照群に対する有意差 (対応のない Student の t 検定)。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

肥満モデル (LA/N-cp 及び JCR:LA-cp ラット) に対する作用 [4.2.1.1(12) (参考資料) LA/N-cp ラット]
[4.2.1.1(9) (参考資料) JCR:LA-cp ラット]

LA/N-cp ラットは遺伝的に肥満を発症し、インスリン抵抗性、高インスリン血症、高 TG 血症及び高コレステロール血症などを示す遺伝性肥満モデルとして知られている。

DeBouno らは、雄性 LA/N-cp ラット (8 週齢) にミグリトール (150 ppm) を高スクロース・高脂肪食 (スクロース含量 54%, 熱量比: 炭水化物 48.2%, 脂質 33.3%, たん白 18.5%) とともに 7 週間混餌投与 (投与 7 週間後の平均薬物投与量は 4 mg/kg/day) して、糖尿病病態の改善作用を検討した。

ミグリトールは、LA/N-cp ラットの体重、摂餌量及び空腹時血糖値に影響を及ぼさないが、尿糖排泄量を低下させ、インスリン分泌及び HbA_{1c} の増加を抑制することが確認された [表 2.6.2.2-15]。

表 2.6.2.2-15 LA/N-cp ラットの 7 週間混餌投与による体重、摂餌量、血液成分及び尿糖排泄量に対する作用 [4.2.1.1(12) (参考資料) LA/N-cp ラット より抜粋]

群	用量 (混餌)	体重 (g)	体重増加量 (g/7 weeks)	摂餌量 (g/day)	空腹時血糖 (mg/dL)	血清インスリン (μ U/mL)	HbA _{1c} (%)	尿糖排泄量 ^{a)} (mg/24 h)
Lean ラット 対照群		317 $\pm$ 4	91	10.2 $\pm$ 0.6	95 $\pm$ 8	67 $\pm$ 8	7.0 $\pm$ 0.8	0
ミグリトール 150 ppm		314 $\pm$ 4	98	10.4 $\pm$ 1.1	81 $\pm$ 6	49 $\pm$ 10	5.4 $\pm$ 0.4	0
Obese ラット 対照群		567 $\pm$ 8+	245+	13.6 $\pm$ 1.2+	113 $\pm$ 10	809 $\pm$ 127+	12.0 $\pm$ 2.9+	118 $\pm$ 109+
ミグリトール 150 ppm		564 $\pm$ 8	235	13.5 $\pm$ 0.9	116 $\pm$ 5	598 $\pm$ 52*	7.3 $\pm$ 0.8*	9 $\pm$ 2*

LA/N-cp ラットにミグリトールを高スクロース・高脂肪食とともに 7 週間混餌投与した。対照には飼料のみを与えた。飼料の摂餌量は投与 7 週間後の摂餌量から算出した。値は平均、又は平均 $\pm$ 標準誤差で示す (体重、体重増加量、摂餌量、HbA_{1c}、尿糖排泄量; n=8, 空腹時血糖値、血清インスリン; n=4~13)。

a): ミグリトール投与後 4 週間目に食後 (制限摂餌: 暗期 12 時間) のラット尿を回収した。

*p<0.05: Obese 対照群に対する有意差 (分散分析)。

+p<0.05: Lean 対照群に対する有意差 (分散分析)。

また、インスリン抵抗性及び耐糖能障害を有する遺伝的肥満モデルの JCR:LA-cp ラットを用いた検討も行われた。

Russell らは、雄性 JCR:LA-cp ラット (6 週齢) にミグリトール (600 ppm) を 6 週間混餌投与 (投与 6 週間後の平均薬物投与量は 45 mg/kg/day) して、糖尿病病態の改善作用を検討した。

ミグリトールは、JCR:LA-cp ラットの摂餌量を低下させ、体重増加を抑制したが、血清脂質に影響を及ぼさないことが確認された [表 2.6.2.2-16]。また、食事負荷試験では、食後の血糖上昇を抑制し、付随するインスリンの追加分泌を顕著に軽減することが確認された [図 2.6.2.2-14]。ミグリトールは、JCR:LA-cp ラットの耐糖能を改善することが示された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

表 2.6.2.2-16 JCR:LA-cp ラットの 6 週間混餌投与による体重，摂餌量及び血清脂質成分に対する作用 [4.2.1.1(9) (参考資料) JCR:LA-cp ラット]

群	用量 (混餌)	体重 (g)	摂餌量 (g/day)	血清脂質 (mmol/L)				
				遊離コレス テロール	コレステロー ルエステル	リン脂質	TG	総コレス テロール
Lean ラット 対照群		296 ± 6	21.7 ± 1.0	0.34 ± 0.01	1.00 ± 0.04	0.83 ± 0.02	0.33 ± 0.03	1.34 ± 0.04
Obese ラット 対照群		468 ± 7.4	36.6 ± 0.60	0.66 ± 0.05++	1.95 ± 0.10++	2.47 ± 0.23++	3.94 ± 1.06++	2.62 ± 0.15++
ミグリトール 600 ppm		433 ± 13*	32.6 ± 1.39*	0.67 ± 0.02++	1.74 ± 0.04++	2.35 ± 0.11++	3.12 ± 0.46++	2.41 ± 0.07++

JCR:LA-cp ラットにミグリトールを 6 週間混餌投与した．飼料の摂餌量は投与 6 週間後の摂餌量から算出した．値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6) ．

*p<0.05 : Obese 対照群に対する有意差 (分散分析及び Bonferroni の多重比較検定) ．

++p<0.01 : Lean 対照群に対する有意差 (分散分析及び Bonferroni の多重比較検定) ．

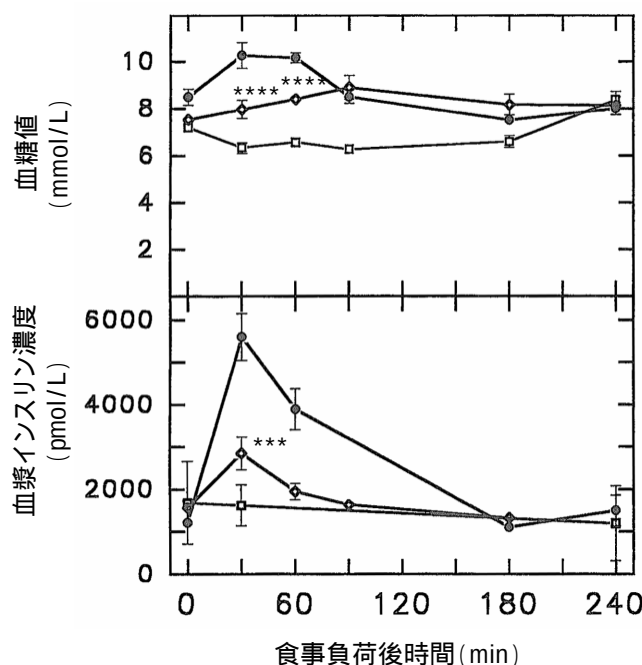


図 2.6.2.2-14 JCR:LA-cp ラットの 6 週間混餌投与による耐糖能に対する作用 [4.2.1.1(9) (参考資料) JCR:LA-cp ラット]

ミグリトール 600 ppm を 6 週間混餌投与した絶食 JCR:LA-cp ラット (Obese) に精製飼料 (chow-like diet , 5 g/rat) を負荷した．摂餌量が 50% に達したときから 30 , 60 , 90 , 180 , 240 分後の血糖値及び血漿インスリン濃度を測定した．対照には 6 週間通常飼料のみを与え , 精製飼料又はミグリトール 600 ppm 含有精製飼料を用いて食事負荷試験を行った．値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6) ．

● : 対照 + 精製飼料負荷群 (対照群)

○ : ミグリトール混餌投与 + 精製飼料負荷群

□ : 対照 + ミグリトール 600 ppm 含有飼料負荷群

p<0.002, *p<0.0001 : 対照群に対する有意差 (分散分析及び Bonferroni の多重比較検定) ．

2.6.2.3 副次的薬理試験

α -グルコシダーゼは消化管以外にも存在し、副次的薬理試験ではこれらの α -グルコシダーゼに対するミグリトールの阻害作用を検討し、主薬効に関与しない薬理作用を評価した。

また、糖質以外の栄養素の消化酵素及び細胞の糖代謝に関与する主要酵素に及ぼす影響を検討した。さらに、全身の糖代謝を調節する膵臓のインスリン分泌及び組織でのグルコース取込みなどの血糖降下因子、脂質の吸収及び代謝に及ぼす影響を検討した。試験方法及び成績の概要は、概要表の表 2.6.3.3 に示した。

(1) 消化管以外に存在する α -グルコシダーゼに対する阻害作用 [4.2.1.2(1)肝グルコシダーゼ阻害][4.2.1.2(8)

(参考資料)細胞内グルコシダーゼ阻害]

類薬では、*in vitro* 試験において、アカルボースがラット肝臓及び筋肉、並びにヒト胎盤のリソソーム中 α -グルコシダーゼを阻害することが報告されている⁵⁾。同様に、ボグリボースと構造が類似したバリオールアミン誘導体がラット肝臓のリソソーム中 α -グルコシダーゼを阻害することも確認されている⁶⁾。そこで、グリコーゲン代謝に関与するリソソーム中 α -グルコシダーゼ及びグリコーゲン脱分岐酵素のアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性に対するミグリトールの阻害作用を評価し、 K_i 値及び阻害様式を求め、アカルボース及びボグリボースと比較した。

ミグリトールは、ラット肝臓から精製したリソソーム中 α -グルコシダーゼ活性を競合的に阻害($K_i = 0.34 \mu\text{mol/L}$)した。その阻害強度はボグリボースと同等で、アカルボースよりも強かった。また、ラット骨格筋より精製したグリコーゲン脱分岐酵素のアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性を非競合的に阻害($K_i = 1.4 \mu\text{mol/L}$)し、その阻害作用はボグリボースより強かった。一方、アカルボースはアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性を阻害しなかった[表 2.6.2.3-1]。

表 2.6.2.3-1 ラット肝臓及び骨格筋由来 α -グルコシダーゼに対する阻害定数及び阻害様式 [4.2.1.2(1)肝グルコシダーゼ阻害]

	リソソーム中 α -グルコシダーゼ		アミロ-1,6-グルコシダーゼ	
	K_i ($\mu\text{mol/L}$)	阻害様式	K_i ($\mu\text{mol/L}$)	阻害様式
ミグリトール	0.34	競合型	1.4	非競合型
ボグリボース	0.79	競合型	420	非競合型
アカルボース	10.0	混合型	-	-

- : $1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ で阻害率は 13%を示し、 K_i 値及び阻害様式は求めなかった。

5) Calder PC, Geddes R. Acarbose is a competitive inhibitor of mammalian lysosomal acid α -D-glucosidases. Carbohydr Res. 1989 Aug 1;191(1):71-8.

6) Takeuchi M, Kamata K, Yoshida M, Kameda Y, Matsui K. Inhibitory effect of pseudo-aminosugars on oligosaccharide glucosidases I and II and on lysosomal α -glucosidase from rat liver. J Biochem (Tokyo). 1990 Jul;108(1):42-6.

Wisselaar らは、ヒト肝癌由来細胞 HepG2 及びヒト線維芽細胞を用い、ミグリトールのリソソーム中 α -グルコシダーゼ及び中性 α -グルコシダーゼに対する作用を検討した。ミグリトールは、リソソーム中 α -グルコシダーゼ及び中性 α -グルコシダーゼ活性を阻害したが、10 mmol/L でも完全には阻害せず、その作用は可逆的であった [図 2.6.2.3-1]。

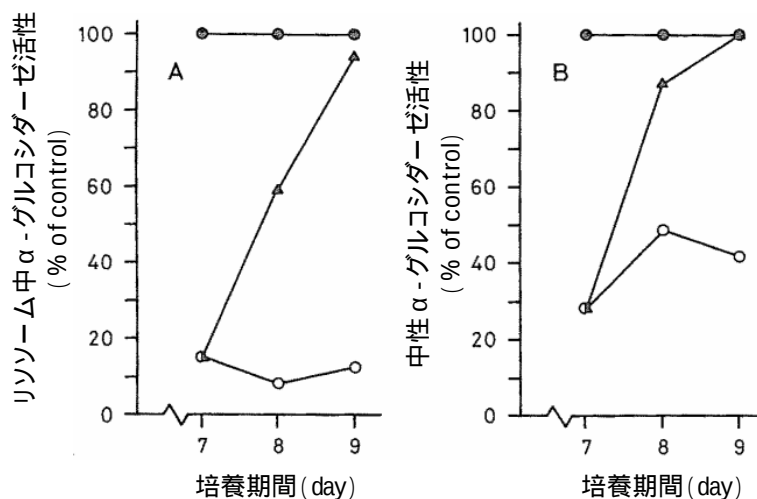


図 2.6.2.3-1 HepG2 細胞の α -グルコシダーゼ活性に及ぼす影響

[4.2.1.2(8) (参考資料) 細胞内グルコシダーゼ阻害]

HepG2 細胞は 10 mmol/L ミグリトール添加培地で 7 日間培養後にミグリトール添加及び非添加培地で 2 日間培養し、リソソーム中 α -グルコシダーゼ活性及び中性 α -グルコシダーゼ活性を測定した。

● : 対照群, ○ : 10 mmol/L ミグリトール添加, ▲ : ミグリトール非添加

(2) 類似構造物に特徴的な α -グルコシダーゼ阻害作用が及ぼす影響

ミグリトールの基本骨格であるデオキシノジリマイシン及びその誘導体は、リソソーム内のグリコーゲン分解に關与するリソソーム中 α -グルコシダーゼ、肝臓及び筋肉のグリコーゲン分解に關与するグリコーゲン脱分岐酵素のアミロ-1,6-グルコシダーゼ、並びに糖たん白質の糖鎖生合成に關与する小胞体のグルコシダーゼ I 及び II を阻害することが報告されている。また、虚血再灌流モデルの心筋障害がアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性阻害により軽減するとの報告もある。そこで、ミグリトールの α -グルコシダーゼ阻害作用による肝グリコーゲン代謝、糖たん白質の糖鎖生合成及び虚血性心筋障害に及ぼす影響を検討した。

1) 肝グリコーゲン代謝に及ぼす影響 [4.2.1.2(2) 肝グリコーゲン代謝]

Bollen らは、デオキシノジリマイシン及びミグリトールを含むその誘導体による肝グリコーゲン分解抑制作用を検討し、ミグリトールはグルカゴン刺激により誘発させたラット肝細胞のグルコース産生及びラット肝グリコーゲン分解を抑制することを報告している⁷⁾。また、

7) Bollen M, Vandebroek A, Stalmans W. 1-Deoxynojirimycin and related compounds inhibit glycogenolysis in the liver without affecting the concentration of phosphorylase a. Biochem Pharmacol. 1988 Mar 1;37(5):905-9.

2.6.2.3 副次的薬理試験

Bollen らは、デオキシノジリマイシンのグリコーゲン分解抑制作用は、アミロ-1,6-グルコシダーゼ活性阻害作用によることを報告している⁸⁾。そこで、グルカゴン刺激及び無刺激条件下でラット単離肝細胞を用いた *in vitro* 試験及びラット *in vivo* 試験を行い、ミグリトールの肝グリコーゲン代謝に及ぼす影響を検討した。

ラット単離肝細胞を用いた *in vitro* 試験において、ミグリトールは 300 μ g/mL (1.4 mmol/L) までグリコーゲン分解に影響を及ぼさないが、グルカゴン刺激下では 300 μ g/mL でグリコーゲン分解を抑制した [表 2.6.2.3-2]。

雄性 Wistar ラット (250 g) を用いた *in vivo* 試験では、ミグリトール (3, 10, 30, 100 mg/kg, 経口投与) は、6 時間絶食ラットのグルカゴン刺激及び無刺激条件下の肝グリコーゲン分解に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.3-3, 表 2.6.2.3-4]。

肝グリコーゲンは、ホスホリラーゼによるリン酸化及びグリコーゲン脱分岐酵素による加水分解を受けてグルコース 1-リン酸及びグルコースに分解され、反応の律速酵素はホスホリラーゼである。一方、外因性のグルカゴン刺激で誘発されたグリコーゲン分解反応の律速酵素は、グリコーゲン脱分岐酵素と考えられる。ミグリトールは、グリコーゲン脱分岐酵素のアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性を阻害するが、*in vivo* の肝グリコーゲン分解に対し、1 回の臨床最高用量：75 mg/body (60 kg), 1.25 mg/kg の 80 倍に相当する高用量 (100 mg/kg) でも影響しなかった。したがって、実際の臨床ではミグリトールが肝グリコーゲン代謝に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

表 2.6.2.3-2 ラット単離肝細胞のグルコース産生に対する作用
[4.2.1.2(2)肝グリコーゲン代謝]

ミグリトール (μ g/mL)	グルコース産生量 (μ g/mg protein)	
	無刺激(基礎状態)	グルカゴン刺激
0	50.4 $\pm$ 5.1	111.3 $\pm$ 19.7
0.3	-	116.1 $\pm$ 21.3
1	-	110.2 $\pm$ 19.3
3	-	114.4 $\pm$ 21.0
10	50.3 $\pm$ 5.4	112.2 $\pm$ 18.5
30	-	105.6 $\pm$ 18.7
300	42.9 $\pm$ 1.3	79.4 $\pm$ 14.1*

ラット単離肝細胞はミグリトール又はミグリトール + グルカゴン (1 μ mol/L) 添加培地でインキュベーションし、40 分間に産生した培地中のグルコース量を測定した。値は平均 $\pm$ 標準誤差で示す (n=4)。- : 測定せず。

*p= 0.035 : ミグリトール 0 μ g/mL に対する有意差 (対応のある Student の t 検定)。

8) Bollen M, Stalmans W. The antiglycogenolytic action of 1-deoxynojirimycin results from a specific inhibition of the α -1,6-glucosidase activity of the debranching enzyme. Eur J Biochem. 1989 May 15;181(3):775-80.

2.6.2.3 副次的薬理試験

表 2.6.2.3-3 6 時間絶食ラット肝グリコーゲン分解に及ぼす影響
[4.2.1.2(2)肝グリコーゲン代謝]

群	用量 (経口)	肝グリコーゲン含量 (mg/g liver)
ミグリトール	0 mg/kg	53 ± 3
	3 mg/kg	54 ± 8
	10 mg/kg	42 ± 8
	30 mg/kg	43 ± 5
	100 mg/kg	41 ± 6

非絶食 (スクロース添加食) Wistar ラットにミグリトールを経口投与して 6 時間絶食させ、肝グリコーゲン含量を測定した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=8)。

表 2.6.2.3-4 グルカゴン刺激誘発ラット肝グリコーゲン分解に及ぼす影響
[4.2.1.2(2)肝グリコーゲン代謝]

群	用量 (経口)	肝グリコーゲン分解量 (mg/g liver)
ミグリトール	0 mg/kg	37 ± 6
	3 mg/kg	41 ± 4
	10 mg/kg	48 ± 6
	30 mg/kg	44 ± 4
	100 mg/kg	44 ± 4

非絶食 (スクロース添加食) Wistar ラットにミグリトールを経口投与した後、グルカゴン (250 µg/kg) を投与し、60 分間の肝グリコーゲン分解量を算出した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=5 ~ 6)。

2) 糖たん白質の糖鎖生合成に及ぼす影響 [4.2.1.2(9) (参考資料) 糖鎖生合成]

Gross らは、デオキシノジリマイシン及びその *N*-置換誘導体の *N*-メチル-1-デオキシノジリマイシンが、糖たん白質の糖鎖プロセッシングに關与する小胞体のグルコシダーゼ I 及び II を阻害して糖鎖構造を変化させることを報告している^{9,10)}。これらの報告では、糖たん白質の糖鎖の *de novo* 合成及び分泌に対し、デオキシノジリマイシンは影響を及ぼすが、*N*-メチル-1-デオキシノジリマイシンは影響しないことが確認されている。そこで、Ludolph らは、ラット単離肝細胞を用いた *in vitro* 試験を行い、デオキシノジリマイシンの *N*-置換誘導体のミグリトールについて、糖たん白質の糖鎖プロセッシングに対する作用、並びに糖たん白質の生合

9) Gross V, Andus T, Tran-Thi TA, Schwarz RT, Decker K, Heinrich PC. 1-deoxynojirimycin impairs oligosaccharide processing of α_1 -proteinase inhibitor and inhibits its secretion in primary cultures of rat hepatocytes. J Biol Chem. 1983 Oct 25;258(20):12203-9.

10) Gross V, Tran-Thi TA, Schwarz RT, Elbein AD, Decker K, Heinrich PC. Different effects of the glucosidase inhibitors 1-deoxynojirimycin, *N*-methyl-1-deoxynojirimycin and castanospermine on the glycosylation of rat α_1 -proteinase inhibitor and α_1 -acid glycoprotein. Biochem J. 1986 Jun 15;236(3):853-60.

2.6.2.3 副次的薬理試験

成及び分泌に及ぼす影響を検討した。

ミグリトールは、0.5 mmol/L 以上の濃度で糖たん白質の糖鎖プロセッシングを濃度に依存して阻害した [図 2.6.2.3-2 (A),(B),(C)]. しかし、この作用はミグリトールを除去すると速やかに消失し、可逆的であった [図 2.6.2.3-2 (C)].

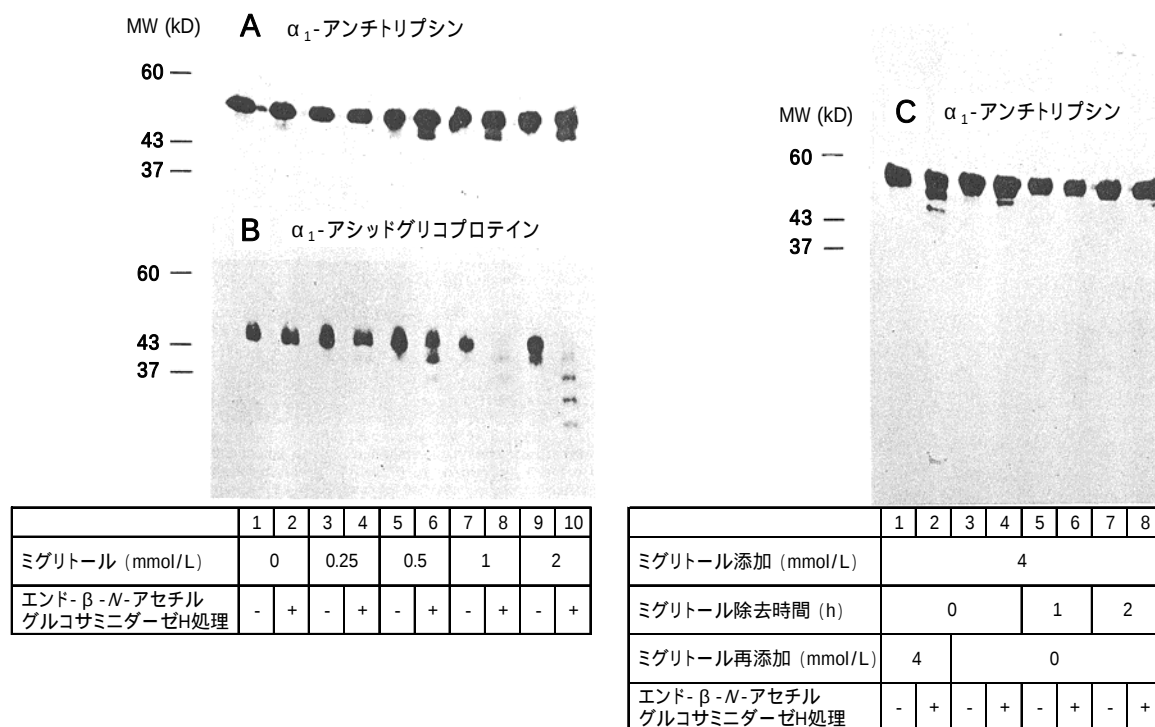


図 2.6.2.3-2 糖たん白質の糖鎖プロセッシングに及ぼす影響

[4.2.1.2(9) (参考資料) 糖鎖生合成]

(A),(B): ラット単離肝細胞をミグリトール非添加又は添加 (0.25, 0.5, 1, 2 mmol/L) 培地で 1 時間培養し, [^{35}S] メチオニンで 2 時間標識した。培地中及び細胞内の α_1 -アンチトリプシン, α_1 -アシッドグリコプロテインを免疫沈降させ、糖たん白質の N 結合型糖鎖を切断するエンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼ H 非添加又は添加溶液で処理し、還元条件下で SDS-電気泳動を行った。

(C): ラット単離肝細胞を 4 mmol/L ミグリトール添加培地で 1 時間培養して培地を除去し、ミグリトール非添加培地で培養した (0, 1, 2 時間)。ミグリトール非添加又は添加条件下で [^{35}S] メチオニンで標識し、培地中及び細胞内の α_1 -アンチトリプシンを免疫沈降させ、エンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼ H 非添加又は添加溶液で処理した後、還元条件下で SDS-電気泳動を行った。

ミグリトールは、4 mmol/L で糖たん白質の糖鎖プロセッシングに対して明らかな阻害作用を示した [図 2.6.2.3-2 (C)]. しかし、ラット単離肝細胞における糖たん白質の生合成及び分泌に対しては、4 mmol/L でも影響を及ぼさなかった [図 2.6.2.3-3].

2.6.2.3 副次的薬理試験

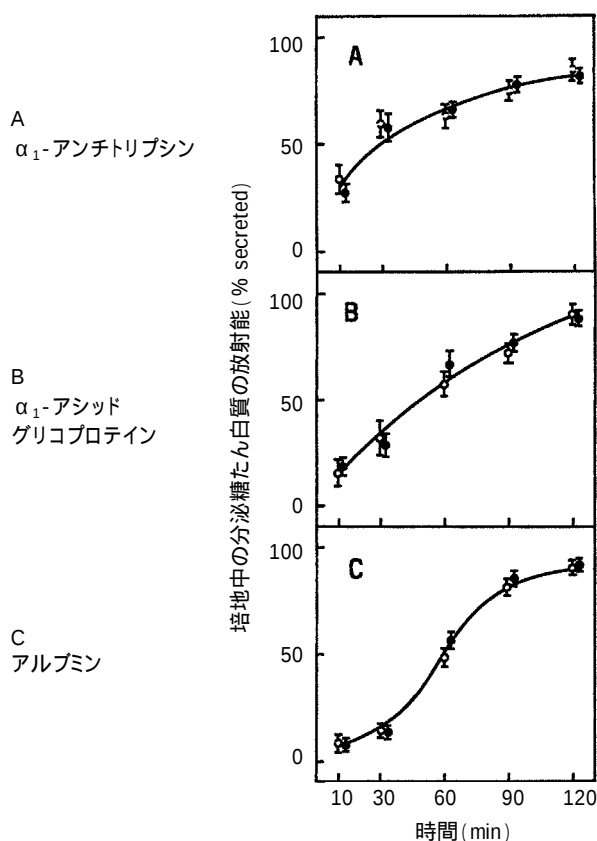


図 2.6.2.3-3 ラット単離肝細胞の糖たん白質の生合成及び分泌に及ぼす影響
[4.2.1.2(9) (参考資料) 糖鎖生合成]

ラット単離肝細胞をミグリトール非添加又は添加 (4 mmol/L) 培地で 2 時間培養し, [³⁵S] メチオニンで標識した後に非標識のメチオニンを添加した。経時的に培地中及び細胞内の α₁-アンチトリプシン, α₁-アシッドグリコプロテイン及びアルブミンを免疫沈降させ, 放射能を測定した。培地中に分泌された糖たん白質の放射能 (% secreted) は, 培地中及び細胞内の糖たん白質による放射能の総和を 100 として算出した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=5)。

○ : ミグリトール非添加, ● : 4 mmol/L ミグリトール添加。

ラット単離肝細胞の糖たん白質生合成に対し, ミグリトールは 0.5 mmol/L 以上の濃度で糖鎖プロセッシングに対する阻害作用を示したが, この作用は可逆的であった。ミグリトールの 0.5 mmol/L (103.6 μg/mL) は極めて高濃度であり, 健康成人を対象とした国内における臨床試験 [5.3.3.1(2) PK 単回/高用量] から, 100 mg/body (臨床最高用量: 75 mg/body の 1.3 倍) を投与した時の最高血漿中濃度 (C_{max}): 2.0 μg/mL の 52 倍に相当する。したがって, 実際の臨床ではミグリトールが糖たん白質の糖鎖生合成に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

3) 虚血再灌流モデル動物の心筋梗塞部位に及ぼす影響 [4.2.1.2(10) (参考資料) 虚血性心筋障害]

Arai らは、ウサギ虚血再灌流モデルにおいて、*N*-メチル-1-デオキシノジリマイシンが心筋のグリコーゲン分解を抑制し、梗塞サイズを縮小することを報告している¹¹⁾。この作用は、*N*-メチル-1-デオキシノジリマイシンのアミロ-1,6-グルコシダーゼ阻害作用によって、心筋のグリコーゲン分解が抑制されたものと考えられる。そこで、Minatoguchi らは、ウサギ虚血再灌流モデルを用いて、ミグリトールの心筋梗塞部位に及ぼす影響を検討した。

ミグリトールを雄性日本白色種ウサギの冠動脈（前側壁枝）を結紮して 30 分間虚血、48 時間再灌流して作成した虚血再灌流モデルに虚血 30 分前に静脈内投与すると、5 及び 10 mg/kg で左心室梗塞サイズを縮小し、虚血領域のグリコーゲン分解及び乳酸蓄積を抑制した。これに対し、ミグリトールを再灌流前に静脈内投与しても梗塞サイズに影響を及ぼさなかった [図 2.6.2.3-4]。

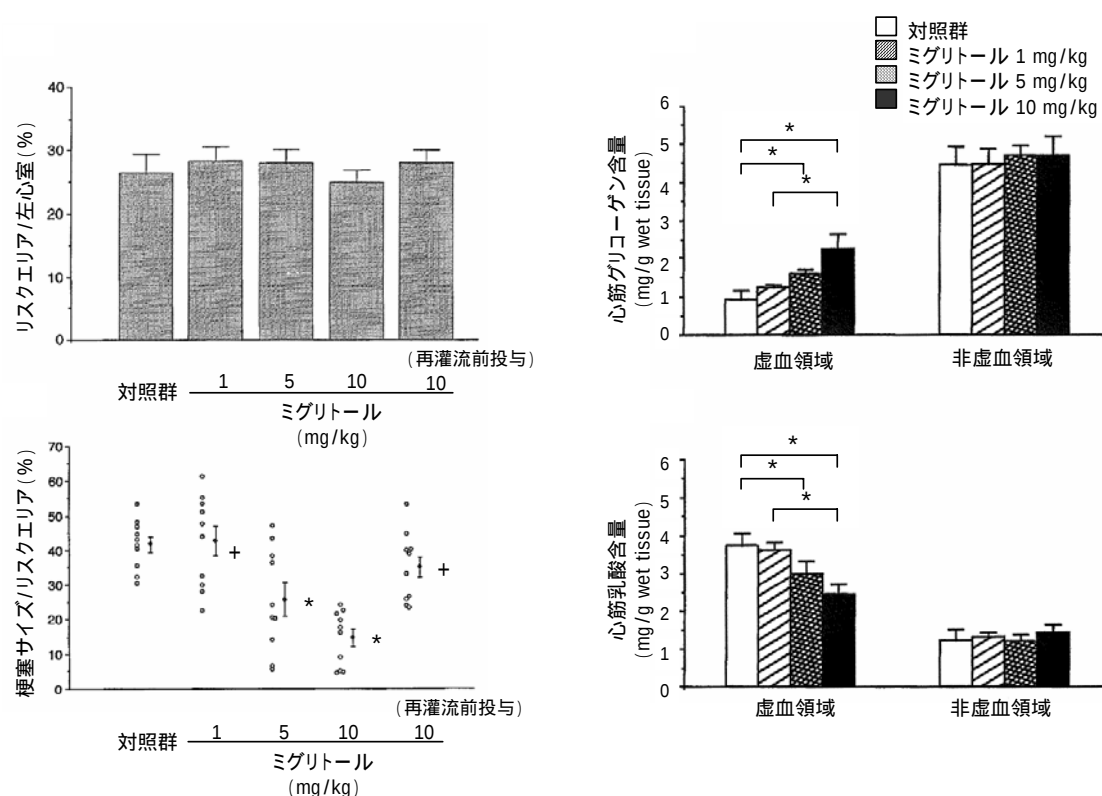


図 2.6.2.3-4 ウサギ虚血性心筋梗塞部位に及ぼす影響

[4.2.1.2(10) (参考資料) 虚血性心筋障害]

ペントバルビタール麻酔ウサギの冠動脈（前側壁枝）を結紮して 30 分間虚血 48 時間再灌流モデルを作成した。ミグリトールは虚血 30 分前又は再灌流前に静脈内投与した。対照には生理食塩水を虚血 30 分前に静脈内投与した。値は平均 ± 標準偏差で示す (n=10)。

*p<0.05: 対照群に対する有意差 (分散分析及び Bonferroni の多重比較検定)。

+p<0.05: ミグリトール 10 mg/kg 虚血 30 分前投与群に対する有意差 (分散分析及び Bonferroni の多重比較検定)。

11) Arai M, Minatoguchi S, Takemura G, Uno Y, Kariya T, Takatsu H, et al. *N*-methyl-1-deoxynojirimycin (MOR-14), an α -glucosidase inhibitor, markedly reduced infarct size in rabbit hearts. *Circulation*. 1998 Apr 7;97(13):1290-7.

2.6.2.3 副次的薬理試験

ミグリトールをウサギ虚血再灌流モデルに静脈内投与した後，虚血開始直前（投与後 30 分）の血漿中濃度は $10.0 \sim 22.0 \mu\text{g/mL}$ （ $5 \sim 10 \text{ mg/kg}$ ）に達し，健康成人を対象とした国内における臨床試験^[5.3.3.1(2)PK 単回/高用量]から 100 mg/body を単回経口投与した時の C_{max} : $2.0 \mu\text{g/mL}$ の $5 \sim 11$ 倍であった．さらに，ミグリトールをラットに単回経口投与したときの臓器・組織内濃度は投与後 0.67 時間に最高値を示し，この時点の腎臓と精巣を除く他の臓器・組織内濃度は血漿に比べて明らかに低い^[4.2.2.3(1)組織内分布]．したがって，実際の临床上ではミグリトールが心筋のグリコーゲン分解を抑制し，虚血性心筋障害に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた．

(3) 消化酵素及び糖代謝の主要酵素に対する阻害作用^{[4.2.1.2(3)消化酵素・糖代謝酵素][4.2.1.2(4)核酸分解酵素]}

消化酵素及び糖代謝に関与する主要な酵素に対するミグリトールの阻害作用を検討した．消化酵素には，たん白質分解酵素，脂質分解酵素及び核酸分解酵素を用いた．糖代謝の主要酵素には，解糖系に関連する酵素（ヘキソキナーゼ，グルコース-6-ホスファターゼ），グリコーゲン代謝の律速酵素及び糖原病に関連する酵素（ホスホグルコムターゼ，ホスホリラーゼ a，グリコーゲンシンターゼ，ホスホリラーゼキナーゼ）を用いた．

ミグリトールは，消化酵素及び糖代謝の主要酵素に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.3-5]．

表 2.6.2.3-5 消化酵素及び糖代謝に関与する主要酵素に対する阻害作用
[4.2.1.2(3)消化酵素・糖代謝酵素][4.2.1.2(4)核酸分解酵素]

酵素	由来組織	酵素活性 (%) ^{a)}			
		ミグリトール (mmol/L)			
		0.02	0.2	2	20
トリプシン	ウシ膵臓	103.4	100.3	101.2	109.0
キモトリプシン	ウシ膵臓	99.1	99.0	99.3	106.9
エラスターゼ	ブタ膵臓	99.2	99.8	99.2	109.4
ロイシンアミノペプチダーゼ	ブタ腎臓	99.4	100.8	99.9	108.3
ペプシン	ブタ胃粘膜	106.2	102.4	112.6	111.9
カルボキシペプチダーゼ A	ウシ膵臓	-	101.4	101.3	102.1
カルボキシペプチダーゼ B	ブタ膵臓	-	96.0	98.3	100.7
リパーゼ	ブタ膵臓	-	99.4	103.2	110.8
デオキシリボヌクレアーゼ	ウシ膵臓	-	100.6	98.8	106.9
リボヌクレアーゼ A	ウシ膵臓	-	102.1	103.6	101.0
ヘキソキナーゼ	ウシ心臓	-	98.2	99.7	99.3
グルコース-6-ホスファターゼ	ウサギ肝臓	-	102.6	101.6	93.2
ホスホグルコムターゼ	ウサギ筋肉	-	100.3	104.2	102.6
ホスホリラーゼ a	ウサギ筋肉	-	97.9	100.3	106.0
グリコーゲンシンターゼ	ウサギ筋肉	-	100.6	101.7	96.1
ホスホリラーゼキナーゼ	ウサギ筋肉	-	108.7	104.3	105.2

a) : ミグリトールを含まないときの酵素活性値を 100 として算出した． - : 実施せず．

(4) 血糖降下因子に及ぼす影響

1) インスリン分泌に及ぼす影響 [4.2.1.2(5)インスリン分泌/vitro][4.2.1.2(6)インスリン分泌/vivo]

Salehi らは、マウス単離膵島を用いた static incubation 法による *in vitro* 試験において、ミグリトールはホスホジエステラーゼ阻害剤の 3-イソブチル-1-メチルキサンチン刺激によるインスリン分泌に影響を及ぼさないが、16.7 mmol/L グルコース刺激によるインスリン分泌を抑制することを報告している¹²⁾。そこで、インスリン分泌に及ぼすミグリトールの影響について、マウス単離膵島を用いた灌流法による *in vitro* 試験及びラット *in vivo* 試験を行って検討した。

マウス単離膵島を用いた灌流法による *in vitro* 試験において、ミグリトールは、0.1 mg/mL (約 0.5 mmol/L) の濃度で 5 mmol/L グルコース刺激によるインスリンの基礎分泌、並びに 10 及び 20 mmol/L グルコース刺激によるインスリンの追加分泌に影響を及ぼさなかった[図 2.6.2.3-5]。

Salehi らによる報告と異なる試験成績が得られたが、試験法の違いにより認められたものと推察された。Salehi らは、単離膵島をあらかじめ 1 mmol/L のグルコースを含む緩衝液で 30 分間プレインキュベーションし、その後 16.7 mmol/L のグルコース刺激に対するインスリン分泌反応は灌流せずに 2 時間インキュベーションして評価している。すなわち、膵島を 1 mmol/L といった低濃度のグルコースでプレインキュベーションしていること、また、灌流せずにインキュベーションしたことにより緩衝液には膵島から分泌されたインスリン、グルカゴン及びソマトスタチンが高濃度に存在すると考えられることなどから、膵β細胞は非生理学的な条件下にあったものと推察される。以上の理由から、灌流法と Salehi らの試験法では膵島のミグリトールに対する反応が異なると考えられた。

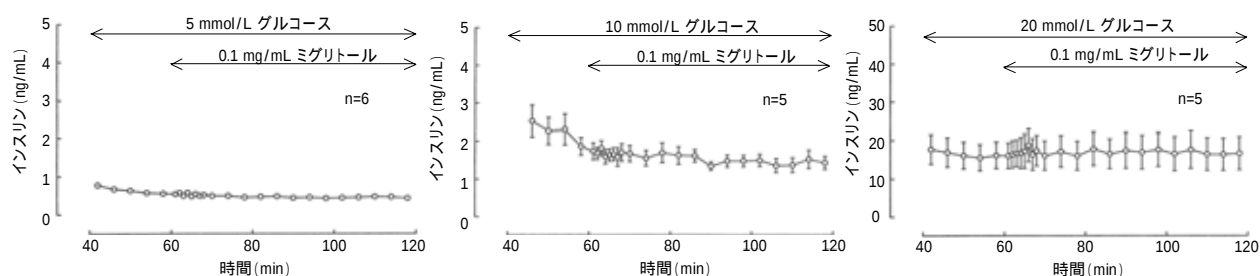


図 2.6.2.3-5 マウス単離膵島のインスリン分泌に及ぼす影響

[4.2.1.2(5)インスリン分泌/vitro]

マウス単離膵島は 5, 10 及び 20 mmol/L グルコースを含む灌流液で 1 時間灌流 (37℃, 流速 0.9 mL/min) した後, 0.1 mg/mL ミグリトール及びグルコースを含む灌流液に交換した。灌流液は適宜採取し, インスリン濃度を測定した (n=5~6)。

12) Salehi A, Lundquist I. Ca^{2+} deficiency, selective α -glucosidase inhibition, and insulin secretion. Am J Physiol. 1993 Jul;265(1 Pt 1):E1-9.

2.6.2.3 副次的薬理試験

また、ラット *in vivo* 試験では、18 時間絶食させた雄性 Wistar ラットにミグリトール（1，3，10，30 mg/kg）を経口投与し、血糖値及びインスリン分泌に及ぼす影響を検討した。

ミグリトールは、30 mg/kg の用量まで、絶食ラットの血糖値及びインスリン分泌に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.3-6，表 2.6.2.3-7]。

表 2.6.2.3-6 絶食正常ラット単回経口投与による血糖値に及ぼす影響
[4.2.1.2(6)インスリン分泌/*vivo*]

群	用量 (経口)	血糖値 (mmol/L)			
		投与後時間 (min)			
		15	30	60	120
対照群 ^{a)}		3.20 ± 0.50	3.22 ± 0.27	3.64 ± 0.54	3.70 ± 0.26
ミグリトール	1 mg/kg	3.19 ± 0.22	3.20 ± 0.22	3.69 ± 0.33	3.63 ± 0.33
	3 mg/kg	3.30 ± 0.28	3.39 ± 0.26	3.84 ± 0.20	3.77 ± 0.25
	10 mg/kg	3.22 ± 0.18	3.25 ± 0.28	3.65 ± 0.15	3.52 ± 0.27
	30 mg/kg	3.35 ± 0.42	3.19 ± 0.29	3.70 ± 0.58	3.76 ± 0.46

値は平均 ± 標準偏差で示す (n=6)。

a) : 0.5%トラガカント懸濁液 10 mL/kg を経口投与した。

表 2.6.2.3-7 絶食正常ラット単回経口投与によるインスリン分泌に及ぼす影響
[4.2.1.2(6)インスリン分泌/*vivo*]

群	用量 (経口)	血清インスリン濃度(μg/L)			
		投与後時間 (min)			
		15	30	60	120
対照群 ^{a)}		0.21 ± 0.07	0.20 ± 0.05	0.30 ± 0.14	0.35 ± 0.06
ミグリトール	1 mg/kg	0.21 ± 0.04	0.27 ± 0.06*	0.30 ± 0.10	0.41 ± 0.14
	3 mg/kg	0.16 ± 0.03	0.20 ± 0.06	0.33 ± 0.10	0.46 ± 0.18
	10 mg/kg	0.20 ± 0.03	0.21 ± 0.05	0.39 ± 0.18	0.37 ± 0.10
	30 mg/kg	0.20 ± 0.20	0.17 ± 0.05	0.34 ± 0.10	0.33 ± 0.07

値は平均 ± 標準偏差で示す (n=6)。

a) : 0.5%トラガカント懸濁液 10 mL/kg を経口投与した。

*p<0.05 : 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

2) 筋肉のグルコース取込みに及ぼす影響 [4.2.1.2(7)筋肉糖取込み]

筋肉のグルコース取込みに及ぼすミグリトールの影響について、[¹⁴C] 2-デオキシグルコースをグルコース取込みの指標として、マウス骨格筋（ヒラメ筋）を用いた *in vitro* 試験を行って検討した。

ミグリトール（11，22 mmol/L）は、22 mmol/L の濃度まで、基礎状態におけるグルコースの取込み及びインスリン刺激により誘発したグルコースの取込みに影響を及ぼさなかった [図 2.6.2.3-6]。

2.6.2.3 副次的薬理試験

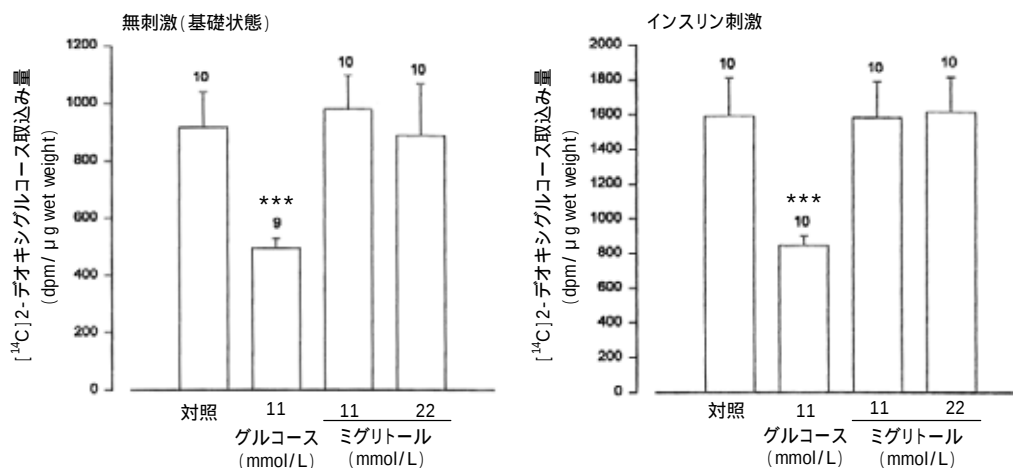


図 2.6.2.3-6 マウス骨格筋の $[^{14}\text{C}]$ 2-デオキシグルコース取込みに及ぼす影響
[4.2.1.2(7)筋肉糖取込み]

マウス摘出骨格筋（ヒラメ筋）は無刺激又はインスリン（ $300 \mu\text{U/mL}$ ）刺激下で $[^{14}\text{C}]$ 2-デオキシグルコース（ $0.25 \mu\text{Ci/mL}$ ），ミグリトール又はグルコースと 30 分間インキュベーションした．値は平均 $\pm$ 標準偏差で示す（ $n=9 \sim 10$ ）．

*** $p < 0.001$ ：対照群に対する有意差（Student の t 検定）．

3) 脂肪細胞のグルコース代謝に及ぼす影響 [4.2.1.2(11)（参考資料）脂肪細胞糖取込み]

脂肪細胞のグルコース代謝に及ぼすミグリトールの影響について，ラット脂肪細胞を用いた *in vitro* 試験を行って検討した．

ミグリトール（ 0.06 ， 0.6 ， 6 mmol/L ）は， 6 mmol/L の濃度まで，基礎状態におけるグルコース輸送及び代謝，並びにインスリン刺激により誘発したグルコース輸送及び代謝に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.3-8，表 2.6.2.3-9]．

表 2.6.2.3-8 ラット単離脂肪細胞のグルコース輸送に及ぼす影響
[4.2.1.2(11)（参考資料）脂肪細胞糖取込み]

ミグリトール (mmol/L)	グルコース取込み量 (pmol/sec/ 10^6 cells)	
	無刺激 (基礎状態)	インスリン刺激
0	2.78 ± 0.53	10.46 ± 1.21
0.06	3.10 ± 0.54	11.86 ± 1.40
0.6	2.81 ± 0.34	11.20 ± 1.76
6	3.57 ± 0.53	11.62 ± 1.16

ラット単離脂肪細胞は無刺激又はインスリン刺激（ $1000 \mu\text{U/mL}$ ）下でミグリトールと 1 時間反応させ， $[6\text{-}^{14}\text{C}]$ グルコース（ $50 \mu\text{mol/L}$ ）取込み量を 20 秒間測定した．値は平均 $\pm$ 標準誤差で示す（ $n=4$ ）．

2.6.2.3 副次的薬理試験

表 2.6.2.3-9 ラット単離脂肪細胞のグルコース代謝に及ぼす影響
[4.2.1.2(11) (参考資料) 脂肪細胞糖取込み]

ミグリトール (mmol/L)	グルコース代謝 (nmol/2 h/10 ⁶ cells)							
	無刺激 (基礎状態)				インスリン刺激			
	乳酸	CO ₂	脂肪酸	グリセロール	乳酸	CO ₂	脂肪酸	グリセロール
0	300 ± 20	193 ± 49	187 ± 26	169 ± 10	1067 ± 130	638 ± 219	808 ± 200	210 ± 26
0.06	235 ± 46	186 ± 57	208 ± 67	175 ± 6	1231 ± 166	568 ± 174	629 ± 204	249 ± 25
0.6	204 ± 42	158 ± 59	196 ± 7	161 ± 6	1236 ± 234	539 ± 170	621 ± 201	229 ± 32
6	247 ± 49	184 ± 52	193 ± 48	165 ± 14	1093 ± 230	578 ± 188	741 ± 289	201 ± 29

ラット単離脂肪細胞は無刺激又はインスリン (1000 μ U/mL) 刺激下でミグリトールと 1 時間反応させ、5 mmol/L [U-¹⁴C] グルコース (50 μ Ci/mL) と 2 時間インキュベーションし、乳酸、CO₂、脂肪酸及びグリセロールを測定した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=4)。

(5) 脂質の吸収及び代謝に及ぼす影響 [4.2.1.2(12) (参考資料) タウロコール酸腸管吸収 I 4.2.1.1(2) 正常ラット I 4.2.1.1(4) GK ラット/混餌] [4.2.1.1(8) (参考資料) STZ ラット/混餌] [4.2.1.1(9) (参考資料) JCR:LA-cp ラット]

脂質の吸収及び代謝に及ぼすミグリトールの影響について、ラット反転腸管を用いた *in vitro* 試験及びラット *in vivo* 試験を行って検討した。

雄性 Wistar ラット反転腸管 (回腸) を用いた *in vitro* 試験において、ミグリトールは 25 μ g/mL (0.12 mmol/L) の濃度でタウロコール酸の腸管吸収に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.3-10]。

表 2.6.2.3-10 正常ラット反転腸管のタウロコール酸吸収に及ぼす影響
[4.2.1.2(12) (参考資料) タウロコール酸腸管吸収]

群	濃度	タウロコール酸取込み速度 (nmol/min/100 mg dry weight of tissue)					
		スクロース非添加			20 mmol/L スクロース添加		
		タウロコール酸 (mmol/L)			タウロコール酸 (mmol/L)		
		0.25	1.0	4.0	0.25	1.0	4.0
対照群		35.88 ± 8.09	50.99 ± 14.99	145.73 ± 33.02	29.43 ± 5.85	94.45 ± 19.54	157.01 ± 44.22
ミグリトール 25 μ g/mL		36.39 ± 13.08	109.71 ± 22.5	159.33 ± 27.6	16.46 ± 4.84	115.64 ± 14.29	142.88 ± 46.62

ラット反転腸管 (回腸) は [²⁴-¹⁴C] タウロコール酸 (66 μ Ci/mmol) 及びミグリトールと 5 分間インキュベーションした。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6~9)。

正常ラットを用いた *in vivo* 試験において、約 18 時間絶食させた雄性 SD ラット (6 週齢) にミグリトール (1, 3, 10 mg/kg) をオリーブオイル (5 mL/kg) 及びスクロース (2 g/kg) と同時に経口投与し、血漿 TG 値に及ぼす影響を検討した。ミグリトールは、10 mg/kg で負荷後 2 時間の血漿 TG 値に有意な変化を与えたが、その他の用量及び時間では影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.3-11]。したがって、ミグリトールは、脂質とスクロースを同時に投与した場合、脂質の腸管吸収に影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.2.3 副次的薬理試験

表 2.6.2.3-11 正常ラットの脂質吸収に及ぼす影響 [4.2.1.1(2)正常ラット]

群	用量 (経口)	TG 変化率 (%) ^{a)}		
		オリーブオイル・スクロース負荷後時間(h)		
		1	2	3
対照群		79.1 ± 7.2	118.8 ± 13.8	116.2 ± 11.1
ミグリトール	1 mg/kg	74.5 ± 3.3	96.0 ± 4.0	122.4 ± 7.6
	3 mg/kg	68.2 ± 2.2	87.7 ± 5.8	130.2 ± 11.6
	10 mg/kg	73.1 ± 0.8	83.2 ± 8.4*	96.9 ± 10.0

絶食ラットにミグリトール、オリーブオイル及びスクロースを同時に経口投与した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=6)。

a) : オリーブオイル・スクロース負荷前の血漿 TG 値の平均を 100 として算出した。

*p<0.05 : 対照群に対する有意差 (Dunnett の多重比較検定)。

また、病態モデル動物の血中脂質成分に対する作用を検討した。

高スクロース・高脂肪食を用いた GK ラットの 8 週間混餌投与試験において、ミグリトールは、400 ppm (平均薬物投与量 19 mg/kg/day) で、血漿 TG 値及び遊離脂肪酸 (FFA) 濃度に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.3-12]。その他に、1 型糖尿病モデル動物 [表 2.6.2.2-7] 及び肥満モデル動物 [表 2.6.2.2-16] においても、血中脂質成分に影響を及ぼさないことが確認された。

表 2.6.2.3-12 高スクロース・高脂肪食 8 週間混餌投与後の GK ラット血漿脂質に対する作用 [4.2.1.1(4)GK ラット/混餌 より抜粋]

群	用量 (混餌)	TG (mg/dL)		FFA (mEq/L)	
		投与開始時	投与 8 週後	投与開始時	投与 8 週後
対照群		64.8 ± 10.7	73.5 ± 9.7	1.06 ± 0.11	0.93 ± 0.04
ミグリトール	100 ppm	52.8 ± 6.6	66.6 ± 6.9	1.13 ± 0.07	0.93 ± 0.04
	200 ppm	57.8 ± 4.3	58.5 ± 5.9	0.94 ± 0.09	0.93 ± 0.05
	400 ppm	58.6 ± 3.2	51.5 ± 6.8	1.01 ± 0.07	0.85 ± 0.05

値は平均 ± 標準誤差で示す (n=5 ~ 7)。

2.6.2.4 安全性薬理試験

安全性薬理試験は、「安全性薬理試験ガイドライン」(H.13.6.21 医薬審発第 902 号)の通知以前に計画及び実施した。コアバッテリー試験及び補足的安全性薬理試験の一部は、「新医薬品等の製造(輸入)承認申請に必要な一般薬理試験のガイドラインについて」(H.3.1.29 薬新薬第 4 号)に準じ、OECD-GLP 及びドイツ又はイギリスの GLP に従って実施した。

補足的安全性薬理試験として、ミグリトールの作用部位である消化管に対し、反復投与による小腸の順応及び腸内細菌に及ぼす影響を検討した。また、グリコーゲン蓄積及び CYP2E1 に及ぼす影響を検討した。いずれの試験も、試験系(例数及び対照の使用、投与経路)、被験物質の用量及び濃度、試験期間、GLP の適用に関し、安全性薬理試験ガイドラインの基準に適合していた。

(1) 安全性薬理コアバッテリー試験

ミグリトールは、30、100 及び 300 mg/kg の用量で、マウス、ラット及びモルモットには単回経口投与、イヌには単回十二指腸内投与した。最高用量は、ラットに対する ED₅₀ 値の 100 倍に相当し、ミグリトールの安全性を検討する上で十分に高用量であると考えられた。

1) 中枢神経系に及ぼす影響 [4.2.1.3(1)中枢神経系/一般症状][4.2.1.3(2)中枢神経系/けいれん作用][4.2.1.3(3)中枢神経系/体温]

マウス又はラットにミグリトールを経口投与し、中枢神経系に及ぼす影響を検討した。

ラットを用いた一般症状観察 [4.2.1.3(1)中枢神経系/一般症状] において、300 mg/kg で 1 例に投与後 30 分及び 45 分に流涎を観察したが、60 分以降は消失した。その他の一般症状には特記すべき所見は認められなかった。

マウスのペンチレンテトラゾールけいれん [4.2.1.3(2)中枢神経系/けいれん作用] に対し、100 及び 300 mg/kg でけいれん誘発閾値を軽度低下した。ラットの正常体温 [4.2.1.3(3)中枢神経系/体温] に対し、300 mg/kg で対照群で認められた投与時のストレスによると考えられる軽度な体温上昇を示さず、投与後 30、60 及び 90 分の体温は対照群に比べてわずかに低値を示した。

また、ラットの自発運動量 [4.2.1.3(3)中枢神経系/体温] に対し、100 mg/kg で投与後 30 分に立ち上がり回数を軽度増加し、60 分に移動距離を軽度増加した。しかし、30 及び 300 mg/kg では影響がなく、休息時間には影響を及ぼさないことから、偶発的な所見と考えられた。その他の中枢神経系に対して、300 mg/kg で影響を及ぼさなかった。

ミグリトールは、300 mg/kg で一般症状観察及び正常体温、100 mg/kg 以上でけいれん作用に対する影響が認められた。しかし、これらの所見は、1 回の臨床最高用量：75 mg/body (60 kg)、1.25 mg/kg の 80 倍以上の高用量でいずれも軽度に観察されたに過ぎないことから、実際の臨床では、ミグリトールが中枢神経系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

2) 心血管系に及ぼす影響 [4.2.1.3(4)心血管系]

ミグリトールは、フェンタニル・笑気麻酔イヌの血圧、心拍数、心電図、左心室内圧、左室内圧最大上昇速度、左室拡張終期圧、心室収縮性、中心静脈圧、心拍出量、1 回拍出量、全末梢血管抵抗、大腿動脈血流量、大腿末梢抵抗、血液ガス及び血液 pH に影響を及ぼさなかった。また、心電図測定において、心室性再分極遅延作用 (QT 間隔延長作用) を示さなかった。

3) 呼吸系に及ぼす影響 [4.2.1.3(5)呼吸器系]

ミグリトールは、モルモットの呼吸数、肺抵抗、動肺コンプライアンス、血液ガス及び血液 pH に影響を及ぼさなかった。

(2) 補足的安全性薬理試験

ミグリトールの投与量は、単回経口投与では最高用量をコアバッテリー試験と同様 300 mg/kg とし、混餌投与では 400 又は 800 ppm とした。肝グリコーゲン蓄積に及ぼす影響の評価では、投与経路による比較を経口、混餌及び腹腔内投与にて行い、それぞれ 400 mg/kg/day, 4000 ppm 及び 200 mg/kg/day を投与した。混餌投与の 400, 800 及び 4000 ppm は、ラットの体重を 200 g、摂餌量を 20 g/day として換算すると、40, 80 及び 400 mg/kg/day に相当し、十分に高用量であると考えられた。また、*in vitro* 試験の最高濃度は 10^{-4} g/mL とした。

1) 腎・泌尿器系に及ぼす影響 [4.2.1.3(6)泌尿器系]

ミグリトールは、300 mg/kg で Na^+ 及び Cl^- のラット尿中排泄量を軽度増加したが、30 及び 100 mg/kg では影響を及ぼさなかった。 K^+ の尿中排泄量及び尿量に影響を及ぼさなかった。

2) 自律神経系に及ぼす影響 [4.2.1.3(7)自律神経系]

ミグリトールは、モルモット摘出回腸標本の自動運動及びアセチルコリン、セロトニン、ヒスタミン及び塩化バリウムによる収縮に影響を及ぼさなかった。

3) 胃腸管系に及ぼす影響 [4.2.1.3(8)消化器系]

ミグリトールは、ラット胃腸管内輸送能及び胃酸分泌に影響を及ぼさなかった。ラット胃粘膜に対し、100 mg/kg で 1 例に病変が認められたが、偶発的な所見と考えられた。

ミグリトールは、ラット胃腸管内輸送能、胃粘膜及び胃酸分泌に影響を及ぼさないと考えられた。

4) 血液系に及ぼす影響 [4.2.1.3(9)血液系]

ミグリトールは、ラットの血液学的パラメータ（赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）、血液凝固系及び血小板凝集能に影響を及ぼさなかった。

5) 血糖に及ぼす影響 [4.2.1.3(10)血糖]

ミグリトールは、投与まで自由摂餌させたラットの血糖値に影響を及ぼさなかった。一方、投与まで 18 時間絶食させたラットの血糖値は、300 mg/kg で投与後 120 分に軽度上昇、30 及び 100 mg/kg で投与後 240 分に軽度低下した。しかし、用量に依存した変動は認められず、偶発的な所見と考えられた。

ミグリトールは、絶食時及び非絶食時の血糖値に影響を及ぼさないと考えられた。

6) 反復投与による消化管に及ぼす影響

小腸の順応に及ぼす影響 [4.2.1.3(11)小腸順応]

α -GI を長期経口投与した場合、小腸上部の二糖類水解酵素活性を阻害して糖質吸収を抑制するため、小腸下部に二糖類水解酵素活性が発現して、順応的に糖質吸収が向上することが知られている。ミグリトールも他の α -GI と同様に、小腸において順応的な変化が起こっていると考えられる。そこで、小腸下部の二糖類水解酵素に対するミグリトールによる順応的な変化を評価した。

雄性 Wistar ラットにミグリトール(400,800 ppm)を3,7,14及び28日間混餌投与し、28日間投与後は対照食(AIN⁷⁶準拠精製飼料,35%コーンスターチ,30%スクロース含有)に切り替えて7日間与えた。対照には対照食のみを与えた。投与終了後に約12時間絶食させて小腸を摘出し、空腸上部、空腸下部及び回腸とした。小腸各部の組織湿重量、粘膜重量、二糖類水解酵素活性、スクラーゼ-イソマルターゼ複合体(SI)のたん白量及び mRNA 量、並びに SGLT1 の mRNA 量を測定した。また、同時に盲腸を摘出し、湿重量及び内容物の重量を測定した。なお、ミグリトールの投与による下痢などの消化器症状は観察されず、体重は対照群と同様増加した。

ミグリトールの投与3日目ないし7日目から回腸の二糖類水解酵素活性は上昇したが、投与期間が延びても活性は亢進しなかった。空腸下部では回腸と同様な活性変動が認められたが、その変化は小さかった。また、ミグリトールの投与28日目までに認められた二糖類水解酵素活性の変化は、投与中止後7日目には対照群とほぼ同じレベルまで回復した[図2.6.2.4-1]。

SIのたん白量は投与3日目から空腸下部及び回腸で増大したが、mRNA量に顕著な増大は認められなかった。また、SGLT1のmRNA量に明確な変化は認められなかった。

組織湿重量及び粘膜重量は投与3日目には空腸下部及び回腸で増加したが、投与中止後7日目には対照群のレベルまで回復した。空腸上部の組織湿重量及び粘膜重量、盲腸の湿重量及び内容物重量は変化しなかった。さらに、腸管の長さはミグリトールの投与によって変化しなかった。

ミグリトールは、小腸上部の二糖類水解酵素活性を阻害して糖質吸収を抑制する代償として小腸下部に酵素活性を誘導し、順応的に糖質吸収を亢進させた。この順応性の変化は投与中止後1週間程度で回復する可逆的なものであった。

2.6.2.4 安全性薬理試験

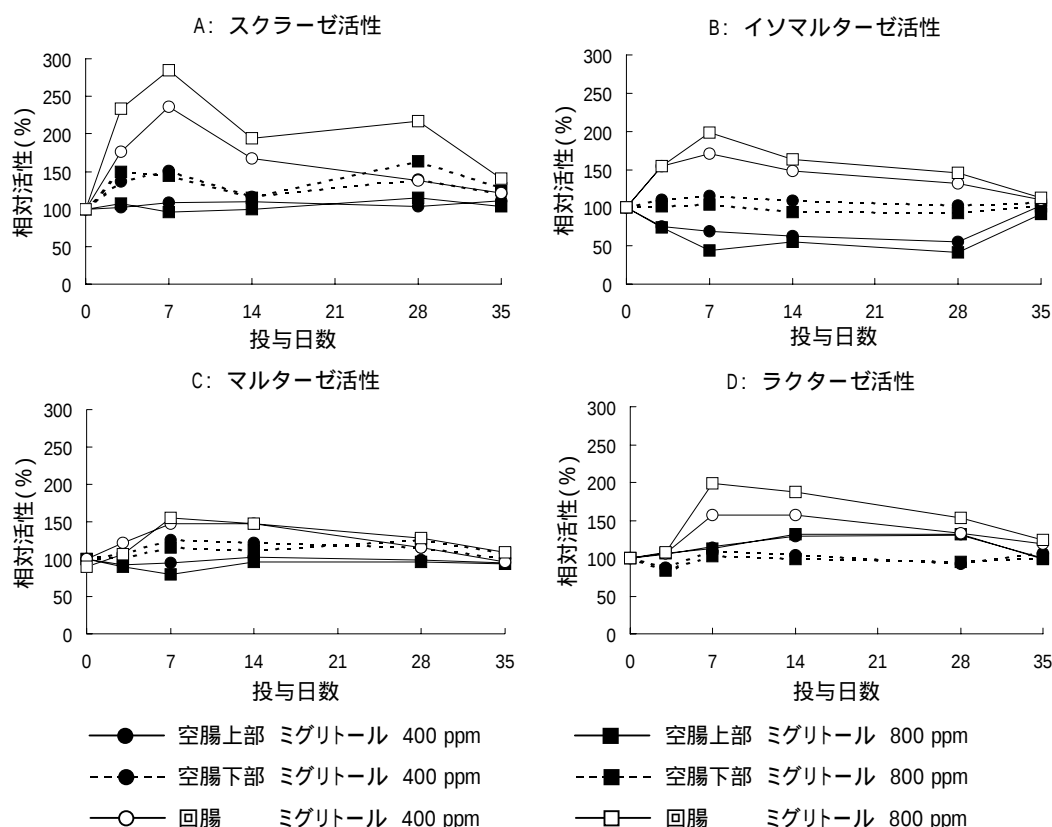


図 2.6.2.4-1 反復混餌投与によるラット小腸二糖類水解酵素活性に及ぼす影響
[4.2.1.3(11)小腸順応]

Wistar ラットにミグリトールを 3, 7, 14, 28 日間混餌投与し、その後 7 日間是对照食 (AIN⁷⁶ 準拠精製飼料, 35% コーンスターチ, 30% スクロース含有) を与えた。対照には対照食のみを与えた。絶食後に小腸を摘出し、二糖類水解酵素活性 (スクラーゼ, イソマルターゼ, マルターゼ, ラクターゼ) を測定した。相対活性 (%) は、各評価日における対照群の酵素活性値の平均を 100 として算出した。値は平均で示す (n=6)。

腸内細菌に及ぼす影響 [4.2.1.3(12)腸内細菌]

α -GI では、特に高用量において、未消化の糖質が下部消化管へ流入して腸内細菌の栄養源となることが知られており、腹部膨満、鼓腸及び下痢などの消化器症状をもたらすと考えられている。

Benno らは、ミグリトールのラット腸内細菌に及ぼす影響を検討し、アカルボースと比較した。雄性 Fischer ラットにミグリトール (400 ppm) 又はアカルボース (200, 400 ppm) を 2 及び 4 週間混餌投与し、腸内細菌並びに盲腸の重量, pH, 含水量及びアンモニア濃度を測定した。ミグリトールでは、Enterobacteriaceae の減少, *Peptostreptococcus* spp., lecithinase-negative *Clostridium* spp. 及び *Staphylococcus* spp. の増加など腸内細菌叢の組成に軽微な変化が認められたが、アカルボース (200 及び 400 ppm, 4 週間) のように糖質を栄養源とする *Bifidobacterium* spp. の増加は見られなかった。また、アカルボースでは盲腸重量の増大、盲腸内 pH 及びアンモニア濃度の低下が見られたが、ミグリトールは盲腸にほとんど影響を及ぼさなかった。

7) 反復投与によるグリコーゲン蓄積に及ぼす影響^[4.2.1.3(13)グリコーゲン蓄積/投与経路Ⅱ 4.2.1.3(14) (参考資料)]

グリコーゲン蓄積/他剤比較]

副次的薬理試験において、ミグリトールがグリコーゲン代謝に関与するリソソーム中 α -グルコシダーゼ及びグリコーゲン脱分岐酵素のアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性を阻害することが確認された。一方、類薬では、アカルボース（200 mg/kg 反復，400 mg/kg 単回）をラットに腹腔内投与すると、肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積を誘発し、明らかに正常のリソソームの形状とは異なる肥大化したリソソームを認めることが報告されている^{13,14)}。そこで、ラットに高用量のミグリトールを反復混餌投与し、グリコーゲン蓄積に及ぼす影響を検討した。

雌性 SD ラットにミグリトールを経口（400 mg/kg/day），混餌（4000 ppm，薬物投与量は 456 mg/kg/day）及び腹腔内（200 mg/kg/day）にて 29 日間投与し，24 時間絶食後のグリコーゲン蓄積を検討した。高用量のミグリトールにより，肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積が極めて散発的に認められたが，リソソームの形状に異常は見られなかった[表 2.6.2.4-1]。

表 2.6.2.4-1 反復投与によるラット肝グリコーゲン蓄積に及ぼす影響
[4.2.1.3(13)グリコーゲン蓄積/投与経路 より改変]

	投与薬物	対照	ミグリトール		
			経口	混餌	腹腔内
	投与経路				
	投与量	無処置	400 mg/kg/day	4000 ppm	200 mg/kg/day
	投与期間		29 日間	29 日間	29 日間
病理組織学的 検査	PAS 染色陽性数/観察数	0/5	1/5 ^{a)}	2/5 ^{b)}	0/5
光学顕微鏡 検査	PAS 染色陽性封入体 検出数/観察数	0/2	2/5 ^{c)}	0/1	2/5 ^{c)}
電子顕微鏡 検査	正常なリソソーム	+	+	+	+
	肝リソソーム中グリコーゲン 蓄積検出数/観察数	0/2	1/5 ^{d)}	0/1	3/5 ^{d)}
	リソソームの大きさ	正常	正常	正常	正常

SD ラットにミグリトールを経口，混餌及び腹腔内にて 29 日間投与し，絶食後に肝臓のグリコーゲン蓄積を検討した。各投与群 15 例中の 1～5 例について病理組織学的検査（グリコーゲンの半定量，PAS 染色陽性反応の等級分類 1～5），光学顕微鏡検査（グリコーゲン検出）及び電子顕微鏡検査（グリコーゲン含有リソソーム検出）を行った。

a)：PAS 染色陽性反応の等級 0-1 が 1 例検出された。

b)：PAS 染色陽性反応の等級 1 及び 2 がそれぞれ 1 例ずつ検出された。

c)：肝細胞中の PAS 染色陽性封入体が極めて散発的に検出された。

d)：グリコーゲンを含む肝リソソームは，ラット 1 匹あたり約 20 例の切片のうち 1～2 切片で検出された。

13)Lüllmann-Rauch R. Lysosomal glycogen storage mimicking the cytological picture of Pompe's disease as induced in rats by injection of an α -glucosidase inhibitor. I. Alterations in liver. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol. 1981;38:89-100.

14)Lüllmann-Rauch R. Lysosomal glycogen storage mimicking the cytological picture of Pompe's disease as induced in rats by injection of an α -glucosidase inhibitor. II. Alterations in kidney, adrenal gland, spleen and soleus muscle. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol. 1982;39:187-202.

2.6.2.4 安全性薬理試験

Lembcke らは、雌性 Wistar ラットにミグリトール（5, 50, 500 mg/kg/day, 28 日間）、アカルボース（1000 mg/kg/day, 7 日間）及びミグリトールと同じデオキシノジリマイシン誘導体で α -GI のエミグリテート（5, 50, 500 mg/kg/day, 28 日間）を経口投与し、13 時間以上絶食後のグリコーゲン蓄積を検討した。アカルボース及びエミグリテートでは明瞭な肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積、リソソームの肥大化及び肝重量の増加が観察された。一方、ミグリトールではこれらの所見は認められず、500 mg/kg/day で肝リソソーム内への軽微なグリコーゲン蓄積を散発的に認めたが、リソソームの形状に異常は見られなかった〔表 2.6.2.4-2〕。

表 2.6.2.4-2 反復投与によるミグリトール、エミグリテート及びアカルボースのラット肝グリコーゲン蓄積作用
〔4.2.1.3(14)（参考資料）グリコーゲン蓄積/他剤比較 より改変〕

投与薬物		ミグリトール	エミグリテート	アカルボース
投与経路		経口	経口	経口
投与量		500 mg/kg/day	500 mg/kg/day	1000 mg/kg/day
投与期間		28 日間	28 日間	7 日間
肝重量		不変	有意な増加	有意な増加
肝グリコーゲン量		有意な増加	有意な増加	有意な増加
光学顕微鏡検査	PAS 染色 positive 数/観察数	0/7	8/8	
	〔等級分類〕			
	negative	5 例	-	
	slightly positive	2 例	-	
	positive	-	5 例	
	strongly positive	-	3 例	
電子顕微鏡検査	細胞質グリコーゲン	-	-	-
	グリコーゲンを含むリソソーム	± 極めて散発的	+	+ a)
	リソソームの大きさ	正常	ミトコンドリア以上に肥大化	ミトコンドリアの 2 倍以上に肥大化

：検査結果に関する記載がなく、詳細は不明。

a)：リソソームの形状は顆粒状であるが、グリコーゲンは検出されなかった。固定時の抜け落ちが原因と考えられる。

ラットにミグリトール（400 mg/kg/day）を反復経口投与したときに肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積が極めて散発的に認められた。このときの用量は、正常ラットに対する ED_{50} 値（3 mg/kg）の約 130 倍に相当し、また、ラット反復経口投与毒性試験（トキシコキネティクス試験）〔4.2.3.2(6)（参考資料）反復/ラット・イヌ 3 カ月間/TK〕の結果より、臨床至適用量：150 mg/body/day をヒトに 8 日間経口投与したときの $AUC: 2.8 \text{ mg} \cdot \text{h/L}$ 〔5.3.3.1(3)PK 反復〕の 50 倍以上に相当する。したがって、ミグリトールは、高用量の反復投与により肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積を極めて散発的に誘発したが、実際の臨床ではグリコーゲン蓄積を誘発する可能性は低いと考えられた。

8) 反復投与による肝薬物代謝酵素に対する作用〔4.2.2.6(1)酵素誘導/混餌〕

Wang らは、雄性 SD ラットにアカルボース（200, 400, 800 ppm）を 3 週間混餌投与（投与 3 週間後の平均薬物投与量は 10, 20, 43 mg/kg/day）すると、400 及び 800 ppm ではチト

クローム P450 の分子種のひとつである CYP2E1 が誘導され [表 2.6.2.4-3], アセトアミノフェンを併用した場合にその代謝物の増加による肝障害を増悪することを報告している¹⁵⁾。そこで、ラットにミグリトールを反復混餌投与し、CYP2E1 に及ぼす影響を検討した。

表 2.6.2.4-3 アカルボースの反復混餌投与によるラット肝薬物代謝酵素に及ぼす影響

	用量 (混餌)	ミクロソーム たん白量 (mg/g liver)	チトクローム P450 含量 (nmol/mg protein)	CYP2E1 量 (吸光度)	ジメチルニトロサミン 脱メチル化活性 (nmol/min/mg protein)
対照群		17.6 ± 2.0	0.70 ± 0.11	0.36 ± 0.05	1.20 ± 0.11
アカルボース	200 ppm	18.0 ± 2.4	0.72 ± 0.12	0.38 ± 0.07	1.28 ± 0.20
	400 ppm	18.8 ± 2.2	0.79 ± 0.12	0.42 ± 0.08	1.43 ± 0.21*
	800 ppm	18.7 ± 2.4	0.88 ± 0.18*	0.50 ± 0.08*	1.93 ± 0.31*

SD ラット (10 週齢) にアカルボース (200, 400, 800 ppm) を 3 週間混餌投与 (投与 3 週間後の平均薬物投与量は 10, 20, 43 mg/kg/day) した。対照には通常飼料 (CE-2, 日本クレア) を与えた。肝臓を摘出して肝ミクロソームを調製し、ミクロソームたん白量, チトクローム P450 含量, CYP2E1 量及び CYP2E1 のジメチルニトロサミン脱メチル化活性を測定した。値は平均 ± 標準偏差で示す (n=10)。

*p<0.05: 対照群に対する有意差 (分散分析及び Fisher's protected least significant difference)。

出典: 引用文献 15)。

雄性 Wistar ラットにミグリトール (400, 800 ppm) を 28 日間混餌投与 (投与 27 日間後の平均薬物投与量は 17, 26 mg/kg/day) した。対照には対照食 (AIN⁷⁶ 準拠精製飼料, 35% コーンスターチ, 30% スクロース含有) を与えた。投与終了後に約 12 時間絶食させ、肝臓を摘出して肝ミクロソームを調製し、チトクローム P450 含量及び CYP2E1 のアニリン水酸化活性を測定した。

ミグリトールは、ラット肝重量, チトクローム P450 含量に影響を及ぼさず, CYP2E1 を誘導しなかった [表 2.6.2.4-4]。したがって、ミグリトールは、肝薬物代謝酵素の誘導による肝障害を示す可能性は低いと考えられた。

表 2.6.2.4-4 ミグリトールの反復混餌投与によるラット肝薬物代謝酵素に及ぼす影響
[4.2.2.6(1) 酵素誘導/混餌]

	用量 (混餌)	肝重量 (g)	肝重量/体重 (%)	チトクローム P450 含量 (nmol/mg protein)	アニリン水酸化活性 (nmol/min/mg protein)
対照群		7.53 ± 0.40	3.51 ± 0.15	0.821 ± 0.046	0.679 ± 0.067
ミグリトール	400 ppm	8.05 ± 0.49	3.72 ± 0.14	0.788 ± 0.069	0.602 ± 0.043
	800 ppm	7.47 ± 0.34	3.48 ± 0.13	0.757 ± 0.047	0.650 ± 0.031

Wistar ラット (6 週齢) にミグリトールを 28 日間混餌投与した。対照には対照食 (AIN⁷⁶ 準拠精製飼料, 35% コーンスターチ, 30% スクロース含有) を与えた [2.6.2.4 (2) 6) 参照]。絶食後に肝臓を摘出して肝ミクロソームを調製し、チトクローム P450 含量及び CYP2E1 のアニリン水酸化活性を測定した。値は平均 ± 標準誤差で示す (n=5)。

15) Wang PY, Kaneko T, Wang Y, Sato A. Acarbose alone or in combination with ethanol potentiates the hepatotoxicity of carbon tetrachloride and acetaminophen in rats. Hepatology. 1999;29:161-5.

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

ミグリトールは、類薬と同様、作用機序の異なる他の糖尿病用薬との併用が考えられる。ミグリトールと併用される可能性のある代表的な糖尿病用薬として、インスリン製剤、経口血糖降下薬のSU剤及びBG剤を選択し、ミグリトールとの薬力学的薬物相互作用について、正常ラットを用いて検討した。

(1) インスリン製剤との相互作用 [4.2.1.4(1)インスリン併用]

絶食雄性 Wistar ラットにインスリン (0.3, 1, 3 U/kg) を皮下投与し、インスリンの血糖降下作用に及ぼすミグリトール (5 mg/kg, 経口投与) の影響を検討した。

ミグリトールは、インスリン製剤の血糖降下作用に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.5-1]。

表 2.6.2.5-1 インスリンの絶食ラット血糖降下作用に及ぼす影響
[4.2.1.4(1)インスリン併用 より抜粋]

群	用量 (経口又は皮下 ^{a)})	血糖値 (mmol/L)			
		薬物投与後経過時間 (min)			
		20	40	60	120
対照群 ^{b)}		3.35 ± 0.18	3.60 ± 0.25	3.73 ± 0.27	3.37 ± 0.18
ミグリトール	5 mg/kg	3.41 ± 0.15	3.79 ± 0.22	3.81 ± 0.19	3.49 ± 0.30
インスリン	3 U/kg	0.84 ± 0.06+++	1.26 ± 0.11+++	1.37 ± 0.10+++	0.81 ± 0.11+++
インスリン + ミグリトール	3 U/kg + 5 mg/kg	0.95 ± 0.10*	1.21 ± 0.13	1.34 ± 0.10	0.90 ± 0.13

値は平均 ± 標準偏差で示す (n=6)。

a): ミグリトールは経口投与、インスリンは皮下投与した。

b): 生理食塩液を経口投与 (10 mL/kg) 及び皮下投与 (1 mL/kg) した。

*p<0.05: インスリン単独投与群に対する有意差 (Student の t 検定)。

+++p<0.001: 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

(2) SU 剤との相互作用 [4.2.1.4(2)グリベンクラミド併用]

SU 剤は、膵β細胞からのインスリン分泌を促進して血糖降下作用を示す。そこで、非絶食雄性 Wistar ラットにグリベンクラミド (0.3, 1, 3 mg/kg) を経口投与し、グリベンクラミドの血糖降下作用及びインスリン分泌促進作用に及ぼすミグリトール (10 mg/kg, 経口投与) の影響を検討した。

ミグリトールは、グリベンクラミドの血糖降下作用及びインスリン分泌促進作用に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.5-2, 表 2.6.2.5-3]。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

表 2.6.2.5-2 グリベンクラミドの非絶食ラット血糖降下作用に及ぼす影響
[4.2.1.4(2)グリベンクラミド併用 より抜粋]

群	用量 (経口)	血糖値 (mmol/L)			
		薬物投与後経過時間 (min)			
		30	60	120	240
対照群 ^{a)}		5.21 ± 0.28	4.95 ± 0.37	5.48 ± 0.37	5.14 ± 0.26
ミグリトール	10 mg/kg	5.21 ± 0.25	4.94 ± 0.11	5.63 ± 0.27	5.27 ± 0.28
グリベンクラミド	3 mg/kg	4.76 ± 0.33+	4.13 ± 0.27+++	3.47 ± 0.33+++	3.58 ± 0.25+++
グリベンクラミド + ミグリトール	3 mg/kg + 10 mg/kg	4.82 ± 0.28	4.12 ± 0.54	3.82 ± 0.24	3.68 ± 0.48

値は平均 ± 標準偏差で示す (n=5~6)。

a): 0.5%トラガカント懸濁液 (10 mL/kg) を経口投与した。

グリベンクラミド併用群の単独投与群に対する有意差は認められなかった (Student の t 検定)。

+p<0.05, +++p<0.001: 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

表 2.6.2.5-3 グリベンクラミドの非絶食ラットインスリン分泌促進作用に及ぼす影響
[4.2.1.4(2)グリベンクラミド併用 より抜粋]

群	用量 (経口)	血清インスリン濃度 (μg/mL)			
		薬物投与後経過時間 (min)			
		30	60	120	240
対照群 ^{a)}		1.22 ± 0.31	1.39 ± 0.39	1.89 ± 0.83	1.61 ± 0.49
ミグリトール	10 mg/kg	1.28 ± 0.30	1.48 ± 0.49	1.60 ± 0.35	1.51 ± 0.51
グリベンクラミド	3 mg/kg	2.69 ± 0.82++	1.86 ± 0.41	2.06 ± 0.95	1.78 ± 0.58
グリベンクラミド + ミグリトール	3 mg/kg + 10 mg/kg	2.01 ± 0.96	2.17 ± 0.33	1.90 ± 0.61	1.87 ± 0.55

値は平均 ± 標準偏差で示す (n=6)。

a): 0.5%トラガカント懸濁液 (10 mL/kg) を経口投与した。

グリベンクラミド併用群の単独投与群に対する有意差は認められなかった (Student の t 検定)。

++p<0.01: 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

(3) BG 剤との相互作用 [4.2.1.4(3)メトホルミン併用/絶食][4.2.1.4(4)メトホルミン併用/非絶食]

BG 剤は、膵β細胞からのインスリン分泌を介することなく、肝臓での糖新生の抑制などにより血糖降下作用を示す。そこで、絶食及び非絶食雄性 Wistar ラットに塩酸メトホルミン (メトホルミンとして、23.4, 78, 234, 780 mg/kg) を経口投与し、塩酸メトホルミンの血糖降下作用及びインスリン分泌に対する作用に及ぼすミグリトール (10 mg/kg) の影響を検討した。

ミグリトールは、塩酸メトホルミンの血糖降下作用及びインスリン分泌に対する作用に影響を及ぼさなかった [表 2.6.2.5-4, 表 2.6.2.5-5, 表 2.6.2.5-6]。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

表 2.6.2.5-4 塩酸メトホルミンの絶食ラット血糖に対する作用に及ぼす影響
[4.2.1.4(3)メトホルミン併用/絶食 より抜粋]

群	用量 (経口)	血糖値 (mmol/L)			
		薬物投与後経過時間 (min)			
		30	60	120	240
対照群 ^{a)}		3.27 ± 0.38	3.53 ± 0.48	3.24 ± 0.30	3.65 ± 0.37
メトホルミン	780 mg/kg	3.16 ± 0.08	3.14 ± 0.14	3.01 ± 0.22	2.79 ± 0.23++
メトホルミン + ミグリトール	780 mg/kg + 10 mg/kg	3.05 ± 0.25	3.21 ± 0.27	2.96 ± 0.21	2.93 ± 0.20

塩酸メトホルミンの用量はメトホルミンとして換算した。値は平均 ± 標準偏差で示す (n=6)。

a): 0.5%トラガカント懸濁液 (10 mL/kg) を経口投与した。

塩酸メトホルミン併用群の単独投与群に対する有意差は認められなかった (Student の t 検定)。

++p<0.01: 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

表 2.6.2.5-5 塩酸メトホルミンの非絶食ラット血糖に対する作用に及ぼす影響
[4.2.1.4(4)メトホルミン併用/非絶食 より抜粋]

群	用量 (経口)	血糖値 (mmol/L)			
		薬物投与後経過時間 (min)			
		60	120	240	360
対照群 ^{a)}		5.02 ± 0.24	5.23 ± 0.08	5.11 ± 0.63	5.63 ± 0.27
メトホルミン	780 mg/kg	4.70 ± 0.18+	4.09 ± 0.23+++	4.23 ± 0.33+	4.25 ± 0.65++
メトホルミン + ミグリトール	780 mg/kg + 10 mg/kg	4.68 ± 0.22	4.32 ± 0.15	4.31 ± 0.43	4.46 ± 0.34

塩酸メトホルミンの用量はメトホルミンとして換算した。値は平均 ± 標準偏差で示す (n=6)。

a): 0.5%トラガカント懸濁液 (10 mL/kg) を経口投与した。

塩酸メトホルミン併用群の単独投与群に対する有意差は認められなかった (Student の t 検定)。

+p<0.05, ++p<0.01, +++p<0.001: 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

表 2.6.2.5-6 塩酸メトホルミンの非絶食ラット血清インスリンに対する作用に及ぼす影響
[4.2.1.4(4)メトホルミン併用/非絶食 より抜粋]

群	用量 (経口)	血清インスリン濃度 (ng/mL)			
		薬物投与後経過時間 (min)			
		60	120	240	360
対照群 ^{a)}		1.98 ± 0.47	2.58 ± 0.46	2.56 ± 0.59	2.58 ± 0.46
メトホルミン	780 mg/kg	1.34 ± 0.24+	1.39 ± 0.57++	1.29 ± 0.41++	1.71 ± 0.68+
メトホルミン + ミグリトール	780 mg/kg + 10 mg/kg	1.80 ± 0.31*	1.58 ± 0.62	1.56 ± 0.77	1.42 ± 0.19

塩酸メトホルミンの用量はメトホルミンとして換算した。値は平均 ± 標準偏差で示す (n=6)。

a): 0.5%トラガカント懸濁液 (10 mL/kg) を経口投与した。

*p<0.05: 塩酸メトホルミン単独投与群に対する有意差 (Student の t 検定)。

+p<0.05, ++p<0.01: 対照群に対する有意差 (Student の t 検定)。

2.6.2.6 考察及び結論

(1) 効力を裏付ける試験

1) 二糖類水解酵素阻害作用

ミグリトールは、小腸粘膜上皮細胞の刷子縁に存在する種々の二糖類水解酵素を競合的に阻害する。すなわち、動物モデルでは二糖類の種類を問わず、その吸収を遅延させることから、臨床の場においても多様な食事に対して食後の血糖上昇を抑制することが推測された。

2) 糖質吸収に対する作用

正常ラットを用いて、スクロース負荷後の血糖値、肝グリコーゲン含量及び消化管各部位のスクロース残存量を指標として、ミグリトールの投与量と糖質吸収との関係を検討した。

ミグリトールの高用量（30 mg/kg）では糖質の吸収阻害が認められたが、それ以下の用量では緩やかに糖質を吸収し、全体の糖質吸収量に影響することなく、糖質の吸収遅延が認められた。このことから、糖質の吸収阻害作用が発現する投与量と糖質負荷後の血糖上昇抑制作用の ED_{50} 値（3 mg/kg）には、約 10 倍の用量差があることが明らかとなった。また、ヒトと動物を比較した場合、個体の反応性、薬物の吸収及び分布の違いなどの種差があるために単純に外挿することはできないが、1 回の臨床最高用量：75 mg/body（60 kg）が 1.25 mg/kg に相当することから、非臨床試験の成績より判断すると臨床で糖質の吸収阻害が発現する可能性は低いと考えられた。

ミグリトールは、臨床試験において、食後早期の血糖上昇を強力に抑制することが確認されている。スクロースを負荷した正常ラットにおいても、30 mg/kg では糖質吸収が阻害され、血糖値の上昇は見られなかったが、 ED_{50} 値の 3 mg/kg ではスクロース負荷後早期に強い血糖上昇抑制が認められ、ヒトと同様な血糖値の推移を示した [図 2.6.2.6-1]。

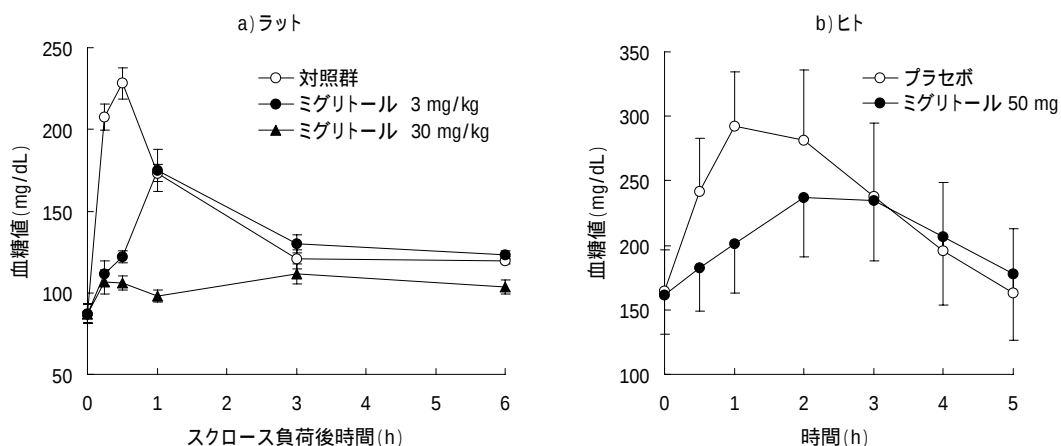


図 2.6.2.6-1 ラットのスクロース負荷後血糖値及びヒト（2 型糖尿病患者）の食後血糖値の推移

a) ラット：表 2.6.2.2-3（対照，ミグリトール 3 及び 30 mg/kg）のデータをグラフで表した。値は平均 ± 標準誤差で示す（n=6）。

b) ヒト：臨床薬理試験 [5.3.4.2(1) 糖尿病/食事負荷] のデータを示した。値は平均 ± 標準偏差（n=40）で示す。

ミグリトールの食後血糖上昇抑制作用は、グルコース負荷後の血糖上昇を抑制しなかった。ミグリトールはその作用機序から単糖の吸収には影響を及ぼさないと考えられた。すなわち、薬物動態試験から、ミグリトールは管腔側から主に小腸上部の SGLT1、一部は受動拡散を含む他の機構により吸収され、血液側には主に受動拡散により移行すると推察されている。しかし、食後の消化管管腔内のグルコース濃度はミグリトール濃度に比べて高濃度であるため、SGLT1 を介したグルコースの吸収機構をミグリトールが阻害する可能性は低いと考えられた。また、フルクトース輸送担体 GLUT5 のミグリトールの吸収への関与は低いと推察されていることから、フルクトースの吸収機構にも影響する可能性は低いと考えられた。

3) 病態モデルに対する糖質負荷後の血糖上昇抑制作用及び糖尿病病態の改善作用

種々の糖尿病病態モデルに対するミグリトールの作用を検討し、臨床での糖尿病用薬としての特徴を推測した。近年、我が国においてもエネルギーの過剰摂取及び運動不足から肥満を誘発し、糖尿病に至る患者が多い¹⁶⁾。しかし、肥満糖尿病といえども欧米人のような過度の肥満患者は少ない。そこで、非肥満 2 型糖尿病モデルを始めとして、肥満 2 型糖尿病モデル及びインスリン抵抗性を示す肥満モデルなど種々のモデル動物に対するミグリトールの薬効を評価した。

非肥満 2 型糖尿病モデルの GK ラットを用いてスクロース負荷試験を行うと、ミグリトールは正常ラットと同様にスクロース負荷後の血糖上昇を 3 mg/kg 以上で有意に抑制したが、同程度の効力を発現するためには正常ラットと比較してより高用量を必要とした。これは、GK ラットが非肥満 2 型糖尿病ではあるが軽度のインスリン抵抗性を示し、インスリン分泌能が低い¹⁷⁾という特性に基づくものと考えられた。また、糖尿病病態動物では小腸の二糖類水解酵素活性が増大し¹⁸⁾、糖の吸収効率が高まっている可能性がある。そのため、二糖類水解酵素活性を阻害するのに正常動物よりも高用量の薬物が必要となることも考えられた。

GK ラットにミグリトールを 8 週間混餌投与 (400 ppm) すると HbA_{1c} が改善し、病理組織学的には膵島組織の変性及び膵 β 細胞数の減少を抑制する傾向が示された。ミグリトールは食後高血糖を改善し、長期的には血糖コントロールを良好にする。また、食後高血糖による膵臓へのインスリン分泌刺激を軽減させて膵機能を維持することにより、病態の進展を遅延させる可能性が示唆された。

遺伝的肥満 2 型糖尿病モデルの db/db マウスは臨床の糖尿病性腎症をよく反映している。db/db マウスにミグリトールを混餌投与すると体重や摂餌量に影響することなく、空腹時血糖値及び尿糖排泄量が低下した。このことは、ミグリトールによって良好な血糖コントロールが得られたことを示唆している。さらに、糖尿病性腎病変の進行を抑制したことから、臨床においても長期投与により糖尿病性腎症の発症を予防し、又は遅延させる可能性があると考えられた。

16) 厚生省保健医療局生活習慣病対策室。平成 9 年糖尿病実態調査。報告書。平成 11 年 (1999 年) 4 月。

17) Suzuki K, Goto Y, Toyota T. Spontaneously diabetic GK (Goto-Kakizaki) rats. In: Shafrir E, editor. Frontiers in diabetes research. Lessons from animal diabetes IV. London: Smith-Gordon; 1993. p. 107-16.

18) Tormo MA, Martinez IM, Romero de Tejada A, Gil-Exojo I, Campillo JE. Morphological and enzymatic changes of the small intestine in an n0-STZ diabetes rat model. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2002 May;110(3):119-23.

その他のモデル動物では、非肥満 2 型糖尿病モデルの n0-STZ ラット、肥満 2 型糖尿病モデルの糖尿病スナネズミ (*Psammomys obesus*) 及び SHR/N-cp ラット、1 型糖尿病モデルの STZ 誘発糖尿病ラット、並びにインスリン抵抗性を示す肥満モデルの LA/N-cp ラット及び JCR:LA-cp ラットに対しても、ミグリトールは糖質負荷後の血糖上昇を抑制した。さらに、OGTT における耐糖能の改善、血中インスリン値の減少からインスリン抵抗性の軽減が示唆された。

以上の結果から、ミグリトールは、正常動物、糖尿病動物及び肥満動物のいずれにおいても、二糖類水解酵素阻害作用により小腸における糖質の吸収を抑制・遅延し、食後血糖上昇を抑制することが明らかとなった。飽食による栄養過多や肥満は糖尿病の発症進展と密接な関係があり、種々の病態モデル動物においてミグリトールが糖尿病状態を改善したことから、近年の国内において増大している糖尿病患者の治療に対して有効な薬剤になると考えられた。さらに、ミグリトールはその作用機序からグルコースの吸収に影響を及ぼさず、また、インスリン製剤やインスリン分泌促進剤のようにインスリン過剰による低血糖を引き起こす可能性が非常に少なく、臨床上扱いやすい薬剤であると考えられた。

(2) 副次的薬理試験

1) 消化管以外の α -グルコシダーゼ阻害作用と肝グリコーゲン代謝

ミグリトールは、アカルボース及びボグリボースと異なり小腸から吸収されるため、消化管以外に存在する α -グルコシダーゼに対する作用を明らかにするとともに、グリコーゲン代謝に及ぼす影響を検討した。ミグリトールは、ラット肝臓のリソソーム中 α -グルコシダーゼ及びラット筋肉のアミロ-1,6-グルコシダーゼを阻害した。また、ヒト肝癌由来細胞 (HepG2) やヒト線維芽細胞のリソソーム中の α -グルコシダーゼについても可逆的な阻害作用が確認された。なお、アミロ-1,6-グルコシダーゼの阻害作用はアカルボースではほとんど認められず、ボグリボースではミグリトールと比較して非常に弱かった。この酵素に対する阻害作用は、ミグリトールの基本骨格構造物であるデオキシノジリマイシンでも報告されており⁸⁾、デオキシノジリマイシン誘導体に特徴的な作用であると推察された。

ミグリトールは、300 μ g/mL の高濃度でのみグルカゴン刺激下でのラット単離肝細胞のグリコーゲン分解を抑制したが、*in vivo* 試験では 1 回の臨床最高用量の 80 倍に相当する 100 mg/kg の高用量でもラットの肝グリコーゲン分解には影響しなかった。さらに、グリコーゲン分解反応に関するホスホリラーゼ a、ホスホグルコムターゼ及びグリコーゲン脱分岐酵素の 4- α -グルカノトランスフェラーゼ活性⁸⁾に影響せず、グリコーゲンシンターゼにも影響しなかった。したがって、ミグリトールは、グリコーゲン代謝に関与するリソソーム中 α -グルコシダーゼ及びアミロ-1,6-グルコシダーゼを *in vitro* 試験では阻害したが、臨床では肝グリコーゲン代謝に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。しかし、アカルボース及びボグリボースは肝臓系の副作用が認められており¹⁹⁻²¹⁾、ミグリトールでも同様の副作用が危惧さ

19) 厚生省医薬安全局。医薬品等安全性情報 No.146。平成 10 年 (1998 年) 3 月。

20) 厚生労働省医薬局。医薬品・医療用具等安全性情報 No.174。平成 14 年 (2002 年) 2 月。

21) 厚生労働省医薬食品局。医薬品・医療用具等安全性情報 No.193。平成 15 年 (2003 年) 9 月。

れる．そこで，安全性薬理試験ではラットに反復投与した場合のグリコーゲン蓄積に及ぼす影響について検討した．

2) 類似構造物に特徴的な α -グルコシダーゼ阻害作用とその薬理作用

ミグリトールの基本骨格構造物であるデオキシノジリマイシン誘導体に特徴的な作用として，既に述べたようにアミロ-1,6-グルコシダーゼの阻害作用がある．その他に，この誘導体の作用として糖たん白質の糖鎖生成に関与する小胞体のグルコシダーゼ I 及び II を阻害すること^{9,10)}，また，心筋のグリコーゲン分解を抑制することによりウサギ虚血再灌流モデルの心筋梗塞領域面積を減少させることが知られている¹¹⁾．

ミグリトールでもこれらの作用を有することが確認されたが，糖たん白質の糖鎖生成を阻害する濃度の 0.5 mmol/L (約 100 μ g/mL) は，ヒトに 100 mg/body を単回経口投与したときの $C_{\max}$ が 2.0 μ g/mL である [5.3.3.1(2)PK 単回/高用量] ことから判断すると非常に高濃度であり，臨床用量では認められない作用と考えられた．また，ウサギ虚血再灌流モデルの心筋梗塞領域面積を減少させる作用についても，ミグリトール (5～10 mg/kg) を静脈内投与したときの虚血開始直前 (投与後 30 分) の血漿中濃度 (10.0～22.0 μ g/mL) と臨床における $C_{\max}$ には 5 倍以上の乖離がある．したがって，ミグリトールの経口投与においてこのような効果を期待することはできないと考えられた．

3) その他の副次的薬理作用

血糖降下因子として，インスリン分泌，組織へのグルコース取込み及び輸送に及ぼすミグリトールの影響について検討した．インスリン分泌を評価する方法として単離膵島を用いた試験系があるが，中でも灌流法が生体モデルをより反映していると考えられている．この評価系におけるインスリン分泌に対し，ミグリトールは影響を及ぼさなかった．これは，*in vivo* で絶食ラットのインスリン分泌及び血糖値に影響しなかったことから裏付けられる．また，組織へのグルコース取込み及び輸送に対しても影響しなかったことから，食後血糖上昇抑制作用に対するミグリトールの作用機序は，小腸での二糖類水解酵素阻害作用による糖質の吸収遅延であると考えられた．

糖尿病と脂質代謝は密接な関係があることから，脂質の吸収・代謝に及ぼす影響についても検討した．しかし，いずれの試験においてもミグリトールの影響は認められなかった．

その他に，糖代謝の主要酵素及び消化酵素に影響を及ぼさなかったことから，ミグリトールは小腸の二糖類水解酵素を選択的に阻害することが明らかとなった．

以上の結果から，ミグリトールは安全性に関わる全身への直接的な影響を示さないと考えられた．また，膵臓のインスリン分泌及び組織でのグルコース取込みに直接作用せず，小腸の二糖類水解酵素を阻害して糖質吸収を遅延させ食後の血糖上昇を抑制することが明らかとなった．

(3) 安全性薬理試験

1) 消化管への影響

消化器症状の発現

類薬では、特にその高用量において、未消化の糖質が下部消化管へ流入して腸内細菌の栄養源となり、臨床において腹部膨満、鼓腸及び下痢などの消化器症状につながる事が確認されている。ミグリトールにおいても同様の症状が予想されるが、ラットに糖質を負荷したとき、糖質負荷後の血糖上昇を抑制し、かつ下部消化管に残存する未吸収の糖質量が少ない用量を投与した場合には、消化器症状は発現しにくいものと推察された。

また、ラットに反復混餌投与（400 ppm）すると腸内細菌叢の組成に軽微な変化が確認されたが、アカルボースと異なり、糖質を栄養源とする *Bifidobacterium* spp. の増加は見られなかった。さらに、アカルボース（100 ppm）又はボグリボース（10 ppm）を高でんぷん食とともに4週間間欠給餌させたラットにおいても盲腸重量の増加が報告されている²²⁾が、ミグリトールは盲腸にほとんど影響を及ぼさなかった。これは、ミグリトールが小腸上部から吸収されるため、 α -GIの投与により順応的に向上した小腸下部からの糖質吸収を抑制しないことによると考えられた。

小腸の順応

一般に α -GIを経口投与した場合、小腸上部の二糖類水解酵素が阻害されるため、順応的に小腸下部に二糖類水解酵素が発現して糖質の消化吸收を補助する現象が見られる。この順応的变化により下部消化管に流入する未消化の糖質量が減少し、腸内細菌による発酵分解が抑えられ、消化器症状の軽減につながると考えられる。

ミグリトールでも、ラットに反復混餌投与（400, 800ppm）すると小腸下部の組織湿重量、粘膜重量、二糖類水解酵素活性及びSIたん白量の増大が認められ、小腸の順応的变化が確認された。しかし、SI及びSGLT1のmRNA量には影響しなかったことから、この順応的な変化は遺伝子の転写レベルに影響したものではないと推察された。また、投与期間中に過度の変化は観察されず、投与中止後には速やかに元のレベルにまで回復する可逆的な変化であることが確認された。

したがって、ミグリトールによる小腸の変化は生体の順応性の範囲であり、小腸下部における糖質吸収を増加させる。そのため、糖質の吸収は遅延するが、糖質吸収の全体量にはほとんど影響しない。このことは、下部消化管への未消化の糖質の流入を減少させることにつながり、消化器症状を軽減させると考えられた。

2) 肝臓への影響

副次的薬理試験の結果から、ミグリトールは細胞内の α -グルコシダーゼに対する阻害作用を示した。また、アカルボース及びボグリボースでは重篤な肝機能障害が報告されている¹⁹⁻²¹⁾。そこで、これらの阻害作用が肝臓に与える影響について考察し、併せて肝薬物代謝酵素及びその他の肝機能に関連する酵素についても考察する。

22) 小高裕之, 佐野容子, 山田より子, 天野信之, 池田衡. ラットにおけるボグリボース (AO-128) およびアカルボースの食後高血糖抑制作用および糖質吸収動態の差. 薬理と治療. 1994;22(8):3491-500.

細胞内 α -グルコシダーゼに対する阻害作用

a) 細胞質の α -グルコシダーゼ

細胞質のアミロ-1,6-グルコシダーゼはグリコーゲン脱分岐酵素として知られ、グリコーゲンの分岐部に作用する α -グルコシダーゼである。

ミグリトールは、ラット単離肝細胞を用いた *in vitro* 試験において、細胞質に局在するアミロ-1,6-グルコシダーゼ活性を阻害したが、*in vivo* での肝グリコーゲン分解に対しては、臨床最高用量の 75 mg/body (60kg)、1.25 mg/kg の 80 倍に相当する 100 mg/kg でも影響しなかった。したがって、ミグリトールが肝グリコーゲン代謝に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

b) 小胞体の α -グルコシダーゼ

小胞体のグルコシダーゼ 及び は、糖たん白質の糖鎖プロセッシングに関与する α -グルコシダーゼである。

ミグリトールは、ラット単離肝細胞を用いた *in vitro* 試験において、0.5 mmol/L (103.6 μ g/mL) 以上で糖鎖プロセッシングを阻害したが、この濃度は健康成人を対象とした臨床試験において 100 mg/body を投与した時の $C_{\max}$: 2.0 μ g/mL^[5.3.3.1(2)PK 単回/高用量] の 52 倍に相当する。したがって、ミグリトールが肝細胞における糖たん白質の糖鎖生成に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

c) リソソームの α -グルコシターゼ

リソソーム中 α -グルコシダーゼの遺伝的欠損症は、肝臓及び筋肉のリソソーム内に著しいグリコーゲン蓄積や肝臓の腫大が起き、II 型糖原病として知られている。リソソーム内へのグリコーゲン蓄積は、アカルボース (200 mg/kg 反復, 400 mg/kg 単回) のラット腹腔内投与による肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積が報告されて以来、 α -GI の全身性作用として認識されている^{13,14,23)} が、肝機能障害との因果関係は現在のところ明らかではない。

ミグリトールは、グリコーゲン代謝に関与するリソソーム中 α -グルコシダーゼ及びグリコーゲン脱分岐酵素のアミロ-1,6-グルコシダーゼを阻害した。類薬では肝臓系の副作用が実際に認められていることから、小腸から吸収されるミグリトールにおいては、グリコーゲン蓄積に対して注意が必要である。そこで、ラットに反復投与した場合のグリコーゲン蓄積に及ぼす影響を検討した。

アカルボースの高用量 (1000 mg/kg/day, 7 日間) をラットに経口投与した場合、明瞭な肝リソソーム内のグリコーゲン蓄積、リソソームの肥大化及び肝重量の増加が観察された。しかし、ミグリトールではこれらの所見は観察されず、正常ラットに対する ED_{50} 値 (3 mg/kg) の 130 倍以上の高用量 (400 mg/kg/day, 29 日間) をラットに経口投与した場合に肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積が極めて散発的に認められたが、リソソ-

23) Chambers JP, Elbein AD, Williams JC. Nojirimycin-A potent inhibitor of purified lysosomal α -glucosidase from human liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982 Aug 31;107(4):1490-6.

ムの形状に異常は見られなかった．このときの用量は，ラット反復投与毒性試験（トキシコキネティクス試験）^[4.2.3.2(6)（参考資料）反復/ラット・イヌ3カ月間/TK]の結果から，臨床至適用量：150 mg/body（60 kg）/day をヒトに8日間投与した時の AUC：2.8 mg・h/L^[5.3.3.1(3)PK反復]と比較した場合，50 倍以上に相当する高用量である．したがって，ミグリトールは反復投与により肝リソソーム内へのグリコーゲン蓄積を誘発する可能性は低いと考えられた．

肝薬物代謝酵素に対する作用

アカルボースでは肝薬物代謝酵素のひとつである CYP2E1 が誘導され，アセトアミノフェンを併用した場合にその代謝物の増加による肝障害が増悪すると報告されている¹⁵⁾．そこで，ミグリトールをラットに反復混餌投与して CYP2E1 の誘導を確認したが，誘導は認められなかった．したがって，ミグリトールはチトクローム P450 の誘導に起因する肝障害を引き起こす可能性は低いと考えられた．

まとめ

ミグリトールは細胞内 α -グルコシダーゼを阻害するが，その濃度は臨床用量以上の高用量のみで認められる作用であった．また，肝薬物代謝酵素の誘導も認められなかった．したがって，ミグリトールが肝臓に対して問題となるような影響を及ぼす可能性は低いと考えられた．

3) その他の影響

一般症状観察における流涎，中枢神経系に対するけいれん及び正常体温に対する作用，また，腎・泌尿器系において認められた Na^+ 及び Cl^- の尿中排泄量の増加作用は，いずれの所見もミグリトールの 100 mg/kg 以下では観察されなかった．100 mg/kg の投与量は，正常ラットに対するミグリトールの ED_{50} 値（3 mg/kg）とは 30 倍以上の用量比がある．また，1 回の臨床最高用量：75 mg/body（60 kg）は 1.25 mg/kg に相当し，80 倍以上の用量比があることから，臨床上で特に問題となるような作用は示さないと考えられた．

以上の結果から，ミグリトールは糖質の吸収遅延作用に伴って認められる消化器症状を除いて，特記すべき副作用を有しない安全な薬剤であると考えられた．

(4) 薬力学的薬物相互作用試験

ミグリトールは，食事療法及び運動療法を実施しても十分な血糖コントロールができない糖尿病患者に対して使用される．この場合，いくつかの糖尿病用薬の併用が推測され，その代表的な薬剤としてインスリン，SU 剤のグリベンクラミド及び BG 剤の塩酸メトホルミンを選択して相互作用を検討した．その結果，作用メカニズムの異なるミグリトールとの併用で問題とされる事象はいずれの薬剤でも認められなかった．

したがって，ミグリトールは，併用される可能性がある糖尿病用薬の作用には影響しないと考えられた．

(5) 結論

ミグリトールは、小腸粘膜上皮細胞の刷子縁に存在する二糖類水解酵素を特異的、かつ競合的に阻害することが明らかとなった。この作用により、小腸からの糖質吸収を遅延させ、正常及び病態モデル動物の糖質負荷後の血糖上昇を抑制し、長期的には血糖コントロールを良好にして $\text{HbA}_{1\text{C}}$ を改善した。また、膵臓へのインスリン分泌刺激を軽減させて膵島病変の進行を抑制して膵機能を維持することにより、糖尿病の進展を遅延させる可能性が示唆された。

ミグリトールは、膵臓のインスリン分泌及び組織でのグルコース取込みに直接作用しないことが明らかとなった。また、作用機序から単糖の吸収には影響を及ぼさないことが確認された。

安全性に関して、ミグリトールは消化器症状以外に特記すべき副作用を示さないと考えられた。消化器系の副作用は小腸からの糖質吸収を遅延させた結果、未消化の糖質が下部消化管へ流入し、腸内細菌によって発酵分解されることに起因すると考えられた。ミグリトールは細胞内の α -グルコシダーゼに対しても阻害作用を示したが、その影響は臨床用量以上の高用量で認められたに過ぎないことから、臨床用量で全身への直接的な影響が認められる可能性は低いと考えられた。また、作用機序から単独では低血糖を起こしにくく、他の糖尿病用薬の作用にも影響しないことが確認された。

したがって、ミグリトールは、食後高血糖を改善する有効かつ安全な糖尿病用薬となる可能性が示された。

2.6.3 薬理試験概要表
2.6.3.1 薬理試験

一覧表

被験物質：ミグリトール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	Vol.	記載箇所 CTD No.
効力を裏付ける試験					
二糖類水解酵素阻害作用	ラット小腸由来精製二糖類水解酵素	in vitro		3	42.1.1 (1)
正常動物に対する作用					
糖質負荷後の血糖上昇に対する作用	SD ラット	強制経口	日本生物化学センター（現・日本生物科学センター）	3	42.1.1 (2)
各種糖質負荷後の血糖上昇抑制作用	SD ラット	強制経口	日本生物化学センター（現・日本生物科学センター）	3	42.1.1 (2)
消化管の糖質吸収に対する作用	SD ラット	強制経口	日本生物化学センター（現・日本生物科学センター）	3	42.1.1 (2)
病態モデル動物に対する作用					
糖質負荷後の血糖上昇抑制作用					
【1】非肥満2型糖尿病モデル	GK ラット	強制経口		3	42.1.1 (3)
【2】非肥満実験的2型糖尿病モデル	n0-STZ ラット	強制経口	エストレマドゥーラ大学（スペイン）	3	42.1.1 (5) (参考資料)
【3】肥満2型糖尿病モデル	糖尿病スナネズミ (<i>Psamomys obesus</i>)	強制経口	ヘプライ大学エルサレム（イスラエル）	3	42.1.1 (6) (参考資料)
【4】1型糖尿病モデル（STZ 単回）	STZ 誘発糖尿病ラット	強制経口	ヘプライ大学エルサレム（イスラエル）	3	42.1.1 (7) (参考資料)
【5】1型糖尿病モデル（STZ 混餌）	STZ 誘発糖尿病ラット	強制経口， 混餌	ヘプライ大学エルサレム（イスラエル）	3	42.1.1 (8) (参考資料)
【6】肥満モデル（JCR:LA-cp） 糖尿病病態の改善作用	JCR:LA-cp ラット	混餌	アルバータ大学（カナダ）	3	42.1.1 (9) (参考資料)
【1】非肥満2型糖尿病モデル	GK ラット	混餌		3	42.1.1 (4)
【2】肥満2型糖尿病モデル（db/db）	db/db マウス	混餌	（アメリカ）	3	42.1.1 (10) (参考資料)
【3】肥満2型糖尿病モデル（SHR/N-cp）	SHR/N-cp ラット	混餌	ドレクセル大学（アメリカ）	3	42.1.1 (11) (参考資料)
【4】肥満モデル（LA/N-cp）	LA/N-cp ラット	混餌	ドレクセル大学（アメリカ）	3	42.1.1 (12) (参考資料)
【5】肥満モデル（JCR:LA-cp）	JCR:LA-cp ラット	混餌	アルバータ大学（カナダ）	3	42.1.1 (9) (参考資料)

（つづく）

2.6.3.1 薬理試験

一覧表 (つづき)

被験物質：ミグリトール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	Vol.	記載箇所 CTD No.
副次的薬理試験					
消化管以外のα-グルコシダーゼに対する阻害作用 肝臓及び筋肉由来α-グルコシダーゼ阻害 細胞内α-グルコシダーゼ阻害	ラット肝臓・筋肉由来精製酵素 ヒト肝癌細胞 HepC2, ヒト線維芽細胞	in vitro in vitro	■■■■ エラスムス大学 (オランダ)	3 3	42.1.2 (1) 42.1.2 (8) (参考資料)
	類似構造物に特異的なグルコシダーゼ阻害作用が 及ぼす影響 肝グリコーゲン代謝に及ぼす影響 糖たん白質の糖鎖生成に及ぼす影響 虚血性心筋障害に及ぼす影響	in vitro 強制経口 in vitro in vitro in vitro in vitro	■■■■ (ベルギー) アルベルト・ルートビッヒ大学フライブルク (ドイツ) 岐阜大学	3 3 3 3 3	42.1.2 (2) 42.1.2 (9) (参考資料) 42.1.2 (10) (参考資料)
消化酵素・糖代謝酵素に対する阻害作用	ウサギ・ブタ・ウシ組織由来たん白分解 酵素, 脂質分解酵素, 糖代謝酵素 ウシ脾臓由来核酸分解酵素	in vitro in vitro	■■■■ ■■■■	3 3	42.1.2 (3) 42.1.2 (4)
核酸分解酵素に対する阻害作用					
血糖低下因子に及ぼす影響 インスリン分泌に及ぼす影響 [1] 単離膵島 [2] 正常動物 筋肉のグルコース取込みに及ぼす影響 脂肪細胞のグルコース代謝に及ぼす影響	マウス単離膵島 Wistar ラット マウス骨格筋 ラット単離脂肪細胞	in vitro 強制経口 in vitro in vitro	■■■■ (ドイツ) ■■■■ (ドイツ) ■■■■ (ドイツ) ■■■■ (フランス)	3 3 3 3	42.1.2 (5) 42.1.2 (6) 42.1.2 (7) 42.1.2 (11) (参考資料)

(つづく)

2.6.3.1 薬理試験

一覧表 (つづき)

被験物質：ミグリトール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	Vol.	記載箇所 CTD No.
副次的薬理試験（つづき）					
脂質の吸収及び代謝に及ぼす影響					
反転腸管	ラット反転腸管	<i>in vitro</i>	（アメリカ）	3	42.1.2 (12)（参考資料）
正常動物	SD ラット	強制経口	日本生物化学センター（現・日本生物科学センター）	3	42.1.1 (2)
病態モデル動物（非肥満2型糖尿病モデル）	GK ラット	混餌		3	42.1.1 (4)
病態モデル動物（1型糖尿病モデル）	STZ 誘発糖尿病ラット	混餌	ヘブライ大学エルサレム（イスラエル）	3	42.1.1 (8)（参考資料）
病態モデル動物（肥満モデル）	JCR:LA-cp ラット	混餌	アルバータ大学（カナダ）	3	42.1.1 (9)（参考資料）
安全性薬理試験					
コアバッテリー試験					
中枢神経系に及ぼす影響					
〔1〕一般症状及び行動 ^a	Wistar ラット	強制経口	（ドイツ）	3	42.1.3 (1)
〔2〕けいれん作用、鎮痛作用、筋弛緩作用、運動協調性、麻酔増強作用 ^a	NMRI マウス	強制経口	（ドイツ）	3	42.1.3 (2)
〔3〕体温、自発運動量、カタレプシー ^a	Wistar ラット	強制経口	（ドイツ）	3	42.1.3 (3)
心血管系に及ぼす影響 ^a	ビーグル犬	十二指腸内	（ドイツ）	3	42.1.3 (4)
呼吸系に及ぼす影響 ^a	Dunkin-Hartley モルモット	強制経口	（イギリス）	3	42.1.3 (5)
補足的安全性薬理試験					
腎・泌尿器系に及ぼす影響 ^a	Wistar ラット	強制経口	（ドイツ）	3	42.1.3 (6)
自律神経系に及ぼす影響 ^a	モルモット摘出回腸	<i>in vitro</i>	（ドイツ）	3	42.1.3 (7)
胃腸管系に及ぼす影響 ^a	CD ラット	強制経口， 十二指腸内	（ドイツ）	3	42.1.3 (8)
血液系に及ぼす影響 ^a	Wistar ラット	強制経口	（ドイツ）	3	42.1.3 (9)
血糖に及ぼす影響 ^a	Wistar ラット	強制経口	（ドイツ）	3	42.1.3 (10)

(つづく)

a : GLP に適合した報告書.

2.6.3.1 薬理試験

一覧表 (つづき)

被験物質：ミグリトール

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	Vol.	記載箇所 CTD No.
安全性薬理試験（つづき）					
補足的安全性薬理試験 反復投与による消化管に及ぼす影響 【1】小腸の順応 【2】腸内細菌 反復投与によるグリコーゲン蓄積に及ぼす影響 【1】高用量・投与経路比較 【2】強制経口・アカルボースとの比較 反復投与による肝薬物代謝酵素に及ぼす影響 ^b	Wistar ラット	混餌	[redacted] 理化学研究所	3	42.1.3 (11)
	Fischer ラット	混餌		3	42.1.3 (12)
	SD ラット	強制経口, 混餌, 腹腔内	[redacted] (ドイツ)	3	42.1.3 (13)
	Wistar ラット	強制経口	ゲオルグ-アウグスト大学ゲッティンゲン (ドイツ) [redacted]	3	42.1.3 (14) (参考資料)
	Wistar ラット	混餌		3	42.2.6 (1)
薬力学的薬物相互作用試験					
血糖を指標としたインスリン製剤との相互作用 血糖及び血清インスリンを指標としたSU 剤(グリベンクラミド)との相互作用 絶食時の血糖を指標としたBG 剤(塩酸メトホルミン)との相互作用 非絶食時の血糖及び血清インスリンを指標としたBG 剤(塩酸メトホルミン)との相互作用	Wistar ラット	強制経口	[redacted] (ドイツ)	3	42.1.4 (1)
	Wistar ラット	強制経口	[redacted] (ドイツ)	3	42.1.4 (2)
	Wistar ラット	強制経口	[redacted] (ドイツ)	3	42.1.4 (3)
	Wistar ラット	強制経口	[redacted] (ドイツ)	3	42.1.4 (4)

b : [42.1.3 (11) 小腸順応] の試験における混餌 28 日間投与群のラットを使用 .

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

試験成績の要約

(1) *in vitro*試験及び正常動物を用いた試験

被験物質：ミグリトール

試験項目	試験系	投与方法・期間	投与量	負荷糖質	対照薬剤	試験成績	識別子	記載所 Vol. CID No.
二糖類水解酵素阻害作用	ラット小腸由来精製二糖類水解酵素	<i>in vitro</i>	-	-	アカルボース ボグリボース	ラット小腸由来二糖類水解酵素を競合的に阻害スクラゼ-インマルターゼ複合体に対する阻害作用：(スクラゼ活性) Ki は 0.087 μmol/L, アカルボースの6倍, ボグリボースの1/3.6倍の強さ(インマルターゼ活性) Ki は 0.45 μmol/L, アカルボースの120倍, ボグリボースと同程度の強さグルコアミラーゼ-マルターゼ複合体に対する阻害作用：(マルターゼ活性) Ki は 0.38 μmol/L, アカルボースの1/67倍, ボグリボースの1/18倍の強さ	二糖類水解酵素阻害	3 4.2.1.1 (1)
糖質負荷後の血糖上昇に対する作用	SD ラット	強締経口・単回	0, 1, 3, 10 mg/kg	α化でんぷん	-	糖質負荷の30分前・同時・30分後に投与した場合, 同時投与が最も強力な血糖上昇抑制作用を示し, 糖質負荷後60分までに増加した血糖のAUCを用量に依存して抑制	正常ラット	3 4.2.1.1 (2)
各種糖質負荷後の血糖上昇抑制作用	SD ラット	強締経口・単回	0, 1, 3, 10, 100 mg/kg ^a	α化でんぷん 生でんぷん スクロース グルコース	-	α化でんぷん・生でんぷん・スクロース負荷後の血糖上昇を用量に依存して抑制, グルコース負荷後の血糖上昇に影響なし 糖質負荷後60分までの血糖上昇抑制率に対するED ₅₀ : 7.30 mg/kg (α化でんぷん), 3.25 mg/kg (生でんぷん), 2.99 mg/kg (スクロース)	正常ラット	3 4.2.1.1 (2)

a: α化でんぷん・生でんぷん・スクロース負荷における投与量は0, 1, 3, 10 mg/kg, グルコース負荷における投与量は0, 100 mg/kg. (つづく)

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

試験成績の要約 (つづき)

(1) *in vitro* 試験及び正常動物を用いた試験

被験物質：ミグリトール

試験項目	試験系	投与方法・期間	投与量	負荷糖質	対照薬剤	試験成績	識別子	記載箇所 Vol. CTD No.
消化管の糖質 吸収に対する 作用	SD ラット	強制経口・単回	0, 1, 3, 10, 30 mg/kg	スクロース	-	スクロース負荷後の血糖上昇に対する作用： 用量に依存して抑制。スクロース負荷後6時間までの AUC は 30 mg/kg で対照群の 25.0%低下, 10 mg/kg で 13.5%しか低下せず, 3 mg/kg 以下で対照群との差なし スクロース負荷後の肝グリコーゲン含量に対する作用： 対照群はスクロース負荷後速やかに肝グリコーゲン含 量が増加したが, 30 mg/kg ではスクロース負荷後も変 化なし。10 mg/kg 以下ではスクロース負荷後 1 時間ま で増加しなかったが 3 時間以降は対照群と同程度まで 増加 消化管内のスクロース残存に対する作用： 用量に応じてスクロース残存部位は消化管下部に移行 し, 残存総量も増加。30 mg/kg ではスクロース負荷後6 時間でも盲腸・大腸に残存。10 mg/kg でもスクロース 負荷後 6 時間に盲腸・大腸に残存したが, 30 mg/kg に 比べて軽度。3 mg/kg 以下ではスクロース負荷後 1 時間 に胃から小腸中央部に残存したが 3 時間以降は全域で ほとんど残存なし	正常ラット	3

(つづく)

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

試験成績の要約 (つづき)

(2) 病態モデル動物を用いた試験：糖質負荷後の血糖上昇抑制作用

被験物質：ミグリトール

試験項目	モデル	動物	投与方法・期間	投与量	負荷糖質	対照薬剤	試験成績	識別子	記載箇所 Vol. CID No.
糖質負荷後の血糖上昇抑制作用	2 型 糖尿病	GK ラット	強制経口・単回	0, 1, 3, 10 mg/kg	スクロース	ポグリボース 0.0125, 0.0375, 0.125 mg/kg	ミグリトール： 用量に依存して、スクロース負荷後の血糖上昇抑制, 3 mg/kg 以上で有意に抑制 ポグリボース： 0.125 mg/kg で対照群に比べてスクロース負荷後の血糖上昇を 31 %抑制したが、有意な差ではない	GK ラット/糖負荷	3 4.2.1.1 (3)
		n0-STZ ラット	強制経口・単回	0, 1.5, 10, 20, 30 mg/kg	マルトース	-	用量に依存して、マルトース負荷後の血糖上昇抑制	n0-STZ ラット	3 4.2.1.1 (5) (参考資料)
		糖尿病スナネズミ (<i>Psamomys obesus</i>)	強制経口・単回	0, 2.5, 5, 10 mg/kg	α化でんぷん	アカルボース 2.5, 5, 10 mg/kg	用量に依存して、α化でんぷん負荷後の血糖上昇抑制, ミグリトール及びアカルボースの 5 mg/kg 以上で有意に抑制	スナネズミ	3 4.2.1.1 (6) (参考資料)
	1 型 糖尿病	STZ 誘発糖尿病ラット	強制経口・単回	0, 10, 20 mg/kg	α化でんぷん	アカルボース 40, 80 mg/kg	用量に依存して、α化でんぷん負荷後の血糖上昇抑制	STZ ラット糖負荷	3 4.2.1.1 (7) (参考資料)
			強制経口・単回	0, 2 mg/kg	スクロース	-	スクロース負荷後の血糖上昇抑制	STZ ラット/混餌	3 4.2.1.1 (8) (参考資料)
			混餌・8 日間投与 (生でんぷん・スクロース等量添加飼料), 絶食後に混餌・制限摂餌 (1 回)	8 日間投与 0, 200, 400 ppm (0, 24, 55 mg/kg/day)	-	-	8 日間混餌投与後の空腹時血糖, 血漿 TG 値・コレステロール値に影響なし, 400 ppm で尿糖排泄量低下 生でんぷん・スクロース等量添加飼料負荷後の血糖上昇抑制		
			制限摂餌 0, 200, 400 ppm (0, 9, 19 mg/kg)	生でんぷん・スクロース等量添加飼料	-	-			
肥満	遺伝性肥満インスリン抵抗性	JCR:LA-cp ラット	混餌・制限摂餌 (1 回)	0, 100, 200, 300, 600, 900 ppm (0, 1, 2, 3, 6, 10 mg/kg)	精製飼料 (chow-like diet, 生でんぷん・マルトデキストリン含有)	-	用量に依存して、精製飼料 (chow-like diet) 負荷後の血糖上昇抑制・インスリン分泌抑制	JCR:LA-cp ラット	3 4.2.1.1 (9) (参考資料)

(つづく)

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

試験成績の要約 (つづき)

(2) 病態モデル動物を用いた試験：糖尿病病態の改善作用

被験物質：ミグリトール

試験項目	モデル	動物	投与方法・期間	投与量	対照薬剤	試験成績	識別子	記載箇所 Vol. CTD No.
糖尿病病態の改善作用	2型糖尿病	GK ラット	混餌・8週間 高スクロース・高脂肪食	0, 100, 200, 400 ppm (0, 5, 10, 19 mg/kg/day)	ボグリボース 1, 2 ppm (0.05, 0.1 mg/kg/day)	ミグリトール： 400 ppm で HbA _{1c} の増加抑制 (> ボグリボース 1 ppm)，対照群に比べて膵島の变形・分葉化・線維化の少ない組織像，対照群に比べて膵臓実質組織内β細胞面積比率の減少を抑制する傾向 ボグリボース： 2 ppm で HbA _{1c} の増加抑制，膵臓重量低下したが，下痢発現，体重増加抑制	GK ラット/混餌	3 4.2.1.1 (4)
	遺伝性肥満	db/db マウス	混餌・12週間 通常飼料	0, 200, 500, 1000 ppm (0, 24, 60, 120 mg/kg/day)	-	200, 500 ppm で摂餌量・体重に影響なし，空腹時血糖低下，飲水量・尿糖排泄量低下，メサンギウム領域拡大抑制，免疫グロブリン沈着抑制 1000 ppm で摂餌量低下，体重増加抑制，過量の薬物による影響が発現	db/db マウス	3 4.2.1.1 (10) (参考資料)
	遺伝性肥満	SHR/N-qp ラット	混餌・7週間 高スクロース・高脂肪食	0, 150 ppm (0, 7 mg/kg/day)	-	HbA _{1c} ・肝グルコキナーゼの増加抑制，尿糖排泄量低下，摂餌量・体重に影響なし，OGTT の血糖上昇抑制・インスリン追加分泌抑制	SHR/N-qp ラット	3 4.2.1.1 (11) (参考資料)
	遺伝性肥満	LA/N-qp ラット	混餌・7週間 高スクロース・高脂肪食	0, 150 ppm (0, 4 mg/kg/day)	-	インスリン分泌抑制，HbA _{1c} の増加抑制，尿糖排泄量低下，摂餌量・体重・空腹時血糖に影響なし	LA/N-qp ラット	3 4.2.1.1 (12) (参考資料)
	肥満	JCR:LA-qp ラット	混餌・6週間 通常飼料	0, 600 ppm (0, 45 mg/kg/day)	-	食事（精製飼料，chow-like diet）負荷試験で食後血糖上昇抑制，インスリン追加分泌軽減，摂餌量低下，体重増加抑制，血清脂質に影響なし	JCR:LA-qp ラット	3 4.2.1.1 (9) (参考資料)

2.6.3.3 副次的薬理試験

試験成績の要約

被験物質：ミグリトール

試験項目	試験系	用法・投与量	試験成績	識別子	記載箇所 Vol. CTD No.
消化管以外のα-グルコシダーゼに対する阻害作用	ラット肝臓由来リソソーム中α-グルコシダーゼ ラット筋肉由来アミロ-1,6-グルコシダーゼ	<i>in vitro</i> 0.2 ~ 2 μmol/L [対照薬剤] リソソーム中α-グルコシダーゼ： アカルボース (12.5 ~ 125 μmol/L) ボグリボース (0.4 ~ 4 μmol/L) アミロ-1,6-グルコシダーゼ： アカルボース (2.5 ~ 10 mmol/L) ボグリボース (0.2 ~ 2 mmol/L)	リソソーム中α-グルコシダーゼに対する阻害作用： (阻害様式) 競合型 (阻害強度) ミグリトール ボグリボース > アカルボース アミロ-1,6-グルコシダーゼに対する阻害作用： (阻害様式) 非競合型 (阻害強度) ミグリトール > ボグリボース, アカルボースは阻害しない	肝グルコシダーゼ阻害	3 4.2.1.2 (1)
	ヒト肝臓由来細胞 HepG2・ヒト緑線芽細胞内リソソーム中α-グルコシダーゼ及び中性α-グルコシダーゼ	<i>in vitro</i> 0.5 ~ 10 mmol/L	可逆的な阻害, 10 mmol/L (7 ~ 9 日間培養) でも完全に阻害しない	細胞内グルコシダーゼ阻害	3 4.2.1.2 (8) (参考資料)
肝グリコーゲン代謝に及ぼす影響	ラット単離肝細胞	<i>in vitro</i> 0, 0.3, 1, 3, 10, 30 300 μg/mL (0, 0.0014, 0.005, 0.014, 0.05, 0.14, 1.4 mmol/L)	グルカゴン刺激時は 300 μg/mL (1.4 mmol/L) でグリコーゲン分解を抑制, 無刺激時は 300 μg/mL (1.4 mmol/L) まで影響なし	肝グリコーゲン代謝	3 4.2.1.2 (2)
	ラット	強制経口・単回 0, 3, 10, 30, 100 mg/kg	グルカゴン刺激時及び無刺激時の肝グリコーゲン分解に影響なし		
糖たん白質の糖鎖生成に及ぼす影響	ラット単離肝細胞	<i>in vitro</i> 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mmol/L	0.5 mmol/L 以上で糖鎖プロセシングに影響を及ぼすが可逆的な阻害, 4 mmol/L で糖たん白質の生成及び分泌に影響なし	糖鎖生成	3 4.2.1.2 (9) (参考資料)
虚血性心筋障害に及ぼす影響	日本白色種ウサギ (30 分間虚血 48 時間再灌流モデル)	静脈内・単回 0, 1, 5, 10 mg/kg	心筋梗塞発生前投与では 5 mg/kg 以上で左心室梗塞サイズを縮小, 虚血領域のグリコーゲン分解及び乳酸蓄積を抑制, 冠動脈の再灌流前投与では 10 mg/kg で左心室梗塞サイズに影響なし	虚血性心筋障害	3 4.2.1.2 (10) (参考資料)
消化酵素・糖代謝酵素に対する阻害作用	ウサギ・ブタ・ウシ組織由来たん白分解酵素, 脂質分解酵素, 糖代謝酵素	<i>in vitro</i> 0, 0.02, 0.2, 2, 20 mmol/L	影響なし	消化酵素・糖代謝酵素	3 4.2.1.2 (3)
核酸分解酵素に対する阻害作用	ウシ脾臓由来核酸分解酵素	<i>in vitro</i> 0, 0.2, 2, 20 mmol/L	影響なし	核酸分解酵素	3 4.2.1.2 (4)

(つづく)

2.6.3.3 副次的薬理試験

試験成績の要約(つづき)

被験物質：ミグリトール

試験項目	試験系	用法・投与量	試験成績	識別子	記載箇所 Vol. CID No.
インスリン分泌に及ぼす影響	NMRI マウス単離膵島 (灌流法)	<i>in vitro</i> 0.1 mg/mL (0.5 mmol/L)	グルコース刺激(5, 10, 20 mmol/L)によるインスリン分泌に影響なし	インスリン分泌 <i>in vitro</i>	3 42.1.2 (5)
	18 時間絶食 Wistar ラット	強制経口・単回 0, 1, 3, 10, 30 mg/kg	血糖値及びインスリン分泌に影響なし	インスリン分泌 <i>in vivo</i>	3 42.1.2 (6)
筋肉のグルコース取り込みに及ぼす影響	NMRI マウス骨格筋(ヒラメ筋) [¹⁴ C] 2-デオキシグルコース	<i>in vitro</i> 0, 11, 22 mmol/L	無刺激時又はインスリン刺激時のグルコース取り込みに影響なし	筋肉糖取り込み	3 42.1.2 (7)
	ラット単離脂肪細胞 輸送:[6- ¹⁴ C] グルコース 代謝:[U- ¹⁴ C] グルコース	<i>in vitro</i> 0, 0.06, 0.6, 6 mmol/L	無刺激時又はインスリン刺激時のグルコース輸送及び代謝に影響なし	脂肪細胞糖取り込み	3 42.1.2 (11) (参考資料)
脂質の吸収及び代謝に及ぼす影響	Wistar ラット反動腸管	<i>in vitro</i> 25 µg/mL (0.12 mmol/L)	タウロコロール酸の腸管吸収に影響なし	タウロコロール酸 腸管吸収	3 42.1.2 (12) (参考資料)
	約 18 時間絶食 SD ラット (正常動物)	強制経口・単回 0, 1, 3, 10 mg/kg スクロース・オリーブオイル添加食	10 mg/kg 同時投与で食後 2 時間の血漿 TG 値が変化, そのほかの用量及び時間では影響なし	正常ラット	3 42.1.1 (2)
GK ラット (非肥満 2 型糖尿病モデル)	GK ラット	混餌・8 週間 0, 100, 200, 400 ppm (0.5, 10, 19 mg/kg/day) 高スクロース・高脂肪食 [対照薬剤] ボグリボース 1, 2 ppm (0.05, 0.1 mg/kg/day)	400 ppm で血漿 TG 値及び FFA 濃度に影響なし	GK ラット/混餌	3 42.1.1 (4)
		STZ 誘発糖尿病ラット (1 型糖尿病モデル)	血漿 TG 値及びコレステロール値に影響なし	STZ ラット/混餌	3 42.1.1 (8) (参考資料)
JCR:LA-cp ラット (肥満糖尿病モデル)	JCR:LA-cp ラット	混餌・6 週間 0, 600 ppm (0, 45 mg/kg/day) 通常飼料	血清遊離コレステロール値, コレステロールエステル値, リン脂質値, TG 値及び総コレステロール値に影響なし	JCR:LA-cp ラット	3 42.1.1 (9) (参考資料)

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：ミグリトール

評価対象となる組織・評価項目	動物種/系統	投与方法	投与量 ^a (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP適用	識別子	記載箇所 Vol. CTD No.
中枢神経系	一般症状及び行動 (Irwin の多次元観察法変法)	強制経口	0, 30, 100, 300	6M	1例で投与後 30 及び 45 分に流涎, 60 分以降は消失 (300 mg/kg), そのほかは影響なし	適	中枢神経系 /一般症状	3 42.1.3(1)
	抗けいれん作用及びけいれん協力作用 (ペンチレンテトラゾールけいれん誘発)	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	けいれん誘発閾値の軽度低下 (100 及び 300 mg/kg)	適	中枢神経系 /けいれん作用	3 42.1.3(2)
	抗けいれん作用 (最大電撃けいれん誘発)	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	影響なし			
	鎮痛作用 (hot plate 法)	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	影響なし			
	筋弛緩作用 (懸垂法)	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	影響なし			
	運動協調性 (回転棒法)	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	影響なし			
	麻酔増強作用 (ヘキソバルビタール麻酔)	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	影響なし			
	正常体温	強制経口	0, 30, 100, 300	6M	対照群で認められた投与後の軽度な体温上昇がなく, 30 ~ 90 分の体温がわずかに低い (300 mg/kg)	適	中枢神経系 /体温	3 42.1.3(3)
	カタレプシー作用	強制経口	0, 30, 100, 300	5M	影響なし			
	自発運動量 (open field 法)	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	影響なし			
心血管系	血圧, 心拍数, 心電図, 左室内圧, 左室内圧最大上昇速度, 左室拡張終期圧, 心室収縮性, 中心静脈圧, 心拍出量, 1 回拍出量, 全末梢血管抵抗, 大腿動脈血流量, 大腿末梢抵抗, 血液ガス, 血液 pH	十二指腸内	0, 30, 100, 300	3M/F	影響なし	適	心血管系	3 42.1.3(4)
呼吸系	呼吸数, 肺抵抗, 動肺コンプライアンス, 血液ガス, 血液 pH	強制経口	0, 30, 100, 300	4 ~ 6M	影響なし	適	呼吸器系	3 42.1.3(5)

a : 特にことわりがない限り単回投与。

(つづく)

2.6.3.4 安全性薬理試験（つづき）

被験物質：ミグリトール

評価対象となる組織・評価項目	動物種 / 系統	投与方法	投与量 ^a (mg/kg)	性別及び動物数 / 群	特記すべき所見	GLP 適用	識別子	記載箇所	
								Vol.	CTD No.
腎・泌尿器系	Wistar ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	10M	尿中 Na ⁺ , Cl ⁻ 排泄量の軽度増加 (300 mg/kg), そのほかは影響なし	適	泌尿器系	3	4.2.1.3 (6)
自律神経系	Dunkin-Hartley Albino モルモット 摘出回腸標本 (マグヌス法)	<i>in vitro</i>	10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL (0.5, 5, 50, 500 μmol/L)	4M	影響なし	適	自律神経系	3	4.2.1.3 (7)
胃腸管系	CD ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	5M	影響なし	適	消化器系	3	4.2.1.3 (8)
	CD ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	20M	影響なし				
	CD ラット	十二指腸内	0, 30, 100, 300	8F	影響なし				
血液系	Wistar ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	4~5M	影響なし	適	血液系	3	4.2.1.3 (9)
	Wistar ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	5M	影響なし				
	Wistar ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	5M	影響なし				
血糖	Wistar ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	5M	影響なし	適	血糖	3	4.2.1.3 (10)
	Wistar ラット	強制経口	0, 30, 100, 300	6M	影響なし				

a: 特にことわりがない限り単回投与。

(つづく)

2.6.3.4 安全性薬理試験（つづき）

被験物質：ミグリトール

評価対象となる組織・評価項目	動物種 / 系統	投与方法・期間	投与量	性別及び 動物数 / 群	特記すべき所見	GLP 適用	識別子	記載箇所 Vol. CTD No.
消化管 小腸の組織湿重量、粘膜重量、二糖類水解酵素活性、SI のたん白量・mRNA 量、SGLT1 の mRNA 量、盲腸湿重量、盲腸内容物重量、小腸の長さ	Wistar ラット	混餌・3, 7, 14, 28 日間、28 日間投与後に投与中止 7 日間 AIN ⁷⁶ 準処方精製飼料 (35% α-コーンスターチ 30%スクロース含有)	0, 400, 800 ppm	6M	二糖類水解酵素活性： 投与 3 日目ないし 7 日目から回腸で上昇、投与期間が延びても活性は亢進しない。空腸下部で回腸と同様に変動したがその変化は小さい。空腸上部でインマルターゼ活性が低下したが、その他の活性に大きな変化なし。いずれも投与中止後 7 日目には対照群とほぼ同レベルまで回復 SI のたん白量・mRNA 量： 投与 3 日目から空腸下部、回腸でたん白量の増大、mRNA 量には顕著な増大なし SGLT1 の mRNA 量： 明確な変化なし 組織湿重量、粘膜重量など： 投与 3 日目には空腸下部、回腸の湿重量・粘膜重量の増加、投与中止後 7 日目には対照群のレベルまで回復、盲腸の湿重量・内容物重量、腸管の長さに変化なし	不適	小腸回盲	3 4.2.1.3 (11)
腸内細菌叢、盲腸重量、盲腸含水量、盲腸内 pH、盲腸アンモニア濃度	Fischer ラット	混餌・2, 4 週間 通常飼料	0, 400 ppm [対照薬剤] アカルボース 200, 400 ppm	10M	ミグリトール： 腸内細菌叢組成の軽度変化、そのほかは影響なし アカルボース： 腸内細菌叢組成の変化、盲腸重量・盲腸含水量の増加、盲腸内 pH・盲腸アンモニア濃度の低下	不適	腸内細菌	3 4.2.1.3 (12)

(つづく)

2.6.3.4 安全性薬理試験（つづき）

被験物質：ミグリトール

評価対象となる組織・評価項目	動物種 / 系統	投与方法・期間	投与量	性別及び動物数 / 群	特記すべき所見	GLP適用	識別子	記載箇所 Vol. CTD No.
グリコーゲン蓄積	SD ラット	強制経口・29 日間 通常飼料	400 mg/kg/day	15F	絶食ラット肝リソソーム内への散発的ごく軽微なグリコーゲン蓄積、リソソームの形状に異常なし	不適	グリコーゲン蓄積/投与経路	3 4.2.1.3 (13)
		混餌・29 日間 通常飼料	4000 ppm (456 mg/kg/day)	15F				
		腹腔内・29 日間 通常飼料	200 mg/kg/day	15F				
肝薬物代謝 酵素誘導	Wistar ラット	強制経口・3, 7, 28 日間 [対照薬剤] アカルボース 強制経口・7 日間 エミグリテート 強制経口・3, 7, 28 日間 通常飼料	0, 5, 50, 500 mg/kg/day [対照薬剤] アカルボース 1000 mg/kg/day エミグリテート 5, 50, 500 mg/kg/day	5 ~ 10F	ミグリトール： 500 mg/kg/day (3, 7, 28 日間) で絶食ラット肝グリコーゲン増加，肝重量不変，500 mg/kg/day (28 日間) で絶食ラット肝リソソーム内へのごく軽微なグリコーゲン蓄積，リソソームの形状に異常なし アカルボース： 絶食ラット肝グリコーゲン増加，肝重量増加，肝リソソーム内への明瞭なグリコーゲン蓄積，リソソームはミトコンドリアの2 倍以上に肥大化 エミグリテート： 500 mg/kg/day (28 日間) で絶食ラット肝重量増加，50, 500 mg/kg/day (3, 7, 28 日間) で用量に依存して絶食ラット肝グリコーゲン増加，肝リソソーム内への明瞭なグリコーゲン蓄積，リソソームはミトコンドリア以上に肥大化 影響なし	不適	グリコーゲン蓄積/他剤比較	3 4.2.1.3 (14) (参考資料)
		混餌・28 日間 AIN ⁷⁶ 準規精製飼料 (35% α-コニースターチ 30%スクロース含有)	0, 400, 800 ppm	5M ^b				
肝薬物代謝 酵素誘導	Wistar ラット	肝重量，肝重量比，チトクローム P450 含量，ア ニリン水酸化活性 (CYP2E1)				不適	酵素誘導/混餌	3 4.2.2.6 (1)

b: [4.2.1.3 (11) 小腸吸収] の試験における混餌 28 日間投与群のラットと同じ。ただし，各群 6 例のうち最大又は最小体重のラット 1 匹を除外。

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

試験成績の要約

被験物質：ミグリトール

評価対象となる薬物及び薬理作用	試験系	用法・投与量		試験成績	識別子	記載箇所 Vol. CTD No.
		評価薬物	ミグリトール			
インスリン製剤の血糖低下作用	18時間絶食 Wistar ラット	皮下・単回 0, 0.3, 1, 3 U/kg	強制経口・単回 0, 5 mg/kg	影響なし	インスリン併用	3 42.1.4 (1)
グリベンクラミドの血糖低下作用及びインスリン分泌促進作用	非絶食 Wistar ラット	強制経口・単回 0, 0.3, 1, 3 mg/kg	強制経口・単回 0, 10 mg/kg	影響なし	グリベンクラミド併用	3 42.1.4 (2)
塩酸メトホルミンの絶食時の血糖低下作用	18時間絶食 Wistar ラット	強制経口・単回 メトホルミンとして, 0, 23.4, 78, 234, 780 mg/kg	強制経口・単回 0, 10 mg/kg	影響なし	メトホルミン併用絶食	3 42.1.4 (3)
塩酸メトホルミンの非絶食時の血糖低下作用及びインスリン分泌に対する作用	非絶食 Wistar ラット	強制経口・単回 メトホルミンとして, 0, 23.4, 78, 234, 780 mg/kg	強制経口・単回 0, 10 mg/kg	影響なし	メトホルミン併用非絶食	3 42.1.4 (4)